

บทนำ

ที่มาและความสำคัญ

จากการที่ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรมซึ่งสามารถเพาะปลูกพืชผักและผลไม้มานานานชนิดและมีผลผลิตออกสู่ตลาดเป็นจำนวนมาก และเนื่องจากผักและผลไม้สดที่มีปริมาณมากเกินความต้องการของตลาด ผู้บริโภคทั้งภายในประเทศและตลาดต่างประเทศส่งผลให้ราคาผลผลิตที่ออกสู่ท้องตลาดนั้นมีราคาต่ำและประสบกับปัญหาสินค้าเน่าเสียได้เนื่องจากเป็นสินค้าที่เก็บไว้ได้ไม่นาน ดังนั้นเพื่อเป็นการสร้างมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์ที่ต้องสูญเสียไปโดยเปล่าประโยชน์ จึงจำเป็นต้องมีการแปรรูปสินค้าผักและผลไม้ที่เกินความต้องการของตลาดเพื่อเก็บไว้บริโภคนอกฤดูกาล ซึ่งการแปรรูปโดยการนำผลไม้ผ่านกระบวนการอบแห้งและแช่อิ่มเป็นวิธีการแปรรูปชนิดหนึ่งซึ่งเป็นที่นิยมกันมากและสามารถนำมาผลิตในระดับอุตสาหกรรมได้ การแช่อิ่มเป็นการถนอมอาหารโดยใช้น้ำตาลทำให้ผลไม้มีความชื้นลดลงก่อนอบแห้ง เป็นการช่วยลดระยะเวลาการอบแห้ง ซึ่งทำได้โดยการต้มผลไม้ นาน 10 นาที แล้วแช่ผลไม้ลงในน้ำเชื่อมที่มีความหวาน 30 องศาบริกซ์ เป็นเวลา 1 คืน แล้วเพิ่มความเข้มข้นของน้ำเชื่อมเป็น 40, 50, 60, องศาบริกซ์ ตามลำดับ จากนั้นจึงนำผลไม้แช่อิ่มที่ได้ไปอบแห้ง เป็นการช่วยร่นระยะเวลาที่ใช้ในการอบแห้ง ซึ่งน้ำเชื่อมที่ผ่านการแช่แล้ว ซึ่งเรียกว่า spent osmotic sugar (Aachary และ Prapulla, 2009) จะมีความเข้มข้นของน้ำตาลลดต่ำลง เนื่องจากน้ำในผลไม้ที่แพร่ผ่านออกมา ซึ่งน้ำเชื่อมนี้อาจมีการนำกลับไปใช้ใหม่ได้โดยการเติมน้ำตาลเพิ่มลงไปเพื่อให้มีความเข้มข้นตามต้องการ แต่ก็ไม่สามารถนำน้ำเชื่อมนี้กลับไปใช้ใหม่ได้เรื่อยๆ เนื่องจากน้ำเชื่อมอาจเกิดการเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ได้ (Hope และ Vitale, 1972) นอกจากนี้ น้ำที่ออกจากผลไม้แช่อิ่มจะประกอบด้วยสารที่สามารถละลายน้ำได้ เช่น น้ำตาล ไขมัน pigments กรดอินทรีย์ และเกลือแร่ต่างๆ ซึ่งจะส่งผลให้คุณสมบัติทางด้านรสชาติของน้ำเชื่อมและด้านการเป็นสาร osmotic ที่ใช้ในการแช่อิ่มลดลงไปในแต่ละครั้งของการใช้ซ้ำ ซึ่งน้ำเชื่อมนี้มักเป็นปัญหาที่จะต้องทำการกำจัด ทั้งที่ในน้ำเชื่อมยังคงมีสารอาหารที่มีประโยชน์อยู่ เช่น พวกวิตามินที่ละลายน้ำได้ต่างๆ ดังนั้นหากเราสามารถเพิ่มคุณสมบัติของน้ำเชื่อมชนิดนี้ให้มากขึ้นจะส่งผลให้มูลค่าของผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้นเช่นกัน

สำหรับงานวิจัยนี้ผู้วิจัยสนใจที่จะแปรรูปน้ำตาลที่เหลือจากการแช่อิ่มผลไม้ให้เป็นผลิตภัณฑ์ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ เนื่องจากฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS) เป็นสารฟรุคโตโอลิโกที่ผลิตได้จากปฏิกิริยา transfructosylation ของน้ำตาลซูโครส และเนื่องจากในปัจจุบันไม่มีเอนไซม์ทางการค้าสำหรับการผลิต FOS โดยตรง แต่มีรายงานวิจัยว่าเอนไซม์เพคตินเนสทางการค้ามีกิจกรรมของเอนไซม์ fructosyltransferase ประกอบด้วย (Hang and Woodams, 1995) ดังนั้นหากมีการนำน้ำเชื่อมที่ได้จากการแช่ผลไม้แช่อิ่มมาทำการเติมเอนไซม์เพคตินเนส สามารถที่จะได้สารฟรุคโตโอลิโก FOS เกิดขึ้นร่วมกับวิตามินหรือสารอาหารที่ละลายน้ำได้จากผลไม้ต่างๆ ดังนั้นผู้วิจัยจึงเห็นความเป็นไปได้ในการใช้น้ำตาลซูโครสเป็นสารตั้งต้นในการเปลี่ยนเป็นสารฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ โดยในการทดลองผู้วิจัยจะทำการศึกษา kinetics การทำงานของเอนไซม์ fructosyltransferase ทั้งในสถานะที่ใช้น้ำตาลซูโครสบริสุทธิ์เป็นสารตั้งต้น สถานะน้ำตาลซูโครสบริสุทธิ์พร้อมทั้งมีกลูโคสและฟรุคโตส เพื่อทำให้ได้ข้อมูลพื้นฐานของกลไกการเกิด FOS เนื่องจากงานวิจัยที่ผ่านมาไม่มีการศึกษา kinetics ของ transfructosylation ในระบบน้ำตาลผสม ซึ่งมักเป็นน้ำตาลที่เกิดขึ้นได้ในระหว่างการผลิต FOS และเป็นน้ำตาลที่พบได้ในผลไม้ หลังจากนั้นจึงทำการประยุกต์ใช้เอนไซม์ชนิดนี้ในการเพิ่มสารฟรุคโตโอลิโก FOS ในผลิตภัณฑ์น้ำเชื่อมที่เหลือจากการแช่อิ่ม ซึ่งจากงานวิจัยนี้คาดว่าจะได้

เทคโนโลยีในการผลิตผลิตภัณฑ์ประเภทไซรัปที่มีฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์สูง เป็นการเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์ เทคโนโลยีที่ได้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในทางอุตสาหกรรมต่อไปได้ และสามารถที่จะต่อยอดไปใช้ในการผลิต น้ำผลไม้ชนิดอื่นต่อไป นอกจากนี้ในแง่วิชาการก็จะช่วยให้มีความเข้าใจกลไกการทำงานของเอนไซม์ fructosyltransferase ได้มากขึ้น โดยองค์ความรู้ใหม่ที่คาดว่าจะได้จากงานวิจัยชิ้นนี้ คือ จลนพลศาสตร์การทำงานของเอนไซม์ชนิดนี้ซึ่งทำให้ทราบถึงผลของชนิดของน้ำตาลต่างๆ ในระบบที่มีต่อการทำงานและการผลิต FOS รวมถึงการทำงานของเอนไซม์ในน้ำเชื่อมที่เหลือที่มีองค์ประกอบซับซ้อนมากขึ้น

วัตถุประสงค์

วัตถุประสงค์โดยรวมของโครงการวิจัยนี้ คือ เพื่อให้ได้เทคโนโลยีในการผลิตไซรัปที่มีฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์สูงจากน้ำเชื่อมที่เหลือจากการแช่ผลไม้ และได้องค์ความรู้ใหม่เกี่ยวกับการทำงานของเอนไซม์ fructosyltransferase ในระบบที่มีสับสเตรทที่มีองค์ประกอบซับซ้อน ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็นวัตถุประสงค์ย่อยได้ดังนี้

1. ศึกษาจลนพลศาสตร์ของเอนไซม์ fructosyltransferase ในน้ำตาลชนิดต่างๆ ได้แก่ น้ำตาลซูโครสบริสุทธิ์ น้ำตาลผสมซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส ซูโครส และฟรุกโตส และในผลิตภัณฑ์น้ำเชื่อมที่ได้จากการแช่ผลไม้
2. ศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตไซรัปที่มี FOS สูงจากน้ำเชื่อมที่เหลือจากการแช่ผลไม้
3. ศึกษาคุณสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติกของของไซรัปที่ผลิตได้

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. เพิ่มมูลค่าน้ำเชื่อมที่เหลือจากการแช่ผลไม้
2. หน่วยงานภาคเอกชนสามารถนำองค์ความรู้นี้ไปพัฒนาต่อยอดเพื่อผลิตน้ำตาล FOS ในเชิงพาณิชย์ได้ อันเป็นการช่วยลดการนำเข้าน้ำตาลดังกล่าวจากต่างประเทศ
3. ได้องค์ความรู้ใหม่ในการผลิตน้ำตาล FOS
4. สามารถนำผลงานวิจัยมาจดอนุสิทธิบัตรเพื่อต่อยอดในทางธุรกิจได้

บทที่ 1

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

โพรไบโอติก (Probiotics)

โพรไบโอติก (probiotics) เป็นภาษากรีกที่ แปลว่า “for life” โดย Parker เป็นคนแรกที่ให้นิยามของคำว่าโพรไบโอติกในเชิงเดียวกับที่ใช้ในทุกวันนี้โดยได้ให้นิยามว่า “โพรไบโอติกเป็นสิ่งมีชีวิตหรือสารชนิดที่ก่อให้เกิดสมดุลของจุลินทรีย์ขึ้นภายในทางเดินอาหาร” (Schrezenmer and Vrese ,2001) จึงอาจตีความรวมไปได้ถึงสารปฏิชีวนะต่อมาในปี 1989 Fuller ก็ได้ปรับปรุงนิยามนี้เสียใหม่กล่าวคือ “โพรไบโอติก คือ จุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่เสริมในอาหารสัตว์เพื่อก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสัตว์นั้นๆโดยปรับปรุงสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้” ส่วน Havenaar และคณะ (1992) ก็ได้นิยามคำว่าโพรไบโอติกไว้เช่นกันโดยกล่าวว่า “โพรไบโอติกคือจุลินทรีย์เดี่ยวหรือผสมก็ได้ที่มีชีวิตที่เมื่อเสริมให้คนหรือสัตว์แล้วก่อให้เกิดประโยชน์ต่อคนหรือสัตว์โดยปรับปรุงคุณสมบัติของจุลินทรีย์เจ้าถิ่น” หลังจากนั้นก็มีผู้ปรับปรุงนิยามเพิ่มเติมเรื่อยมาแต่อย่างไรก็ตาม

โดยรวมแล้วอาจกล่าวได้ว่าโปรไบโอติกคือจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพของคนและสัตว์นั่นเอง ตัวอย่างของจุลินทรีย์โปรไบโอติกแสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ตัวอย่างของจุลินทรีย์ที่ได้รับการยอมรับว่าเป็นโปรไบโอติก

<i>Lactobacillus</i> sp.	<i>Bifidobacterium</i> sp.	Lactic acid bacteria อื่นๆ	Non-lactic acid bacteria
<i>L. acidophilus</i> <i>L. amylovorus</i> <i>L. casei</i> <i>L. delbrueckii</i> <i>L. paracasei</i> <i>L. plantarum</i> <i>L. rhamnosus</i>	<i>B. adolescentis</i> <i>B. animalis</i> <i>B. bifidum</i> <i>B. breve</i> <i>B. infantis</i> <i>B. lactis</i> <i>B. longum</i>	<i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterococcus faecium</i> <i>Lactococcus lactis</i> <i>Leuconostoc mesenteroides</i> <i>Pediococcus acidilactici</i> <i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Escherichia coli</i> strain nissle

ที่มา: Holzapfel *et al.*, 2001.

ประโยชน์ของการใช้โปรไบโอติกต่อคนและสัตว์มีมากมายนอกเหนือจากการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogens) ในทางเดินอาหารอันเป็นสาเหตุของอาการท้องร่วงแล้วยังช่วยลดระดับของลิพิดในซีรัมอีกด้วยเช่น *L. acidophilus* สามารถลดระดับโคเลสเตอรอลและลดอัตราการดูดซึมโคเลสเตอรอล micelles ในลำไส้ (Mazza, 1998) โปรไบโอติกบางสายพันธุ์ยังช่วยกำจัดสารก่อมะเร็งและ secondary bile salt ซึ่งจะก่อให้เกิดมะเร็งในลำไส้ได้ (Marteau *et al.*, 2001) Rastall และคณะ (2000) ก็รายงานอีกว่าโปรไบโอติกช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันชนิดไม่จำเพาะเจาะจงให้กับร่างกายด้วยและที่เห็นได้ชัดที่สุดอีกประการหนึ่งคือโปรไบโอติกจะช่วยกำจัดน้ำตาลแลคโตสในน้ำนมที่ทำให้บางคนเกิดอาการแพ้ น้ำนม (Wongputtisin, 2003)

พรีไบโอติก (Prebiotics)

คำนี้ได้ถูกเสนอขึ้นมาเป็นครั้งแรกโดย Gibson และ Roberfroid (1995) โดยให้นิยามว่า “พรีไบโอติกคือส่วนประกอบของอาหารที่ไม่สามารถถูกย่อยสลายโดยทางเดินอาหารของคนและสัตว์แต่ให้คุณประโยชน์แก่คนและสัตว์โดยการกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์โปรไบโอติกในทางเดินอาหารอย่างเฉพาะเจาะจง” ดังนั้นคุณสมบัติของสารพรีไบโอติกจึงควรมีดังต่อไปนี้

- ไม่ถูกย่อยหรือดูดซึมในทางเดินอาหาร
- เป็นสารอาหารที่กระตุ้นการเจริญเติบโตของโปรไบโอติกที่เฉพาะเจาะจง
- สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของจุลินทรีย์อันจะก่อให้เกิดสุขภาพที่ดี

พรีไบโอติกสามารถเป็นได้ทั้งเปปไทด์สายสั้นๆ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต หรือแม้กระทั่งลิพิดแต่สารกลุ่มที่ได้รับความนิยมและมีการศึกษามากที่สุดคือโอลิโกแซคคาไรด์ที่ย่อยไม่ได้ (non-digestible

oligosaccharides; NDOs) (Wongputtisin, 2003) มีรายงานว่า การเสริม NDOs ในอาหารคนจะช่วยให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพคือช่วยกระตุ้นการเจริญของโปรไบโอติกในลำไส้ เช่น การเสริม fructooligosaccharides (FOS) ในอาหารจะช่วยให้การเจริญของ *Bifidobacterium* sp. ดีขึ้นส่งผลให้ช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค เช่น *Clostridium* sp. (La Blay *et al.*, 1999; Kullen *et al.*, 1998; Bouhnik *et al.*, 1998 ; Campbell *et al.*, 1996) น้ำตาล FOS และอนุพันธ์ของซูโครสไม่ก่อให้เกิดฟันผุ ช่วยเพิ่มระดับของ short chain fatty acid (SCFA) เพิ่มการยืด-หดตัวของลำไส้ (peristalsis) (Mazza, 1998) NDOs ยังช่วยลดระดับไขมันในเลือดจึงช่วยลดโอกาสเกิดโรคหัวใจดังเช่นจากการศึกษาในชาย 12 คนที่มีอาการ hypercholesterolemia โดยเสริม inulin 20 กรัมในไอศกรีมให้กินทุกวันเป็นเวลา 3 สัปดาห์พบว่าระดับของไตรกลีเซอไรด์และคอเรสเตอรอลลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (Causey *et al.*, 2000)

Cummings และคณะ (2001) กล่าวเกี่ยวกับพรีไบโอติกไว้ว่าที่มีการศึกษากันมาก คือ สารกลุ่ม short – chain carbohydrates (SCCs) ที่ไม่ถูกย่อยโดยเอนไซม์ในมนุษย์หรือบางครั้งก็เรียกสารกลุ่มนี้ว่า non-digestible oligosaccharide (NDOs) ยกตัวอย่างเช่น Fructooligosaccharide Isomaltoligosaccharide Xylooligosaccharide Polydextrose เป็นต้น ซึ่งมี Degree of Polymerization (DP) ประมาณ 2-10 แต่พรีไบโอติกที่มีในท้องตลาดนั้นพบว่ามี NDOs เป็นองค์ประกอบน้อย เช่น Xylooligosaccharide ซึ่งผลิตโดยบริษัท Suntory ประเทศญี่ปุ่นประกอบด้วยโอลิโกแซคคาไรด์ 29.4 % แป้ง 41 % และน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว 15 % เป็นต้น จึงเป็นอุปสรรคสำคัญที่ใช้ศึกษาผลของพรีไบโอติกในคนและสัตว์

โอลิโกแซคคาไรด์สามารถได้มาโดยหลายวิธีเช่น (1) การสกัดจากพืชเช่น FOS α -galactooligosaccharide (2) ใช้วิธีการย่อยโพลีแซคคาไรด์ด้วยเอนไซม์ (Controlled enzymatic hydrolysis) สารโอลิโกแซคคาไรด์ดังกล่าวเช่น FOS Xylooligosaccharides (XOS) (3) วิธีการสังเคราะห์ด้วยเอนไซม์ (Enzymatic synthesis) โดยเอนไซม์กลุ่ม glycosyl transferase โอลิโกแซคคาไรด์ดังกล่าวเช่น FOS α -glucooligosaccharides β -glucooligosaccharides และ β -galactooligosaccharide เป็นต้น

นอกจากนี้ยังมีรายงานวิจัยที่ยืนยันว่าสารพรีไบโอติกสามารถเร่งการเจริญของจุลินทรีย์โปรไบโอติกได้ เช่นงานของ Gibson และคณะ (1995) ได้ศึกษาผลของการบริโภค FOS ที่มีต่อจำนวนจุลินทรีย์ภายในลำไส้ ทำการทดลองในอาสาสมัครผู้ใหญ่โดยให้บริโภค FOS หรืออินูลิน 15 กรัม/วัน เป็นเวลา 15 วัน จากนั้นวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์หลักๆที่พบในอุจจาระผลปรากฏว่า FOS และอินูลินสามารถช่วยเพิ่มจำนวนของเชื้อไบฟิโดแบคทีเรียได้อย่างมีนัยสำคัญและยังช่วยลดจำนวนของเชื้อ *Clostridium* ลงได้ด้วย ในขณะที่ Bouhnik และคณะ (1999) ก็ได้รายงานผลเหมือนกันและยังรายงานถึงปริมาณที่น้อยที่สุดของ FOS (threshold dose) ที่มนุษย์บริโภคเข้าไปแต่ละวันแล้วทำให้จำนวนไบฟิโดแบคทีเรียในลำไส้เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญว่าควรบริโภค FOS ในปริมาณ 10 กรัม/วันจึงจะสามารถตรวจพบการเพิ่มจำนวนของไบฟิโดแบคทีเรีย

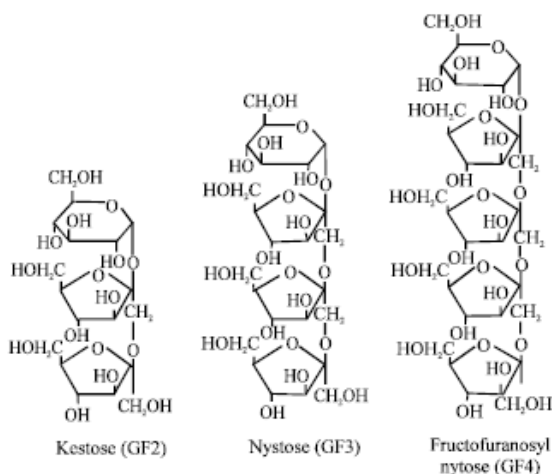
จากรายงานวิจัยข้างต้นพบว่าการจะเพิ่มจำนวนของไบฟิโดแบคทีเรียหรือจุลินทรีย์โปรไบโอติกอื่นๆซึ่งก่อประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์และสัตว์นั้นสามารถทำได้โดยการบริโภคสารพรีไบโอติกเพื่อเร่งการเจริญของโปรไบโอติกแต่การบริโภคจุลินทรีย์โปรไบโอติกโดยการรับประทานเข้าไปโดยตรงนั้นโอกาสรอดชีวิตของโปรไบโอติกมีค่อนข้างน้อยเนื่องจากสภาวะรุนแรงในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก ดังนั้นการรับประทานสารพรีไบโอติกเข้าไปเพื่อช่วยเร่งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์โปรไบโอติกที่มีอยู่ในลำไส้อยู่แล้วให้แข็งแรงขึ้นจึงน่าจะก่อให้เกิดประโยชน์มากกว่าการบริโภคจุลินทรีย์โปรไบโอติกโดยตรง

น้ำตาลฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Fructooligosaccharide; FOS)

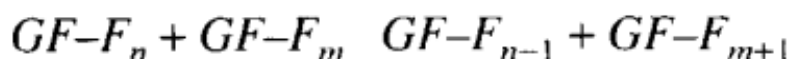
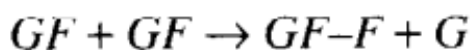
น้ำตาล FOS เป็นน้ำตาลชนิดโอลิโกแซคคาไรด์ที่ประกอบไปด้วยหน่วยของน้ำตาล D-fructose เชื่อมต่อกันอยู่ด้วยพันธะเบต้า-(2, 1) และที่ส่วนปลายจะปิดท้ายด้วยน้ำตาล D-glucose ชนิดของน้ำตาล FOS จะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับจำนวนหน่วยของ D-fructose ในโมเลกุลและมีชื่อเรียกต่างกันไปตามชนิดและลักษณะโครงสร้างของน้ำตาล FOS แสดงดังภาพที่ 2 กรณีของน้ำตาล kestose จะมีค่า specific rotation และค่า melting temperature เท่ากับ +28.5° และ 199-200 °C ตามลำดับ (Yun, 1996) น้ำตาล FOS เป็นน้ำตาลแคลอรีต่ำไม่เป็นสารก่อมะเร็งช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในทางเดินอาหาร เช่น *Bifidobacteria* ช่วยลดคอเลสเตอรอล ฟอสโฟลิปิดและไตรกลีเซอไรด์ในเลือดได้ (Kim *et al.*, 1998; Fernandez *et al.*, 2007) ซึ่งล้วนเป็นคุณสมบัติที่ดีของสารพรีไบโอติก

ในธรรมชาติพบน้ำตาล FOS ได้ในพืชชั้นสูงทั่วไป เช่น หอมหัวใหญ่ กระเทียม อาติชอก หน่อไม้ฝรั่ง กล้วย มะเขือเทศ เป็นต้น จากการสังเคราะห์โดยเอนไซม์ β -D-fructosyltransferase (FTF) (Yun, 1996; Maiorano *et al.*, 2008) แต่ในทางการค้าจะมีการสังเคราะห์น้ำตาล FOS จากซูโครสโดยใช้เอนไซม์ FTF จากจุลินทรีย์ (Maiorano *et al.*, 2008) กลไกการสังเคราะห์ FOS จากน้ำตาลซูโครสนั้นพบว่าเริ่มต้นจะมีการสลายพันธะระหว่างโมเลกุลน้ำตาลกลูโคสและฟรุคโตสออกจากกันจากนั้นย้ายฟรุคโตส (donor) ไปยังซูโครส (acceptor) หรือ FOS โมเลกุลอื่นๆ ดังแสดงในภาพที่ 1 และ 2

Song และ Jacques (1999) ได้ศึกษาถึงกลไกการทำงานของเอนไซม์ FTases จาก *Streptococcus salivarius* ATCC 25975 พบว่าในระบบน้ำตาลซูโครสเดี่ยวๆ FTases สามารถที่จะย่อยน้ำตาลซูโครสและผลิต FOS โดยกลไกการเกิดเป็นน้ำตาลแต่ละตัวขึ้นอยู่กับตัวรับในปฏิกิริยา เมื่อน้ำเป็นตัวรับ ฟรุคโตสอิสระจะเกิดขึ้นและอยู่เป็นอิสระในปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส อย่างไรก็ตาม ถ้ามีน้ำตาลชนิดอื่นอยู่ในสารละลายและทำหน้าที่เป็นตัวรับ fructooligosaccharide จะเกิดขึ้นโดยอาศัย transferase activity เอนไซม์จะย้ายโมเลกุลของฟรุคโตสไปยัง nucleophile acceptor ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล ถ้าย้ายให้กับน้ำผลิตภัณฑ์จะเป็นฟรุคโตส เมื่อย้ายไปให้กับ monosaccharide ผลิตภัณฑ์จะเป็น disaccharide เมื่อย้ายไปให้กับ disaccharide ผลิตภัณฑ์จะเป็น trisaccharide อย่างนี้เรื่อยๆ จนได้เป็น oligosaccharide ดังนั้น จึงเรียกว่า fructooligosaccharide ซึ่งจะกลับมาเป็นสับสเตรทของเอนไซม์ FTases และถูกไฮโดรไลซ์อย่างช้า ๆ โดยทั่วไปปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสจะเกิดขึ้นได้ดีเมื่อความเข้มข้นของน้ำสูงทำให้การผลิต FOS เกิดขึ้นได้ต่ำ การผลิต FOS สามารถเพิ่มขึ้นได้โดยการลดปริมาณน้ำและ/หรือการใช้ความเข้มข้นของตัวรับที่สูงขึ้น (Mahoney, R., R., 1998) นอกจากนี้การเติมน้ำตาลกลูโคสลงไปในระบบ สามารถเกิดการแลกเปลี่ยนระหว่างโมเลกุลได้ (exchange reaction) โดยหมู่ฟรุคโตสที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสสามารถที่จะไปจับกับโมเลกุลของกลูโคสที่เติมลงไป (Song and Jacques, 1999) ซึ่งจะส่งผลต่อการผลิต FOS ได้ นอกจากนี้ น้ำตาลกลูโคสและฟรุคโตสที่เกิดขึ้นสามารถเป็นตัวยับยั้งของปฏิกิริยา transferase ได้



ภาพที่ 1 ลักษณะโครงสร้างทางเคมีของน้ำตาล FOS ชนิดต่างๆ
ที่มา: Chow, 2002.



ภาพที่ 2 กลไกการสังเคราะห์น้ำตาล FOS จากน้ำตาลซูโครส
ที่มา: Yun, 1996.

จากรายงานของ Hang และคณะ (1995) พบว่าเอนไซม์ Pectinex ultra sp-L ที่ได้จาก *Aspergillus aculeatus* ประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิดรวมถึง Pectinase Cellulase β -galactosidase และ FTase ซึ่งเอนไซม์นี้สามารถใช้ในการผลิตฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากซูโครส เนื่องจากมี FTase ที่สูง ประสิทธิภาพของเอนไซม์นี้สามารถเปลี่ยนซูโครส 450 g/L เป็น ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 272 g/L ซึ่งประกอบด้วย 1-kestose 224 g/L และ nystose 48 g/L อย่างไรก็ตาม จากปฏิกิริยาจะได้กลูโคสเกิดขึ้น ซึ่งกลูโคสจะไปเป็นตัวยับยั้งในการผลิตฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ การที่จะเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิต FOS นั้นสามารถทำได้โดยการกำจัดกลูโคสออก ในปี 1996 Hang และคณะ ได้ศึกษาหาสภาวะที่มีผลต่อการสังเคราะห์ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากน้ำเชื่อม (ซูโครส) โดยใช้เอนไซม์ Pectinex ultra sp-L โดยได้สภาวะที่เหมาะสม คือ 0.05 mol/L ของ Sodium acetate buffer pH 5.6 ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

Ghazi และคณะ (2006) ได้ศึกษาการใช้ Pectinex Ultra Sp-L ในการผลิต FOS จาก beet sugar syrup และ กากน้ำตาลเพื่อใช้เป็นอาหารเสริมสำหรับสัตว์ พบว่าปริมาณ FOS สูงสุดที่ผลิตได้จาก sugar syrup และกากน้ำตาลเท่ากับ 388 mg/ml (56% ของปริมาณน้ำตาลทั้งหมด) และ 235 mg/ml (49% ของปริมาณน้ำตาลทั้งหมด) ตามลำดับ

การเชื่อมผลไม้

การถนอมอาหารโดยวิธีการทำแห้งมีข้อได้เปรียบวิธีการถนอมอาหารวิธีอื่น คือ ผลิตภัณฑ์มีน้ำหนักเบากว่าอาหารสดหรือแช่แข็งหรือบรรจุกระป๋อง ต้นทุนการผลิตถูกกว่า ใช้แรงงาน ภาชนะบรรจุ และเครื่องจักรน้อยกว่า สามารถเก็บรักษาและขนส่งได้สะดวกไม่เปลืองพื้นที่ ผลไม้ส่วนใหญ่จะมีปริมาณของแข็งที่

ละลายน้ำประมาณ 10-20 องศาบริกซ์ เมื่อนำไปอบแห้งจะมีความแข็งเหนียวไม่เหมาะต่อการบริโภค วิธีการหนึ่งที่ช่วยให้ผลไม้อบแห้งมีคุณภาพดีขึ้น คือการแช่อิ่มผลไม้ แล้วจึงนำไปอบแห้ง จะทำให้ผลไม้มีความนุ่มหวานพอเหมาะ เนื้อสัมผัสไม่เหนียวทำให้ผู้บริโภคยอมรับ การแช่อิ่มเป็นการถนอมอาหารโดยใช้น้ำตาลทำให้ผลไม้มีความชื้นลดลงก่อนอบแห้ง เป็นการช่วยลดระยะเวลาการอบแห้ง ซึ่งทำได้โดยการต้มผลไม้นาน 10 นาที แล้วแช่ผลไม้ลงในน้ำเชื่อมที่มีความหวาน 30 องศาบริกซ์ เป็นเวลา 1 คืน แล้วเพิ่มความเข้มข้นของน้ำเชื่อมเป็น 40, 50, 60, องศาบริกซ์ ตามลำดับ จากนั้นจึงนำผลไม้แช่อิ่มที่ได้ไปอบแห้ง เป็นการช่วยร่นระยะเวลาที่ใช้ในการอบแห้ง ซึ่งน้ำเชื่อมที่ผ่านการแช่ผลไม้แล้ว ซึ่งเรียกว่า spent osmotic sugar จะมีความเข้มข้นของน้ำตาลลดต่ำลง เนื่องจากน้ำในผลไม้ที่แพร่ผ่านออกมา ซึ่งน้ำเชื่อมนี้อาจมีการนำกลับไปใช้ใหม่ได้ โดยการเติมน้ำตาลเพิ่มลงไปเพื่อให้มีความเข้มข้นตามต้องการ แต่ก็ไม่สามารถนำน้ำเชื่อมนี้กลับไปใช้ใหม่ได้เรื่อยๆ เนื่องจากน้ำเชื่อมอาจเกิดการเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ได้ (Hope และ Vitale, 1972) นอกจากนี้ น้ำที่ออกจากผลไม้แช่อิ่มจะประกอบด้วยสารที่สามารถละลายน้ำได้ เช่น น้ำตาล วิตามิน pigments กรดอินทรีย์ และเกลือแร่ต่างๆ ซึ่งจะส่งผลให้คุณสมบัติทางด้านรสชาติของน้ำเชื่อมและด้านการเป็นสาร osmotic ที่ใช้ในการแช่อิ่มลดลงไปในแต่ละครั้งของการใช้ซ้ำ และยังช่วยลดปริมาณของน้ำเชื่อมที่เดิมเป็นของเสียที่ต้องกำจัดให้อยู่ในรูปของอาหารเสริมสุขภาพ เป็นการช่วยลดของเสียที่เกิดขึ้นในอุตสาหกรรม

บทที่ 2
อุปกรณ์และวิธีการดำเนินการวิจัย

1. อุปกรณ์และสารเคมี
สารเคมี

สารเคมี	บริษัท
3,5-dinitrosalicylic acid	Sigma-Aldrich (Germany)
Agar	Himedia (India)
Beef extract	Lab M (England)
Dextrose	Lab M (England)
Di-sodium hydrogen phosphate	Univar (Australia)
Magnesium sulfate	Univar (Australia)
Manganese sulfate	Univar (Australia)
Nystose	
Pectinex™ Ultra SP-L	
Peptone	Lab M (England)
Phenol	Fluka (Germany)
Potassium dihydrogen orthophosphate	Univar (Australia)
Potassium sodium tartrate	RCI Labscan (Thailand)
Sodium acetate	QRëc (New Zealand)
Sodium hydroxide	RCI Labscan (Thailand)
Sulfuric acid	RCI Labscan (Thailand)
Tween 80	OmniPur; USA
Yeast extracts	Lab M (England)
น้ำตาลทราย	มิตรผล (Thailand)
น้ำมะม่วงแช่แข็ง	ร้านอาหาร มหาวิทยาลัยศิลปากร (Thailand)

อุปกรณ์

อุปกรณ์

บริษัท

Autoclave	Tomy (Japan)
Centrifuge	Eppendorf (Germany)
Desiccator	Nikko (Japan)
High performance liquid chromatography (HPLC)	Shimadzu (Japan)
Hot air oven	Binder (England)
Incubator	Memmert (Germany)
Laminar air flow	Isocore (Singapore)
pH-meter	Denver (Germany)
Vacume pump	Rocker (Taiwan)
Water bath	Memmert
กระดาษกรองเบอร์ 1	Whatman (USA)
เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 2 ตำแหน่ง	Sartorius (Germany)
เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง	Sartorius (Germany)

5. วิธีการดำเนินการวิจัย

2.1 ศึกษาจนผลศาสตร์การทำงานของเอนไซม์ Pectinex ultra sp-L

2.1.1 ปัจจัยที่ศึกษา

ปัจจัยที่ศึกษา คือ ชนิดและความเข้มข้นของน้ำตาลแต่ละชนิดที่มีต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยา transferase หรือ ต่อการเกิด FOS ซึ่งน้ำตาลที่ศึกษาประกอบด้วย

- น้ำตาลซูโครสบริสุทธิ์
- น้ำตาลซูโครสที่มีการเติมกลูโคสและฟรุคโตส

นำเอนไซม์มาบ่มกับน้ำตาลแต่ละชนิดในแต่ละความเข้มข้นตั้งแต่ 10-60% (w/w) ใน 25mM Sodium acetate buffer pH 5.5 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ที่ความเร็ว 225 rpm เป็นเวลา 24 ชั่วโมงเก็บตัวอย่างในแต่ละช่วงเวลา ตามวิธีของ Song และ Jacques (1999) หยุดปฏิกิริยาด้วยความร้อน 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที

2.1.2 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

การวิเคราะห์ปริมาณ FOS ที่เกิดขึ้นและน้ำตาลต่างๆที่เหลือโดยเครื่อง High performance liquid chromatography (HPLC) โดยนำสารละลายส่วนใสกรองผ่าน Nylon syring filter ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.22 ไมครอน ฉีดตัวอย่างที่ปริมาณ 10 ไมโครลิตร โดยใช้คอลัมน์ชนิดคาร์โบไฮเดรต (Phenomenex, Rezex RNM carbohydrate column 7.8x300 mm) และ mobile phase ที่ใช้ deionized distilled water ที่อัตราการไหล 0.4 มิลลิเมตร/นาที อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และตรวจวัดสารที่ออกจากคอลัมน์ด้วย Refractive index detector (Shimadzu, Japan) โดยใช้สารมาตรฐานชนิดต่างๆ คือ กลูโคส ฟรุคโตส ซูโครส คีส์โตส และนิสโตส นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์อัตราการเกิดปฏิกิริยา ค่าจลนพลศาสตร์ของการเกิด FOS ในน้ำตาลแต่ละชนิดและแต่ละความเข้มข้น

2.2 น้ำเชื่อมที่เหลือจากการหมักมะม่วง

จากร้านขายผลไม้ในมหาวิทยาลัยศิลปากร

2.3 ศึกษาองค์ประกอบเบื้องต้นของน้ำเชื่อมที่เหลือจากการหมักมะม่วง

นำตัวอย่างที่ได้จากข้อ 2.2 มาวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

- ค่าความเป็นกรด-ด่าง
- ปริมาณของแข็งทั้งหมด
- ปริมาณน้ำตาลแต่ละชนิดโดยเครื่อง High performance liquid chromatography (HPLC) โดยใช้สภาวะเช่นเดียวกับข้อ 2.1.2

2.4 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิต FOS จากน้ำเชื่อมที่เหลือจากการหมักมะม่วง

2.4.1 ปัจจัยที่ศึกษา

ปัจจัยที่ศึกษา คือ ความเข้มข้นเอนไซม์และเวลาที่เหมาะสมในการผลิต FOS โดยการใช้เอนไซม์ทางการค้า คือ Pectinex ultra sp-L ทำตามวิธีของ Kashyap และคณะ (2001) โดยการบ่มน้ำเชื่อมที่เหลือจากการหมักมะม่วงในข้อ 2.2 กับเอนไซม์ที่อุณหภูมิและ ทำทั้งแบบปรับ pH ที่เหมาะสมของเอนไซม์ และไม่ปรับ pH เก็บตัวอย่างในแต่ละช่วงเวลา หยุดปฏิกิริยาด้วยความร้อน 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาทีนำไปปั่นเหวี่ยงและกรองเอาสารละลายส่วนใส ซึ่งจะได้เป็นน้ำเชื่อมที่มี FOS สูง

ทำการเปรียบเทียบน้ำเชื่อมที่เหลือจากการหมักมะม่วงที่มีการปรับ pH และไม่ปรับ pH และนำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาวิเคราะห์ดังต่อไปนี้

2.4.2 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

- วิเคราะห์ ปริมาณ น้ำตาล แต่ละ ชนิด โดย เครื่อง High performance liquid chromatography (HPLC) โดยใช้สภาวะเช่นเดียวกับข้อ 2.1.2

2.5 การทำบริสุทธิ์ FOS ที่ผลิตได้

ทำการกำจัดน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และโมเลกุลคู่ที่เหลือในปฏิกิริยาโดยการหมักด้วย *S.cerevisiae* และนำ FOS ที่ได้ไปศึกษาขนาดโมเลกุลของ FOS

2.6 ศึกษาคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติกของ FOS ที่ผลิตได้

2.6.1 ปัจจัยที่ศึกษา

การวิเคราะห์การกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์และการยับยั้งจุลินทรีย์ที่เป็นโทษในสภาวะ in vitro (ดัดแปลงจากวิธี Fook และคณะ 2002)

2.6.2 ศึกษาผลของพรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย (Probiotics)

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยนำพรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่สังเคราะห์ได้ในข้อ 2.4 มาเป็นแหล่งคาร์บอนในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร MRS เปรียบเทียบกับอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนเป็น ซูโครส กลูโคส ฟรุคโตส และ FOS จาก meiji oligo โดยกำหนดให้อาหารทุกชุดมีปริมาณน้ำตาลรวม (Total sugar) เริ่มต้นเท่ากับอาหารสูตร MRS ที่มีกลูโคส 2% (น้ำหนักต่อปริมาตร (w/v)) เตรียม inoculums เชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ (probiotics) คือ *Lactobacillus casei* TISTR 1340 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมเชื้อ inoculums จุลินทรีย์ในปริมาณที่มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เท่ากับ 0.1 ลงในอาหาร MRS broth ปริมาตร 80 มิลลิลิตร และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ในสภาวะไร้อากาศ และทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 3 ชั่วโมงจนถึง 48 ชั่วโมง และนำไปวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ ดังต่อไปนี้

- วัดค่า pH
- วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (จากส่วนตะกอนเชื้อละลายน้ำกลั่น) และทำการคำนวณปริมาณเชื้อที่ได้ในหน่วย CFU/ml

2.6.3 ศึกษาผลของพรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่เป็นโทษต่อร่างกาย (pathogen)

ในการเลี้ยงเดี่ยวจะมีการเตรียมเชื้อ *E.coli* TISTR 708 ในอาหาร LB medium ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะไร้อากาศ ข้ามคืน จากนั้นเตรียม MRS medium ปริมาตร 80 มิลลิลิตร เติมพรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่สังเคราะห์ได้ หรือชุดควบคุม ได้แก่ ซูโครส กลูโคส ฟรุคโตส และ FOS จาก meiji oligo ที่ระดับความเข้มข้น 2% (น้ำหนักต่อปริมาตร) จากนั้นเติมเชื้อ inoculums จุลินทรีย์ในปริมาณที่มีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เท่ากับ 0.1 ลงในอาหาร MRS broth ปริมาตร 80 มิลลิลิตร และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยเก็บตัวอย่างทุกๆ 3 ชั่วโมงจนถึง 48 ชั่วโมงและนำไปวิเคราะห์พารามิเตอร์ต่างๆ ดังต่อไปนี้

- วัดค่า pH
- วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (จากส่วนตะกอนเชื้อละลายน้ำกลั่น) และทำการคำนวณปริมาณเชื้อที่ได้ในหน่วย CFU/ml

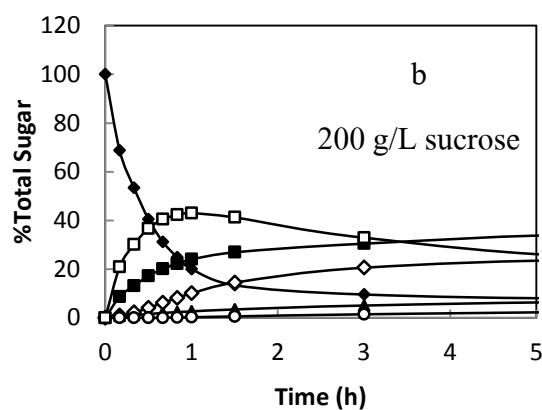
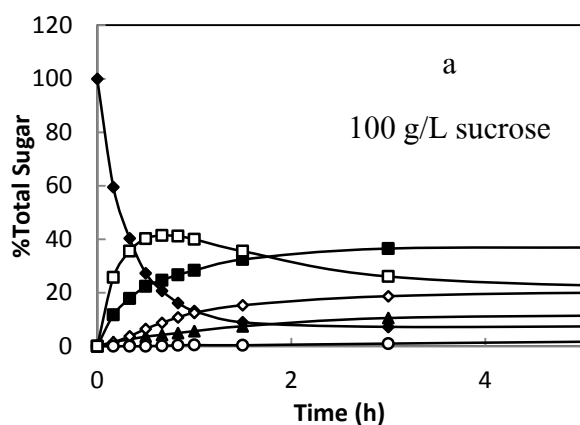
บทที่ 3

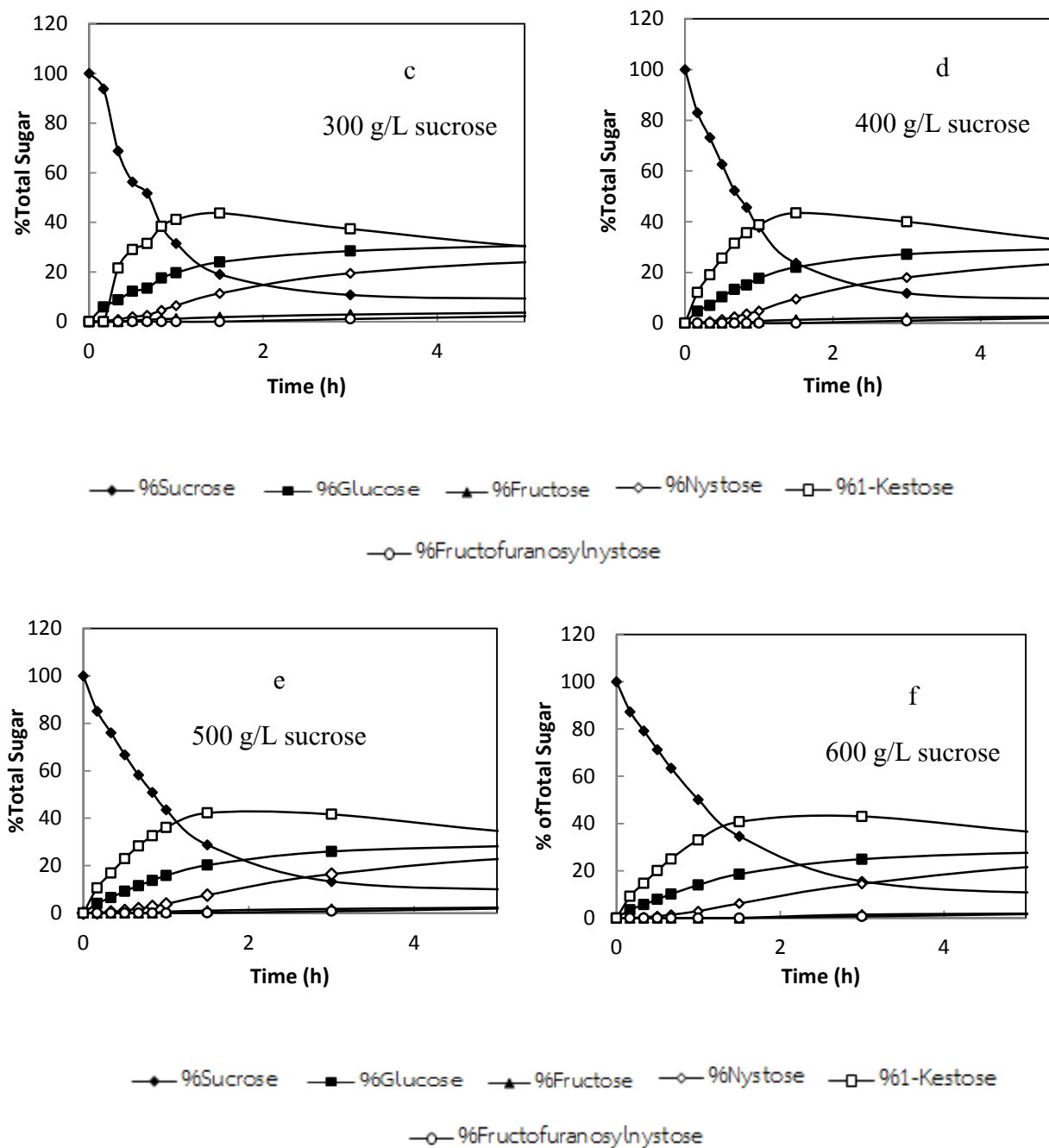
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การศึกษาการผลิต FOS ด้วยเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L

1.1 ผลของความเข้มข้นซูโครสเริ่มต้นต่อการผลิต FOS

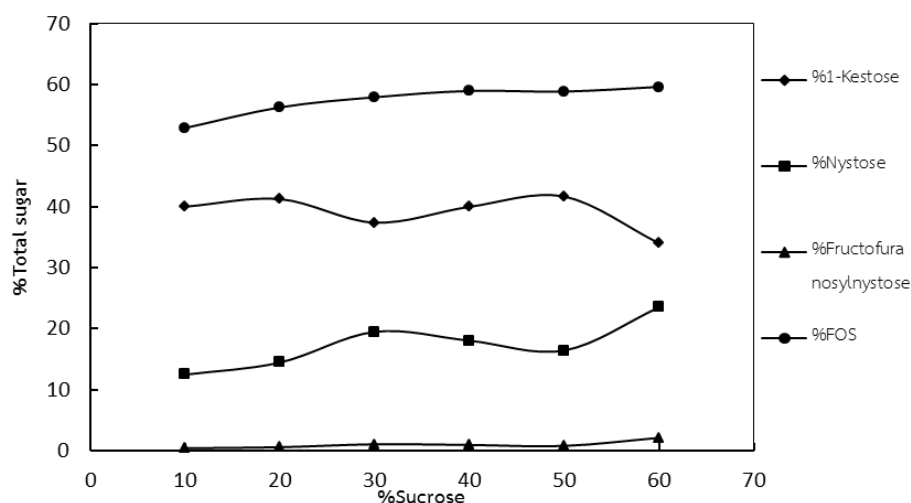
ทำการศึกษาความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสเริ่มต้นที่ความเข้มข้น 100-600 g/L ที่ละลายด้วย 25mM Sodium acetate buffer pH 5.5 และเติมเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L ปริมาตร 1 mL บ่มที่ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ที่ความเร็วรอบ 225 rpm เป็นเวลา 5 ชั่วโมง และเก็บตัวอย่างวิเคราะห์ปริมาณ น้ำตาลชนิดต่างๆด้วยเครื่อง HPLC ได้ผลดังรูปที่ 1





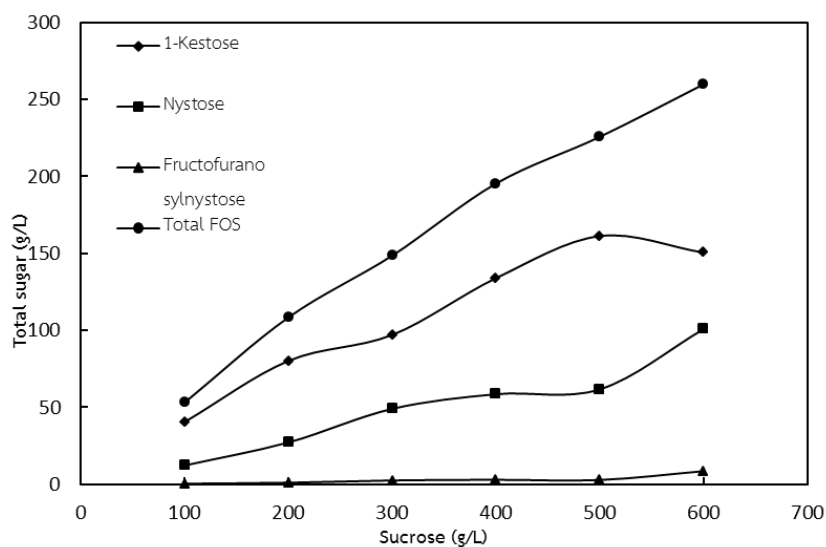
รูปที่ 1a - f การเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลชนิดต่างๆในแต่ละช่วงเวลาหลังการเติมเอนไซม์ pectinex ultra Sp-L ที่ความเข้มข้นน้ำตาลซูโครสเริ่มต้น 100-600 g/L

จากรูปที่ 1 a - f แสดงเปอร์เซ็นต์น้ำตาลในช่วงเวลาต่างๆ พบว่าเมื่อเวลาผ่านไปปริมาณ Sucrose จะลดลง แต่ปริมาณ Glucose จะเพิ่มขึ้นเนื่องจากการทำงานของเอนไซม์ที่สามารถย่อยซูโครสได้เป็นกลูโคสและฟรุกโตส ก็และขณะเดียวกันกิจกรรม fructosyltransferase ทำหน้าที่เชื่อมต่อโมเลกุลของฟรุกโตส จากกราฟเปอร์เซ็นต์ FOS เป็นผลรวมจากเปอร์เซ็นต์ของ 1-Kestose, Nystose และ Fructofuranosylnystose โดยจะเพิ่มขึ้นและมีปริมาณสูงสุดที่สารละลายซูโครส 600 g/L ที่เวลา 5 ชั่วโมง หลังจากนั้นจะลดลง



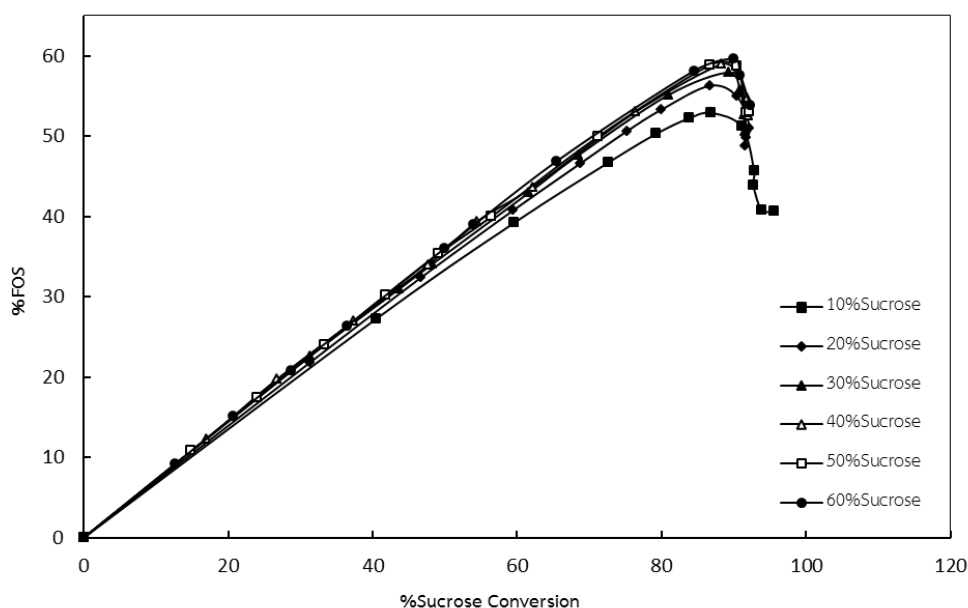
รูปที่ 2 เปอร์เซนต์น้ำตาลที่เกิดขึ้นสูงสุดต่อความเข้มข้นของสารละลายซูโครส

จากรูปที่ 2 เห็นได้ว่าที่ความเข้มข้นของสารละลายซูโครสเริ่มต้น 60% (W/V) สามารถผลิต FOS ได้มากที่สุดคือ 59.62% ของน้ำตาลทั้งหมด โดยจะเห็นได้ว่าชนิดของ FOS ที่มีอยู่เป็นส่วนใหญ่ในองค์ประกอบ คือ 1-kestose (GF2) ประมาณ 40% รองลงมาคือ น้ำตาล Nystose (GF3) ประมาณ 20% และน้อยที่สุดคือ Fructofuranosyl nystose (GF4) ประมาณ 1%



รูปที่ 3 ปริมาณน้ำตาลที่เกิดขึ้นสูงสุดต่อความเข้มข้นของสารละลายซูโครส (g/L)

รูปที่ 3 แสดงผลของความเข้มข้นน้ำตาลซูโครสเริ่มต้นที่มีต่อปริมาณ FOS ที่ผลิตได้ในหน่วยของความเข้มข้นกรัมต่อลิตร พบว่า สารละลายซูโครสเริ่มต้น 100 g/L จะได้ FOS สูงสุดคือ 53.11 g/L ที่สารละลายซูโครส 200 g/L ได้ FOS สูงที่สุดคือ 108.43 g/L ที่สารละลายซูโครส 300 g/L ได้ FOS สูงที่สุดคือ 148.56 g/L ที่สารละลายซูโครส 400 g/L ได้ FOS สูงที่สุดคือ 195.36 g/L ที่สารละลายซูโครส 500 g/L ได้ FOS สูงที่สุดคือ 225.70 g/L และที่สารละลายซูโครส 600 g/L ได้ FOS สูงที่สุดคือ 259.86 g/L จะเห็นว่าที่ความเข้มข้นสารละลายซูโครส 600g/L สามารถผลิต FOS ได้มากที่สุด ในขณะที่งานวิจัยของ Hang และ Woodams (1996) สามารถผลิต FOS ได้ 272 g/L จากน้ำตาลซูโครสเริ่มต้น 450 g/L เมื่อบ่มเป็นเวลา 14 ชั่วโมง

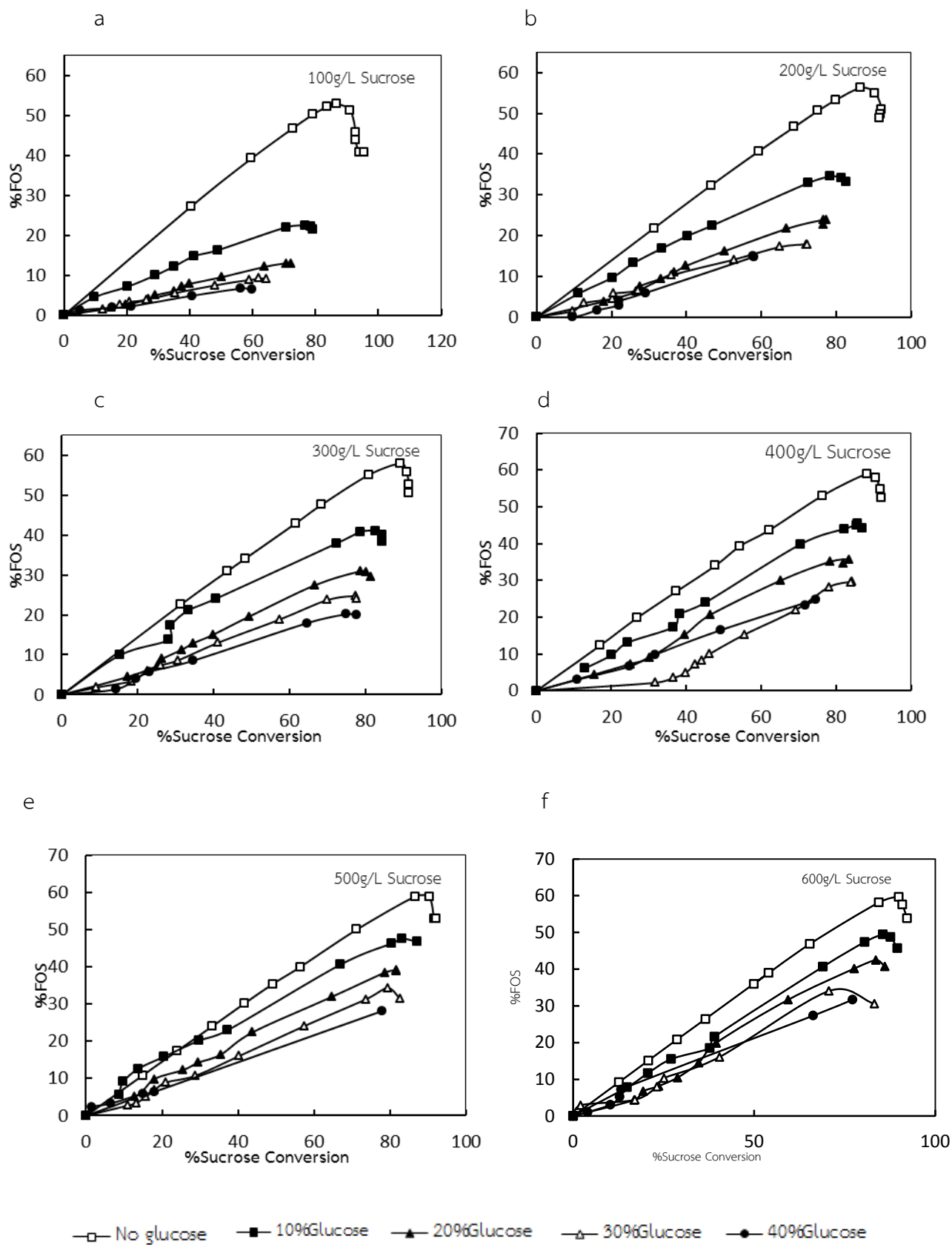


รูปที่ 4 ความสัมพันธ์ระหว่าง %Sucrose conversion ต่อ %FOS ในแต่ละความเข้มข้นสารละลายซูโครส

รูปที่ 4 ทำการเปรียบเทียบการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็น FOS เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสเพิ่มขึ้น จากกราฟพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสเริ่มต้นที่ 100 ถึง 600 g/L จะผลิต FOS ได้สูงสุดที่ระดับค่า sucrose conversion ที่ประมาณ 80% แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ Pectinex Ultra Sp-L นี้มีกิจกรรมของ fructosyltransferase ที่สามารถย่อยน้ำตาลซูโครสและผลิต FOS ได้ดี จึงทำให้เหลือน้ำตาลซูโครสในระบบน้อย

1.2 ผลของการเติมกลูโคสต่อการผลิต FOS

จากนั้นทำการศึกษาความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสเริ่มต้นที่ความเข้มข้น 100-600 g/L ที่มีการเติมกลูโคส 100-400g/L ที่ละลายด้วย 25mM Sodium acetate buffer pH 5.5 และเติมเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L ปริมาตร 1 mL บ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ที่ความเร็วรอบ 225 rpm เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเก็บตัวอย่างวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลชนิดต่างๆด้วยเครื่อง HPLC เมื่อเปรียบเทียบผลของการเติมกลูโคสไปในสารละลายซูโครสเริ่มต้นก่อนที่ทำการผลิต FOS โดยศึกษาความเข้มข้นของซูโครสที่ต่างกัน ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 5

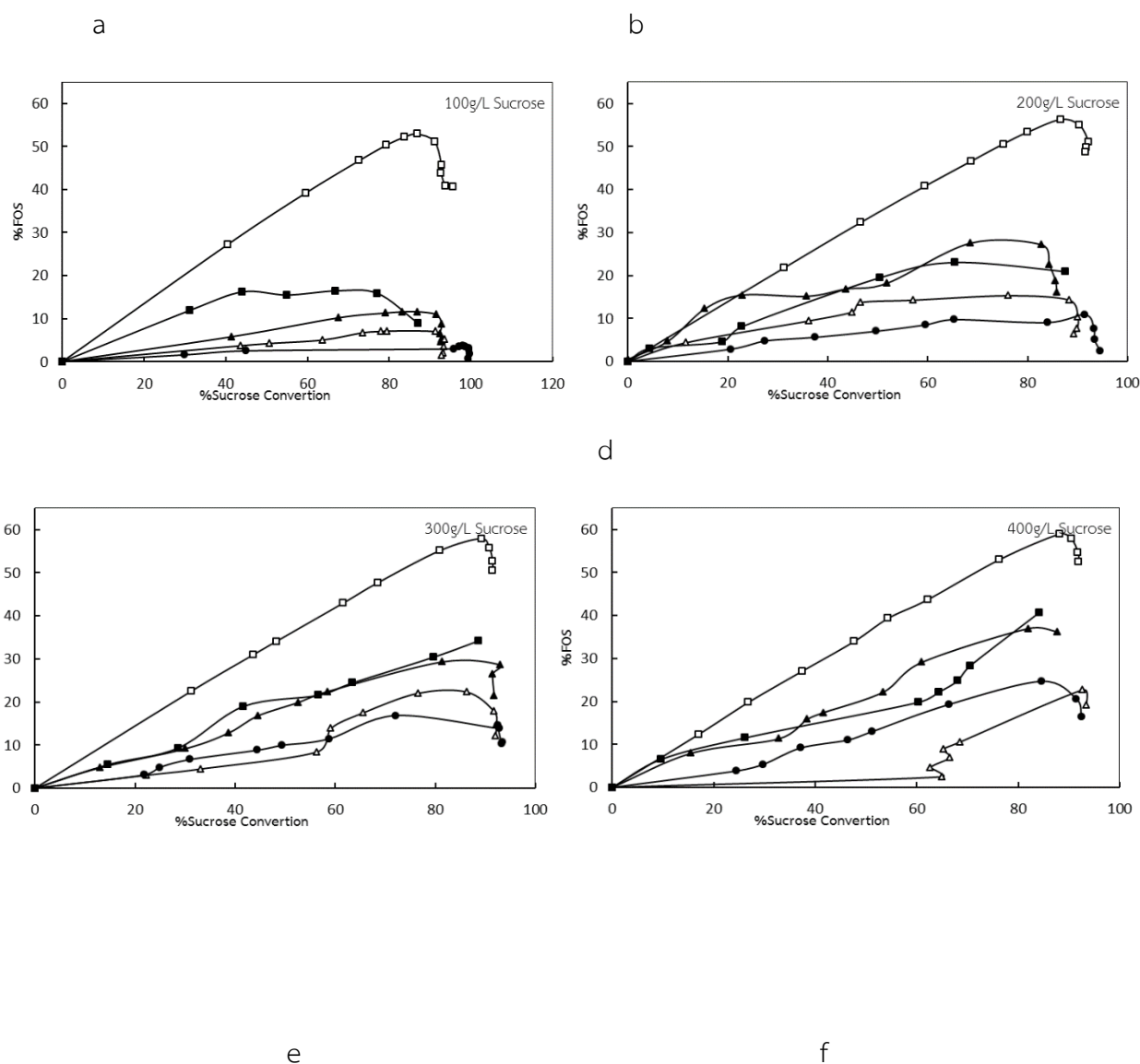


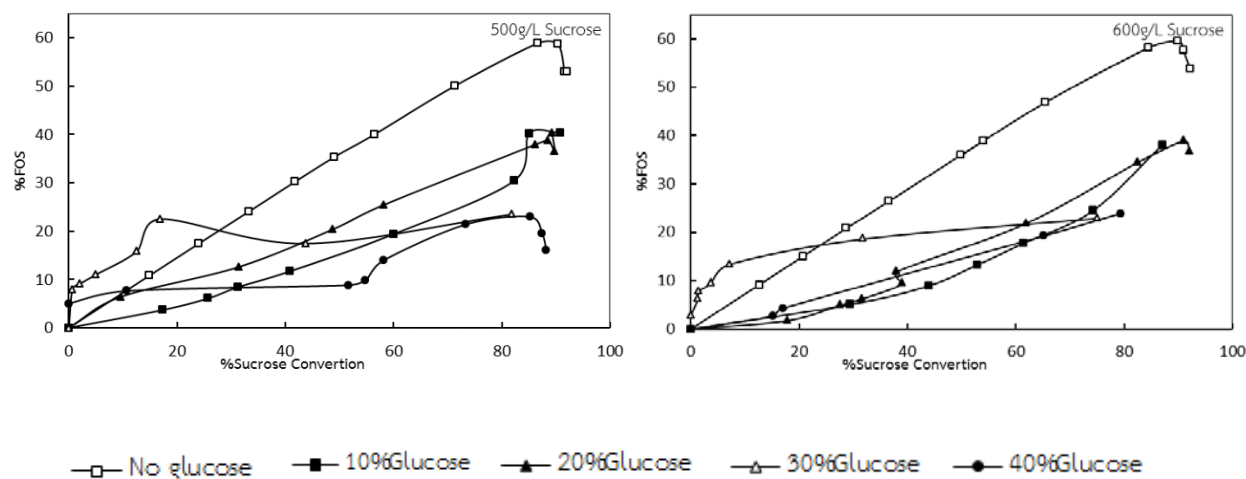
รูปที่ 5 a - f ความสัมพันธ์ระหว่าง %Sucrose conversion กับ %FOS ที่มีการเติมกลูโคสที่มีความเข้มข้นต่างๆ

จากรูปที่ 5 จะเห็นได้ว่าการเติมกลูโคส (ตัวยับยั้ง) จะมีผลอย่างมากต่อการผลิต FOS ที่ความเข้มข้นของสารละลายซูโครสต่ำๆ ดังแสดงในรูป 5a ที่สารละลายซูโครสเริ่มต้น 100 g/L ปริมาณ FOS ที่ผลิตได้จะลดลงอย่างเห็นได้ชัด คือมีประมาณ 5% เมื่อเติมกลูโคสลงไป ในสารละลาย 40% ในขณะที่ตัวอย่างควบคุมที่ไม่มีการเติมกลูโคสจะสามารถผลิต FOS ได้สูงถึง 50% เมื่อใช้น้ำตาลซูโครสเข้มข้นเริ่มต้น 100 g/L และเมื่อทำการทดลองโดยเพิ่มความเข้มข้นของสับสเตรทคือ น้ำตาลซูโครสเป็น 600 g/L ผลของกลูโคสที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์จะลดน้อยลง เช่น เมื่อเติมกลูโคสลงไป 40% ปริมาณของ FOS ที่ผลิตได้มีสูงถึง 30% และปริมาณ FOS ที่ผลิตได้เนื่องจากที่มีปริมาณซูโครสสูงๆ ไม่เห็นความแตกต่างของปริมาณ FOS มากนัก

1.3 ผลของการเติมฟรุคโตสต่อการผลิต FOS

จากนั้นทำการศึกษาความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสเริ่มต้นที่ความเข้มข้น 100-600 g/L ที่มีการเติมฟรุคโตส 100-400 g/L ที่ละลายด้วย 25 mM Sodium acetate buffer pH 5.5 และเติมเอนไซม์ Pectinex Ultra SP-L ปริมาตร 1 mL บ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ที่ความเร็วรอบ 225 rpm เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเก็บตัวอย่างวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลชนิดต่างๆ ด้วยเครื่อง HPLC ได้ผลดังรูปต่อไปนี้





รูปที่ 6 a – f ความสัมพันธ์ระหว่าง %Sucrose conversion กับ %FOS ที่มีการเติมฟรุคโตสที่มีความเข้มข้นต่างๆ

จากรูปที่ 6 a - f จะเห็นได้ว่าการเติมฟรุคโตส จะมีผลต่อการผลิต FOS ที่มีความเข้มข้นของสารละลายซูโครสต่ำๆ เช่นเดียวกับการเติมกลูโคสลงไป ในสารละลายน้ำตาลซูโครส ที่ความเข้มข้นน้ำตาลซูโครสเริ่มต้น 100 g/L และเมื่อมีการเติมน้ำตาลฟรุคโตสลงไป พบว่าสามารถผลิต FOS ได้เพียง 15% เท่านั้น ในขณะที่สภาวะที่ไม่มีน้ำตาลฟรุคโตส จะสามารถผลิต FOS ได้สูงถึง 60% แต่เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสสูงขึ้นเป็น 600 g/L ปริมาณ FOS ที่ผลิตได้ในกรณีเติมฟรุคโตสลงไป จะมีค่าอยู่ในช่วง 20-35%

1.4 การศึกษาจลนพลศาสตร์ของเอนไซม์

จากการทดลองข้อ 1.1-1.3 สามารถนำข้อมูลที่ได้มาศึกษาจลนพลศาสตร์ของเอนไซม์ดังแสดงในตารางที่ 2 พบว่า ในสภาวะที่ใช้น้ำตาลซูโครสเป็นสับสเตรทเพียงอย่างเดียว เอนไซม์ Pectinex Ultra Sp-L มีกิจกรรม fructosyltransferase โดยมีค่า K_m เท่ากับ 80.4 กรัมต่อลิตรและค่า V_{max} เท่ากับ 216.7 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง แต่เมื่อมีการเติมน้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้นจาก 100-600 กรัมต่อลิตร พบว่า การเติมกลูโคสไม่ส่งผลต่อค่า V_{max} แต่ส่งผลต่อค่า K_m โดยทำให้ K_m มีค่าเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่า น้ำตาลกลูโคสที่เติมลงไปมีคุณสมบัติยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แบบแข่งขัน (Competitive) ในขณะที่เมื่อเติมน้ำตาลฟรุคโตสลงไป จะส่งผลต่อทั้งค่า K_m และ V_{max} แสดงให้เห็นว่าน้ำตาลฟรุคโตสเป็นตัวยับยั้งแบบผสม

ตารางที่ 2 ค่าจลนพลศาสตร์ของเอนไซม์ Pectinex Ultra Sp-L

Conditions	K_m (g/L)	V_{max} (g/L.h)
น้ำตาลซูโครสเป็นสับสเตรทเพียงอย่างเดียว	80.35	216.7
น้ำตาลซูโครส + กลูโคส 100 g/L	432.9	247.8
น้ำตาลซูโครส + กลูโคส 200 g/L	730.2	272.7

น้ำตาลซูโครส + กลูโคส 300 g/L	1779.0	281.9
น้ำตาลซูโครส + กลูโคส 400 g/L	2038.0	210.7
น้ำตาลซูโครส + ฟรุคโตส 100 g/L	-52.71	35.8
น้ำตาลซูโครส + ฟรุคโตส 200 g/L	-42.78	61.7
น้ำตาลซูโครส + ฟรุคโตส 300 g/L	122.55	100.1
น้ำตาลซูโครส + ฟรุคโตส 400 g/L	440.28	347.51

2. การศึกษาการผลิต FOS จากน้ำเชื่อมที่เหลือจากการแช่ส้มมะม่วง

2.1 องค์ประกอบเบื้องต้นของน้ำเชื่อมที่เหลือจากการแช่ส้มมะม่วง

ทำการนำตัวอย่างน้ำเชื่อมที่เหลือจากการแช่ส้มมะม่วงจากร้านค้าในโรงอาหาร มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้ทำการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด – ด่างได้เท่ากับ 3.20 ปริมาณของแข็งทั้งหมดโดย refractometer เท่ากับ 22.5 องศาบริกซ์ และวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลแต่ละชนิดด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ได้ค่าดังนี้

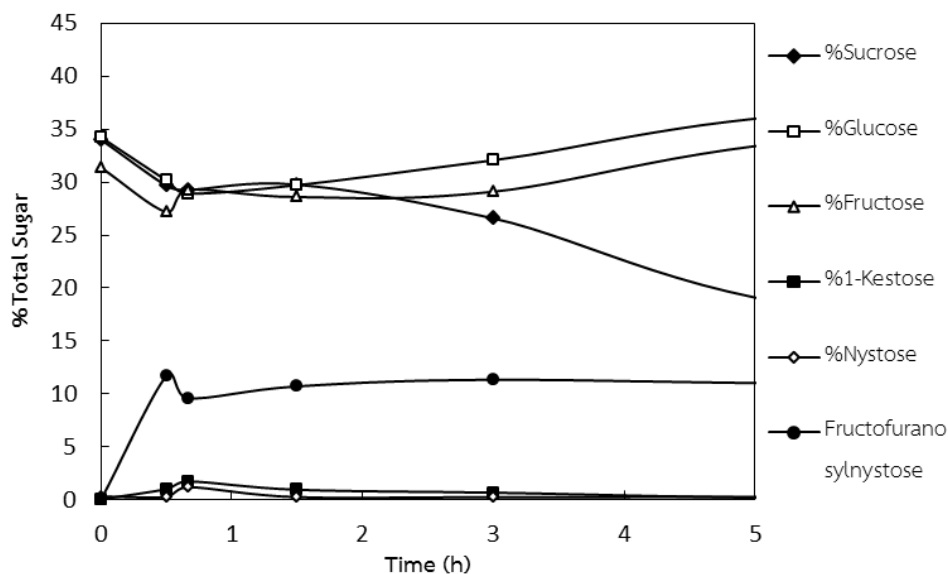
ตารางที่ 3 องค์ประกอบเบื้องต้นของน้ำเชื่อมที่เหลือจากการแช่ส้มมะม่วง

ชนิดน้ำตาล	ความเข้มข้น	
	% ของน้ำตาลทั้งหมด	g/L
Sucrose	41.04	101.35
Glucose	29.93	63.98
Fructose	28.70	59.58
1-Kestose	0.05	0.12
Nystose	0.28	0.66
Fructofuranosylhystose	0.00	0.00
FOS	0.33	0.78

จากตารางที่ 3 พบว่าตัวอย่างน้ำเชื่อมที่เหลือจากการแช่ส้มมะม่วงมีปริมาณน้ำตาลซูโครส เริ่มต้นที่ประมาณ 100 กรัมต่อลิตร และพบส่วนของน้ำตาลประเภท FOS เล็กน้อยประมาณ 0.78 กรัมต่อลิตร ซึ่งอาจมาจากส่วนของน้ำตาลที่ออกมาจากมะม่วงที่ใช้ในการแช่

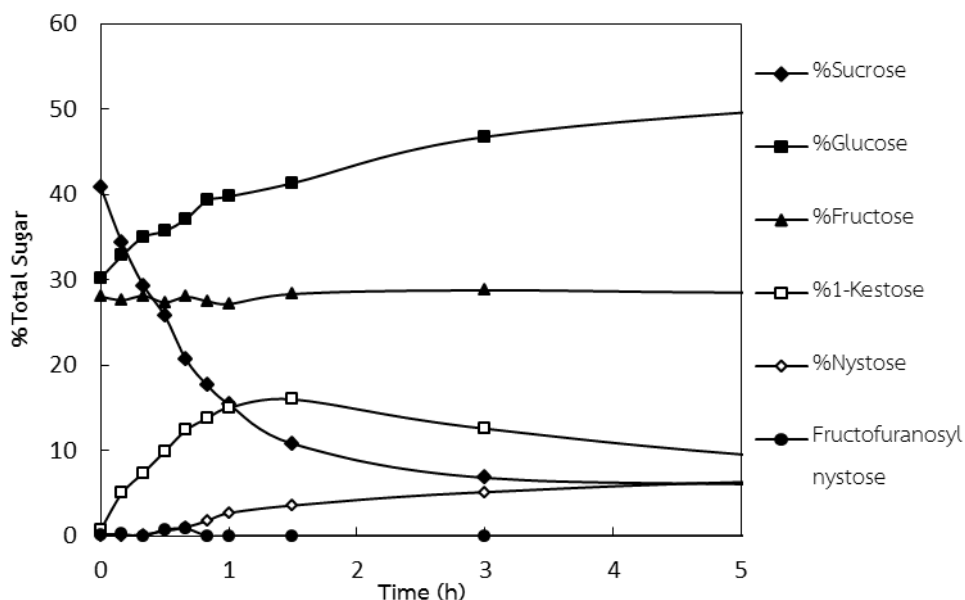
2.1 ผลของการปรับสภาพความเป็นกรดต่างของน้ำเชื่อมที่เหลือจากการแช่ส้มมะม่วง

จากการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำเชื่อมที่เหลือจากการแช่ส้มมะม่วงเริ่มต้นที่มีค่า pH เท่ากับ 3.2 ผู้วิจัยจึงทำการศึกษาผลของ pH ของน้ำเชื่อมที่เหลือจากการแช่ส้มมะม่วงเริ่มต้นว่าสามารถนำไปใช้ในการผลิต FOS ได้โดยตรงหรือไม่ โดยการนำน้ำเชื่อมที่เหลือจากการแช่ส้มมะม่วงมาเติมเอนไซม์ Pectinex ultra SP-L ปริมาตร 1 mL บ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ที่ความเร็วรอบ 225 rpm เป็นเวลา 5 ชั่วโมง และเก็บตัวอย่างวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลชนิดต่างๆด้วยเครื่อง HPLC ได้ผลดังรูปต่อไปนี้



รูปที่ 7 เปอร์เซนต์น้ำตาล (%) ในช่วงเวลาต่างๆของน้ำมะม่วงเชื่อมที่ไม่ปรับ pH

จากรูปที่ 7 จะเห็นได้ว่า เอนไซม์ pectinex ultra SP-L ไม่สามารถทำงานได้ดีที่ความเป็นกรด-ด่าง เริ่มต้นเท่ากับ 3.2 ดังเห็นได้จากความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่ลดลงเพียงเล็กน้อย เมื่อทำการบ่มเป็นเวลา 5 ชั่วโมง ดังนั้นการทดลองต่อไปจึงมีการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายน้ำเชื่อมที่เหลือจากการเชื่อมมะม่วงเพื่อให้ได้ค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 5.5 ได้ผลดังรูปที่ 8



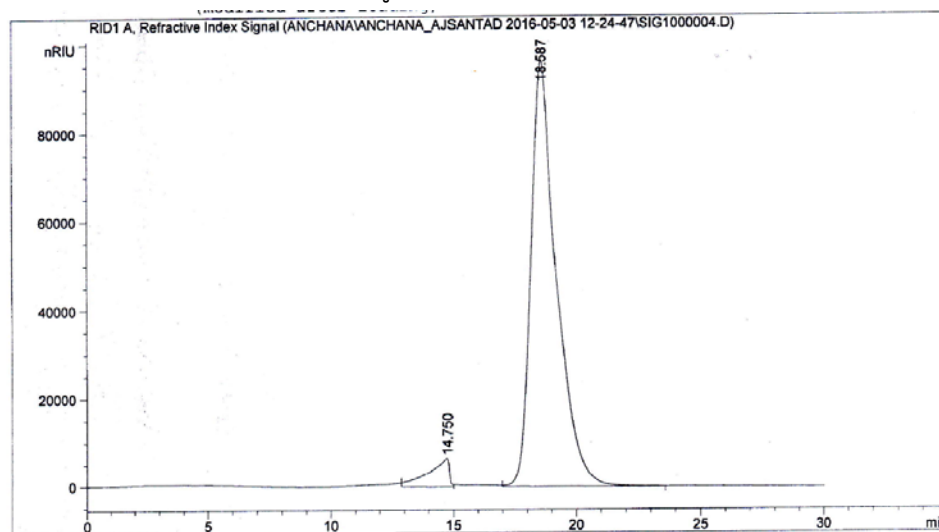
รูปที่ 8 เปอร์เซนต์น้ำตาลในช่วงเวลาต่างๆของการผลิต FOS จากน้ำเชื่อมที่เหลือจากการเชื่อมมะม่วงที่ผ่านการปรับ pH

จากรูปที่ 8 แสดงให้เห็นว่า เอนไซม์ pectinex ultra SP-L สามารถย่อยน้ำตาลซูโครสจากน้ำเชื่อมหลังการเชื่อมเพื่อใช้ในการผลิต FOS ได้ โดยสามารถผลิต FOS ได้สูงสุดคือ 19.56% ที่เวลา 90 นาที โดยจะมีน้ำตาล 1-Kestose สูงที่สุด รองลงมาคือ Nystose ส่วน Fructofuranosyl nystose จะได้ในปริมาณที่น้อย เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Achary and Prapulla (2009) ซึ่งใช้น้ำเชื่อมที่เหลือจากการแช่แครอทที่มี

น้ำตาลซูโครสเริ่มต้น 60 °Bx เป็นสารตั้งต้นในการผลิต FOS จาก *Aspergillus oryzae* MTCC 5154 พบว่า เชื้อนี้สามารถผลิต FOS ได้ 50-57% แสดงให้เห็นว่าน้ำเชื่อมที่เหลือจากการหมักมีมะม่วงมีความเข้มข้น น้ำตาลที่ต่ำ่มาก แต่ยังสามารถใช้ผลิตน้ำเชื่อมที่มี FOS สูงได้

2.3 การศึกษาขนาดโมเลกุลของ FOS ที่ผลิตได้

นำตัวอย่าง FOS ที่ผลิตได้จากน้ำเชื่อมที่เหลือจากการหมักมีมะม่วงในข้อ 2.2 ไปวิเคราะห์ขนาด โมเลกุลของ FOS โดยวิธี GPC ร่วมกับ HPSEC พบว่า ตัวอย่างมีช่วง 2 ขนาดโมเลกุล คือ ช่วงขนาดโมเลกุล เล็ก ได้แก่ น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว โมเลกุลคู่ และช่วง DP 2-3 ประมาณ 95% และช่วงขนาดโมเลกุลใหญ่ ประมาณ 60 kDa ประมาณ 5% ดังแสดงในรูปที่ 9



รูปที่ 9 ขนาดโมเลกุลของ FOS ที่ผลิตได้จากน้ำเชื่อมที่เหลือจากการหมักมีมะม่วง

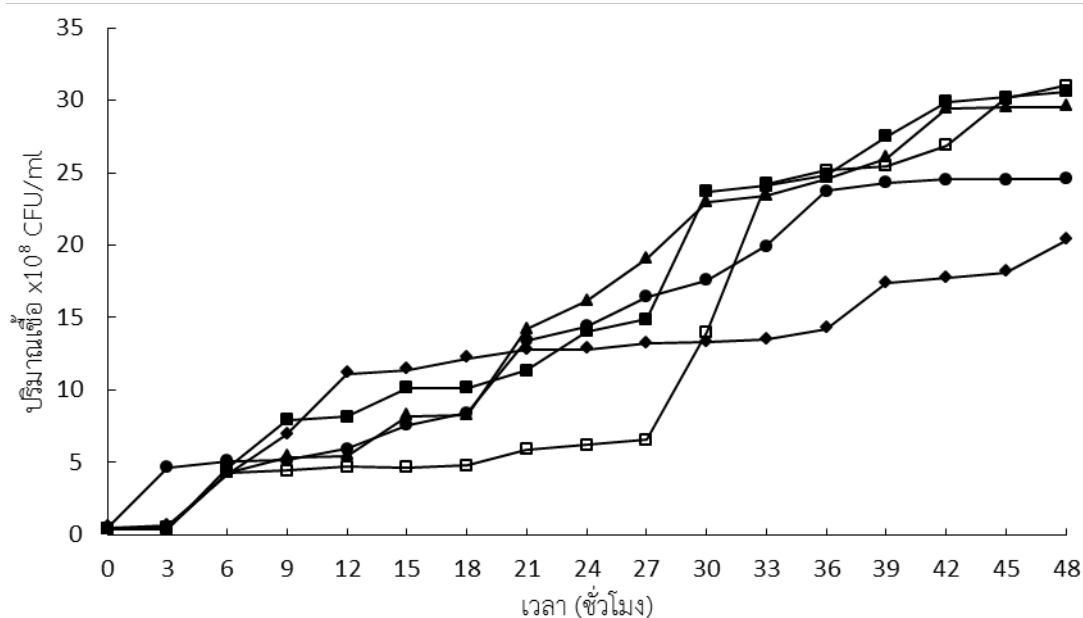
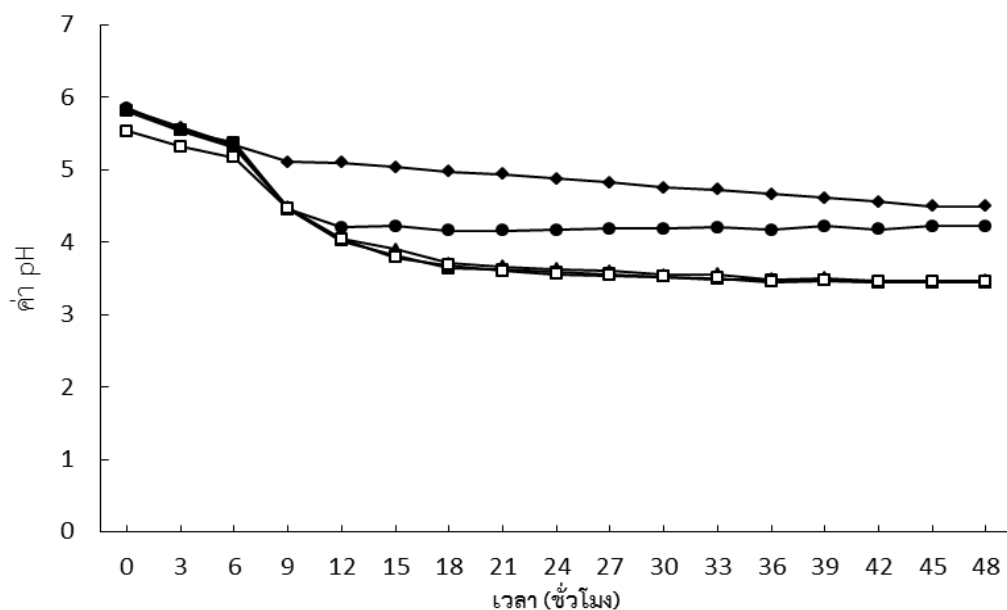
2.4 การทำบริสุทธิ์ FOS ที่ผลิตได้จากน้ำเชื่อมที่เหลือจากการหมักมีมะม่วง

ทำการกำจัดน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และโมเลกุลคู่ที่เหลือในปฏิกิริยาโดยการหมักด้วย *S.cerevisiae* พบว่าเชื้อยีสต์สามารถกำจัดน้ำตาลกลูโคสและฟรุคโตสได้หมด 100% ในขณะที่ยังคงมีน้ำตาลซูโครสเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์อยู่ 42.87%

2.5 ผลการศึกษาคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติกของ FOS ที่ผลิตได้

2.5.1 ผลของ FOS ต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย (Probiotics)

การวิเคราะห์ผลของ FOS ต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus casei* TISTR 1340 โดยเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร MRS ซึ่งโดยทั่วไปมีแหล่งคาร์บอนเป็นกลูโคสในปริมาณ 2%(W/V) ภายใต้สภาวะไร้อากาศ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยเมื่อนำ FOS ที่ผลิตได้มาเป็นแหล่งคาร์บอนหลักในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS medium ให้มีปริมาณน้ำตาลรวมเท่ากับอาหาร MRS ทั้งหมดที่ระดับ 2% (W/V) โดยเปรียบเทียบกับน้ำตาลชนิดต่างๆ ได้แก่ FOS (meiji oligo) ซูโครส กลูโคส และฟรุคโตส และเติมเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1340 เริ่มต้นที่มีค่า OD₆₀₀ = 0.1 ลงไป แล้วนำไปบ่มภายใต้สภาวะไร้อากาศ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ค่า pH ปริมาณเชื้อ ทุกๆ 3 ชั่วโมง ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่



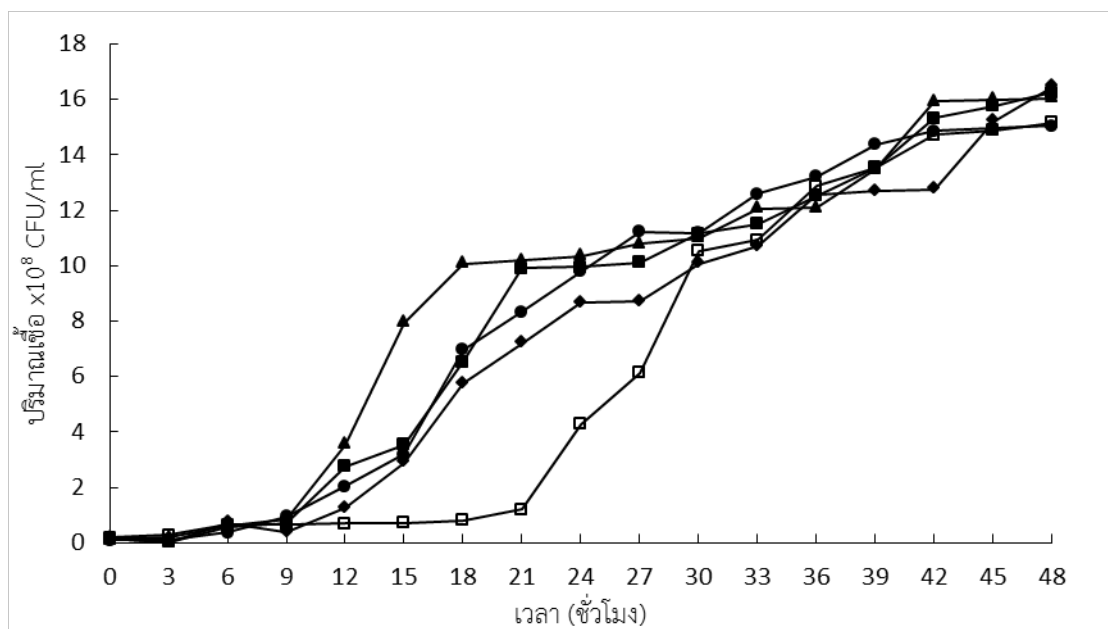
รูปที่ 10 ค่า pH และปริมาณเชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1340 ที่เลี้ยงบนอาหาร MRS ที่มีการเติมซูโครส (◆) กลูโคส (■) ฟรุคโตส (▲) FOS จาก meiji oligo (●) และ FOS ที่สังเคราะห์ได้ (□) ที่มีปริมาณเริ่มต้นเท่ากัน

จากผลการทดลองที่ได้ในรูปที่ 10 จะเห็นได้ว่า ในตัวอย่างที่มีการเติม FOS ที่สังเคราะห์ได้จะมีการเจริญเติบโตค่อนข้างช้าในช่วงแรก เนื่องจากเชื้อใช้น้ำตาลซูโครสได้ช้ากว่าตัวอย่างควบคุมที่มีการเติมน้ำตาลกลูโคส จึงทำให้มีช่วงการเจริญเติบโตที่ช้า มีช่วง lag phase ที่นานกว่าตัวอย่างที่เติมน้ำตาลชนิดอื่น แต่เมื่อพิจารณาถึงค่า pH ซึ่งจะเกี่ยวข้องกับปริมาณกรดที่เชื้อผลิตขึ้น พบว่าสามารถกระตุ้นให้เชื้อ *Lactobacillus casei* TISTR 1340 สามารถสร้างกรดแลคติกออกมาได้

2.5.2 ผลของ FOS ต่อการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นโทษต่อร่างกาย (Pathogen)

การวิเคราะห์ผลการยับยั้งเชื้อที่เป็นโทษแบบเลี้ยงเดี่ยวของ FOS ทำได้โดยนำเชื้อ *E. coli* TISTR 708 มาเลี้ยงในอาหาร MRS medium จากนั้นเติมน้ำตาลให้มีปริมาณน้ำตาลรวมเท่ากับอาหาร MRS ทั้งหมดที่ระดับ

2% (W/V) โดยเปรียบเทียบกับน้ำตาลชนิดต่างๆ ได้แก่ FOS ที่สังเคราะห์ได้ FOS (meiji oligo) ซูโครส กลูโคส และฟรุคโตสและเติมเชื้อ *E. coli* TISTR 708 เริ่มต้นที่มีค่า $OD_{600} = 0.1$ ลงไป แล้วนำไปบ่มภายใต้สภาวะไร้อากาศ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ ทุกๆ 3 ชั่วโมง ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 11



รูปที่ 11 ปริมาณเชื้อ *E. coli* TISTR 708 ที่เลี้ยงบนอาหาร MRS ที่มีการเติมซูโครส (◆) กลูโคส (■) ฟรุคโตส (▲) FOS จาก meiji oligo (●) และ FOS ที่สังเคราะห์ได้ (□) ที่มีปริมาณเริ่มต้นเท่ากัน

จากผลการทดลองที่ได้ในรูปที่ 11 จะเห็นได้ว่า เมื่อมีการควบคุมปริมาณน้ำตาลรวมเริ่มต้นในอาหารทุกชุดเท่ากับปริมาณน้ำตาลรวมในอาหาร MRS ที่มีกลูโคส 2% (W/V) นั้น เชื้อมีรูปแบบการเจริญที่เหมือนกันในทุกชุดอาหารนั้นคือ ปริมาณเชื้อที่เพิ่มมากขึ้นในชั่วโมงที่ 9 -48 เห็นได้ชัดเจนว่า *E. coli* TISTR 708 ใช้น้ำตาล FOS ที่สังเคราะห์ได้จากน้ำมะม่วงแช่อิ่มเป็นแหล่งคาร์บอนได้น้อยที่สุด ซึ่งอาจเนื่องมาจากเชื้อไม่สามารถใช้ FOS ได้ อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับผลการเจริญของ *L. casei* พบว่า ช่วง lag phase ของทั้งสองเชื้อค่อนข้างนาน อาจเนื่องมาจากในตัวอย่าง FOS ที่นำมาศึกษาเป็น FOS ที่ไม่ได้ทำการแยกน้ำตาลอื่นที่ไม่ใช่ FOS ออก จึงทำให้เห็นผลการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* หรือการส่งเสริมการเจริญของ *L. casei* อย่างเด่นชัด

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

1. สภาวะที่เหมาะสมในการผลิต Fructooligosaccharide โดยใช้เอนไซม์ Pectinex ultra SP-L บ่มกับ 60% (W/V) Sucrose solution ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จะผลิต Fructooligosaccharide ได้สูงที่สุด คือ 59.62% (259.86 g/L)
2. ในการเติม 10-40% (W/V) Glucose solution ลงใน 10-60% (W/V) Sucrose solution ทำให้ปริมาณ Fructooligosaccharide ที่ได้มีค่าลดลง จากที่ไม่มีการเติมกลูโคสมีค่า FOS สูงสุดคือ 59.62% แต่เมื่อเติม 10% Glucose ทำให้มีปริมาณ FOS 49.44% เติม 20% Glucose มีปริมาณ FOS สูงสุดเท่ากับ 42.42% เติม 30% Glucose มีปริมาณ FOS สูงสุดเท่ากับ 44.04% และเมื่อเติม 40% Glucose มีปริมาณ FOS สูงสุดเท่ากับ 31.67%
3. ในการเติม 10-40% (W/V) Fructose solution ลงใน 10-60% (W/V) Sucrose solution ทำให้ปริมาณ Fructooligosaccharide ที่ได้มีค่าลดลง จากที่ไม่มีการเติมฟรุคโตสมีค่า FOS สูงสุดคือ 59.62% แต่เมื่อเติม 10% Fructose ทำให้มีปริมาณ FOS 40.64% เติม 20% Glucose มีปริมาณ FOS สูงสุดเท่ากับ 40.37% เติม 30% Glucose มีปริมาณ FOS สูงสุดเท่ากับ 36.28% และเมื่อเติม 40% Glucose มีปริมาณ FOS สูงสุดเท่ากับ 24.68%
4. น้ำมะม่วงแช่อิ่มที่มีการปรับ pH สามารถผลิต Fructooligosaccharide ได้สูงถึง 20% จากความเข้มข้นซูโครสเริ่มต้น 100 g/L
5. น้ำมะม่วงแช่อิ่มที่นำมาสังเคราะห์ให้ได้ Fructooligosaccharide สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ (Probiotics) คือ *L. actobacillus casei* TISTR 1340 ได้ดี ในขณะที่ *Escherichia. coli* TISTR 708 สามารถใช้น้ำตาล FOS ได้ช้ากว่าน้ำตาลชนิดอื่นมาก

บรรณานุกรม

ศรีสุตา เคยอาษา. (2554). “การศึกษาคุณลักษณะของเอนไซม์ฟรุคโตซิลทรายสเฟอเรสจากแก่นตะวันเพื่อนำไปผลิตฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์.”วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร.

- นงคราญ พงศ์ตระกูล และคณะ. (2556). “การออกแบบถังปฏิกรณ์ชีวภาพในการสังเคราะห์ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากลำไย.” รายงานผลการวิจัย คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- Aachary, A. A. and Prapulla, S. G. 2009. Value addition to spent osmotic sugar solution (SOS) by enzymatic conversion to fructooligosaccharides (FOS), a low calorie prebiotic. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 10: 284-288.
- Amann, M. M., Kullen, M. J., Martini, M. C., Busta, F. F., and Brady, L. J. 1998. Consumption of Exogenous Bifidobacteria Dose Not Alter Fecal Bifidobacteria and Breath Hydrogen Excretion in Humans. *The Journal of Nutrition*. 128: 996-1002.
- Bourhnik, Y., Vahedi, K., Achour, L., Attar, A., Salfati, J., Pochart, P., Marteau, P., Bornet, F., and Rambaud, J. 1998. Short-chain fructo-oligosaccharide administration dose dependently increases fecal bifidobacteria in healthy human. *Journal of Nutrition*. 129: 113-116.
- Cummings, J.H., Macfarlane, G. T., and Englyst, H. N. 2001. Prebiotic digestion and Fermentation. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 73 : 361s-364s.
- Fernandez, R.C., Ottoni, C.A., Silva, E.S.D, Matsubara, R.M.S., Carter, J.M., Magossi, L.R., Wada, M.A.A., Rodrigues, M.F.D.A, Marresma, B.G. and Maiorano, A.E. 2007. Screening of -Fructofuranosidase producing microorganisms and effect of pH and temperature on enzymatic rate. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 75: 87-93.
- Ghazi, I., Fernandez-Arrojo, L., Segura, A.G.D., Alcalde, M., Plou, F. J. and Ballesteros, A. 2006. Beet sugar syrup and molasses as low-cost feedstock for the enzymatic production of fructo-oligosaccharides. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 54: 2694-2698.
- 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.
- Hang, Y.D., and Woodams, E.E. 1996. Optimization of Enzymatic Production of Fructo-oligosaccharides from Sucrose. *Lebensm -Wiss. University Technology*. 29: 578-580
- Hanvonnar, R. and Huis In't Veld, M.J.H. 1992. Probiotics: a general view. In: *Lactic acid bacteria in health and disease*. Elsevier Applied Science Publishers: Amsterdam. 151-170 pp.
- Holzappel, W. H., Haberer, P., Geisen, R., Bjorkroth, J., and Schillinger, U. 2001. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *American Journal of Clinical Nutrition*. 73: 365s-373s.
- Kim, B.W., Choi, J.W., and Yun, J.W. 1998. Selective production of GF4-fructooligosaccharide from sucrose by a new transfructosylating enzyme. *Biotechnology Letters*. 20: 1031-1034.
- Marteau, P. R., Vrese, M. D., Cellier, C. J., and Schrezenmeir, J. 2001. Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics. *American Journal of Clinical Nutrition*. 73: 430s-436s.
- Mazza, G. 1998. Vegetables Rich in Nondigestible Oligosaccharide. In *Functional Foods: Biochemical & Processing Aspects*. Technomic Publishing Company: Pennsylvania.

215-220 pp.

Rastall, R. A., Fuller, R., Gaskins, H. R., and Gibson, G. R. 2000. In Gibson, G. R., and Williams, C. M., (Ed.), Functional Foods: Concept to product. Woodhead Publishing Limited: Cambridge. 71-95 pp.

Scherzenmeir, J., and Vrese, M. 2001. Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics- approaching a definition American Journal of Clinical Nutrition. 73: 361s-364s.

Song, D.D. and Jacques, N. A. 1999. Purification and enzymic properties of the fructosyltransferase of Streptococcus salivarius ATCC 25975. Biochem J. 341: 285-291.

Surin, S., Seesuriyachan, P., Thakeow, P., and Phimolsiripol, Y. 2012. Optimization of Enzymatic Production of Fructooligosaccharide from Longan Syrup. Journal of Applied Sciences. 12(11) : 1118-1123

Wongputtisin, P. 2003. Selection of oligosaccharides from some local plant utilizing as prebiotics. M.S. Thesis Chiang Mai University: Chiang Mai.

Yun, J. W. 1996. Fructooligosaccharides-Occurrence, preparation, and application. Enzyme and Microbial Technology. 19: 107-117.

ประวัติผู้วิจัย

ตอนที่ 1 ประวัติทั่วไป

1. ชื่อ-สกุล (นาย, นาง, นางสาว) (ภาษาไทย) สุวัฒนา พฤษะศรี
(ภาษาอังกฤษ) Suwattana Pruksasri

2. วัน เดือน ปีเกิด 29 มิถุนายน 2519

3. หมายเลขประจำตัวประชาชน 5909899022937

4. ตำแหน่งทางวิชาการปัจจุบัน ☐ข้าราชการ ☒พนักงาน
0 อาจารย์ 0 ข้าราชการ

☒ ผู้ช่วยศาสตราจารย์

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 หมู่บ้านพฤษะวิล 44 ถนนปิ่นเกล้า-นครชัยศรี ตำบลบางเตย
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 α -amylase for Paper Sizing
ปีที่ดำเนินการ พ.ศ.2541-2543

-ระดับปริญญาเอก

ชื่อเรื่อง Production and Separation of Galacto-oligosaccharides from Lactose
by β - galactosidase Immobilized on Nanofiltration Membrane
ปีที่ดำเนินการ พ.ศ. 2544-2550

สาขาวิชาที่เกี่ยวข้อง

- สาขาเกษตรศาสตร์และชีววิทยา กลุ่มวิชาอุตสาหกรรมเกษตร(เทคโนโลยีชีวภาพ) แขนงวิชา เทคโนโลยีเอนไซม์กลุ่มเทคโนโลยีเมมเบรนกลุ่มอาหารเสริมสุขภาพ
- 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).....
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

- ชื่อเรื่อง การผลิตนมที่มีสารพรีไบโอติกกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์โดยเอนไซม์เบต้ากาแลคโตซิเดสจาก *Aspergillus oryzae*
- ลักษณะโครงการ / ผลงาน ☒ ส่วนบุคคล/เดี่ยว หรือ ☐ คณะบุคคล/กลุ่ม ☐ เป็นหัวหน้า ☐ เป็นผู้ร่วม
- สาขาวิชา (ผลงานวิจัย โปรดระบุสาขาการวิจัยตามข้อ 7)
สาขาเกษตรศาสตร์และชีววิทยา กลุ่มวิชาอุตสาหกรรมเกษตรแขนงวิชา Food Biotechnology
- จำนวนงบประมาณ 100,000 บาท
ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย/สร้างสรรค์ผลงานตั้งแต่ปี พ.ศ...2551.... ถึงปี พ.ศ.....2552.....
- ชื่อแหล่งทุน / แหล่งสนับสนุน
☒ ในประเทศ
☐ ภาครัฐ ☐ คณะวิชา ☐ มหาวิทยาลัย ☐ อื่นๆ (โปรดระบุ).....
☒ ภายนอกมหาวิทยาลัย (โปรดระบุ)...IRPUS (สกว.).....
- การเผยแพร่ผลงานวิจัย/ผลงานสร้างสรรค์ดังกล่าว
☐ ยังไม่ได้เผยแพร่
☒ เผยแพร่แล้ว
☐ ในรูปของบทความทางวิชาการที่ตีพิมพ์ (โปรดระบุชื่อเรื่อง / ชื่อเจ้าของผลงาน / ชื่อสิ่งพิมพ์ ชื่อสำนักพิมพ์ / ปีที่พิมพ์ / เลขหน้า)

☒ ชื่อการประชุมวิชาการฯ หรือแสดงผลงานต่อสาธารณชน

☒ ในประเทศ

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

เรื่องที่ 3

- ชื่อเรื่อง/ชื่อผลงาน (ภาษาไทย) การแยกน้ำตาลแลคโตสออกจากนมโดยอัลตราฟิวเตรชันเมมเบรน (ภาษาอังกฤษ) Separation of Lactose from Milk by Ultrafiltration
- ลักษณะโครงการ/ผลงาน ☐ ส่วนบุคคล/เดี่ยว หรือ ☐ คณะบุคคล/กลุ่ม ☐ เป็นหัวหน้า ☐ เป็นผู้ร่วม
- สาขาวิชา (ผลงานวิจัย โปรดระบุสาขาการวิจัยตามข้อ 7) สาขาเกษตรและชีววิทยา
- จำนวนงบประมาณ 65,000 บาท
ระยะเวลาในการดำเนินการวิจัย/สร้างสรรค์ผลงานตั้งแต่ปี พ.ศ. 2551 ถึงปี พ.ศ. 2552
- 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 by Ultrafiltration. In Food Innovation Asia Conference 2009. June 18-19, 2009. BITEC, Bangkok Thailand

เรื่องที่ 4

1. ชื่อเรื่อง/ชื่อผลงาน (ภาษาไทย) การหาปริมาณฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากกล้วยพันธุ์ต่างๆในประเทศไทย
(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 โปรดระบุสาขาการวิจัยตามข้อ 7) 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 Isolated *Bacillus 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 โปรดระบุสาขาการวิจัยตามข้อ 7) 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 โปรดระบุสาขาการวิจัยตามข้อ 7) สาขาเกษตรและชีววิทยา

4. จำนวนงบประมาณ 390,700 บาท

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

5. ชื่อแหล่งทุน/แหล่งสนับสนุน

☒ ในประเทศ

☐ ภาครัฐ

☐ คณะวิชา

☐ มหาวิทยาลัย

☐ อื่นๆ (โปรดระบุ)

☒ ภายนอกมหาวิทยาลัย (โปรดระบุ) สกอ.

☐ ต่างประเทศ (โปรดระบุ)

6. การเผยแพร่ผลงานวิจัย/ผลงานสร้างสรรค์ดังกล่าว

☒ ยังไม่ได้เผยแพร่

☒ เผยแพร่แล้ว

☒ ชื่อการประชุมวิชาการฯ หรือแสดงผลงานต่อสาธารณชน

☒ ในประเทศ

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

เรื่องที่ 8

1. ชื่อเรื่อง/ชื่อผลงาน (ภาษาไทย) การพัฒนากระบวนการผลิตวัตถุดิบอาหารไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์จากแป้งข้าว แป้งมันสำปะหลัง และแป้งสาเก

(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 โปรดระบุสาขาการวิจัยตามข้อ 7) 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(กรณารอก 1 เรื่องต่อ 1 ส่วน)

เรื่องที่ 1

1. ชื่อเรื่อง/ชื่อผลงาน (ภาษาไทย) การผลิตฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากน้ำเชื่อมที่เหลือจากการแช่อิ่มมะม่วง (ภาษาอังกฤษ) Production of fructooligosaccharides from the mango preserved sugar solution

2. ลักษณะโครงการ/ผลงาน ☒ ส่วนบุคคล/เดี่ยว หรือ

☐ คณะบุคคล/กลุ่ม ☐ เป็นหัวหน้า ☐ เป็นผู้ร่วม

3. สาขาวิชา (ผลงานวิจัย โปรดระบุสาขาการวิจัยตามข้อ 7) 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

ภาคผนวก ก.

การเตรียมสารเคมี

1. การเตรียม 25 mM Sodium Acetate buffer, pH 5.5

CH₃COOH มวลโมเลกุล เท่ากับ 60.05, Density 1.05 g/cm³, 99.7%

CH₃COONa มวลโมเลกุล เท่ากับ 136.08

จากสูตร $C = 10\%d/MW$

$$= 10(99.7)(1.05)/60.05$$

$$= 17.3 \text{ M}$$

จากสูตร $pH = pK_a + \log[A^-]/[HA]$

$$5.5 = 4.75 + \log[CH_3COONa]/[CH_3COOH]$$

$$0.75 = \log[CH_3COONa]/[CH_3COOH]$$

$$5.623[CH_3COOH] = [CH_3COONa] \quad \dots\dots\dots(1)$$

$$\text{จาก } [CH_3COOH] + [CH_3COONa] = 25 \times 10^{-3} \text{ M} \quad \dots\dots\dots(2)$$

แทน (1) ใน (2);

$$[\text{CH}_3\text{COOH}] + 5.623[\text{CH}_3\text{COOH}] = 25 \times 10^{-3} \text{ M}$$

$$6.623[\text{CH}_3\text{COOH}] = 25 \times 10^{-3} \text{ M}$$

$$[\text{CH}_3\text{COOH}] = 3.77 \times 10^{-3} \text{ M}$$

$$[\text{CH}_3\text{COONa}] = 0.0121 \text{ M}$$

CH_3COOH ;

จากสูตร $C_1V_1 = C_2V_2$

$$1\text{M}(V_1) = 3.77 \times 10^{-3} \text{ M}(1000\text{mL})$$

$$V_1 = 3.77 \text{ mL}$$

CH_3COONa ;

$$136.08\text{g/mol} = X \text{ g}/0.0212$$

$$X = 2.88\text{g}$$

ดังนั้นต้องชั่ง CH_3COOH มา 2.88g ละลายในน้ำกลั่นประมาณ 500 mL จากนั้นเติมสารละลาย

CH_3COOH 3.77 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 1000 mL

2. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร MRS (Carbohydrate-free Man-Rogosa-Sharp) 1 ลิตร

6. Protease peptone	10 กรัม
7. Beef extract	10 กรัม
8. Yeast extract	5 กรัม
9. Dextrose	20 กรัม
10. Polysorbate 80	1 กรัม
11. Ammonium citrate	2 กรัม
12. Sodium acetate trihydrate	5 กรัม
13. Magnesium Sulphate	0.1 กรัม
14. Manganese Sulphate	0.05 กรัม
15. Dipotassium phosphate	2 กรัม

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร ถ้าเป็นอาหารสูตร MRS agar เติม agar 15 กรัม

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast Malt medium (YM)

16. Yeast extract	3 กรัม
17. Malt extract	3 กรัม
18. Peptone	5 กรัม
19. Glucose	10 กรัม

ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร ถ้าเป็นอาหารสูตร YM agar เติม agar 20 กรัม

