บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ข้าวเป็นพืชอาหารที่สำคัญชนิดหนึ่งของโลก โดยเฉพาะประเทศในภูมิภาคเอเชียที่นิยมรับประทานข้าวเป็นอาหารประจำวันมากกว่าในภูมิภาคอื่นๆของโลก ข้าวมีองค์ประกอบหลักคือ คาร์โบไฮเดรต ซึ่งส่วนใหญ่คือแป้ง จึงเป็นแหล่งให้พลังงานที่ดีแก่ร่างกาย นอกจากนั้นข้าวยังมีสารอาหารอื่นๆ เช่น โปรตีน ซึ่งเป็นโปรตีนที่มีกรดอะมิโนหลายชนิด มีไขมันชนิดไม่อิ่มตัว มีวิตามินหลายชนิด โดยเฉพาะวิตามินบีรวม มีแร่ธาตุที่จำเป็นสำหรับร่างกาย เช่น แคลเซียม ฟอสฟอรัส ไนอาซีน ซีลีเนียม แม็กนีเซียม โครเมียม เป็นต้น โดยประเทศที่มีบทบาทมากที่สุดในการส่งออกข้าว คือประเทศไทย รองลงมาคือ อินเดีย เวียดนาม จีนและพม่า ตามลำดับ โดยไทยส่งออกข้าวปีละประมาณ 7 ล้านตัน เป็นสัดส่วนประมาณร้อยละ 30 ของการส่งออกข้าวทั้งหมดทั่วโลกแม้ว่าไทยจะเป็นผู้ส่งออกรายใหญ่ แต่มิได้เป็นผู้กำหนดราคาข้าว การเปลี่ยนแปลงของราคาเป็นไปตามกลไกราคาตลาด ซึ่งมีประเทศกำลังพัฒนาหลายประเทศเป็นผู้ส่งออกข้าวรายใหญ่ด้วย ดังนั้นปัญหาราคาข้าวที่ไม่มีเสถียรภาพ ยังเป็นปัญหาที่ประเทศต้องประสบเสมอมา เพื่อเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับข้าวโดยการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ จึงเป็นการเพิ่มทางเลือกให้กับเกษตรกรอีกทางหนึ่ง นอกจากการจำหน่ายข้าวเพื่อการบริโภคโดยตรงเพียงอย่างเดียว และเป็นการเพิ่มการจ้างงานและกระจายรายได้ในท้องถิ่นอีกด้วย(สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2558)

ข้าวเหนียวเป็นธัญพืชที่รองลงมาจากข้าวที่คนเรานิยมรับประทานกัน เพราะให้ความเหนียว ความมัน มีรสชาติที่น่ารับประทาน ข้าวเหนียวเป็นอาหารหลักของประชากรในภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ นอกจากการบริโภคโดยตรงแล้วยังมีการนำข้าวเหนียวมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตสุราพื้นเมือง การผลิตแป้งข้าวเหนียวเพื่ออุตสาหกรรมอาหารและขนมขบเคี้ยว สำหรับแป้งข้าวเหนียวประเทศไทยเริ่มมีการนำเข้าแป้งข้าวเหนียวเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องเพื่อผลิตขนมขบเคี้ยว โดยตลาดนำเข้าอันดับหนึ่งคือ ญี่ปุ่นมีสัดส่วนตลาดร้อยละ 97.4 รองลงมาคือ อินโดนีเซีย และจีน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2558)

มันสำปะหลังเป็นสินค้าเกษตรที่มีความสำคัญชนิดหนึ่งของโลกมีปริมาณการผลิตกว่า 200 ล้านตันต่อปีโดยการผลิตมีแนวโน้มขยายตัวเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องมันสำปะหลังมีแหล่งเพาะปลูกที่สำคัญอยู่ในแถบอเมริกาใต้แอฟริกาและเอเชียประเทศที่ผลิตที่สำคัญ 5 อันดับแรกได้แก่ไนจีเรียบราซิล ไทยอินโดนีเซียและคองโกตามลำดับซึ่งผลผลิตมันสำปะหลังส่วนใหญ่กว่าร้อยละ 80 ใช้บริโภคเป็นอาหารทั้งบริโภคโดยตรงหรือใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและอาหารสัตว์ด้านการค้ามันสำปะหลังและผลิตภัณฑ์ในตลาดโลกหลักๆจะอยู่ในรูปของผลิตภัณฑ์แปรรูปขั้นพื้นฐานได้แก่แป้งมันสำปะหลัง และมันสำปะหลังเส้น หรืออัดเม็ดประเทศที่ส่งออกแป้งมันสำปะหลังที่สำคัญได้แก่ไทยและเวียดนามประเทศที่นำเข้าได้แก่จีนอินโดนีเซียญี่ปุ่นไต้หวันและมาเลเซียสำหรับประเทศไทยมันสำปะหลังนับเป็นพืชเศรษฐกิจเชิงพาณิชย์ที่สำคัญมีปริมาณการผลิตมากกว่า 20 ล้านตันในแต่ละปีโดยใช้ภายในประเทศคิดเป็นประมาณร้อยละ 30 ส่วนที่เหลือส่งออกไปยังตลาดโลก นอกจากนี้แป้งมันสำปะหลังประกอบด้วยส่วนของแป้ง 75-80% และโปรตีน 1.5-2%(สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2558)

แป้งสาคูผลิตมาจากต้นสาคูซึ่งเป็นพืชท้องถิ่นของภาคใต้และประเทศใกล้เคียง ได้แก่มาเลเซียและอินโดนีเซีย สามารถเจริญได้ดีในพื้นที่ลุ่มน้ำขังทั่วไป โดยเฉพาะบริเวณภาคใต้ตอนล่าง เช่น จังหวัดพัทลุง สตูล นครศรีธรรมราช และตรัง โดยปกติต้นสาคูจะถูกนำมาทำแป้งก็ต่อเมื่อต้นสาคูเริ่มออกดอกหรือระยะที่

มีผลอ่อนติดอยู่ ซึ่งระยะนี้สาคูสามารถผลิตแป้งมากที่สุด ส่วนที่นำมาทำแป้งจะเรียกว่า ไส้หรือเยื่อในลำต้น เมื่อนำเยื่อในลำต้นสาคูมาสกัดเป็นแป้งใช้ทำอาหารชนิดต่างๆ และเยื่อในลำต้นสาคูประกอบด้วยส่วนของแป้ง 29 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสด ซึ่งใกล้เคียงกับมันสำปะหลังซึ่งประกอบด้วยแป้ง 23-25 เปอร์เซ็นต์จึงจัดเป็นวัตถุดิบที่ให้พลังงานสูง แต่มีโปรตีนเพียง 1.3 เปอร์เซ็นต์ (ไพรัตน์ โสภโณดร,2530)

ปัจจุบันมีการใช้ประโยชน์จากแป้งสาคูไม่มากนัก ส่วนใหญ่ใช้บริโภคและจำหน่ายในท้องถิ่นมีปริมาณรวมกันต่ำกว่า 3% ของปริมาณแป้งในตลาดโลก ผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่มีจำหน่ายในรูปเม็ดสาคู ทั้งนี้เนื่องจากกรรมวิธีการผลิตแป้งสาคูค่อนข้างยุ่งยาก และมีรายงานแป้งสาคูกำลังเป็นที่สนใจของนักวิจัยหลายๆ ประเทศ โดยพบว่าแป้งสาคูบริสุทธิ์มีปริมาณอะไมโลสถึงร้อยละ 27% ของน้ำหนักแป้ง ซึ่งอะไมโลสมีความสำคัญส่งผลต่อสมบัติเฉพาะของผลิตภัณฑ์อาหาร

ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดเพื่อยกระดับคุณค่าและมูลค่าของแป้งให้สูงขึ้น จึงเป็นที่มาของงานวิจัยนี้เพื่อสังเคราะห์ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์จากสตาร์ช ซึ่งไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์เป็นสารเติมแต่งอาหาร (food additive) ที่มีสมบัติเป็นพรีไบโอติก และเป็นพรีไบโอติกชนิดเดียวที่ถูกผลิตขึ้นเฉพาะในเอเชีย เช่น ในประเทศญี่ปุ่น ซึ่งส่งขายออกไปทั่วโลก ในทางการค้าวัตถุดิบที่ใช้ผลิตคือแป้งข้าวโพด แม้ว่ามีงานวิจัยจำนวนมากกำลังศึกษาหาแหล่งวัตถุดิบชนิดใหม่ที่มีต้นทุนการผลิตต่ำหรือให้ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ชนิดใหม่ที่มีสมบัติเฉพาะตัวแตกต่างออกไป เช่น การใช้วัตถุดิบเป็นแป้งมันสำปะหลัง ข้าว ข้าวสาลี เป็นต้น นอกจากนี้การวิจัยเพื่อลดขั้นตอนการสังเคราะห์และเพิ่มผลผลิตก็ได้รับความสนใจ ในระดับอุตสาหกรรมผลิตโดยใช้วิธีแบบ 3 ขั้นตอน ขณะที่นักวิจัยหลายท่านกำลังศึกษาการสังเคราะห์แบบขั้นตอนเดียวแต่ประสิทธิภาพการผลิตยังต่ำเนื่องจากต้องใช้ระยะเวลาในการสังเคราะห์นาน งานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาหาวิธีที่เหมาะสมเพื่อใช้สังเคราะห์ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์จากสตาร์ชชนิดต่างๆทั้งแบบขั้นตอนเดียวและแบบ 3 ขั้นตอน เพื่อจะทำให้ได้ yield ที่มากขึ้น และใช้ระยะเวลาในการผลิตลดลง รวมถึงการศึกษาการทำให้บริสุทธิ์ การเตรียมผลิตภัณฑ์สุดท้ายในรูปน้ำเชื่อมเข้มข้น และการทดสอบการส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติก ซึ่งผู้วิจัยคาดว่าผลงานวิจัยที่ได้จะนำไปสู่การเพิ่มมูลค่าให้กับข้าวให้มากขึ้น รวมถึงการสร้างเทคโนโลยีการผลิตไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ในประเทศลดการนำเข้าสารพรีไบโอติกจากต่างประเทศได้

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. คัดเลือกสตาร์ชชนิดต่างๆ (สตาร์ชข้าวเจ้า สตาร์ชข้าวเหนียว สตาร์ชมันสำปะหลัง และสตาร์ชสาคู) ที่ให้ผลผลิตในการสังเคราะห์ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์สูงที่สุด
2. เพื่อเปรียบเทียบวิธีสังเคราะห์ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์แบบขั้นตอนเดียวและแบบ 3 ขั้นตอน
3. ศึกษาการทำไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ให้บริสุทธิ์ด้วยการใช้เมมเบรนชนิดแผ่นระดับนาโน
4. การทำให้เข้มข้นและการเตรียมไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ในรูปน้ำเชื่อมเข้มข้น
5. ศึกษาการส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติก

1.3 ขอบเขตการวิจัย

การวิจัยประกอบด้วย 5 ขั้นตอน คือ

1. การเตรียมสตาร์ชจากแป้งสาคูส่วนสตาร์ชอีก 3 ชนิดคือ สตาร์ชข้าวเจ้า ข้าวเหนียว และมันสำปะหลัง ซื้อจากบริษัทกรุงเทพสตาชอินดัสเทรี่ยล จำกัด
2. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี(ความชื้น โปรตีน ไขมัน เยื่อใย เถ้าและสตาร์ช)ของสตาร์ชทั้ง 4 ชนิด

3. คัดเลือกสตาร์ช 1 ชนิดเพื่อสังเคราะห์ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์แบบ 3 ขั้นตอน และแบบขั้นตอนเดียว
4. ศึกษาวิธีการทำให้ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์บริสุทธิ์ด้วยวิธีการใช้เมมเบรนชนิดแผ่นระดับนาโนฟิวเตรชัน
5. การเตรียมน้ำเชื่อมเข้มข้นของไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์
6. การศึกษาการส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติก

บทที่2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้าวและข้าวเหนียว

ข้าวเป็นธัญพืชที่มีลักษณะพิเศษ คือ ประเทศผู้ผลิตข้าวส่วนใหญ่จะส่งออกก็ต่อเมื่อเหลือจากการบริโภคภายในประเทศในขณะเดียวกันประเทศผู้นำเข้าก็จะนำเข้าข้าวก็ต่อเมื่อผลผลิตในประเทศ ไม่เพียงพอต่อการบริโภค เช่น ประเทศไทยจะมีการบริโภคข้าวประมาณร้อยละ 60 ของผลผลิตที่ได้ ส่วนที่เหลือจะทำการส่งออก ในขณะที่จีนและอินเดียเป็นผู้ผลิตข้าวรายใหญ่ของโลกจะไม่ได้ส่งออกข้าวมากนัก เนื่องจากมีประชากรหนาแน่น การผลิตจึงมุ่งที่ตอบสนองการบริโภคภายในประเทศ ซึ่งในบางปีก็ต้องนำเข้าจากประเทศผู้ผลิตอื่นๆ เช่น ไทย และเวียดนาม

องค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณของข้าวเปลือก และส่วนที่ได้จากการกะเทาะเปลือก ขัดข้าว และขัดมัน พบว่าแต่ละส่วนมีองค์ประกอบทางเคมีคือ โปรตีน ไขมัน เส้นใย เถ้า คาร์โบไฮเดรตที่ร่างกายย่อยได้ เส้นใยอาหาร และพลังงานที่แตกต่างกัน ดังตารางที่ 1 (Juliano, 1993)

ตารางที่ 1ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีร้อยละโดยประมาณของข้าวเปลือก และส่วนที่ได้จากขัดสีที่ความชื้น 14%

ส่วนของข้าว	โปรตีน	ไขมัน	เส้นใย	เถ้า	คาร์โบไฮเดรต	เส้นใยอาหาร	พลังงาน (กิโลแคลอรี)
ข้าวเปลือก	5.8-7.7	1.5-2.3	7.2-10.4	2.9-5.2	64-73	16.4-19.2	378
ข้าวกล้อง	7.1-8.3	1.6-2.8	0.6-1.0	1.0-1.5	73-87	2.9-3.9	363-385
ข้าวสาร	6.3-7.1	0.3-0.5	0.2-0.5	0.3-0.8	77-89	0.7-2.3	349-373
รำข้าว	11.3-14.9	15.0-19.7	7.0-11.4	6.6-9.9	34-62	24-29	399-476
แกลบ	2.0-2.8	0.3-0.8	34.5-45.9	13.2-21.0	22-34	66-74	265-332

ที่มา: Juliano (1993)

แป้งข้าวเหนียวมีลักษณะเป็นผงสีขาวละเอียดและมีขนาดของเม็ดแป้ง 2-9 ไมโครเมตร มีปริมาณอะไมโลสร้อยละ 0-2 มีคุณสมบัติการละลายน้ำได้ดีกว่าแป้งข้าวเจ้าอุณหภูมิการเกิดเจลาติไนซ์ 64.5 องศาเซลเซียสลักษณะของแป้งข้าวเหนียวที่ดีควรมีกลิ่นธรรมชาติของแป้งและไม่มีกลิ่นเหม็นหืนมีการนำแป้งข้าวเหนียวมาใช้เพื่อปรับปรุงคุณสมบัติของอาหารเช่นทำให้เกิดเจลควบคุมความคงตัวและเนื้อสัมผัสของอาหารจำพวกซอสเป็นต้น (กล้าณรงค์และเกื้อกูล, 2546) เมื่อเติมแป้งลงในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีน้ำจะทำให้คุณภาพของเนื้อสัมผัสอาหารเปลี่ยนไปเช่นทำให้เกิดความข้นความหนืดหรือเกิดเป็นเจล

องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของเมล็ดข้าวคือ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน และน้ำหรือความชื้น ซึ่งมีผลต่อคุณภาพของข้าวทั้งในลักษณะข้าวเปลือก ข้าวกล้อง และข้าวสาร โดยคาร์โบไฮเดรตซึ่งมีสตาร์ชเป็นหลัก และสตาร์ชนี้ประกอบด้วยอะไมโลส และอะไมโลเพกตินในสัดส่วนต่างๆกัน ขึ้นอยู่กับชนิดข้าว ทำให้ข้าวมีลักษณะในการหุงต้ม และคุณภาพในการกินต่างกันไป ตลอดจนมีผลต่อคุณค่าทางอาหาร เนื่องจากเป็นแหล่งสะสมพลังงาน สำหรับโปรตีนหลัก ซึ่งจะช่วยในการ

เจริญเติบโต ส่วนไขมันในข้าวจะอยู่เป็นกลุ่มไขมันที่มีรูปร่าง (lipid bodies) หรือหยดกลม (spherosomes) โดยอยู่ร่วมกับเมล็ดสตาร์ช และโปรตีน ในชั้นแอลิวโรน และคัพภะ จะมีผลในการเสื่อมเสียขณะเก็บรักษาเมล็ด รวมทั้งเมล็ดที่แปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ และน้ำหรือความชื้น มีผลต่อคุณภาพข้าวในด้านการเก็บรักษา เป็นต้น

สตาร์ชข้าว (rice starch)หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำเอาฟลาวร์ข้าวมาผ่านกระบวนการที่ทำให้ได้สตาร์ชที่บริสุทธิ์ โดยกำจัดส่วนขององค์ประกอบทางเคมีอื่นที่รวมตัวอยู่กับสตาร์ชออกไป เมื่อทำการขัดสีข้าวพบว่าองค์ประกอบทางเคมีของข้าวมีสตาร์ชเป็นองค์ประกอบอยู่มากที่สุด ทั้งนี้พบว่าสตาร์ชข้าวจะมีปริมาณโปรตีนน้อยกว่าร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนักแห้ง และมีปริมาณของไขมันต่ำ (น้อยกว่าร้อยละ0.1)

รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต และคณะ (2546)เตรียมสตาร์ชข้าวไทยพันธุ์ต่างๆโดยนำเมล็ดข้าวที่ผ่านการโม่เปียก (wet milling) เพื่อให้ได้ฟลาวร์ข้าว หลังจากนั้นทำการสกัดโปรตีนโดยใช้สารเคมีต่างๆได้แก่ สารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 5 เอทานอลร้อยละ 95 และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 0.35 พบว่าสตาร์ชข้าวที่เตรียมได้มีโปรตีนน้อยกว่าร้อยละ 0.5 มีปริมาณของไขมันน้อยกว่าร้อยละ 0.1 (โดยน้ำหนักแห้ง) มีปริมาณเถ้าร้อยละ 0.4 (โดยน้ำหนักแห้ง) และปริมาณสตาร์ชของข้าวทุกพันธุ์ที่ได้มากกว่าร้อยละ 95 (โดยน้ำหนักแห้ง)

2.1.1สมบัติทางโครงสร้างของข้าว

- ลักษณะรูปร่างและขนาดของเม็ดแป้ง

รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต และคณะ (2546) ศึกษาขนาดและรูปร่างของเม็ดสตาร์ชข้าวไทยพันธุ์ต่างๆ พบว่าสตาร์ชข้าวทุกพันธุ์มีขนาดและรูปร่างของเม็ดที่คล้ายคลึงกัน โดยมีขนาดอยู่ในช่วง 3-12 ไมโครเมตร และมีลักษณะหลายเหลี่ยม

Noosuk และคณะ (2003) พบว่าลักษณะของเม็ดสตาร์ชข้าวมีขนาดและรูปร่างเหมือนเม็ดสตาร์ชข้าวโดยทั่วไป คือมีขนาดเล็ก มีรูปร่างคล้ายหกเหลี่ยม ผิวหน้าของเม็ดสตาร์ชมีลักษณะเรียบและมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยอยู่ในช่วง 3-5 ไมโครเมตร

- ลักษณะโครงสร้างของข้าว

รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต และคณะ (2546) ศึกษาโครงสร้างผลึกของสตาร์ชข้าวไทย 16 พันธุ์ พบว่าสตาร์ชข้าวทุกพันธุ์มีโครงสร้างผลึกแบบ A และปาริดา ขุนแอ (2550) รายงานว่าโครงสร้างผลึกของสตาร์ชข้าวเหนียว สตาร์ชข้าวขาวดอกมะลิ 105 และสตาร์ชข้าวเฉี้ยงด้วยเครื่อง X-ray diffractometer (XRD) พบว่าสตาร์ชข้าวทุกชนิดมีรูปแบบโครงสร้างผลึกที่มีพีคเด่นชัดที่มุม (2θ) เท่ากับ 15.2, 17.0, 17.9และ 21.2º (2θ)ซึ่งเป็นรูปแบบของโครงสร้างผลึกแบบ A

2.1.2 สมบัติทางเคมีกายภาพของข้าว

- การเกิดเจลาทิไนเซชัน

เจลาทิไนเซชันเป็นกระบวนการเปลี่ยนแปลงของเม็ดแป้ง จากสภาวะที่มีการจัดเรียงของโมเลกุลภายในเม็ดแป้งอย่างมีระเบียบสู่สภาวะที่ไม่เป็นระเบียบ ซึ่งเกิดจากเมื่อมีการให้ความร้อนกับสารละลายแป้งจนอุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิเจลาทิไนเซชันของแป้ง จะทำให้พันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุล

คลายตัวลง เม็ดแป้งจะดูดซับน้ำและเกิดการพองตัวแบบผันกลับไม่ได้ทำให้ส่วนผสมนั้นมีความหนืดเพิ่มมากขึ้นและใสขึ้น โมเลกุลของเม็ดแป้งที่ละลายจะเริ่มละลายออกมา ทำให้เกิดเกิดการละลายมากขึ้น ความร้อนมีผลให้โครงสร้างผลึกถูกหลอมละลาย เม็ดแป้งจึงสูญเสียลักษณะการจัดเรียงตัวของโครงสร้างส่วนที่เป็นผลึกไปเป็นส่วนที่ไม่เป็นผลึก (Amorphousregion) ทำให้เม็ดแป้งมีการเปลี่ยนแปลงรูปร่างและโครงสร้างแบบไบร์รินเจนส์จะหายไป ทำให้ไม่สามารถมองเห็นลักษณะมอล-ตีสครอสบนเม็ดแป้งปรากฏอยู่ ซึ่งปรากฏการณ์นี้เรียกว่า การเกิดเจลาติไนเซชัน (Gelatinization) (Atwell *et al*., 1988; Blanshard, 1987; Biliaderis *et al*., 1980; Donovan, 1979; Evans and Haisman, 1982; Stevens and Elton, 1981; Zoble *et al.,* 1988) อุณหภูมิการเกิดเจลาติไนเซชันของแป้ง จะแตกต่างไปในแต่ละชนิดขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางเคมีที่มีอยู่ เช่น สัดส่วนของอะไมโลสและอะไมโลเพคติน ปริมาณไขมัน รวมทั้งการจัดเรียงตัวของโมเลกุลในเม็ดแป้ง กระบวนการเกิดเจลาติไนเซชัน ทำให้แป้งสูญเสียความสามารถในการเบี่ยงเบนแสงโพลาไรซ์ เกิดการพองตัว ทำให้ความหนืดเพิ่มขึ้น เม็ดแป้งแตกตัวและเกิดการละลาย การเกิดเจลาติไนเซชันสามารถตรวจสอบได้โดยดูการเปลี่ยนแปลงลักษณะโครงสร้างแบบไบฟรินเจนส์ซึ่งสังเกตได้จากกล้องจุลทรรศน์ที่มีแสงโพลาไรซ์ นอกจากนี้ยังสามารถตรวจสอบโดยเครื่อง Differential scanning calorimeter (DSC) ซึ่งจะตรวจวัดอุณหภูมิและบันทึกการเปลี่ยนแปลงปริมาณเอนทัลปี (Enthalpy) ของแป้ง เมื่อได้รับความร้อนและการตรวจสอบช่วงอุณหภูมิของเจลาติไน-เซชัน (Gelatinization temperature)

รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต และคณะ (2546)ศึกษาการเกิดเจลาติไนเซชันของสตาร์ชข้าวไทยพันธุ์ต่างๆด้วยเครื่อง Differential scanning calorimeter (DSC) พบว่าอุณหภูมิในการเกิดเจลาติไนเซ-ชันของสตาร์ชข้าวอยู่ในช่วง 65.84-77.15 ºCในขณะที่ Noosuk และคณะ (2003) ศึกษาการเกิดเจลาติไนเซชันของสตาร์ชข้างไทย 3 พันธุ์ โดยใช้เครื่อง DSC พบว่าการเกิดเจลาติไนเซชันของสตาร์ชข้าวอยู่ในช่วง 61-73 ºC

- การเกิดรีโทรเกรเดชัน

เมื่อแป้งได้รับความร้อนจนถึงอุณหภูมิที่เกิดเจลาติไนเซชันแล้ว ถ้ามีการให้ความร้อนต่อไปจะทำให้เม็ดแป้งพองตัวเพิ่มขึ้นจนถึงจุดที่พองตัวเต็มที่และแตกออก จุดที่เม็ดแป้งถูกทำลายนี้จะทำให้ความหนืดลดลง โมเลกุลของอะมัยโลสและอะมัยโลเพคตินกระจายออกมา และเมื่อปล่อยสารละลายแป้งทำให้เย็นตัวลง โมเลกุลที่อยู่ใกล้กันโดยเฉพาะโมเลกุลอะไมโลสจะเกิดการเรียงตัวกันใหม่ด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลได้เร็วกว่าอะไมโลเพคติน ทำให้เกิดเป็นร่างแหสามมิติโครงสร้างใหม่ (Recrystallization) ที่สามารถอุ้มน้ำและไม่มีการดูดซับน้ำเข้ามาอีก (Whistler and Bemiller, 1999) ทำให้แป้งมีความหนืดเพิ่มขึ้นและคงตัวมากขึ้นเกิดลักษณะเจลเหนียว ขุ่นและทึบแสง เรียกปรากฏการณ์นี้ว่า การเกิดรีโทรเกรเดชัน (Retrogradation) หรือการคืนตัว (Setback) (Atwell *et al*., 1988)

Noosuk และคณะ (2005) ศึกษาการเกิดรีโทเกรเดชันของสตาร์ชข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสต่างกันซึ่งได้ติดตามการเปลี่ยนแปลงค่า Storage modulus (G') ซึ่งเป็นค่าที่แสดงถึงความยืดหยุ่น (Elastic) ของสารกับเวลาและสัดส่วนของโมเลกุลที่มีการจัดเรียงตัวแบบเกลียวคู่ต่อส่วนอสัณฐาน (Ratio of Short-rang molecular order to Amorphose : RSA) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 ºCจาก

การศึกษาไม่พบการเปลี่ยนแปลงของค่าทั้งสองสำหรับสตาร์ชข้าวที่มีปริมาณอะมิโลสต่ำและอะมิโลสปานกลางในช่วงการเก็บรักษา 70 ชั่วโมง

2.2 แป้งมันสำปะหลัง

มันสำปะหลังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย เป็นพืชที่ทนแล้งได้ดีขยายพันธุ์ง่าย ต้นทุนในการเพาะปลูกไม่สูงจึงเป็นที่นิยมของเกษตรกรโดยทั่วไป โดยเฉพาะเกษตรกรที่มีรายได้น้อย มันสำปะหลังสามารถปลูกได้ทั่วไป ยกเว้นในบริเวณที่ดินมีความชื้นสูง ฝนตกหนักหรือดินเค็ม ดังนั้นจึงพบเห็นมันสำปะหลังปลูกได้ทั่วไป กระจายไปทุกภาค บริเวณที่มีการปลูกมากที่สุดคือ ภาค-ตะวันออกเฉียงเหนือและภาคตะวันออก มีผลผลิตทั่วประเทศอยู่ในปริมาณ 16 ถึง 18 ล้านตันหัวมันสดต่อปี จึงถือได้ว่าประเทศไทยเป็นผู้ผลิตรายใหญ่รายหนึ่งในโลก (ทั่วโลกมีการผลิตหัวมันสดประมาณ 160 ล้านตัน) ซึ่งการใช้ประโยชน์หัวมันสดภายในประเทศนั้นมีตั้งแต่ การแปรรูปเบื้องต้นในระดับเกษตรกรจนกระทั่งใช้เป็นวัตถุดิบในอุตสาหกรรมขนาดใหญ่(สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2558)

มันสำปะหลังเป็นพืชที่เก็บสะสมอาหารไว้ในราก เมื่อพืชมีการสร้างอาหารจากใบและส่วนที่เป็นสีเขียวแล้วจะสะสมในรูปของคาร์โบไฮเดรตคือแป้งไว้ในรากความสามารถในการสร้างและสะสมแป้งในรากมีความแตกต่างกันบ้าง เนื่องมาจากพันธุ์ของมันสำปะหลัง อายุเก็บเกี่ยว ปริมาณน้ำฝนในช่วงแรกก่อนการเก็บเกี่ยวและปัจจัยอื่นๆ จึงทำให้ส่วนประกอบของหัวมันอาจแตกต่างกันไป โดยทั่วไปหัวมันสำปะหลังที่มีอายุ 12 เดือน ที่ได้รับปริมาณน้ำฝนเพียงพอและไม่มีฝนตกชุกขณะเก็บเกี่ยว จะมีส่วนประกอบดังตารางที่ 2 จะเห็นว่าองค์ประกอบส่วนใหญ่ในรากนั้นนอกจากน้ำแล้วคือแป้ง ซึ่งมีร้อยละ 70-80 จึงถือว่ามันสำปะหลัง เป็นพืชที่เป็นแหล่งของคาร์โบไฮเดรตที่ให้พลังงานกับคนและสัตว์ได้ดีที่สุด โดยปกติหัวมันสำปะหลังที่มีปริมาณแป้งสูงปริมาณน้ำจะน้อยและความหนาแน่นของหัวจะมีสูง ฉะนั้นในการตรวจสอบหรือวัดปริมาณ (เชื้อแป้ง) อย่างเร็วที่นิยมทำกันคือการตรวจสอบความหนาแน่นโดยการชั่งน้ำหนักหัวมันในน้ำ ถ้าน้ำหนักหัวมันในน้ำน้อยแสดงว่าหัวมันปริมาณน้ำมาก และมีแป้งน้อย ในกรณีกลับกันถ้าน้ำหนักหัวมันในน้ำมากแสดงว่าหัวมันมีปริมาณน้ำน้อยและมีแป้งมาก(กล้าณรงค์ และคณะ,2541)

ตารางที่2ส่วนประกอบหลักในหัวมันสำปะหลัง

องค์ประกอบในหัวมัน	ปริมาณ (ต่อ 100 กรัมน้ำหนักหัวมัน)
น้ำ	60.21-75.32
เปลือก	4.08-14.08
เนื้อ(แป้ง)	25.87-41.88
ไซยาไนด์(PPM)	2.85-39.27
องค์ประกอบในเนื้อมัน	**ปริมาณ (ต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้งเนื้อมัน)**
แป้ง	71.9-85.0
โปรตีน	1.57-5.78
เยื่อใย	1.77-3.95

เถ้า	1.20-2.80
ไขมัน	0.06-0.43
คาร์โบไอเดรตที่ไม่ใช่แป้ง	3.59-8.66

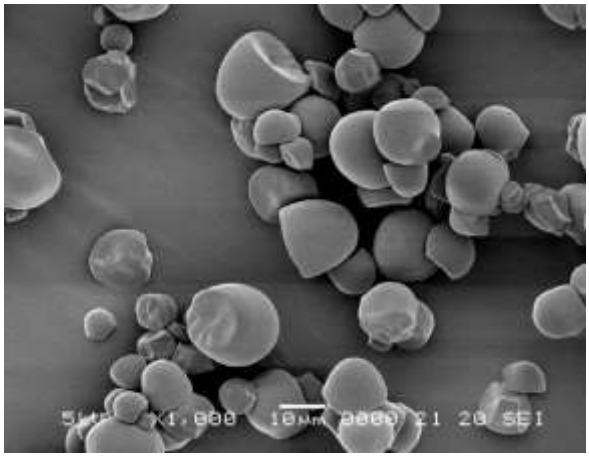
ที่มา: กล้าณรงค์ และคณะ (2541)

2.2.1 สมบัติทางโครงสร้างของมันสำปะหลัง

- ลักษณะรูปร่างและขนาดของเม็ดแป้ง

ลักษณะเม็ดสตาร์ชของมันสำปะหลังเมื่อส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดลำแสงดังแสดงในภาพที่ 1 พบว่าส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นรูปไข่ซึ่งปลายข้างหนึ่งถูกตัดออกผิวตรงส่วนที่ถูกตัดออกเว้าเข้าข้างในบางเม็ดอาจมีริมด้านหนึ่งโค้งอีกด้านหนึ่งแบนไม่สม่ำเสมอกันพบรอยบุ๋ม (hilum) อย่างชัดเจนสตาร์ชแต่ละเม็ดจะมีเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยประมาณ 15 ไมโครเมตรและมีความยาวตั้งแต่ 5 ถึง 35 ไมโครเมตร (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2521)

Defloor และคณะ (1998) รายงานว่าแป้งมันสำปะหลังมีขนาดเม็ดแป้งอยู่ในช่วงระหว่าง 3-32 ไมโครเมตร ซึ่งสภาวะสิ่งแวดล้อมในการเพาะปลูกมีผลต่อขนาดเม็ดแป้ง โดยในสภาวะแล้งมันสำปะหลังจะมีขนาดของเม็ดเล็กกว่าสภาวะที่มีฝน โดยมีขนาดอนุภาคโดยเฉลี่ยระหว่าง 9.5-12.7 ไมโครเมตร และ 11.8-13.6 ไมครอน ตามลำดับ



ภาพที่ 1 เม็ดสตาร์ชของมันสำปะหลังจากกล้องอิเล็กตรอนชนิดส่องกราดลำแสง
ที่มา: สุดารัตน์ (2548)

- ลักษณะโครงสร้างของเม็ดแป้ง

Kasemsuwan และคณะ (1998) ศึกษาลักษณะโครงสร้างผลึกแป้งมันสำปะหลังและแป้งถั่วเขียวด้วยเครื่อง X-ray diffractometer พบว่าแป้งถั่วเขียวจะมีลักษณะโครงสร้างผลึกป็นแบบ A แต่แป้งมันสำปะหลังจะให้ลักษณะโครงสร้างแบบ C_A (ลักษณะโครงสร้างผลึกแบบ C ที่ใกล้เคียงแบบ A) ทั้งนี้เป็นผลจากแป้งมันสำปะหลังจะมีส่วนของผลึกมากกว่าแป้งถั่วเขียวซึ่งจะมีปริมาณอะไมโลสสูงกว่า (ร้อยละ 37)

ในขณะที่การศึกษาของ Sriburi (1999) รายงานว่าลักษณะโครงสร้างผลึกของแป้งสาคูและแป้งมันสำปะหลัง จะมีลักษณะโครงสร้างผลึกเหมือนกลุ่มแป้งจากธัญพืช คือมีโครงสร้างผลึกแบบ A เช่นเดียวกับแป้งสาลี แป้งข้าวโพด แป้งข้าวเจ้า และแป้งข้าวโอ๊ต

2.2.2 สมบัติทางเคมีกายภาพของแป้งมันสำปะหลัง

- การเกิดเจลาทิไนเซชัน

Kasemsuwan และคณะ (1998) ตรวจวิเคราะห์อุณหภูมิการเกิดเจลาติไนเซชันของแป้งมันสำปะหลังด้วยเครื่อง DSC พบว่าแป้งมันสำปะหลังมีค่าอุณหภูมิเริ่มต้นของการเกิดเจลาติไนเซชันเท่ากับ 63.8 ºC ช่วงของอุณหภูมิการเกิดเจลาติไนเซชันเฉลี่ยเท่ากับ 61.5-82.2 ºC และจากการศึกษาของ Gunaratne และ Hoover (2002) รายงานว่าอุณหภูมิของการเกิดเจลาติไนเซชันของแป้งมันสำปะหลังจะมีค่าอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 63-81.5 ºC

จากรายงานของ Li และ Yen (2001) ศึกษาอุณหภูมิการเกิดเจลาติไนเซชันของแป้งมันสำปะหลังด้วยเครื่อง DSC พบว่าแป้งมันสำปะหลังมีค่าอุณหภูมิเริ่มต้นของการเกิดเจลาติไนเซชัน (Onset temperature, T_0) เฉลี่ยเท่ากับ 64.5 C อุณหภูมิสูงสุดของการเกิดเจลาติไนเซชัน (Peak temperature, T_P) มีค่าเท่ากับ 71 ºC

2.3 แป้งสาคู

สาคูเป็นพืชเมืองร้อนตระกูลปาล์ม อยู่ในวงศ์ Palme ที่พบมีอยู่ทั่วไปในประเทศไทยมี 2 ชนิด คือชนิดที่มียอดสีแดงและไม่มีหนาม (Metroxylon sagu Rottb.) และชนิดที่มียอดยาวและมีหนาม (Metroxylon rumphii Mart.) สาคูเป็นพืชที่ปลูกง่าย สามารถขึ้นได้ดีในน้ำลุ่ม (มีน้ำขัง) และที่ชื้นแฉะหรือที่ระบายน้ำไม่ดีพืชอื่นไม่สามารถขึ้นได้ โดยเฉพาะพื้นที่ชายเลนทางภาคใต้ของประเทศไทย (นพรัตน์ บำรุงรัตน์,2536) ต้นสาคูสามารถขยายพันธุ์ได้โดยการแตกหน่อ เมื่อต้นเก่าตายลงก็จะมีต้นใหม่ขึ้นมาทดแทนอยู่เรื่อยๆ จึงไม่จำเป็นต้องปลูกทดแทน และข้อดีอีกอย่างหนึ่งของสาคูคือ จะเป็นตัวกำจัดวัชพืชโดยใบของต้นสาคูที่ร่วงลงมาปกคลุมพื้นดินหนาแน่นป้องกันไม่ให้วัชพืชขึ้นได้ เมื่อสาคูแก่เต็มที่จะมีดอกจั่นแตกออกมาตรงส่วนยอด เมื่อออกดอกและให้ผลแล้วสาคูต้นนั้นก็จะสิ้นสุดการเจริญและยืนต้นตายเช่นเดียวกับต้นลาน ปกติต้นสาคูจะเริ่มโค่นเพื่อนำส่วนลำต้นมาสกัดแป้งเมื่ออายุประมาณ 9-10 ปี ซึ่งเป็นระยะท้อง (pregnant state)โดยพบว่าที่ส่วนยอดจะเริ่มสร้างดอก หลังจากนั่นต้นสาคูจะกลวงและตายในที่สุด สาคูต้นหนึ่งสามารถให้ผลผลิตแป้งได้สูงถึง 100-150 กิโลกรัม (ไพรัตน์ โสภโณดร,2530) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับพันธุ์ อายุ และพื้นที่การเพาะปลูก

การผลิตแป้งจากต้นสาคูในประเทศไทยทำกันมากในภาคใต้ตั้งแต่จังหวัดชุมพรลงมา (กรรมวิธีการผลิตแป้งสาคูดังภาพที่ 2) โดยนำต้นสาคูปอกเปลือกเหลือแต่ในไส้ใน ซึ่งส่วนไส้ในต้นสาคูนั้นมีแป้งเป็นองค์ประกอบอยู่ประมาณร้อยละ 30 น้ำ ร้อยละ 50 และส่วนประกอบอื่นๆอีกร้อยละ 20 (นพรัตน์,2536) นำส่วนไส้มาย่อยให้เป็นผงละเอียด แล้วนำผงแป้งที่ได้ไปร่อนเพื่อให้แป้งตกลงในอ่างที่มีน้ำรองรับอยู่แล้วทำเช่นนี้จนแป้งออกหมดเหลือแต่กาก แป้งที่ได้จะมีสีขาวออกเหลืองและนำไปผ่านกรรมวิธีต่างๆจนได้แป้งสาคูที่มีสีขาวไปทำแห้ง

ปัจจุบันนี้การผลิตแป้งสาคูมีไม่มากนัก เนื่องจากกรรมวิธีการผลิตมีหลายขั้นตอนมีการใช้ประโยชน์ในขอบเขตที่จำกัด ประกอบกับในปัจจุบันนี้มีแป้งชนิดอื่นเข้ามาใช้แทนที่แป้งสาคูได้ เช่น แป้งมันสำปะหลัง เป็นต้น การใช้ประโยชน์จากแป้งสาคูจึงน้อยลง

ภาพที่ 2ขั้นตอนการสกัดแป้งสาคู

ที่มา: ดัดแปลงจาก กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ (2543)

ไพรรัตน์ (2530) ศึกษาการฟอกสีของแป้งสาคูด้วยสารละลายโปแตสเซียมเมตตาไบซัลเฟตที่มีความเข้มข้น 600 mg/kg แป้งสาคูดิบ แป้งจะมีสีขาวมากที่สุด และมีการยอมรับผลิตภัณฑ์มากที่สุด ปัจจุบันการผลิตแป้งสาคูมีไม่มากนักเพราะว่าการทำแป้งจากต้นสาคูนั้นมีกรรมวิธีในการผลิตหลายขั้นตอน มีการใช้ประโยชน์ในขอบเขตที่จำกัด ประกอบกับปัจจุบันสามารถใช้แป้งชนิดอื่นเข้ามาทดแทนอีกด้วย เช่น แป้งมันสำปะหลัง เป็นต้น

2.3.1 องค์ประกอบทางเคมีของสาคู

Varavinit และคณะ (1996) ศึกษาองค์ประกอบต่างๆของแป้งสาคูระหว่างก่อนและหลังกระบวนการฟอกสีแป้งสาคูโดยการล้างด้วยน้ำ แสดงในตารางที่ 4 โดยพบว่าองค์ประกอบในแป้งสาคูที่ลดลงได้แก่ ความชื้นร้อยละ 32.8 ไขมันร้อยละ 14.3 เถ้าร้อยละ 4 เส้นใยร้อยละ 16.7 และโปรตีนร้อยละ 9.1 ส่วนองค์ประกอบที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นสูงคือ แป้งร้อยละ 7.6

ตารางที่ 3องค์ประกอบทางเคมีของแป้งสาคูก่อนและหลังการสกัดในกระบวนการฟอกสีแป้ง

องค์ประกอบ (%)	ก่อนการสกัด	หลังการสกัด
ความชื้น	18.60	12.5
ไขมัน	0.07	0.06
เถ้า	0.50	0.48
เส้นใย	0.12	0.10
โปรตีน	0.11	0.10
แป้ง	80.60	86.76

ที่มา: Varavinit และคณะ (1996)

2.3.2 สมบัติทางโครงสร้างของสาคู

- ลักษณะรูปร่างและขนาดของเม็ดแป้ง

เม็ดแป้งสาคูมีลักษณะรูปร่างคล้ายรูปไข่ที่มีรอยตัด (Ahmad *et al*., 1999: Sim *et al*., 1991) ขนาดของเม็ดแป้งสาคูมีตั้งแต่ 20-50 ไมครอน (ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 35 ไมครอน) ซึ่งเม็ดแป้งสาคูมีขนาดใหญ่เมื่อเปรียบเทียบกับแป้งชนิดอื่น เช่น แป้งข้าวโพด แป้งสาลี แป้งข้าวเจ้า และแป้งมันสำปะหลัง แต่มีขนาดเล็กกว่าแป้งมันสำปะหลัง (Piyachomkwan *et al*., 1999) และแป้งสาคูมีสีชมพูเนื่องจากภายในเนื้อปาล์มในส่วนของ cortex ประกอบไปด้วยสารฟีนอล สีจึงสามารถเกิดได้จากการทำงานของน้ำย่อยฟีนอลออกซิเดส หรือปฏิกิริยาเคมีของสารฟีนอลกับธาตุเหล็กระหว่างสกัด อย่างไรก็ตามขนาดเม็ดแป้งจะขึ้นอยู่กับอายุของลำต้นสาคูที่นำมาสกัดและส่วนของลำต้น (กล้าณรงค์ ศรีรอต และคณะ, 2542)

ตารางที่ 4คุณสมบัติของแป้งสาคู

คุณสมบัติ	**สาคู**
ขนาดเม็ดแป้ง (ไมครอน)	20-60
โครงสร้างผลึก	C
ปริมาณอะไมโลส (%)	18-21
ขนาดอะไมโลส (degree of polymerization)	2,500-3,000
อุณหภูมิที่เริ่มเปลี่ยนแปลงความหนืด (pasting temperature, °C)	76-77
อุณหภูมิเริ่มต้นเกิดเจลาติไนซ์ (Onset temperature, T_0, °C)	63-69
อุณหภูมิสูงสุดที่เกิดเจลาติไนซ์ (Peak temperature, T_p, °C)	71-74

ที่มา: กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ (2546)

- ลักษณะโครงสร้างของเม็ดแป้งสาคู

Ahmad และคณะ (1999) วิเคราะห์ลักษณะโครงสร้างผลึกของเม็ดแป้งสาคู โดยใช้เทคนิคการหักเหของแสงโดยใช้เครื่อง X-ray diffractometer (XRD) พบว่าเม็ดแป้งสาคูมีลักษณะการจัดเรียงโครงสร้างผลึกเป็นแบบ C ซึ่งเกิดจากลักษณะร่วมกันระหว่างโครงสร้างผลึกแบบ A และ B โดยเม็ดแป้งสาคูมีโครงสร้างที่เป็นผลึกแบบ A และ B เท่ากับร้อยละ 65 และร้อยละ 35 ตามลำดับ โดยลักษณะโครงสร้างผลึกแบบ C จะพบจากแป้งที่ค่อนข้างมีปริมาณอะมิโลสสูง (เช่น แป้งจากพืชตระกูลถั่ว) ซึ่งจะเหมือนกับแป้งสาคู

2.3.3 สมบัติทางเคมีกายภาพของสาคู

- การเกิดเจลาทิไนเซชัน

Ahmad และคณะ (1999) ศึกษาเกี่ยวกับสมบัติเชิงฟิสิกส์ของแป้งสาคู 11 ตัวอย่าง และเปรียบเทียบกับแป้งข้าวโพด แป้งข้าวเหนียว แป้งมันสำปะหลัง แป้งมันฝรั่ง และแป้งถั่วลันเตา โดยตรวจวิเคราะห์อุณหภูมิด้วยเครื่อง DSC พบว่าอุณหภูมิการเกิดเจลาติไนเซชันของแป้งสาคูโดยเฉลี่ยอยู่ระหว่าง 69.4-70.1 °C ซึ่งอุณหภูมิการเกิดเจลาติไนเซชันของแป้งสาคูจะมีค่าสูงกว่าแป้งข้าวโพด แป้งถั่วลันเตา และแป้งมันฝรั่ง ซึ่งมีค่าอุณหภูมิของการเกิดเจลาติไนเซชันเท่ากับ 68, 63 และ 66 °C ตามลำดับ

- การเกิดรีโทรเกรเดชัน

Piyachomkwan และคณะ (1999) ตรวจวิเคราะห์การเกิดรีโทรเกรเดชันของแป้งสาคู พบว่าความสามรถในการเกิดรีโทรเกรเดชันของแป้งสาคูมีค่าประมาณร้อยละ 30-50 ซึ่งจะมีลักษณะเหมือนกันกับแป้งมันสำปะหลัง และจากการศึกษาของ Kumkanokrat (2001) รายงานว่าแป้งสาคูจะเกิดการแยกตัวของน้ำจากเจลต่ำกว่าแป้งถั่วเขียว ซึ่งส่งผลให้แป้งสาคูมีความคงตัวต่อการแช่เยือกแข็งสูงกว่าแป้งถั่วเขียว กล่าวคือ แป้งสาคูจะมีความสามารถในการเกิดรีโทรเกรเดชันหรือการคืนตัวต่ำกว่าแป้งถั่วเขียว

ในการคืนตัวของแป้งขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ ได้แก่ ชนิดแป้ง ความเข้มข้นของแป้ง อุณหภูมิ ระยะเวลา ความเป็นกรด-เบส ของสารละลาย ปริมาณและขนาดของอะไมโลสและอะไมโลเพคตินและองค์ประกอบทางเคมีอื่นๆในแป้ง (กล้าณรงค์ ศรีรอต และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ, 2543)

- การเปลี่ยนแปลงความหนืดของแป้ง

ความหนืดเป็นสมบัติที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของแป้ง เมื่อแป้งได้รับความร้อนเม็ดแป้งจะดูดซับน้ำและเกิดการพองตัวขึ้นเนื่องจากพันธะไฮโดรเจนของโมเลกุลถูกทำลาย ซึ่งการพองตัวของเม็ดแป้ง ทำให้น้ำบริเวณรอบๆเม็ดแป้งเหลือน้อยลง เม็ดแป้งจึงเคลื่อนไหวได้ยาก มีผลให้เกิดความหนืดขึ้น (Zobel, 1988) อุณหภูมิที่เริ่มเกิดความหนืดเรียกว่า อุณหภูมิเริ่มเปลี่ยนค่าความหนืด (Pasting temperature) เมื่อเพิ่มอุณหภูมิเม็ดแป้งก็จะพองตัวมากขึ้น ความหนืดจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนถึงจุดที่ความหนืดสูงสุด (Peak viscosity) ซึ่งเป็นจุดที่บ่งบอกถึงเม็ดแป้งพองตัวเต็มที่ และเมื่อให้ความร้อนต่อไปอีกรวมทั้งมีการกวนอย่างต่อเนื่อง เม็ดแป้งจะแตกตัวและโมเลกุลอะไมโลสกระจายออกมา ทำให้ความหนืดลดลง เมื่อมีการลดอุณหภูมิลง ทำให้เกิดการจัดเรียงตัวกันใหม่ของโมเลกุลอะไมโลส หรือการเกิดรีโทรเกรเดชัน (Atwell *et al*., 1988) ส่งผลให้ความหนืดเพิ่มขึ้นอีก ซึ่งเรียกว่า ความหนืดสุดท้าย (Final viscosity)

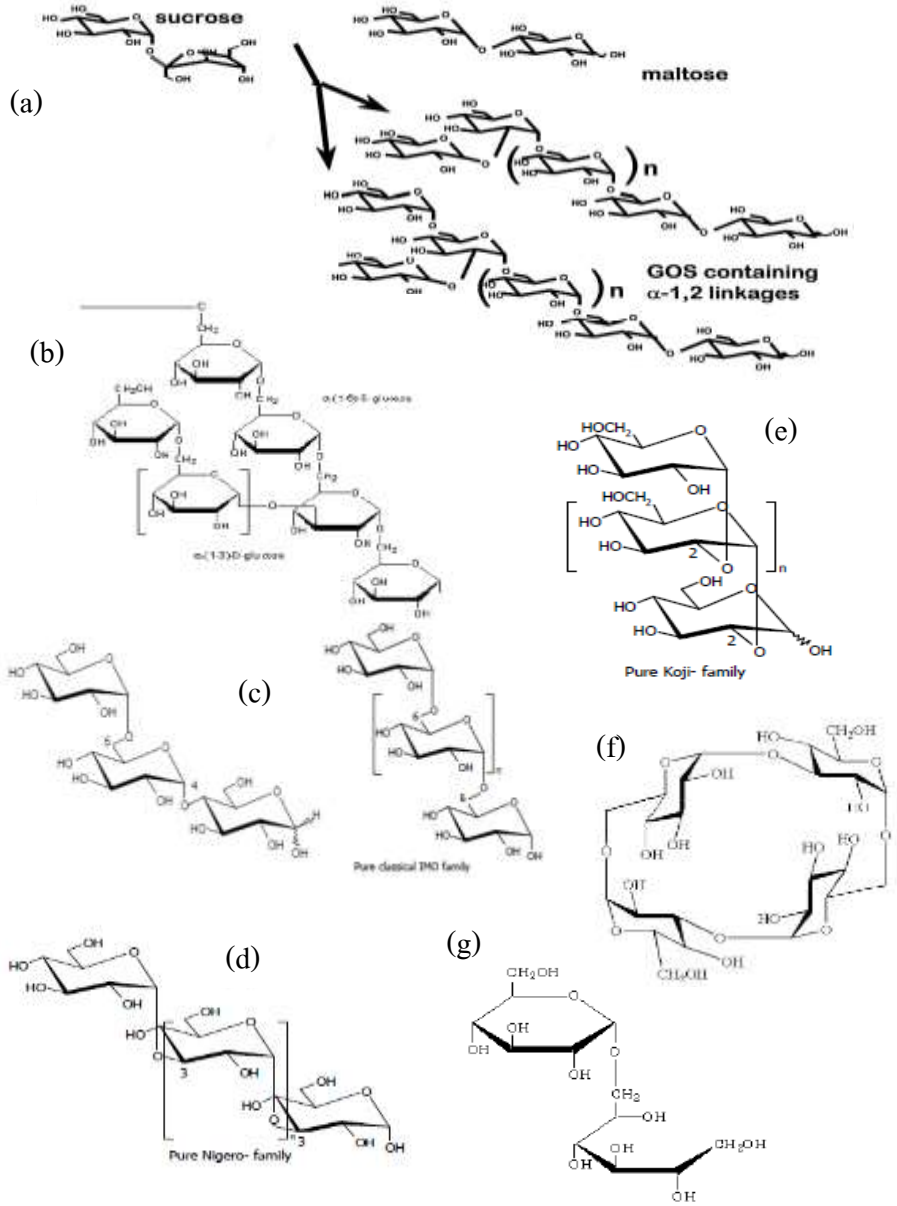
2.4 ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Isomaltooligosaccharides, IMO)

2.4.1โครงสร้างไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์

ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสต่อกันด้วยพันธะหลักเป็นα,1-6 โดยทั่วไป IMOsyrup ทางการค้าจะประกอบด้วยทั้งพันธะ α,1-6 และ α,1-4 (Yun *et al.*, 1994a) นอกจากนี้ IMOsyrup ทางการค้ายังพบโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีพันธะผสม α,1-6 และ α,1-3 (nigerooligosaccharides) หรือα,1-2 (kojioligosaccharides) ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ผลิตด้วยเอนไซม์ dextransucrase เรียกว่า กลูโคโอลิโกแซคคาไรด์ (Paul *et al.,*1992; Remaud-Simeon *et al.,*1994) การผลิตโอลิโกเดกซ์เตรน (oligodextran) ทำได้โดยการควบคุมการย่อยสลายของdextran น้ำตาลหน่วยย่อยที่เกิดขึ้นสามารถเปลี่ยนให้อยู่ในรูปน้ำตาลแอลกอฮอล์ได้แก่ glucitol, mannitol, maltitol หรือ Isomalt^{R}ดังภาพที่ 3 สารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นนี้อาจเรียกอีกชื่อว่า “ALO” (Anomalously Linked Oligosaccharides) ซึ่งเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่เอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารย่อยได้น้อยมาก และมีประโยชน์ต่อเซลล์เจ้าบ้าน (Moynihan, 1998) นอกจากนี้ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์สามารถสังเคราะห์ได้ด้วยเอนไซม์ transglucosidase ที่มีการต่อพันธะแบบจำเพาะเจาะจง (Pazur and French,

1951; McCleary and Gibson, 1989; Yun *et al.*, 1994b; Wang and Rakshit, 2000; Kato *et al.*, 2002; Kuriki *et al.*, 1992; Nakakuki, 2005)

โครงสร้างของไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์มี DP ในช่วง 2-10 และมีการต่อพันธะในรูปแบบ(α,1-2, 3, 4 หรือ 6) มีสัดส่วนและตำแหน่งของพันธะที่จำเฉพาะ โดยไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่พบส่วนใหญ่ คือ isomaltose[α-D-Glc*p*-(1,6)-α-D-Glc*p*], panose [α-D-Glc*p*-(1,6)-α-D-Glc*p*-(1,4)-D-Glcp], isomaltotriose [α-D-Glcp-(1,6)-α-D-Glcp-(1,6)-D-Glcp], kojibiose [α-D-Glcp-(1,2)-D-Glcp], nigerose [α-D-Glcp-(1,3)-D-Glcp], Glc-maltotriose[α-D-Glcp-(1,6)-(α-D-Glcp-(1,4))2-D-Glcp], Glc-panose[α-D-Glcp-(1,6)-α-D-Glcp-(1,6)-α-D-Glcp-(1,4)-D-Glcp] และ isomaltotetraose [α-D-Glcp-(1,6)-(α-D-Glcp-(1,6))2-D-Glcp]



ภาพที่ 3 พรีไบโอติกที่อยู่ในกลุ่ม ALO (Anomalously Linked Oligosaccharides)
(a) Glucooligosaccharides; (b) Oligodextran; (c) Isomaltooligosaccharides;
(d) Nigerooligosaccharides; (e) Kojioligosaccharides;

(f) Cyclo-isomaltooligosaccharides; (g) Isomaltitol
ที่มา: Goffin และคณะ (2010)

2.4.2 เอนไซม์ที่ใช้ในการผลิตไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์

ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ทางการค้าผลิตด้วยเอนไซม์ที่สกัดได้จากแหล่งธรรมชาติ (Chung, 2002) เอนไซม์ที่ใช้ในปัจจุบันแบ่งได้ 2 กลุ่มหลักๆ คือ glycosyl-transferases และ glycosidases(Plou *et al.*, 2007) เอนไซม์ที่นิยมใช้ในการสังเคราะห์ได้แก่ ALO จะมีความจำเพาะในการผลิตร่วมกัน เช่น 1,4-α -glucan 6-α-glucosyltransferase (EC 2.4.1.24), dextransucrase (EC 2.4.1.5), dextrin dextranase (EC 2.4.1.2), mutansucrase (EC 2.4.1.5.) และ alternansucrase (EC 2.4.1.140) เอนไซม์เหล่านี้สามารถใช้น้ำตาลเชิงเดี่ยวจากวัตถุดิบทางการเกษตรเป็นสับสเตรตเพื่อสังเคราะห์โอลิโกแซคคาไรด์ โดยประกอบด้วย 2 ขั้น คือ การย่อยพอลิแซคคาไรด์ เช่น สตาร์ชด้วยเอนไซม์กลุ่ม glycosidases เพื่อให้ได้น้ำตาลหน่วยย่อยและขั้นที่ 2 เป็นการนำน้ำตาลหน่วยย่อยมาต่อกันด้วยเอนไซม์กลุ่ม transglycosylation เอนไซม์เหล่านี้อาจได้มาจากแหล่งธรรมชาติหรือจากจุลินทรีย์ที่ผ่านการดัดแปลงพันธุกรรม แหล่งของเอนไซม์ได้แก่ แบคทีเรีย และรา โดยพบว่าแหล่งของเอนไซม์มีผลต่อปริมาณผลผลิตและ DP ของโอลิโกแซคคาไรด์ที่สังเคราะห์ได้

2.4.3 เอนไซม์ไกลโคซิเดส (Glycosidases)

เอนไซม์กลุ่มนี้ทำหน้าที่ย่อยคาร์โบไฮเดรตเพื่อให้ได้น้ำตาลหน่วยย่อยเอนไซม์ในกลุ่มนี้ได้แก่ α-Glucosidases (EC 3.2.1.20, α-D-glucoside glucohydrolase) กระตุ้นการปลดปล่อยของ glucose จากการตัดปลาย non-reducing ของ α-glucans นอกจากนี้เอนไซม์กลุ่มนี้ยังมีกิจกรรมของการย้ายหมู่ด้วย

การควบคุมปฏิกิริยาจากการย่อยสามารถทำได้โดยการควบคุมการสังเคราะห์ที่มีปัจจัยดังต่อไปนี้ การเพิ่มความเข้มข้น การลดปริมาณน้ำ หรือการกำจัดสารผลิตภัณฑ์ โดยการตกตะกอน หรือการสกัด เป็นต้น

เอนไซม์กลุ่ม α-Glucosidases สามารถแยกได้จาก สัตว์แมลง พืช เชื้อราและแบคทีเรียนำมาผ่านการทำให้บริสุทธิ์ แหล่งจุลินทรีย์ได้แก่*Aspergillus niger, Aspergillus nidulans* และ *Saccharomyces* เป็นเอนไซม์ที่มีทั้งกิจกรรมการย่อยและการย้ายหน่วยน้ำตาลมาต่อกันเพื่อให้ได้พันธะชนิด α,1-6การผลิต isomaltose, panose and tetrasaccharides ซึ่งเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่ต่อกันด้วยพันธะ α,1-6โดยน้ำตาลเริ่มต้นเป็น maltose ใช้เอนไซม์ที่แยกได้จากเชื้อ *Aspergillus carbonarious* นอกจากนี้เอนไซม์นี้ยังมีความจำเพาะกับสตาร์ชเพื่อใช้ผลิต kojibiose, nigerose,maltose, และ isomaltose ในขณะที่α-glucosidases จากเชื้อ *Bacillusstearothermophilus* และยีสต์ที่ใช้ในการผลิตเบียร์สามารถสังเคราะห์โอลิโกแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยพันธะα,1-3, α,1-4 และ α,1-6เอนไซม์ α-glucosidases ที่แยกได้จากเชื้อ *Paecilomyces lilacinus* โดยใช้น้ำตาลเริ่มต้นเป็นmaltose จะได้เป็น nigerosyl และ kojibiosyl-oligosaccharides ขณะที่เอนไซม์ที่ได้จาก *Xantophyllomyces dendrorhous*สามารถสังเคราะห์โอลิโกแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยพันธะα,1-2, α,1-4 และ α,1-6 การผลิตไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ทางการค้านิยมใช้เอนไซม์จากเชื้อ *Aureobasidium pullulans*โดยวิธีการตรึงเซลล์

ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ได้จากปฏิกิริยา transglucosylation โดยใช้เอนไซม์ neopullulanase (EC 3.2.1.135) จาก*Bacillus stearothermophillus* ที่ผ่านการทำให้เกิดการกลายพันธุ์ด้วยวิธี site-directed mutagenesis เอนไซม์มีกิจกรรมการย่อย pullulan และสตาร์ชที่ถูกย่อยบางส่วน ผลผลิตที่ได้เป็นไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์มีผลผลิตเพิ่มขึ้น 60% เทียบกับวิธีดั้งเดิมที่มีผลผลิต 45%

การผลิต oligodextrans ทำได้โดยการย่อยdextran ด้วยเอนไซม์ endodextranase (EC 3.2.1.11) จากเชื้อ*Penicillium lilacinum*หรือใช้เอนไซม์ glucodextranase (EC 3.2.1.70) จากเชื้อ *Arthrobacter globiformis*หรือเอนไซม์ isomalto-dextranase จากเชื้อ*Arthrobacter globiformis*

2.4.4 เอนไซม์ทรานส์เฟอเรส(Transferases)

เอนไซม์กลุ่ม Transferase ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการย้ายหน่วยน้ำตาลมาต่อกันที่ต้องการ co-factors และ substrates ซึ่งได้แก่ สตาร์ช เดกซ์แทรน หรือซูโครส

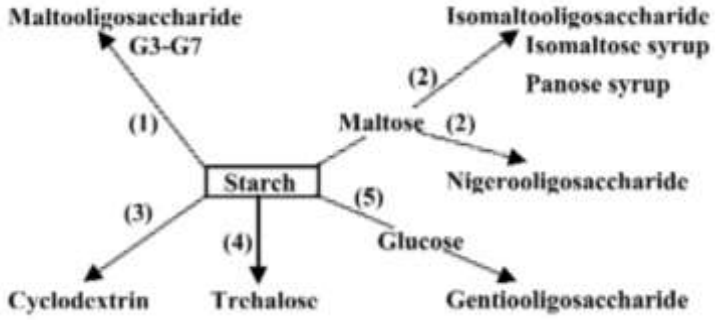
วิธีการผลิตแบบดั้งเดิมในอุตสาหกรรมมีต้นทุนต่ำประกอบด้วยขั้นตอนแรกเรียกว่าขั้นตอนการย่อยสตาร์ชบางส่วน (liquefied) ใช้เอนไซม์จากแบคทีเรียเช่น α-amylase จาก *Bacillus licheniformis* หรือ *Bacillus stearothermophilus* (EC 3.2.1.1.) หรือเอนไซม์α-amylase จากเชื้อราและย่อยต่อด้วยเอนไซม์β-amylase (EC 3.2.1.2.) เอนไซม์ใช้ตัดโซ่แขนงได้แก่ pullulanase (EC 3.2.1.41) เพื่อย่อยให้ได้น้ำตาลมอลโตสและกลูโคส ขั้นที่สองเป็นการนำน้ำตาลมอลโตสและกลูโคสมาต่อกันด้วยเอนไซม์ transglucosidase (EC 2.4.1.24) จาก *Aspergillus sp*. และการย้ายหมู่เพื่อมาต่อโซ่ข้างให้เป็นไอโซมอลโทสเกิดขึ้นบ่อยที่ 6-OH group ของน้ำตาลกลูโคสหรือ panose เกิดจาก maltose ถูกต่อโซ่ข้างด้วยกลูโคส เอนไซม์สามารถย้ายหมู่ 2-OH หรือ 3-OH เพื่อมาต่อกันเป็น kojibiose หรือ nigerose

Maltose และ maltodextrins สามารถเป็นได้ทั้ง glucosyl donor และ acceptor ในปฏิกิริยาที่เกิดจากการทำงานของเอนไซม์ transglucosidase จากเชื้อ*Aspergillus niger*ซึ่งทำปฏิกิริยาเฉพาะโอลิโกแซคคาไรด์ที่มี DP ต่ำ แหล่งของเอนไซม์กลุ่ม transferases มีผลต่อชนิดและปริมาณไอโซ-มอลโตโอลิโกแซคคาไรด์

เอนไซม์กลุ่ม Glucosyltransferase (EC 2.4.1.5) สามารถย่อยน้ำตาลซูโครสเป็นกลูโคสอิสระและนำมาต่อกันเป็นโซ่ข้างได้เป็น dextran ที่ประกอบด้วยพันธะหลักเป็น α,1-6และพันธะรองเป็นα,1-2, α,1-3 และ α,1-4 นอกจากนี้ชนิดพันธะและความเข้มข้นของโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้ยังขึ้นกับชนิดของสับสเตรตน้ำตาลที่ใช้

เอนไซม์dextransucrase ได้จากเชื้อ *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512F ใช้ในการสังเคราะห์ dextran ที่มีองค์ประกอบเป็น α,1-6 ร้อยละ 95 และα,1-3 ร้อยละ 5 ขณะที่เอนไซม์ที่ได้จากเชื้อ *L. mesenteroides* B-1299 ได้ dextran ที่มีองค์ประกอบเป็น α, 1- 6 ร้อยละ 65, α,1-2ร้อยละ 30 และ α,1-3 ร้อยละ 5 กลูโคโอลิโกแซคคาไรด์มี DP อยู่ระหว่าง 2-7 และประกอบด้วยพันธะ α,1-2 เป็นหลัก

ปฏิกิริยาการผลิตโอลิโกแซคคาไรด์จากสตาร์ชสามารถแสดงได้ดัง Scheme A



Scheme A: โอลิโกแซคคาไรด์ที่สามารถผลิตได้จากสตาร์ช (1) Malto-oligosaccharide-forming amylase; (2) α-Glucosidase; (3) CGTase; (4) MTSase, MTHase; (5) β-Glucosidase.

ที่มา: Nakakuki (2002)

2.4.5การผลิตไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์

การศึกษาการสังเคราะห์ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์เริ่มขึ้นในประเทศญี่ปุ่น เมื่อประมาณ 50 ปีที่ผ่านมาจนปัจจุบันอุตสาหกรรมการผลิตส่วนใหญ่ยังอยู่ในเอเชีย เนื่องจากวัตถุดิบที่ใช้เป็นกลุ่ม แป้งจากธัญพืชที่มีปริมาณสูงในเอเชีย อย่างไรก็ตามไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์เริ่มได้รับอนุญาตให้ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารมากขึ้น เช่น มีการให้ใช้เป็นวัตถุดิบเจือปนอาหารในแคนาดา อเมริกา และรออยู่ในขั้นรับรองโดยกลุ่มประเทศยุโรป

ผลการวิจัยเมื่อเร็วๆนี้พบว่าสามารถผลิตไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ได้สูง 50-70% ของวัตถุสตาร์ชเริ่มต้น ดังรายละเอียดในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ขั้นตอนการผลิตไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์

วัตถุดิบ	สภาวะการผลิต	ผลผลิต IMO	อ้างอิง
Rice crumbs	- rice crumbs มีความเข้มข้น 35 % (w/v) - ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 93-95 °C เป็นเวลา	53.16 %	Pan and Lee (2005)

	1-2 ชั่วโมง - ใช้เอนไซม์ Termamyl0.15 %, Fungamyl 0.1% และ Transglucosidase L 0.1%		
Banana flour	- banana flourมีความเข้มข้น 250 g kg^{-1} - ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 93-95 °C - ใช้เอนไซม์ Termamyl SC ปริมาตร 0.15 ml, Fungamyl 800 L ปริมาตร0.3 ml และ Transglucosidase Lปริมาตร 0.3 ml	76.67 %	Chockchaisawasdee. and Poosaran (2011)
Rice starch	- rice starch มีความเข้มข้น 30 % - ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 57°C เป็นเวลา 92 ชั่วโมงใช้เอนไซม์Neopullulanase (NPN) 3.5 U/g starch และ Saccharifying α – amylase (SAA) 6.5 U/g starch	59.2 %	Lin *et al*. (2011)

2.5 พรีไบโอติก

2.5.1 ความหมายและคุณสมบัติของพรีไบโอติก

พรีไบโอติก (Prebiotics) คือส่วนประกอบของอาหารที่ไม่สามารถย่อยได้ซึ่งมีประโยชน์ต่อเจ้าบ้าน โดยจะมีผลเจาะจงในการกระตุ้นการเจริญเติบโต หรือกิจกรรมของจุลินทรีย์บางชนิดในลำไส้ใหญ่ซึ่งทำให้สุขภาพของเจ้าบ้านดีขึ้น (Gibson และ Roberfroid, 1995)พรีไบโอติกเป็นสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ไม่ถูกดูดซึมในทางเดินอาหารส่วนบนหรือลำไส้เล็กและสามารถผ่านไปยังลำไส้ใหญ่ซึ่งเป็นที่อยู่ของจุลินทรีย์เจ้าถิ่นโดยจะส่งเสริมการเจริญเติบโตเฉพาะจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในลำไส้ใหญ่เท่านั้น ได้แก่ *Bifidobacteria*และ*Lactobacillus*และนอกจากนี้จะต้องไม่ส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค เช่น Clostridium perfrigens (Vernazza *et al*, 2006; Gibson และ Roberfroid, 1995) ซึ่งมีผลในการส่งเสริมสุขภาพของผู้ที่รับประทานเข้าไป (Roberfroid, 2002) สารประกอบจำพวกโอลิโกแซคคาไรด์และโพลีแซคคาไรด์รวมทั้งเส้นใยอาหาร (dietary fibre) ส่วนใหญ่นั้นกล่าวได้ว่ามีกิจกรรมเป็นพรีไบโอติก แต่สารประกอบจำพวกคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดก็ไม่ได้เป็นพรีไบโอติกในการจะจำแนกว่าส่วนประกอบอาหารชนิดนั้นมีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติกหรือไม่นั้นส่วนประกอบอาหารดังกล่าวจะต้องมีคุณสมบัติทั้งหมดนี้ (Gibson, 2004; Gibson and Roberfroid, 1995)

1. ทนต่อกระบวนการย่อย การดูดซึมและดูดซับของกระเพาะอาหารและสำไส้เล็ก
2. ถูกหมักโดยกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในลำไส้ใหญ่
3. มีผลเจาะจงในการกระตุ้นการเจริญเติบโต และ/หรือกิจกรรมของจุลินทรีย์บางชนิดในระบบทางเดินอาหาร
4. ทำให้จุลินทรีย์นั้นสร้างสารที่ส่งผลดีต่อสุขภาพของเจ้าบ้าน

จากการศึกษาการส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ด้วยพวกโอลิโกแซคคาไรด์ชนิดต่างๆอย่างมากมายทั้งนี้เพื่อต้องการทราบปริมาณของสารแต่ละชนิดที่ควรเติมในอาหารเพื่อให้เกิดผลของ พรีไบโอ

ติก (prebiotic effect) ในการวัดผลของพรีไบโอติกส่วนใหญ่จะศึกษาจากการเจริญเติบโตและกิจกรรมของจุลินทรีย์พวก bifidobacteria และ lactobacilli (Vernazza *et al*.,2006; Fuller and Gibson, 1998) ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีอิทธิพลในการรักษาและป้องกันโรคในเด็กและผู้ใหญ่ (Salminen *et al*., 1998) ผลของพรีไบโอติกที่แสดงออกมานี้จะขึ้นอยู่กับปริมาณพรีไบโอติกที่ใช้และระดับของ bifidobacteria เริ่มต้นในลำไส้ซึ่งถ้าเชื้อชนิดใดมีจำนวนเชื้อเริ่มต้นต่ำที่สุดก็จะเพิ่มจำนวนเชื้อได้มากที่สุดเห็นได้จากการศึกษาของ Rycroft และคณะ (2001) ในนมมารดามีปริมาณ*Bifidobacterium* spp. อยู่มากซึ่งจะช่วยต้านทานโรคที่เกิดในเด็กและป้องกันเชื้อก่อโรคในลำไส้ (Vernazza *et al*., 2006)

ในลำไส้ใหญ่ของมนุษย์มีทั้งจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น Bifidobacterium, Eubacterium และ Lactobacillus และเป็นอันตรายต่อร่างกาย เช่น Clostridium, Shigella และ Veillonella (Roberfroid, 2001) ตามคำจำกัดความของพรีไบโอติก พรีไบโอติกนั้นจะต้องกระตุ้นการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่มีประโยชน์และจะต้องทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสมดุลจุลินทรีย์โดยรวมในลำไส้ใหญ่ การเลี้ยงโดยวิธีการหมักของแบคทีเรียในลำไส้มนุษย์ด้วยฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ กาแลคโตโอลิ-โกแซคคาไรด์ ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ และแลคทูโลส สามารถเพิ่มจำนวน bifidobacteria และ lactobacilli และยังทำให้จำนวน clostridia และ bacteroides ลดลงอีกด้วย (Rycroft *et al*., 2001)

2.5.2 ชนิดของพรีไบโอติก

พรีไบโอติกจัดเป็นคาร์โบไฮเดรตโดยส่วนใหญ่เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ ซึ่งเป็นสารอาหารที่ประกอบด้วยน้ำตาลที่เป็นหน่วยย่อยประมาณ 2-15 หน่วย มาต่อกันด้วยพันธะโควาเลนท์ (covalent bond) หรือ พันธะไกลโคซิดิก (glycosidic linkage) โดยพันธะที่เชื่อมกันภายในโมเลกุลของน้ำตาลจะมีความสัมพันธ์กับเอนไซม์ที่สร้างโดยแบคทีเรียโพรไบโอติก ซึ่งสามารถสร้างเอนไซม์มาย่อยพันธะเหล่านี้ เช่น ความสามารถของแบคทีเรียกลุ่ม Bifidobacteria ที่สร้างเอนไซม์ β-fructofuranisidase มาย่อยพันธะภายใน fructo oligosaccharides ได้ เป็นต้น โดยสารพรีไบโอติกที่ดีนั้นควรจะมีความยาวของสายโพลิเมอร์ หรือดัชนีการสังเคราะห์โพลิเมอร์ (Degree of polymerization; DP) สั้น เช่น สารกลุ่มโอลิโกแซคคา-ไรด์ ซึ่งสามารถพบได้ในธรรมชาติ เช่น ในผักหรือผลไม้ (มะม่วง ส้ม กล้วย ธัญพืช และถั่ว) เป็นต้น หรืออาจได้โอลิโกแซคคาไรด์จากการสังเคราะห์ทางการค้า เช่น สังเคราะห์ขึ้นมาโดยใช้เอนไซม์ย่อยโพลีแซคคา-ไรด์ซึ่งมีสารตั้งต้นคือแป้ง (Rastall and Gibson, 2002) และในการจำแนกคาร์โบไฮเดรตที่จัดเป็นพรีไบ-โอติกนิยมใช้ค่าดัชนีการสังเคราะห์โพลิเมอร์ เช่น สารกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์ (raffinose, stachyose และ fructo-oligosaccharide) มีปริมาณหน่วยย่อยของโมโนแซคคาไรด์อยู่ในช่วง 3-10 หน่วย (ตารางที่ 6)โดยส่วนมากถูกสังเคราะห์หรือสกัดได้จากส่วนของเนื้อเยื่อพืช ตัวอย่างเช่น อินนูลิน (inulin) ซึ่งมีความสามารถในการทนต่อเอนไซม์ และการย่อยที่เกิดขึ้นภายในลำไส้เล็ก และส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกโดยเฉพาะบิฟิโดแบคทีเรีย (Aggett *et al*., 2003)

ตารางที่ 6การจัดจำแนกคาร์โบไฮเดรตโดยค่าดัชนีการสังเคราะห์พอลิเมอร์

Carbohydrate	DP	Supgroups	Examples
Monosaccharide	1	Monosaccharide	Glucose, galactose, fructose

Disaccharide	2	Disaccharide Sugar alcohol	Sugar, lactose, lactulose Sorbitol, lactitol
Oligosaccharide	3-10	Oligosaccharide	Maltodextrins, raffinose, stachyose, fructo-oligosaccharide, galacto- oligosaccharide
Polysaccharide	>10	Starch Non-starch polysaccharide	Amylose, amylopectin, resistant starch Cellulose, hemicellulose, inulin, pectin

ที่มา: Aggett และคณะ(2003)

2.5.3พรีไบโอติกที่พบในธรรมชาติ

พรีไบโอติกที่ได้จากธรรมชาติจะพบได้ในผักและผลไม้หลากหลายชนิด สารกลุ่ม oligosaccharide ที่จัดเป็นสารพรีไบโอติก เช่น lactose, lactulose, raffinose, stachyoseและ fructo-oligosaccharide (FOS) และ chitosan-oligosaccharide ที่สามารถใช้เป็นสารตั้งต้นในการหมักโดยแบคทีเรียโพรไบโอติก (Lee *et al*., 2002) สามารถจัดกลุ่มของพรีไบโอติกที่ได้จากธรรมชาติได้ดังนี้

2.5.3.1 กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Galacto-oligosaccharides, GOS)

กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีกาแลคโตสเป็นองค์ประกอบซึ่งกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์เป็นกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์ที่ร่างกายไม่สามารถย่อยได้สามารถเคลื่อนที่ไปถึงลำไส้ใหญ่และถูกหมักโดยจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ได้ผลผลิตจากการหมักเป็นกรดไขมันสายสั้นเช่นอะซิเตท โพรพิโอเนทบิวไทเรทซึ่งกรดไขมันสายสั้นดังกล่าวมีบทบาทในการปรับปรุงสภาพแวดล้อมภายในลำไส้ใหญ่เป็นแหล่งพลังงานให้แก่อีพิทิเลียมในลำไส้ใหญ่เพิ่มการดูดซึมแคลเซียมและแมกนีเซียมป้องกันการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ (Sako*et al*., 1999; Kolida *et al*., 2000; Gibson, 2004)

2.5.3.2 ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์และอินนูลิน (Fructo-oligosaccharides, FOS and Inulin)

อินนูลินเป็นสารพอลิแซคคาไรด์ (polysaccharides) อยู่ในกลุ่มฟรุคโตโอลิโก-แซคคาไรด์มีฟรุคโตส (fructose) เป็นองค์ประกอบพบได้ทั่วไปในธรรมชาติทั้งในพืชแบคทีเรียและราบางชนิดซึ่งพบได้ในพืชมากกว่า 36,000 ชนิดเช่นชิคคะรี (chicory) หน่อไม้ฝรั่งข้าวสาลีฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์หรืออินนูลินจะไม่ถูกย่อยในลำไส้เล็กแต่จะถูกหมัก โดยแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ได้เป็นกรดไขมันสายสั้นและกระตุ้นการเจริญเติบโตเฉพาะแบคทีเรียที่มีประโยชน์เช่น bifidobacteria, lactobacilli และ eubacteria (Flickinger, 2003)

2.5.3.3 ซอยบีนโอลิโกแซคคาไรด์(Soybean oligosaccharides, SOS)

ซอยบีนโอลิโกแซคคาไรด์เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่พบในถั่วเหลืองซึ่งโอลิโกแซคคาไรด์หลักคือราฟฟิโนส (raffinose) และสทาคิโอส (stachyose) (Gibson, 2004) โดยมีโครงสร้างคือ [α-D-Gal-(1-6)]n- α-D-Glu-(1-2)-β-D-Fru โดย n=1 หรือ 2 สามารถทนต่อการย่อยในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กและสามารถเคลื่อนที่ไปจนถึงลำไส้ใหญ่และถูกหมักโดยจุลินทรีย์กลุ่ม bifidobacteria ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่(Benno et al., 1987)(Flickingerand Fahey, 2003)

จากการศึกษาของHayakawa และคณะ (1990) พบว่าเมื่อให้อาสาสมัคร 6 คน รับประทานซอยบีนโอลิโกแซคคาไรด์ 10 กรัมต่อวันเป็นเวลา 3 สัปดาห์สามารถช่วยเพิ่มจำนวนของ bifidobacteria และ lactobacilli และลดจำนวนของ clostridia และ peptostreptococci ในอุจจาระได้อย่างมีนัยสำคัญ

2.5.4 พรีไบโอติกที่ได้จากการสังเคราะห์

2.5.4.1 แลคโตซูโครส (Lactosucrose)

แลคโตซูโครสผลิตจากสารตั้งต้นที่เป็นส่วนผสมของแลคโตสและซูโครสโดยใช้เอนไซม์β-fructofuranosidase จากเชื้อ*Arthrobacter sp.* มีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่ม bifidobacteria (Gibson, 2004) แลคโตซูโครสไม่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ภายในปากและลำไส้เล็กแต่ถูกหมักในลำไส้ใหญ่ด้วยจุลินทรีย์พวก bifidobacteria, bacteroides และ clostridia Yoneyama และคณะ (1992) ได้ให้อาสาสมัคร 6 คนรับประทานแลคโตซูโครส 2, 5 และ 10 กรัมต่อวันพบว่าจำนวน bifidobacteria นั้นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในทุกระดับของแลคโตซูโครสที่ได้รับ

2.5.4.2แลคทูโลส (Lactulose)

แลคทูโลสผลิตมาจากน้ำตาลแลคโตสมีโครงสร้างคือβ-D-Gal-(1-4)-β-D-Fru แลคทูโลสไม่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์β-galactosidase ซึ่งต่างกันกับแลคโตสแลคทูโลสจึงไม่ถูกย่อย และดูดซึมในลำไส้เล็กแต่จะถูกหมักโดยจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่คือ bifidobacteria การหมักแลคทูโลสจะได้ผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่เป็นอะซิเตทและแลคเตทจากการศึกษาโดยให้อาสาสมัคร 8 คนรับประทานแลค-ทูโลส 3 กรัมต่อวันพบว่าสามารถเพิ่มจำนวนของ bifidobacteria ในขณะที่จำนวนของ bacteroides และ clostridia นั้นลดลงและนอกจากนี้อินโดลสคาทอลฟีนอล พีเอชของอุจจาระβ-glucuronidase, nitroreductase และ azoreductase ยังลดลงอีกด้วย (Hartemink,1999; Kolida *et al*., 2000)

2.5.4.3 ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Isomalto-oligosaccharides, IMO)

ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ผลิตมาจากสารตั้งต้น คือ แป้ง ประกอบด้วยหน่วยย่อยของน้ำตาลกลูโคส เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α, 1-6 glucosidic ซึ่งในกระบวนการย่อยโดยใช้เอนไซม์เกิดขึ้น 2 ขั้นตอน ขั้นแรกเป็นการย่อยแป้งโดยใช้เอนไซม์ α-amylase และ pullulanase ร่วมกัน ในการเปลี่ยนแป้งเป็นไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ ซึ่งเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α, 1-4 glucosidic จากนั้นเป็นการทำงานของเอนไซม์ α-giucosidaseเพื่อย่อย α,1-6 glucosidiclinkage ซึ่งบางส่วนถูกย่อยด้วนเอนไซม์ isomaltase ในลำไส้เล็กได้เป็นไอโซมอลโตส ซึ่งในการสังเคราะห์ IMO ในระดับอุตสาหกรรม สามารถใช้เอนไซม์ amylase, pullulanase และ α-glucosidase และมักใช้แป้งข้าวโพดเป็นสารตั้งต้น โดยได้ผลผลิตเป็นสารผสมกันระหว่าง isomaltose, isomaltotriose และ panose (Kolida *et al*., 2000)

2.5.4.4 กลูโคโอลิโกแซคคาไรด์ (Gluco-oligosaccharides)

กลูโคโอลิโกแซคคาไรด์เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสมาต่อกันด้วยพันธะβ,1-6 glucosidic linkages ผลิตจากการสังเคราะห์ด้วยเอนไซม์ glucosyltransferaseอจากจุลินทรีย์ *Leuconostoc mesenteroides* โดยการย้ายโมเลกุลกลูโคสจากซูโครสซึ่งเป็นตัวให้ไปยังมอลโตสซึ่งเป็นตัวรับโดยจะมี DP2-6 กลูโคโอลิโกแซคคาไรด์ถูกย่อยด้วยจุลินทรีย์กลุ่ม bifidobacteria และกลุ่ม bacteroides (Gibson, 2004; Hartemink, 1999)

2.5.4.5 ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (Xylo-oligosaccharides, XOS)

ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์เป็นสายของโมเลกุลไซโลสที่ต่อกันด้วยพันธะβ, 1-4 ซึ่งส่วนใหญ่แล้วจะประกอบด้วยไซโลไบโอส (xylobiose) ไซโลไตรโอส (xylotriose) และไซโลเตรทตระโอส (xylotetraose) (Gibson, 2004) ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ไม่ถูกย่อยในลำไส้เล็กและถูกหมักที่ลำไส้ใหญ่ส่วนใหญ่แล้วจะถูกหมักโดยจุลินทรีย์พวก bifidobacteria จากการศึกษาในอาสาสมัครเพศชาย 5 คนพบว่าการรับประทานไซโลโอลิโกแซคคาไรด์สามารถเพิ่มปริมาณของ bifidobacteria ในอุจจาระได้อย่างไรก็ตามไม่พบการเปลี่ยนแปลงในแบคทีเรียกลุ่มอื่นๆ (Okazaki *et al*., 1990 อ้างโดย Hartemink, 1999)

2.5.5 กระบวนการหมักและประโยชน์ของพรีไบโอติก

2.5.5.1 กระบวนการหมักพรีไบโอติกในลำไส้ใหญ่

ภายในลำไส้ใหญ่จะเกิดกระบวนการหมักของสารที่เหลือจากการย่อยที่กระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก โดยจุลินทรีย์ประจำถิ่นที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ ซึ่งกระบวนการหมักจะเกิดขึ้นได้ 2 แบบ คือ

2.5.5.2การหมักแบบแซคคาโรไลติก (Saccharolytic)

การหมักสารอาหารกลุ่มแซคคาไรด์ เช่น โอลิโกแซคคาไรด์ จุลินทรีย์ที่เกิดการหมักสารกลุ่มนี้ได้แก่ Bifidobacteria และ Lactobacilli ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้เป็นกรดไขมันสายสั้น เช่น กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวไทริก นอกจากนี้ยังมีก๊าซเกิดขึ้นด้วย (Cummings *et al*., 2001) ซึ่งกรดไขมันสายสั้นนี้จะถูกไปใช้ในรูปแบบต่างๆภายในร่างกาย กรดอะซิติกถูกนำไปใช้ในกล้ามเนื้อ กรดโพรพิโอนิกถูกส่งไปยังตับเพื่อใช้ในการสังเคราะห์พลังงานในรูปของATP ส่วนกรดบิวไทริกจะใช้ในการแบ่งเซลล์ของลำไส้ใหญ่ และเป็นสารที่มีคุณสมบัติในการต้านมะเร็งลำไส้ใหญ่ด้วย การหมักแบบแซคคาโรไลติกในลำไส้มีผลทำให้ปริมาณเซลล์ของแบคทีเรียเพิ่มสูงขึ้น เพิ่มความนิ่มแก่อุจจาระช่วยในการขับถ่าย และช่วยในการสังเคราะห์วิตามิน

2.5.5.3 การหมักแบบโปรติโอไลติก (Proteolytic)

การหมักสารอาหารกลุ่มโปรตีน โดยจุลินทรีย์กลุ่ม *Clostridia*และ *Bacteroides*ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักของจุลินทรีย์กลุ่มนี้จะได้สารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ เช่น สารกลุ่มฟีนอลิก และแอมโมเนีย ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติเป็นสารก่อมะเร็ง (Gibson, 2004)

2.5.6ประโยชน์ของพรีไบโอติกต่อสุขภาพ

2.5.6.1เพิ่มความต้านทานต่อโรคอุจจาระร่วงเฉียบพลัน (acute gastroenteritis)

โรคอุจจาระร่วงเฉียบพลันอาจจะมีผลต่อบางคนเพียงแค่ครั้งเดียวหรืออาจจะหลายครั้งซึ่งโดยปกติแล้วเกิดจากการรับประทานอาหารหรือน้ำที่ปนเปื้อนเชื้อก่อโรคหรือสารพิษของเชื้อเข้าไป (Hui *et*

al., 1994 อ้างโดย Vernazza *et al*., 2006) แบคทีเรียก่อโรคที่สำคัญในลำไส้ของมนุษย์ได้แก่แบคทีเรียที่มีผลร้ายต่อเซลล์ (cytotoxic) เช่น*E. coli* ซึ่งเป็นเชื้อก่อโรคและเชื้อที่ทำให้มีเลือดออกในลำไส้และมีความสามารถในการยึดเกาะเยื่อบุผนังลำไส้ได้อย่างแน่นหนาเชื้อแบคทีเรียก่อโรคดังกล่าวมีกลไก ที่ทำให้ระบบทางเดินอาหารติดเชื้อหลบเลี่ยงระบบภูมิคุ้มกันและต้านทานต่อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในลำไส้ได้ Vernazza *et al*., 2006) ทั้งแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในทางเดินอาหารและเยื่อบุเมือกทำหน้าที่เป็นตัวต่อต้านการรุกรานของเชื้อก่อโรคซึ่ง bifidobacteria และ lactobacilli สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคอย่างเช่น *E. coli*, *Campylobacter* และ*Salmonella* spp. ได้ (Gibson and Wang, 1994)

2.5.6.2 ลดความเสี่ยงในการเป็นโรคมะเร็ง

จากการศึกษาพบว่าการรับประทานกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์มีผลให้ไนโตรรี-ดักเตส (nitroreductase) ลดลงซึ่งไนโตรรีดักเตสเป็นตัวกระตุ้นเมทาบอลิกหรือสารตั้งต้นที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ (mutagenic) หรือเกิดมะเร็ง (carcinogenic) และยังลดระดับอินโดลและกรดไอโซวาเลอริก (isovaleric acid) ซึ่งถูกผลิตจากการย่อยสลายโปรตีนและการดึงหมู่เอมีนออกจากโมเลกุล (deamination) และเป็นตัวชี้บ่งถึงการเน่าสลาย (Ito *et al*., 1990)

2.5.6.3 การดูดซึมแร่ธาตุ

ช่วยให้เกิดการผลิตวิตามินและเพิ่มการดูดซึมแร่ธาตุต่างๆที่มีความจำเป็นต่อร่างกายโดยการลดพีเอชจะเพิ่มการละลายของแร่ธาตุเช่นแคลเซียมทำให้ดูดซึมแร่ธาตุได้ง่ายขึ้น (Holzapfel *et al*., 1998; Bosscher *et al*., 2003) จากการทดลองในคน พบว่าการบริโภคฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ 15 กรัมต่อวัน หรืออินนูลิน 40 กรัมต่อวันช่วยเพิ่มการดูดซึมแคลเซียมอย่างเห็นได้ชัด (Roberfroid, 2002) นอกจากนี้การบริโภคฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ยังช่วยเพิ่มการดูดซึมแมกนีเซียมอีกด้วย (Bornet *et al*., 2002)

2.5.6.4การควบคุมไขมัน

พรีไบโอติกมีผลต่อการควบคุมไขมันถึงแม้ว่ากลไกการควบคุมยังไม่เป็นที่ทราบกันในปัจจุบัน จากการศึกษาในหนูทดลองที่เป็นโรคเบาหวานพบว่าเมื่อให้หนูรับประทานไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (xylooligosaccharides) ที่เติมลงไปแทนที่คาร์โบไฮเดรตในอาหารพบว่าระดับคอเลสเตอรอลในเลือดและไตรกลีเซอไรด์ (serum cholesterol and triglyceride) ของหนูที่เป็นโรคเบาหวานจากที่เคยอยู่ในระดับที่สูงกลับลดลงและไตรกลีเซอไรด์ในตับได้เพิ่มขึ้นอยู่ในระดับเดียวกับหนูที่สุขภาพดี (Imaizumi *et al*., 1991 อ้างโดย Vernazza *et al*., 2006)

2.5.6.5 ช่วยลดอาการท้องผูก

การหมักพรีไบโอติกในลำไส้ใหญ่ทำให้จำนวนจุลินทรีย์เพิ่มมากขึ้นซึ่งจะช่วยเพิ่มปริมาณอุจจาระการเพิ่มขึ้นของอุจจาระจะช่วยลดเวลาในการส่งผ่านของลำไส้ช่วยกระตุ้นการบีบตัวของลำไส้ส่งเสริมการเคลื่อนไหวของลำไส้และการเคลื่อนตัวของอุจจาระซึ่งไม่เพียงแต่ช่วยลดและป้องกันท้องผูกเท่านั้นแต่ยังเป็นการลดผลกระทบจากจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตสารที่เป็นอันตรายเช่นสารประกอบที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบซึ่งเป็นพิษก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H2S) และสารประกอบที่ก่อให้เกิดมะเร็งหรือเป็นพิษ (Holzapfel *et al*., 1998; Gibson, 2004)

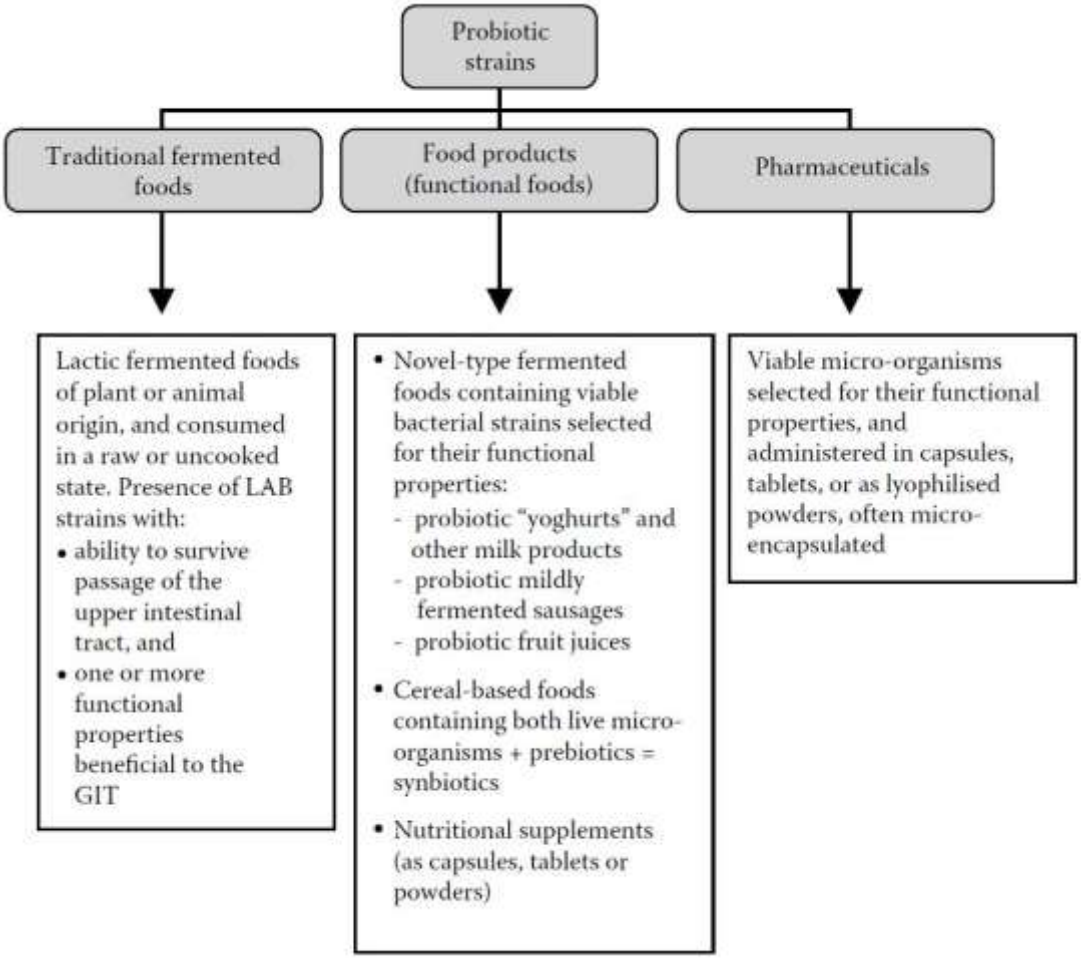
2.6. โพรไบโอติก

โพรไบโอติก (probiotics) คือจุลินทรีย์ที่มีชีวิตซึ่งมีประโยชน์ต่อสุขภาพของเจ้าบ้านโดยจะปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ให้ดีขึ้นคำว่าโพรไบโอติกสร้างขึ้นครั้งแรกโดย Lilly และ Stillwell ในปี 1965 การระบุว่าเป็นโพรไบโอติกจะต้องมีคุณสมบัติดังนี้ (Fuller, 1998 อ้างโดย Gibson and Roberfroid, 1995)

1. โพรไบโอติกจะต้องสามารถเตรียมด้วยวิธีการที่ทำให้มันยังมีชีวิตอยู่และในปริมาณมากได้
2. ในระหว่างการใช้และการเก็บรักษาโพรไบโอติกจะต้องยังมีชีวิตอยู่และมีเสถียรภาพ
3. จะต้องอยู่รอดในสิ่งแวดล้อมของลำไส้
4. เจ้าบ้านจะต้องได้รับประโยชน์จากอาศัยของโพรไบโอติก

โพรไบโอติกสายพันธุ์ที่เป็นที่นิยมประกอบด้วยจุลินทรีย์กลุ่ม *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* และ*Enterococcus* ตัวอย่างสายพันธุ์ของแต่ละกลุ่มเช่น*Lactobacillusacidophilus*, *L. johnsonii*, *L. casei*, *L. gasseri*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus*, *Bifidobacteriumlongum*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, *Enterococcusfaecalis* และ*Enterococcus faecium* (Kaur *et al*., 2002) โพรไบโอติกที่มีขายในท้องตลาดจะอยู่ในรูปแบบสินค้าอาหารหมักและทำแห้งแบบเยือกแข็ง (lyophilized form) ซึ่งใช้เพื่อเป็นอาหารเสริมและนำไปใช้ในทางเภสัชกรรม (Figure 2) แบคทีเรียโพรไบโอติกที่นำมาใช้กันโดยส่วนใหญ่คือ lactobacilli และ bifidobacteria สามารถนำโพรไบโอติกไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์อาหารแก่ผู้บริโภคได้มากมายเช่นอยู่ในรูปผงเม็ดเครื่องดื่มและผลิตภัณฑ์นมหมัก (Holzapfel , 2006; Vernazza *et al*., 2006) ผลิตภัณฑ์ประเภทนมหมักส่วนใหญ่จะผลิตด้วยเชื้อ*L. acidophilus, L. crispatus, L.johnsonii, L. casei, L. paracasei* และ*Bifidobacterium* spp. นอกจากนี้ยังมีโพรไบโอติกสายพันธุ์ต่างๆอีกมากมายที่นำมาใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์อาหารดังแสดงใน Table 7 (Holzapfel and Schillinger, 2002) ซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มนี้เป็นกลุ่มที่ไม่ก่อโรคไม่เป็นพิษมีชีวิตอยู่เป็นเวลานานและสามารถมีชีวิตรอดผ่านกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กไปสู่ลำไส้ใหญ่ได้ดี (Sandholm *et al*., 2002)

จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่หมักสารที่ไม่สามารถย่อยโดยลำไส้เล็กของเจ้าบ้านได้ซึ่งสารดังกล่าวประกอบด้วยแป้งที่ทนต่อการย่อย (resistant starch) คาร์โบไฮเดรทที่ไม่สามารถย่อยได้ (non-digestible carbohydrates) โอลิโกแซคคาไรด์โปรตีนและสารเมือก (mucins) กระบวนการหมักในลำไส้ใหญ่มี 2 แบบคือแซคคาโรไลติค (saccharolytic) ซึ่งเป็นการหมักสารในกลุ่มคาร์โบไฮเดรทและโพรทิโอไลติค (proteolytic) ซึ่งเป็นการหมักสารในกลุ่มโปรตีนการหมักแบบแซคคาโรไลติคจะเกิดมากว่าแบบโพรทิโอไลติคผลผลิตหลักจากกระบวนการหมักแบบแซคคาโรไลติคคือกรดไขมันสายสั้นกรดส่วนใหญ่ที่ได้คืออะซิเททโพรพิโอเนทและบิวไทเรท ซึ่งอะซิเททจะถูกนำไปใช้ในกล้ามเนื้อในขณะที่โพรพิโอเนทจะถูกขนส่งไปยังตับและใช้ในการสังเคราะห์ ATP ส่วนบิวไทเรทนั้นเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญให้แก่เซลล์ในลำไส้และมีคุณสมบัติเป็นตัวต่อต้านเนื้องอกในทางตรงกันข้ามผลผลิตจากการหมักแบบโพรทิโอไลติคจะเป็นสารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบเช่นสารประกอบฟีนอลิกเอมีนและแอมโมเนียซึ่งสารบางตัวเป็นสารก่อมะเร็ง (Gibson, 2004)



ภาพที่ 4 Administration of probiotics in different forms
ที่มา: Holzapfel (2006)

ลำไส้ใหญ่เป็นบริเวณที่มีประชากรแบคทีเรียหนาแน่นที่สุดของทางเดินอาหารและมีแบคทีเรียอาศัยอยู่ประมาณ 500 ชนิดดังนั้นจึงมีแบคทีเรียอยู่จำนวนมากแบคทีเรียแต่ละชนิดในลำไส้ใหญ่มีปฏิกิริยาต่อกันอย่างหลากหลายเช่นตำแหน่งในการเมทาบอไลท์ถิ่นที่อยู่อาศัยและการแลกเปลี่ยนอาหารกันระหว่างแบคทีเรียแต่ละชนิดการหมักในลำไส้ใหญ่โดยส่วนใหญ่จะเป็นการหมักแบบแซคคาโรไลติคเพราะสิ่งที่ผ่านมายังลำไส้ใหญ่และถูกหมักนั้นส่วนใหญ่จะเป็นคาร์โบไฮเดรตเมื่อสิ่งที่ถูกย่อยทั้งหมดเคลื่อนที่ไปยังลำไส้ใหญ่ส่วนปลายคาร์โบไฮเดรตที่จะใช้หมักได้มีจำนวนลดลงโปรตีนและกรดอะมิโนจึงเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญของแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ส่วนปลาย (Gibson, 2004) จำนวนจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารแต่ละส่วนนั้นมีปริมาณที่แตกต่างกัน (Table 8) ในหลอดอาหารมี 101-103 CFU ต่อมิลลิลิตร (หรือกรัม) ในกระเพาะอาหารมี10^7 CFU ต่อมิลลิลิตรในลำไส้เล็กส่วนกลาง (jejunum) มี 10^7 CFU ต่อมิลลิลิตรส่วนใหญ่จะเป็น lactobacilli, *Enterobacteriaceae* และ streptococci ในบริเวณปลายของลำไส้เล็กส่วนปลาย (terminal ileum) มีจำนวนมากกว่า 109 CFU ต่อกรัมในลำไส้ใหญ่ส่วนปลายมี 5×10^{11} CFU ต่อกรัม*Bacteroides* และแบคทีเรียแกรมบวกที่ไม่ต้องการอากาศพวก*Eubacterium* และ *Bifidobacterium* มีจำนวนหนาแน่นและมีอิทธิพลอย่างมากในลำไส้ใหญ่ส่วนกลุ่มอื่นๆเช่น clostridia, peptostreptococci, streptococci และ lactobacilli นั้นก็มีบทบาทสำคัญด้วยเช่นกันเช่น ช่วยรักษาเสถียรภาพของเยื่อเมือกในลำไส้และผลิตกรดไขมันสายสั้นในลำไส้เล็ก lactobacilli นับว่ามีบทบาทสำคัญ

มากกว่าจุลินทรีย์กลุ่มอื่นๆเนื่องจากมีจำนวนที่มากกว่าในคนที่มีสุขภาพดี โดยปกติแล้วจะมีจำนวน lactobacilli ในช่องปาก 103-104 CFU ต่อกรัมในลำไส้เล็กส่วนปลาย 10^3-10^7 CFU ต่อกรัมและในลำไส้ใหญ่ 104-108 CFU ต่อกรัมนอกจากนี้ lactobacilli ยังเป็นจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในช่องคลอดอีกด้วย (Holzapfel, 2006)

โพรไบโอติกนั้นมีประโยชน์มากมายเช่นประโยชน์ด้านโภชนาการการผลิตวิตามินการผลิตเอนไซม์ย่อยอาหารที่สำคัญคือβ-galactosidase ป้องกันและลดโรคท้องร่วงที่เกิดจากการติดเชื้อเช่นโรคท้องร่วงในนักท่องเที่ยวโรคท้องร่วงอย่างรุนแรงที่เกิดจากการติดเชื้อไวรัสในเด็กช่วยลดคอเลสเตอรอลในเลือดกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันช่วยเพิ่มการเคลื่อนไหวของลำไส้ทำให้ลดอาการท้องผูกและเพิ่มความต้านทานของลำไส้ช่วยเสริมผลของวัคซีนช่วยลดเอนไซม์ที่ก่อให้เกิดมะเร็งลดการแพ้แลคโตสในนมวัว (Holzapfel *et al*., 1998; Kaur *et al*., 2002) เนื่องจากโพรไบโอติกมีประโยชน์อย่างมากมายต่อร่างกายจึงมีความพยายามที่จะนำจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่มีชีวิตเติมลงไปในอาหารต่างๆเพื่อปรับเปลี่ยนโครงสร้างและกิจกรรมเมตาบอลิซึมของจุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้เพื่อต้องการให้เกิดประโยชน์ดังกล่าว (Gibson, 2004)

2.6.1 คุณสมบัติของโพรไบโอติกที่ดี

1. สามารถสร้างกรดแลกติกทำให้กระเพาะอาหารเป็นกรดมากขึ้นทำให้เกิดการย่อยและการใช้ประโยชน์จากสารอาหารต่างๆได้ดีขึ้นและปรับสภาพของทางเดินอาหารให้อยู่ในสภาพที่แบคทีเรียโคลิฟอร์มเจริญได้ยาก (Isolauri, 2004)

2. สามารถทนต่อกรดในกระเพาะอาหารได้ดีโพรไบโอติกจะต้องมีคุณสมบัติในการทนต่อพีเอชที่ต่ำเพราะในกระเพาะอาหารมีค่าพีเอช 2 แต่หลังจากการรับประทานอาหารเข้าไปแล้ว 2-4 ชั่วโมงพีเอชจะเพิ่มเป็น 3 *Lactobacillus acidophilus* สามารถทนต่อกรดได้ดีกว่าแบคทีเรียแลกติกสายพันธุ์อื่นๆโดยที่ *Lactobacillus gasseri* สามารถรอดชีวิตได้มากที่พีเอช 3, 2 และ 1.5 ตามลำดับ*Lactobacillus sake* (RM 10) และ*Pediococcus acidilactici* (P2) สามารถมีชีวิตรอดได้สูงที่สุดที่พีเอช 3 (Erkkila and Petaja, 2000)

3. ทนต่อเกลือน้ำดี (bile salt) ในลำไส้เล็กซึ่งสร้างจากตับเก็บไว้ในถุงน้ำดีและจะปล่อยออกมาในลำไส้เล็กเพื่อใช้ย่อยอาหารพวกไขมันซึ่งเกลือน้ำดีจะช่วยขับสารตกค้างในร่างกาย เช่นยาหรือแร่ธาตุบางชนิดพบว่าโพรไบโอติกสามารถทนต่อเกลือน้ำดีได้ร้อยละ 0.3

4. เป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดประโยชน์ต่อเจ้าบ้านที่ได้รับโพรไบโอติกเช่นเพิ่มการเจริญเติบโตหรือต้านทานการเกิดโรคและไม่เป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรค

5. เป็นเซลล์ที่มีชีวิตและเพิ่มจำนวนได้มากสามารถมีชีวิตอยู่รอดและทำงานได้ในลำไส้ใหญ่

6. ปรับตัวในสภาพแวดล้อมต่างๆได้ดีทำให้จุลินทรีย์ก่อโรคไม่สามารถแข่งขันและเจริญเติบโตได้มีความคงทนและสามารถรอดชีวิตได้ในสภาพการเก็บรักษาและในขณะทำการทดลอง

7. มีคุณสมบัติในการเจริญเติบโตรวดเร็วคือใช้เวลาในการเพิ่มจำนวนน้อยและมีความสามารถในการมีชีวิตอยู่ได้ในลำไส้สัตว์ช่วยย่อยสลายกากอาหารแล้วให้ผลผลิตเป็นกรดอะมิโนกรดไขมันและวิตามิน

8. ต้องไม่มีคุณสมบัติในการก่อการกลายพันธุ์ (mutagenic) ก่อมะเร็ง (carcinogenic) เป็นพิษ (toxic) และก่อโรค (pathogenic) สามารถสร้างแบคเทอริโอซิน (bacteriocin) ได้ (Ziemer and Gibson, 1998)

2.6.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่จัดให้เป็นโพรไบโอติก

เชื้อจุลินทรีย์ที่จัดเป็นโพรไบโอติก โดยส่วนใหญ่จะอยู่ในกลุ่มของเชื้อแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก (Lactic acid bacteria) ซึ่งได้แก่ Lactobacili, Streptococci, Enterococci, lactococci, Bifidobacteria ดังแสดงในตารางที่ 7 (Gibson et al., 2000)

ตารางที่ 7 Lactic acid bacteria used as commercial probiotics.

Lactobacilli	**Bifidobacteria**	**Streptococci**	**Enterococci**
Lactobacillus delbrueckii subsp *bugaricus*	*Bifidobacterium bifidum*	*Streptococcus thermophilus*	*Enterococus faecalis*
Lactobacillus acidophilus	*Bifidobacterium longum*		*Enterococus faecium*
Lactobacillus rhamnosus	*Bifidobacterium breve*		
Lactobacillus reuteri	*Bifidobacterium infleantis*		
Lactobacillus casei			

ที่มา: Fooks และคณะ (1999)

สำหรับเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกที่นำมาใช้กับมนุษย์โดยทั่วไปได้แก่ Lactobacilli เช่น *Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus casei และ Lactobacillus delbrueckii* โดยใช้ได้ทั้งในลักษณะสปีชีส์เดียวกันหรือผสมกับเชื้อแบคทีเยชนิดอื่น และนอกจากนั้นพบว่ายังมี Bifidobacteria เช่น *Bifidobacteriumadolescentis, Bifidobacterium longum, Bifidobacterium infantis*และ Streptococci เช่น *Lactococcus lactic*โดยส่วนใหญ่ใช้ในผลิตภัณฑ์นมหมัก โดยจุลินทรีย์เหล่านี้ให้ผลบวกต่อสุขภาพของมนุษย์ ซึ่งประกอบด้วย โรคท้องร่วง โรคท้องผูก อาการอักเสบของลำไส้จากเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคภาวะท้องอืดมีลมในกระเพาะอาหาร กระเพาะอาหารและลำไส้อักเสบ ภาวะกรดในกระเพาะอาหาร กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน การมีระดับคลอเลสเตอรอลในเลือดมากกว่าปกติเป็นต้น (Gibson and Roberfroid, 1995)

2.6.3 แบคทีเรียแลคติก (Lactic acid bacteria)

แบคทีเรียแลคติกเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างเอนไซม์แคตาเลส ไม่ต้องการอากาศ ลักษณะสัณฐานวิทยา พบว่ามีรูปร่างแท่งและรูปร่างกลม การจัดเรียงแบคทีเรียแลคติกในสกุลต่างๆขึ้นอยู่กับรูปร่างลักษณะ รูปแบบของการหมักน้ำตาลกลูโคส ความสามารถในการใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ และการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆรวมถึงความสามารถเจริญได้ในที่มีเกลือความเข้มข้นสูงและการทนต่อกรดหรือด่าง ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากกระบวนการเมทาบอลิซึมของแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้จากการใช้น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลแลคโตสเป็นแหล่งคาร์บอนได้ผลิตภัณฑ์หลักเป็นกรดแลคติกได้แก่ *Lactobacillus, Pediococcus, Streptococcus, Leuconostoc* (Wood and Holzapfel, 1995)
แบคทีเรียแลคติกที่เป็นโพรไบโอติกมีประโยชน์ในการช่วยย่อยน้ำตาลแลคโตสที่มีในผลิตภัณฑ์นม ช่วยสร้างวิตามินที่จำเป็น ได้แก่ วิตามิน B1, B2, B6, B12, niacin, folic acid และ pantothenic acid อีกทั้งช่วย

เพิ่มความสามารถในการย่อยโปรตีน ช่วยควบคุมรักษาสมดุลในลำไส้และเสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้ม (Rice, 2002) นอกจากนี้แบคทีเรียแลคติกสามารถผลิตสารประกอบที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียหรือจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆได้ สารที่แบคทีเรียสร้างขึ้นมาดังนี้

1. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สามารถทำปฏิกิริยากับสารอื่นได้ โดยแบคทีเรียแลคติกสามารถทำปฏิกิริยากับ endogenous thiocyanate ซึ่งเร่งปฏิกิริยาโดย lactoperoxidase เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ Intermediary oxidation ซึ่งสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ สามารถนำไปใช้ในการเก็บรักษานมสดได้โดยไม่ต้องแช่ตู้เย็น

2. Diacetyl (2,3-butanedione) เป็นผลจากการย่อยสารอาหารจากแบคทีเรียแลคติกบางสปีชีส์ เป็นสารให้กลิ่นในผลิตภัณฑ์นมหมัก และยังมีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ แต่ต้องใช้ในปริมาณมาก และทำให้มีกลิ่นรบกวน

3. Reuterin เป็นสารที่มีโมเลกุลต่ำที่ไม่ใช่โปรตีนและสามารถละลายน้ำได้ดีที่พีเอชเป็นกลาง และสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ เช่น ยีสต์ รา รวมทั้งโปรโตซัว จึงสามารถนำไปใช้ในการถนอมอาหารเพื่อลดจุลินทรีย์เกิดโรค และทำให้อาหารเน่าเสีย

4. Microgard สามารถต่อต้านแบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์และรา แต่ไม่ต่อต้านแบคทีเรียแกรมบวก ประกอบด้วย กรดโพรพิโอนิก ไดอะซิติล กรดอะซิติก และกรดแลคติก

5. แบคเทอริโอซิน เป็นสารที่มีผลในการยับยั้งในช่วงแคบ เป็นแบคทีเรียที่ยับยั้งเฉพาะแบคทีเรียในจีนัสเดียวกัน และยับยั้งในช่วงกว้าง เป็นแบคทีเรียที่มีผลยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวก (Dasechel and Klaenhammer, 1989)

ประสิทธิภาพในการยับยั้งของแบคทีเรียแลคติก

แบคทีเรียแลคติกเป็นแบคทีเรียที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย และทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ โดยการนำแบคทีเรียที่แยกได้ประมาณ 100 ไอโซเลต มาทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียอินดิเคเตอร์ ได้แก่ *Staphylococcus aureus, Listeria innoca, Pseudomonas fragi* และ *Lactobacillus bulgaricus*ผลการทดลองพบว่าส่วนใหญ่ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียอินดิเคเตอร์ได้ 1 ชนิด มีเพียงบางชนิดเท่านั้นที่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียอินดิเคเตอร์ได้มากกว่า 1 ชนิด จึงได้ทำการทดลองเชื้อ Lactococcus lactis 280 สายพันธุ์ พบว่ามีเพียง 16 สายพันธุ์ที่มีความสามารถในการผลิตสารแบคเทอริโอซิน เช่น สาย*พันธุ์ Lactococcus lactis* ssp. *lactic var diacetylactis*สามารถผลิตแบคเทอริโอซินได้ร้อยละ 1 สายพันธุ์ *Lactococcus lactis ssp.*cremoris ผลิตได้ร้อยละ 5 สายพันธุ์ และสายพันธุ์ *Lactococcus lactis* ssp. ผลิตได้ร้อยละ 9 โดยแบคเทอริโอซินที่ผลิตได้จะถูกยับยั้งกิจกรรมโดยเอนไซม์ย่อยโปรตีนและทำให้ตกตะกอนได้ (Vandenbergh, 1993) โดยนำมาใช้ในการถนอมอาหารและใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตขนมหวาน เนยแข็ง นม โยเกิร์ต เครื่องดื่ม ผลิตภัณฑ์เนื้อต่างๆ รวมถึงผักผลไม้ ซึ่งไนซินสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคได้โดยเฉพาะ *Clostridium botulinum, Clostridium tyrobutyricum*และ *Bacillus* sp.

2.6.4 ไบฟิโดแบคทีเรีย (Bifidobacteria)

Bifidobacteria เป็นแบคทีเรียที่อยู่ในตระกูล Actinomycetaceae มีคุณสมบัติเป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่าง curved rods และ bifid rod ลักษณะคล้ายตัว Y นอกจากนี้ยังอาจพบรูปร่างแบบ branced หรือ straight rot และ Unbranched ได้อีกด้วย

คุณสมบัติของไบฟิโดแบคทีเรีย

Bifidobacteria สามารถสร้างแลคเตส (lactase) ฟอร์เมต และเอทิลแอลกฮอล์ โดยการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต เช่น น้ำตาล ซึ่งในการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต ของเชื้อนี้เพื่อให้เกิดผลิตภัณฑ์ต่างๆนั้น จะมีความแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ ซึ่งแต่ละสายพันธุ์จะมีความสามารถในการใช้สารได้ต่างกัน และทำให้เกิดผลิตผลในปริมาณที่ต่างกันด้วย

นอกจากคุณสมบัติดังกล่าวแล้วเชื้อ Bifidobacteria ยังมีความสามารถในการทนต่อน้ำดี จึงเจริญอยู่ในกระเพาะอาหารและลำไส้ได้ดี และทำให้เอนไซม์ β-galactosidase ที่เชื้อผลิตขึ้นนั้นสามารถย่อยน้ำตาลแลคโตสได้ ทำให้ร่างกายสามารถนำแลคโตสไปใช้ได้และไม่ก่อให้เกิดอาหาร Loctose intolerance โดยผลที่เกิดขึ้นจะดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้จุลินทรีย์ชนิดอื่น (พิณทิพย์ รัมภกาภรณ์ และ สุดสาย ตรีวานิชม,2533)

การทำบริสุทธิ์โอลิโกแซคคาไรด์

กระบวนการทำบริสุทธิ์โอลิโกแซคคาไรด์เป็นขั้นตอนหนึ่งที่สำคัญ เนื่องจากน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและโมเลกุลคู่ที่อยู่ในสารละลายไม่มีคุณสมบัติของการเป็นสารพรีไบโอติก ซึ่งวิธีการแยกโอลิโกแซคคาไรด์สามารถทำได้หลายวิธี เช่น

1. การแยกโดยการใช้ถ่านกัมมันต์ (activated carbon) ซึ่งใช้ในกระบวนการทำบริสุทธิ์ oligomate (ผลิตภัณฑ์กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ทางการค้าของบริษัท Yakult Honsha จำกัด) โดยโอลิโกแซคคาไรด์จะถูกดูดซับโดยผงถ่านกัมมันต์ น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและแลคโตส สามารถชะออกจากคอลัมน์ได้ด้วยน้ำหรือเอทานอลที่ความเข้มข้นต่ำ ในขณะที่ GOS จะถูกชะได้ด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้นสูง (Matsumoto et al., 1988, Morales et al., 2006) จากงานวิจัยของ Hernandez และคณะ (2009) พบว่าความบริสุทธิ์ของสารละลาย GOS ที่แยกได้ขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเอทานอลที่ใช้ชะตั้งแต่ 8-15% เมื่อใช้เอทานอลเข้มข้น 8% สามารถ recover GOS และ น้ำตาลไดแซคคาไรด์ได้ 90% และ 20% ตามลำดับ และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นเอทานอลที่ใช้ในการชะเป็น 10% ทำให้สามารถกำจัดปริมาณของน้ำตาลไดแซคคาไรด์ได้เกือบหมด (ค่า recovery เท่ากับ 6.5%) แต่ค่า recovery ของ GOS ก็ลดลงเป็น 53% แสดงให้เห็นว่า การใช้ถ่านกัมมันต์ในการแยกจะต้องเลือกสภาวะและความเข้มข้นเอทานอลที่เหมาะสมที่สามารถกำจัดน้ำตาลไดแซคคาไรด์ออกจาก GOS โดยที่มีการสูญเสีย GOS น้อยที่สุด

2. กระบวนการแยกโดยวิธีทางโครมาโทกราฟีทั้งแบบแลกเปลี่ยนอิออน (ion exchange chromatography) และแบบแยกตามขนาด (size exclusion chromatography) ซึ่งเรซินแบบแลกเปลี่ยนประจุบวก เป็นตัวดูดซับที่นิยมใช้ เนื่องจากมีความจำเพาะกับน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวมาก ดังนั้นโอลิโกแซคคาไรด์จะเป็นน้ำตาลตัวแรกที่ถูกชะออกจากคอลัมน์ จากงานวิจัยของ Hernandez และคณะ (2009) ซึ่งได้ศึกษาการทำบริสุทธิ์ GOS ทางการค้า (Vivinal-GOS) ความเข้มข้น 25% w/v ด้วย Bio-Gel P2 ซึ่งเป็นการแยกตามขนาด พบว่าการแยกโดยเทคนิคนี้สามารถแยกน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว น้ำตาลโมเลกุลคู่ และ GOS ออกจากกันได้อย่างสมบูรณ์ โดยมีค่า recovery ของ GOS ระหว่าง 81-92%

3. การแยกโดยนาโนฟิวเตรชันเมมเบรน เป็นวิธีที่ได้รับความนิยมเพิ่มขึ้น เนื่องจากเป็นวิธีที่สะดวกรวดเร็ว ใช้พลังงานและตัวทำละลายน้อย เมื่อเทียบกับวิธีโครมาโทกราฟี (Feng et al., 2009) จากการทดลองของ Feng และคณะ (2009) ที่ได้ทำการทดลองทำบริสุทธิ์สารผสม GOS ทางการค้าโดยนาโนฟิว

เตรชันเมมเบรนขนาด 800-1000 Da พบว่าวิธีนี้สามารถกำจัดน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและโมเลกุลคู่ออกไปจากสารผสม 90.5% และ 52.5% ตามลำดับ และ GOS ที่ได้มีความบริสุทธิ์ 54.5% และมีผลผลิต (yield) เท่ากับ 70.0%

ในปัจจุบันการศึกษาการทำบริสุทธิ์ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ยังมีอยู่น้อย ซึ่งวิธีที่ใช้มักเป็นการดูดซับด้วยถ่านกัมมันต์ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงศึกษาความเป็นไปได้ในการทำบริสุทธิ์ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ผลิตได้โดยกระบวนการนาโนฟิวเตรชัน

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 วัสดุอุปกรณ์(Materials)

1. วัตถุดิบ

- สตาร์ชข้าวเจ้า บริษัท โรงเส้นหมี่ ชอเฮง จำกัด
- สตาร์ชข้าวเหนียว บริษัท โรงเส้นหมี่ ชอเฮง จำกัด
- สตาร์ชมันสำปะหลัง บริษัท สยามควอริตี้ สตาร์ช จำกัด
- สตาร์ชสาคูเตรียมตามวิธีการเตรียมสตาร์ชสาคูในข้อ 1

2. สารเคมี

- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
- ไฮโดรคลอริก (HCl)
- สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์โปรตีน(ภาคผนวก ก)
- สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ไขมัน(ภาคผนวก ก)
- สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ (ภาคผนวก ก)

3. เอนไซม์

- Termamyl SC จากเชื้อ *Bacillus licheniformis* บริษัท Sigma ประเทศ Denmark
- Fungamyl 800 L จากเชื้อ *Aspergillus oryzae* บริษัท Sigma ประเทศ Denmark
- Transglucosidase L จากเชื้อ *Aspergillus niger*บริษัท Megazymeประเทศ Ireland
- Saccharifying α – amylase (SAA)จากเชื้อ *Bacillussubtilis*บริษัท Sigmaประเทศ Switzerland

4. จุลินทรีย์โพรไบโอติก

- *Lactobacillus plantarum* TISTR 1465
- *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12บริษัท Chr Hansen

5. อาหารเลี้ยงเชื้อ

5.1 อาหารเลี้ยงเชื้อDe Man Rogosa Sharpe (MRS) สำหรับ *Lactobacillus plantarum*TISTR 1465(broth)

- Proteose peptone
- Beef extract
- Yeast extract
- Dextrose
- Tween 80
- Ammonium citrate
- Sodium acetate
- Magnesium sulphate
- Manganese sulphate
- Dipotassium phosphate

*** ถ้าเตรียมอาหารแบบ Agar จะต้องเติม Bromocresol purple 0.02% และ Agar 1.2%

5.2 อาหารเลี้ยงเชื้อDe Man Rogosa Sharpe (MRS) สำหรับ*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 (broth)

- Proteose peptone
- Beef extract
- Yeast extract
- Dextrose
- Tween 80
- Ammonium citrate
- Sodium acetate
- Magnesium sulphate
- Manganese sulphate
- Dipotassium phosphate
- L-cysteine HCl

*** ถ้าเตรียมอาหารแบบ Agar จะต้องเติม Bromocresol purple 0.02% และ Agar1.2%

6. อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์

- เครื่อง HPLC (High Performance Liquid Chromatography) RI detector
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 และ 4 ตำแหน่ง
- เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)
- เครื่องเหวี่ยงแยก (Centrifuge)
- เครื่อง Evaporator
- เครื่องกวนสาร Overhead Stirrer รุ่น RW20 digital ยี่ห้อ IKA
- ตู้เก็บอุณหภูมิ 5 และ -20 องศาเซลเซียล
- ไมโครปิเปต
- ตะแกรงร่อน เบอร์ 120 mesh
- เมมเบรนชนิดHollow Fiber
- กระดาษกรองขนาด 0.22 ไมโครเมตร

7. อุปกรณ์สำหรับการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์

- ขวดดูแรน
- Hot plate
- ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow)
- ตู้อบ
- หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)

- เครื่องแก้วสำหรับการวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

3.2 วิธีการดำเนินงานวิจัย

1. การเตรียมสตาร์ช

นำแป้งสาคูซื้อจากเกษตรกรผู้ผลิตโดยตรง 500 กรัม ละลายน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 250 g/kg แล้วนำไปเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 gนาน 20 นาที นำตะกอนแป้งมาล้างด้วย 0.3% NaOH (w/v) ปริมาตร 2 เท่าของแป้ง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 gนาน 20 นาที และล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง ปริมาตร 2 เท่า นำไปเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 gนาน 20 นาที และนำตะกอนสตาร์ชไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำตะกอนสตาร์ชไปบดเป็นผง แล้วนำมาร่อนผ่านตะแกรงร่อนขนาด 120 mesh และเก็บใส่ภาชนะปิดสนิทเพื่อใช้ในขั้นถัดไป

นำสตาร์ชข้าวเจ้า สตาร์ชข้าวเหนียว สตาร์ชมันสำปะหลังและสตาร์ชสาคู วิเคราะห์ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า คาร์โบไฮเดรตตามวิธี AOAC (2000) และสตาร์ชด้วย Glucoamylase method, AACC (1990) โดยต้องผ่านเกณฑ์มาตรฐานสตาร์ชคือมีปริมาณโปรตีน ไขมัน ความชื้น และเถ้าไม่เกินร้อยละ 0.5 ก่อนนำมาใช้

2. การสังเคราะห์ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์แบบ 3 ขั้นตอน

การสังเคราะห์แบบ 3 ขั้นตอน (ดัดแปลงจาก Chockchaisawasdee and Poosaran, 2011)

2.1 ขั้นแรก Liquefactionโดยใช้ α-amylase

เตรียมสตาร์ชที่มีความเข้มข้น 20 %(w/w) ปริมาตร 50 มิลลิลิตรปรับพีเอช starch slurry เป็น 6.0 ด้วย 1 N HCl หรือ 1 N NaOH เติม 0.15 U/g starch เอนไซม์ Termamyl SC (α-amylase) นำ starch slurry ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85±1 องศาเซลเซียส จน starch slurry ใส และให้ความร้อนต่อไปนาน 2 ชั่วโมงจนกระทั่ง starch slurry ใส เก็บตัวอย่างทุกๆ 30 นาที เพื่อหาร้อยละการย่อย (% Degree of Hydrolysis, %DH) ที่เป็นอัตราส่วนปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ (Reducing sugar) โดยวิธีของ Somogyi (1952) ต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar) โดยวิธี Phenol sulfuric acid (Dubois *et al*., 1956)

$$\% \text{ Degree of Hydrolysis, (\%DH)} = \frac{\text{Reducing Sugar} \times 100}{\text{Total sugar}}$$

และศึกษาชนิดของสตาร์ช ความเข้มข้นของสตาร์ช และความเข้มข้นของเอนไซม์ ดังต่อไปนี้

2.1.1ศึกษาชนิดสตาร์ช

นำสตาร์ชทั้ง 4 ชนิด มีความเข้มข้น 20% (w/w) ปริมาตร 50 มิลลิลิตรปรับพีเอชสตาร์ชเป็น 6.0 ด้วย 1 N HCl หรือ 1 N NaOH เติมเอนไซม์ Termamyl SC 0.15 U/g starch นำสตาร์ชให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85±1 องศาเซลเซียส จนตัวอย่างใสและให้ความร้อนต่อไปอีก 2 ชั่วโมงเก็บตัวอย่างทุกๆ 30 นาที เพื่อหาร้อยละการย่อย (% Degree of Hydrolysis, %DH) และเลือกชนิดสตาร์ชที่มีร้อยละการย่อยสูงสุดเพื่อศึกษาในขั้นต่อไป

สตาร์ช 4 ชนิด

↓

สตาร์ชมีความเข้มข้น 20% (w/v), pH 6

↓

เติม 0.30 U/g starch เอนไซม์ α-amylase (Termamyl SC)

↓

ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง

↓

เก็บตัวอย่างทุกๆ 30 นาที เพื่อหา %DH

↓

เลือกชนิดที่มีการย่อยสูงสุดศึกษาในขั้นต่อไป

2.1.2ศึกษาผลของความเข้มข้นสตาร์ชและเอนไซม์ Termamyl SC

นำสตาร์ชที่คัดเลือกได้จากข้อ 2.1.1 เตรียมสตาร์ชที่มีความเข้มข้นระดับต่างๆ (15-35%)

โดยมีสภาวะเหมือนข้อ 2.1.1 และคัดเลือกความเข้มข้นสตาร์ชและเอนไซม์ Termamyl SC ที่เหมาะสม โดยวางแผนการทดลองแบบ Central Composite Design โดยใช้โปรแกรม Design Expert เวอร์ชั่น 6 (ตารางที่ 1 ภาคผนวก ก) ผลจากการวางแผนการทดลองความเข้มข้นของสตาร์ชและเอนไซม์ Termamyl SC คัดเลือกสภาวะที่มีค่าร้อยละการย่อย (%DH) สูงสุดโดยมีขั้นตอนการทดลองดังนี้

สตาร์ช ที่ได้จากข้อ 2.1.1 ที่มีความเข้มข้นระดับต่างๆ, pH 6

↓

เติมเอนไซม์ Termamyl SC ระดับต่างๆ

↓

ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

↓

เก็บตัวอย่างทุกๆ 30 นาที เพื่อหา %DH

↓

เลือกชนิดที่มีการย่อย (%DH) สูงสุดเพื่อศึกษาในขั้นต่อไป

2.2 ขั้นที่สองSaccharificationโดยใช้ α- amylase

2.2.1ศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์Fungamyl 800 L

นำ liquefied slurry ที่ได้จากขั้นที่ 1 ปริมาตร 20 g และปรับน้ำหนัก liquefied slurry เป็น 50 g ด้วยน้ำกลั่น ปรับ pH เป็น 6.0 โดยใช้ 5 N NaOH เติม 6.25, 12.5, 25 and 50 U/g เอนไซม์ Fungamyl 800 L (α-amylase) ปรับอุณหภูมิ liquefied slurry เป็น 50 องศาเซลเซียส กวนที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างทุกๆ 6 ชั่วโมง นำไปเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 gนาน 10 นาที นำส่วนใสเก็บใน microtube หลังบ่มนาน 24 ชั่วโมงให้หยุดปฏิกิริยาด้วยการเพิ่มความร้อนเป็น 95 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที และเก็บไว้ที่ -18 องศาเซลเซียสเพื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลโดยใช้ High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

liquefied slurry ที่ได้จากขั้นตอนแรก 20 g

↓ ปรับ pH เป็น 6.0

ปรับน้ำหนักสุดท้ายของ liquefied slurry เป็น 50 g ด้วยน้ำกลั่น

↓

เติม 6.25, 12.5, 25 and 50 U/g เอนไซม์ Fungamyl 800L

↓

ปรับอุณหภูมิ liquefied slurry เป็น 50 องศาเซลเซียส กวนที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที

↓ เก็บตัวอย่างทุกๆ 6 ชั่วโมง

นำไปเหวี่ยงแยกที่ความเร็ว 10,000 g นาน 10 นาที

↓

นำส่วนใสเก็บใน microtube และเก็บไว้ที่ -18 องศาเซลเซียสเพื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลโดยใช้ HPLC

↓

เลือกระดับที่มีปริมาณมอลโตสสูงสุดเพื่อศึกษาในขั้นต่อไป

2.3 ขั้นที่สาม Tranglucosylationโดยใช้เอนไซม์ Transglucosidase

2.3.1 ศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์Transglucosidase L

นำสภาวะขั้นที่ 2 มาศึกษาต่อโดยปรับพีเอชของ saccharified slurry เป็น 5.5±0.02 ด้วย 1 N NaOH และปรับอุณหภูมิเป็น 60 องศาเซลเซียส เติมเอนไซม์ Transglucosidase L ปริมาตร 0.1, 0.5 และ 1 U/g starch บ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุกๆ 6 ชั่วโมง ใส่ใน microtube และเก็บที่ -18 องศาเซลเซียสเพื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลโดยใช้ High Performance Liquid Chromatography (HPLC) หยุดปฏิกิริยาโดยปรับอุณหภูมิเป็น 95 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที และทำให้เย็นอย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิห้อง และเลือกระดับที่มีไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์สูงสุด (ผลรวมของ DP 2-7) เพื่อศึกษาในขั้นต่อไป

ปรับพีเอชของ saccharified slurry เป็น 5.5±0.02 ด้วย 1 N NaOH

↓ ปรับอุณหภูมิเป็น 60 องศาเซลเซียส

เติมเอนไซม์ Transglucosidase L ปริมาตร 0.1, 0.2 หรือ 0.3 U/g starch

↓

บ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

เก็บตัวอย่างทุกๆ 6 ชั่วโมง ใส่ใน microtube

↓

เก็บที่ -18 องศาเซลเซียสเพื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลโดยใช้ HPLC

↓

เลือกระดับที่มีไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์สูงสุด (ผลรวมของ DP 3-7) เพื่อศึกษาในขั้นต่อไป

3. การสังเคราะห์แบบขั้นตอนเดียว(ดัดแปลงจาก Lin *et al*., 2011)

3.1 ศึกษาความเข้มข้นของสตาร์ชและสัดส่วนเอนไซม์ Transglucosidase Lและ saccharifying **α**-amylase

นำสตาร์ชที่มีการย่อยสูงสุดจากการสังเคราะห์แบบ 3 ขั้นตอน ใส่ลงใน flask และเติม de-ionized water ให้มีปริมาตร 50 ml โดยสตาร์ชมีความเข้มข้นสุดท้ายระดับ 15-35 %

คัดเลือกความเข้มข้นสตาร์ชและเอนไซม์ โดยการวางแผนการทดลองแบบ Central Composite Design ด้วยโปรแกรม Design Expert เวอร์ชั่น 6.0 ปรับพีเอชของสตาร์ชเป็น 6.0 ด้วย 1 N HCl หรือ 1 N NaOHเติมสารละลายเอนไซม์Transglucosidase L และ Saccharifying **α**-amylase (SAA) ในสัดส่วน 1:1, 1:2 และ 1:3 U/g starchให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85±1 องศาเซลเซียสจนใส และให้ความร้อนต่อไปอีก 2 ชั่วโมง กวนน้ำแป้งตลอดเวลาด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิของ flask ที่ 60 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 2, 3, 6, 9, 12 และ 24 ชั่วโมง เพื่อหาปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว คู่ โอลิโกแซคคาไรด์และไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ ด้วยเครื่อง HPLC เลือกระดับที่ให้ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์สูงสุด (ผลรวมของ DP 2-7) เพื่อศึกษาในขั้นต่อไป โดยมีขั้นตอนการทดลองดังนี้

นำสตาร์ชเติม de-ionized water ให้มีปริมาตร 50 ml

↓

สตาร์ชเข้มข้นสุดท้ายระดับต่างๆ

↓ ปรับพีเอชของน้ำแป้งเป็น 6.0

เติมสารละลายเอนไซม์ผสมระดับต่างๆ

↓

ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85±1 องศาเซลเซียส

↓ เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

กวนน้ำแป้งตลอดเวลาด้วยเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที

↓ ควบคุมอุณหภูมิของ flask ที่ 57 องศาเซลเซียส

เก็บตัวอย่างน้ำแป้งที่เวลา 0, 2, 3, 6, 9, 12 และ 24 ชั่วโมง

↓

เพื่อหาปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว คู่ โอลิโกแซคคาไรด์และไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ ด้วยเครื่อง HPLC

↓

เลือกระดับที่มีไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์สูงสุด(ผลรวมของ DP 3-7) เพื่อศึกษาในขั้นต่อไป

4. การทำให้บริสุทธิ์และการเตรียมตัวอย่างน้ำเชื่อมเข้มข้น

4.1 การกรองด้วยเมมเบรนชนิดHollow Fiber

นำตัวอย่างที่ให้ผลผลิตไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์สูงสุด (ผลรวมของ DH 3-7) ที่ได้จากการเตรียมในขั้นตอนเดียวหรือการเตรียมแบบสามขั้นตอนมาทำให้บริสุทธิ์ โดยวิเคราะห์ปริมาณไอโซมอล-โตโอลิโกแซคคาไรด์ด้วย HPLC ก่อนกรองผ่านเมมเบรน จากนั้นกรองผ่านเมมเบรนชนิด Hollow Fiber ระดับนาโน โดยระบบกรองต่อกับปั๊มความดันสูง และนำทั้งส่วนของ permeate และ retentate วิเคราะห์ปริมาณไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ด้วยเครื่อง HPLC

4.2 การเตรียมผลิตภัณฑ์ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์

การเตรียมในรูปผงแห้งด้วยเครื่อง spray dryerโดยนำส่วน retentate ไปผ่านเครื่อง spray dryerโดยใช้ inlet 170 ºC Aspirator 80% pump 5% และวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลด้วย HPLC โดยเปรียบเทียบกับไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ทางการค้า

การเตรียมในรูปแบบน้ำเชื่อมเข้มข้นที่ผ่านการกรองระดับนาโน โดยนำส่วน retentate มาทำให้เข้มข้น 30% โดยใช้เครื่อง Evaporator ที่อุณหภูมิ 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียล โดยใช้ตัวอย่างปริมาณ 50 ml ในการทำให้เข้มข้น

5. การทดสอบไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ผลิตได้ต่อการส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โพร-ไบโอติก

นำแบคทีเรีย*Lactobacillus plantarum*TISTP 1465เลี้ยงในmodified MRS เป็นเวลา24 ชั่วโมงใน anaerobic jarจากนั้นเติมinoculum ปริมาตร1 มิลลิลิตรลงในอาหารเลี้ยงเชื้อmodified MRS ผสม กลูโคส (ชุดควบคุม) FOS ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ผลิตได้ และไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ทางการค้า 1 มิลลิลิตร (เข้มข้น 2%) กับอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวปริมาตร4 มิลลิลิตรโดยใช้ drop plate เนื่องจากเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ทั้งที่มีอากาศและไม่มีอากาศบนอาหารแข็ง MRS ที่มีการเติม bromocresol purple 0.02 เปอร์เซ็นต์ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา48 ชั่วโมงใน anaerobic jar เก็บตัวอย่างที่ 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง จากนั้นนับจำนวนโคโลนีที่เปลี่ยนสีอาหารจากสีม่วงเป็นสีเหลือง รายงานผลในรูป CFU/ml เพื่อเปรียบเทียบการส่งเสริมการเจริญของเชื้อเมื่อใช้ตัวอย่างทั้ง 4ชนิด(กลูโคสFOS ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ทางการค้าและไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์) ทำการทดลองทั้งหมด3 ซ้ำ วิเคราะห์ค่าทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรม SPSS เวอร์ชั่น 13.0

นำแบคทีเรีย*Bifidobacterium animalis* BB 12เลี้ยงในอาหาร MRS ที่มีการเติม L-cysteine-hydrochoride 0.05 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักต่อปริมาตร และbromocresol purple 0.02 เปอร์เซ็นต์จากนั้นเติมinoculum ปริมาตร1 มิลลิลิตรลงในอาหารเลี้ยงเชื้อMRSที่มีกลูโคส (ชุดควบคุม)FOS ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ และไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ทางการค้า 1 มิลลิลิตร (เข้มข้น 2%) กับอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวปริมาตร4 มิลลิลิตรโดยใช้วิธีการ pour plate เนื่องจากเป็นจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต นำไปบ่มที่อุณหภูมิ37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา48 ชั่วโมงใน anaerobic jar และนับจำนวนโคโลนีที่เปลี่ยนสีอาหารจากสีม่วงเป็นสีเหลือง รายงานผลในรูป CFU/ml เพื่อเปรียบเทียบการส่งเสริมการเจริญของเชื้อเมื่อใช้ตัวอย่าง ทั้ง 4ชนิด (กลูโคสFOS ไอโซมอล-โตโอลิโกแซคคาไรด์ทางการค้าและไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์) ทำการทดลองทั้งหมด3 ซ้ำ วิเคราะห์ค่าทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรม SPSS เวอร์ชั่น 13.0

6. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ค่าทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรม SPSS เวอร์ชั่น 13.0 ทำการทดลองทั้งหมด3 ซ้ำรายงานผลเป็นค่าเฉลี่ย ($\bar{X}$) และค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลของการวิเคราะห์องค์ประกอบพื้นฐานทางเคมีของสตาร์ชข้าวเจ้า ข้าวเหนียว มันสำปะหลัง และสาคู

จากการนำตัวอย่างสตาร์ชข้าวเจ้า ข้าวเหนียว มันสำปะหลัง และสาคู มาทำการวิเคราะห์องค์ประกอบพื้นฐานทางเคมี (ตารางที่ 8) โดยสตาร์ชทั้ง 4 ชนิด มีปริมาณความชื้นอยู่ในช่วงร้อยละ 0.20-0.47 (โดยน้ำหนักแห้ง) ปริมาณโปรตีนอยู่ในช่วงน้อยกว่าร้อยละ 0.1 (โดยน้ำหนักแห้ง) เนื่องจากได้ทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่องวิเคราะห์โปรตีนอัตโนมัติค่าที่ได้จึงค่าติดลบ ซึ่งค่าที่ติดลบแสดงว่ามีปริมาณโปรตีนน้อยกว่า 0.1 ปริมาณไขมันอยู่ในช่วงร้อยละ 0.05-0.18 (โดยน้ำหนักแห้ง) และปริมาณเถ้าอยู่ในช่วงร้อยละ 0.03-0.08 (โดยน้ำหนักแห้ง) จากการวิเคราะห์ปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน และเถ้าในตัวอย่างสตาร์ชทั้ง 4 ชนิด พบว่ามีค่าน้อยกว่าร้อยละ 0.5 แสดงให้เห็นว่ามีความบริสุทธิ์สูง ซึ่งมีคุณสมบัติในการเป็นสตาร์ช

ตารางที่ 8องค์ประกอบพื้นฐานทางเคมีของสตาร์ชข้าวเจ้า ข้าวเหนียว มันสำปะหลัง และสาคู

องค์ประกอบพื้นฐานทางเคมี (%)	สตาร์ชข้าวเจ้า	สตาร์ชข้าวเหนียว	สตาร์ชมันสำปะหลัง	สตาร์ชสาคู
ความชื้น	0.20 ± 0.06^{b}	0.31 ± 0.06^{b}	0.45 ± 0.09^{a}	0.47 ± 0.05^{a}
โปรตีน	$\leq 0.1^{a}$	$\leq 0.1^{a}$	$\leq 0.1^{a}$	$\leq 0.1^{a}$
ไขมัน	0.05 ± 0.03^{b}	0.18 ± 0.00^{a}	0.07 ± 0.01^{b}	0.10 ± 0.05^{b}
เถ้า	0.03 ± 0.01^{b}	0.08 ± 0.01^{a}	0.03 ± 0.00^{b}	0.03 ± 0.02^{b}

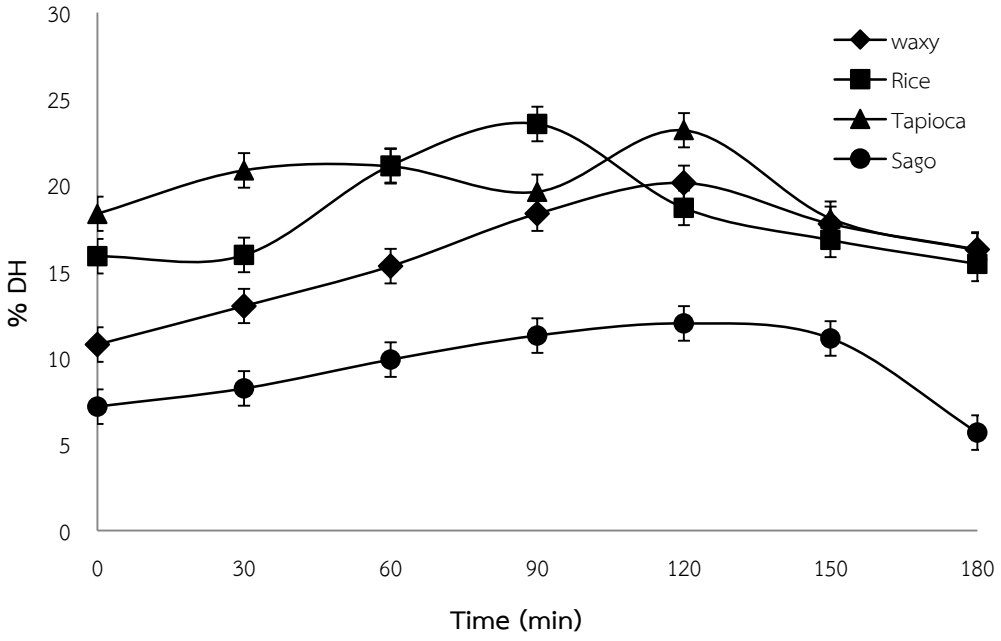
* ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละแถวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

2. การผลิตไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์แบบ 3 ขั้นตอน

2.1 ผลของการผลิตไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ในขั้นตอนแรก Liquefaction

จากการศึกษาผลของอัตราการย่อย (%DH) ในขั้น liquefaction โดยใช้เอนไซม์ Termamyl SC ซึ่งเป็นเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ผลิตได้จาก*Bacillus licheniformis*ทนความร้อนได้สูง สามารถทนอุณหภูมิสูงได้ถึงประมาณ 110 องศาเซลเซียส โดยเอนไซม์เทอร์มามิลทำหน้าที่ตัดพันธะ α-1,4 อย่างสุ่ม โดยตัดทั้งอไมโลสและอไมโลเพกตินทำให้สตาร์ชมีขนาดพันธะที่สั้นลงและเปลี่ยนเป็นเดกซ์ตริน (dextrins) แต่เอนไซม์ Termamyl SC ไม่สามารถที่จะตัดพันธะ α-1,6 ใน slurry ได้ จากภาพที่ 5 อัตราการย่อย (%DH)ของสตาร์ชแต่ละชนิดมีความเข้มข้น 20% และใช้เอนไซม์ Termamyl SC25U/g starch ที่อุณหภูมิ 85 C ระยะเวลา 0, 30, 60, 90, 120, 150 และ 180 นาที พบว่าเมื่อระยะเวลาเพิ่มมากขึ้น อัตราการย่อยของสตาร์ชทั้ง 4 ชนิดก็เพิ่มขึ้นจนถึงจุดอิ่มตัว หลังจากนั้นอัตราการย่อยก็จะลดลง เรื่อยๆสตาร์ชข้าวเจ้ามีอัตราการย่อย (%DH) มากที่สุดคือ 23.55% ที่เวลา 90 นาที รองลงมาคือสตาร์ชมันสำปะหลังมีอัตราการย่อย 23.19% ที่เวลา 120 นาที สตาร์ชข้าวเหนียวมีอัตราการย่อย 20.14% ที่เวลา 120 นาทีและสตาร์ชสาคูมีอัตราการย่อย 12% ที่เวลา 120 นาที ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับ Sringam

(1994) ได้ศึกษาผลการย่อยสตาร์ชข้าวเจ้า สตาร์ชข้าวเหนียว สตาร์ชข้าวโพด และสตาร์ชมันสำปะหลัง โดยใช้เอนไซม์ Termamyl0.1% สตาร์ชมีความเข้มข้น 35% พบว่าเมื่อระยะเวลาเพิ่มมากขึ้นปริมาณการย่อยก็จะเพิ่มขึ้น จะเห็นได้ว่าอัตราการย่อยของเอนไซม์ Termamyl ของสตาร์ชข้าวเจ้ามีค่าสูงกว่าสตาร์ชข้าวเหนียว สตาร์ชมันสำปะหลัง และสตาร์ชข้าวโพด เนื่องจากสตาร์ชข้าวมีปริมาณอะไมโลสมากกว่าสตาร์ชข้าวเหนียว สตาร์ชมันสำปะหลัง และสตาร์ชข้าวโพด จึงทำให้เอนไซม์สามารถเข้าไปทำการย่อยได้ง่ายกว่า ดังนั้นสตาร์ชข้าวเจ้าจึงเหมาะสมเพื่อนำไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป

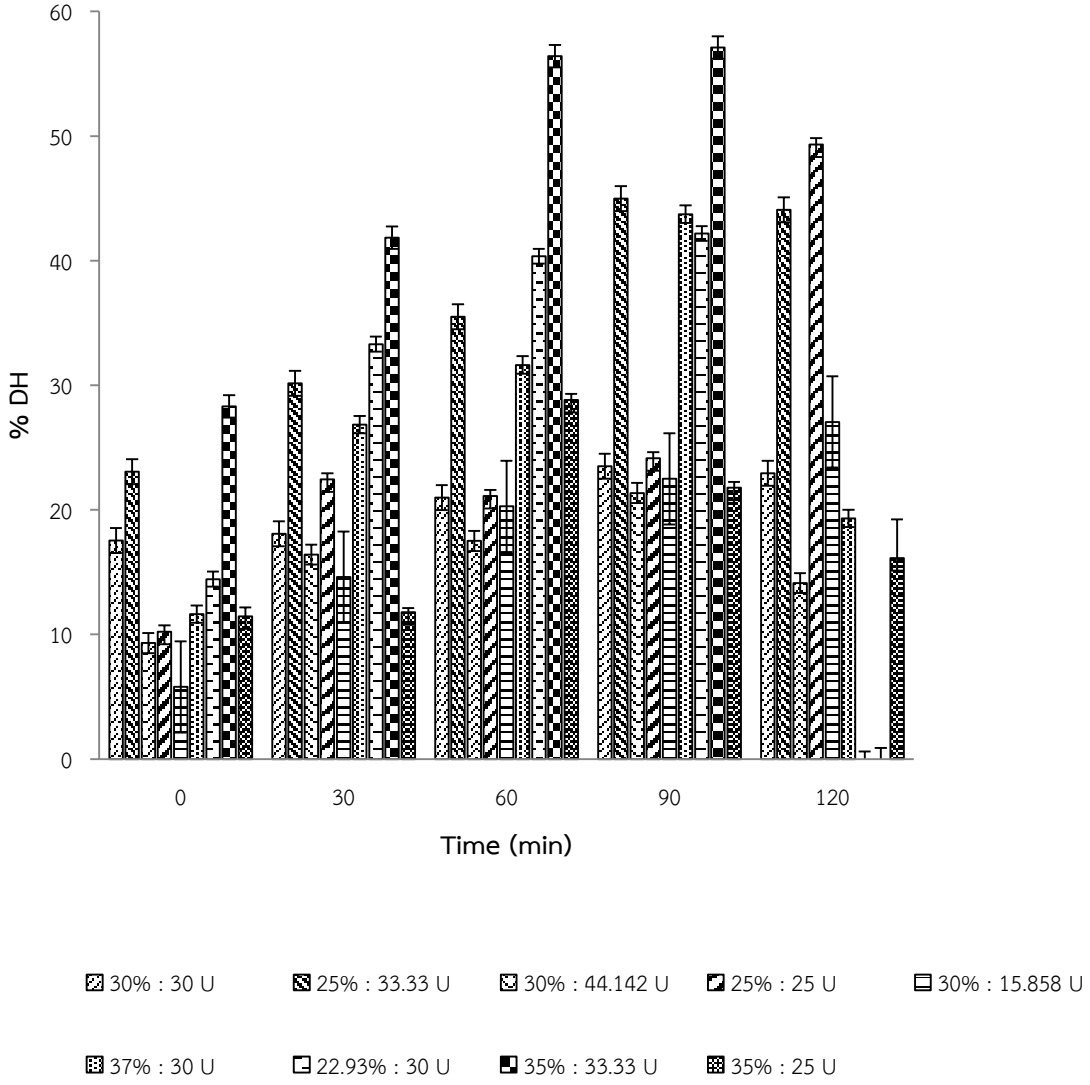


ภาพที่ 5ผลของอัตราการย่อย (%DH) สตาร์ชข้าวเจ้า ข้าวเหนียว มันสำปะหลังและสาคูโดยสตาร์ช ความเข้มข้น 20% และใช้เอนไซม์ Termamyl SC25 U/g starch ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส

2.1.1 ผลของความเข้มข้นสตาร์ชและเอนไซม์ Termamyl SC

จากการศึกษาความเข้มข้นสตาร์ชข้าวและเอนไซม์ Termamyl SC โดยใช้โปรแกรม Design Expert เวอร์ชั่น 6 เมื่อนำสตาร์ชข้าวและเอนไซม์ที่ความเข้มข้นต่างๆมาให้ความร้อนจะเห็นได้ว่าเมื่อแป้งได้รับความร้อนเม็ดแป้งจะดูดซับน้ำและเกิดการพองตัวขึ้นเนื่องจากพันธะไฮโดรเจนของโมเลกุลถูกทำลาย ซึ่งการพองตัวของเม็ดแป้ง ทำให้น้ำบริเวณรอบๆเม็ดแป้งเหลือน้อยลง เม็ดแป้งจึงเคลื่อนไหวได้ยาก มีผลให้เกิดความหนืดขึ้น (Zobel, 1988) เมื่อเพิ่มอุณหภูมิเม็ดแป้งก็จะพองตัวมากขึ้น ความหนืดจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนถึงจุดที่ความหนืดสูงสุด (Peak viscosity) และเมื่อให้ความร้อนต่อไปอีกรวมทั้งมีการกวนอย่างต่อเนื่อง เม็ดแป้งจะแตกตัวและโมเลกุลอะไมโลสกระจายออกมา ทำให้ความหนืดลดลง จากภาพที่ 6

พบว่าสตาร์ชข้าวที่ความเข้มข้น 35% และเอนไซม์ Termamyl SC ปริมาตร 33.33 U มีอัตราการย่อย (%DH) มากที่สุดคือ 57.12% ที่เวลา 90 นาที เนื่องจากสตาร์ชข้าวและความเข้มข้นของเอนไซม์ Termamyl SC มีปริมาณที่เหมาะสมทำให้เอนไซม์สามารถที่จะย่อยปริมาณอะไมโลสได้ในปริมาณที่มาก

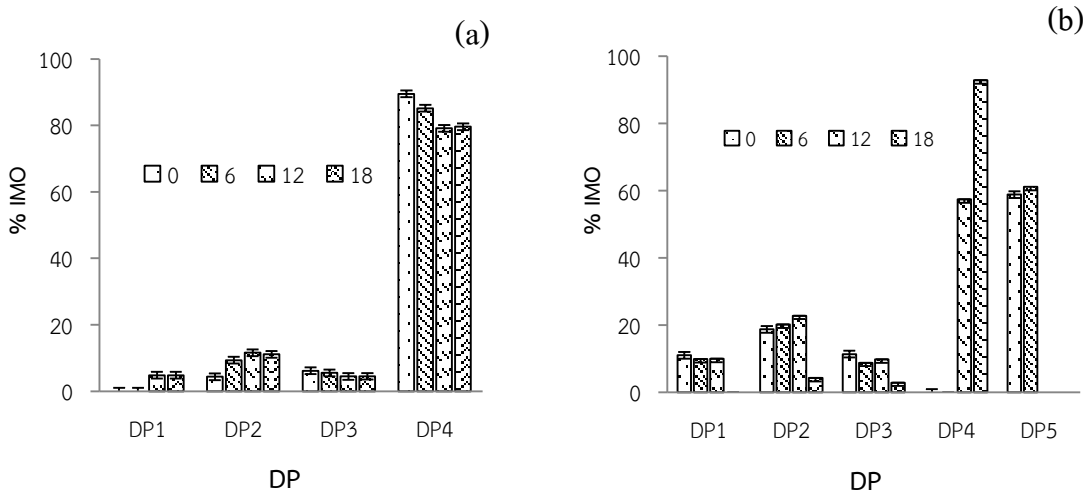


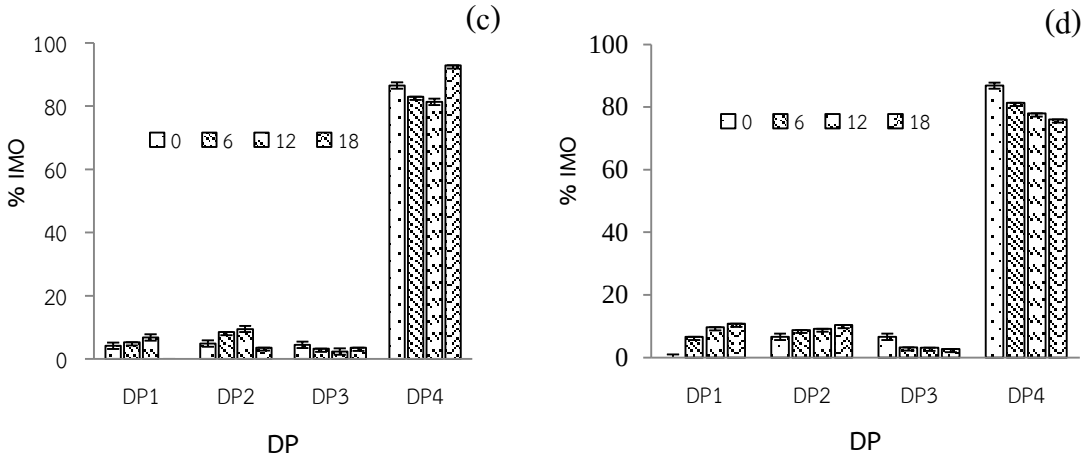
ภาพที่ 6ผลของความเข้มข้นสตาร์ชข้าวเจ้าและเอนไซม์ Termamyl SC ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส

2.2 ผลของความเข้มข้นของเอนไซม์ Fungamyl 800 L

จากการศึกษานำ liquefied slurry ที่ได้จากขั้นแรก liquefaction มาศึกษาอัตราส่วนของเอนไซม์ Fungamyl 800 L (α-amylase) ที่ความเข้มข้น 6.25, 12.5, 25 และ 50 U/g starch ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง และวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลโดยใช้High Performance Liquid Chromatography (HPLC) จากภาพที่ 7 พบว่าเอนไซม์ Fungamyl 800 L สามารถผลิตมอลโตสได้สูงสุดที่ความเข้นข้ม 12.5 U/g starch ซึ่งเอนไซม์ Fungamyl 800 L เป็นเอนไซม์แบบ α-amylase ที่ได้จากเชื้อรา *Aspergillus oryzae* ซึ่งสามารถย่อยมอลโตสได้ประมาณ 50% ที่เหลือเป็นกลูโคสและเดกซ์ทริน (Yamamoto, 1982) นอกจากนี้ *A. oryzae* สามารย่อยสตาร์ชที่ปลายโมเลกุลด้าน non reducing ที่พันธะ α, 1-4 ได้น้ำตาลกลูโคส และสามารถย่อยพันธะ α, 1-6 ได้ (chaplin และ Bucke, 1990)จากภาพที่ 6b จะเห็นได้ว่าเอนไซม์ Fungamyl 800 L ที่ 12.5U/g starch ที่เวลา 12 ชั่วโมงมีปริมาณมอสโตส

(DP 2) มากที่สุดคือ 22.80% ซึ่งมอลโตสเป็น substrate ในการผลิต IMO ดังนั้นจึงเลือกสภาวะนี้ไปศึกษาในขั้นต่อไป ส่วนภาพที่ 6a จะเห็นได้ว่าที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ Fungamyl 800 L 6.25 U/g starch มีปริมาณมอลโตสสูงสุด 11.58% ที่ 12 ชั่วโมง ภาพที่ 6c จะเห็นได้ว่าที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ Fungamyl 800 L 25 U/g starch มีปริมาณมอลโตสสูงสุด 9.47% ที่ 12 ชั่วโมงและภาพที่ 6d จะเห็นได้ว่าที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ Fungamyl 800 L 50 U/g starch มีปริมาณมอลโตสสูงสุด 10.40% ที่ 18 ชั่วโมง



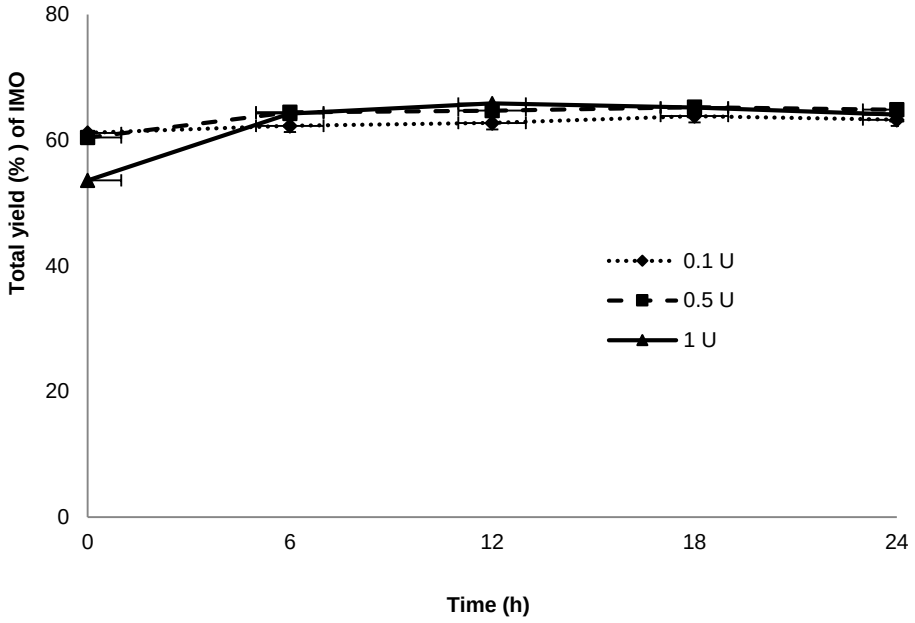


ภาพที่ 7 ผลของการผลิต IMO 3 ขั้นตอน โดยใช้เอนไซม์ Fungamyl 800 Lที่ความเข้มข้นต่างๆ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (a) 6.25, (b) 12.5, (c) 25 และ (d) 50U/g starch

2.3ขั้นที่สาม Tranglucosylation

จากการศึกษานำ saccharified slurryในขั้น Saccharificationที่สภาวะความเข้มข้นเอนไซม์ Fungamyl 800 L12.5 U/g starch ที่เวลา 12 ชั่วโมง ศึกษาอัตราส่วนความเข้มข้นของเอนไซม์ Transglucosidase L0.1, 0.5 และ 1 U/g starchที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากภาพที่ 8 พบว่าเอนไซม์ TransglucosidaseL ที่ความเข้มข้น 1 U/g starch มีปริมาณ IMO (ผลรวม DP 3-6)มากที่สุดคือ 65.83% ที่ 12 ชั่วโมง และจะเห็นได้ว่าที่เวลา 0 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ TransglucosidaseL1 U/g starch มีปริมาณของ IMO น้อยเนื่องจากเมื่อใส่เอนไซม์ในปริมาณที่มาก ลงไปในตัวอย่างเอนไซม์สามารถทำงานได้ทันทีทำให้มีปริมาณมอลโตส DP 2 มาก ซึ่งปริมาณมอลโตสจะไม่นำมาคำนวณผลรวมของ IMO จึงทำให้ที่เวลา 0 ชั่วโมงมีปริมาณ IMO น้อย และที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ TransglucosidaseL0.1 และ 0.5 U/g starchมีปริมาณ IMO สูงสุดที่ 63.84% และ 65.28% ที่เวลา 18 ชั่วโมง

ในระหว่างการสังเคราะห์ IMO จะมีการย่อยน้ำตาล โดยเอนไซม์ Transglucosidase L สามารถตัดได้ทั้งตัดพันธะ α, 1-4 และเชื่อมต่อพันธะ α, 1-6 ของโมเลกุลสตาร์ช และจะเกิดปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วในการย่อยพันธะ α, 1-4 และเชื่อมต่อพันธะ α, 1-6 เอนไซม์ Transglucosidase Lสามารถกระตุ้นปฏิกิริยาและการย่อย โดย IMO เกิดจากการย้ายหมู่ glucosylα, 1-4 ไปยังตำแหน่งที่ 6 ของคาร์โบไฮเดรตในระบบ นอกจากนี้ได้ Chockchaisamasdee และคณะ(2011)ได้ศึกษาการผลิต IMO แบบ 3 ขั้นตอนโดยใช้สตาร์ชกล้วย พบว่าหลัง 12 ชั่วโมงจะมีปริมาณมอลโตสลดลง เนื่องจากโมเลกุลของมอลโตสถูกย่อยเป็นกลูโคส หลังจากนั้นก็จะถูกเชื่อมต่อเป็น IMO อย่างไรก็ตามหลังจาก 12 ชั่วโมงโมเลกุลขนาดใหญ่และขนาดเล็กจะถูกย่อยเป็น isomaltotriose, isomaltose, maltose, และ glucose นอกจากนี้หลังจาก 18 ชั่วโมงจะเกิดปฏิกิริยาการย่อย oligosaccharidesทำให้ oligosaccharides ถูกทำลายส่งผลให้จำนวนกลูโคสเพิ่มขึ้น

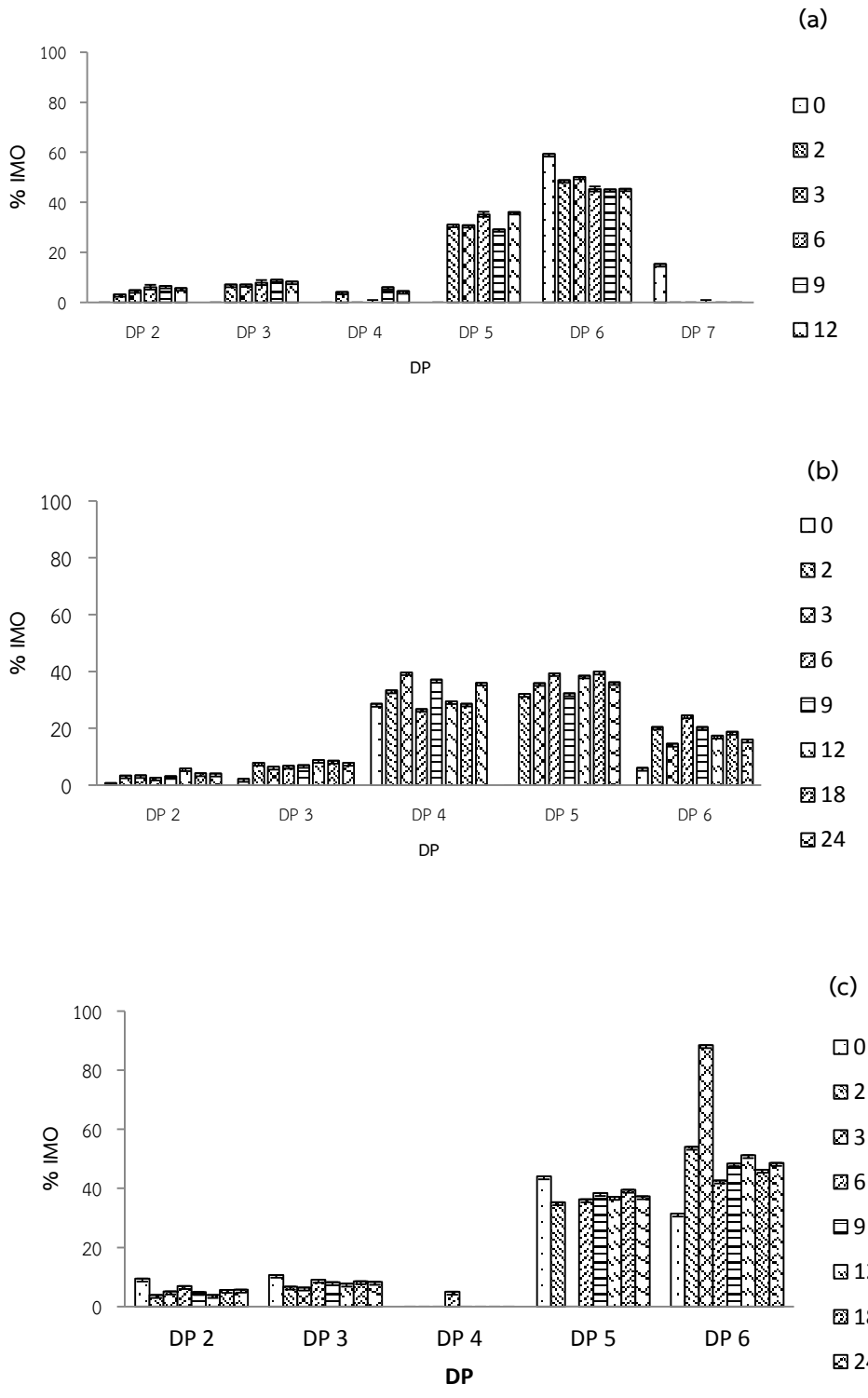


ภาพที่ 8 ผลของการผลิต IMO 3 ขั้นตอน โดยใช้เอนไซม์ Transglucosidase L ความเข้มข้น; ••◆•• 0.1 U/g starch, ▬■▬0.5 U/g starch, ▬▲▬ 1 U/g starchที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

3. การผลิตไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์แบบขั้นตอนเดียว

จากการศึกษาอัตราส่วนความเข้มข้นระหว่างเอนไซม์ Transglucosidase L และ Saccharifying α-amylase (SAA) ในอัตราส่วน 1:1, 1:2 และ 1:3 U/g starch โดยเอนไซม์ SAA สามารถย่อยสตาร์ชได้เป็น glucose, maltose และ maltotrios ในขณะที่เอนไซม์ Transglucosidase L จะต่อพันธะ α, 1-4 เป็นพันธะ α, 1-6 ทำให้มีปริมาณ maltotriose ที่สูง ดังนั้นการใช้เอนไซม์ Transglucosidase L และ SAA ร่วมกันจะทำให้เกิดการย่อยแบบสมบูรณ์ จากภาพที่ 9 พบว่าเอนไซม์ Transglucosidase L และ SAA ในอัตราส่วน 1:3 (ภาพที่ 9c) เอนไซม์ทั้งสองสามารถสังเคราะห์ DP 6 ที่ 3 ชั่วโมง ได้ในปริมาณที่สูงสุดถึง 88.5% และไม่มี DP 7 เพราะว่าเอนไซม์ SAA สามารถที่จะย่อยโมเลกุลให้มีขนาดเล็ก นอกจากนี้การเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ทำให้อัตราการย่อยเพิ่มขึ้นจึงทำให้ไม่มี DP 7 และจากภาพที่ 9a จะเห็นได้ว่าที่ 0 ชั่วโมงมีเพียง DP 6 และ DP 7 เนื่องจากสตาร์ชเริ่มต้นยังคงมีโมเลกุลที่ใหญ่และเอนไซม์มีปริมาณน้อยจึงทำให้เอนไซม์ทำงานได้ไม่ดี แต่เมื่อเวลาเพิ่มขึ้นปริมาณของ DP 6 และ DP 7 ลดลงเนื่องจากเอนไซม์อยู่ในสภาวะที่เหมาะสมทำให้สามารถย่อยโมเลกุลใหญ่ๆให้เป็นโมเลกุลเล็กได้ นอกจากนี้จะเห็นได้ว่าที่อัตราส่วน 1:1ของเอนไซม์ Transglucosidase L และ SAAสามารถสังเคราะห์ IMO ได้เพียง 12 ชั่วโมง เนื่องจากความเข้มข้นของเอนไซม์มีปริมาณน้อย

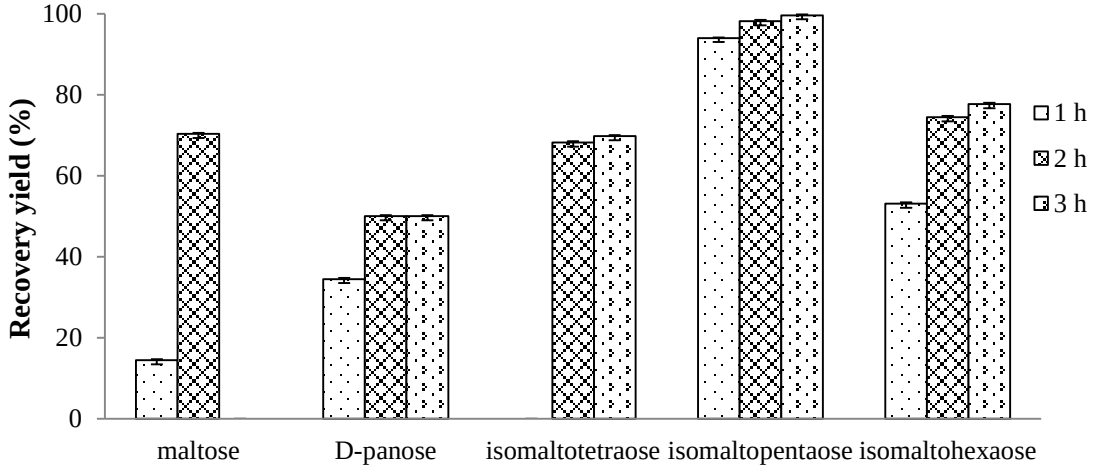
Lin และ คณะ(2011) ได้ศึกษาวิธีการผลิต IMO จากสตาร์ชข้าวแบบขั้นตอนเดียว โดยใช้เอนไซม์ Neopullulanase (NPN) 3.5 U/g starch และ Saccharifying α-amylase (SAA) 6.5 U/g starch ที่อุณหภูมิ 57 °C เป็นเวลา 92 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณ IMO สูงสุด ที่ 72 ชั่วโมง โดยมีปริมาณ IMO 59.2%



ภาพที่ 9 ผลของการผลิต IMO 1 ขั้นตอนโดยใช้เอนไซม์Transglucosidase L และเอนไซม์ Saccharifying α-amylase(SAA)อัตราส่วน (a)1:1, (b)1:2, (c) 1:3U/g starch

4. ผลของการทำให้ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์บริสุทธิ์

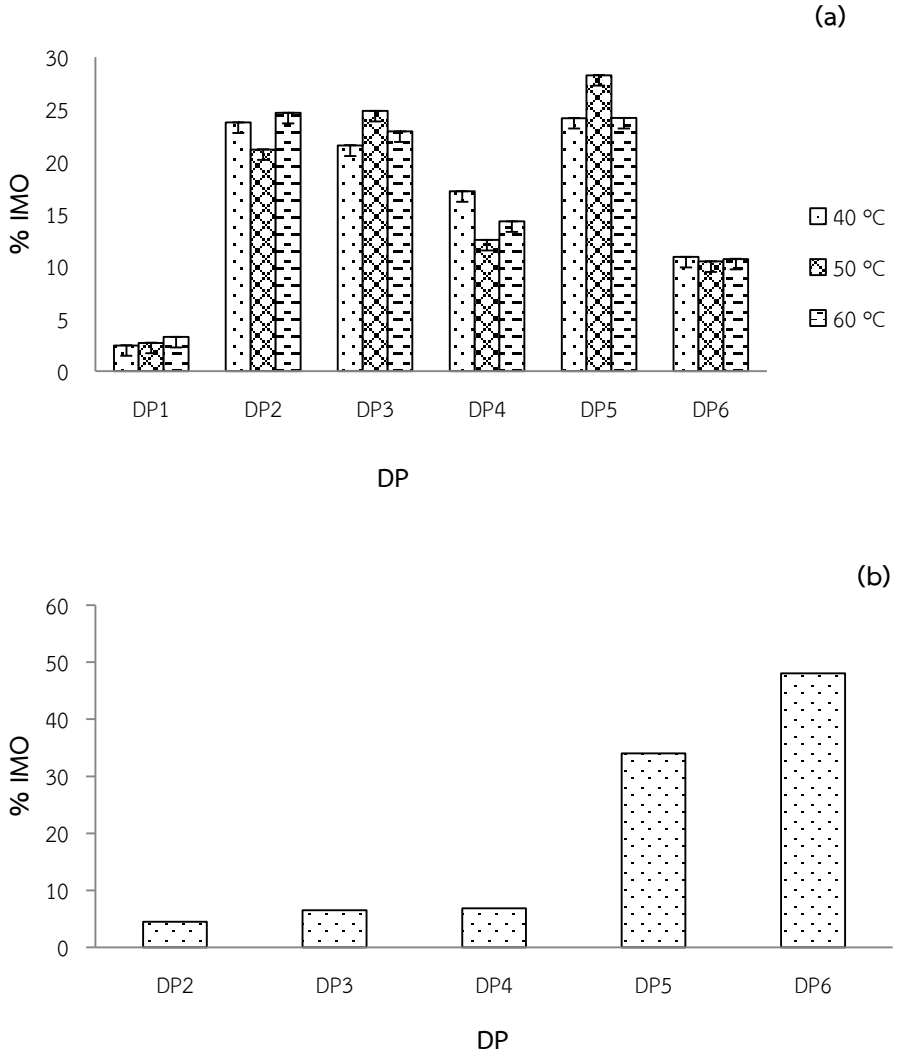
เมื่อนำ IMO จากสตาร์ชข้าวเจ้าที่ได้จากการสังเคราะห์ขั้นตอนเดียวโดยใช้อัตราส่วนของ Transglucosidase L และเอนไซม์ Saccharifying α-amylase(SAA) เท่ากับ 1:3 U/g starch มาทำบริสุทธิ์เนื่องจากสภาวะนี้ให้ yield ของ IMO สูงที่สุดและมีจำนวนน้ำตาลที่มี DP 2-3 น้อย ทำการศึกษาเปรียบเทียบระหว่าง IMO ก่อนผ่านเมมเบรน และ IMO หลังผ่านเมมเบรน โดยเมมเบรนที่ใช้เป็นแบบเส้นใยกลวง (Hollow Fiber) ประกอบด้วยเมมเบรนที่เป็นท่อขนาดเล็กแบบมีชั้นรองรับในตัวบรรจุอยู่ในท่อบรรจุซึ่งอาจทำจากวัสดุพอลิเมอร์หรือสเตนเลสเมมเบรนที่ขนาดเล็กที่มีลักษณะเป็นเส้นใยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางอยู่ในช่วง 0.1-0.5 mm ส่วนเมมเบรนที่มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางใหญ่ขึ้นประมาณ 0.5-10 mm เรียกว่าเมมเบรนเส้นใยกลวงแบบแคปิลลารี (capillary) โมดูล 1 โมดูลอาจจะประกอบด้วยเส้นใยกลวงหลายพันเส้นบรรจุใน bundle และ potted ด้วย epoxy ในท่อที่มีลักษณะจัดเรียงแบบ shell and tube สำหรับกระบวนการ MF และ RO สารป้อนมักเข้าทางผิวด้านนอกเส้นใย (outside in) ส่วนกระบวนการ UF และ NF สารป้อนมักเข้าทางท่อของเส้นใยกลวง (inside out) โมดูลแบบเส้นใยกลวงมีพื้นที่กรองต่อปริมาตรสูงสุดเมื่อเทียบกับโมดูลแบบอื่นๆโดยอาจสูงถึง 30000 m^2/m^3 จากภาพที่ 10 จะเห็นได้ว่าเมื่อนำ IMO ผ่านเมมเบรนชนิด Hollow Fiber ขนาด 1KDa สามารถกำจัดมอลโตสได้ (DP2) นะที่ DP 3 และ DP 6 สามารถเก็บเกี่ยวได้ในส่วน retentate เกือบ 100% สำหรับ DP 5 จึงสรุปได้ว่าการใช้นาโนฟิวเตรชันสามารถกำจัดน้ำตาลมอลโตสออกจากสารละลาย IMO ได้ และทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความเข้มข้นขึ้น



ภาพที่ 10 recovery yield ของ IMO จากการสังเคราะห์ขั้นตอนเดียวที่ผ่านเมมเบรนชนิด Hollow Fiber ขนาด 1 KDaเป็นเวลา 3 ชั่วโมง

เมื่อนำ IMO จากสตาร์ชข้าวเจ้าที่ได้จากการสังเคราะห์ขั้นตอนเดียวโดยตัวอย่างไม่ได้ผ่านเมมเบรนมาทำให้อยู่ในรูปผลิตภัณฑ์แบบน้ำเชื่อมและแบบผง และเปรียบเทียบปริมาณ IMO ระหว่างแบบน้ำเชื่อมและแบบผง โดยแบบน้ำเชื่อมจะนำมาทำให้เข้มข้นโดยใช้เครื่อง Evaporator ที่อุณหภูมิ 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียลให้ได้ความเข้มข้นที่ 30 % จากภาพที่ 11a จะเห็นได้ว่าเมื่อตัวอย่างได้รับความร้อนเพิ่มมากขึ้นปริมาณของกลูโคส (DP 1) ก็เพิ่มขึ้น เนื่องจากความร้อนจะกระตุ้นให้เอนไซม์ที่อยู่ในตัวอย่างสามารถทำงานได้ และจะย่อยโมเลกุลขนาดใหญ่ให้มีขนาดเล็กลง และจากภาพที่ 11b การเตรียมผลิตภัณฑ์ในรูปแบบผงโดยใช้เครื่อง spray dryer(การทำแห้งแบบพ่นฝอย) เป็นเทคนิคที่ใช้เพื่อระเหยน้ำ

ออกจากของเหลวอย่างรวดเร็วโดยอากาศร้อนกระบวนการนี้ประกอบไปด้วยการพ่นของเหลว (Feed) ออกมาจนเป็นละอองขนาดเล็กเข้าผสมกับอากาศร้อนที่ไหลผ่านอย่างรวดเร็วทำให้น้ำที่อยู่ในละอองของเหลวระเหยไปทั้งหมดและได้ผลิตภัณฑ์ที่อยู่ในรูปของผงแห้ง จะเห็นได้ว่าวิธีนี้ดีกว่าการเตรียมผลิตภัณฑ์ในรูปแบบน้ำเชื่อม เพราะว่าปริมาณของ IMO ที่ได้มีปริมาณที่ใกล้เคียงกับปริมาณเริ่มต้น และไม่ทำให้ผลิตภัณฑ์มีปริมาณกลูโคส



ภาพที่ 11 ผลของการทำความเข้มข้นผลิตภัณฑ์ IMO (a) รูปแบบน้ำเชื่อม ที่อุณหภูมิ 40, 50 และ 60 °C โดยใช้เครื่อง Evaporatorและ(b) แบบผง โดยใช้เครื่อง spray dryer

5. ผลของการศึกษาการเปลี่ยนแหล่งคาร์บอนต่อการส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์โพรไบโอติก *Lactobacillus plantarum* TISTR 1465 และ *Bifidobacterium animalis* subsp. lactis BB-12

เมื่อนำ IMO ที่ผลิตได้จากข้าวเจ้าและIMO® ทางการค้ามาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนแทนกลูโคสเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ใช้กลูโคสและฟรุตโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS) เป็นแหล่งคาร์บอนมาเพาะเลี้ยงร่วมกับแบคทีเรียโพรไบโอติกคือ *Lactobacillus plantarum* TISTR 1465 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

De Man Rogosa Sharpe (MRS) ที่อุณหภูมิ 37 ºC ทำการบ่มในสภาวะที่ไม่มีอากาศเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากตารางที่ 9 พบว่า *L. plantarum* TISTR 1465 สามารถเจริญได้สูงสุดใน IMO® ทางการค้าที่ 48 ชั่วโมง โดยมีจำนวนแบคทีเรียเพิ่มขึ้นจาก $1.00x10^7$ CFU/ml ถึง $5.40x10^8$ CFU/ml และ IMO ที่ผลิตได้จากข้าวเจ้ามีจำนวนแบคทีเรียเพิ่มขึ้นจาก $1.70x10^7$ CFU/ml ถึง $1.85x10^8$ ที่ 48 ชั่วโมงเช่นกัน เมื่อเปรียบเทียบกับการเจริญของ *L. plantarum* TISTR 1465 ในอาหารที่มีกลูโคสและฟรุตโตโอลิโกแซคคาไรด์ เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่ามีจำนวนแบคทีเรียเพิ่มขึ้นจาก $1.83x10^7$CFU/ml ถึง $3.59x10^8$CFU/ml และ $1.71x10^7$ CFU/ml ถึง $3.77x10^8$ ตามลำดับแสดงว่า *L. plantarum* TISTR 1465 สามารถเจริญใน IMO® ทางการค้าและ IMO ที่ผลิตได้จากข้าวเจ้า ได้ดีเช่นเดียวกับในอาหารกลุ่มควบคุมที่มีกลูโคสและฟรุตโตโอลิโกแซคคาไรด์เป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งจากการรายงานของ Soto (2013) ทดสอบความสามารถของแบคทีเรียในการใช้ isomalto-oligosaccharide เป็นแหล่งคาร์บอนและบ่มเชื้อที่ อุณหภูมิ 37ºC และ 45ºC พบว่า IMO สามารถส่งเสริมการเจริญของ *L. plantarum* ได้ใกล้เคียงกับกลูโคสซึ่งเป็นกลุ่มควบคุม โดย IMO ที่บ่มในอุณหภูมิ 37ºC สามารถส่งเสริมการเจริญของ *L. plantarum* ได้ดีกว่าที่อุณหภูมิ 45ºC

ตารางที่ 9 การเจริญเติบโตของ *Lactobacillus plantarum* TISTR 1465 จากแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ

	CFU/ml			
hr	D-glucose	FOS	IMO®	IMO
0	$1.83x10^7 \pm 0.24^c$	$1.71x10^7 \pm 0.00^c$	$1.00x10^7 \pm 0.25^c$	$1.70x10^7 \pm 0.11^c$
12	$1.25x10^8 \pm 0.18^b$	$2.07x10^8 \pm 0.00^{ab}$	$1.26x10^8 \pm 0.02^b$	$6.08x10^7 \pm 0.07^b$
24	$3.59x10^8 \pm 0.10^a$	$3.77x10^8 \pm 0.23^a$	$5.16x10^8 \pm 0.10^a$	$1.70x10^8 \pm 0.08^a$
48	$2.08x10^8 \pm 0.12^{ab}$	$1.36x10^8 \pm 0.14^b$	$5.40x10^8 \pm 0.21^a$	$1.85x10^8 \pm 0.01^a$

* ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์ หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

เมื่อนำเชื้อ *Bifidobacterium animalis* subsp. lactis BB-12 มาเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ De Man Rogosa Sharpe (MRS)ที่มีการเติมกรดอะมิโน L-Cysteine HCl ซึ่งกรดอะมิโนนี้จะทำหน้าที่เป็นตัวรีดิวส์ออกซิเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อสร้างสภาวะไร้ออกซิเจน (anaerobic condition) นอกจากนี้ L-Cysteine HCl ยังเป็นแหล่งไนโตรเจนที่สำคัญในการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย (Payne และคณะ ,1998) โดยมี IMO ที่ผลิตได้จากข้าวเจ้า และ IMO® ทางการค้าเป็นแหล่งคาร์บอนแทนกลูโคส เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ใช้กลูโคสและฟรุตโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS) เป็นแหล่งคาร์บอนทำการบ่มในสภาวะที่ไม่มีอากาศเป็นเวลา 48 ชั่วโมงจากตารางที่ 10พบว่า BB-12 สามารถเจริญได้สูงสุดใน IMO ที่ผลิตได้จากข้าวเจ้าที่ 24 ชั่วโมง โดยมีจำนวนแบคทีเรียเพิ่มขึ้นจาก$1.52x10^8$ CFU/ml ถึง $1.55x10^9$ CFU/ml และ IMO® ทางการค้า BB-12 สามารถเจริญได้สูงสุด ที่ 48 ชั่วโมง โดยมีจำนวนแบคทีเรียเพิ่มขึ้นจาก $1.45x10^8$ CFU/ml ถึง $8.70x10^8$ CFU/mlเมื่อเปรียบเทียบกับการเจริญของ BB-12ในอาหารที่มีกลูโคสและฟรุตโตโอลิโกแซคคาไรด์ เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่ามีจำนวนแบคทีเรียเพิ่มขึ้นจาก$9.80x10^7$CFU/ml ถึง $1.01x10^9$ และ $9.10x10^7$ CFU/ml ถึง $1.06x10^9$ CFU/ml ตามลำดับ แสดงว่า BB-12 สามารถเจริญ

ใน IMO® ทางการค้าและ IMO ที่ผลิตได้จากข้าวเจ้า ได้ดีเช่นเดียวกับในอาหารกลุ่มควบคุมที่มีกลูโคสและฟรุตโตโอลิโกแซคคาไรด์เป็นแหล่งคาร์บอน

ตารางที่ 10 การเจริญเติบโตของ *Bifidobacterium animalis* subsp. lactic BB-12 จากแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ

	CFU/ml			
hr	D-glucose	FOS	IMO®	IMO
0	$9.80\times10^{7}\pm 0.19^{b}$	$9.10\times10^{7}\pm 0.13^{c}$	$1.45\times10^{8}\pm 0.01^{c}$	$1.52\times10^{8}\pm 0.01^{d}$
12	$7.90\times10^{8}\pm 0.32^{a}$	$3.56\times10^{8}\pm 0.04^{b}$	$4.40\times10^{8}\pm 0.06^{b}$	$6.36\times10^{8}\pm 0.02^{c}$
24	$1.01\times10^{9}\pm 0.05^{a}$	$9.26\times10^{8}\pm 0.03^{a}$	$8.00\times10^{8}\pm 0.09^{a}$	$1.55\times10^{9}\pm 0.01^{a}$
48	$6.86\times10^{8}\pm 0.02^{a}$	$1.06\times10^{9}\pm 0.01^{a}$	$8.70\times10^{8}\pm 0.09^{a}$	$1.04\times10^{9}\pm 0.11^{b}$

* ตัวอักษรที่แตกต่างกันในคอลัมน์ หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการทดลองพบว่าสตาร์ชข้าวเจ้าให้ผลผลิต IMO มากกว่าสตาร์ชชนิดอื่นๆ และสังเคราะห์ IMO แบบ 3 ขั้นตอน พบว่าในขั้น liquefaction สตาร์ชข้าวความเข้มข้น35% และเอนไซม์ Termamyl SC33.33 U/g มี %DH มากที่สุดคือ 57.12% ขั้น Saccharifying เอนไซม์ Fungamyl 800L ความเข้มข้น 12.5 U/g starch มีปริมาณมอลโตสมากที่สุดและขั้น Transglucosyl เอนไซม์Transglucosidase L ความเข้มข้น 1 U/g starch มีปริมาณ IMO มากที่สุดคือ 65.82% จากการสังเคราะห์ IMO แบบขั้นตอนเดียวโดยใช้เอนไซม์ Transglucosidase L และเอนไซม์ Saccharifying α-amylase อัตราส่วน 1:3 U/g starch ที่อุณหภูมิ 85°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมงและลดอุณหภูมิลงที่ 60°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมงมีปริมาณ IMO มากที่สุดคือ 94.90% โดยมี DP 6 มากที่สุด จะเห็นได้ว่าการผลิต IMO แบบขั้นเดียวให้ผลผลิต IMO ที่มากกว่าการผลิต IMO แบบ 3 ขั้นตอนและใช้เวลาในการผลิตน้อยกว่า และมีปริมาณ DP 6 มากกว่าเมื่อเทียบกับการผลิตแบบ 3 ขั้นตอน

จากการทดลอง IMO ที่ได้จากขั้นตอนเดียวทำให้บริสุทธิ์และเตรียมผลิตภัณฑ์ พบว่าการทำให้บริสุทธิ์โดยผ่านเมมเบรนชนิด Hollow Fiber ขนาด 1 KDa เมื่อเวลาผ่านไป 3 ชั่วโมงสามารถกำจัดมอลโตส (DP2) ได้หมด การเตรียมผลิตภัณฑ์ IMO ในรูปแบบน้ำเชื่อมและแบบผง พบว่าการเตรียมผลิตภัณฑ์ในรูปแบบผงมีปริมาณ IMO มากกว่าการเตรียมผลิตภัณฑ์ในรูปแบบน้ำเชื่อม

จากการทดสอบการส่งเสริมการเจริญเติบโตของ*Lactobacillus plantarum* TISTR 1465 และ *Bifidobacterium anima*lis subsp. lactis (BB-12) พบว่าเจริญเติบโตของ *L. plantarum* TISTR 1465 IMO®ทางการค้า มีจำนวนแบคทีเรียเพิ่มขึ้นจาก 1.00×10^7 ถึง 5.40×10^8CFU/ml ส่วนการเจริญเติบโตของ BB-12 IMO ที่ผลิตได้มีจำนวนแบคทีเรียเพิ่มขึ้นจาก 1.52×10^8 ถึง 1.55x109 CFU/ml ดังนั้นIMO® ทางการค้าส่งเสริมการเจริญเติบโของแลคโตบาซิลัส และ IMO ที่ผลิตได้จากขั้นตอนเดียวส่งเสริมการเจริญเติบโตของบิฟิโดแบคทีเรีย

เอกสารอ้างอิง

กล้าณรงค์ศรีรอต, วิไลสันติโสภาศรี และกาญจนากู้โรจนวงศ์. 2541. การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางชีวเคมีและคุณสมบัติทางเคมีฟิสิกส์ของแป้งในหัวมันสำปะหลังเปรียบเทียบพันธุ์และอายุการเก็บเกี่ยว.โครงการของหน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีแปรรูปมันสำปะหลังและแป้ง. 166 น.

กล้าณรงค์ศรีรอตและเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ. 2546. เทคโนโลยีของแป้ง. สำนักพิมพ์หาวิทยาลัย-เกษตรศาสตร์.กรุงเทพฯ.

นพรัตน์ บำรุงรัตน์. 2536. พืชหลักเมืองใต้. สำนักพิมพ์ปิรามิดการพิมพ์. กรุงเทพฯ. 103-108.

ไพรัตน์ โสภโณดร. 2530. การศึกษาการสกัดและฟอกสีแป้งจากต้นสาคู. วารสารสงขลานครินทร์. 9(3): 393-396.

พิณทิพย์ รัมภกาภรณ์ และ สุดสาย ตรีวานิชม.2533. คุยกันฉันเพื่อนขอ Bifidobacteria เป็นตัวเอก. ว. อุตสาหกรรมเกษตร 3: 61-66.

รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต, กล้าณรงค์ ศรีรอต, เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ, ไชยรัตน์ เพ็ชรชลานุวัฒน์, รุ่งทิวา วันสุขศรี และบุญทิวา นิลจันทร์. 2546. การศึกษาคุณสมบัติของแป้งข้าวพันธุ์ต่างๆในประเทศไทยเพื่อเป็นกลยุทธ์ในการสร้างผลิตภัณฑ์มูลค่าเพิ่ม. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2558. สภาวะเศรษฐกิจการเกษตรปี 2557 และแนวโน้มปี 2558. สืบค้นจาก http://www.oae.go.th/more_news.php?cid=848. เมื่อวันที่ 20 มีนาคม 2558.

อรอนงค์ วินัยกุล. 2550. ข้าว :วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 366 น.

Aggett, P. J., Agostoni, C., Axelsson, I., Edwards, C.A., Goulet, O., Hernell, O., Koletzko, B., Lafeber, H. N., Micheli, J. L., Michaelsen, K. F., Rigo, J., Szajewska, H. and Weaver, L. T. 2003. Nondigestible carbohydrates in the diets of infants and young children: A commentary by the ESPGHAN committee on nutrition. Journal of pediatric gastroenterology and nutrition.36: 329-337.

Ahmad, F. B., Williams, P. A., Doublier, J-L., Durand, S. and Buleon, A. 1999. Physico-chemical characterization of sago starch.Carbohydrate polymers. 38: 361-370.

Asp, N. G. 1994.Nutritional classification of food carbohydrates.American Journal of Clinical Nutrition. 59: S679–S681.

Aziz, T. and Senay, D. 2002. Production of isomalto-oligosaccharides using dextransucrase immobilized in alginate fibers. Process Biochemistry. 37: 1111–1115.

Benno, Y., Endo, K., Shiragami, N., Sayama, K. and Mitsuoka, T. 1987.Effects of raffinose intake on human faecal microflora. Bifidobacteria Microflora. 6: 59-63.

Berensmeier, S. and Buchholz, K. 2004. Separation of isomaltose from high sugar concentrated enzyme reaction mixture by dealuminatedβ-zeolite. Separation and Purification Technology, 38: 129 –138.

Bornet, F. R., Brouns, F., Tashiro, Y. and Duviller, V. 2002. Nutritional aspect of short-chain

fructooligosaccharides: natural occurrence, chemistry, physiology and health implications. Dig. Liver Dis. 34: 111-120.

Bouhnik, Y., Raskine, L., Simoneau, G. *et al*. 2004. The capacity of nondigestible carbohydrates to stimulate fecal bifidobacteria in healthy humans: a double-blind, randomized, placebo-controlled, parallel-group, dose-response relation study. American Journal of Clinical Nutrition. 80: 1658–1664.

Bosscher, D., Caillie-Bertrand, M. V., Cauwenbergh, R. V. and Deelstra, H. 2003. Availabilitiesof calcium iron and zinc from dairy infant formulas is affected by soluble dietary fibers.

and modified starch fractions. J. Nutr. 19: 641–645.

Chaplin, M.C. and Bucke, C. 1990. Enzyme Technology.Cambridge Univesity Pree.Cambridge, 264 p.

Chen, H. L., Lu, Y. H., Lin, J. J. and Ko, L. Y. 2001. Effects of isomaltooligosaccharides on bowel functions and indicators of nutritional status in constipated elderly men.Journal of the American College of Nutrition. 20: 44–49.

Chockchaisamasdee, S. and Poosaran, N. 2011.Production of isomalto-oligosaccharides from banana flour. Journal of the Science of Food and Agriculture. *(In press)*.

Chung C.H. 2002. A potential nutraceutical from leuconostoc mesenteroïde B-742 ATCC 13146 ; production, properties, PhD thesis, Sejong University.

Cummings, J. H. and Englyst, H. N. 1991.Measurement of starch fermentation in the human large intestine. Canada Journal of Physiol and Pharmacol. 69: 121–129.

Cummings, J. H., Macfarlane, G. T. and Englyst, H. N. 2001.Prebiotic digestion and fermentation. Am. J. Clin. Nutr.73: 415- 420.

Dasechel, M. A., and Klaenhammer, T. R. 1989.Association of a 13.6 megadalton plasmid in Pediococcus pentosaceus with bacteriocin activity. Appl. Environ. Microbiol. 50: 1538-1541.

Deepa, G., Vasudeva, S. and Akhilender, K. 2008. Nutrient composition and physicochemical properties of Indian medicinal rice Njavara. Food Chemistry. 106: 165–171.

Defloor, I., Vandenreyken, V. Grobet, P.J. and Delcour, J.A. 1998. Fractionation of malto-dextrins by ethanol. J Chromatography A. 803: 103-109.

Eerlingen, R. C.; Delcour, J. A. 1995. Formation, analysis, structure and properties of type III enzyme resistant starch. Journal of the Cereal Science. 21: 1–8.

Ellis, R. P., Cochrane, M. P., Dale, M. F. B., Duffus, C. M., Lynn, A., Morrison, I. M., Prentice, R. D. M., Swanston, J. S. and Tiller, S. A. 1998.Starch production and industrial use.Journal of the Science of Food and Agriculture. 77: 289–311.

Englyst, H. N., Kingman, S. M. and Cummings, J. H. 1992.Classification and measurement of

nutritionally important starch fractions. European Journal of Clinical Nutrition. 46: S33–S50.

Erkkila, S. and Petaja, E. 2000.Screening of commercial meat starter culture at low pH in the presence of bile salts for potential probiotic use. Meat Sci. 55: 297-300.

Flickinger, E. A., Loo, J. V. and Fahey, G. C. 2003. Nutritional responses to the presence of inulin and oligofructose in the diets of domesticated animals: a review. J. Food Sci. Nutr.43: 19-60.

Feng, Y. M., Chang, X. L., Wang, W. H. and Ma, R. Y. 2009. Separation of galacto-oligosaccharides mixture by nanofiltration. J. Taiwan Inst Chem E. 40: 326-332.

Fooks, L. J., Fuller, R. and Gibson, G. R. 1999.Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. Int. Dairy J. 9:53-61.

Freshney, R. I. 2005. Cultivation of animal cells : A manual of basic technique 4th ed., John Wiley &Sons, Inc. 642 pp.

Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals.Journal of Applied Bacteriology. 66: 365-378.

Fuller, R. and Gibson, G. R. 1998. Probiotics and Prebiotics: microflora management for improved gut health. Clinical Microbiology *and* Infection.4: 477-480.

Gibson, G. R. and Roberfroid, M. B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. Journal of Nutrition. 125: 1401-1412.

Gibson, G. R., Berry, O.P. and Rastall, R.A. 2000. Prebiotic: New Development in Function Food. Chandos Publishing, Limited. Oxford.

Gibson, G. R. 2004. Fibre and effects on probiotic (the prebiotic concept).Clinical Nutrition *Supplements. 1: 25-31.*

Gibson, G. R. and Wang, X. 1994.Regulatory effects of bifidobacteria on the growth of other colonic bacteria. J. Appl. Bacteriol. 77: 412-420.

Goffin D., Delzenne N., Blecker C., Hanon E., Deroanne C., Paquot M. 2010. Critical reviews in Food Science and Nutrition.

Grizard, D. and Barthomeuf, C. 1999. Non-digestible oligosaccharides used as prebiotic agents: mode of production and beneficial effects on animal and human health. Reproduction Nutrition Development. 39: 563–588.

Grzes kowiak-Przywecka, A. and Somin ska, L. 2007. Saccharification of potato starch in aultrafiltration reactor. Journal of Food Engineering. 79: 539–545.

Hartemink, R. 1999. Prebiotic effects of non-digestible oligo- and polysaccharides.Ph.D. Dissertation.Wageningen Agricultural University.

Hayakawa, K., Mizutani, J., Wada, K., Masai, T., Yoshihara, I. and Mitsuoka, T. 1990. Effects ofoligosaccharides on the human Faecal flora. Microb. Ecol Health D. 3: 293-303.

Hebeda, R. E. 1993. Starches, sugar and syrups. In: Enzymes in Food Processing (edited by T. Nagodawithana & G. Reed). pp. 321–346. San Diego: Academic Press.

Hernandez, O., Ruiz-Matute, A. I., Olano, A., Moreno, F. J. and Sanz, M. L. 2009. Comparison of fractionationtechniques to obtain prebiotic alactooligosaccharides. Int Dairy J. 19(9): 531-536.

Holzapfel, W. H., Haberer, P., Snel, J., Schillinger, U., and Huis, J. H. J. 1998.Overview of gutflora and probiotics.Int. J. Food Microbiol. 41: 85–101.

Holzapfel, W. H. and Schillinger, U. 2002.Introduction to pre- and probiotics.Food Research International. *35: 109-116.*

Holzapfel, W. H. 2006. Introduction to Prebiotics and Probiotics.In Probiotics in Food Safety and Human Health. (Goktepe, I., Juneja, VK. and Ahmedna, M., ed.). p. 1-34. CRC Press.Baca Raton.

Kato N, Suyama S, Shirokane M, Kato M, Kobayashi T andTsukagoshi N,.2002. Novel **α**-glucosidase from Aspergillus nidulanswith strong transglycosylation activity. Appl Environ Microbiol 68:1250–1256.

Lee, H.-W., Park, Y.-S., Jung, J.-S.and Shin, W.-S. 2002. Chitosan oligosaccharides, dp 2–8, have prebiotic effect on the Bifidobacterium bifidium and Lactobacillus sp. J.Anaerobe**.** 8: 319–324

Imanaka, T. and Kuriki, T. 1989. Pattern of action of Bacillus stearothermophilus neopullulanase on pullulan. Journal of Bacteriology. 171: 369–374.

Isolauri, E., Salminen, S. and Ouwehand, A. C. 2004.Probiotic. Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol. 18: 299-313.

Ito, M., Deguchi, Y., Miyamori, A., Matsumoto, K., Kikuchi, H., Kobayashi, Y., Yajima, T. andKan, T. 1990.Effect of administration of galactooligosaccharide on the human feacalmicroflora, stool weight and abdominal sensation.Microb. Ecol. Health Dis. 3: 285-292.

Karim, A. A., Pei-Lang Tie, P. L., Manan, D. M. A. and Zaidul, I. S. M. 2008.Starch from the Sago (*Metroxylon sagu*) Palm treeproperties, prospects, and challenges as a new industrial sourcefor food and other uses. Comprehensive *Reviews in* Food Science *and* Food Safety*. 7: 215–228.*

Kaur, I. P., Chopra, K. and Saini, A. 2002. Probiotics: potential pharmaceutical applications. Eur.J. Pharm. Sci. 15: 1-9.

Kolida, S., Tuohy, K. and Gibson, G. R. 2000.The human gut flora in nutrition and approaches for its dietary modulation.British Nutrition Foundation. 25: 223-231.

Komoto, T., Fukui, F., Takaku, H., Machida, Y., Arai, M. and Mitsuoka, T. 1988.Effect of isomalto-oligosaccharides on human fecal flora. Bifidobacteria and Microflora.7: 61–69.

Kuriki, T., Okada, S. and Imanaka, T. 1988.New type of pullulanase from *Bacillus stearothermophilus*& molecular cloning and expression of the gene in *Bacillus subtilis*.Journal of Bacteriology. 170:1554–1559.

Kuriki, T., Yanase, M., Takata, H., Takesada, Y., Imanaka, T. and Okada, S. 1993.A new way of producing isomalto-oligosaccharide syrup by using the transglycosylation reaction of neopullulanase.Applied and Environmental Microbiology. 59: 953–959.

Lin, Q., Xiao, H., Zhao, J., Li, L., Yu, F., Liu, X. and Cheng, X. 2011. Production of isomalto – oligosaccharide syrup from rice starch using an one-step conversion method. International Journal of Food Science and Technology. 46: 1194–1200.

Matsumoto, K., Natsuko, T. and Tsunekazu, W. 1988. Method for producing galactooligosaccharides. EP0272095.

McCleary B., and Gibson T. 1989. Carbohydrate Research, 185, 147-162.

Morales, V., Sanz, M. L., Olana, A. and Corzo, N. 2006. Rapid separation on activated charcoal of high oligosaccharides in Honey. Chromatographia. 64: 233-238.

Nakakuki, T. 2002. Present status and future of functional oligosaccharide development in Japan. Pure Appl. Chem. 74(7): 1245-1251.

Nakakuki T. 2005. Journal of Applied Glycoscience, 52, 267-271

Nugent, A. P. 2005. Health properties of resistant starch.British Nutrition *Foundation Nutrition Bulletin. 30: 27–54.*

Noosuk, P., Hill, S.E., Pradipasena, P. and Mitcheli, J. R. 2003. Structure-viscosity relationships for thai rices starches. Starch. 55: 337-344.

Noosuk, P., Hill, S.E., Farhat, I. A., Pradipasena, P. and Mitcheli, J. R. 2005.Relationship between viscoelastic properties and starch structure in rice from Thailand.Starch. 57: 387-598.

Okazaki, M., Fujikawa, S. and Matsumoto, N. 1990.Effect of xylooligosaccharide on growth of bifidobacteria.J. of the Japanese Society of Nutrition and Food Sciences. 43: 395-401.

Pan, Y-C.and Lee, W-C. 2005. Production of High-Purity Isomalto-Oligosaccharides Syrup by the Enzymatic Conversion of Transglucosidase and Fermentation of Yeast Cells. Biotechnology and Bioengineering. 89: 797-804.

Paul F., Lopez-Munguia A., Remaud M., Pelenc V., and Monsan P. 1992. Method for the production of **α**-1,2 oligodextrans using *Leuconostoc mesenteroides* B-1299. American Patent 5,141,858.

Plou F.J., Gomez de Segura A., and Ballesteros A. 2007.In : Application of glycosidases and transglycosidases in the synthesis of oligosaccharides. Industrial Enzymes, chap. 9, pp. 141–157. J Polaina and A.P. MacCabe (eds.), Springer.

Pushpamalar, V., Langford, S. J., Ahmad, M. and Lim, Y. Y. 2006. Optimisation of reaction conditions for preparing carboxymethyl cellulose from sago waste. *Carbohydrate Polymers*. 64: 312–318.

Rastall, R. A. and Gibson, G. R. 2002. Prebiotics oligosaccharides: evaluation of biologicalactivities and potential future developments. *In* Probiotics and Prebiotics: Where Are WeGoing? (Tannock, G. W., ed.). p. 107-148. Caister Academic Press. United Kingdom.London.

Remaud-Simeon M., Lopez-Munguia A., Pelec V., Paul F., Monsan P. 1994. Applied Biochemistry and Biotechnology, **44**, 101-117.

Rice, J. 2002. Probiotics and Prebiotic for Healthful Benefits.Food Product Design.Virgo Publishing.

Roberfroid, M.B. 2001. Prebiotics: preferential substrates for specific germs? American Journal of Clinical Nutrition. 73(Suppl.): 406S-409S.

Roberfroid, M. 2002. Functional food concept and its application to prebiotics.*Digestive and* Liver Disease.34: 105-110.

Rycroft, C. E., Jones, M. R., Gibson, G. R. and Rastall, R. A. 2001.A comparative *in vitro* evaluation of the fermentation properties of prebiotic oligosaccharides.Journal of Applied Microbiology. 91: 878-887.

Sajilata, M. G., Singhal, R. S. and Kulkarni, P. R. 2006. Resistant starchareview.Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safty. 5: 1–17.

Sako, T., Matsumoto, K. and Tanaka, R. 1999.Recent progressonresearch and applications ofnon-digestible galacto-oligosaccharides. Int. Dairy J. 9: 69-80.

Salminen, S., Bouley, C., Boutron-Ruault, M. C., Cummings, J. H., Franck, A., Gibson, G. R.,Isolauri, E., Moreau, M. C., Roberfroid, M. B., and Rowland, I. R. 1998. Functional foodscience and gastrointestinal physiology and function. Br. J. Nutr. 80: 147-171.

Sandholm, T. M., Myllarinen, P., Crittenden, R., Mogensen, G., Fonden, R. and Saarela, M. 2002. Technological challenges for future probiotic foods.International Dairy Journal. 12: 173-182.

Sievert, D. and Pomerantz, Y. 1989. Enzyme-resistant thermoanalytical, and microscopic methods. Cereal Chemistry. 66: 342–347.

Siew-Wai, L., Zini, T., Karim, A., Hani, N. and Rosma, A. 2010.Fermentation of Metroxylon sagu Resistant Starch Type III by *Lactobacillus* sp. and *Bifidobacterium bifidum*.Journal of Agriculture and Food Chemistry. 58: 2274–2278.

Soto, C. 2013. Effect of isomalto-oligosaccharide and gentio-oligosaccharide on thegrowth and fatty acid profile of *Lactobacillus plantarum.*Electronic Journal of Biotechnology

Sowbhagya, C. M. and Bhattacharya, K. R. 1979.Simplified determination of amylase in milled rice.Starch. 31: 159-163

Sringam, S. 1994. Comparison Of Enzymatic Hydrolyses Of 4 Kinds Of Starch. Kasetsart Journal (Natural Science). 28: 264-272.

Takata, H., Kuriki, T., Okada, S. *et al*. 1992. Action of neopullulanase:neopullulanase catalyzes both hydrolysis & transglycosylation at **α**-(1-4)&**α**-(1-6)-glucosidic linkages. Journal of Biological Chemistry. 267: 18447–18452.

Tsunehiro, J., Matsukubo, T., Shiota, M. and Takaesu, Y. 1997.Caries-inducing activity of thehydrogenated derivative of an isomaltooligosaccharide mixture in rats.Biosci.Biotechnol.Biochem. 61: 1317-1322.

Van Dokkum, W., Wezendonk, B., Srikumar, T. S. & van den Heuvel, E. G. H. M. (1999).Effect of nondigestible oligosaccharides on largebowel functions, blood lipid concentrations & glucose absorption in young healthy male subjects.European Journal of Clinical Nutrition. 53: 1–7.

Vandenbergh, T. B. 1993. Lactic Acid Bacteria, the metabolic product and interference with microbial growth. Fems.Microbiol.Rev. 12: 221-238.

Varavin, S., Shobsngob, S. and Nuyim, T. 1996.Color improvement of Thai sago starch prior to further modifications or utilization.Sago Communication. 7(2): 34-39.

Vernazza, C. L., Rabiu, B. A. and Gibson, G. R. 2006. Human colonic microbiology and the role of dietary intervention: introduction to prebiotics. *In* Prebiotics: Development Application. (Gibson, GR. And Rastall, RA., eds.). p. 1-28. John Wiley & Sons, Ltd. West Sussex.

Wang X., and Rakshit S. 2000. Process Biochemistry, **35**, 771-775

Wichienchot, S., Jatupornpipat, M. and Rastall, R. A. 2010.Oligosaccharides of Pitaya (dragon fruit) Flesh and their Prebiotic properties. Food Chemistry. 120(3): 850-857.

Wood, B.J.B. and Holzapfel, W.H. 1995. The lactic acid bacteria.In The Genera of Lactic Acid Bacteria. (Wood, B.J.B. and Holzapfel, W.H., ed) p. 1-6. Blackie Academic and Profession. Lon don.

Wu, H. C.and Sarko, A. 1978. The double helical molecular structure of crystalline A-amylose.*Carbohydrate Research*. 61: 1-7.

Yamamo, T. 1982. Chemistry and specificities of Several industrial amylases , pp 57-63. In T.W. Flegel, V.Meerootisom, A. Bhumiratana and P. Matangkasombut (eds). Immobilized microbial enzymes and cell.Proceedings of a reginal workshop, Mahidol University, Bangkok.

Yoneyama M., Shibuya T., and Miyake T. 1992. Saccharides sous forme de poudre, préparation et utilisations. French patent FR 2,677,359.

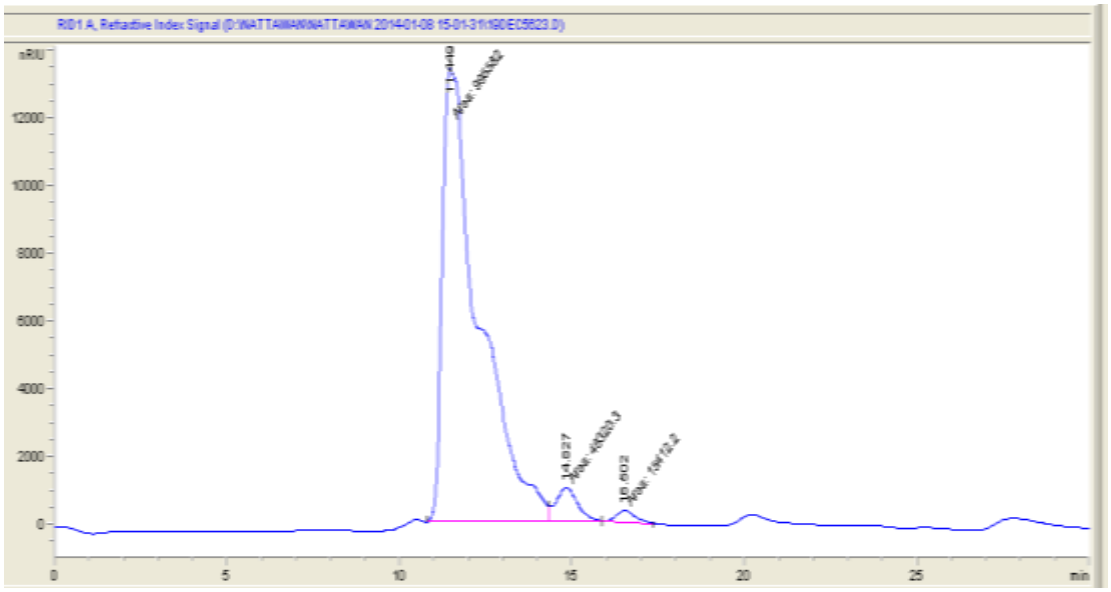
Yun JW, Lee MG and Song SK,,1994a. Continuous production of isomalto-oligosaccharides from maltose syrup by immobilized cells of permeabilized *Aureobacterium pullulans*. *Biotechnol Lett***16**:1145–1150

Yun J., Suh J.H., Song S. 1994b. Journal of the Korean Institut of Chemical Engineering, **32** (6), 875-880.

Ziemer, C. J. and Gibson, G. R. 1998. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in thefunctional food concept: perspectives and future strategies. Int. Dairy J. 8: 473-479.

Zobel HF. 1988. Molecules to granules: A comprehensive starch review. Starch/Stärke 40: 40-44.

ภาคผนวก



ภาพที่ 12 โครมาโทแกรมของไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่ผลิตได้ในขั้นตอนเดียว

การวิเคราะห์

ปริมาณสตาร์ชทั้งหมดและปริมาณอะไมโลส

ส่งตัวอย่างวิเคราะห์ที่ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติโดยปริมาณสตาร์ชวิเคราะห์ด้วย Glucoamylase method, AACC (1990) และปริมาณอะไมโลสวิเคราะห์ด้วย Amperometric titration

1. การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว คู่ โอลิโกแซคคาไรด์ และพอลิแซคคาไรด์โดยใช้ High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

กรณีตัวอย่างเป็นของแข็งให้นำมาละลายน้ำเพื่อให้มีความเข้มข้นร้อยละ 1 ก่อนนำมากรองด้วยกระดาษกรองขนาด 0.2 ไมโครเมตร และกรณีตัวอย่างเป็นของเหลวสามารถมากรองด้วยกระดาษกรองได้โดยตรง แล้วนำมาฉีดเข้าเครื่อง HPLC โดยใช้ column RNM ขนาด 4.6x250 มิลลิเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางของเรซิน 5 ไมโครเมตร โดยใช้ waterให้อัตราการไหลเท่ากับ 1 มิลลิลิตรต่อนาที และใช้ RI detector นำผลที่ได้มาคำนวณเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายน้ำตาลกลูโคส สารมาตรฐานโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีขนาด DP 2-7 หรือสารมาตรฐานไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์

2. การวิเคราะห์ความชื้น (ดัดแปลงจาก A.O.A.C., 2000)

วิธีการทดลอง

1. อบภาชนะอะลูมิเนียมสำหรับหาความชื้นในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ในโถดูดความชื้นจนกระทั่งอุณหภูมิลดลงถึงอุณหภูมิห้อง แล้วจึงหาน้ำหนัก
2. กระทำเช่นข้อ1 ซ้ำ จนได้น้ำหนักผลต่างที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
3. ชั่งตัวอย่างให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอนอย่างละเอียด ประมาณ 1-2 กรัม ใส่ลงใน ภาชนะอลูมิเนียมซึ่งต้องทราบน้ำหนักแล้ว
4. นำเข้าตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5-6 ชั่วโมง
5. นำออกจากตู้อบไฟฟ้า ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นจนถึงอุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นชั่งน้ำหนัก
6. นำไปอบอีกครั้งละ 30 นาที และกระทำเช่นเดิมจนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อไม่เกิน1-3 มิลลิกรัม
7. คำนวณหาปริมาณความชื้นจากสูตร

$$\text{ปริมาณความชื้นคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก} = \frac{\text{ผลต่างของน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบและหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}} \times 100$$

3. การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน (ดัดแปลงจาก A.O.A.C., 2000)

วิธีการทดลอง

1. อบขวดกลมสำหรับหาปริมาณไขมันซึ่งมีความจุ 250 มิลลิลิตร ในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ประมาณ 3 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นโถดูดความชื้นและชั่งน้ำหนักอบซ้ำครั้งละ 30 นาที จนได้น้ำหนักที่แน่นอน
2. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่อบแห้งและบดละเอียดแล้วประมาณ 1-2 กรัม ถ้าเป็นอาหารชนิดที่มีไขมันมากและชั่ง 3-4 กรัม ถ้าอาหารที่มีไขมันน้อย ลงบนกระดาษกรองห่อให้มิดชิดแล้วใส่ลงในหลอดสำหรับใส่ตัวอย่าง คลุมด้วยใยแก้วหรือสำลีเพื่อให้สารตัวทำลายมีการกระจายอย่างสม่ำเสมอ

3. นำตัวอย่างใส่ลงในซอคเลต
4. เติมสารตัวทำละลายปิโตรเลียมอีเทอร์ลงในขวดหาไขมันที่ทราบน้ำหนักแน่นอนประมาณ 150 มิลลิลิตร แล้ววางบนเตา
5. ประกอบอุปกรณ์ชุดสกัด พร้อมทั้งเปิดน้ำหล่ออุปกรณ์ควบแน่นและเปิดสวิทซ์ให้ร้อน
6. ปรับความร้อนให้หยดของสารทำละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่นด้วยอัตรา 300 หยด/ นาที
7. เมื่อครบเวลาการสกัด ประมาณ 8 ชั่วโมง นำหลอดใส่ตัวอย่างออกจากซอคเลตทิ้งให้ตัวทำละลายไหลออกจาก ซอคเลตลงในขวดกลมจนหมด
8. ระเหยตัวทำละลายออกจากเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ
9. นำขวดหาไขมันอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสใช้เวลา 30 นาทีทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น
10. ชั่งน้ำหนักแล้วอบซ้ำครั้งละ30 นาทีจนกระทั่งได้ผลต่างของน้ำหนักสองครั้งติดต่อกันไม่ เกิน 1-3 มิลลิกรัม
11. คำนวณหาปริมาณไขมันจากสูตร

$$\text{ปริมาณไขมันคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก} = \frac{\text{น้ำหนักไขมันหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}} \times 100$$

4. ปริมาณเถ้าทั้งหมด

วิธีการทดลอง

1. เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผา ที่อุณหภูมิ 550±25 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก
2. ชั่งตัวอย่างอาหารให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 2 กรัม (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) ทราบน้ำหนักแน่นอนใส่ลงในถ้วยกระเบื้องเคลือบ
3. นำไปเผาด้วยไฟอ่อนๆ บนเตาไฟฟ้าในตู้ระบายควัน จนหมดควัน
4. นำไปเผาต่อในเตาเผาไฟฟ้า ที่อุณหภูมิ 550±25 องศาเซลเซียส (โดยค่อยๆเพิ่มอุณหภูมิ) นาน 5 ชั่วโมง
5. ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนัก
6. นำไปเผาซ้ำครั้งละ 1 ชั่วโมง จนได้น้ำหนักคงที่จนน้ำหนักคงที่ แตกต่างกันไม่เกิน 3 มิลลิกรัม
7. บันทึกข้อมูลและการคำนวณผลในแบบบันทึกการทดสอบหาปริมาณเถ้าทั้งหมด

5. การวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรต

การวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดในอาหาร โดยทั่วไปกระทำโดยการคำนวณจากผลต่างของน้ำหนักแห้งทั้งหมดของตัวอย่างกับปริมาณองค์ประกอบส่วนที่เป็นโปรตีน ไขมัน และเถ้า

$$\text{ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด} = 100 - (\text{โปรตีน} + \text{ไขมัน} + \text{เถ้า})$$

6. การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ (Reducing Sugar): Somogyi – Nelson,1994

สารเคมี

1. **Somogyi Reagent**

Solution I :**ประกอบด้วย**

- Potassium Sodium Tartrate Tetrahydrate 6.25 g
- Sodium Carbonate Anhydrous (Na_2CO_3) 6.25 g
- Sodium Hyrogen Carbonate ($NaHCO_3$) 5 g
- Sodium Sulfate Anhydrous 50 g
- น้ำกลั่น
  (ละลายสารละลายข้างต้นในน้ำกลั่น และปรับปริมาตร 250 มิลลิลิตร)

Solution II **:ประกอบด้วย**

- Copper (II) Sulphate($CuSO_4.5H_2O$) 7.5 g
- Conc.H_2SO_4 1 หยด
- น้ำกลั่น
  (ละลายสารละลายข้างต้นในน้ำกลั่น และปรับปริมาตร 50 มิลลิลิตร)

เตรียม Alkaline Copper Reagent (ผสม **Solution I** 12.5 มิลลิลิตร + **Solution II** 0.5 มิลลิลิตร)

2. Nelson Reagent

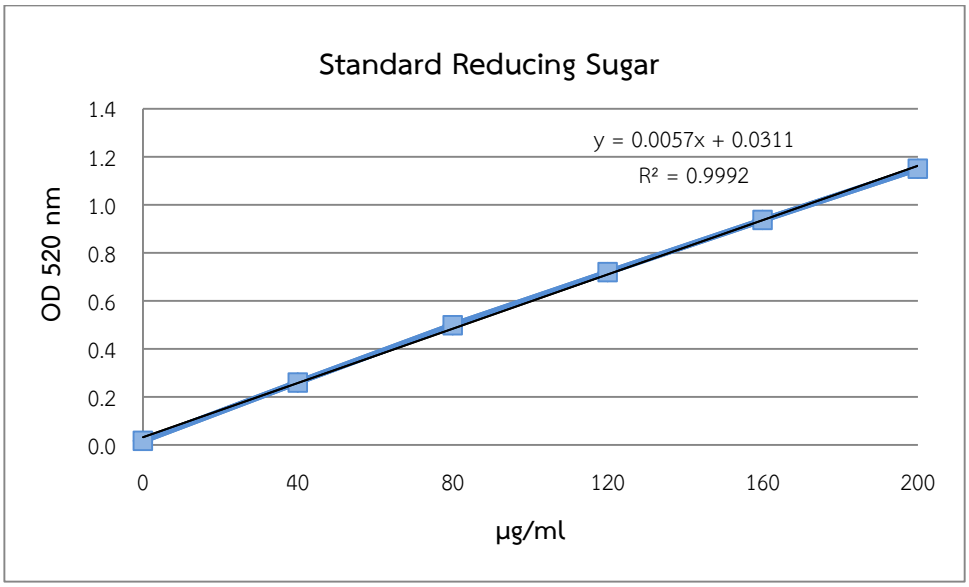
2.1 Ammonium Molybdate $(NH_4)_6Mo_7O_{24}.4H_2O$ 12.5 g
ในน้ำกลั่น 225 มิลลิลิตรเติม Conc.H_2SO_4ปริมาตร 10.5 มิลลิลิตรผสมให้เข้ากัน

2.2 Sodium Arsenate ($Na_2HAsO_4.7H_2O$) 1.5 g
ในน้ำกลั่น 12.5 มิลลิลิตร

a. เติมสารละลายข้อ 2.2 ลงในสารละลายข้อ 2.1 ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียล เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นเก็บในขวดสีชา

วิธีการ

1. ดูดตัวอย่าง / Blank / Standard Glucose 1 ml. ใส่ลงในหลอดทดลอง
2. เติม Alkaline Copper Reagent 1 ml. ผสมให้เข้ากัน
3. นำไปต้มในน้ำเดือด 15 นาที และทำให้เย็นทันที
4. เติม Nelson Reagent 1 ml. ผสมให้เข้ากันทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที
5. เติมน้ำกลั่น 5 ml. ผสมให้เข้ากัน
6. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 nm
   ใช้ Standard Glucose ความเข้มข้น 0-200 µg/ml (0, 40, 80, 120, 160, 200)

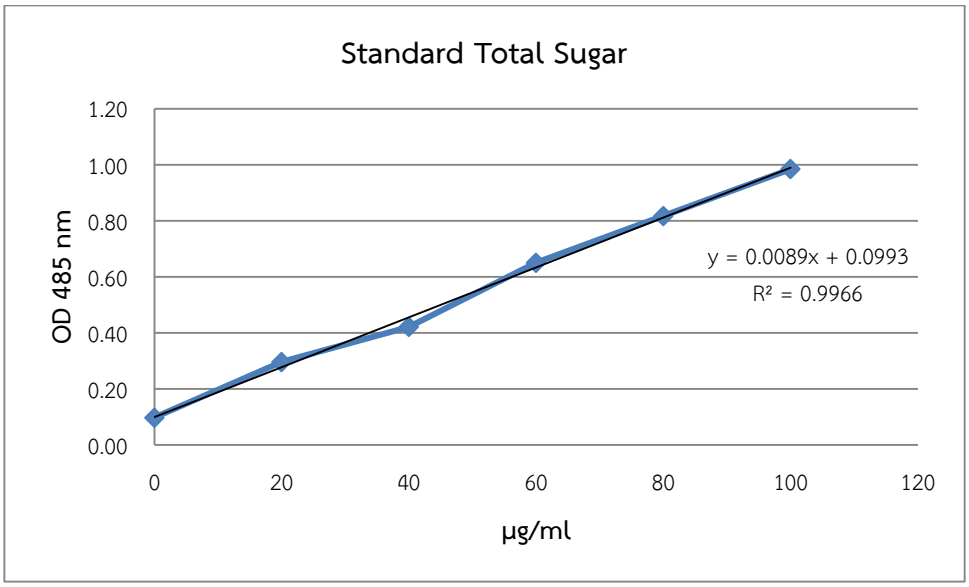


ภาพที่ 13 กราฟมาตรฐานกลูโคสของการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

8. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (total sugar) ด้วยวิธี Phenol-Sufuric Reaction (Dubios *et al.,* 1956)

วิธีการ

ชั่งน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน 0.1 กรัมละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตรจะได้สารละลายกลูโคสเข้มข้น 1000 µg/ml แล้วเจือจางให้มีความเข้มข้น 20, 40, 60, 80 และ 100 µg/ml จากนั้นปิเปตสารละลายกลูโคสมาตรฐาน 1 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองและเติมสารละลายฟีนอลเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 1 มิลลิลิตรเขย่าให้เข้ากันด้วย vortex จากนั้นเติมกรดซัลฟูริกเข้มข้นปริมาตร 5 มิลลิลิตรบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาทีโดยไม่ต้องเขย่าจากนั้นนำไปบ่มต่อในอ่างน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 นาทีแล้วเขย่าให้เข้ากันอีกครั้งด้วยเครื่อง vertex ก่อนนำมาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 485 นาโนเมตรด้วย Spectrophotometer บันทึกค่าที่ได้เพื่อนำมาสร้างกราฟมาตรฐาน



ภาพที่14 กราฟมาตรฐานกลูโคสของการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

9. วิธีการเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์

นำเชื้อโพรไบโอติกเลี้ยงในอาหาร MRS ที่มีการเติม L-cysteine-hydrochloride 0.05 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักต่อปริมาตร ในขวดฝาปิดสนิทขนาด 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นถ่ายเชื้อเริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ ลงในอาหาร MRS บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แยกตัวเซลล์โดยนำไปหมุนเหวี่ยง 10,000*xg*อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ล้างตัวเซลล์ด้วยน้ำเกลือปลอดเชื้อ 0.85 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักต่อปริมาตร 2 ครั้ง และเติมน้ำเกลือปลอดเชื้อ 0.85 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักต่อปริมาตร เพื่อทำให้เป็น suspension และเจือจางจนได้ความเข้มข้น 10^8 CFU/ml

10. การนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมด

นำตัวอย่างเชื้อมาทำการเจือจางด้วย 0.85 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักต่อปริมาตร ของโซเดียมคลอไรด์จนได้ความเข้มข้น 10^6, 10^7และ 10^8 CFU/ml ดูดตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นมา 1 มิลลิลิตรทำการ pour plate ด้วยอาหาร MRSagar ที่มีการเติม bromocresol purple 0.02 เปอร์เซ็นต์สำหรับ Bifidobacterium ทำการ pour plate ด้วยอาหาร MRS ที่มีการเติม L-cysteine-hydrochloride 0.05 เปอร์เซ็นต์ น้ำหนักต่อปริมาตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะไร้อากาศ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีและรายงานผลในรูป CFU/ml

ประวัติผู้วิจัย

ตอนที่ 1 ประวัติทั่วไป

1. ชื่อ-สกุล (นาย, นาง, นางสาว) (ภาษาไทย) สุวัฒนา พฤกษะศรี

(ภาษาอังกฤษ) Suwattana Pruksasri

2. วัน เดือน ปีเกิด 29 มิถุนายน 2519

3. หมายเลขประจำตัวประชาชน 5909899022937

4. ตำแหน่งทางวิชาการปัจจุบัน □ข้าราชการ □พนักงาน

0 อาจารย์ 0 ชำนาญการ

0 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ 0 เชี่ยวชาญ

0 รองศาสตราจารย์ 0 เชี่ยวชาญพิเศษ

0 ศาสตราจารย์ 0 อื่นๆ (โปรดระบุ)

เงินเดือนปัจจุบัน 37,360 บาท

เวลาที่ใช้ในการทำวิจัย 20 ชั่วโมงต่อสัปดาห์

5. สถานที่ทำงาน

ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม ม.ศิลปากร อ. เมือง จ. นครปฐม โทรศัพท์ : 0-3421-9360 โทรสาร : 0-3421-9360

e-mail address : pruksasri@gmail.com

ที่อยู่ปัจจุบัน บ้านเลขที่ 44/20 หมู่บ้านพฤกษาวิลล์ 44 ถนนปิ่นเกล้า-นครชัยศรี ตำบล บางเตย อำเภอสามพราน จังหวัดนครปฐม 73210 โทรศัพท์ : 084-121-6310

6. ประวัติการศึกษา

- ปริญญาตรีสาขาอุตสาหกรรมเกษตร สถาบัน มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ปีที่จบ พ.ศ.2540
- ปริญญาโทสาขาเทคโนโลยีชีวภาพสถาบัน จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีที่จบ พ.ศ. 2543
- ปริญญาเอกสาขา Chemical Engineering สถาบัน The Ohio State University ปีที่จบ พ.ศ. 2550

7. วิทยานิพนธ์ระดับบัณฑิตศึกษา (ชื่อเรื่อง/ปีที่ดำเนินการ ทั้งระดับปริญญาโทและปริญญาเอก)

- ระดับปริญญาโท

ชื่อเรื่อง Modification of Cassava Starch by □-amylase for Paper Sizing

ปีที่ดำเนินการ พ.ศ.2541-2543

-ระดับปริญญาเอก

ชื่อเรื่อง Production and Separation of Galacto-oligosaccharides from Lactose by □- galactosidase Immobilized on Nanofiltration Membrane

ปีที่ดำเนินการ พ.ศ. 2544-2550

สาขาวิชาที่เชี่ยวชาญ

- สาขาเกษตรศาสตร์และชีววิทยา กลุ่มวิชาอุตสาหกรรมเกษตร(เทคโนโลยีชีวภาพ) แขนงวิชาเทคโนโลยีเอนไซม์กลุ่มเทคโนโลยีเมมเบรนกลุ่มอาหารเสริมสุขภาพ

- สาขาวิศวกรรมศาสตร์และอุตสาหกรรมวิจัย แขนงวิชา Biochemical Engineering และแขนงวิชา Downstream Processes

ตอนที่ 2 ผลงานวิจัย/ผลงานสร้างสรรค์ทางศิลปะและการออกแบบที่ดำเนินการเสร็จแล้ว

เรื่องที่ 1

1. ชื่อเรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์นมแพะที่ประกอบด้วยสารพรีไบโอติกกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์
2. ลักษณะโครงการ /ผลงาน ☐ส่วนบุคคล/เดี่ยว หรือ
   ☐คณะบุคคล/กลุ่ม ☐เป็นหัวหน้า ☐เป็นผู้ร่วม
3. สาขาวิชา (ผลงานวิจัย โปรดระบุสาขาการวิจัยตามข้อ 7)

สาขาเกษตรศาสตร์และชีววิทยา กลุ่มวิชาอุตสาหกรรมเกษตรแขนงวิชา Food Biotechnology

4. จำนวนงบประมาณ100,000 บาท

ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย/สร้างสรรค์ผลงานตั้งแต่ปี พ.ศ...2552.... ถึงปี พ.ศ.....2553....

5. ชื่อแหล่งทุน / แหล่งสนับสนุน
   ☐ในประเทศ

☐ภาควิชา ☐คณะวิชา ☐มหาวิทยาลัย ☐อื่นๆ (โปรดระบุ).....

☐ภายนอกมหาวิทยาลัย (โปรดระบุ)...IRPUS (สกว).....

   ☐ต่างประเทศ (โปรดระบุ).....

6. การเผยแพร่ผลงานวิจัย/ผลงานสร้างสรรค์ดังกล่าว
   ☐เผยแพร่แล้ว

Pruksasri, S. and Supee, K. 2013. Sensory evaluations and stability determinations of goat milk containing galactooligosaccharides. International Journal of Food Science and Technology.DOI: 10.1111/ijfs.12236

เรื่องที่ 2

1. ชื่อเรื่อง การผลิตนมที่มีสารพรีไบโอติกกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์โดยเอนไซม์เบต้ากาแลคโตซิเดสจาก Aspergillus oryzae
2. ลักษณะโครงการ /ผลงาน ☐ส่วนบุคคล/เดี่ยว หรือ
   ☐คณะบุคคล/กลุ่ม ☐เป็นหัวหน้า ☐เป็นผู้ร่วม
3. สาขาวิชา (ผลงานวิจัย โปรดระบุสาขาการวิจัยตามข้อ 7)

สาขาเกษตรศาสตร์และชีววิทยา กลุ่มวิชาอุตสาหกรรมเกษตรแขนงวิชา Food Biotechnology

4. จำนวนงบประมาณ100,000 บาท

ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย/สร้างสรรค์ผลงานตั้งแต่ปี พ.ศ...2551.... ถึงปี พ.ศ.....2552....

5. ชื่อแหล่งทุน / แหล่งสนับสนุน
   ☐ในประเทศ

□ภาควิชา □คณะวิชา □มหาวิทยาลัย □อื่นๆ (โปรดระบุ).....

□ภายนอกมหาวิทยาลัย (โปรดระบุ)...IRPUS (สกว).....

6. การเผยแพร่ผลงานวิจัย/ผลงานสร้างสรรค์ดังกล่าว

□ยังไม่ได้เผยแพร่

□เผยแพร่แล้ว

□ในรูปของบทความทางวิชาการที่ตีพิมพ์ (โปรดระบุชื่อเรื่อง / ชื่อเจ้าของผลงาน / ชื่อสิ่งพิมพ์ ชื่อสำนักพิมพ์ / ปีที่พิมพ์ / เลขหน้า)

□ ชื่อการประชุมวิชาการฯ หรือแสดงผลงานต่อสาธารณชน

□□ในประเทศ

นภารัตน์ รัตนภูมิ, จรีรัตน์ บุญเจริญ, กิติมา ศรีสง่า และ สุวัฒนา พฤกษะศรี. การผลิตนมที่มีสารพรีไบโอติกกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์โดยเอนไซม์เบต้ากาแลคโตซิเดสจาก Aspergillus oryzae งานแสดงผลงานพัฒนาเทคโนโลยีทุนปริญญาตรี สกว. ครั้งที่ 7 โครงการ IRPUS ประจำปี 2551” ระหว่างวันที่ 26-29 มีนาคม 2552 ณ Royal Paragon Hall ห้างสรรพสินค้าสยามพารากอน

เรื่องที่ 3

1. ชื่อเรื่อง/ชื่อผลงาน การแยกน้ำตาลแลคโตสออกจากนมโดยอัลตราฟิวเตรชันเมมเบรน
Separation of Lactose from Milk by Ultrafiltration

2. ลักษณะโครงการ/ผลงาน □ส่วนบุคคล/เดี่ยว หรือ

□คณะบุคคล/กลุ่ม □เป็นหัวหน้า □เป็นผู้ร่วม

3. สาขาวิชา (ผลงานวิจัย โปรดระบุสาขาการวิจัยตามข้อ7) สาขาเกษตรและชีววิทยา

4. จำนวนงบประมาณ 65,000 บาท
ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย/สร้างสรรค์ผลงานตั้งแต่ปี พ.ศ. 2551 ถึงปี พ.ศ. 2552

5. ชื่อแหล่งทุน/แหล่งสนับสนุน

□ในประเทศ

□ภาควิชา □คณะวิชา □มหาวิทยาลัย □อื่นๆ (โปรดระบุ)

6. การเผยแพร่ผลงานวิจัย/ผลงานสร้างสรรค์ดังกล่าว

□เผยแพร่แล้ว

□ในรูปของบทความทางวิชาการที่ตีพิมพ์

Phongsathon Limsawat and Suwattana Pruksasri. 2010. Separation of Lactose from Milk by Ultrafiltration. Asian Journal of Food & Agro-Industry.3:2.

□ ชื่อการประชุมวิชาการฯ หรือแสดงผลงานต่อสาธารณชน

□□ในประเทศ

Phongsathon Limsawat and Suwattana Pruksasri. 2009. Separation of Lactose from Milk byUltrafiltration. In Food Innovation Asia Conference 2009. June 18-19, 2009. BITEC, Bangkok Thailand

เรื่องที่ 4

1. ชื่อเรื่อง/ชื่อผลงาน (ภาษาไทย) การหาปริมาณฟรักโตโอลิโกแซคคาไรด์จากกล้วยพันธุ์ต่างๆ ในประเทศไทย

(ภาษาอังกฤษ) Determination of Fructooligosaccharides from Different Varieties of Banana in Thailand

2. ลักษณะโครงการ/ผลงาน ☐ส่วนบุคคล/เดี่ยว หรือ

☐คณะบุคคล/กลุ่ม ☐เป็นหัวหน้า ☐เป็นผู้ร่วม

3. สาขาวิชา (ผลงานวิจัย โปรดระบุสาขาการวิจัยตามข้อ7) สาขาเกษตรและชีววิทยา

4. จำนวนงบประมาณ 373,500 บาท

ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย/สร้างสรรค์ผลงานตั้งแต่ปี พ.ศ. 2551 ถึงปี พ.ศ. 2552

5. ชื่อแหล่งทุน/แหล่งสนับสนุน

☐ในประเทศ

☐ภาควิชา ☐คณะวิชา ☐มหาวิทยาลัย ☐อื่นๆ (โปรดระบุ)

☐ภายนอกมหาวิทยาลัย (โปรดระบุ) สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

6. การเผยแพร่ผลงานวิจัย/ผลงานสร้างสรรค์ดังกล่าว

☐ยังไม่ได้เผยแพร่

☐เผยแพร่แล้ว

☐ ชื่อการประชุมวิชาการฯ หรือแสดงผลงานต่อสาธารณชน

☐☐ในประเทศ

Suwattana Pruksasri. 2010. Extraction and Determination of Fructooligosaccharides from Different Varieties of Banana in Thailand .In International Conference “Thai Fruits-Functional Fruits” THAIFEX World of Food Asia 2010. July 1-2, 2010. IMPACT Challenger Hall, Muang Thong Thani, Bangkok Thailand

เรื่องที่ 5

1. ชื่อเรื่อง/ชื่อผลงาน (ภาษาไทย)การผลิตสารไพราซีนด้วย Bacillus sp.โดยการหมักด้วยวิธี submerged culture

(ภาษาอังกฤษ) Pyrazine Production by Bacillus sp. Using Submerged Culture Fermentation

2. ลักษณะโครงการ/ผลงาน ☐ส่วนบุคคล/เดี่ยว หรือ

☐คณะบุคคล/กลุ่ม ☐เป็นหัวหน้า ☐เป็นผู้ร่วม

3. สาขาวิชา (ผลงานวิจัย โปรดระบุสาขาการวิจัยตามข้อ7) สาขาเกษตรและชีววิทยา

4. จำนวนงบประมาณ 798,150 บาท

ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย/สร้างสรรค์ผลงานตั้งแต่ปี พ.ศ. 2554 ถึงปี พ.ศ. 2555

5. ชื่อแหล่งทุน/แหล่งสนับสนุน

☐ในประเทศ

☐ภาควิชา ☐คณะวิชา ☐มหาวิทยาลัย ☐อื่นๆ (โปรดระบุ)

☐ภายนอกมหาวิทยาลัย (โปรดระบุ) สกว.

6. การเผยแพร่ผลงานวิจัย/ผลงานสร้างสรรค์ดังกล่าว

☐เผยแพร่แล้ว

☐ ชื่อการประชุมวิชาการฯ หรือแสดงผลงานต่อสาธารณชน

☐☐ในประเทศ

Nopmaneerat Leelawiwat, Pinpinut Adiluchayakorn, Patcharakamol Sutasanawichanna, Suwattana Pruksasri and Arunsri Leejeerajumnean. 2011. Optimization of Pyrazine Production from Newly IsolatedBacillus sp. by Submerged Culture. In The 12th Asean Food Conference 2012, June 16-18, 2011. BITEC, Bangkok, Thailand

เรื่องที่ 6

1. ชื่อเรื่อง/ชื่อผลงาน (ภาษาไทย) การผลิตนมไขมันต่ำที่มีน้ำตาลแลคโตสต่ำควบคู่กับการผลิตพรีไบโอติกกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์

(ภาษาอังกฤษ) Simultaneous Productions of Low Fat, Low Lactose Milk and Prebiotic Galactooligosaccharide

2. ลักษณะโครงการ/ผลงาน ☐ส่วนบุคคล/เดี่ยว หรือ

☐คณะบุคคล/กลุ่ม ☐เป็นหัวหน้า ☐เป็นผู้ร่วม

3. สาขาวิชา (ผลงานวิจัย โปรดระบุสาขาการวิจัยตามข้อ7) สาขาเกษตรและชีววิทยา

4. จำนวนงบประมาณ 492,000 บาท

ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย/สร้างสรรค์ผลงานตั้งแต่ปี พ.ศ. 2553 ถึงปี พ.ศ. 2554

5. ชื่อแหล่งทุน/แหล่งสนับสนุน

☐ในประเทศ

☐ภาควิชา ☐คณะวิชา ☐มหาวิทยาลัย ☐อื่นๆ (โปรดระบุ)

☐ภายนอกมหาวิทยาลัย (โปรดระบุ)

☐ ต่างประเทศ (โปรดระบุ)

6. การเผยแพร่ผลงานวิจัย/ผลงานสร้างสรรค์ดังกล่าว

☐ยังไม่ได้เผยแพร่

เรื่องที่ 7

1. ชื่อเรื่อง/ชื่อผลงาน (ภาษาไทย)การพัฒนาโยเกิร์ตที่ประกอบด้วยสารพรีไบโอติกผสมและจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้ม

(ภาษาอังกฤษ) Development of Synbiotic Yoghurt Containing Mixed Prebiotic and Encapsulated Probiotic

2. ลักษณะโครงการ/ผลงาน ☐ส่วนบุคคล/เดี่ยว หรือ

☐คณะบุคคล/กลุ่ม ☐เป็นหัวหน้า ☐เป็นผู้ร่วม

3. สาขาวิชา (ผลงานวิจัย โปรดระบุสาขาการวิจัยตามข้อ7) สาขาเกษตรและชีววิทยา

4. จำนวนงบประมาณ 390,700 บาท

ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย/สร้างสรรค์ผลงานตั้งแต่ปี พ.ศ. 2554 ถึงปี พ.ศ. 2555

5. ชื่อแหล่งทุน/แหล่งสนับสนุน

☐ในประเทศ

☐ภาควิชา ☐คณะวิชา ☐มหาวิทยาลัย ☐อื่นๆ (โปรดระบุ)

☐ภายนอกมหาวิทยาลัย (โปรดระบุ) สกอ.

☐ ต่างประเทศ (โปรดระบุ)

6. การเผยแพร่ผลงานวิจัย/ผลงานสร้างสรรค์ดังกล่าว

☐ยังไม่ได้เผยแพร่

☐เผยแพร่แล้ว

☐ ชื่อการประชุมวิชาการฯ หรือแสดงผลงานต่อสาธารณชน

☐☐ในประเทศ

สุวัฒนา พฤกษะศรี. 2556. การพัฒนาโยเกิร์ตที่ประกอบด้วยสารพรีไบโอติกผสมและจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้ม. การประชุมใหญ่โครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษาครั้งที่ 1. มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม พิษณุโลก. 21-23 มกราคม 2556

เรื่องที่ 8

1. ชื่อเรื่อง/ชื่อผลงาน (ภาษาไทย) การพัฒนากระบวนการผลิตวัตถุเจือปนอาหารไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์จากแป้งข้าว แป้งมันสำปะหลัง และแป้งสาคู

(ภาษาอังกฤษ) Development of food additive isomalto-oligosaccharides production from rice, tapioca and sago flour

2. ลักษณะโครงการ/ผลงาน ☐ส่วนบุคคล/เดี่ยว หรือ

☐คณะบุคคล/กลุ่ม ☐เป็นหัวหน้า ☐เป็นผู้ร่วม

3. สาขาวิชา (ผลงานวิจัย โปรดระบุสาขาการวิจัยตามข้อ7) สาขาเกษตรและชีววิทยา

4. จำนวนงบประมาณ 442,800 บาท

ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย/สร้างสรรค์ผลงานตั้งแต่ปี พ.ศ. 2557 ถึงปี พ.ศ. 2558

5. ชื่อแหล่งทุน/แหล่งสนับสนุน

☐ในประเทศ

☐ภาควิชา ☐คณะวิชา ☐มหาวิทยาลัย ☐อื่นๆ (โปรดระบุ)

☐ภายนอกมหาวิทยาลัย (โปรดระบุ)

ต่างประเทศ (โปรดระบุ)

6. การเผยแพร่ผลงานวิจัย/ผลงานสร้างสรรค์ดังกล่าว

☐ยังไม่ได้เผยแพร่

☐เผยแพร่แล้ว

☐ ชื่อการประชุมวิชาการฯ หรือแสดงผลงานต่อสาธารณชน

☐☐ในประเทศ

Chadakarn, C., Pruksasri, S. and Wichienchot, S. 2014. Isomaltooligosaccharides production from rice,tapioca and sago starches. Proceedings 1st Joint ACS AGFD-ACS ICSCT Symposium on Agricultural and Food Chemistry, March 4-5 2014, Montien Riverside, Bangkok Thailand

ตอนที่ 3 ผลงานวิจัยหรือผลงานสร้างสรรค์ที่กำลังดำเนินการ(กรุณากรอก 1 เรื่องต่อ 1 ส่วน)

เรื่องที่ 1

1. ชื่อเรื่อง/ชื่อผลงาน (ภาษาไทย) การผลิตฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์จากน้ำเชื่อมที่เหลือจากการแช่อิ่มมะม่วง

(ภาษาอังกฤษ) Production of fructooligosaccharides from the mango preserved sugar solution

2. ลักษณะโครงการ/ผลงาน ☐ส่วนบุคคล/เดี่ยว หรือ

☐คณะบุคคล/กลุ่ม ☐เป็นหัวหน้า ☐เป็นผู้ร่วม

3. สาขาวิชา (ผลงานวิจัย โปรดระบุสาขาการวิจัยตามข้อ7) สาขาเกษตรและชีววิทยา

4. จำนวนงบประมาณ 437,500 บาท

ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย/สร้างสรรค์ผลงานตั้งแต่ปี พ.ศ. 2558 ถึงปี พ.ศ. 2559

5. ชื่อแหล่งทุน/แหล่งสนับสนุน

☐ในประเทศ

☐ภาควิชา ☐คณะวิชา ☐มหาวิทยาลัย ☐อื่นๆ (โปรดระบุ)

☐ภายนอกมหาวิทยาลัย (โปรดระบุ)

☐ ต่างประเทศ (โปรดระบุ)

6. สถานภาพการทำวิจัยลุล่วงแล้ว ร้อยละ 90

ประวัติผู้ร่วมวิจัย

ตอนที่ 1 ประวัติทั่วไป

1. ชื่อ - สกุล (นาย) (ภาษาไทย)..สันทัด.....วิเชียรโชติ.....
(ภาษาอังกฤษ).SANTAD....WICHIENCHOT..... .....
2. วัน เดือน ปีเกิด ...11...ก.ค....2517..... (เพื่อเก็บในฐานข้อมูลนักวิจัย)
3. หมายเลขประจำตัวประชาชน (ต้องระบุ)... 3930100023661.....
4. ตำแหน่งทางวิชาการปัจจุบัน ☐ ข้าราชการ ☐ พนักงาน

o อาจารย์ o ชำนาญการ
o ผู้ช่วยศาสตราจารย์ o เชี่ยวชาญ
o รองศาสตราจารย์ o เชี่ยวชาญพิเศษ
o ศาสตราจารย์ o อื่นๆ (โปรดระบุ).....

5. สถานที่ทำงาน

ภาควิชา..สถานวิจัยผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและอาหารเพื่อสุขภาพ..... คณะ..อุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา.....

โทรศัพท์.... 0-7428-6350.....โทรสาร.... 0-7455-8866.....

e-mail address (ต้องระบุ) .. santad.w@psu.ac.th...

ที่อยู่ปัจจุบัน

บ้านเลขที่..162/46..ม.2.....ซอย/ถนน....ซอย 2 เพชรเกษมตำบล..คอหงส์

อำเภอ ....หาดใหญ่.....จังหวัด.....สงขลา.....

โทรศัพท์.....074-218958.....โทรสาร.....-

6. ประวัติการศึกษา

- ปริญญาตรีสาขา...อุตสาหกรรมเกษตร.....สถาบัน.มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. ปีที่จบ..... 2540.....
- ปริญญาโทสาขา.....เทคโนโลยีชีวภาพ.....สถาบันมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ปีที่จบ..... 2543.....
- ปริญญาเอกสาขา....เทคโนโลยีชีวภาพ.....สถาบัน...มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ปีที่จบ.....2548.....
- อื่น ๆ (โปรดระบุ)

.....

7. วิทยานิพนธ์ระดับบัณฑิตศึกษา (ชื่อเรื่อง/ปีที่ดำเนินการ ทั้งระดับปริญญาโทและปริญญาเอก)

- ระดับปริญญาโท

ชื่อเรื่อง..... Optimization for Biopolymer Production by Enterobacter cloacae WD7 ปีที่ดำเนินการ..2541-2543.....

- ระดับปริญญาเอก

ชื่อเรื่อง..... Production of Oligodextrans by Gluconobacter oxydans NCIMB 4943 and Evaluation on their Prebiotic Properties... ปีที่ดำเนินการ..2545-2548...

8. สาขาวิชาที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา ตอบได้มากกว่า 1 ข้อ) โปรดระบุแขนงวิชาและแนวเรื่องย่อยด้วย

อุตสาหกรรมเกษตร สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ

ตอนที่ 2 ผลงานวิจัย/ผลงานสร้างสรรค์ทางด้านศิลปะและการออกแบบที่ดำเนินการเสร็จแล้ว (กรุณาให้ ข้อมูลทุกเรื่องที่ท่านทำโดยกรอก 1 เรื่องต่อ 1 แผ่น)

ตอนที่ 2.1

เรื่องที่ 1

1. ชื่อเรื่อง / ชื่อผลงาน (ภาษาไทย)....ความสามารถในการต้านทานโรคของปลานิลแดงแปลงเพศต่อเชื้อ Streptococcus iniae เมื่อเลี้ยงด้วยอาหารเสริมอินนูลิน กาแลกโตโอลิโกแซคคาไรด์และซอยบีนโอลิโกแซคคาไรด์

(ภาษาอังกฤษ)... Disease resistance of sex-reversed red tilapia (Oreochromis niloticus □ Oreochromis mossambicus) challenged in situ with Streptococcus iniae fed the inulin, galactooligosaccharide and soybean oligosaccharide

2. ลักษณะโครงการ /ผลงาน □ ส่วนบุคคล/เดี่ยว หรือ

□ คณะบุคคล/กลุ่ม □ เป็นหัวหน้า □ เป็นผู้ร่วม

3. สาขาวิชา (ผลงานวิจัย โปรดระบุสาขาการวิจัยตามข้อ 7).....เกษตรศาสตร์และชีววิทยา

ประเภทการออกแบบ (ผลงานสร้างสรรค์ โปรดระบุเทคนิค ขนาด วัสดุ)...การทดลองทางวาริชศาสตร์...

4. จำนวนงบประมาณ...370,000..... บาท
   ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย/สร้างสรรค์ผลงานตั้งแต่ปี พ.ศ...2553... ถึงปี พ.ศ... 2553
5. ชื่อแหล่งทุน / แหล่งสนับสนุน
   ☐ ในประเทศ
   ☐ ภาควิชา ☐ คณะวิชา ☐ มหาวิทยาลัย ☐ อื่นๆ (โปรดระบุ).....
   ☐ ภายนอกมหาวิทยาลัย (โปรดระบุ)....วช
   ☐ ต่างประเทศ (โปรดระบุ).....
6. การเผยแพร่ผลงานวิจัย/ผลงานสร้างสรรค์ดังกล่าว
   ☐ ยังไม่ได้เผยแพร่
   ☐ เผยแพร่แล้ว
   ☐ ในรูปของบทความทางวิชาการที่ตีพิมพ์ (โปรดระบุชื่อเรื่อง / ชื่อเจ้าของผลงาน / ชื่อสิ่งพิมพ์
   ชื่อสำนักพิมพ์ / ปีที่พิมพ์ / เลขหน้า)
   ☐☐ ในประเทศ .....
   ☐☐ ต่างประเทศ.....
   ☐ ชื่อการประชุมวิชาการฯ หรือแสดงผลงานต่อสาธารณชน (โปรดระบุชื่อเรื่อง / ชื่อผู้นำเสนอ / สถานที่จัด / วัน เดือน ปีที่นำเสนอ)
   ชื่อเรื่อง... Effects of prebiotics on growth performance and pathogenic inhibition in sex- reversed red tilapia (Oreochromis niloticus × Oreochromis mossambicus)
   ชื่อผู้นำเสนอ...Plongbunjong, V.....
   สถานที่จัด... Mae Fah Luang University, Chiang Rai, Thailand...
   วัน เดือน ปี ที่นำเสนอ... November, 19-20, 2010.....
   ☐☐ ในประเทศ .....
   ☐☐ ต่างประเทศ.....
   ☐ อื่น ๆ (โปรดระบุ).....

เรื่องที่ 2

1. ชื่อเรื่อง / ชื่อผลงาน (ภาษาไทย)....การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารพรีไบโอติกจากเนื้อขนุนในระดับโรงงานทดลอง.

(ภาษาอังกฤษ)... Study on optimal conditions for extraction of prebiotic from jack fruit bulb in pilot-scale...

2. ลักษณะโครงการ /ผลงาน ☐ ส่วนบุคคล/เดี่ยว หรือ

☐ คณะบุคคล/กลุ่ม ☐ เป็นหัวหน้า ☐ เป็นผู้ร่วม

3. สาขาวิชา (ผลงานวิจัย โปรดระบุสาขาการวิจัยตามข้อ 7).....เกษตรศาสตร์และชีววิทยา

ประเภทการออกแบบ (ผลงานสร้างสรรค์ โปรดระบุเทคนิค ขนาด วัสดุ)...การทดลองทางเทคโนโลยีชีวภาพอาหาร...

4. จำนวนงบประมาณ...100,000..... บาท

ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย/สร้างสรรค์ผลงานตั้งแต่ปี พ.ศ...2552... ถึงปี พ.ศ... 2554.....

5. ชื่อแหล่งทุน / แหล่งสนับสนุน

☐ ในประเทศ

☐ ภาควิชา ☐ คณะวิชา ☐ มหาวิทยาลัย ☐ อื่นๆ (โปรดระบุ).....

☐ ภายนอกมหาวิทยาลัย (โปรดระบุ)....วช.....

☐ ต่างประเทศ (โปรดระบุ).....

6. การเผยแพร่ผลงานวิจัย/ผลงานสร้างสรรค์ดังกล่าว

☐ ยังไม่ได้เผยแพร่

☐ เผยแพร่แล้ว

☐ ในรูปของบทความทางวิชาการที่ตีพิมพ์ (โปรดระบุชื่อเรื่อง / ชื่อเจ้าของผลงาน / ชื่อสิ่งพิมพ์ ชื่อสำนักพิมพ์ / ปีที่พิมพ์ / เลขหน้า)

☐☐ ในประเทศ .....

☐☐ ต่างประเทศ.....

☐ ชื่อการประชุมวิชาการฯ หรือแสดงผลงานต่อสาธารณชน

ชื่อเรื่อง... Sugar extraction and non-reducing sugar determination from bulb and fiber of jackfruit (Artocarpus heterophyllus L.).....

ชื่อผู้นำเสนอ... Thungchoho, K .....

สถานที่จัด... The Empress Convention Centre, Chiang Mai, Thailand

วัน เดือน ปี ที่นำเสนอ... April, 6-8, 2011.....

☐☐ ในประเทศ .....

เรื่องที่ 3

1. ชื่อเรื่อง / ชื่อผลงาน (ภาษาไทย)....การคัดเลือกพืชไทยที่มีศักยภาพเป็นแหล่งของพรีไบโอติก...

(ภาษาอังกฤษ)... Screening of some Thai plants for potential sources of prebiotic.....

2. ลักษณะโครงการ /ผลงาน ☐ ส่วนบุคคล/เดี่ยว หรือ

☐ คณะบุคคล/กลุ่ม ☐ เป็นหัวหน้า ☐ เป็นผู้ร่วม

3. สาขาวิชา (ผลงานวิจัย โปรดระบุสาขาการวิจัยตามข้อ 7).....เกษตรศาสตร์และชีววิทยา

ประเภทการออกแบบ (ผลงานสร้างสรรค์ โปรดระบุเทคนิค ขนาด วัสดุ)...การทดลองเทคโนโลยีชีวภาพอาหาร...

4. จำนวนงบประมาณ...2,000,000..... บาท

ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย/สร้างสรรค์ผลงานตั้งแต่ปี พ.ศ...2552... ถึงปี พ.ศ... 2553....

5. ชื่อแหล่งทุน / แหล่งสนับสนุน

☐ ในประเทศ

☐ ภาควิชา ☐ คณะวิชา ☐ มหาวิทยาลัย ☐ อื่นๆ (โปรดระบุ).....

☐ ภายนอกมหาวิทยาลัย (โปรดระบุ)....สวทช.....

☐ ต่างประเทศ (โปรดระบุ).....

6. การเผยแพร่ผลงานวิจัย/ผลงานสร้างสรรค์ดังกล่าว

☐ ยังไม่ได้เผยแพร่

☐ เผยแพร่แล้ว

☐ ในรูปของบทความทางวิชาการที่ตีพิมพ์ (โปรดระบุชื่อเรื่อง / ชื่อเจ้าของผลงาน / ชื่อสิ่งพิมพ์

ชื่อสำนักพิมพ์ / ปีที่พิมพ์ / เลขหน้า)

ชื่อเรื่อง... Extraction and analysis of prebiotics in some plants from southern Thailand

ชื่อเจ้าของผลงาน... Paiboon Thammarutwasik, Tipparat Hongpattarakere, Akkasit Jongjareonrak, Worrapanit Chansuwan, Preeya Hmadhlu, Arunporn Itharat, Santad Wichienchot and Buncha Ooraikul

ชื่อสิ่งพิมพ์...Songklanakarin Journal of Science and Technology...

ชื่อสำนักพิมพ์...Research and Development Office, Prince of Songkla University

ปีที่พิมพ์...2011....

เลขหน้า...xx-xx.....

เรื่องที่ 4

1. ชื่อเรื่อง / ชื่อผลงาน (ภาษาไทย)....การประเมินความเป็นพรีไบโอติกของโอลิโกแซคคาไรด์จากเนื้อขนุนในระบบจำลองลำไส้ใหญ่มนุษย์

(ภาษาอังกฤษ)... Evaluation on Prebiotic Property of Jackfruit Oligosaccharides in Simulated Colon System .....

2. ลักษณะโครงการ /ผลงาน ☐ ส่วนบุคคล/เดี่ยว หรือ

☐ คณะบุคคล/กลุ่ม ☐ เป็นหัวหน้า ☐ เป็นผู้ร่วม

3. สาขาวิชา (ผลงานวิจัย โปรดระบุสาขาการวิจัยตามข้อ 7).....เกษตรศาสตร์และชีววิทยา
ประเภทการออกแบบ (ผลงานสร้างสรรค์ โปรดระบุเทคนิค ขนาด วัสดุ)...การทดลองทางเทคโนโลยีชีวภาพอาหาร...

4. จำนวนงบประมาณ...740,000..... บาท
ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย/สร้างสรรค์ผลงานตั้งแต่ปี พ.ศ...2552... ถึงปี พ.ศ... 2553....

5. ชื่อแหล่งทุน / แหล่งสนับสนุน
☐ ในประเทศ
☐ ภาควิชา ☐ คณะวิชา ☐ มหาวิทยาลัย ☐ อื่นๆ (โปรดระบุ).....
☐ ภายนอกมหาวิทยาลัย (โปรดระบุ)....สกว.....
☐ ต่างประเทศ (โปรดระบุ).....

6. การเผยแพร่ผลงานวิจัย/ผลงานสร้างสรรค์ดังกล่าว
☐ ยังไม่ได้เผยแพร่
☐ เผยแพร่แล้ว
☐ ในรูปของบทความทางวิชาการที่ตีพิมพ์
☐☐ ในประเทศ .....
☐☐ ต่างประเทศ.....
☐ ชื่อการประชุมวิชาการฯ หรือแสดงผลงานต่อสาธารณชน
ชื่อเรื่อง... Oligosaccharides of jackfruit flesh and their prebiotic properties
ชื่อผู้นำเสนอ... Wichienchot, S. .....
สถานที่จัด... Double Tree by Hilton hotel, Kosice, Slovakia ...
วัน เดือน ปี ที่นำเสนอ... 15-17 June, 2010.....
☐☐ ในประเทศ .....
☐☐ ต่างประเทศ.... Slovakia.....
☐ อื่น ๆ (โปรดระบุ).....

เรื่องที่ 5

1. ชื่อเรื่อง / ชื่อผลงาน (ภาษาไทย)....การศึกษาชนิดและปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ในผลแก้วมังกรต่อคุณสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติก
(ภาษาอังกฤษ)... Study on prebiotic oligosaccharides in Dragon fruit (Hylocereus undatus)

2. ลักษณะโครงการ /ผลงาน ☐ ส่วนบุคคล/เดี่ยว หรือ
☐ คณะบุคคล/กลุ่ม ☐ เป็นหัวหน้า ☐ เป็นผู้ร่วม

3. สาขาวิชา (ผลงานวิจัย โปรดระบุสาขาการวิจัยตามข้อ 7).....เกษตรศาสตร์และชีววิทยา

ประเภทการออกแบบ (ผลงานสร้างสรรค์ โปรดระบุเทคนิค ขนาด วัสดุ)...การทดลองทางเทคโนโลยีชีวภาพอาหาร...

4. จำนวนงบประมาณ...400,000..... บาท

ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย/สร้างสรรค์ผลงานตั้งแต่ปี พ.ศ...2550... ถึงปี พ.ศ... 2551.....

5. ชื่อแหล่งทุน / แหล่งสนับสนุน

☐ ในประเทศ

☐ ภาควิชา ☐ คณะวิชา ☐ มหาวิทยาลัย ☐ อื่นๆ (โปรดระบุ).....

☐ ภายนอกมหาวิทยาลัย (โปรดระบุ)....วช.....

☐ ต่างประเทศ (โปรดระบุ).....

6. การเผยแพร่ผลงานวิจัย/ผลงานสร้างสรรค์ดังกล่าว

☐ ยังไม่ได้เผยแพร่

☐ เผยแพร่แล้ว

☐ ในรูปของบทความทางวิชาการที่ตีพิมพ์

ชื่อเรื่อง... Oligosaccharides of Pitaya (dragon fruit) Flesh and their Prebiotic properties

ชื่อเจ้าของผลงาน... S. Wichienchot, M. Jatupornpipat and R.A. Rastall

ชื่อสิ่งพิมพ์... Food Chemistry .....

ชื่อสำนักพิมพ์...Elsevier.....

ปีที่พิมพ์...2010....

เลขหน้า...120(3): 850-857.....

☐☐ ในประเทศ .....

☐☐ ต่างประเทศ....International.....

☐ ชื่อการประชุมวิชาการฯ หรือแสดงผลงานต่อสาธารณชน (โปรดระบุชื่อเรื่อง /

ชื่อผู้นำเสนอ / สถานที่จัด / วัน เดือน ปีที่นำเสนอ)

เรื่องที่ 6

1. ชื่อเรื่อง / ชื่อผลงาน (ภาษาไทย) การผลิตโอลิโกแด็กแตรนจากเชื้อ Gluconobacter oxydans NCIMB 4943 และการประเมินสมบัติการเป็นพรีไบโอติก

(ภาษาอังกฤษ) Production of Oligodextrans by Gluconobacter oxydans NCIMB 4943 and Evaluation on their Prebiotic Properties

2. ลักษณะโครงการ /ผลงาน ☐ ส่วนบุคคล/เดี่ยว หรือ

☐ คณะบุคคล/กลุ่ม ☐ เป็นหัวหน้า ☐ เป็นผู้ร่วม

3. สาขาวิชา (ผลงานวิจัย โปรดระบุสาขาการวิจัยตามข้อ 7).....เกษตรศาสตร์และชีววิทยา.....

ประเภทการออกแบบ (ผลงานสร้างสรรค์ โปรดระบุเทคนิค ขนาด วัสดุ)...การทดลองทางเทคโนโลยีชีวภาพ...

4. จำนวนงบประมาณ...1,000,000..... บาท

ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย/สร้างสรรค์ผลงานตั้งแต่ปี พ.ศ...2541... ถึงปี พ.ศ... 2543.....

5. ชื่อแหล่งทุน / แหล่งสนับสนุน

☐ ในประเทศ

☐ ภาควิชา ☐ คณะวิชา ☐ มหาวิทยาลัย ☐ อื่นๆ (โปรดระบุ).....

☐ ภายนอกมหาวิทยาลัย (โปรดระบุ)....สวทช.....

☐ ต่างประเทศ (โปรดระบุ).....

6. การเผยแพร่ผลงานวิจัย/ผลงานสร้างสรรค์ดังกล่าว

☐ ยังไม่ได้เผยแพร่

☐ เผยแพร่แล้ว

☐ ในรูปของบทความทางวิชาการที่ตีพิมพ์

ชื่อเรื่อง... Manufacture of oligodextrans by Gluconobacter oxydans NCIMB 4943

ชื่อเจ้าของผลงาน... S. Wichienchot, P. Prasertsan, T. Hongpattarakere and R.A. Rastall

ชื่อสิ่งพิมพ์... Songklanakarin Journal of Science and Technology.....

ชื่อสำนักพิมพ์...Research and Development Center of Prince of Songkla University.....

ปีที่พิมพ์...2009....

เลขหน้า...31(6): 597-603.....

☐☐ ในประเทศ ... International.....

☐☐ ต่างประเทศ.....

☐ ชื่อการประชุมวิชาการฯ หรือแสดงผลงานต่อสาธารณชน

เรื่องที่ 7

1. ชื่อเรื่อง / ชื่อผลงาน (ภาษาไทย)....การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิเมอร์ชีวภาพจากเชื้อ Enterobacter cloacae WD7.....

(ภาษาอังกฤษ)... Optimization for Biopolymer Production by Enterobacter cloacae WD7.

2. ลักษณะโครงการ /ผลงาน ☐ ส่วนบุคคล/เดี่ยว หรือ

☐ คณะบุคคล/กลุ่ม ☐ เป็นหัวหน้า ☐ เป็นผู้ร่วม

3. สาขาวิชา (ผลงานวิจัย โปรดระบุสาขาการวิจัยตามข้อ 7).....เกษตรศาสตร์และชีววิทยา

ประเภทการออกแบบ (ผลงานสร้างสรรค์ โปรดระบุเทคนิค ขนาด วัสดุ)...การทดลองทางเทคโนโลยีชีวภาพ...

4. จำนวนงบประมาณ...500,000..... บาท

ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย/สร้างสรรค์ผลงานตั้งแต่ปี พ.ศ...2541... ถึงปี พ.ศ... 2543.....

5. ชื่อแหล่งทุน / แหล่งสนับสนุน

☐ ในประเทศ

☐ ภาควิชา ☐ คณะวิชา ☐ มหาวิทยาลัย ☐ อื่นๆ (โปรดระบุ).....

☐ ภายนอกมหาวิทยาลัย (โปรดระบุ)....วช.....

☐ ต่างประเทศ (โปรดระบุ).....

6. การเผยแพร่ผลงานวิจัย/ผลงานสร้างสรรค์ดังกล่าว

☐ ยังไม่ได้เผยแพร่

☐ เผยแพร่แล้ว

☐ ในรูปของบทความทางวิชาการที่ตีพิมพ์

ชื่อเรื่อง... Optimization for Biopolymer Production by Enterobacter cloacae WD7

ชื่อเจ้าของผลงาน... Prasertsan, P., Wichienchot, S., Doelle, H. and Kennedy, J.F ...

ชื่อสิ่งพิมพ์... Carbohydrate Polymers.....

ชื่อสำนักพิมพ์...Elsevier.....

ปีที่พิมพ์...2008....

เลขหน้า...71: 468-475.....

☐☐ ในประเทศ ... .

☐☐ ต่างประเทศ..... International.....

☐ ชื่อการประชุมวิชาการฯ หรือแสดงผลงานต่อสาธารณชน

☐☐ ในประเทศ .....

เรื่องที่ 8

1. ชื่อเรื่อง / ชื่อผลงาน (ภาษาไทย)....การผลิตโอลิโกเด็กแตรนจากเชื้อ Gluconobacter oxydans NCIMB 4943 และการประเมินสมบัติการเป็นพรีไบโอติก.....

(ภาษาอังกฤษ)... Production of Oligodextrans by Gluconobacter oxydans NCIMB4943 and Evaluation on their Prebiotic Properties.....

2. ลักษณะโครงการ /ผลงาน ☐ ส่วนบุคคล/เดี่ยว หรือ

☐ คณะบุคคล/กลุ่ม ☐ เป็นหัวหน้า ☐ เป็นผู้ร่วม

3. สาขาวิชา (ผลงานวิจัย โปรดระบุสาขาการวิจัยตามข้อ 7).....เกษตรศาสตร์และชีววิทยา

ประเภทการออกแบบ (ผลงานสร้างสรรค์ โปรดระบุเทคนิค ขนาด วัสดุ)...การทดลองทางเทคโนโลยีชีวภาพ...

4. จำนวนงบประมาณ...1,000,000..... บาท

ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย/สร้างสรรค์ผลงานตั้งแต่ปี พ.ศ...2545... ถึงปี พ.ศ... 2548.....

5. ชื่อแหล่งทุน / แหล่งสนับสนุน

☐ ในประเทศ

☐ ภาควิชา ☐ คณะวิชา ☐ มหาวิทยาลัย ☐ อื่นๆ (โปรดระบุ).....

☐ ภายนอกมหาวิทยาลัย (โปรดระบุ)....สวทช.....

☐ ต่างประเทศ (โปรดระบุ).....

6. การเผยแพร่ผลงานวิจัย/ผลงานสร้างสรรค์ดังกล่าว

☐ ยังไม่ได้เผยแพร่

☐ เผยแพร่แล้ว

☐ ในรูปของบทความทางวิชาการที่ตีพิมพ์

ชื่อเรื่อง... In vitro Fermentation of Mixed Linkage Gluco-oligosaccharides Produced by Gluconobacter oxydans NCIMB 4943 on the Human Colonic Microflora.

ชื่อเจ้าของผลงาน... S. Wichienchot, P. Prasertsan, T. Hongpattarakere, R.A. Rastall and G.R. Gibson .....

ชื่อสิ่งพิมพ์... Curr. Issu. Intes. Microbiol.....

ชื่อสำนักพิมพ์... Horizon Scientific Press .....

ปีที่พิมพ์...2006....

เลขหน้า...7: 7-12.....

☐☐ ในประเทศ ... .

☐☐ ต่างประเทศ..... International.....

เรื่องที่ 9

1. ชื่อเรื่อง / ชื่อผลงาน (ภาษาไทย)....การผลิตโอลิโกเด็กแตรนจากเชื้อ Gluconobacter oxydans NCIMB 4943 และการประเมินสมบัติการเป็นพรีไบโอติก.....

(ภาษาอังกฤษ)... Production of Oligodextrans by Gluconobacter oxydans NCIMB 4943 and Evaluation on their Prebiotic Properties.....

2. ลักษณะโครงการ /ผลงาน ☐ ส่วนบุคคล/เดี่ยว หรือ

☐ คณะบุคคล/กลุ่ม ☐ เป็นหัวหน้า ☐ เป็นผู้ร่วม

3. สาขาวิชา (ผลงานวิจัย โปรดระบุสาขาการวิจัยตามข้อ 7).....เกษตรศาสตร์และชีววิทยา

ประเภทการออกแบบ (ผลงานสร้างสรรค์ โปรดระบุเทคนิค ขนาด วัสดุ)...การทดลองทางเทคโนโลยีชีวภาพ...

4. จำนวนงบประมาณ...1,000,000..... บาท

ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย/สร้างสรรค์ผลงานตั้งแต่ปี พ.ศ...2545... ถึงปี พ.ศ... 2548.....

5. ชื่อแหล่งทุน / แหล่งสนับสนุน

☐ ในประเทศ

☐ ภาควิชา ☐ คณะวิชา ☐ มหาวิทยาลัย ☐ อื่นๆ (โปรดระบุ).....

☐ ภายนอกมหาวิทยาลัย (โปรดระบุ)....สวทช.....

☐ ต่างประเทศ (โปรดระบุ).....

6. การเผยแพร่ผลงานวิจัย/ผลงานสร้างสรรค์ดังกล่าว

☐ ยังไม่ได้เผยแพร่

☐ เผยแพร่แล้ว

☐ ในรูปของบทความทางวิชาการที่ตีพิมพ์

ชื่อเรื่อง... In vitro Three-Stage Continuous Fermentation of Gluco-oligosaccharides, produced by Gluconobacter oxydans NCIMB 4943, by the Human Colonic Microflora.

ชื่อเจ้าของผลงาน... S. Wichienchot, P. Prasertsan, T. Hongpattarakere, R.A. Rastall and G.R. Gibson .....

ชื่อสิ่งพิมพ์... Curr. Issu. Intes. Microbiol.....

ชื่อสำนักพิมพ์... Horizon Scientific Press .....

ปีที่พิมพ์...2006....

เลขหน้า...7: 13-18.....

☐☐ ในประเทศ ... .

☐☐ ต่างประเทศ..... International.....

เรื่องที่ 10

1. ชื่อเรื่อง / ชื่อผลงาน (ภาษาไทย).... พรีไบโอติกโอลิโกแซคคาไรด์: แหล่งและการผลิต, ประโยชน์ต่อสุขภาพ และการประยุกต์ใช้ทางการค้า.....

(ภาษาอังกฤษ)... Prebiotic oligosaccharides: origins and production, health benefits and commercial applications.....

2. ลักษณะโครงการ /ผลงาน ☐ ส่วนบุคคล/เดี่ยว หรือ

☐ คณะบุคคล/กลุ่ม ☐ เป็นหัวหน้า ☐ เป็นผู้ร่วม

3. สาขาวิชา (ผลงานวิจัย โปรดระบุสาขาการวิจัยตามข้อ 7).....เกษตรศาสตร์และชีววิทยา

ประเภทการออกแบบ (ผลงานสร้างสรรค์ โปรดระบุเทคนิค ขนาด วัสดุ)...การทดลองทางเทคโนโลยีชีวภาพ...

4. จำนวนงบประมาณ...-..... บาท

ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย/สร้างสรรค์ผลงานตั้งแต่ปี พ.ศ...2554... ถึงปี พ.ศ... 2554.....

5. ชื่อแหล่งทุน / แหล่งสนับสนุน

☐ ในประเทศ

☐ ภาควิชา ☐ คณะวิชา ☐ มหาวิทยาลัย ☐ อื่นๆ (โปรดระบุ).....

☐ ภายนอกมหาวิทยาลัย (โปรดระบุ).....

☐ ต่างประเทศ (โปรดระบุ).....

6. การเผยแพร่ผลงานวิจัย/ผลงานสร้างสรรค์ดังกล่าว

☐ ยังไม่ได้เผยแพร่

☐ เผยแพร่แล้ว

☐ ในรูปของบทความทางวิชาการที่ตีพิมพ์

ชื่อเรื่อง... Prebiotic oligosaccharides: origins and production, health benefits and commercial applications.

ชื่อเจ้าของผลงาน... S. Wichienchot and P. Chinachoti .....

ชื่อสิ่งพิมพ์... Text book In Oligosaccharides: Sources, Properties and Applications.....

ชื่อสำนักพิมพ์... Nova Science Publishers, Inc.,.....

ปีที่พิมพ์...2011....

เลขหน้า...59-83.....

☐☐ ในประเทศ ... .

☐☐ ต่างประเทศ..... USA..... .....

☐ ชื่อการประชุมวิชาการฯ หรือแสดงผลงานต่อสาธารณชน (โปรดระบุชื่อเรื่อง /

เรื่องที่ 11

1. ชื่อเรื่อง / ชื่อผลงาน (ภาษาไทย)....การศึกษาชนิดและปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ในผลแก้วมังกรต่อคุณสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติก.....

(ภาษาอังกฤษ)... Study on prebiotic oligosaccharides in Dragon fruit (Hylocereus undatus).....

2. ลักษณะโครงการ /ผลงาน ☐ ส่วนบุคคล/เดี่ยว หรือ

☐ คณะบุคคล/กลุ่ม ☐ เป็นหัวหน้า ☐ เป็นผู้ร่วม

3. สาขาวิชา (ผลงานวิจัย โปรดระบุสาขาการวิจัยตามข้อ 7).....เกษตรศาสตร์และชีววิทยา

ประเภทการออกแบบ (ผลงานสร้างสรรค์ โปรดระบุเทคนิค ขนาด วัสดุ)...การทดลองทางเทคโนโลยีชีวภาพอาหาร...

4. จำนวนงบประมาณ...400,000..... บาท

ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย/สร้างสรรค์ผลงานตั้งแต่ปี พ.ศ...2550... ถึงปี พ.ศ... 2551.....

5. ชื่อแหล่งทุน / แหล่งสนับสนุน

☐ ในประเทศ

☐ ภาควิชา ☐ คณะวิชา ☐ มหาวิทยาลัย ☐ อื่นๆ (โปรดระบุ).....

☐ ภายนอกมหาวิทยาลัย (โปรดระบุ)....วช.....

☐ ต่างประเทศ (โปรดระบุ).....

6. การเผยแพร่ผลงานวิจัย/ผลงานสร้างสรรค์ดังกล่าว

☐ ยังไม่ได้เผยแพร่

☐ เผยแพร่แล้ว

☐ ในรูปของบทความทางวิชาการที่ตีพิมพ์ (โปรดระบุชื่อเรื่อง / ชื่อเจ้าของผลงาน / ชื่อสิ่งพิมพ์

ชื่อสำนักพิมพ์ / ปีที่พิมพ์ / เลขหน้า)

☐☐ ในประเทศ .....

□□ ต่างประเทศ.....

□ ชื่อการประชุมวิชาการฯ หรือแสดงผลงานต่อสาธารณชน

ชื่อเรื่อง... Extraction and purification of prebiotic oligosaccharides from dragon fruit flesh.....

ชื่อผู้นำเสนอ... S. Wichienchot and M. Jatupornpipat.....

สถานที่จัด... Congress on Science and Technology of Thailand. Chonburi, Thailand ...

วัน เดือน ปี ที่นำเสนอ... October 15 - 17, 2009.....

□□ ในประเทศ .....

ตอนที่ 3 ผลงานวิจัยหรือผลงานสร้างสรรค์ที่กำลังดำเนินการ (กรุณากรอก 1 เรื่องต่อ 1 ส่วน)

เรื่องที่ 1

1. ชื่อเรื่อง (ภาษาไทย)....การผลิตไซโลโอลิโกแซคคาไรด์จากขี้เลื่อยไม้ยางพารา.....

(ภาษาอังกฤษ)....Xylooligosaccharides production from rubber saw dust.....

2. ลักษณะโครงการ /ผลงาน □ ส่วนบุคคล/เดี่ยว หรือ

□ คณะบุคคล/กลุ่ม □ เป็นหัวหน้า □ เป็นผู้ร่วม

3. สาขาวิชา (ผลงานวิจัย โปรดระบุสาขาการวิจัยตามข้อ 7)....เกษตรศาสตร์และชีววิทยา.....

ประเภทการออกแบบ (ผลงานสร้างสรรค์ โปรดระบุเทคนิค ขนาด วัสดุ)...การทดลองทางเทคโนโลยีชีวภาพอาหาร.....

4. จำนวนงบประมาณ.....400,000..... บาท

ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย/สร้างสรรค์ผลงานตั้งแต่ปี พ.ศ...2554.... ถึงปี พ.ศ....2555....

5. ชื่อแหล่งทุน / แหล่งสนับสนุน

□ ในประเทศ

□ ภาควิชา □□ คณะวิชา □□ มหาวิทยาลัย □□ อื่นๆ (โปรดระบุ).....

□ ภายนอกมหาวิทยาลัย (โปรดระบุ).....วช.....

6. ร้อยละของงานวิจัยที่ได้ดำเนินการแล้ว.....10.....

เรื่องที่ 2

1. ชื่อเรื่อง (ภาษาไทย)....การผลิตพรีไบโอติกกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์.....

(ภาษาอังกฤษ)....Galactooligosaccharide production.....

2. ลักษณะโครงการ /ผลงาน □ ส่วนบุคคล/เดี่ยว หรือ

□ คณะบุคคล/กลุ่ม □ เป็นหัวหน้า □ เป็นผู้ร่วม

3. สาขาวิชา (ผลงานวิจัย โปรดระบุสาขาการวิจัยตามข้อ 7)....เกษตรศาสตร์และชีววิทยา.....

ประเภทการออกแบบ (ผลงานสร้างสรรค์ โปรดระบุเทคนิค ขนาด วัสดุ)...การทดลองทางเทคโนโลยีชีวภาพอาหาร.....

4. จำนวนงบประมาณ.....980,000..... บาท
   ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย/สร้างสรรค์ผลงานตั้งแต่ปี พ.ศ...2554.... ถึงปี พ.ศ....2556....
5. ชื่อแหล่งทุน / แหล่งสนับสนุน
   ☐ ในประเทศ
   ☐ ภาควิชา ☐☐ คณะวิชา ☐☐ มหาวิทยาลัย ☐☐ อื่นๆ (โปรดระบุ).....
   ☐ ภายนอกมหาวิทยาลัย (โปรดระบุ).....สกอ.....
   ☐ ต่างประเทศ (โปรดระบุ).....
6. ร้อยละของงานวิจัยที่ได้ดำเนินการแล้ว.....60.....

เรื่องที่ 3

1. ชื่อเรื่อง (ภาษาไทย)....การผลิตฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ด้วยเอนไซม์ฟรุกโตซิลทรานสเฟอเรสจากแก่นตะวัน
   (ภาษาอังกฤษ)....Fructooligosaccharide production by fructosyltransferase
2. ลักษณะโครงการ /ผลงาน ☐ ส่วนบุคคล/เดี่ยว หรือ
   ☐ คณะบุคคล/กลุ่ม ☐ เป็นหัวหน้า ☐ เป็นผู้ร่วม
3. สาขาวิชา (ผลงานวิจัย โปรดระบุสาขาการวิจัยตามข้อ 7)....เกษตรศาสตร์และชีววิทยา
   ประเภทการออกแบบ (ผลงานสร้างสรรค์ โปรดระบุเทคนิค ขนาด วัสดุ)...การทดลองทางเทคโนโลยีชีวภาพอาหาร
4. จำนวนงบประมาณ.....850,000..... บาท
   ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย/สร้างสรรค์ผลงานตั้งแต่ปี พ.ศ...2554.... ถึงปี พ.ศ....2556
5. ชื่อแหล่งทุน / แหล่งสนับสนุน
   ☐ ในประเทศ
   ☐ ภาควิชา ☐☐ คณะวิชา ☐☐ มหาวิทยาลัย ☐☐ อื่นๆ (โปรดระบุ).....
   ☐ ภายนอกมหาวิทยาลัย (โปรดระบุ).....สกอ
   ☐ ต่างประเทศ (โปรดระบุ)
6. ร้อยละของงานวิจัยที่ได้ดำเนินการแล้ว.....10.....

เรื่องที่ 4

1. ชื่อเรื่อง (ภาษาไทย)....การพัฒนาผลิตภัณฑ์ปลาทูน่าบรรจุกระป๋องเสริมพรีไบโอติก
   (ภาษาอังกฤษ)....Development of canned tuna supplemented prebiotic.....
2. ลักษณะโครงการ /ผลงาน ☐ ส่วนบุคคล/เดี่ยว หรือ
   ☐ คณะบุคคล/กลุ่ม ☐ เป็นหัวหน้า ☐ เป็นผู้ร่วม
3. สาขาวิชา (ผลงานวิจัย โปรดระบุสาขาการวิจัยตามข้อ 7)....เกษตรศาสตร์และชีววิทยา....
   ประเภทการออกแบบ (ผลงานสร้างสรรค์ โปรดระบุเทคนิค ขนาด วัสดุ)...การทดลองทางเทคโนโลยีชีวภาพอาหาร.....

4. จำนวนงบประมาณ.....1,200,000..... บาท
   ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย/สร้างสรรค์ผลงานตั้งแต่ปี พ.ศ...2554.... ถึงปี พ.ศ....2556..
5. ชื่อแหล่งทุน / แหล่งสนับสนุน
   - ☐ ในประเทศ
   - ☐ ภาควิชา ☐☐ คณะวิชา ☐☐ มหาวิทยาลัย ☐☐ อื่นๆ (โปรดระบุ).....
   - ☐ ภายนอกมหาวิทยาลัย (โปรดระบุ).....สกอ.....
   - ☐ ต่างประเทศ (โปรดระบุ).....
6. ร้อยละของงานวิจัยที่ได้ดำเนินการแล้ว.....40.....