

การใช้เทคโนโลยีเอนไซม์ในการผลิตสารที่มีศักยภาพเป็นพรีไบโอติก

ENZYME TECHNOLOGY FOR PRODUCING POTENTIAL
PREBIOTIC SUBSTANCES



สหกิจศึกษานี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตาม
หลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ร่วมกับ
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ENZYME TECHNOLOGY FOR PRODUCING POTENTIAL
PREBIOTIC SUBSTANCES



COOPERATIVE EDUCATION SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
IN BIOTECHNOLOGY DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG WITH
THAILAND INSTITUTE OF SCIENTIFIC AND TECHNOLOGICAL

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ภายในที่ปรึกษาการศึกษาเท่านั้น โปรดอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

RESEARCH ACADEMIC YEAR 2015

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อสหกิจศึกษา การใช้เทคโนโลยีเอนไซม์ในการผลิตสารที่มีศักยภาพเป็นพรีไบโอติก
Enzyme Technology for Producing Potential Prebiotic Substances

ชื่อนักศึกษา นายพราวพรรณ สว่างพาณิชย์ 55051134
 นางสาวพิมพ์ศิริ สิทธิคำ 55051141

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา ชีววิทยา

ปีการศึกษา 2558

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ. ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ดร. เปรมสุตา สมาน

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้สหกิจศึกษาเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2558

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
รศ. ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ ประธานกรรมการ	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์และเผยแพร่เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ใดเห็นหน้าไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การใช้เทคโนโลยีเอนไซม์ในการผลิตสารที่มีศักยภาพเป็นพรีไบโอติก
ชื่อนักศึกษา	นายพราวพรรณ สว่างพาณิชย์ และ นางสาวพิมพ์ศิริ สิทธิคำ
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
ภาควิชา	ชีววิทยา (เทคโนโลยีชีวภาพ)
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)
ปีการศึกษา	2558
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ. ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ดร. เปรมสุตา สมาน

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการใช้เทคโนโลยีเอนไซม์เพื่อการผลิตสารที่มีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติกซึ่งประกอบด้วยการศึกษาการผลิตพรีไบโอติกโดยการใช้เทคโนโลยีเอนไซม์ โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ทางการค้าเปรียบเทียบกับการย่อยแป้ง 6 ชนิด ได้แก่ แป้งมัน แป้งข้าวโพด แป้งสาลี แป้งข้าวเหนียว แป้งข้าวเจ้า และแป้งกล้วยดิบ เพื่อผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ พบว่าการใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เบตาอะไมเลส พุสูลูแลนส และทรานกลูโคซิเดสรวมกันให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของมอลโทสสูงถึงร้อยละ 17.68 โดยระยะเวลาในการย่อยชั่วโมงที่ 18 ถึง 42 พบปริมาณไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ค่อนข้างหนาแน่นซึ่งแป้งกล้วยดิบย่อยให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของมอลโทสสูงสุด นอกจากนี้ยังมีการนำเอนไซม์แมนนาเนสมาย่อยบุกและกากมะพร้าวเพื่อผลิตเป็นพรีไบโอติกในกลุ่มแมนโนโอลิโกแซ็กคาไรด์ และทำการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสในสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยบุก พบว่าการใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสที่ร้อยละ 0.5 ปริมาตรต่อน้ำหนักได้ปริมาณแมนโนโอลิโกแซ็กคาไรด์ค่อนข้างหนาแน่นโดยระยะเวลาในการย่อยชั่วโมงที่ 2 ถึง 5 และจากการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์พบว่าการใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสที่ร้อยละ 15 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของแมนโนสสูงที่สุด และพบว่าการใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสที่ร้อยละ 5 ในชั่วโมงสุดท้ายของการย่อยเอนไซม์มีแนวโน้มถูกยับยั้งมากที่สุด

คำสำคัญ: กิจกรรมของพรีไบโอติก เทคโนโลยี เอนไซม์ พรีไบโอติก โพรไบโอติก แมนโนโอลิโกแซ็กคาไรด์ น้ำตาลรีดิวซ์ ไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Enzyme Technology for Producing Potential Prebiotic Substances
Students	Mr. Phroawphan Sawangphanich 55051134 Miss. Pimsiri Sittikom 55051141
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)
Department	Biology
Faculty	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang
Academic Year	2015
Advisor	Assoc. Prof. Dr. Suree Nanasombat
Co-advisor	Dr. Premsuda Saman

Abstract

This research is to study the application of enzyme technology for the production of prebiotic potential substances, which consist of the production of prebiotics by using enzyme technology. Based on the work of commercial starch digesting enzyme to digest 6 types of flour including tapioca, corn, wheat, glutinous rice, rice and banana flours to produce Isomalto-oligosaccharide, the use of enzyme combination (alpha-amylase, beta-amylase, pullulanase and transglucosidase) increased reducing sugar of maltose as high as 17.68 %. At 18-42 hours of digestion period, a lots of isomalto-oligosaccharide, digested banana flour released highest reducing sugar of maltose. In addition, mannanase was used to digest konjac and coconut residue to produce a prebiotic group manno-oligosaccharide. In the study of mannanase concentration in optimal conditions for konjac digestion, the use of mannanase concentration at 0.5 % v/m resulted in high amount of manno-oligosaccharide at 2-5 hour digestion period. The analysis of reducing sugar showed that use of 15 % mannanase released the highest reducing sugar content of mannose. The activity of mannanase at 5 % in last hour of digestion tended to be inhibited.

Keywords: Prebiotics activity, Prebiotics, Probiotics, Manno-oligosaccharide, Reducing sugar, Isomalto-oligosaccharide

กิตติกรรมประกาศ

การปฏิบัติงานในฐานะนักศึกษาสหกิจ ณ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดีเนื่องจากได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย จึงขอขอบพระคุณ ดร. บัณฑิต ผึ้งสินธุ์ ผู้อำนวยการฝ่ายวิทยาศาสตร์ชีวภาพ ดร. เปรมสุตา สมาน นักวิจัยและมีตำแหน่งเป็นที่ปรึกษาโครงการที่เปิดโอกาสให้นักศึกษาได้เข้าปฏิบัติงานในฐานะนักศึกษาสหกิจศึกษาในฝ่ายวิทยาศาสตร์ชีวภาพรวมทั้งการให้ความรู้ข้อมูลด้านการวางแผนงาน การแก้ไขปัญหาและอำนวยความสะดวกในด้านต่างๆ

ขอกราบขอบพระคุณ รศ. ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ ที่กรุณาเป็นที่ปรึกษาในด้านการแก้ไขเล่มวิทยานิพนธ์และความรู้ด้านวิชาการจนประสบความสำเร็จในการทำเล่มวิทยานิพนธ์ที่สมบูรณ์แบบ

ขอกราบขอบพระคุณ ดร. เปรมสุตา สมาน ที่กรุณาเป็นที่ปรึกษาทั้งในด้านความรู้ ข้อเสนอแนะทางวิชาการ ด้านการอำนวยความสะดวกด้านการจัดหาเครื่องมือ อุปกรณ์ และสารเคมี การจัดตารางเวลาการทำงานตลอดจนอบรมสั่งสอน

ขอขอบคุณ คุณชุตินา กวนชา ที่เป็นพี่เลี้ยงดูแลนักศึกษาเป็นอย่างดี ปรึกษาปัญหาในการทำงานและรายงานวิทยานิพนธ์ แก้ไขปัญหาในด้านการทำงาน ควบคุมการทำงานของนักศึกษาคจนประสบผลสำเร็จ

ขอขอบคุณ คุณจุฑามาศ สุขเจริญ ที่คอยควบคุมความเรียบร้อยในห้องปฏิบัติการ เสนอข้อเสนอแนะและความรู้ในการปฏิบัติงานด้านวิทยาศาสตร์ ด้านการอำนวยความสะดวกในการจัดหาอุปกรณ์และสารเคมีตลอดจนอบรมสั่งสอนด้านการทำงานและด้านการใช้ชีวิต

ขอขอบคุณนักวิจัย พนักงาน เจ้าหน้าที่ทุกๆท่าน ณ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยที่ให้ความเมตตากรุณาทั้งด้านความรู้ข้อเสนอแนะในการทำงานวิจัย ด้านการอำนวยความสะดวกพื้นฐาน ด้านการอุปโภคบริโภค ด้านการค้นคว้าและสอบถามข้อมูล ด้านการใช้ชีวิตในการทำงานและด้านอื่นๆที่ผู้ศึกษาได้กล่าวมาไม่หมด

พราวพรรณ สว่างพานิชย์

พิมพ์ศิริ สิทธิคำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	จ
สารบัญรูป.....	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย/ปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 อาหารเพื่อสุขภาพ (functional food).....	4
2.2 พรีไบโอติก (prebiotic).....	4
2.3 ตัวอย่างวัตถุดิบทางการเกษตร.....	13
2.4 ไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ (Isomalto-oligosaccharides, IMOs).....	17
2.5 องค์ประกอบของแป้ง.....	18
2.6 กระบวนการย่อยแป้งในอุตสาหกรรม.....	24
2.7 เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อย.....	25
2.8 เทคนิคการวิเคราะห์องค์ประกอบและปริมาณของพรีไบโอติก.....	29
2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	33
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	
3.1 การผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแป้งโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้า	35
3.2 การผลิตพรีไบโอติกจากบุกและกากมะพร้าว.....	36
บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล	
4.1 การผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแป้งโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้า	44
4.2 การผลิตพรีไบโอติกจากบุกและกากมะพร้าว.....	56
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	75
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	76
เอกสารอ้างอิง.....	77

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก	วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมีสำหรับวิเคราะห์	84
ภาคผนวก ข	วิธีการดำเนินงาน	87
ภาคผนวก ค	ผลการดำเนินการ	98
ภาคผนวก ง	เครื่องมืออุปกรณ์และวัสดุดิบ	125
ภาคผนวก จ	ตารางแสดงข้อมูลดิบ	137
ภาคผนวก ฉ	การทดลองอื่นๆ	176



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 กระบวนการผลิตพรีไบโอติกทางการค้าวิธีการผลิตตัวอย่างพรีไบโอติก.....	4
2.2 กระบวนการผลิตพรีไบโอติกทางการค้า.....	11
2.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแป้งกล้วย (กล้วยน้ำว้า).....	23
3.1 การเตรียมสารละลายน้ำตาลมาตรฐาน.....	37
3.2 การเตรียมสารละลายน้ำตาลมาตรฐาน.....	41



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 โครงสร้างของมอลโทส (maltose).....	6
2.2 โครงสร้างของอินูโลไบโอส (inulobiose).....	6
2.3 โครงสร้างของแรฟฟิโนส (raffinose).....	7
2.4 โครงสร้างของไซโลไบโอส (xylobiose).....	8
2.5 โครงสร้างของไอโซมอลโทไตรโอส (isomaltotriose).....	8
2.6 โครงสร้างของแมนโนไตรโอส (mannotriose).....	9
2.7 โครงสร้างของอินูลิน (inulin).....	10
2.8 การผลิตพรีไบโอติกโดยการย่อยสลายด้วยเอนไซม์.....	13
2.9 โครงสร้างของอะไมโลส.....	18
2.10 โครงสร้างของอะไมโลสเพกทิน.....	19
2.11 กรรมวิธีการผลิตแป้งข้าวเจ้า.....	21
2.12 การทำงานของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส.....	26
2.13 การทำงานของเอนไซม์เบตาอะไมเลส.....	27
2.14 การทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส.....	27
2.15 การทำงานของเอนไซม์ย่อยพันธะกิ่ง.....	28
2.16 แสดงการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ทรานส์กลูโคซิเดส.....	28
2.17 แสดงการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์แมนนาเนส.....	29
2.18 Development แผ่น TLC.....	30
2.19 ปฏิกิริยาการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธี Phenol Sulfuric.....	32
2.20 ปฏิกิริยาการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS).....	32
3.1 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส.....	38
3.2 กราฟมาตรฐานน้ำตาลมอลโทส.....	38
3.3 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส.....	41
3.4 กราฟมาตรฐานน้ำตาลแมนโนส.....	42
4.1 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของแป้งมัน.....	45
4.2 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของแป้งข้าวเจ้า.....	46
4.3 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของแป้งข้าวเหนียว.....	46
4.4 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของแป้งสาลี.....	47
4.5 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของแป้งกล้วยดิบ.....	47
4.6 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของแป้งข้าวโพด.....	48
4.7 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของแป้งมัน (เพิ่มฟลูลูานอส).....	49
4.8 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของแป้งข้าวเจ้า (เพิ่มฟลูลูานอส).....	49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ไม่อนุญาตให้ทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.9 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของแป้งข้าวเหนียว (เพิ่มพุลลูลานอส)	50
4.10 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของแป้งสาลี (เพิ่มพุลลูลานอส).....	50
4.11 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของแป้งกล้วยดิบ (เพิ่มพุลลูลานอส)	51
4.12 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของแป้งข้าวโพด (เพิ่มพุลลูลานอส).....	51
4.13 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาล กลูโคสของการย่อยแป้งกับระยะเวลาที่ทำการย่อยด้วยเอนไซม์	52
4.14 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาล มอลโทสของการย่อยแป้งกับระยะเวลาที่ทำการย่อยด้วยเอนไซม์	53
4.15 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาล กลูโคสของการย่อยแป้งกับระยะเวลาที่ทำการย่อยด้วยเอนไซม์	54
4.16 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาล มอลโทสของการย่อยแป้งกับระยะเวลาที่ทำการย่อยด้วยเอนไซม์	54
4.17 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของบุก	59
4.18 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของกากมะพร้าว เวลาตั้งแต่ 0 – 9 ชั่วโมง	59
4.19 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของกากมะพร้าว เวลาตั้งแต่ 12 – 72 ชั่วโมง	60
4.20 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาล กลูโคสและแมนโนสของการย่อยบุกกับระยะเวลาที่ทำการย่อยด้วยเอนไซม์	60
4.21 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาล กลูโคสและแมนโนสของการย่อยกากมะพร้าวกับระยะเวลาที่ทำการย่อยด้วยเอนไซม์	61
4.22 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ Free amino nitrogen ของการย่อยบุกกับระยะเวลาที่ทำการย่อยด้วยเอนไซม์	62
4.23 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ Free amino nitrogen ของการย่อยกากมะพร้าวกับระยะเวลาที่ทำการย่อยด้วยเอนไซม์.....	62
4.24 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของบุกที่ย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 0.5 เวลาตั้งแต่ 0 – 4.3 ชั่วโมง	64
4.25 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของบุกที่ย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 0.5 เวลาตั้งแต่ 5 – 10 ชั่วโมง	64
4.26 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของบุกที่ย่อย ด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 1 เวลาตั้งแต่ 0 – 4.3 ชั่วโมง.....	65
4.27 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของบุกที่ย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 1 เวลาตั้งแต่ 5 – 10 ชั่วโมง	65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.28 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของบุงที่ย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 2.5 เวลาตั้งแต่ 0 – 4.3 ชั่วโมง	66
4.29 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของบุงที่ย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 2.5 เวลาตั้งแต่ 5 – 10 ชั่วโมง	66
4.30 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของบุงที่ย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 5 เวลาตั้งแต่ 0 – 4.3 ชั่วโมง	67
4.31 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของบุงที่ย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 5 เวลาตั้งแต่ 5 – 10 ชั่วโมง	67
4.32 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของบุงที่ย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 10 เวลาตั้งแต่ 0 – 4.3 ชั่วโมง	68
4.33 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของบุงที่ย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 10 เวลาตั้งแต่ 5 – 10 ชั่วโมง	68
4.34 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของบุงที่ย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 15 เวลาตั้งแต่ 0 – 4.3 ชั่วโมง	69
4.35 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของบุงที่ย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 15 เวลาตั้งแต่ 5 – 10 ชั่วโมง	69
4.36 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของบุงที่ย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 20 เวลาตั้งแต่ 0 – 4.3 ชั่วโมง	70
4.37 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของบุงที่ย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 20 เวลาตั้งแต่ 5 – 10 ชั่วโมง	70
4.38 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของบุงที่ย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 25 เวลาตั้งแต่ 0 – 4.3 ชั่วโมง	71
4.39 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของบุงที่ย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 25 เวลาตั้งแต่ 5 – 10 ชั่วโมง	71
4.40 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาลกลูโคสของการย่อย บุงที่ความเข้มข้นต่างๆของเอนไซม์แมนนาเนสกับระยะเวลาที่ทำการย่อยด้วยเอนไซม์	72
4.41 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาลแมนโนสของการย่อย บุงที่ความเข้มข้นต่างๆของเอนไซม์แมนนาเนสกับระยะเวลาที่ทำการย่อยด้วยเอนไซม์	73
4.42 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ Free amino nitrogen ของการย่อยบุง ที่ความเข้มข้นต่างๆของเอนไซม์กับระยะเวลาที่ทำการย่อยด้วยเอนไซม์	74

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

งานวิจัยนี้เป็นการใช้เทคโนโลยีเอนไซม์ในการผลิตสารที่มีศักยภาพเป็นพรีไบโอติก ประกอบด้วย 2 ส่วน คือ การผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแป้งโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้าและการผลิตพรีไบโอติกจากบุกและกากมะพร้าวด้วยเอนไซม์ทางการค้า ซึ่งมีความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา ดังนี้

1.1.1 การผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแป้งโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้า

ปัจจุบันไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์เป็นวัตถุดิบที่สำคัญต่ออุตสาหกรรมอาหารเป็นอย่างมากเพราะเป็นวัตถุดิบปรุงแต่งรสหวานที่นิยมใช้กันแพร่หลาย แต่มีต้นทุนสูงเพราะส่วนใหญ่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ ในงานวิจัยนี้เราจึงหาวัตถุดิบที่เหมาะสมเพื่อผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์เพื่อลดต้นทุนในการนำเข้าด้วยการผลิตในประเทศโดยใช้วัตถุดิบที่มีในประเทศเอง โดยวัตถุดิบที่เลือกมาผลิต คือ แป้งจากวัตถุดิบทางการเกษตรทั้ง 6 ชนิด ทำการผลิตโดยใช้เอนไซม์ทางการค้า ซึ่งได้แก่ เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เบตาอะไมเลส และพุลลูแลนส โดยเอนไซม์เหล่านี้ย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลมอลโทสและเอนไซม์ทรานส์กลูโคซิเดส จะช่วยเร่งปฏิกิริยาทรานส์กลูโคซิเลชัน (transglucosylation) ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ (สารโรจน์, 2547) โดยมีการเลือกและศึกษาแป้งที่จะมาเป็นวัตถุดิบดังนี้

แป้งที่ได้จากวัตถุดิบทางการเกษตรที่จะนำมาผลิต ไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ ได้แก่ แป้งมัน แป้งข้าวเจ้า แป้งสาลี แป้งข้าวเหนียว แป้งข้าวโพดและแป้งกล้วยดิบ สุวิมล (2552) ได้ทำการทดลองผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์โดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เบตาอะไมเลสในการย่อยแป้งกล้วยดิบและใช้ทรานส์กลูโคซิเดสเปลี่ยนเป็นน้ำตาลได้ปริมาณไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ร้อยละ 30 ของสารตั้งต้น ในขณะที่เดียวกันงานวิจัยของ ยุทธชัย (2557) ได้ผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จากการใช้เอนไซม์อัลฟาอะไมเลส เบตาอะไมเลส และมอลโทลินสย่อยแป้งมันสำปะหลัง และเปลี่ยนเป็นน้ำตาลโดยทรานส์กลูโคซิเดส ได้ปริมาณไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ 53.8 กรัมต่อลิตร จากการศึกษาองค์ประกอบหลักของแป้งข้าวเจ้า แป้งสาลี แป้งข้าวโพด แป้งข้าวเหนียว พบว่ามีองค์ประกอบหลักใกล้เคียงกับแป้งกล้วย และแป้งมันสำปะหลังนั่นคือ อะไมโลส และอะไมโลเพกตินซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในการย่อยด้วยเอนไซม์แล้วได้ไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ (Hizukuri, 1988; Beynum และ Roels, 1985)

ไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ (isomalto-oligosaccharides, IMOs) เป็นโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่มีหน่วยย่อยเป็นน้ำตาลกลูโคสต่อกันด้วยพันธะแอลฟา-1,6 โกลโคซิดิก ประกอบด้วยน้ำตาลไอโซมอลโทส พาโนส ไอโซมอลโทไตรออส และโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่มีลักษณะเป็นกิ่งก้านชนิดอื่นๆ เป็นต้น (Shetty, 1999) ไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ไม่ถูกย่อยสลายในร่างกายสิ่งมีชีวิต เป็นสารให้ความหวานที่ให้พลังงานต่ำและไม่มีผลต่ออินซูลินในเลือด สามารถใช้เป็นสารให้ความหวานสำหรับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บุคคลที่ต้องการลดน้ำหนักและเป็นโรคเบาหวาน การบริโภคไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จะไม่ทำให้เกิดฟันผุเนื่องจากจุลินทรีย์ในช่องปากไม่สามารถใช้ไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์นอกจากนี้ไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ยังจัดเป็นสารจำพวก 프리ไบโอติก โดยจะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย และจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ชนิดอื่นๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์ (Shetty, 1999) ปัจจุบันไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์กำลังได้รับความสนใจในอุตสาหกรรมเนื่องจากมีคุณสมบัติที่เหมาะสม เช่น มีความหนืดต่ำ และมีความคงตัวสูงในสภาวะที่เป็นกรด เป็นต้น มักนิยมใส่ลงไปในอาหาร เครื่องดื่ม และของหวาน (Kuriki และคณะ, 1993) หากมีวัตถุดิบที่หาได้ง่าย ราคาถูก ผลิตแล้วได้ไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่สูง อย่างแป้งที่ใช้ในการทดลอง เช่น แป้งกล้วย แป้งมัน แป้งข้าวเหนียว แป้งสาลี แป้งข้าวเจ้า และ แป้งข้าวโพด เป็นต้น จะเป็นการช่วยลดต้นทุนในการผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ ดังนั้นการผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแป้งดังกล่าวโดยใช้เอนไซม์ทางการค้าซึ่งได้แก่ แอลฟาอะไมเลส เบตาอะไมเลส พูลูลาเนส และ ทรานส์กลูโคซิเดส จึงมีความน่าสนใจในระดับอุตสาหกรรมเนื่องจากดำเนินการง่ายและใช้ต้นทุนต่ำ

1.1.2 การผลิตฟรีไบโอติกจากบุกและกากมะพร้าว

บุกเป็นพืชที่นิยมปลูกทั่วไปของประเทศไทยและมีราคาไม่แพง บุกมีองค์ประกอบสำคัญได้แก่ กลูโคแมนแนน ซึ่งจะประกอบไปด้วยน้ำตาลสองชนิด คือ กลูโคส 2 ส่วน และแมนโนส 3 ส่วน และในส่วนของมะพร้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของไทยและนิยมปลูกกันอย่างแพร่หลาย ในส่วนของกากมะพร้าวเป็นส่วนที่เหลือทิ้งจากมะพร้าวซึ่งมีองค์ประกอบที่สำคัญคือ แมนโนพอลิแซ็กคาไรด์ (สุดารัตน์, 2552; นฤมล และคณะ, 2557) ในงานวิจัยนี้ได้นำบุกและกากมะพร้าวมาด้วยเอนไซม์แมนนาเนส โดยใช้เอนไซม์แมนนาเนสย่อยกลูโคแมนแนนและแมนโนพอลิแซ็กคาไรด์ซึ่งเป็นองค์ประกอบสำคัญในบุกและกากมะพร้าวให้ได้เป็น แมนโนโอลิโกแซ็กคาไรด์

จากการวิจัยของ Chaiongkam และคณะ (2009) พบว่าการนำบุกมาด้วยเอนไซม์แมนนาเนสที่ผลิตขึ้นจากเชื้อรา ได้ผลิตภัณฑที่สุดท้ายเป็นแมนโนส และขณะเดียวกันในงานวิจัยของ พิชามณูชู้ และคณะ (2556) พบว่าการย่อยกากมะพร้าวด้วยเอนไซม์แมนนาเนสเมื่อผ่านไป 30 ชั่วโมง ได้ผลผลิตเป็นแมนโนส 7.51 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากงานวิจัยดังกล่าว พบว่าได้แมนโนสเป็นผลผลิตเช่นเดียวกันโดยแมนโนสเป็นโมโนเมอร์ของแมนโนโอลิโกแซ็กคาไรด์ นั้นหมายความว่าหากเลือกปริมาณเอนไซม์และเวลาที่ทำการย่อยได้เหมาะสมจะมีโอกาสผลิตแมนโนโอลิโกแซ็กคาไรด์ขึ้นมาได้

แมนโนโอลิโกแซ็กคาไรด์ประกอบไปด้วย แมนโนสต่อกันด้วยพันธะเบตา-1,4 ไกลโคซิดิก มีความคงตัวสูง ไม่ถูกย่อยได้ง่าย และมีคุณสมบัติเป็นฟรีไบโอติก ซึ่งน้ำตาลในกลุ่มนี้ประกอบด้วยแมนโนส แมนโนโบไอส แมนโนไตรไอส และแมนโนเตตระไอส เป็นต้น สารในกลุ่มนี้มักเป็นส่วนประกอบในอาหารสัตว์เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในด้านต่างๆ ทำให้จุลินทรีย์ที่อยู่ในลำไส้ของสัตว์เพิ่มจำนวนขึ้นทำให้สัตว์เจริญเติบโตดีขึ้น กระตุ้นระบบทางเดินอาหาร และระบบภูมิคุ้มกันของสัตว์ (กิริณา และคณะ, 2556) การผลิตแมนโนโอลิโกแซ็กคาไรด์จากบุกและกากมะพร้าวเป็นวัตถุดิบจะทำให้ลดต้นทุนการผลิตไปมากเพราะเป็นวัตถุดิบราคาถูก ซึ่งเป็นผลดีต่ออุตสาหกรรมปศุสัตว์ประเทศไทย

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแป้งโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

1.2.2 เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตฟรีไบโอติกจากบุกและกากมะพร้าว

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีเหตุดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงชื่อเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1.3.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ด้วยการใช้เอนไซม์ชนิดต่างๆร่วมกัน ได้แก่ เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เบตาอะไมเลส พูลูลูนาเนส และทรานส์กลูโคซิเดส
- 1.3.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตพรีไบโอติกจากบุกและกากมะพร้าว
- 1.3.3 ศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสในสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยบุก

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1.4.1 ทำให้ทราบสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแป้งโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้า
- 1.4.2 ทำให้ทราบสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตพรีไบโอติกจากบุกและกากมะพร้าว
- 1.4.3 ช่วยสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับวัตถุดิบทางการเกษตรและสามารถนำบุกและกากมะพร้าวมาพัฒนาให้เกิดประโยชน์
- 1.4.4 ทำให้ทราบกรรมวิธีการผลิตพรีไบโอติกโดยการสังเคราะห์จากเอนไซม์และสามารถนำไปพัฒนาในระดับอุตสาหกรรมได้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 อาหารเพื่อสุขภาพ (functional food)

อาหารเพื่อสุขภาพเป็นอาหารที่เมื่อรับประทานเข้าไปทำให้เกิดประโยชน์กับสุขภาพทางด้านป้องกันโรคและรักษาโรคหรือเมื่อรับประทานไปแล้วได้รับประโยชน์อื่นๆ นอกเหนือจากโภชนาการพื้นฐาน เช่น ลดปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือด เพิ่มระบบภูมิคุ้มกัน ป้องกันโรคอ้วนและป้องกันมะเร็ง เป็นต้น (สุภาภรณ์, 2549)

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างอาหารที่จัดเป็นอาหารเพื่อสุขภาพ (functional food)

ประเภทของอาหารเพื่อสุขภาพ	ตัวอย่าง
โพรไบโอติก	แบคทีเรียกรดแลคติก เช่น บิฟิโดแบคทีเรีย
พรีไบโอติก	เส้นใยอาหาร โอลิโกแซ็กคาไรด์
วิตามิน	วิตามินบี 6 วิตามินบี 12 วิตามินดี วิตามินเค
แร่ธาตุ	แคลเซียม แมกนีเซียม สังกะสี
สารต้านออกซิเดชัน	วิตามินอี วิตามินซี แคโรทีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ โพลีฟีนอล
โปรตีน เปปไทด์และกรดอะมิโน	ไตรเปปไทด์จากโปรตีนในนม
ลิปิด	โอเมก้า 3
ไฟโตเคมีคัล	ไฟโทสเตอรอล เบต้ากลูแคน ไอโซฟลาโวน ลิกแนน

ที่มา: ปิ่นมณี (2548)

2.2 พรีไบโอติก (prebiotic)

พรีไบโอติกหมายถึงส่วนประกอบของอาหารซึ่งเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารไม่สามารถย่อยได้ ทนต่อการย่อยของกรดในกระเพาะอาหารแต่จะคงเหลืออย่างสมบูรณ์ในส่วนของลำไส้ใหญ่และไม่ถูกดูดซึมในลำไส้เล็กโดยสารพรีไบโอติกจะไปกระตุ้นการทำงานของและส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์กลุ่มโพรไบโอติกซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มนี้จะผลิตกรดไขมันสายสั้น (short chain fatty acids) จากการย่อยพรีไบโอติกและโพรไบโอติกยังพบว่าทำให้ค่าความเป็นกรดในลำไส้ลดลงจึงไปยับยั้งจุลินทรีย์กลุ่มอื่นที่ไม่ดีต่อสุขภาพ สารที่จัดเป็นพรีไบโอติกสามารถพบได้ในอาหารจำพวก ผัก ผลไม้ ธัญพืช เป็นส่วนมาก เส้นใยอาหารมักพบได้ในอาหารที่กล่าวมา เส้นใยอาหารเป็นองค์ประกอบของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ในวงวิชาการศึกษาเท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คาร์โบไฮเดรตที่ได้จากพืช พบว่าการรับประทานอาหารที่มีกากใยอาหารมากในปริมาณมากจะเพิ่มมวลของอุจจาระ ทำให้ระบบขับถ่ายเป็นไปอย่างปกติและการรับประทานใยอาหารมากๆ และยังช่วยลดคอเลสเตอรอลอีกด้วย (ปีนมณี, 2548; จุฬาลักษณ์, 2553)

สารในกลุ่มพรีไบโอติกจัดเป็นอาหารเพื่อสุขภาพเพราะมีประโยชน์ต่อสุขภาพโดยจะกระตุ้นการทำงานและส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติก เช่น แบคทีเรียในกลุ่มแลคติก ได้แก่ แลคโตบาซิลลัส (*Lactobacillus*) และ บิฟิโดแบคทีเรีย (*Bifidobacteria*) พรีไบโอติกและโพรไบโอติกทำงานร่วมกันจะรวมเรียกว่า ซินไบโอติก (synbiotics) จะเป็นผลดีต่อร่างกายมาก ช่วยให้ผูบริโภคมีสุขภาพดีกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์ภายในทางเดินอาหารให้เหมาะสม ทำให้โพรไบโอติกมีการย่อยสลายในระบบนิเวศจุลินทรีย์ที่มีการแข่งขันกันสิ่งที่ตามมา คือ กรดแลคติกที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นจะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคต่างๆ และสร้างสารพิษ เช่น *Clostridium perfringens*, *Salmonella* และช่วยป้องกันลดอาการของโรคติดเชื้อในทางเดินอาหารช่วยลดระดับของคอเลสเตอรอล ฟอสฟอลิพิด และไตรกลีเซอไรด์ในเลือดโดย *Lactobacillus acidophilus* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่อยู่ในลำไส้จะช่วยย่อยสลายคอเลสเตอรอล และยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลผ่านผนังลำไส้ช่วยการดูดซึมอาหารในลำไส้ก็ให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น ลดอาการท้องผูกได้เนื่องจากกรดอินทรีย์ที่บิฟิโดแบคทีเรีย (*bifidobacteria*) ผลิตขึ้นนั้นจะกระตุ้นการบีบตัวของลำไส้และช่วยเพิ่มความชื้นของอุจจาระ ทำให้สามารถขับถ่ายได้ดีขึ้นช่วยเพิ่มการดูดซึมแคลเซียมในระบบย่อยอาหารสามารถผลิตวิตามิน บี 1 บี 2 บี 6 บี 12 กรดนิโคตินิก และกรดโฟลิก ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการรักษาภาวะภูมิแพ้ เสริมสร้างการพัฒนาระบบภูมิคุ้มกันได้ (วันดี, 2551)

2.2.1 สารที่จัดเป็นพรีไบโอติก

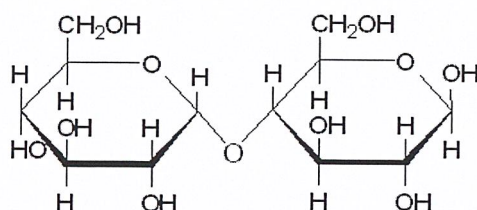
2.2.1.1 น้ำตาลแอลกอฮอล์

น้ำตาลแอลกอฮอล์มีคุณสมบัติเป็นสารให้ความหวานแต่มีความหวานน้อยกว่าเมื่อเทียบกับน้ำตาลทรายหรือซูโครส ให้แคลอรีต่ำ ไม่ทำให้เกิดภาวะน้ำตาลในเลือดสูงอย่างฉับพลันและยังดูดซึมได้ช้าเมื่อเทียบกับน้ำตาลทรายเนื่องจากมีค่า glycemic index ต่ำกว่าน้ำตาลทราย (Brand และคณะ, 2002) ซึ่งค่านี้นับบอกถึงค่าปริมาณระดับน้ำตาลที่เพิ่มขึ้นในกระแสเลือด สารที่จัดเป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ เช่น ซิลิทอล ซอร์บิทอล และมอลทิทอล เป็นต้น มักพบน้ำตาลแอลกอฮอล์ในผักและผลไม้ เช่น สตรอว์เบอร์รี่ แอปเปิ้ล และคื่นช่าย เป็นต้น ประโยชน์ของน้ำตาลแอลกอฮอล์ คือ มีคุณสมบัติของพรีไบโอติกคล้ายกับเส้นใยอาหารทำให้เป็นมิตรกับโพรไบโอติกในระบบทางเดินอาหารแต่หารับประทานน้ำตาลแอลกอฮอล์ในปริมาณมากในระยะสั้นๆ จะทำให้เกิดอาการท้องอืดและท้องร่วงได้ (Leech, 2016)

2.2.1.2 โอลิโกแซ็กคาไรด์ (oligosaccharide)

โอลิโกแซ็กคาไรด์ คือ คาร์โบไฮเดรตสายสั้นประกอบด้วยน้ำตาลตั้งแต่ 2 ถึง 10 โมเลกุลต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก การเรียกชื่อขึ้นอยู่กับมอนแซ็กคาไรด์ (monosaccharide) ที่เป็นองค์ประกอบ เช่น ไดแซ็กคาไรด์ (disaccharide) และ ไตรแซ็กคาไรด์ (trisaccharide) เป็นต้น ในกลุ่มนี้ไดแซ็กคาไรด์นับเป็นน้ำตาลที่พบมากที่สุดในธรรมชาติ เช่น ซูโครส แลกโทสและมอลโทส สำหรับโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่มี 2 หน่วยของมอนอเมอร์ขึ้นไปมักพบเป็นแขนงที่ติดอยู่กับโปรตีนในกลุ่มไกลโคโปรตีน (ชฎามาต, 2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารต้นฉบับที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่ควรนำเอกสารนี้ไปเผยแพร่หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต



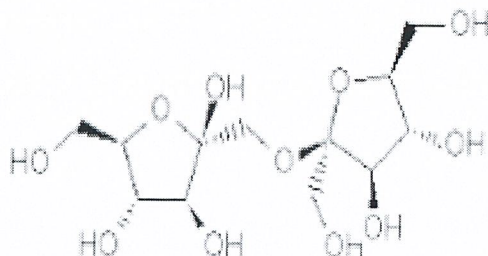
รูปที่ 2.1 โครงสร้างของมอลโทส

ที่มา: <http://www.nmt.ac.thhomechemistrypicmaltose.gif>

โอลิโกแซ็กคาไรด์มีคุณสมบัติเป็นอาหารให้กับเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มที่มีประโยชน์ต่อร่างกายและยังมีประโยชน์ต่อร่างกายในด้านอื่น ๆ เช่น อาการท้องผูก การดูดซึมแร่ธาตุ เมทาบอลิซึมของไขมันและกลูโคส เป็นต้น โดยส่วนมากมักพบโอลิโกแซ็กคาไรด์ทั่วไปในธรรมชาติในพืช ผัก และธัญญาพืช เช่น ข้าวสาลี ข้าวบาร์เลย์ ข้าวมอลต์ หน่อไม้ฝรั่ง หัวหอมใหญ่ รากชิกโครี (chicory root) แก่นตะวัน (Jerusalem artichoke) และถั่วเมล็ดแห้ง (legumes) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีตัวอย่างของโอลิโกแซ็กคาไรด์อีกหลายชนิดดังนี้ (Harrison, 2013)

ก. ฟรักโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ (Fructo-Oligosaccharides, FOS)

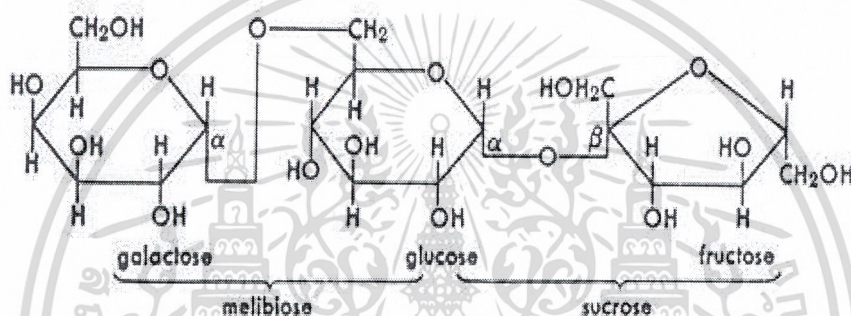
ฟรักโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ คือ โอลิโกแซ็กคาไรด์ที่ประกอบด้วยสายเส้นตรงของฟรักโทสซึ่งต่อกันด้วยพันธะเบตา-2,1 น้ำตาลในกลุ่มนี้ประกอบด้วย เคสโทส (kestose) ไนโทส (nystose) ฟรุคโทซิลไนโทส (fructosylnystose) ไบเพอร์โคส (bifurcose) อินูโลไบโอส (inulobiose) อินูโลไตรโอส (inulotriose) และ อินูโลเตตระโอส (inulotetraose) เป็นต้น ฟรักโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ใช้เป็นสารให้ความหวานทดแทนน้ำตาลเป็นสารให้ความหวานที่ให้พลังงานต่ำกว่าน้ำตาลทรายมีคุณสมบัติเป็นใยอาหารที่ละลายน้ำได้และยังไม่ก่อให้เกิดมะเร็งมักใช้ในอาหารสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวานหรือผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนักเนื่องจากไม่สามารถย่อยได้ในร่างกายมนุษย์ เป็นสารที่แบคทีเรียในช่องปากไม่สามารถย่อยสลายให้เกิดกรดได้จึงไม่เป็นสาเหตุทำให้ฟันผุและการรับประทานฟรักโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ วันละ 4-15 กรัมต่อวัน จะทำให้ลดอาการท้องผูกได้ ฟรักโทโอลิโกแซ็กคาไรด์มักพบในพืชผัก เช่น หัวหอมใหญ่ หน่อไม้ฝรั่ง กระเทียม กล้วย ชิโครี (chicory) และอาร์ทิชอก (artichoke) (Sabater และคณะ, 2009)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้รูปที่ 2.2 โครงสร้างของอินูโลไบโอส (inulobiose) ตีหน้าไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ที่มา: <http://biocyc.org/META/NEW-IMAGE?type=COMPOUND&object=INULOBIOSE>
 "ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น" อีกทั้งยังมีเหตุเปลี่ยนแปลงเนื้อหา และต้องขออภัยล่วงหน้าหากมีข้อผิดพลาดใดๆ

ข. แรฟฟิโนส (raffinose)

แรฟฟิโนสเป็นโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว 3 โมเลกุล คือ น้ำตาลกาแลกโทสต่อกับน้ำตาลซูโครสซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ที่ตำแหน่งแอลฟา-1,6 แรฟฟิโนสไม่สามารถถูกย่อยได้ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์แต่จะถูกย่อยโดยแบคทีเรียซึ่งสร้างแก๊สอยู่ในลำไส้ใหญ่ทำให้เกิดการหมักได้แก๊สออกมาทำให้เกิดอาการท้องอืดและต้องผายลม จึงจัดเป็นสารต้านฤทธิ์สารอาหารชนิดหนึ่ง น้ำตาลแรฟฟิโนสพบมากในถั่วเมล็ดแห้ง (legume) เช่น ถั่วลิสง ถั่วแดง และถั่วลันเตา เป็นต้น และในผักตระกูลกะหล่ำ (cruciferous) ซึ่งได้แก่ กะหล่ำปลี บรอกโคลี และบรัสเซลส์ สปรอซ (Brussels sprout) (Doland, 2016)



รูปที่ 2.3 โครงสร้างของแรฟฟิโนส (raffinose)

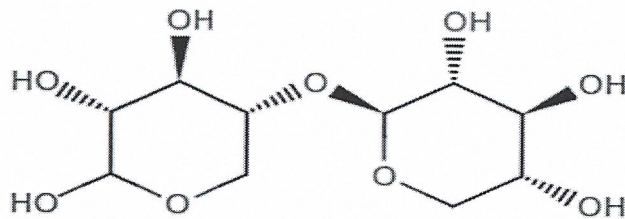
ที่มา: <http://203.158.253.5/wbi/Science>

ค. ไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์ (xylo-oligosaccharide, XOS)

ไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์ประกอบด้วยโมเลกุลของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว คือ น้ำตาลไซโลสซึ่งเป็นน้ำตาลแอลโดส (aldose) มาต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ เช่น ไซโลไบโอส (xylobiose) ไซโลไตรโอส (xylotriose) ไซโลเตตระโอส (xylotetraose) เป็นต้น ไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์ร่างกายไม่สามารถย่อยได้ มีความหวานปานกลาง มีความเสถียรต่อการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชในช่วงกว้าง ทนร้อนและทนต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ มีคุณสมบัติคล้ายกับพรีไบโอติกโอลิโกแซ็กคาไรด์ในทางการค้าพบว่าไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์มีราคาค่อนข้างสูง ปกติพบในผัก ผลไม้ เช่น หน่อไม้ น้ำผึ้ง และน้ำนม สามารถผลิตได้โดยกระบวนการทางเคมี ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความหลากหลายแต่เกิดสารพิษและควบคุมการผลิตได้ยาก ในส่วนของการผลิตจากการย่อยด้วยเอนไซม์จะทำให้ผลิตภัณฑ์มีความบริสุทธิ์สูง การใช้ประโยชน์ในอาหารมีการนำไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์มาใช้เป็นสารให้ความหวานของอาหารเพื่อสุขภาพมากขึ้น เพราะดีต่อผลด้านสุขภาพ คือ เป็นพรีไบโอติกเนื่องจากไม่สามารถย่อยได้ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ แต่แบคทีเรียกลุ่มโพรไบโอติกซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ใหญ่ เช่น *Bifidobacterium* สามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตและผลิตสารที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย จำพวกวิตามินบีต่างๆ และกรดแลคติกซึ่งมีประโยชน์ต่อระบบประสาทของร่างกาย สมอง ระบบทางเดินอาหาร ผลิตสารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคและยังผลิตสารที่มีประโยชน์กับร่างกาย (จิตรลดา และคณะ, 2551)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

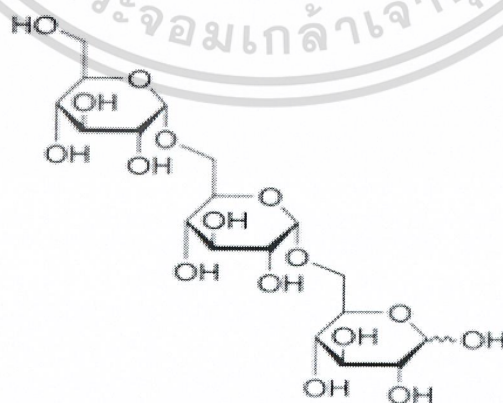


รูปที่ 2.4 โครงสร้างของไซโลไบโอส (xylobiose)

ที่มา: http://www.bmrwisc.edu/metabolomics/mol_summary/

ง. ไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ (isomalto-Oligosaccharide, IMO)

ไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์เป็นส่วนผสมของคาร์โบไฮเดรตสายสั้นที่มีหน่วยย่อยเป็นกลูโคส 3-6 โมเลกุลเชื่อมต่อกันด้วยพันธะแอลฟา-1,6 โดยส่วนประกอบทางเคมีจะมีขนาดเล็กกว่าพอลิแซ็กคาไรด์และมีคุณสมบัติทนต่อการย่อย ไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์พบในอาหารจากธรรมชาติตลอดจนอาหารที่ผลิตในเชิงการค้า โดย ได้แก่ ไอโซมอลโทส (isomaltose) พาโนส (panose) ไอโซมอลโทไตรโอส (isomaltotriose) ไอโซมอลโทเตตระโอส (isomaltotetraose) ไอโซมอลโทเพนตะโอส (isomaltopentaose) ไนเจอโรส (nigerose) โคจิไบโอส (kajibiose) และโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่มีกิ่งมาก วัตถุประสงค์ในการผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ส่วนใหญ่เป็นแปงผลิตโดยการใช้เอนไซม์ในการตัดและเปลี่ยนเป็นส่วนผสมของไอโซมอลโอลิโกแซ็กคาไรด์ ผลิตภัณฑ์ที่พบไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ ได้แก่ มิโซะ ซาเก และซอสถั่วเหลือง เป็นต้น ไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ยังเหมาะเป็นอาหารสำหรับผู้ที่เป็นเบาหวานเนื่องจากมีค่า glycemic index ที่ต่ำ ส่งเสริมการเจริญให้เชื้อจุลินทรีย์ที่ดีในลำไส้ใหญ่ส่วนโคลอน (colon) เพิ่มการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิดและยังสามารถเพิ่มผิวสัมผัสให้อาหารได้อีกด้วย (Land, 2009; Hertzler, 2012)



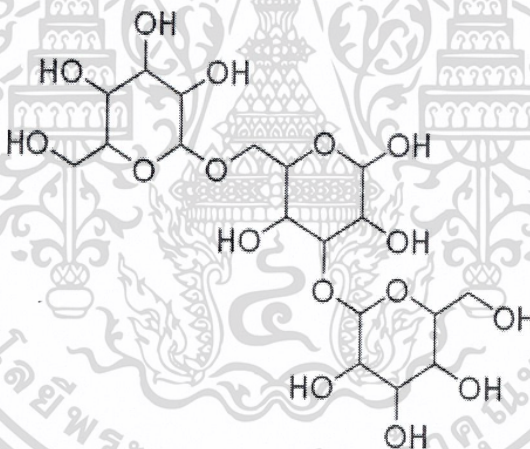
รูปที่ 2.5 โครงสร้างของไอโซมอลโทไตรโอส (isomaltotriose)

ที่มา: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/i0381?lang=en®ion=TH>

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จ. แมนโนโอลิโกแซ็กคาไรด์ (Manno-Oligosaccharide, MOS)

แมนโนโอลิโกแซ็กคาไรด์เป็นสารโอลิโกแซ็กคาไรด์ชนิดหนึ่ง ซึ่งมีน้ำตาลแมนโนสมาต่อกันด้วยพันธะเบตา-1,4 เช่น แมนโนส แมนโนไบโอส แมนโนไตรโอส และแมนโนเตตระโอส เป็นต้น เป็นองค์ประกอบ มีความคงตัวสูงและไม่ถูกย่อยทำลายได้โดยกรดหรือด่าง แต่จะถูกย่อยได้โดยเอนไซม์แมนนาเนสที่หลั่งจากแบคทีเรียหรือเชื้อรา เพื่อนำไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและฟอสเฟต ในปัจจุบันได้มาจากการตัดต่อพันธุกรรมเพื่อให้ผลิตเอนไซม์แมนนาเนสให้ได้มากขึ้นเพื่อนำไปย่อย สารตั้งต้นให้ได้น้ำตาลแมนโนส (Songsirittigul และคณะ, 2010) สารแมนโนโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่เตรียมได้จากผนังเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* (Mycosob หรือ Bio-Mos) มีกลูแคนร้อยละ 30 แมนแนนร้อยละ 30 และไคตินร้อยละ 12.5 เป็นส่วนประกอบ กลูแคนเรียงตัวเป็นชั้นแรกโดยมีน้ำตาลกลูโคสจับกันด้วยพันธะเบตา-1,6 และ เบตา-1,3 เป็นโครงสร้างหลักหรือแกนของผนังเซลล์ และมีกิ่งก้านหรือแขนเป็น แมนโนส แมนโนไบโอส แมนโนไตรโอสและแมนโนเตตระโอสยึดจับกันอยู่ด้วยพันธะแอลฟา-1,2 และ แอลฟา-1,3 ตัวอย่างเช่น กาแลกโทกลูโคแมนแนน (galactoglucomannan) (กีรณา และคณะ, 2556)



รูปที่ 2.6 โครงสร้างของแมนโนไตรโอส (mannotriose)

ที่มา: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/d5422?lang=en®ion=TH>

2.2.1.3 รีซิสแตนท์ สตาร์ท (resistant starch)

รีซิสแตนท์ สตาร์ท คือ แป้งบางส่วนที่ไม่ถูกย่อยได้โดยเอนไซม์ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เช่น แอลฟาอะไมเลส และแอลฟาอะไมโลไกลโคซิเดส เป็นต้น อาจเป็นเพราะมีโครงสร้างที่ย่อยได้ยาก เช่น เมล็ดธัญพืชและแป้งที่มีโครงสร้างเป็นผลึกมีความหนาแน่นสูง เช่น แป้งมันฝรั่ง แป้งข้าวโพด ข้าวที่ไม่ผ่านการทำให้สุกและแป้งที่ไม่ผ่านการบวกร้อนหรือความเย็นส่วนมากจะประกอบด้วยอะไมโลสประมาณร้อยละ 20-25 ซึ่งจะไม่ถูกดูดซับในลำไส้เล็กและผ่านไปยังลำไส้ใหญ่โดยไม่ถูกย่อย รีซิสแตนท์สตาร์ทจะถูกเปลี่ยนเป็น บิวไทเรต (butyrate) ในลำไส้ใหญ่ส่วนโคลอน (colon) โดยจุลินทรีย์ซึ่งบิวไทเรตส่งผลต่อเมทาบอลิซึม การเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (differentiation) และการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

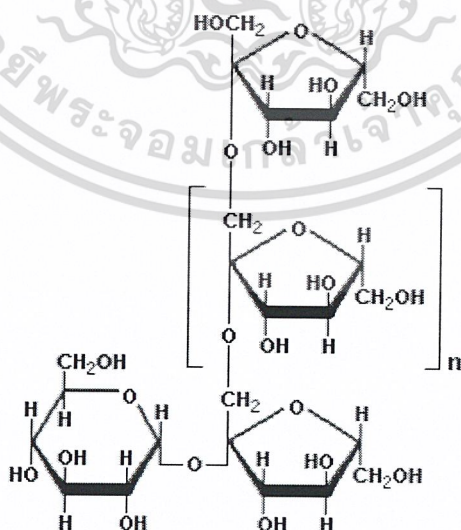
และการเจริญเติบโตของเซลล์ ตลอดจนมีผลต่อการยับยั้งปัจจัยการเจริญของเซลล์มะเร็ง (Champ และคณะ, 2013)

2.2.1.4 พอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ใช่สตาร์ช (non-starch-polysaccharides, NSP)

พอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ใช่สตาร์ช (NSP) เป็นคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อนซึ่งพบในอาหารโดยส่วนใหญ่เป็นใยอาหารหลักของใยอาหารทั้งหมดซึ่งประกอบด้วย เซลลูโลส เพกทิน กลูแคน กัม มูซิเลจ (mucilage) อินูลิน และไคติน พอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ใช่สตาร์ชในข้าวสาลีและข้าวโพดส่วนใหญ่เป็นองค์ประกอบที่ไม่ละลายน้ำและมีคุณสมบัติเป็นยาระบายในขณะที่ข้าวโอ๊ต ข้าวบาร์เลย์ ข้าวไรย์ และถั่ว ส่วนใหญ่จะละลายน้ำและมีผลต่อการลดลงของคอเลสเตอรอล ในพืชผักจะมีส่วนที่ละลายน้ำและไม่ละลายน้ำเท่าๆกันแต่ในผลไม้จะมีอัตราส่วนแตกต่างกันไปโดยแนะนำให้รับประทานเพิ่มขึ้น 13-18 กรัมต่อวัน (David, 2005)

2.2.1.5 อินูลิน (inulin)

อินูลินเป็นเฮทเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ คือ มีโมเลกุลของน้ำตาลมากกว่า 1 ชนิดต่อกันเป็นสายยาวประกอบด้วยโมเลกุลของน้ำตาลฟรักโทสต่อกันยาวตั้งแต่ 10-60 โมเลกุลขึ้นไปและมักประกอบด้วยกลูโคสที่ปลายสายโดยอินูลินร้อยละ 70 จะประกอบด้วยพอลิเมอร์ของน้ำตาล 10 โมเลกุลขึ้นไปอินูลินเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ละลายน้ำได้ ร่างกายไม่สามารถย่อยได้ในระบบทางเดินอาหารแต่ถูกย่อยโดยแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ซึ่งจะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพ อินูลินพบในพืชผักหลายชนิด เช่น หอมหัวใหญ่ กระเทียม แคนตาลิน กลัวย อาร์ติโชค (artichoke) และหัวชิคอร์รี่ (chicory) เป็นต้น อินูลินสามารถนำมาประยุกต์ในอาหารโดยการเติมลงในอาหารเพื่อเพิ่มปริมาณใยอาหารและยังนำมาเติมเพื่อทดแทนไขมันในอาหารบางชนิดเพื่อลดปริมาณไขมันและพลังงานลง (อาณัติ, 2553)



รูปที่ 2.7 โครงสร้างของอินูลิน (inulin)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับงานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่ขอสงวนสิทธิ์ในไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2 การผลิตพรีไบโอติก

การผลิตพรีไบโอติกทำได้หลายวิธี ทั้งการสกัดโดยตรงจากพืชที่มีปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์หรือโอลิโกแซ็กคาไรด์สูง เช่น กล้วย ข้าวสาลี หัวกระเทียม หัวหอม หรือพืชต่างประเทศ เช่น ชิโครี (chicory) และแก่นตะวัน (jerusalem artichoke) เป็นต้น แต่ปัจจุบันวิธีการผลิตพรีไบโอติกในอุตสาหกรรมที่นิยมใช้ คือ การใช้เทคโนโลยีเอนไซม์ และการผลิตด้วยกระบวนการทางเคมี (สุดาทิพย์, 2552) ตามตารางที่ 2.2 แสดงกระบวนการผลิตพรีไบโอติก

ตารางที่ 2.2 กระบวนการผลิตพรีไบโอติกทางการค้า วิธีการผลิต ตัวอย่างพรีไบโอติก

กระบวนการ	ผลิตภัณฑ์
1. การสกัดโดยตรงจากพืชผักผลไม้ที่มีส่วนประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์	- ซอຍปิ่นโอลิโกแซ็กคาไรด์จากน้ำนมถั่วเหลือง - อินูลินจากชิโครี
2. การใช้เอนไซม์ย่อยสลายสารประกอบพอลิแซ็กคาไรด์แล้วใช้เทคนิคโครมาโทกราฟี	- ฟรักโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ - ไฮโลโอลิโกแซ็กคาไรด์จากซังข้าวโพด
3. กระบวนการทรานส์ไกลโคซิลเลชัน (transglycosylation) คือ การใช้เอนไซม์เพื่อสังเคราะห์โอลิโกแซ็กคาไรด์ แล้วใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีทำผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์	- กาแลกโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแลกโทส - ฟรักโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ จากซูโครส
4. กระบวนการทางเคมี	- แลคตูโลสจากปฏิกิริยาไอโซเมอร์ไรเซชันของแลกโทส

ที่มา: Crittenden (2009)

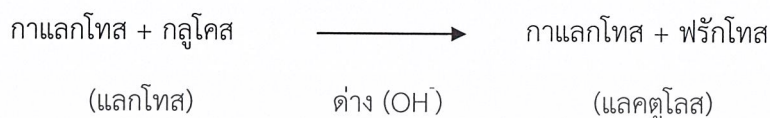
2.2.2.1 การสกัดพรีไบโอติก

การสกัดเป็นวิธีที่ง่ายที่สุดสำหรับการผลิตพรีไบโอติก คือ สามารถสกัดโดยตรงจากพืชหรือผลไม้ที่มีสารพอลิแซ็กคาไรด์เป็นองค์ประกอบ เช่น การสกัดอินูลินจากแก่นตะวันเพื่อใช้เป็นอาหารผลิตภัณฑ์อาหารเสริมโดยการสกัดด้วยน้ำร้อนจากนั้นใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีเพื่อทำให้อินูลินมีความบริสุทธิ์และเข้มข้นจากนั้นนำไปทำให้เป็นผงด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray dryer machine) เพื่อนำไปผสมในอาหารเสริม (สาโรจน์, 2554) วิธีการสกัดพรีไบโอติกได้ 2 วิธี คือ ใช้ปฏิกิริยาทางเคมีและเทคโนโลยีเอนไซม์

2.2.2.2 การใช้ปฏิกิริยาทางเคมี

แลคตูโลสเป็นพรีไบโอติกชนิดเดียวในปัจจุบันที่ผลิตโดยใช้กระบวนการทางเคมี (Timmermans, 1996) โดยปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นโดยใช้ต่างเป็นตัวกระตุ้นทำให้เกิดปฏิกิริยาไอโซเมอร์ไรเซชันไม่ว่่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไรเซชันของโมเลกุลกลูโคสซึ่งเป็นองค์ประกอบของน้ำตาลแล็กโทสให้กลายเป็นฟรักโทสเรียกปฏิกิริยานี้ว่า Lbry de Bruyn-Alberda van Ekenstein ปฏิกิริยาไอโซเมอร์ไรเซชันนี้ทำงานภายใต้สภาวะที่เป็นต่างโดยนิยมใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์และบอเรต (borate) โดยเมื่อปฏิกิริยาเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์แล้วจะทำให้เกิดแลคตูโลสได้ตั้งสมการ (Timmermans, 1996)



ในปัจจุบันวิธีการสังเคราะห์ฟรีโบโอดิกทางเคมีได้เปรียบเนื่องจากมีการใช้ต้นทุนที่ต่ำและสามารถผลิตได้จำนวนมากแต่มีข้อเสียเช่นเดียวกันนั่นก็คือ ผลผลิตกันที่ได้อาจไม่บริสุทธิ์มากพอเพราะในกระบวนการผลิตทางเคมีอาจเกิดสารไม่ใช้ผลิตภัณฑ์หลักออกมาอาจจะต้องมีการทำให้บริสุทธิ์และนอกจากนี้กระบวนการผลิตทางเคมียังใช้พลังงานสูงและปล่อยสารพิษสู่บรรยากาศอีกด้วยหากไม่มีการควบคุมและการจัดการที่ี้อาจเกิดผลเสียต่อส่วนรวมในอนาคตได้เหตุผลดังกล่าวนำมาสู่การคิดค้นการผลิตโดยวิธีใหม่ที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมนั่นคือวิธีการผลิตโดยใช้เทคโนโลยีเอนไซม์ (Timmermans, 1996)

2.2.2.3 การใช้เทคโนโลยีเอนไซม์

การผลิตฟรีโบโอดิกโดยใช้เทคโนโลยีเอนไซม์มีวัตถุประสงค์ทั้งเพื่อย่อยสลายและสังเคราะห์โอลิโกแซ็กคาไรด์แต่การผลิตด้วยกระบวนการทางเคมีจะต้องทำภายใต้สภาวะที่รุนแรงสูง เช่น สภาวะที่มีความดันและอุณหภูมิสูงและอาจเกิดผลิตภัณฑ์อื่นๆในปฏิกิริยาซึ่งอาจเป็นการเพิ่มต้นทุนการกำจัดผลิตภัณฑ์อื่นๆด้วย ดังนั้นการผลิตฟรีโบโอดิกในระดับอุตสาหกรรมจึงนิยมใช้เทคโนโลยีเอนไซม์เนื่องจากควบคุมการผลิตได้ง่ายและผลิตภัณฑ์ที่ได้มีความบริสุทธิ์สูงเนื่องจากความจำเพาะในการทำงานของเอนไซม์ที่ใช้ในการผลิตแต่ต้นทุนในการผลิตสูง (Kohmoto และคณะ, 1998)

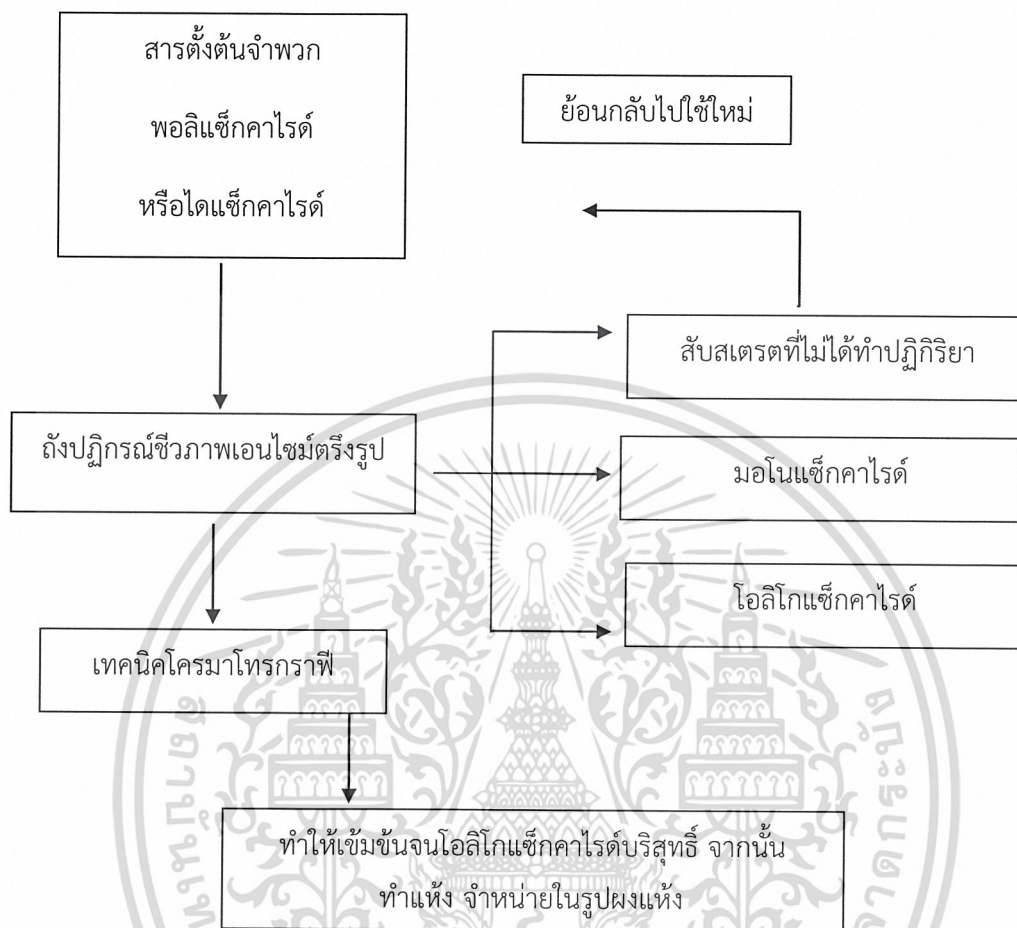
1) การใช้เอนไซม์สังเคราะห์

ตัวอย่างการใช้เอนไซม์สังเคราะห์ฟรีโบโอดิก เช่น ฟรักโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ใช้เอนไซม์ฟรักโทซิลทรานส์เฟอร์เรส ไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ใช้เอนไซม์เบตากาแล็กโทซิเดส (Crittenden, 1999) และทรานส์กาแล็กโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ใช้เอนไซม์ผสมของอะไมเลส พูลูลาเนส และแอลฟาไกลูโคซิเดส (Kohmoto และคณะ, 1998)

2) การใช้เอนไซม์ย่อยสลาย

ฟรีโบโอดิกส่วนใหญ่เป็นสารในกลุ่มโอลิโกแซ็กคาไรด์ ดังนั้นวิธีการหนึ่งที่ใช้ในการผลิตสารฟรีโบโอดิก คือ การใช้เอนไซม์เพื่อย่อยพอลิแซ็กคาไรด์หรือน้ำตาลโมเลกุลใหญ่ เช่น แป้งและเพกทิน เพื่อสร้างผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาลสายสั้นๆ หรือโอลิโกแซ็กคาไรด์ ผลิตภัณฑ์ที่ได้มักอยู่ในรูปของสารผสมของโอลิโกแซ็กคาไรด์หลายชนิดซึ่งอาจยังไม่ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายจึงจำเป็นต้องใช้เทคนิคการคัดแยกสารผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ เช่น เทคนิคโครมาโทกราฟี เป็นต้น รูปแบบการผลิตฟรีโบโอดิกโดยใช้เอนไซม์ย่อยสลายแสดงดังภาพที่ 2.8 ซึ่งจะให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความบริสุทธิ์สูงถึงร้อยละ 85 (Timmermans, 1996)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่ไปยังเว็บไซต์ทางการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.8 การผลิตปุ๋ยไบโอติกโดยการย่อยสลายด้วยเอนไซม์
ที่มา: Timmermans (1996)

2.3 ตัวอย่างวัตถุดิบทางการเกษตร

2.3.1 ผีอก

ถิ่นกำเนิดอยู่ในแถบตะวันออกเฉียงใต้ของทวีปเอเชียในประเทศไทยจังหวัดราชบุรีเป็นจังหวัดที่มีการปลูกเผือกมากที่สุด หัวเผือกเป็นอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตสูงจากการศึกษาของ (สุขฤดี, 2547) พบว่าองค์ประกอบโดยน้ำหนักแห้งของเผือก คือ คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 83.1-91.7 ไขมันร้อยละ 0.3-0.9 โปรตีนร้อยละ 4.2-9.3 โยอาหารร้อยละ 1.1-3.5 เถ้าร้อยละ 2.0-5.1 และมีแคลเซียมออกซาเลต 284.8-456.2 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักแห้ง หัวและทั้งต้นมีผลึกแคลเซียมออกซาเลต (calcium oxalate) ซึ่งทำให้เกิดอาการคัน เช่นเดียวกับพืชชนิดอื่นๆในวงศ์เดียวกัน เช่น บุกและบอนทุกส่วนจึงต้องผ่านการต้มหรือหมักก่อนจึงจะกินได้ เผือกยังมีโปรตีนโพแทสเซียม ฟอสฟอรัส วิตามินบี 1 วิตามินซี และที่สำคัญมีธาตุเหล็กและฟลูออไรด์สูง จึงช่วยทำให้ฟันไม่ผุ กระดูกแข็งแรง ป้องกันเรื่องกระดูกพรุน นอกจากนี้ ยังช่วยบำรุงไต บำรุงลำไส้และแก้อาการท้องเสีย (พิมพ์ชนก, 2557)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับบริการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2 หัว

หัวเป็นพืชที่ขึ้นในน้ำซึ่งมีลักษณะเหมือนข้าวโดยจะมีต้นเรียวคล้ายต้นหอมซึ่งแต่เดิมหัวเป็นพืชที่ขึ้นได้เองตามธรรมชาติแต่ปัจจุบันมีการปลูกหัวเพื่อขายกันมากขึ้นโดยพื้นที่ที่ปลูกหัวกันมากและมีชื่อเสียงคือ จ. สุพรรณบุรี (ศิริกุล, 2559) จากการวิเคราะห์ในหัว 100 กรัม ประกอบด้วย ความชื้นร้อยละ 77.9 โปรตีนร้อยละ 1.53 ไขมันร้อยละ 0.15 ไนโตรเจนร้อยละ 18.9 น้ำตาลร้อยละ 1.74 ซูโครสร้อยละ 6.35 แป้งร้อยละ 7.34 เส้นใยร้อยละ 0.94 แคลเซียม 2-10 ฟอสฟอรัส 52-65 มิลลิกรัม เหล็ก 0.43-0.6 มิลลิกรัม โทอามีน 0.24 มิลลิกรัม ไรโบฟลาวิน 0.007 มิลลิกรัม และกรดแอสโคบิก (ascobic acid) 7.2 มิลลิกรัม (สอนสุพรรณ, 2552) จากการศึกษาสารประกอบในแห่งพบว่า มีสารประกอบฟีนอล เช่น gallic acid, vanillin และ hydrocinnamic acids นอกจากนี้หัวยังมีสรรพคุณบรรเทาอาการคลื่นไส้ อาการเจ็บจากโรคติดเชื้อและร่างกายจากสิ่งสกปรกในร่างกาย หัวที่นำไปทำแห้งมักนำไปเป็นส่วนประกอบของยาอายุวัฒนะ (Mercola, 1994)

2.3.3 บัวหิมะ

บัวหิมะเพาะปลูกกันมากในทางภาคเหนือของโคลัมเบียและอาร์เจนตินา จากงานวิจัยของ (Goto และคณะ, 1995) พบว่ามีองค์ประกอบของน้ำตาลฟรักโทโอลิโกแซ็กคาไรด์มีคุณสมบัติในการลดระดับไตรกลีเซอไรด์ และคอเลสเตอรอลชนิดที่ไม่ดี มีรสชาติหวานนี้ก็มาจากอินูลินซึ่งเป็นน้ำตาลจากธรรมชาติโดยมีการศึกษาพบว่าอินูลินเป็นสารที่ส่งผลดีต่อการทำงานของอวัยวะในร่างกาย ทั่วไปโดยในบัวหิมะเป็นแบคทีเรียชนิดที่ดีต่อร่างกายช่วยให้ร่างกายสามารถดูดซึมสารอาหารได้ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้ยังช่วยในเรื่องระบบขับถ่าย ทำให้อาการท้องผูก ท้องอืด และปัญหาเกี่ยวกับระบบขับถ่ายต่าง ๆ (William, 2006)

2.3.4 หอมหัวใหญ่

หอมหัวใหญ่เป็นพืชหัวที่มีองค์ประกอบของน้ำสูงปลูกได้ทั่วไปในทุกภาคของประเทศไทยมีสารไดฟีนิลลามีน (diphenylamine) และสารแอลลิลโพรพิลไดซัลไฟด์ (allyl propyl disulfide) มีผลช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด หอมหัวใหญ่ประกอบด้วยสารอินทรีย์กำมะถันหลายชนิดแต่เมื่อหัวหอมข้เอนไซม์อัลลิเนส (alliinase) จะย่อยสารอินทรีย์กำมะถันให้เป็นสารกำมะถันที่มีโมเลกุลเล็กของสารเหล่านี้ ได้แก่ สารเมทิลโพรพิลไดซัลไฟด์ (methylpropyl disulfide) ซึ่งสารเหล่านี้เป็นสารที่ทำให้หัวหอมมีกลิ่นเฉพาะตัว นอกจากนี้ยังมีน้ำมันหอมระเหยประกอบด้วย วิตามินเอ วิตามินบี 1 บี 2 และวิตามินซี ในหอมหัวใหญ่ 100 กรัม พบคาร์โบไฮเดรต 9 กรัม ซึ่งแบ่งเป็นใยอาหาร 1.7 กรัม และน้ำตาลอีก 4.2 กรัม (กานดา, 2556)

2.3.5 กระเทียม

ประเทศไทยนิยมปลูกกระเทียมมากทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ แต่สำหรับกระเทียมที่ขึ้นชื่อว่ามีคุณภาพดีมีกลิ่นฉุน คือกระเทียมของจังหวัดศรีสะเกษ ซึ่งในกระเทียม 100 กรัม จะพบคาร์โบไฮเดรต 33 กรัม ซึ่งแบ่งเป็น ใยอาหาร 2.1 กรัมและน้ำตาล 1 กรัม ในด้านฤทธิ์ต้านจุลชีพ กระเทียมมีฤทธิ์ต้านจุลชีพหลายชนิดทั้งเชื้อแบคทีเรียและเชื้อรา ได้แก่ เชื้อที่ทำให้เกิดอาการท้องเสีย *Escherichia coli*, *Bacillus sp.*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* เป็นต้น เชื้อวัณโรค *Mycobacterium tuberculosis* และเชื้อรา *Candida spp.*, *Aspergillus niger* และ *Trichosporon pullulans* เป็นต้น สารสำคัญที่ออกฤทธิ์ในการต้านเชื้อคือ อลิซิน (allicin) และอโจอิน (ajoene) เป็นต้น (สุดารัตน์, 2552)

2.3.6 มันแกว

มันแกวเป็นพืชตระกูลถั่วส่วนที่ใช้เป็นอาหารคือหัวที่อยู่ใต้ดินที่มีถิ่นกำเนิดในหลายพื้นที่เช่นในแถบอเมริกากลางและแอฟริกาตะวันออก คุณค่าทางอาหารของมันแกวนั้นประกอบด้วยน้ำร้อยละ 90.5 โปรตีนร้อยละ 0.9 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 7.6 โดยรสหวานจากมันแกวมามากจากอินูลินซึ่งเป็นน้ำตาลโอลิโกฟรักโทสซึ่งร่างกายไม่สามารถเผาผลาญได้ (ศิริกุล, 2559) มันแกวจึงเป็นอาหารที่เหมาะสมสำหรับผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนักผู้ที่เป็นโรคเบาหวาน มันแกวยังมีแคลเซียม เหล็ก วิตามินซี กรดโพลีค เบตาแคโรทีน และเส้นใยสูงซึ่งช่วยในการขับถ่าย (Pinoy, 2010)

2.3.7 กลัวย

กลัวยมีกำเนิดอยู่ทางเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ได้หลายพันปีมาแล้วเชื่อกันว่ากลัวยเป็นผลไม้ชนิดแรกที่คนปลูกเพื่อเป็นอาหาร ประเทศไทยเราเชื่อแน่ว่าปลูกกลัวยกินมานานมากแล้ว ในกลัวยนี้ว่า 100 กรัม พบว่ามีคาร์โบไฮเดรต 26.1 กรัม กลัวยมีสารเพกทินอยู่มาก จึงช่วยเพิ่มกากอาหาร และมีเมือกช่วยให้ถ่ายสะดวก ผู้ที่ท้องผูกเป็นประจำหากกินกลัวยต่อเนื่องจะช่วยไม่ให้ท้องผูก ผลดิบเป็นผงใช้ป้องกันและบำบัดโรคแผลในกระเพาะอาหารโดยจะไปกระตุ้นให้เซลล์ในเยื่อบุกระเพาะหลั่งสารมิวซินออกมาช่วยเคลือบกระเพาะที่เปื่อยและเนื้อมี ซีโรโทนิน (serotonin) ช่วยยับยั้งการหลั่งน้ำย่อยในกระเพาะอาหาร ผลดิบยังใช้รักษาอาการท้องเสีย บิดมูกเลือด การที่กลัวยสามารถแก้อาการท้องเสียได้ เพราะมีสารแทนนิน ผงกลัวยดิบทั้งเปลือกใช้โรยรักษาแผลเรื้อรัง แผลเน่าเปื่อย (พรพรรณ, 2557; สุภารัตน์, 2552)

2.3.8 ชั่งข้าวโพด

ชั่งข้าวโพดเป็นวัตถุดิบทางการเกษตรที่เหลือทิ้งจากข้าวโพดในเมืองไทยมีการปลูกข้าวโพดกันอย่างแพร่หลายและขึ้นดีในทุกภาคของประเทศไทยและยังมีการนำชั่งข้าวโพดมาเป็นวัตถุดิบในการผสมอาหารให้สัตว์ (เสาวลักษณ์, 2554) พบว่าองค์ประกอบหลักของชั่งข้าวโพดประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 8.01 ไขมันร้อยละ 2.24 เยื่อใยหยาบร้อยละ 23.57 และเอมิเซลลูโลสร้อยละ 20.06 นอกจากนี้ (พิลาณี และคณะ, 2546) ได้ศึกษาการผลิตไซโลสจากชั่งข้าวโพดด้วยวิธีระเบิดด้วยไอน้ำและหม้อนึ่งไอน้ำพบว่าจากชั่งข้าวโพด 100 กรัม ให้ผลผลิตเป็นน้ำตาลไซโลส 16.45 และ 21.15 กรัม ตามลำดับ ชั่งข้าวโพดจะมีกรดอดิพิค (adipic acid) ซึ่งสามารถนำมาใช้สำหรับเป็นตัวผสมร่วมกับ เอทิลีนไกลคอล (ethylene glycol) ใช้ในอุตสาหกรรมยาง ทำเป็นเสื่อน้ำมัน และยังสามารถใช้ในอุตสาหกรรม celluloid นอกจากนี้ยังสามารถนำมาใช้ทำเป็นกล่องยาสูบ ใช้ผสมทรายกับซีเมนต์ก่อสร้างโรงเลี้ยงสัตว์เนื่องจากชั่งข้าวโพดสามารถดูดน้ำได้ดีมากเราจึงต้องผสมสารกันน้ำไว้ด้วยและชั่งข้าวโพดยังเป็นแหล่งที่ให้ ฟิวฟูรอล (furfural) หรือจะนำมาใช้ทำเป็นเชื้อเพลิงทดแทนก็ได้ เป็นต้น (Nang, 2558)

2.3.9 เพกทิน

เพกทินจัดเป็นเส้นใยอาหารที่ไม่สามารถย่อยได้ในทางเดินอาหารเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ประเภทเฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์มีหน่วยย่อยนั้นคือ กรดกาแลกทูโรนิก (D-galacturonic acid) ซึ่งเชื่อมต่อกันด้วยพันธะแอลฟา-1,4 ไกลโคซิดิกและเมทิลกาแลกทูโรเนตและน้ำตาลหลายชนิด เช่น แรมโนส กาแลกโทส อะราบิโนส พบตามธรรมชาติในผนังเซลล์ของพืชและรอยต่อระหว่างผนังเซลล์ โดยรวมตัวอยู่กับเซลลูโลสทำหน้าที่ยึดเกาะผนังเซลล์ให้ติดกันคล้ายเป็นซีเมนต์เพกทินที่อยู่ในผลไม้ดิบ หรือห่าม จะอยู่ในรูปของโปรโตเพกทินซึ่งไม่ละลายน้ำ ระหว่างการสุกของผลไม้โปรโตเพกทินจะ

เปลี่ยนเป็นเพกทิน ซึ่งละลายในน้ำได้ดีกว่า ทำให้ผลไม้มีเนื้อสัมผัสนุ่มลง ความแน่นเนื้อลดลง ในผลไม้เอนไซม์ที่ย่อยเพกทิน ชื่อ เอนไซม์เพกตินเอส ได้แก่ เพกทินเมทิลเอสเทอเรส (pectin methyl esterase) เมื่อเซลล์แตกเอนไซม์นี้จะย่อยสลายเพกทิน ซึ่งเพกทินจัดเป็นสารปรุงแต่งที่ปลอดภัยไม่จำกัดปริมาณการได้รับต่อวัน ใช้เป็นสารให้เกิดเจล สารเพิ่มความหนืดและสารเพิ่มความคงตัว ในแยมและเยลลี่ใช้เพกทินเป็นส่วนประกอบเพื่อทดแทนน้ำตาลทำให้ผลิตภัณฑ์มีแคลอรีลดลง (องอาจ, 2553)

2.3.10 บุกคางคก

บุกคางคกเป็นพืชพื้นเมืองในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ พบตั้งแต่ ศรีลังกา ไปจนถึง อินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ สารที่พบ ได้แก่ สารกลูโคแมนแนน (glucomanann) คอนยัคแมนแนน (konjac-mannan) แมนโนส (mannose) Takadiastase แป้ง โปรตีนบุก วิตามินบี วิตามินซี และยังมีสารที่เป็นพิษ คือ coniine และ cyanophoric glycoside โดยมีสารสำคัญ คือ กลูโคแมนแนนเป็นสารประเภทคาร์โบไฮเดรต กลูโคแมนแนนนั้นหลักๆ แล้วจะประกอบไปด้วยน้ำตาลสองชนิด คือ กลูโคส 2 ส่วน และแมนโนส 3 ส่วน โดยประมาณ เชื่อมต่อกันระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 ของน้ำตาลชนิดที่สอง กับคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 ของน้ำตาลชนิดแรกแบบแอลฟา-1,4 ไกลโคซิดิก ซึ่งแตกต่างจากแป้งที่พบในพืชทั่วไปจึงไม่ถูกย่อยโดยกรดและน้ำย่อยในกระเพาะอาหาร สารกลูโคแมนแนนสามารถช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ เนื่องจากมีความเหนียว ช่วยยับยั้งการดูดซึมของกลูโคสจากทางเดินอาหาร ยิ่งหนืดมากก็ยิ่งมีผลการดูดซึมกลูโคส ดังนั้น กลูโคแมนแนน ซึ่งเหนียวกว่า กัวกัม (gua gum) กลูโคแมนแนนสามารถดูดน้ำและพองตัวได้มากสูงถึง 200 เท่า ของปริมาณเดิมเมื่อ รับประทานกลูโคแมนแนนก่อนอาหารเช้าครึ่งชั่วโมงถึงหนึ่งชั่วโมง ครั้งละ 1 กรัม กลูโคแมนแนนจะดูดน้ำที่มีมากในกระเพาะอาหารของเรา แล้วเกิดการพองตัวจนทำให้เรารู้สึกอิ่มอาหารได้เร็วและอิ่มได้ในระดับหนึ่ง สามารถลดน้ำตาลได้ดีกว่า จึงใช้แป้งเป็นวัจนซึ่งนิยมใช้เป็นอาหารสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวานสำหรับผู้ที่เป็นโรคไขมันในเลือดสูงและผู้ที่ต้องการลดน้ำหนัก (สุดารัตน์, 2552)

2.3.11 มะม่วงหิมพานต์

ผลมะม่วงหิมพานต์มีลักษณะคล้ายผลชมพู หรือลูกแพร์ ผลเป็นพวงห้อยลงมา ขนาดผลยาวประมาณ 5-8 เซนติเมตร เนื้อผลฉ่ำน้ำมีกลิ่นหอม ผลอ่อนมีสีเขียวหรือเหลืองอมชมพู แต่เมื่อผลสุกจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองหรือสีส้มแดง ที่ปลายผลมีเมล็ดอยู่ 1 เมล็ด มีลักษณะคล้ายรูปไต เปลือกนอกแข็งและยาวประมาณ 2-4 เซนติเมตร มีสีน้ำตาลอมเทา จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผลมะม่วงหิมพานต์พบว่า มีเซลลูโลสร้อยละ 18.31 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 27.18 และลิกนินร้อยละ 21.91 (Santos และคณะ, 2012)

2.3.12 มะพร้าว

มะพร้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีการปลูกอย่างแพร่หลายนอกจากจะมีการกินสด หรือการคั้นกะทิแล้ว ยังมีการนำมะพร้าวมาสกัดน้ำมัน ซึ่งผลพลอยได้ คือ กากมะพร้าว (coconut copra หรือ kernel meal) ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 12 ของน้ำหนักสด 1 ผล กากมะพร้าวจากโรงงานสกัดน้ำมันมีปริมาณ คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 43-45 ที่อยู่ในรูปของแมนโนพอลิแซ็กคาไรด์ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่ากากมะพร้าวมีปริมาณกรดอะมิโน ไลซีน ซีสเตอีน ฮีสติดีน อาจีนิน เมไทโอนีนและกรดอะมิโนที่จำเป็นอื่นๆ ปัจจุบันได้มีการศึกษาถึงการใช้อากมะพร้าวจากั้วรสกั้วน้ำมันทั้งในสัตว์ไม่เคี้ยวเอื้องและการค้า และสัตว์เคี้ยวเอื้อง (นฤมล และคณะ, 2557)

2.4 ไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ (Isomalto-oligosaccharides, IMOs)

ไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่มีหน่วยย่อยเป็นน้ำตาลกลูโคสต่อกันด้วยพันธะแอลฟา-ดี-1,6 ไกลโคซิดิก ประกอบด้วยน้ำตาลไอโซมอลโทส พาโนส ไอโซมอลโทไตรโอส และโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่มีลักษณะเป็นกิ่งก้านชนิดอื่นๆ เป็นต้น ซึ่งไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ไม่สามารถถูกย่อยได้ในระบบทางเดินอาหาร และช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของบีฟิโดแบคทีเรียและแลคติกแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ (สารโรจน์, 2547) ไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ สามารถผลิตได้จากวัตถุดิบประเภทแป้งชนิดต่างๆ โดยใช้กระบวนการสังเคราะห์ด้วยเอนไซม์โดยในช่วงแรกเอนไซม์จะช่วยเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายแป้งจนได้เป็นน้ำตาลมอลโทสซึ่งในส่วนของกาวย่อยสลายแป้งนั้นจะใช้เอนไซม์ ได้แก่ เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เบตาอะไมเลส ฟลูกลูนาเนสและจากนั้นจะใช้เอนไซม์ทรานส์กลูโคซิเดสช่วยเร่งปฏิกิริยาทรานส์กลูโคซิเลชันที่หมู่ 6-OH ของน้ำตาลกลูโคส ทำให้ได้โอลิโกแซ็กคาไรด์ที่เชื่อมด้วยพันธะแอลฟา-ดี-1,6 ได้แก่ ไอโซมอลโทส พาโนส ไอโซมอลโทไตรโอส และเตตระแซ็กคาไรด์ (จิรวรรณ, 2540)

2.4.1 กระบวนการผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์

กระบวนการผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จะเริ่มจากการย่อยแป้งให้เป็นน้ำเชื่อมมอลโทสด้วยเอนไซม์ น้ำเชื่อมมอลโทสเป็นสารละลายที่มีกลูโคส 2 โมเลกุลเป็นองค์ประกอบหลักลักษณะทั่วไปของน้ำเชื่อมมอลโทสเป็นของเหลวข้นหนืดใสบางกรณีอาจมีสีเหลืองหรือสีน้ำตาลอ่อนทั้งนี้ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของน้ำเชื่อมว่าจะมีปริมาณมอลโทสในสัดส่วนใด กระบวนการผลิตน้ำเชื่อมมอลโทสด้วยวิธีการทางเอนไซม์ โดยจะมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

2.4.1.1 การเตรียมสารละลายแป้ง

การเตรียมน้ำแป้งจะเป็นตัวกำหนดผลิตภัณฑ์ที่ได้ในการผลิตผลิตภัณฑ์นั้นๆ ถ้าหากเตรียมน้ำแป้งที่มีความเข้มข้นของแป้งมากจะได้ผลผลิตสูง การผสมแป้งกับน้ำมีข้อกำหนด เนื่องจากความยืดหยุ่นของแป้งเมื่อถูกความร้อนถึงอุณหภูมิของการสุกของแป้ง (gelatinization) ดังนั้นถ้าต้องการให้หมักเนื้อแป้งในน้ำแป้งมากๆ ต้องทำการย่อยแป้งขณะที่แป้งกำลังจะสุกเพื่อให้ได้น้ำแป้งที่มีความหนืดต่ำ โดยทั่วไปจะเตรียมน้ำแป้งโดยประมาณร้อยละ 35-40 โดยน้ำหนักแล้วปรับพีเอชให้เหมาะสมต่อการย่อยขั้นต่อไป (ยุทธชัย, 2557)

2.4.1.2 การย่อยแป้งครั้งแรก (liquefaction)

ขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนการลดความหนืดของแป้งเริ่มต้นซึ่งการย่อยครั้งแรกเป็นการทำให้แป้งที่สุกมีความหนืดน้อยลงและแป้งบางส่วนถูกย่อยทำให้แป้งมีโมเลกุลเล็กลงเมื่อย่อยด้วยเอนไซม์จะใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ซึ่งเป็นเอนไซม์กลุ่มที่ย่อยแป้งภายในทำหน้าที่ตัดพันธะน้ำตาลกลูโคสที่จับกันเป็นแป้งจะได้แป้งที่มีโมเลกุลเล็กลงเป็นกลุ่มๆ ที่เท่าๆ กันทำให้ได้เป็นเดกซ์ทริน และน้ำตาลไดแซ็กคาไรด์ เช่น มอลโทสมอลโนแซ็กคาไรด์ ได้แก่ กลูโคส (Marco, 2012) เมื่อเตรียมน้ำแป้งได้ความเข้มข้นพอตีปรับพีเอชให้ถูกต้องคำนวณปริมาณเอนไซม์และเติมถูกต้อง อุณหภูมิประมาณ 100-105 องศาเซลเซียส ซึ่งเอนไซม์ที่ใช้ในช่วงนี้สามารถทนอุณหภูมิสูงและสามารถย่อยสลายแป้งในขณะที่ยุณหภูมิสูงได้น้ำแป้งที่ย่อยแล้วซึ่งจะได้ผลิตภัณฑ์คือ มอลโทเดกซ์ทริน (ยุทธชัย, 2557)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.1.3 การย่อยแป้งขั้นสุดท้าย (saccharification)

มอลโทเดกซ์ทรินที่ได้มานั้นจะมีลักษณะเป็นน้ำค่อนข้างใสไม่มีความหนืดแล้วทำการปรับพีเอชให้มีความเหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ จากนั้นคำนวณปริมาณเอนไซม์ตามปริมาณของมอลโทเดกซ์ทริน ซึ่งเอนไซม์พุลูลานเนสเป็นเอนโดเอนไซม์ (endoenzyme) ที่มีความสามารถในการตัดพันธะแอลฟา-1,6 ไกลโคซิดิกภายในโครงสร้างของอะไมโลเพกทิน (Siew และคณะ, 2012)

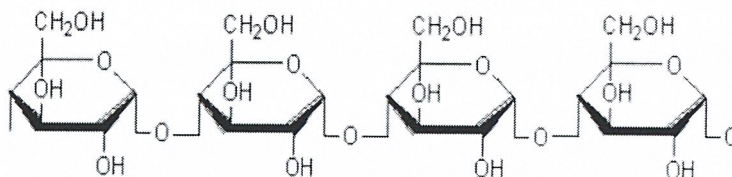
2.4.1.4 การทำบริสุทธิ์ (refining)

การทำให้บริสุทธิ์นั้นสะดวกสำหรับผลิตภัณฑ์ที่ผลิตมาจากแป้งเพราะมีสารประกอบ เช่น โปรตีน ไขมัน น้อยมาก สามารถกรองโดยใช้สารช่วยกรองและผงถ่านพร้อมกันได้ปกติสามารถใช้เครื่องกรอง เช่น filter press หรือ vacuum drum filter (ยุทธชัย, 2557)

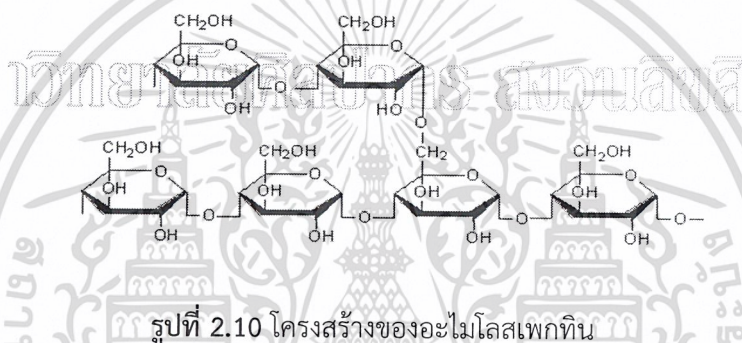
2.5 แป้งและองค์ประกอบของแป้ง

แป้งเป็นพอลิเมอร์ของกลูโคสที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่มีสูตรทั่วไปคือ $(C_6H_{10}O_5)_n$ แป้งมีหน่วยพื้นฐานเป็น anhydroglucose unit เชื่อมต่อกันด้วยพันธะแอลฟาไกลโคซิดิกที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 1 ของหน่วยกลูโคสกับคาร์บอนตำแหน่งที่ 4 ของหน่วยกลูโคสที่อยู่ถัดไปด้านปลายของโมเลกุลแป้งจะมี anomeric carbon (C1) ซึ่งว่างอยู่ไม่ได้จับกับโมเลกุลอื่นๆ ดังนั้นแต่ละโมเลกุลของแป้งจะมีด้านปลายที่มีคุณสมบัติรีดิวซ์ (reducing end) นั่นคือ แป้งหนึ่งโมเลกุลจะมีตำแหน่ง reducing end 1 ตำแหน่ง โมเลกุลแป้งแบ่งออกเป็น 2 ชนิดหลักๆ ตามขนาดโมเลกุลและลักษณะการจัดเรียงตัว คือ อะไมโลส ซึ่งมีขนาดเล็กและมีกิ่งก้านสาขาเพียงเล็กน้อย และอะไมโลเพกทินซึ่งมีขนาดใหญ่ และมีกิ่งก้านสาขามากมาย นอกจากนี้ยังพบโมเลกุลแป้งอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งมีขนาดใหญ่กว่าอะไมโลสแต่เล็กกว่าอะไมโลเพกทิน เรียกว่า “intermediate material” แต่พบในปริมาณไม่มากนัก อะไมโลสและอะไมโลเพกทินมีคุณสมบัติที่แตกต่างกัน (กล้าณรงค์ และ เกื้อกุล, 2543)

อะไมโลส ประกอบด้วยโมเลกุลกลูโคสที่ต่อกันเป็น เส้นตรงด้วยพันธะแอลฟา-1,4 และประกอบด้วยกลูโคส 200-6000 หน่วย มีความสามารถในการละลายน้ำได้น้อยเมื่อต้มในน้ำจะมีความชื้นหนืดน้อยเมื่อทดสอบปฏิกิริยากับไอโอดีนให้สีน้ำเงิน ต้มแล้วทิ้งไว้จะจับตัวเป็นวุ้นและแผ่นแข็งได้ แป้งแต่ละชนิดมี degree of polymerization (DP) ของอะไมโลสแตกต่างกัน แป้งมันฝรั่งและแป้งมันสำปะหลังมี DP ของ อะไมโลส อยู่ในช่วง 1,000 ถึง 6,000 สูงกว่าแป้งข้าวโพดและแป้งสาลีซึ่งมี DP ของอะไมโลสในช่วง 200 ถึง 1,200 แป้งที่มีสายของอะไมโลส ยาวมากจะมีแนวโน้มในการเกิดรีโทรเกรเดชัน (retrogradation) ลดลง (Hizukuri, 1988)



อะไมโลเพกทิน ประกอบด้วย โมเลกุลกลูโคสที่ต่อกันด้วยพันธะแอลฟา-1,4 และมีการแตกกิ่งด้วยพันธะ แอลฟา-1,6 ซึ่งแต่ละกิ่งมีกลูโคส 20-25 หน่วย มีความสามารถในการละลายน้ำได้ดีกว่า เมื่อต้มในน้ำจะมีความข้นหนืดมากและใสเมื่อทดสอบปฏิกิริยากับไอโอดีนให้สีส้มแดงหรือสีน้ำตาลแดงต้มแล้วทิ้งไว้จะไม่จับตัวเป็นวุ้นและแผ่นแข็งได้ หน่วยกลูโคสที่มีพันธะแอลฟา-1,6 โกลโคซิดิก มีอยู่ประมาณร้อยละ 5 ของปริมาณหน่วยกลูโคสในอะไมโลเพกทินทั้งหมด อะไมโลเพกทินมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 1,000 เท่าของอะไมโลสคือประมาณ 107 ถึง 109 ดาลตัน และมีการคืนตัวต่ำ เนื่องจากอะไมโลเพกทินมีลักษณะโครงสร้างเป็นกิ่ง อะไมโลเพกทินทำหน้าที่เป็นโครงสร้างหลักของเม็ดแป้ง ดังนั้นเมื่อมีอะไมโลเพกทินเพียงอย่างเดียวจึงยังสามารถรวมตัวเป็นเม็ดแป้งได้ (Beynum และ Roels, 1985)



รูปที่ 2.10 โครงสร้างของอะไมโลสเพกทิน

ที่มา: <http://eu.lib.kmutt.ac.th/elearning/Courseware/BCT0981/refer.html>

2.5.1 แป้งมันสำปะหลัง

แป้งมันสำปะหลังทำมาจากหัวมันสำปะหลังมีลักษณะเป็นผงสีขาวจับผิวสัมผัสของแป้งจะเนียนลื่นมือเมื่อทำให้สุกจะเหลวเหนียวหนืดจะมีลักษณะใสเมื่อพักให้เย็นและจะมีลักษณะเหนียวเหนอะหนะคงตัวนิยมนำมาผสมกับอาหารที่ต้องการความเหนียวหนืดและใสแป้งมันสำปะหลังดิบที่สกัดเอาเยื่อใยออกแล้วใช้เป็นอาหารมนุษย์ อาหารทารก เป็นเครื่องปรุงอาหารหลายชนิดใช้ทำวุ้นเส้น เบียร์ และใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เป็นตัวทำให้สารติดแน่น คงรูปร่าง ใช้ในอุตสาหกรรมสิ่งทอ อุตสาหกรรมซักรีด อุตสาหกรรมทำกระดาษ แป้งเปียก แอลกอฮอล์ อะซีโตน ยา กลูโคส (Fujivara, 2557) และแป้งแปรรูปโดยสามารถแบ่งได้ตามลักษณะการผลิตเป็น 2 ประเภท คือ

2.5.1.1 แป้งดิบหรือแป้งมันสำปะหลังดิบ (Native Starch)

แป้งดิบเป็นแป้งที่ได้จากหัวมันสำปะหลังสดด้วยขบวนการแยกกากโปรตีน ฯลฯ ปัจจุบันมีโรงงานประมาณ 85 โรงงาน แต่ทำการผลิตจริงเพียง 49 โรงงาน กำลังการผลิตรวมทั้งสิ้นประมาณ 2 - 2.5 ล้านตันต่อปี ผลผลิตเฉลี่ยทั้งอุตสาหกรรมที่ผลิตได้จริงประมาณ 1.76 ล้านตันต่อปี (Davies และคณะ, 1980)

2.5.1.2. แป้งมันสำปะหลังแปรรูป (modify starch)

แป้งมันเป็นแป้งที่ได้จากการนำแป้งมันสำปะหลังดิบมาเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีหรือฟิสิกส์เพื่อเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโมเลกุลให้เหมาะสมกับการใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่าง ๆ โดยปกติการผลิตแป้งมันสำปะหลังแปรรูปใช้อัตราแป้งดิบ 1 กิโลกรัมต่อแป้งแปรรูป 0.93 กิโลกรัม (Davies และคณะ, 1980)

แป้งที่ได้จากหัวมันสำปะหลังประกอบด้วยเม็ดแป้งตั้งแต่ 2-8 เม็ด มารวมตัวกันแต่ละเม็ดจะมีความยาวตั้งแต่ 5-35 ไมครอน เม็ดแป้งมีลักษณะเป็นรูปไข่ซึ่งปลายข้างหนึ่งถูกตัดออกและผิวตรงส่วนที่ตัดออกมีลักษณะเว้าเข้าข้างใน บางเม็ดอาจมีริมหาด้านหนึ่งโค้ง อีกด้านแบนไม่สมมาตรกัน เม็ดแป้งเหล่านี้จะแสดงให้เห็นรอยบวมอย่างชัดเจน (โสภิตา, 2542) และในบางครั้งอาจเห็นชั้นของแป้งด้วยแป้งมันสำปะหลังเม็ดแป้งมีลักษณะโครงสร้างผลึกแบบ C คือ การเรียงตัวทั้งแบบ A และ B มารวมกัน มีการเรียงตัวหนาแน่นมากและมีปริมาณน้ำที่ต่ำจะจัดเป็นผลึกแบบ A และมีปริมาณน้ำสูงจะจัดเป็นผลึกแบบ B มีความเป็นผลึกร้อยละ 38 อุณหภูมิการเกิดเจลลาตินในเซชัน 66 องศาเซลเซียส และปริมาณอะไมโลสอยู่ในช่วงร้อยละ 18-24 น้ำหนักโมเลกุลอะไมโลสอยู่ในช่วง 105 ถึง 106 ดาลตัน (Oates, 1996) โดยอะไมโลสในแป้งแต่ละชนิดจะมีน้ำหนักโมเลกุลที่แตกต่างกันไปเนื่องจากแป้งแต่ละชนิดมีสมบัติ degree of polymerization (DP) ของอะไมโลสแตกต่างกันแป้งมันสำปะหลังมี DP ของอะไมโลสอยู่ในช่วง 1,000 ถึง 6,000 แป้งมันสำปะหลังมีไขมันในปริมาณที่ต่ำกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับแป้งจากธัญพืช (corn wheat และ sorghum) ซึ่งมีไขมันประมาณร้อยละ 0.6-0.8 น้ำหนักต่อน้ำหนัก การมีไขมันในแป้งจะมีผลต่อคุณสมบัติของแป้งเนื่องจากไขมันจะเกิดการรวมตัวกับอะไมโลสในแป้งเกิดเป็นสารเชิงซ้อนของอะไมโลสและไขมัน ซึ่งอะไมโลสและไขมันที่รวมกันนี้จะไม่ละลายน้ำแต่การจับกันจะถูกทำลายเมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 120 องศาเซลเซียส พันธะที่ยึดเหนี่ยวกันจะถูกทำลายทำให้ส่วนของอะไมโลส สามารถละลายออกมาได้ (Davies และคณะ, 1980) สารประกอบเชิงซ้อนของอะไมโลสและไขมันจะมีผลทำให้กำลังการพองตัวแป้ง (swelling power) และค่าการละลาย (solubility) ของแป้งลดลง (Davies และคณะ, 1980) นอกจากนี้ไขมันยังทำให้แป้งเกิดการเหม็นหืน (rancid) ขณะเก็บรักษาด้วย

2.5.2 แป้งข้าวเจ้า

แป้งข้าวเจ้ามีลักษณะเด่นคือกลิ่นอ่อนมาก ไม่กลมกลืนอื่นๆ ของอาหารจึงเป็นหนึ่งในแป้งที่นิยมมากที่สุดแต่จำเป็นต้องผสมกับแป้งตัวอื่นๆ เพื่อปรับคุณสมบัติของแป้งข้าวเจ้าเนื่องจากหากใช้แป้งข้าวเจ้าอย่างเดียวย่อมจะมีเนื้อที่ร่วน ไม่เกาะตัวกัน (Davies และคณะ, 1980)

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตแป้งข้าวเจ้าคือ ข้าวหักหรือปลายข้าว ซึ่งกรรมวิธีการผลิตมี 3 วิธี คือ วิธีไม่แห้ง วิธีไม่น้ำ และวิธีผสม

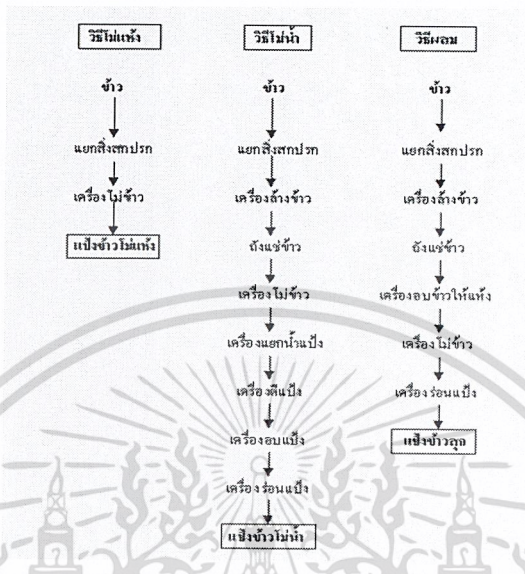
1) การผลิตแป้งข้าวด้วยการไม่แห้งได้จากการนำข้าวมาทำความสะอาดเพื่อแยกสิ่งสกปรกออกแล้วจึงนำไปบดให้เป็นแป้งจะมีคุณภาพต่ำเพราะเม็ดแป้งค่อนข้างหยาบและมีสิ่งเจือปนสูง อายุการเก็บรักษาสั้น เพราะเกิดกลิ่นหืน (rancidity) ได้ง่ายเพราะมีปริมาณไขมันสูง และมักถูกทำลายจากแมลงได้ง่าย (งามชื่น, 2549)

2) การผลิตแป้งข้าวด้วยวิธีการไม่น้ำ เป็นวิธีการผลิตแป้งข้าวในปัจจุบัน แป้งมีคุณภาพดี มีความละเอียดและสิ่งเจือปนน้อย เทคโนโลยีการผลิตแป้งโดยวิธีการไม่น้ำได้รับการพัฒนา มาช้านาน การผลิตแป้งในปัจจุบันยังคงมุ่งเน้นแป้งข้าวเจ้าชนิดอะไมโลสสูงอยู่ (งามชื่น, 2549)

3) การผลิตแป้งข้าววิธีผสม เป็นการไม่แป้งจากข้าวที่แช่น้ำและอบแห้งด้วยความร้อนก่อนและไม่ใช่แป้ง แป้งชนิดนี้เป็นแป้งคุณภาพสูงและนำไปใช้ทำขนมเฉพาะอย่างเพื่อสัมผัสสัมผัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่โรงเรียนสุรนารีหรือหน่วยงานต้นสังกัดเป็นเจ้าของลิขสิทธิ์ ไม่สามารถนำเอกสารนี้ไปใช้

ที่ตี เช่น ขนมโกล์จากแป้งข้าวเหนียว (งามซีน, 2549) ซึ่งกรรมวิธีการผลิตแป้งข้าวเจ้าจะแสดงดังรูปที่ 2.11



รูปที่ 2.11 กรรมวิธีการผลิตแป้งข้าวเจ้า

ที่มา: http://library.uru.ac.th/webdb/images/charpa_rice_products.html

ลักษณะโครงสร้างของแป้งข้าวเจ้าในส่วนของเม็ดแป้งมีลักษณะโครงสร้างผลึกแบบ A คือมีการเรียงตัวหนาแน่นมากและมีปริมาณน้ำต่ำมีความเป็นผลึกร้อยละ 38 อุณหภูมิการเกิดเจลลาตินในเซชัน 70 องศาเซลเซียส และปริมาณอะไมโลสอยู่ในช่วงร้อยละ 17 ภายในแป้งข้าวเจ้าพบว่ามีการโตไขมันประมาณร้อยละ 30-60 (Davies และคณะ, 1980)

2.5.3 แป้งข้าวเหนียว

แป้งข้าวเหนียวเป็นแป้งที่ทำมาจากเมล็ดข้าวเหนียวที่มีลักษณะเป็นผงสีขาว จับแล้วสากมือเล็กน้อย เมื่อนำไปทำให้สุกจะมีลักษณะขุ่นข้น เหนอะหนะ เมื่อแป้งถูกความร้อนจะจับตัวเป็นก้อนค่อนข้างเหนียวเหมาะสำหรับการนำมาประกอบอาหารที่ต้องการความเหนียวเกาะตัว เช่น ขนมหี้น ขนมถั่วแปบ ขนมต้ม ฯลฯ แป้งข้าวเหนียวลักษณะที่ขายกันตามท้องตลาดและกรรมวิธีทำแป้งข้าวเหนียว มีลักษณะเช่นเดียวกับแป้งข้าวเจ้า คือ วิธีไม่แห้ง วิธีไม่ห้ และวิธีผสม แป้งข้าวเหนียวส่วนมากนำมาใช้ประโยชน์ในการทำขนมหวาน ในปัจจุบันมีการทำในโรงงานอุตสาหกรรม คือ โม่หรือบดเป็นแป้งแห้งบรรจุถุงขาย แป้งข้าวเหนียวมีปริมาณอะไมโลส และปริมาณลิวดีนต่ำมาก เม็ดแป้งมีลักษณะโครงสร้างผลึกแบบ A คือมีการเรียงตัวหนาแน่นมากและมีปริมาณน้ำต่ำมีความเป็นผลึกร้อยละ 37 อุณหภูมิการเกิดเจลลาตินในเซชัน 64.5 องศาเซลเซียส และปริมาณอะไมโลสต่ำมาก (Oates, 1996)

2.5.4 แป้งสาลี

แป้งข้าวสาลีเป็นแป้งที่ได้จากเมล็ดของข้าวสาลี โดยใช้ส่วนที่เป็นเอนโดสเปิร์มนำมาโม่ให้เป็นผงละเอียด โปรตีนในแป้งสาลี ทำให้แป้งสาลีมีสมบัติเฉพาะที่ต่างจากแป้งอื่นประกอบด้วย โปรตีนกลูเตนิน และไกลอะดิน ในสัดส่วนเท่าๆ กัน จะสร้างพันธะไดซัลไฟด์ ทำให้ได้กลูเตน ซึ่งมีลักษณะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการเรียนการสอนเท่านั้น มิฉะนั้นผู้ใดเห็นการใช้โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามเผยแพร่ต่อสาธารณะและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เหนียวและยืดหยุ่นสามารถเก็บกักก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ผลิตขึ้นโดยสารที่ทำให้ขึ้นฟู เช่น ยีสต์ หรือผงฟู ทำให้รักษารูปเอาไว้ได้ แป้งเอนกประสงค์ คือ แป้งสาลีที่ผลิตจากการนำส่วนที่เป็นเอนโดสเปิร์ม ของเมล็ดข้าวสาลีซึ่งแยกส่วนที่เป็นรำ และคัพพะออกแล้วมาบดให้ละเอียด แป้งเอนกประสงค์ผลิตจากข้าวสาลีชนิดแข็ง หรือจากการผสม ทั้งชนิดแข็งและชนิดอ่อนเข้าด้วยกันใช้สำหรับผลิตขนมอบได้หลายชนิด ตามชื่อเรียก คือ ใช้ได้เอนกประสงค์ เช่น ใช้ทำขนมปัง ที่ขึ้นฟูด้วยยีสต์ เค้ก คุกกี้ และพาย (Fujivara, 2557)

แป้งสาลีประกอบด้วยปริมาณอะไมโลสร้อยละ 28.8 และ ปริมาณอะไมโลเพกทินในร้อยละ 25.8 (Kasemsuwan และคณะ, 1999) เม็ดแป้งมีลักษณะโครงสร้างเป็นแบบ A คือ มีการจัดเรียงตัวของเกลียวคู่มิการเรียงตัวหนาแน่นมากและมีปริมาณน้ำต่ำมีความเป็นผลึกร้อยละ 36 และอุณหภูมิการเกิดเจลาตินในเซชัน 63.5 องศาเซลเซียส (Oates, 1996)

Enriched all-purpose flour คือ แป้งข้าวสาลีเอนกประสงค์ที่เสริมเหล็กและวิตามิน บี 4 ชนิดหลักโทอะมีน ไนอะซิน ไรโบฟลาวิน และกรดโฟลิก ในปริมาณที่เทียบเท่าหรือมากกว่าที่พบใน whole wheat flour เพื่อเสริมคุณค่าทางโภชนาการโดยปกติ enriched flour มีปริมาณกรดโฟลิกในปริมาณมากกว่า whole wheat flour สองเท่า และมากกว่าแป้งสาลีประมาณร้อยละ 5 แป้งข้าวสาลีเอนกประสงค์ฟอกสี เป็นแป้งข้าวสาลีเอนกประสงค์ที่ผ่านการฟอกขาวด้วยสารฟอกขาวโดยการอบด้วยก๊าซคลอรีน หรือ benzoyl peroxide เพื่อฟอกให้แป้งมีสีขาวสว่างขึ้น คลอรีนมีผลต่อคุณภาพการอบโดยจะออกซิไดส์แป้ง ซึ่งเรียกว่า maturing flour ซึ่งมีผลดีต่อคุณภาพของเค้กและคุกกี้ สารฟอกขาวที่ใช้จะต้องไม่เหลือสารตกค้างที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ หรือทำลายสารอาหาร แป้งที่ฟอกสีด้วยออกซิเจนในอากาศระหว่างการบ่มแป้งนั้นแป้งจะมีความขาวน้อยกว่าแป้งฟอกสี ซึ่งแป้งฟอกสีและแป้งไม่ฟอกสีมีคุณค่าทางโภชนาการไม่แตกต่างกันมากนัก (Fred, 2008)

2.5.5 แป้งกล้วยดิบ

แป้งกล้วยเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำกล้วยดิบมาแปรรูปเป็นแป้ง เพื่อเป็นการถนอมอาหารและสามารถนำไปใช้ประโยชน์เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์อาหารต่าง ๆ ได้แก่ ผลิตภัณฑ์ขนมอบ และผลิตภัณฑ์ขนมไทย กล้วยดิบมีคุณค่าทางโภชนาการสูง ประกอบด้วย น้ำ แป้ง โปรตีน ไขมัน เส้นใย วิตามิน และเกลือแร่ต่าง ๆ โดยมีปริมาณแป้ง แคลเซียม เหล็ก และ โปแตสเซียม สูงกว่าแป้งหลายชนิด เช่น แป้งข้าวโพด แป้งมันสำปะหลัง เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีสารอื่นๆ ได้แก่ เอนไซม์เพกทิน แทนนิน กล้วยดิบยังมีฤทธิ์ป้องกันเชื้อราและแบคทีเรีย แป้งกล้วยจะมีกลิ่นเฉพาะตัว มีคุณสมบัติทางกายภาพที่ดีและสามารถรวมตัวกับน้ำได้ดี เมื่อได้รับความร้อนจะพองตัวใส เมื่อปล่อยให้เย็นจะเกิดลักษณะคล้ายวุ้นเนื่องจากเป็นแป้งที่มีอะไมโลสสูง จึงทำให้มีคุณสมบัติพิเศษ เหมาะที่จะนำมาทดแทนแป้งสาลีในผลิตภัณฑ์ขนมอบได้ดีบางชนิดของผลิตภัณฑ์สามารถทดแทนได้สูงถึง ร้อยละ 50 คุณภาพของแป้งกล้วย จะขึ้นอยู่กับกรรมวิธีการผลิต ความสะอาด และความสุกของกล้วยเป็นสำคัญ กล้วยดิบจะมีปริมาณแป้งและแทนนินสูงปริมาณน้ำตาลน้อยการสุกของกล้วยทำให้คุณค่าทางอาหารเปลี่ยนแปลงไป โดยเฉพาะแป้งจะลดลงเปลี่ยนเป็นน้ำตาลมากขึ้นทำให้กล้วยมีรสหวาน โดยเฉพาะกล้วยหอม กล้วยไข่ ปริมาณแป้งจะลดลงอย่างมากเมื่อกล้วยสุก และปริมาณกรดค่อนข้างต่ำแต่กล้วยน้ำว้าและกล้วยหักมุกก็มีแป้งมากเมื่อดิบและเมื่อสุกปริมาณแป้งก็ยังมียังมีมากอยู่เช่นเดิม จึงทำให้กล้วยมีลักษณะเหนียวและมีรสเปรี้ยวเล็กน้อย ค่าความเป็นกรดต่างของเนื้อกล้วยดิบ จะอยู่

5.0-5.8 เนื้อผลกล้วยดิบจะมีปริมาณกรดสูงสุดและจะลดลงเมื่อผลใกล้สุกหรือกำลังสุก ค่าความเป็น

กรดของผลสุกอยู่ระหว่าง 4.2-4.8 กรดที่พบมากที่สุดในกลุ่มผลดิบ คือ กรดออกซาลิก รองลงมาคือ มาลิก และซิตริก แต่เมื่อผลสุกจะมีปริมาณกรดออกซาลิกลดลง ทำให้ปริมาณกรดมาลิก สูงที่สุด (จุฑา และคณะ, 2554)

กล้วยดิบที่มีคุณสมบัติเหมาะสมที่จะนำมาผลิตแป้งจะต้องมีปริมาณร้อยละความสุกอยู่ในช่วง ร้อยละ 70-80 ถ้าใช้กล้วยดิบมากเกินไปจะมีปริมาณแทนนินสูง เมื่อนำแป้งกล้วยไปผสมในผลิตภัณฑ์ จะทำให้มีรสฝาด ในกรณีที่กล้วยสุกมากเกินไปปริมาณน้ำตาลสูงจะมีผลต่อกระบวนการผลิตแป้ง และมีผลต่อกลิ่น รสชาติของผลิตภัณฑ์ ส่วนน้ำตาลที่พบในผลสุกส่วนใหญ่จะเป็นน้ำตาลกลูโคสรองลงมา เป็นฟรุคโทสและซูโครส (จุฑา และคณะ, 2554)

องค์ประกอบทางเคมีส่วนใหญ่ของแป้งกล้วย คือ คาร์โบไฮเดรตซึ่งแป้งกล้วยมีปริมาณร้อยละ 86 ทำให้สามารถพิจารณานำแป้งกล้วยมาใช้ทดแทนแป้งสาลีได้แต่ปริมาณโปรตีนของแป้งกล้วยที่ต่ำกว่าแป้งสาลีจำนวน 6 เท่า (อรอนงค์, 2540) และโปรตีนของแป้งสาลีจะส่งผลถึงเนื้อสัมผัสของ ผลิตภัณฑ์ที่ได้ จึงต้องมีการทดลองหาแป้งที่เหมาะสมมาทดแทนนอกจากนี้แป้งกล้วยยังมีปริมาณเถ้า สูงกว่าแป้งสาลีแสดงให้เห็นว่าแป้งกล้วยมีปริมาณแร่ธาตุมากกว่า (Bello และคณะ, 1999)

ตารางที่ 2.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของแป้งกล้วยดิบ

องค์ประกอบ	ร้อยละ
แป้ง	84.87
โปรตีน	2.24
ไขมัน	0.22
เยื่อใย	0.21
เถ้า	2.08
ความชื้น	10.38

ที่มา: <http://decade1.ird.rmutp.ac.th/wp-content/uploads/>

2.5.6 แป้งข้าวโพด

แป้งที่สกัดมาจากเมล็ดข้าวโพดมีลักษณะเป็นผงสีขาวเหลืองนวล จับแล้วผิวสัมผัสของแป้งเนียนลื่นมือเมื่อทำให้สุกจะมีลักษณะขุ่นและใสไม่คืนตัวง่ายเมื่อแป้งเป็นตัวแป้งจะอยู่ตัวจับเป็นก้อน แข็งร่วนเป็นมันวาว ในขนมหวานไทยนิยมนำมาผสมกับอาหารเพื่อต้องการความข้นอยู่ตัวเมื่อสัมผัสดู เนื้อแป้งเนียนละเอียดลื่น แป้งข้าวโพดได้จากเอนโดสเปิร์มในเมล็ด (อภิญา, 2553) กระบวนการผลิตแป้งข้าวโพดจะประกอบด้วย 2 วิธี คือการโม่แบบแห้ง (Dry milling) และการโม่แบบเปียก (wet milling) ซึ่งมีขั้นตอนและรายละเอียดดังนี้

1) การโม่แบบแห้ง (Dry milling) แป้งที่ได้จากการโม่เมล็ดข้าวโพดแบบแห้ง เรียกว่า คอร์นมีล (cornmeal) เมื่อร่อนแยกขนาดและแยกเอนโดสเปิร์มออก เรียกว่า คอร์นฟลาวัวร์ ซึ่งประกอบด้วย

โปรตีน และแร่ธาตุสูง เหมาะที่จะใช้ประกอบอาหารเป็นเวลา 36-50 ชั่วโมง เพื่อให้เปลือกนุ่ม แล้วนำเมล็ดไปบดหยาบเพื่อแยกเปลือกชั้นนอกออก แล้วผ่านไปยังถังแช่น้ำเพื่อแยกเอ็มบริโอออกจะได้แป้งและโปรตีนกลูเตนเป็นเม็ดขนาดเล็กจากนั้นนำไปผ่านเครื่องเหวี่ยงจะได้แป้งในรูปสารแขวนลอยเข้มข้นที่มีโปรตีนกลูเตนปนอยู่เล็กน้อยเมื่อนำสารแขวนลอยมาปั่นแยกอีกครั้งด้วยเครื่องเหวี่ยงแรงสูงล้างแป้งแล้วทำให้แห้ง จะได้คอร์นสตาร์ช (อภิญา, 2553)

2) การโม่แบบเปียก (wet milling) แป้งที่ได้จากการโม่เปียกมีวิธีการผลิตโดยต้องแช่เมล็ดข้าวโพดในน้ำที่มีส่วนผสมของกำมะถันเผาที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เรียกว่า คอร์นสตาร์ช ซึ่งช่วยให้อาหารขึ้นขึ้นมักใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตเบียร์ ซอส ใช้เป็นแป้งรีดผ้าและใช้ในอุตสาหกรรมการทอผ้า และผลิตเดกซ์ทริน คอร์นไซรัป ให้เป็นผลิตภัณฑ์ฟรักโทสไซรัป ซึ่งฟรักโทสไซรัปได้จากการเปลี่ยนคอร์นสตาร์ชเป็นน้ำตาลฟรักโทสด้วยกรดและเอนไซม์เป็นน้ำตาลที่มีความหวานมากกว่าน้ำตาลจากอ้อย ไม่ให้พลังงาน และมีราคาแพง ใช้ผสมในอาหารพวกเนยถั่ว ซอสมะเขือเทศ น้ำอัดลม น้ำผลไม้ และเครื่องดื่มต่างๆ นอกจากผลิตได้จากคอร์นสตาร์ชแล้ว ฟรักโทสไซรัปอาจผลิตจากแป้งมันสำปะหลังได้เช่นกัน (อภิญา, 2553) แป้งข้าวโพดประกอบด้วยประมาณอะไมโลสร้อยละ 29.4 และประมาณอะไมโลเพกทินร้อยละ 22.5 (Kasemsuwan และคณะ, 1999) แป้งข้าวโพดมีลักษณะโครงสร้างเป็นแบบ A คือ มีการจัดเรียงตัวของเกลียวคูมีการเรียงตัวหนาแน่นมากและมีปริมาณน้ำต่ามีความเป็นผลึกร้อยละ 40 และอุณหภูมิการเกิดเจลลาติไนเซชัน 71.3 องศาเซลเซียส (Oates, 1996)

2.6 กระบวนการย่อยแป้งในอุตสาหกรรม

แป้งถูกนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารต่างๆ ทั่วโลกซึ่งพบว่าใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารสำเร็จรูปมากที่สุดถึงร้อยละ 30 รองลงมาคือผลิตภัณฑ์อาหารที่มีลักษณะเป็นผงใช้ร้อยละ 25 สำหรับอาหารเด็กอ่อน ขนมอบและขนมหวานมีปริมาณเท่ากัน คือ ใช้ประมาณร้อยละ 10 ในส่วนที่เหลือเป็นผลิตภัณฑ์อาหาร ประเภทที่ผลิตโดยเครื่องอัดผ่านเกลียวและผลิตภัณฑ์นมอย่างละร้อยละ 5 (จิรวรรณ, 2540) ซึ่งแนวโน้มในการใช้แป้งและแป้งดัดแปรในอุตสาหกรรมมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นโดยปัจจุบันผู้บริโภคจะคำนึงถึงประโยชน์ทางสุขภาพ และลักษณะปรากฏมากขึ้น ดังนั้นผู้ผลิตจึงต้องพยายามปรับปรุงคุณลักษณะของแป้ง คุณค่าทางโภชนาการ และคุณสมบัติทางหน้าที่ เช่น การปรับปรุงคุณภาพแป้งโดยใช้ความร้อนชนิด UHT คืออุณหภูมิสูงมากที่สุดที่ 140-142 องศาเซลเซียส ซึ่งใช้เวลาสั้นเพียง 5-6 วินาทีหรือการปรับปรุงโครงสร้างของแป้งเพื่อเปลี่ยนเป็นพรีไบโอติก โดยใช้เอนไซม์ในการสังเคราะห์ซึ่งเป็นการใช้เอนไซม์หลายชนิดร่วมกัน (กล้าณรงค์ และ เกื้อกุล, 2543) โดยการย่อยแป้งในอุตสาหกรรมนั้นโดยทั่วไปประกอบด้วย 3 ขั้นตอนดังนี้

2.6.1 การเกิดเจลลาติไนเซชัน (gelatinization)

เจลลาติไนเซชันเป็นกระบวนการเกิดการพองตัวของเม็ดแป้งเนื่องจากการดูดซึมน้ำของเม็ดแป้ง ในขณะที่ได้รับความร้อนทำให้เกิดการพองตัวของเม็ดแป้งช่วงอุณหภูมิที่แป้งมีการดูดซึมน้ำอย่างรวดเร็วและพองตัวขึ้น เรียกว่า อุณหภูมิการเกิดเจลลาติไนเซชัน เป็นกระบวนการผันกลับไม่ได้และทำให้ความหนืดเพิ่มขึ้น แป้งมันสำปะหลังมีอุณหภูมิการเกิดเจลที่ 52-64 องศาเซลเซียส ซึ่งต่ำกว่าธัญพืชอื่นๆ ทำให้อัตราการเพิ่มความหนืดสูงเกิดการสลายตัวได้มาก (จิรวรรณ, 2540)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.2 การเกิดลิกูเฟคชัน (liquefaction)

การเกิดลิกูเฟคชันเป็นขั้นตอนการลดความหนืดของแป้งที่เกิดเจลโดยการย่อยโมเลกุลของแป้งแบบสุ่มของโกลูโคสทำให้แยกเป็นสายสั้นๆ มีขนาดโมเลกุลเล็กลงและมีความหนืดน้อยลงกว่า มีการใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสแทนการใช้กรดย่อยที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียสหรือสูงกว่า (Douglas และ Michinson, 1997)

2.6.3 การเกิดแซ็กคาริฟิเคชัน (saccharification)

การเกิดแซ็กคาริฟิเคชันเป็นการย่อยแป้งให้เป็นโมเลกุลของน้ำตาลภายหลังการย่อยจะทำให้ได้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและน้ำตาลโมเลกุลคู่หรือน้ำตาลที่มีโมเลกุลสูงกว่าเล็กน้อยผลผลิตที่ได้คือ กลูโคส มอลโทสหรือมอลโทไตรโอส (พักตร์ประไพ และ วิชัย, 2546)

2.7 เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อย

แป้งที่ย่อยด้วยเอนไซม์เป็นแป้งดัดแปลง (modified starch) ซึ่งส่วนใหญ่จะใช้แป้งเพื่อเป็นสารให้ความข้นหนืด และผู้บริโภคจะรับประทานแป้งในรูปของแป้งสุก การย่อยแป้งจะเริ่มต้นด้วยการย่อยสลายด้วยเอนไซม์จากสารละลายน้ำแป้งกับเอนไซม์นำไปทำให้เกิดเจลาทีน (gelatinization) โดยผ่านความร้อนเมื่อย่อยถึงระดับที่ต้องการหยุดปฏิกิริยาเอนไซม์โดยลดอุณหภูมิและปรับลดพีเอชลง เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยแป้งนั้นมีหลายชนิดขึ้นอยู่กับชนิดของแป้งดัดแปรตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์ เช่น น้ำเชื่อมกลูโคส น้ำเชื่อมไซโลส น้ำเชื่อมมอลโทส น้ำเชื่อมฟรักโทสไซโคลเดกซ์ทริน น้ำเชื่อมไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ น้ำเชื่อมแมนโนโอลิโกแซ็กคาไรด์ เป็นต้น (กล้าณรงค์ และ เกื้อกุล, 2550) เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยแป้งโดยพิจารณาตามลักษณะการทำงานของเอนไซม์ แบ่งออกได้ 3 กลุ่ม คือ

2.7.1 เอ็กโซอะไมเลส (exoamylase)

เอ็กโซอะไมเลสเป็นเอนไซม์ที่ตัดพันธะที่จับกันของกลูโคสทั้งพันธะแอลฟา-1,4 และแอลฟา-1,6 โกลโคซิดิก เอนไซม์ในกลุ่มนี้ได้แก่ กลูโคอะไมเลส และ เบตาอะไมเลสซึ่งการทำงานจะตัดโมเลกุลกลูโคสที่ตำแหน่งปลายของอะไมโลสและอะไมโลเพกทินดังนั้นผลผลิตที่ได้จะเป็นกลูโคสเพียงอย่างเดียว ซึ่งการทำงานของเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด (กล้าณรงค์ และ เกื้อกุล, 2550) แสดงดังรูปที่ 2.12 และ 2.13

2.7.2 เอนโดอะไมเลส (endoamylase)

เอนโดอะไมเลสเป็นเอนไซม์ที่ทำงานภายในโมเลกุลของแป้งที่ตัดพันธะแอลฟา-1,4 โกลโคซิดิก ระหว่างโมเลกุลกลูโคสภายในส่วนของอะไมโลส และอะไมโลเพกทิน เอนไซม์กลุ่มนี้ได้แก่ แอลฟาอะไมเลสและผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำงานของ แอลฟาอะไมเลส คือ โอลิโกแซ็กคาไรด์และแอลฟาลิมิตเดกซ์ทรินซึ่งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (กล้าณรงค์ และ เกื้อกุล, 2550) แสดงดังรูป 2.14

2.7.3 เอนไซม์ย่อยพันธะกิ่ง (debranching enzyme)

เอนไซม์ย่อยพันธะกิ่งตัดเฉพาะพันธะแอลฟา-1,6 โกลโคซิดิก เอนไซม์กลุ่มนี้ได้แก่ ไอโซอะไมเลส และพูลูลูลาเนส (กล้าณรงค์ และ เกื้อกุล, 2550) ซึ่งการทำงานของเอนไซม์ในกลุ่มนี้แสดงดังรูปที่ 2.15

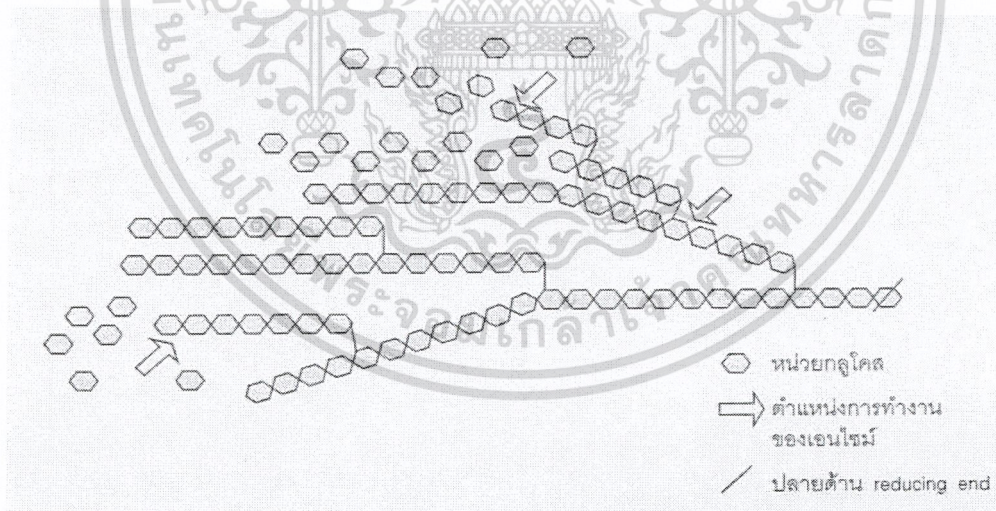
ไม่ว่ารูปนี้เท่าไร ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.4 เอนไซม์ทรานส์กลูโคซิเดส (transglucosidase)

เอนไซม์ทรานส์กลูโคซิเดสเป็นเอนไซม์ที่กระตุ้นการเปลี่ยนน้ำตาล nucleotide sugars หรือ phospholipid sugars เป็นน้ำตาลเป้าหมาย (Lairson และ Withers, 2004) ซึ่งน้ำตาลเป้าหมายที่ได้จากปฏิกิริยา จะเป็นชนิดน้ำตาลสองโมเลกุล น้ำตาลสามโมเลกุล โอลิโกแซ็กคาไรด์และ พอลิแซ็กคาไรด์ เอนไซม์ทรานส์กลูโคซิเดสจะเร่งปฏิกิริยาทรานส์กลูโคซิเลชัน ทั้งปฏิกิริยาการย่อยสลายและการเคลื่อนย้าย แอลฟา-ดี-กลูโค-โอลิโกแซ็กคาไรด์ทำให้เกิดโอลิโกเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสที่เชื่อมกันด้วยพันธะไกลโคซิดที่ตำแหน่ง แอลฟา-1,6 เช่น ไอโซมอลโทส พาโนส ไอโซมอลโทไตรออส (Mendis และคณะ, 2012) ซึ่งปฏิกิริยาจะแสดงดังรูปที่ 2.16

2.7.5 เอนไซม์แมนนาเนส (Mannanase)

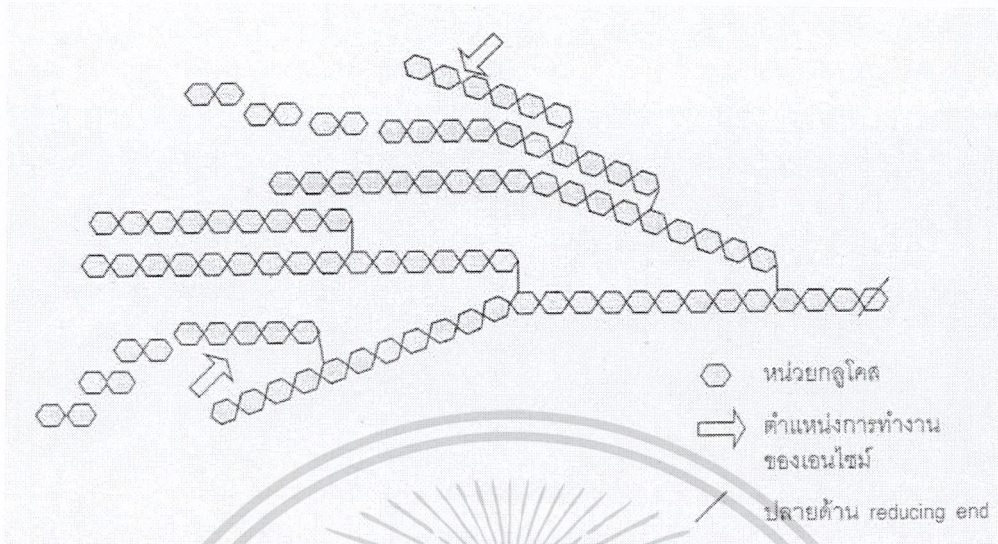
เอนไซม์แมนนาเนสเป็นเอนไซม์ไฮโดรเลสที่ย่อยสลายแบบสุ่มภายในโครงสร้างที่มีน้ำตาลแมนโนสเป็นองค์ประกอบหลักเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเบตา-1,4 นั่นคือสารกาแลกโทแมนแนน กลูโคแมนแนน กาแลคโทกลูโคแมนแนน และแมนแนน ทำให้ได้แมนโนโอลิโกแซ็กคาไรด์ เป็นผลิตภัณฑ์ซึ่งอาจประกอบด้วยแมนโนไตรออสหรือแมนโนไบออส อย่างไรก็ตามบางครั้งจะพบกลไกการทำงานของแมนนาเนสแบบทรานส์ไกลโคซิเลชัน นั่นคือปฏิกิริยาการย้ายหมู่ น้ำตาลจากโมเลกุลหนึ่งไปอีกโมเลกุลหนึ่ง โดยมีแมนโนโอลิโกแซ็กคาไรด์เป็นสับสเตรต (Schroder, 2004) ซึ่งประสิทธิภาพการทำงานของแมนนาเนสขึ้นอยู่กับจำนวนการแทนที่ของน้ำตาลชนิดอื่นที่ไม่ใช่น้ำตาลแมนโนส (McCleary, 1979) ซึ่งการทำปฏิกิริยาของแมนนาเนสจะแสดงดังรูปที่ 2.17



รูปที่ 2.12 การทำงานของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส

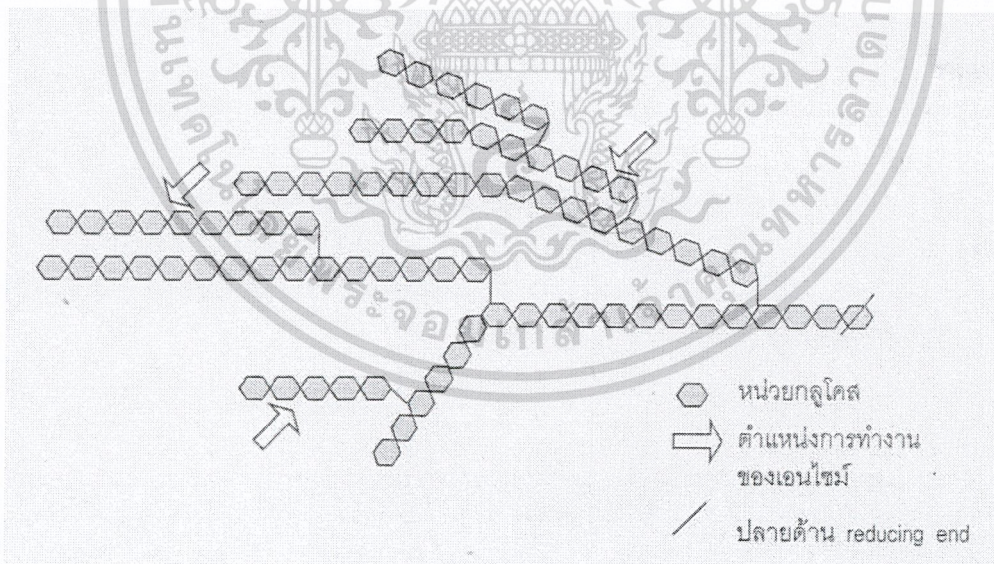
ที่มา: <http://www.repository.rmutt.ac.th/bitstream/handle/123456789/2592/RMUTT-146712.pdf?sequence=1>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.13 การทำงานของเอนไซม์เบตาอะไมเลส

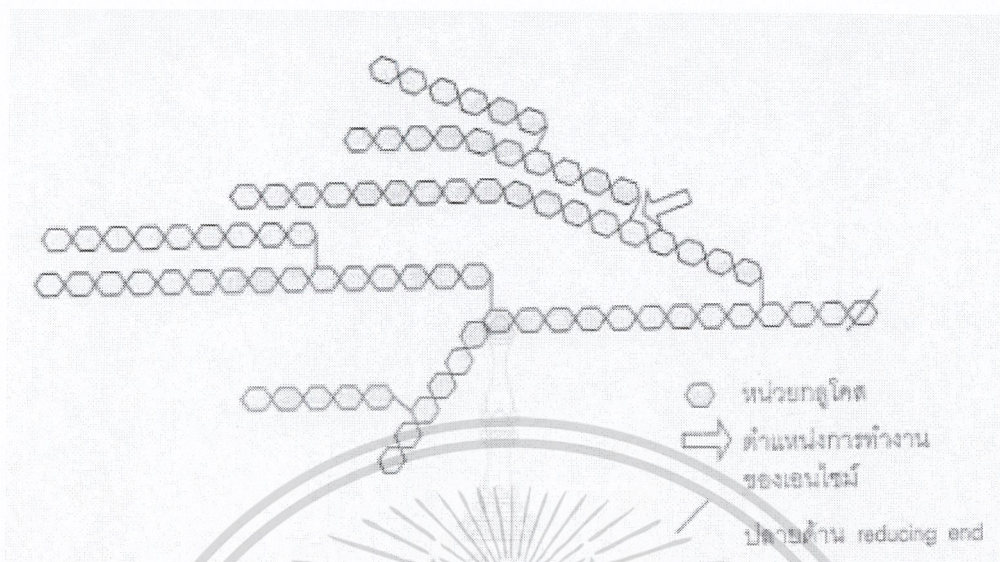
ที่มา: <http://www.repository.rmutt.ac.th/bitstream/handle/123456789/2592/RMUTT-146712.pdf?sequence=1>



รูปที่ 2.14 การทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

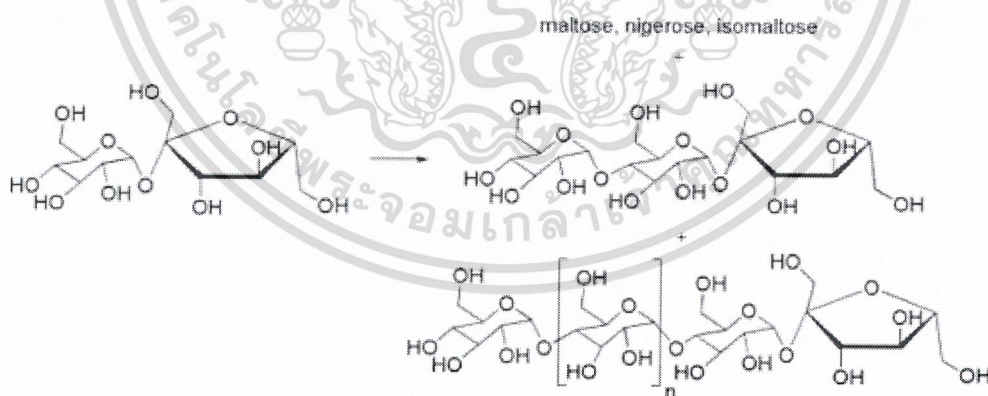
ที่มา: <http://www.repository.rmutt.ac.th/bitstream/handle/123456789/2592/RMUTT-146712.pdf?sequence=1>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.15 การทำงานของเอนไซม์ย่อยพันธะกิ่ง

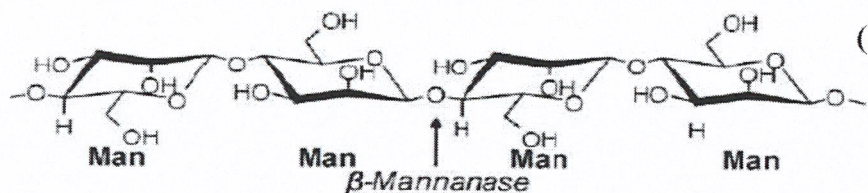
ที่มา: <http://www.repository.rmutt.ac.th/bitstream/handle/123456789/2592/RMUTT-146712.pdf?sequence=1>



รูปที่ 2.16 แสดงการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ทรานส์กลูโคซิเดส

ที่มา: https://www.researchgate.net/figure/51469581_fig4_Products-of-sucrose-transglycosylation-by-purified-a-glucosidase-from-A-ventricosa

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.17 แสดงการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์แมนนาเนส

ที่มา: <http://tujournals.tu.ac.th/tstj/detailart.aspx?ArticleID=171>

2.8 เทคนิคการวิเคราะห์หึ่งค์ประกอบและปริมาณของพรีไบโอติก

2.8.1 ทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (Thin-layer chromatography หรือ TLC)

ทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (TLC) เป็นเทคนิคในการวิเคราะห์หึ่งค์ประกอบของสารที่รวดเร็ว สะดวกและราคาไม่แพง นิยมใช้ในการตรวจการดำเนินไปของปฏิกิริยาเคมี ใช้ตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสารระหว่างกระบวนการแยกสารในขั้นตอนต่างๆ ใช้ในการยืนยันชนิดของสาร และสามารถตรวจหาจำนวนองค์ประกอบในของผสมหลักการของ TLC นั้น คล้ายคลึงกับคอลัมน์โครมาโทกราฟีจะต่างกันเพียงในกรณีของ TLC วัสดุภาคนิ่งจะถูกเคลือบติดไว้ที่แผ่นกระจก แผ่นอลูมิเนียม หรือแผ่นพลาสติกบางๆ สารจะถูกแต้มไว้ที่ใกล้ๆ ปลายด้านหนึ่งของแผ่นโดยใช้หลอดคัปิลลารีจากนั้นจึงนำแผ่นดังกล่าวไปวางลงในภาชนะที่ใส่วัสดุภาคนิ่งที่ไว้เมื่อตัวทำละลายถูกดูดซึมขึ้นไปตามตัวดูดซับด้วย capillary action ก็จะพาสารตัวอย่างขึ้นไปด้วย จึงเกิดการแยกของสารเกิดขึ้นด้วยหลักการเดียวกับคอลัมน์โครมาโทกราฟี ตัวอย่างเช่น หากใช้ซิลิกาเป็นวัสดุภาคนิ่ง และใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำเป็นวัสดุภาคนิ่งที่สารที่มีขั้วน้อยจะละลายได้ดีในวัสดุภาคนิ่งที่แต่ถูกดูดซับด้วย วัสดุภาคนิ่งได้น้อย จึงเคลื่อนที่ไปได้ดีด้วยระยะที่มากกว่าสารที่มีขั้วสูงซึ่งละลายในวัสดุภาคนิ่งที่ได้น้อยแต่ดูดซับบนวัสดุภาคนิ่งได้ดี (Joseph และ Murrell, 1983)

2.8.1.1 วิธีการของทำ TLC ขั้นตอนของ (Joseph และ Murrell, 1983)

ก. การเตรียมแผ่น TLC

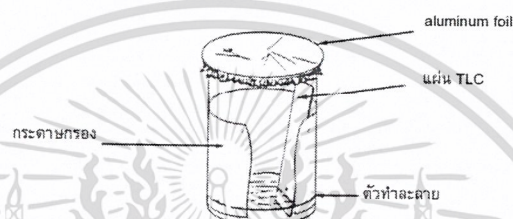
การเตรียมแผ่น TLC เริ่มต้นคือนำตัวดูดซับผสมกับน้ำเพื่อทำเป็นสเลอรรี่ (slurry) สัดส่วนของตัวดูดซับกับตัวทำละลายหรือทำตามคำแนะนำของบริษัทผู้ผลิตเมื่อนำสเลอรรี่ที่ผสมกันดีแล้วมาเคลือบเป็นชั้นบางๆ บนแผ่นแก้วหรือแผ่นพลาสติกที่สะอาดและแห้ง ตัวดูดซับมักมีตัวยึด เช่น calcium sulfate (Plaster of Paris) หรือแป้งผสมอยู่เล็กน้อยเพื่อให้ตัวดูดซับยึดติดกับแผ่นแก้วหรือพลาสติกได้ดีซึ่งแผ่น TLC นั้นอาจเตรียมในห้องปฏิบัติการก่อนใช้หรือซื้อแผ่น TLC ที่ผลิตสำเร็จรูปพร้อมใช้งานได้ทันทีจากบริษัทผู้ผลิต (Joseph และ Murrell, 1983)

ข. การจุดสารตัวอย่างบนแผ่น TLC

เอกสารนี้เป็นเอกสาร หลอดคัปิลลารี (capillary) ที่ขนาดเล็กดูดสารละลายของสารตัวอย่างและจุดบนแผ่น TLC ควรจุดให้ห่างจากขอบล่างประมาณ 1.5 เซนติเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางของจุดไม่ควรเกิน 2 มิลลิเมตร รอให้จนแห้งก่อนทำขั้นตอนต่อไปทันที (Joseph และ Murrell, 1983)

ค. Development แผ่น TLC

การ Development แผ่น TLC คือการนำแผ่น TLC ที่จุดสารตัวอย่างแล้ว วางในภาชนะแก้วที่บรรจุตัวทำละลายที่เหมาะสมโดยให้ตำแหน่งจุดอยู่เหนือตัวทำละลายภายในภาชนะแก้ว ควรใส่กระดาษกรอง (ดังรูปที่ 2.18) และปิดฝาภาชนะให้สนิทเพื่อป้องกันการระเหยและช่วยให้ภายในภาชนะอิ่มตัวไปด้วยไอของตัวทำละลายซึ่งจะทำให้ตัวทำละลายเคลื่อนขึ้นด้านบนได้เร็วขึ้นเมื่อตัวทำละลายเคลื่อนขึ้นไปจนถึงขอบบนให้นำแผ่น TLC ออก (Joseph และ Murrell, 1983)



รูปที่ 2.18 Development แผ่น TLC

ที่มา: <http://e-book.ram.edu/e-book/c/CM328/CM328-5.pdf>

ง. การตรวจหาจุดบนแผ่น TLC (Visualization)

การตรวจหาตำแหน่งของจุดบนแผ่น TLC จะสามารถดำเนินการได้ง่ายหากตำแหน่งของจุดบนแผ่น TLC เป็นสารประกอบที่มีสี แต่ถ้าเป็นสารประกอบที่ไม่มีสีมีวิธีการตรวจหาได้หลายวิธี ดังนี้ (Joseph และ Murrell, 1983)

1) ทำการตรวจสอบแผ่น TLC ภายใต้แสง UV ในที่มีตัวสารประกอบที่เกิดฟลูออเรสเซนส์จะเกิดความสว่างมากภายใต้แสง UV เครื่องที่ให้กำเนิดแสง UV เรียกว่า Ultraviolet lamp ซึ่งตัวดูดซับมักมีสารเรืองแสงที่เป็นสารผสมของ cadmium sulfide และ zinc sulfide ปนอยู่ดังนั้นเราจะสังเกตเห็นแสงสีเขียวสว่างทั่วแผ่น TLC ภายใต้แสง UV ในที่มีตัวสารตัวอย่างดูดกลืนแสง UV แสง UV ตรงตำแหน่งที่สารอยู่จะถูกดูดกลืนทำให้ตำแหน่งดังกล่าวเห็นเป็นจุดมืดถ้าสารตัวอย่างเป็นสารเรืองแสงและเรืองแสงเป็นสีอื่นที่ไม่ใช่สีเขียวก็จะช่วยให้สังเกตง่ายขึ้นทันที

2) นำแผ่น TLC ใส่ในภาชนะที่มีผลึกของไอโอดีนอยู่ถ้าทิ้งแผ่น TLC ไว้จะเห็นจุดสีน้ำตาลที่เกิดขึ้นซึ่งจุดสีน้ำตาลเกิดจากสารประกอบอินทรีย์ (ยกเว้น alkanes และ alkyl halides) เกิดปฏิกิริยาโมเลกุลเชิงซ้อนกับไอโอดีน

3) ทำการฉีดพ่นแผ่น TLC ด้วยสารเคมี เช่น กรดซัลฟูริกเข้มข้น, $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{HNO}_2$, $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{Na}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ หรือ $\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ เมื่อฉีดแล้วให้ความร้อนกับแผ่น TLC ที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 นาที จะเห็นจุดสีดำบริเวณที่มีสารตัวอย่างอยู่

เอกสารนี้เป็นเอกสาร 4) การตรวจสอบกรดอะมิโน ดำเนินการโดยทำการฉีดพ่นด้วยสารละลายนินไฮดริน (ninhydrine) จะเห็นเป็นจุดสีม่วงปรากฏตรงบริเวณที่มีกรดอะมิโนอยู่

5) การตรวจสอบ alkyl halides ดำเนินการโดยฉีดพ่นสารละลายเจือจางของ silver nitrate บนแผ่น TLC จะเกิด silver halides Silver halides จะสลายตัวเมื่อถูกแสงทำให้เกิดจุดดำบนแผ่น TLC

จ. การเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกสารผสมโดยใช้แผ่น TLC

ตัวทำละลายที่เหมาะสมจะใช้เป็นภาคเคลื่อนที่อาจเป็นตัวทำละลายเดี่ยวหรือเป็นตัวทำละลายผสม การหาตัวทำละลายที่เหมาะสมควรทำอย่างมีระบบดังนี้ คือ จุดสารตัวอย่างที่เป็นสารผสมลงบนแผ่น TLC หลายๆ แผ่น เลือกตัวทำละลายหลายๆ ระบบ เช่น ปิโตรเลียมอีเทอร์เบนซีน อีเทอร์และเมทานอล ตามลำดับ (ตัวทำละลายเรียงลำดับจากสภาพขั้วต่ำไปยังขั้วสูง) แล้ววางแผ่น TLC ที่จุดสารตัวอย่างแล้วลงในตัวทำละลายแต่ละชนิดๆ ละ 1 แผ่น หาค่า Rf ของแต่ละแผ่นในตัวทำละลายที่แตกต่างกันและเลือกตัวทำละลายที่สามารถให้ผลการแยกที่ชัดเจน (Joseph และ Murrell, 1983)

2.8.1.2 ประโยชน์ของทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี (Joseph และ Murrell, 1983)

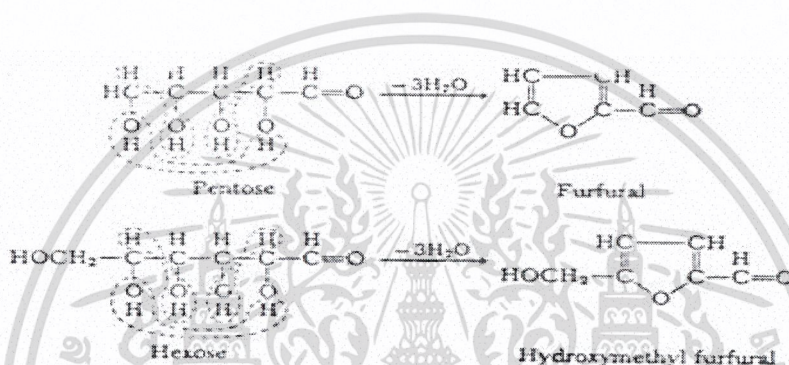
1. การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ (qualitative analysis) โดยการเปรียบเทียบค่า Rf ของสารตัวอย่างกับสารแท้ (authentic sample) เพื่อพิสูจน์ว่าเป็นสารตัวเดียวกันหรือไม่ ในงานวิจัยเกี่ยวกับการสังเคราะห์สารถ้าต้องการพิสูจน์ว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาเป็นสารที่ต้องการหรือไม่ให้นำสารตัวเดียวกันนี้ที่ได้จากปฏิกิริยาอื่นมาจุดบนแผ่น TLC เพื่อเทียบกับสารที่เกิดจากปฏิกิริยาจะทราบว่าการทำงานปฏิกิริยาที่วางแผ่นไว้ข้างต้นได้ผลตามที่ต้องการหรือไม่ เป็นวิธีตรวจสอบผลขั้นต้นที่รวดเร็วกว่าวิธีอื่นๆ
2. ตรวจสอบความก้าวหน้าของปฏิกิริยาโดยหาค่า Rf ของสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์เมื่อเวลาผ่านไปสารตั้งต้นย่อมมีปริมาณน้อยลงส่วนผลิตภัณฑ์ย่อมมีมากขึ้น เราสามารถใช้วิธีการ TLC ในการตรวจสอบระยะเวลาที่ปฏิกิริยาเกิดจนเสร็จสิ้น
3. การตรวจสอบความบริสุทธิ์ของสารตัวอย่าง สารตัวอย่างที่บริสุทธิ์ยอมให้จุดเพียงจุดเดียวบนแผ่น TLC ในทุกระบบตัวทำละลาย
4. การใช้หาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการแยกสารผสมโดยคอลัมน์โครมาโทกราฟี

2.8.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

น้ำตาลมอโนแซ็กคาไรด์และไดแซ็กคาไรด์ส่วนใหญ่จะมีหมู่คาร์บอนิลซึ่งจะถูกออกซิไดซ์ได้ง่าย คาร์โบไฮเดรตเหล่านี้จัดเป็นกลุ่มที่เรียกว่าน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugars) ซึ่งอาจตรวจสอบปริมาณได้โดยอาศัยคุณสมบัติของน้ำตาลที่สามารถรีดิวซ์โลหะไอออน เช่น Cu^{2+} หรือ Ag^+ ได้ ผลิตภัณฑ์ที่ไม่ละลายน้ำ ตัวอย่างของน้ำตาลรีดิวซ์ เช่น กลูโคส มอลโทส เซลโลโบไอสและแล็กโทส คุณสมบัติในการรีดิวซ์โลหะไอออนนั้นนอกจากจะใช้เพื่อตรวจสอบปริมาณแล้ว ยังสามารถใช้ในการบอกตำแหน่ง ทิศทางของหน่วยย่อยในคาร์โบไฮเดรตพอลิเมอร์ได้ (ประเสริฐ, 2530)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่สามารถนำเอกสารนี้ไปใช้เพื่อการค้าหรือการเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
1) การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธี Phenol-sulfuric ให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธีนี้สามารถตรวจวัดปริมาณน้ำตาลได้ในช่วง 1-100 ไมโครกรัมกลูโคส เป็นวิธีการวิเคราะห์ที่รวดเร็วในการหาปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ไม่จำเพาะ

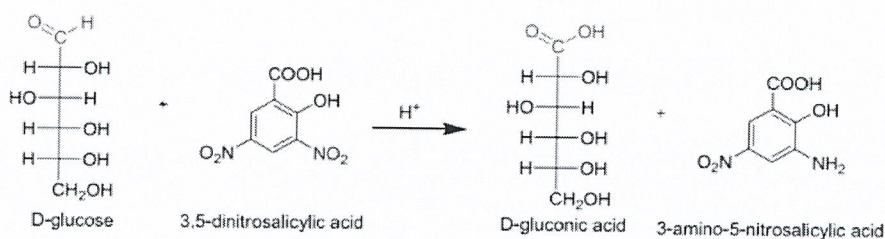
เจาะจง สามารถวิเคราะห์ได้ทั้งน้ำตาลรีดิวซ์และน้ำตาลอื่นในธรรมชาติที่อาจอยู่ในรูปของ mono-, di-, tri-, oligo- และ polysaccharide โดยน้ำตาลเหล่านี้มาจะทำปฏิกิริยาร่วมกับฟีนอลและกรดซัลฟิวริกเข้มข้นที่อุณหภูมิสูง ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นสารประกอบที่มีสี และสามารถดูดกลืนแสงได้ในช่วงความยาวคลื่น 480–490 นาโนเมตร สำหรับกลไกการเกิดปฏิกิริยาเชื่อว่าในกรณีของน้ำตาล oligosaccharide และ polysaccharide พันธะอีเทอร์ระหว่างโมเลกุลถูกตัดออกจากกันด้วยกรดพร้อมทั้งเกิดปฏิกิริยาการขจัดน้ำออก และมีการแทนที่ด้วยอนุพันธ์ของเฟอร์ฟูรอล (furfural derivatives) ซึ่งจะเกิดการรวมตัวกับฟีนอลกลายเป็นสารประกอบไตรเอริลมีเทนที่มีสีส้ม (triarylmethane dyes) (Dubois, 1956)



รูปที่ 2.19 ปฏิกิริยาของการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธี Phenol-sulfuric
ที่มา: <http://eu.lib.kmutt.ac.th/elearning/Courseware/BCT611/chapter1.html>

2) การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS)

วิธีการนี้สามารถใช้ตรวจหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่มีปริมาณอยู่ในช่วงระหว่าง 5–500 ไมโครกรัมของน้ำตาลกลูโคสโดยการต้มน้ำตาลรีดิวซ์ในสารละลายต่างที่มีกรดไดไนโตรซาลิไซลิก (3,5-dinitrosalicylic acid) อยู่ด้วยปฏิกิริยาดังกล่าวจะทำให้สารละลายนั้นมีสีเข้มขึ้นและสามารถดูดกลืนคลื่นแสงในช่วงความยาวคลื่น 500–550 นาโนเมตร ซึ่งเชื่อว่าสีของผลิตภัณฑ์นั้นเกิดจากกระบวนการรีดักชันทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุลของ 3,5-dinitrosalicylic acid ไปเป็น 3-amino-5-nitrosalicylic acid ซึ่งปฏิกิริยานี้จะดำเนินไปจนกว่าสารตั้งต้นคือน้ำตาลรีดิวซ์จะหมดลง (Miller, 1959)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
รูปที่ 2.20 ปฏิกิริยาของการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS)
ที่มา: http://rdi.npu.ac.th/rdb/uppaper/030920150040_08.pdf

2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Mikekelson และคณะ (2013) ได้ทำการทดลองใช้เอนไซม์ย่อยกลูโคแมนแนนจากบุกเพื่อผลิตกลูโคแมนโนโอลิโกแซ็กคาไรด์โดยใช้แมนนาเนสที่ทำบริสุทธิ์แล้วของเชื้อ *Trichoderma reesei* และเอนโดกลูคาเนส EGI (*Trichoderma reesei* Cel7b) และ EGII (*Trichoderma reesei* Cel5a) โดยทำการย่อยโดยใช้เอนไซม์ที่ละตัวเพื่อผลิตโอลิโกแซ็กคาไรด์โดยใช้แมนนาเนสเป็นตัวหลักในการย่อยคอนยัคแมนแนนและมากกว่าร้อยละ 99 เปลี่ยนเป็นโอลิโกแซ็กคาไรด์โดยมีแมนโนสเป็นปลายรีดิวซ์

Moongngarm และคณะ (2011) ศึกษาการหากลุ่มของคาร์โบไฮเดรตที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (Low Molecular Weight Carbohydrate, LMWC) โดยการหาสารที่เป็นพรีไบโอติกและจัดทำค่ากิจกรรมพรีไบโอติก (prebiotic activity score) ของตัวอย่างพืชในเมืองไทย 13 ชนิดโดยใช้สารพรีไบโอติกเป็นอินูลินและฟรุกโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ในส่วนของ LMWC ได้แก่ กลูโคส มอลโทส ซูโครส ไอโซมอลโทส มอลโทไตรโอส และมอลโทเตตระโอสเป็นสารมาตรฐาน ดำเนินการโดยนำตัวอย่างพืชมาสกัดแล้วมาหาค่ากิจกรรมของพรีไบโอติก (prebiotic activity score) โดยเทียบกับเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* และนำสารสกัดมาหาปริมาณของ LMWC โดยใช้ HPLC โดยพบว่าจากตัวอย่างพืชทั้งหมดที่นำมาทดสอบกระเทียมมีปริมาณอินูลินมากที่สุดคือร้อยละ 41.72 ของน้ำหนักแห้ง

Huebner และคณะ (2006) วิจัยขั้นตอนการวัดค่ากิจกรรมพรีไบโอติก (prebiotic activity score) โดยใช้พรีไบโอติกทางการค้าซึ่งได้แก่ ฟรักโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ อินูลินและกาแล็กโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ โดยใช้เชื้อในกลุ่ม *lactobacilli* และ *bifidobacteria* เป็นเชื้อในการทดสอบ ทดสอบขั้นตอนการวัดกิจกรรมพรีไบโอติกโดยวัดค่าความเปลี่ยนแปลงของมวลเซลล์พรีไบโอติกหลัง 24 ชั่วโมง ในการบ่มร่วมกับพรีไบโอติกร้อยละ 1 หรือกลูโคสร้อยละ 1 และทำแบบเดียวกันโดยนำไปบ่มร่วมกันแบบที่เรียในลำไส้ในสภาวะเดียวกันและนำค่ามวลเซลล์ที่ได้ไปคำนวณหาค่ากิจกรรมพรีไบโอติก (prebiotic activity)

Pan และ Lee (2004) วิจัยขั้นตอนการผลิต ไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ (isomalto-oligosaccharid, IMO) ความบริสุทธิ์สูงทำการทรานส์กลูโคซิเลชันโดยเอนไซม์ทรานส์กลูโคซิเดสและหมักโดยใช้ยีสต์ ดำเนินการโดยนำแป้งจากเศษข้าวทำการตัดด้วยเอนไซม์ liquefield และ saccharification จากนั้นทำการเปลี่ยนเป็น IMO ที่มีความบริสุทธิ์ต่ำโดยการเกิดทรานส์กลูโคซิเลชัน หลังจากนั้นใช้การหมักด้วยยีสต์เพื่อนำน้ำตาลที่สามารถย่อยได้ออกให้หมดซึ่งประกอบด้วย กลูโคส มอลโทส และมอลโทไตรโอส ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็น IMO ที่มีความบริสุทธิ์สูง

Santos และคณะ (2012) ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของกากผลมะม่วงหิมพานต์และศักยภาพในการผลิตเป็นเอทานอล โดยวัดค่าเบื้องต้นซึ่ง ได้แก่ ค่าความเป็นกรดต่าง ความชื้น ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ น้ำตาล เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน จากการวิเคราะห์ด้วย HPLC พบว่ามี กลูโคส 1537.49 มิลลิกรัมต่อลิตร ไซโลส 3823.22 มิลลิกรัมต่อลิตร และ อราบินอส 7131.11 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ยุทธชัย (2557) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแป้ง
 ไม่ควรคัดลอก หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
 มันสำปะหลังด้วยเอนไซม์จากจุลินทรีย์โดยย่อยแป้งมันสำปะหลังด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจาก

Bacillus licheniformis ที่สภาวะพีเอช 6.5 อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส ใช้เวลาบ่ม 10 นาทีเพื่อผลิตน้ำเชื่อมมอลโทสที่มีความเข้มข้นสูงซึ่งเป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตน้ำเชื่อมไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์หลังจากนั้นใช้เอนไซม์เบตาอะไมเลสร่วมกับมอลโทจินเนสที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.04 และ 0.13 ปริมาตรต่อน้ำหนักที่สภาวะพีเอช 5.5 อุณหภูมิ 55 องศา บ่มเป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมงจะได้น้ำตาลมอลโทสที่มีความเข้มข้นสูงคือร้อยละ 58.08 และในขั้นสุดท้ายใช้ทรานส์กลูโคซิเดส จาก *Aspergillus niger* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.06 ปริมาตรต่อปริมาตร ที่สภาวะพีเอช 5.0 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส บ่มเป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง จะสามารถผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่ประกอบด้วย พาโนส มอลโทไตรโอสและไอโซมอลโทไตรโอสความเข้มข้น 16.95, 12.13, 24.72 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

สุวิมล (2552) ผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ (IMO) จากแป้งกล้วยโดยทำการลิกวิฟต์ (liquefield) แป้งกล้วยด้วยเอนไซม์ Termamyl SC (E.C.3.2.1.1) จากนั้นทำการแซ็กคาริฟิเคชัน (saccharification) ด้วยเบตาอะไมเลส (E.C.3.2.1.2) จากนั้นนำสารละลายที่ได้มาสังเคราะห์ IMO โดยเอนไซม์ทรานส์กลูโคซิเดส (E.C.3.2.1.20) ได้ผลผลิตเป็น IMO ร้อยละ 30 ของปริมาณน้ำตาลทั้งหมดจากนั้นนำมากำจัดกลูโคสและมอลโทสโดยการหมักกับยีสต์ในขนมปังพบว่าหลัง 24 ชั่วโมงได้ผลผลิตเป็นไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่มีไอโซมอลโทไตรโอส และพาโนสร้อยละ 53 ไอโซมอลโทเตตระโอสร้อยละ 21 มอลโทโอลิโกเฮปตะโอส และน้ำตาลอื่นที่ไม่เลกุลมากกว่าร้อยละ 26

รุสมัน (2556) ศึกษาการสกัดโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแก้วมังกรพันธุ์สีชาวด้วยน้ำและเอนไซม์เพกทิเนส ทำบริสุทธิ์ด้วยการหมักด้วยยีสต์และโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่ได้มาทดสอบความคงทนต่อการย่อยภายใต้สภาวะจำลองระบบทางเดินอาหารส่วนต้นและประเมินคุณสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติกด้วยการหมักกับอุจจาระมนุษย์และนำน้ำหมักมาทดสอบการต้านเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ จากการศึกษาพบว่า การสกัดโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแก้วมังกรด้วยน้ำได้ผลผลิตคิดเป็นน้ำหนักแห้งร้อยละ 43.98 ส่วนการสกัดด้วยเพกทิเนสได้โอลิโกแซ็กคาไรด์คิดเป็นน้ำหนักแห้งเป็นร้อยละ 41.92 เมื่อทำการทดลองการทนต่อการย่อยในปาก กระเพาะอาหาร และลำไส้เล็กพบว่าทนได้เป็นร้อยละ 93.3 , 99.3 และ 95.2 ตามลำดับ หลังจากการหมักกับอุจจาระมนุษย์พบว่ามีกลุ่มของ *Bifidobacteria* และ *Lactobacilli* แต่ยับยั้งจุลินทรีย์ในกลุ่มของ *Bacteroides* และ *Clostridia* โดยมีค่าดัชนีความเป็นพรีไบโอติกเท่ากับ 0.41 นอกจากนี้หมักยังสามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง Caco-2 ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบและเอนไซม์

วัตถุดิบในการทดลอง ได้แก่ น้ำประปา แป้งมัน แป้งข้าวเจ้า แป้งข้าวเหนียว แป้งสาลี แป้งกล้วย แป้งข้าวโพด บุกและกากมะพร้าว (สกัดน้ำมันออก) เอนไซม์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (Siam victory chemicals, Thailand) เอนไซม์เบตาอะไมเลส (Siam victory chemicals, Thailand) เอนไซม์ฟูลลูลานเนส (Siam victory chemicals, Thailand) เอนไซม์ทรานส์กลูโคซิเดส บริษัท (Siam victory chemicals, Thailand) และเอนไซม์แมนนาเนส (Siam victory chemicals, Thailand)

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

อุปกรณ์และเครื่องมือในการทดลองประกอบด้วยเตาแก๊ส หม้อ เเทอร์โมมิเตอร์ ปีกเกอร์ แก้วอ่างแก้วสำหรับ Develop แผ่น TLC (ชนิด silica gel เคลือบบนแผ่นอะลูมิเนียม, Merck, Germany) เตาความร้อน (Hot plate, LABMART, HTS-1003, American) เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 2 ตำแหน่ง (analytical balance, SHIMADZU, TXB 222L, Japan) เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (analytical balance, SHIMADZU, ATY 224, Japan) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath shaker, TAITEC, MM-10, Japan) เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge, BOECO, S-8, Germany) เครื่องเขย่าสาร (vortex mixer, VISION, KMC-1300V, Korea) เครื่องวัดความเป็นกรดต่าง (pH meter, EUTECH, CyberScan pH 11, America) เครื่องดูดจ่ายสารอัตโนมัติ (autopipette 20-200 microliter, Witeg, Germany) เครื่องดูดจ่ายสารอัตโนมัติ (autopipette 1-5 microliter, Witeg, Germany) เครื่องดูดจ่ายสารอัตโนมัติ (autopipette 1-5 milliliter, BOECO, Germany) เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV spectrophotometer, SHIMADZU, UV-1800, Japan) และ Densitometer (Bio – RAD, GS – 900, America)

3.1.3 สารเคมี

n-propanol เกรตวิเคราะห์ (ACL Labscan, USA) Ethyl acetate เกรตวิเคราะห์ (QRęc, Newzealand) H_2SO_4 เกรตวิเคราะห์ (QRęc, Newzealand) Ethanol เกรตวิเคราะห์ (ACL Labscan, USA) α -naptol เกรตวิเคราะห์ (Sigma ALDRICH, USA) Sodium potassium tartatetetrahydrate เกรตวิเคราะห์ (Merck, Germany) NaOH เกรตวิเคราะห์ (UNIVAR, USA) HCl เกรตวิเคราะห์ (J.T. Baker, USA) 3,5-dinitrosalicylicacid เกรตวิเคราะห์ (Sigma ALDRICH, USA) Ninhydrin เกรตวิเคราะห์ (Sigma ALDRICH) KH_2PO_4 เกรตวิเคราะห์ (UNIVAR, USA) Fructose เกรตวิเคราะห์ (Fluka, Switzerland) Glucose เกรตวิเคราะห์ (UNIVAR, USA) Maltose เกรตวิเคราะห์ (UNIVAR, USA) Mannose เกรตวิเคราะห์ (Sigma ALDRICH, USA) Potassium iodate เกรตวิเคราะห์ (Merck, Germany) lycine เกรตวิเคราะห์ (Merck, Germany) Ammonium acetate เกรตวิเคราะห์ (Merck, Germany) และ Iodine

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.2.1 การผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแป้งโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้า

3.2.1.1 การเตรียมสารละลายแป้ง

การเตรียมสารละลายแป้งวิธีนี้ทำตามวิธีของ ยุทธชัย (2557) โดยทำการชั่งแป้งทั้ง 6 ชนิด ปริมาณ 200 กรัม ละลายในน้ำประปา 333 มิลลิลิตร ในบีกเกอร์ขนาด 1000 มิลลิลิตร จากนั้นปรับพีเอชให้เท่ากับ 6.5 ด้วย สารละลาย HCL 1 โมลาร์ หรือ สารละลาย NaOH 1 โมลาร์ แล้วเติมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (Siam victory chemicals, Thailand) ร้อยละ 0.04 เก็บตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร นำบีกเกอร์วางในหม้อที่มีน้ำต้มเดือด ต้มจนสารละลายแป้งอุณหภูมิถึง 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ทำการทดสอบสารละลายแป้งที่ต้มด้วยสารละลายไอโอดีน หากหยุดแล้ว เปลี่ยนเป็นสีม่วงให้ต้มต่อจนหยุดสารละลายไอโอดีนแล้วไม่เปลี่ยนสี เมื่อหยุดสารละลายไอโอดีนแล้ว แป้งไม่เปลี่ยนสีแล้ว นำออกจากน้ำเดือดแล้วหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสด้วย สารละลาย HCL 1 โมลาร์จนมีพีเอชเท่ากับ 3 จากนั้นปรับพีเอชให้เป็น 5.5 แล้วเก็บตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร เติมเอนไซม์เบตาอะไมเลส (Siam victory chemicals, Thailand) ด้วยร้อยละ 0.04 แล้ว บ่มที่ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาแล้วหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ เบตาอะไมเลสด้วยสารละลาย HCL 1 โมลาร์ จนมีพีเอช เท่ากับ 3 จากนั้นปรับพีเอช ให้เป็น 5.5 แล้วเก็บ ตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร เติมเอนไซม์ทรานส์กลูโคซิเดส (Siam victory chemicals, Thailand) ร้อยละ 1 และบ่มที่ 60 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ทุกๆ 6 ชั่วโมง จนครบ 42 ชั่วโมง เตรียมสารละลายแป้งอีกชุดแต่ทำการเพิ่มเอนไซม์พุลูลานเนส (Siam victory chemicals, Thailand) ร้อยละ 0.15 พร้อมกับการเติมเอนไซม์เบตาอะไมเลสร้อยละ 0.04 เก็บตัวอย่าง เช่นเดียวกันแล้วเปรียบเทียบกับผลการทดลอง จากนั้นนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ชนิดของน้ำตาลด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) และวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS)

3.2.1.2 การวิเคราะห์ชนิดของน้ำตาลด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC)

การวิเคราะห์ชนิดของน้ำตาลด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ทำตามวิธีของ Joseph และ Murrell (1983) โดยนำตัวอย่างที่เก็บจากขั้นตอนการเตรียมสารละลาย แป้งมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6000 รอบต่อวินาที เป็นเวลา 15 นาที และแบ่งตัวอย่างสำหรับการ วิเคราะห์น้ำตาลด้วยวิธี Thin layer Chromatography 1 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจาง สารละลายตัวอย่างและสารละลายมาตรฐานตามความเข้มข้นที่ต้องการ โดยขีดเส้นผ่าน TLC ห่าง จากขอบ 1 เซนติเมตร จุดแต่ละจุดให้ห่างกัน 1.5 เซนติเมตร แล้วหยุดสารละลายตัวอย่างและ สารละลายมาตรฐานลงจุดละ 6 ไมโครลิตร จากนั้นนำแผ่น TLC (ชนิด siliga gel เคลือบบนแผ่น อะลูมิเนียม, Merck, Germany) ที่หยุดสารละลายตัวอย่างแล้วจุ่มใน Tank TLC ที่มีสารละลาย solvent ที่ประกอบด้วย n-propanol, Ethyl acetate และน้ำในอัตราส่วน 6 : 1 : 3 เททิ้งไว้ ช้ามคืนแล้ว ปล่อยให้สารละลาย solvent เคลื่อนที่ผ่านแผ่น TLC เป็นเวลาประมาณ 3 ชั่วโมงเมื่อ ครบเวลานำขึ้นมาทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นสเปรย์ด้วยสาร spay solution ที่มีองค์ประกอบของ H₂SO₄ ร้อยละ 5 โดยปริมาตรต่อปริมาตร Ethanol ร้อยละ 95 จำนวน 100 มิลลิลิตร และ α -nephthol ร้อยละ 0.5 พ่นให้ทั่วทั้งแผ่น ทิ้งให้สเปรย์แห้งแล้วอบที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วเปรียบเทียบกับน้ำตาลจากสารละลายตัวอย่างกับสารละลายมาตรฐาน

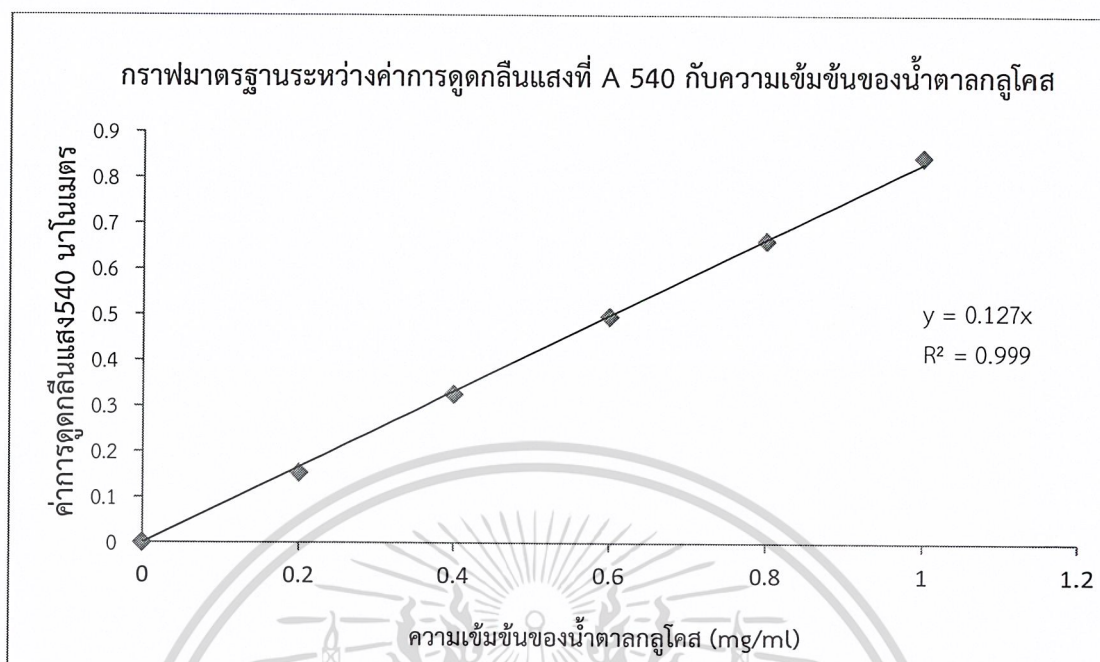
3.2.1.3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS) ก) การเตรียมกราฟมาตรฐาน

การเตรียมกราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS) ทำโดยชั่งน้ำตาลกลูโคส (UNIVAR, USA) และน้ำตาลมอลโทส (UNIVAR, USA) ปริมาณ 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายกลูโคสและมอลโทสเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เจือจางสารละลายกลูโคสและมอลโทส ให้มีความเข้มข้น 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นดูดสารละลายที่มีความเข้มข้นต่างๆลงในหลอดทดลองปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย dinitrosalicylic acid (DNS) (Sigma ALDRICH, USA) 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วต้มในน้ำเดือด เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทำให้เย็นทันทีในน้ำเย็นเป็นเวลา 10 นาที เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรด้วยวิเคราะห์จากเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Spectrophotometer, SHIMADZU, UV-1800, Japan) จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสและมอลโทส

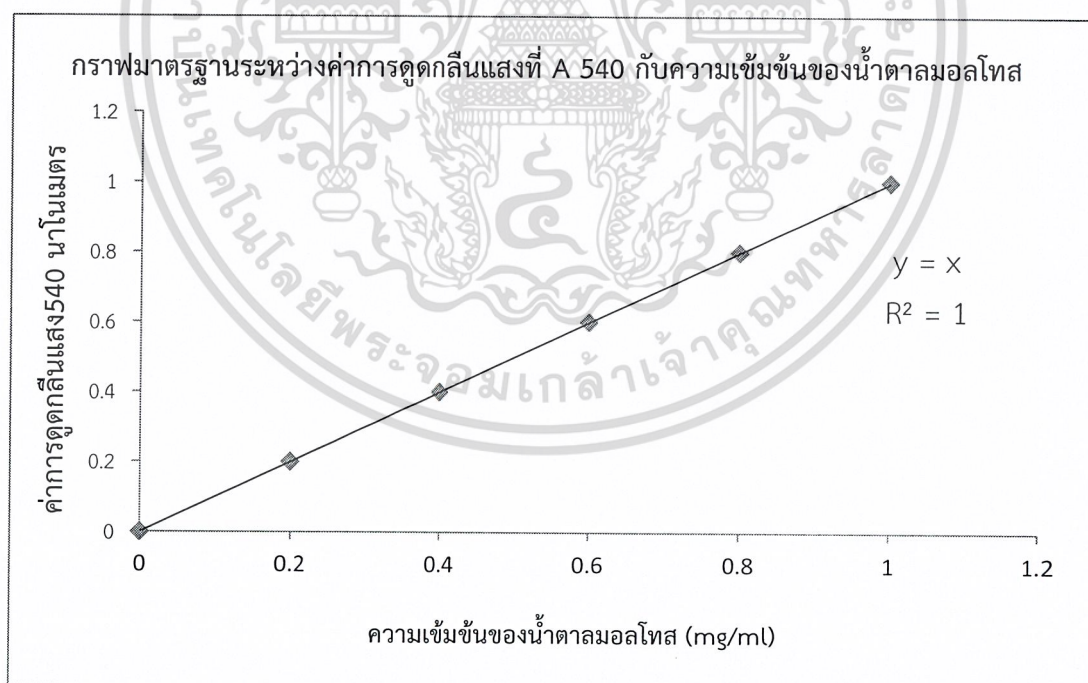
ตารางที่ 3.1 การเตรียมสารละลายน้ำตาลมาตรฐาน

ความเข้มข้นของสารละลาย น้ำตาลมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ปริมาตรสารละลายน้ำตาล (ไมโครลิตร)	ปริมาตรน้ำกลั่น (ไมโครลิตร)
0	0	1000
0.2	20	980
0.4	40	960
0.6	60	940
0.8	80	920
1.0	100	900

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.1 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส



รูปที่ 3.2 กราฟมาตรฐานน้ำตาลมอลโทส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข) การวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของสารละลายตัวอย่าง

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS) ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ Chaplin (1986) โดยนำตัวอย่างที่เก็บจากขั้นตอนการเตรียมสารละลายแบ่งมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที และแบ่งตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ 5 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางสารละลายตัวอย่างให้มีความเข้มข้นตามที่ต้องการ เติมสารละลาย dinitrosalicylic acid (DNS) ในอัตราส่วนสารละลาย DNS 1 ส่วนต่อสารละลายตัวอย่าง 1 ส่วน แล้วต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทำให้เย็นทันทีในน้ำเย็นเป็นเวลาอีก 10 นาที เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV Spectrophotometer, SHIMADZU, UV-1800, Japan) นำค่าการดูดกลืนแสงมาคำนวณปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ดังสมการ

$$\text{ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)} = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสง} \times \text{การเจือจาง}}{\text{ความชันของกราฟมาตรฐาน}}$$

3.2.2 การผลิตฟรีโบโอติกจากบุกและกากมะพร้าว

3.2.2.1 การเตรียมสารละลายบุกและกากมะพร้าว

การเตรียมสารละลายบุกและกากมะพร้าวซึ่งทำตามวิธีการของ Stool และ Blanchard (1990) ซึ่งทำโดยเจือจาง Ammonium acetate buffer ให้มีความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ (mM) ปริมาตร 600 มิลลิลิตร จากนั้นชั่งบุกผงกากมะพร้าว และเอนไซม์แมนนาเนส (Siam victory chemicals, Thailand) โดยใช้อัตราส่วน บุกผงและกากมะพร้าว 1 กรัม ต่อเอนไซม์แมนนาเนส 0.49 กรัม โดยการทดลองนี้ เลือกใช้บุกผงและกากมะพร้าว 12 กรัม และเอนไซม์แมนนาเนส 5.88 กรัม ซึ่งเป็นอัตราส่วนการใช้เอนไซม์ร้อยละ 50 ผสมบุกผงและกากมะพร้าวรวมกับ Ammonium acetate buffer ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ (mM) ปริมาตร 600 มิลลิลิตรลงในขวด Duran ขนาด 1000 มิลลิลิตรโดยบุกจะใช้ความร้อนในการช่วยให้ละลายได้ดีขึ้น ส่วนกากมะพร้าวสามารถผสมลงได้โดยไม่ต้องใช้ความร้อน จากนั้นเติมเอนไซม์แมนนาเนส 5.88 กรัม และทำการบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยจะเก็บตัวอย่าง 5 มิลลิลิตรดังนี้ บุกชั่วโมงที่ 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 18, 24, 30, 36, 42 และ 48 กากมะพร้าวชั่วโมงที่ 0, 0+ENZ (ใส่เอนไซม์แล้วเก็บตัวอย่างทันที), 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 18, 24, 30, 32, 42, 45, 52 และ 72

นำตัวอย่างไปวิเคราะห์ชนิดของน้ำตาลด้วยวิธี Thin layer Chromatography (TLC) ,วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS) และวิเคราะห์ปริมาณ Free amino nitrogen

3.2.2.2 การศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสในสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยบุก

การศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสในสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยบุก ทำโดยเจือจาง Ammonium acetate buffer ให้มีความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ (mM) ปริมาตร 600 มิลลิลิตร จากนั้นชั่งบุกผงและเอนไซม์โดยจะใช้เอนไซม์แมนนาเนส (Siam victory chemicals, Thailand) โดยใช้

Thailand) ในอัตราส่วนผงบุกต่อเอนไซม์ที่แตกต่างกัน คือร้อยละ 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 15, 20 และ 25 ผสมบุกผงรวมกับ Ammonium acetate buffer ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลลาร์ (mM) ปริมาตร 600 มิลลิลิตร ลงในขวด Duran ขนาด 1000 มิลลิลิตรโดยใช้ความร้อนในการช่วยให้ละลายได้ดีมาก จากนั้นเติมเอนไซม์ แมนนานเนสในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน จากนั้นทำการบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยจะเก็บตัวอย่าง 5 มิลลิลิตร ดังนี้คือ ชั่วโมงที่ 0, 0.3, 1, 1.3, 2, 2.3, 3, 3.3, 4, 4.3, 5, 5.3, 6, 6.3, 7, 7.3, 8, 8.3, 9, 9.3 และ 10 จากนั้นนำตัวอย่างไปวิเคราะห์ชนิดของน้ำตาลด้วยวิธี Thin layer Chromatography (TLC), วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS) และวิเคราะห์ปริมาณ Free amino nitrogen

3.2.2.3 การวิเคราะห์ชนิดของน้ำตาลด้วยวิธี Thin layer Chromatography (TLC)

การวิเคราะห์ชนิดของน้ำตาลด้วยวิธี Thin layer Chromatography (TLC) ทำตามวิธีของ Joseph และ Murrell (1983) นำตัวอย่างที่เก็บจากขั้นตอนการเตรียมสารละลายบุกและกากมะพร้าวมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6000 รอบต่อวินาที เป็นเวลา 15 นาที และแบ่งตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์น้ำตาลด้วยวิธี Thin layer Chromatography 1 มิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางสารละลายตัวอย่างและสารละลายมาตรฐานตามความเข้มข้นที่ต้องการ โดยขีดเส้นแผ่น TLC ห่างจากขอบ 1 เซนติเมตร จุดแต่ละจุดให้ห่างกัน 1.5 เซนติเมตร แล้วหยดสารละลายตัวอย่างและสารละลายมาตรฐานลงจุดละ 6 ไมโครลิตร จากนั้นนำแผ่น TLC ที่หยดสารละลายตัวอย่างแล้วจุ่มใน Tank TLC ที่มีสารละลาย Solvent ที่เททิ้งไว้ข้ามคืนแล้ว ปล่อยให้สารละลาย solvent เคลื่อนที่ผ่านแผ่น TLC เป็นเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำขึ้นมาทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นสเปรย์ด้วยสาร spay solution ให้ทั่วทั้งแผ่น ทิ้งให้สเปรย์แห้งแล้วอบที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วเปรียบเทียบน้ำตาลจากสารละลายตัวอย่างกับสารละลายมาตรฐาน

3.2.2.4 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS)

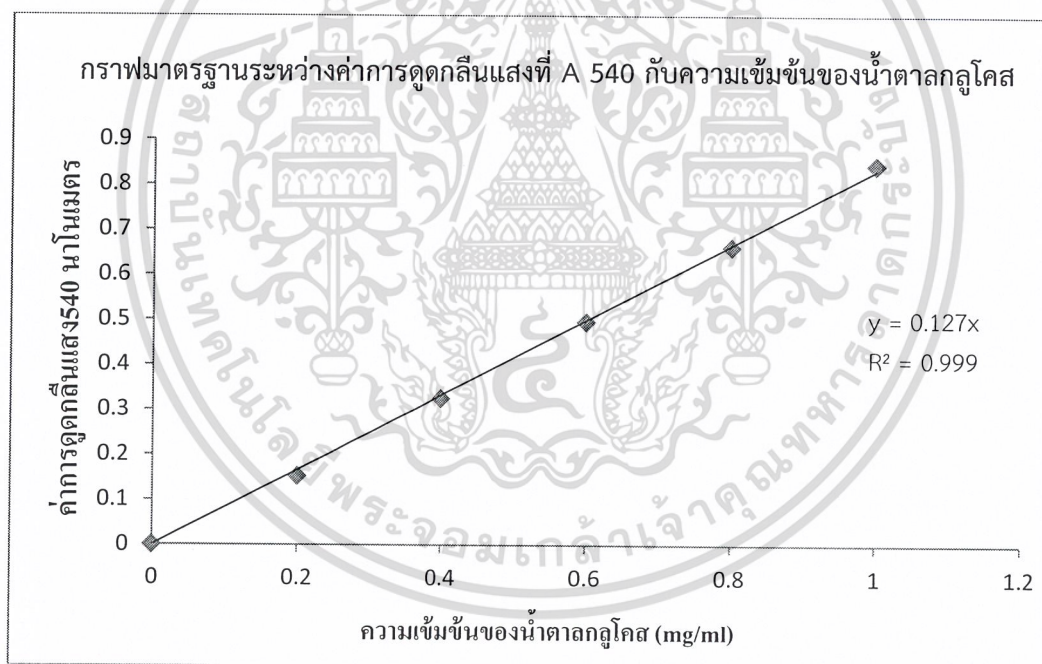
ก) การเตรียมกราฟมาตรฐาน

การเตรียมกราฟมาตรฐานของการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS) ทำโดยชั่งน้ำตาลกลูโคส (UNIVAR, USA) และน้ำตาลแมนโนส (Sigma ALDRICH, USA) ปริมาณ 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายกลูโคสและแมนโนส เข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อลิตร เจือจางสารละลายน้ำตาลกลูโคสและแมนโนสให้มี ความเข้มข้น 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นดูดสารละลายที่ความเข้มข้นต่างๆลงในหลอดทดลองปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลาย dinitrosalicylic acid (DNS) (Sigma ALDRICH, USA) 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วต้มในน้ำเดือด เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทำให้เย็นทันทีในน้ำเย็นเป็นเวลา 10 นาที เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV Spectro- photometer, SHIMADZU, UV-1800, Japan) จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสและแมนโนส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.2 การเตรียมสารละลายน้ำตาลมาตรฐาน

ความเข้มข้นของสารละลาย น้ำตาลมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ปริมาตรสารละลายน้ำตาล (ไมโครลิตร)	ปริมาตรน้ำกลั่น (ไมโครลิตร)
0	0	1000
0.2	20	980
0.4	40	960
0.6	60	940
0.8	80	920
1.0	100	900



รูปที่ 3.3 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ละลายด้วยน้ำกลั่น จากนั้นปรับปริมาตรด้วยขวดปรับปริมาตร ให้ครบ 100 มิลลิลิตรได้ Stock glycine A ที่มีความเข้มข้น 1.072 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรจำนวน ทำการเตรียม Standard glycine โดยดูดจาก Stock glycine A ความเข้มข้น 1.072 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรจำนวน 1 มิลลิลิตรแล้วเติมน้ำให้ครบ 100 มิลลิลิตร ได้ Stock glycine B จากนั้นปิเปตต์ Stock glycine B จำนวน 2 มิลลิลิตร และ Colour reagent ที่มีส่วนผสมของ ninhydrin 5 กรัม $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 49.17 กรัม KH_2PO_4 60 กรัม และฟรักโทส 3 กรัม ปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตรโดยน้ำกลั่น ปิเปตต์ Colour reagent จำนวน 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 16 นาที ปิดฝาป้องกันการระเหย จากนั้นทำให้เย็นทันทีเป็นเวลาอีก 10 นาที เติม dilution Reagent 5 มิลลิลิตร จากนั้นผสมให้เข้ากันอีกครั้ง และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตรด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV Spectrophotometer, SHIMADZU, UV-1800, Japan) จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงของ Standard glycine ไปคำนวณกับค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณ ปริมาณ Free amino nitrogen

ข) การหาปริมาณ Free amino nitrogen (FAN)

การวิเคราะห์หาปริมาณ Free amino nitrogen (FAN) โดยวิธี Ninhydrin ทำตามวิธีของ Wright และ Biol (1923) ซึ่งทำโดยเติมตัวอย่าง 2 มิลลิลิตร และ Colour reagent 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 16 นาที ปิดฝาป้องกันการระเหย จากนั้นทำให้เย็นทันที เป็นเวลาอีก 10 นาที เติม dilution reagent 5 มิลลิลิตร จากนั้นผสมให้เข้ากันอีกครั้ง และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตรและด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-Spectrophotometer, SHIMADZU, UV-1800, Japan) และนำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างมาหาคำนวนปริมาณ Free amino nitrogen ดังสมการ

$$\text{ปริมาณ Free amino nitrogen (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)} = \frac{A1 \times D \times 2}{A2}$$

A1 = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร ของตัวอย่าง

A2 = ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร ของ Standard Glycine

2 = ความเข้มข้นของ Free amino nitrogen (FAN) ใน Standard Glycine (mg/ml)

D = ค่าความเจือจางของตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการศึกษาและอภิปรายผลการทดลอง

4.1 การผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแป้งโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้า

การผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแป้งนั้นช่วงแรกจะอาศัยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลสตัดอย่างสุ่มที่ละหนึ่งโมเลกุลเพื่อให้ได้น้ำตาลกลูโคส (วีราสินี, 2556) และใช้เอนไซม์เบตาอะไมเลส ตัดภายในที่ละสองโมเลกุลเพื่อให้ได้น้ำตาลมอลโทส (พักตร์ประไพ, 2546) จากนั้นเอนไซม์ทรานส์กลูโคซิเดสจะเร่งปฏิกิริยาทรานส์กลูโคซิเลชัน (transglucosylation) ทั้งปฏิกิริยาการย่อยสลายและการเคลื่อนย้าย แอลฟา-ดี-กลูโค-โอลิโกแซ็กคาไรด์ ทำให้เกิดโอลิโกเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสที่เชื่อมกันเช่น ไอโซมอลโทส พาโนส ไอโซมอลโทไตรโอส (Mendis, 2012) จากการศึกษาการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer chromatography (TLC) จะเลือกใช้สารละลายผสมของน้ำตาลกลูโคส มอลโทส ไอโซมอลโทส มอลโทไตรโอส พาโนส ไอโซมอลโทไตรโอส เป็นสารละลายน้ำตาลมาตรฐาน และศึกษาปริมาณไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ในแต่ละชั่วโมงของการย่อยซึ่งพบว่าการย่อยหลังการเติมเอนไซม์ทรานส์กลูโคซิเดสแล้ว 18-42 ชั่วโมงมีปริมาณไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ค่อนข้างหนาแน่นกว่าการเติมเอนไซม์ในช่วงแรก นอกจากนี้แล้วยังสามารถพบน้ำตาลชนิดอื่นๆในการย่อยหลังจาก 6 ชั่วโมงขึ้นไป โดยน้ำตาลเหล่านี้มีน้ำหนักโมเลกุลที่มากเมื่อ develop แผ่น TLC น้ำตาลเหล่านี้จึงปรากฏตรงด้านล่างของแผ่น TLC ซึ่งสังเกตจากแถบแบนที่อยู่ถัดจากไอโซมอลโทไตรโอส ที่อยู่ด้านล่าง โดยไม่ทราบชนิดของน้ำตาลเนื่องจากไม่มี standard แสดงดังรูปที่ 4.1-4.6 ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS) ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับหมู่ไฮดรอกไซด์ในคาร์บอนตำแหน่งที่หนึ่งโดยอาศัยคุณสมบัติของมันที่สามารถรีดิวซ์โลหะไอออน เช่น Cu^{2+} หรือ Ag^+ ซึ่งกลุ่มมอนแซ็กคาไรด์ เช่น กลูโคส และน้ำตาลไดแซ็กคาไรด์ เช่น มอลโทสส่วนใหญ่จะมีหมู่คาร์บอนิลซึ่งจะถูกออกซิไดซ์ได้ง่าย (ประเสริฐ, 2530) ซึ่งจากการศึกษาพบว่าทั้งปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของกลูโคสและมอลโทสจะเพิ่มขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 เป็นต้นไปหลังจากการเติมเอนไซม์ ทรานส์กลูโคซิเดสโดยแบ่งที่ให้ปริมาตรน้ำตาลกลูโคสและมอลโทสสูงที่สุดคือ แป้งข้าวเจ้า ซึ่งปริมาตรน้ำตาลกลูโคสและมอลโทสเพิ่มขึ้นสูงสุดถึง 2095 และต่ำสุด 266 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรดังรูปที่ 4.13 และ 4.14

จากการศึกษาการผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์โดยเพิ่มการเติมเอนไซม์ฟลูคลาเนสลงไปพร้อมกับเอนไซม์เบตาอะไมเลสนั้น นอกจากเอนไซม์เบตาอะไมเลสจะตัดภายในที่ละสองโมเลกุลเพื่อให้ได้น้ำตาลมอลโทสแล้วเอนไซม์ฟลูคลาเนสยังมีความสามารถในการตัดเฉพาะพันธะแอลฟา-1,6 โกลโคซิดิกช่วยย่อยพันธะในส่วนของกิ่ง (วีไล, 2543) การตัดกิ่งทำให้โครงสร้างของโมเลกุลแป้งเกิดการเปลี่ยนแปลงเกิดเป็นพอลิเมอร์กลุ่มอะไมโลเดกซ์ทริน ที่ประกอบด้วยส่วนของอะไมโลสและโมเลกุลเส้นตรงสายสั้นๆที่มีขนาดโมเลกุลต่างกัน (Butler และคณะ, 2004) ทำให้ได้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้น โอกาสการเพิ่มปริมาณผลผลิตโอลิโกแซ็กคาไรด์ได้เพิ่มมากขึ้น

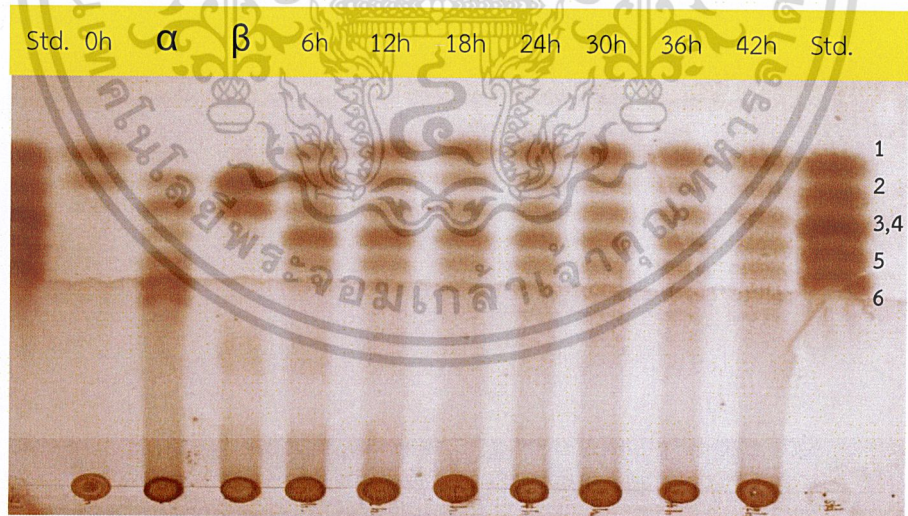
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.1 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลด้วยวิธี Thin Layer chromatography (TLC) ก) เต็มเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เบตาอะไมเลส และทรานส์กลูโคซิเดส

คำอธิบายภาพผลการวิเคราะห์น้ำตาลด้วยวิธี Thin Layer chromatography (TLC) ของการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์ทางการค้า รูปที่ 4.1 – 4.6

1. Std. คือสารละลายมาตรฐานของกลูโคส มอลโทส ไอโซมอลโทส มอลโทไตรโอส พาโนส และ ไอโซมอลโทไตรโอส
2. 0h คือ การเก็บตัวอย่างในชั่วโมงที่ 0
3. α คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส
4. β คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์เบตาอะไมเลส
5. 6h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์ทรานส์กลูโคซิเดส 6 ชั่วโมง
6. 12h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์ทรานส์กลูโคซิเดส 12 ชั่วโมง
7. 18h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์ทรานส์กลูโคซิเดส 18 ชั่วโมง
8. 24h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์ทรานส์กลูโคซิเดส 24 ชั่วโมง
9. 30h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์ทรานส์กลูโคซิเดส 30 ชั่วโมง
10. 36h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์ทรานส์กลูโคซิเดส 36 ชั่วโมง
11. 42h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์ทรานส์กลูโคซิเดส 42 ชั่วโมง

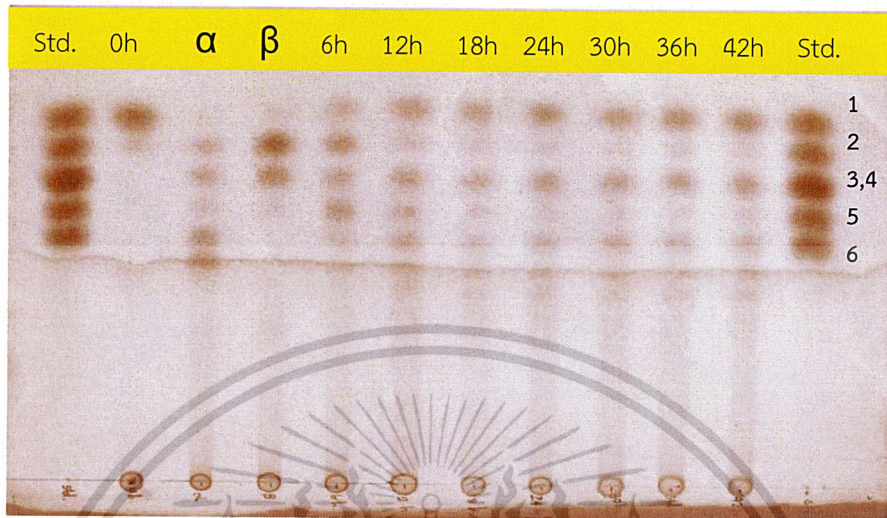
แป้งมัน



รูปที่ 4.1 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของแป้งมันโดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานของ กลูโคส (1), มอลโทส (2), ไอโซมอลโทส (3), มอลโทไตรโอส (4), พาโนส (5) และไอโซมอลโทไตรโอส (6)

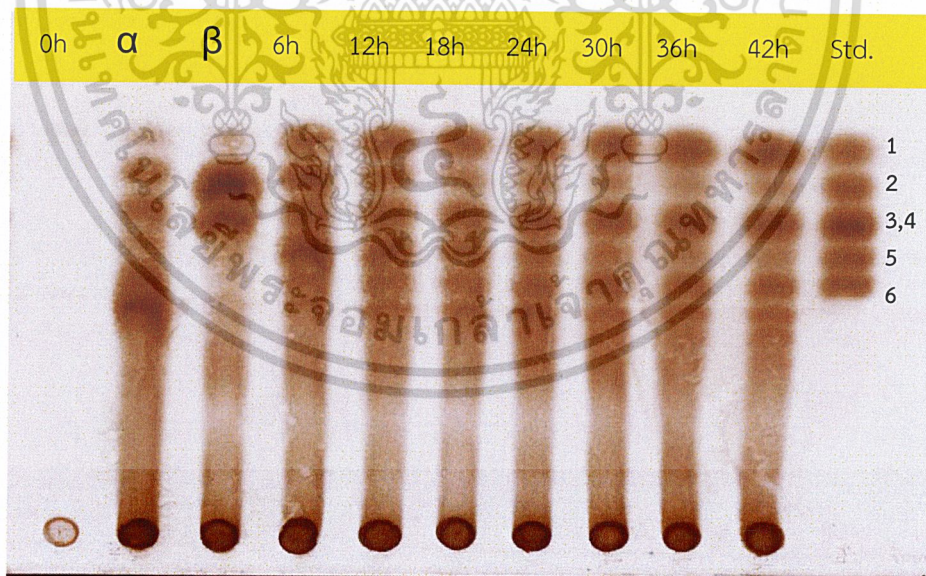
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แป้งข้าวเจ้า



รูปที่ 4.2 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของแป้งข้าวเจ้า โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานของ กลูโคส (1), มอลโทส (2), ไอโซมอลโทส (3), มอลโทไตรโอส (4), พาโนส (5) และไอโซมอลโทไตรโอส (6)

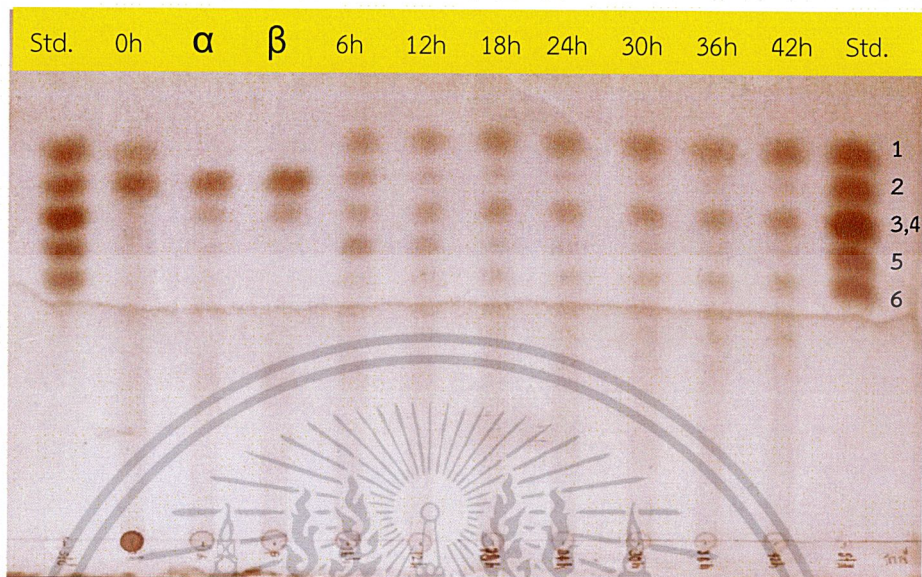
แป้งข้าวเหนียว



รูปที่ 4.3 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของแป้งข้าวเหนียว โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานของ กลูโคส (1), มอลโทส (2), ไอโซมอลโทส (3), มอลโทไตรโอส (4), พาโนส (5) และไอโซมอลโทไตรโอส (6)

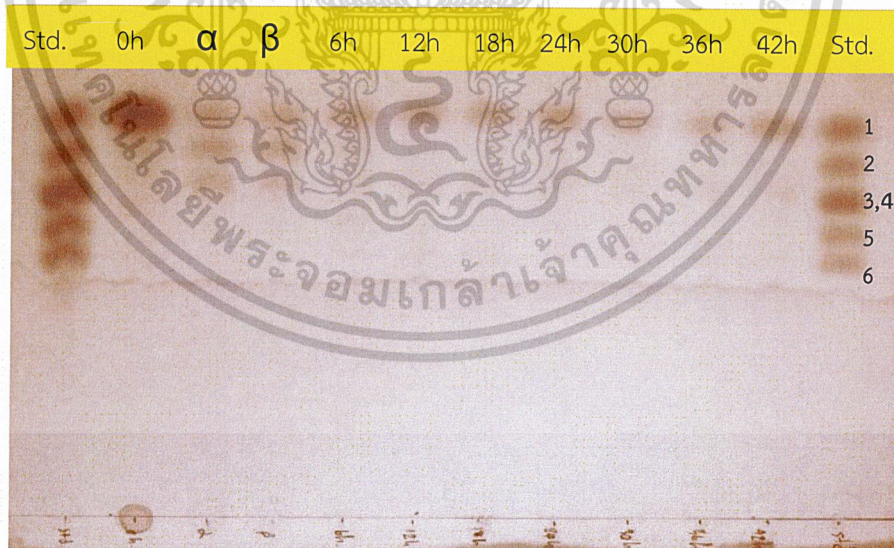
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แป้งสาลี



รูปที่ 4.4 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของแป้งสาลีโดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานของ กลูโคส (1), มอลโทส (2), ไอโซมอลโทส (3), มอลโทไตรโอส(4), พาโนส (5) และไอโซมอลโทไตรโอส (6)

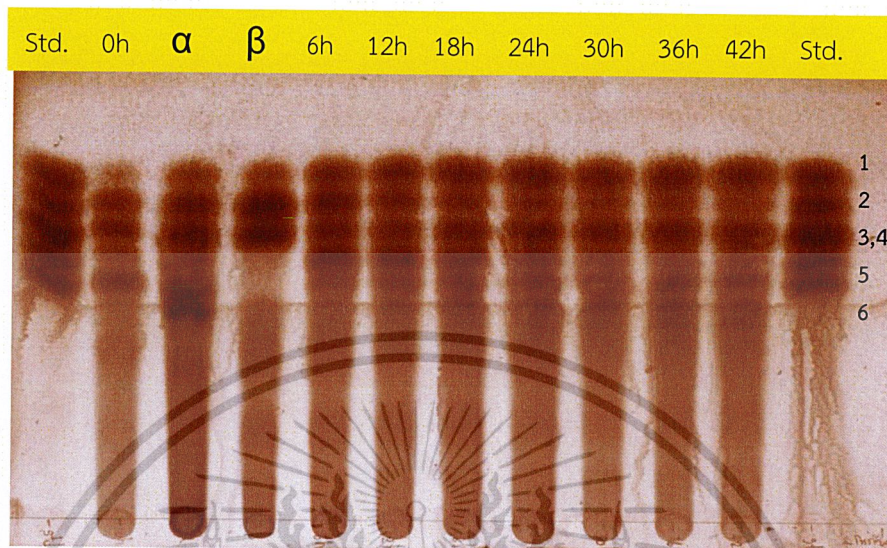
แป้งกล้วยดิบ



รูปที่ 4.5 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของแป้งกล้วยดิบโดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานของ กลูโคส (1), มอลโทส (2), ไอโซมอลโทส (3), มอลโทไตรโอส (4), พาโนส (5) และไอโซมอลโทไตรโอส (6)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แป้งข้าวโพด



รูปที่ 4.6 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของแป้งกล้วยดิบ โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานของ กลูโคส (1), มอลโทส (2), ไอโซมอลโทส (3), มอลโทไตรโอส (4), พาโนส (5) และไอโซมอลโทไตรโอส (6)

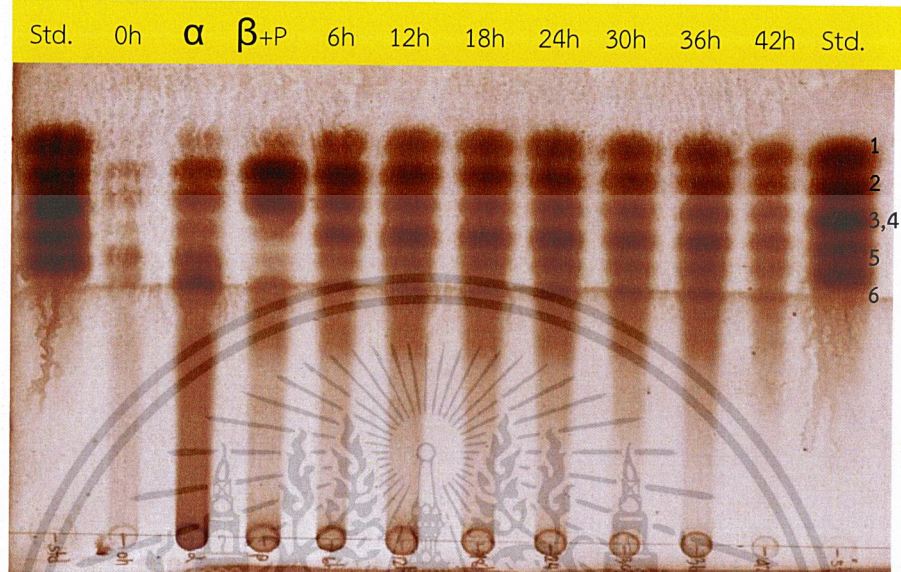
ข) เดิมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เบตาอะไมเลส พุลลูลานเนส และทรานส์กลูโคซิเดส

คำอธิบายภาพผลการวิเคราะห์น้ำตาลด้วยวิธี Thin Layer chromatography (TLC) ของการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์ทางการค้า รูปที่ 4.7 – 4.12

1. Std. คือ สารละลายมาตรฐานของ กลูโคส มอลโทส ไอโซมอลโทส มอลโทไตรโอส พาโนส และ ไอโซมอลโทไตรโอส
2. 0h คือ การเก็บตัวอย่างในชั่วโมงที่ 0
3. α คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส
4. β +P คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์เบตาอะไมเลสพร้อมกับเอนไซม์พุลลูลานเนส
5. 6h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์ทรานส์กลูโคซิเดส 6 ชั่วโมง
6. 12h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์ทรานส์กลูโคซิเดส 12 ชั่วโมง
7. 18h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์ทรานส์กลูโคซิเดส 18 ชั่วโมง
8. 24h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์ทรานส์กลูโคซิเดส 24 ชั่วโมง
9. 30h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์ทรานส์กลูโคซิเดส 30 ชั่วโมง
10. 36h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์ทรานส์กลูโคซิเดส 36 ชั่วโมง
11. 42h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์ทรานส์กลูโคซิเดส 42 ชั่วโมง

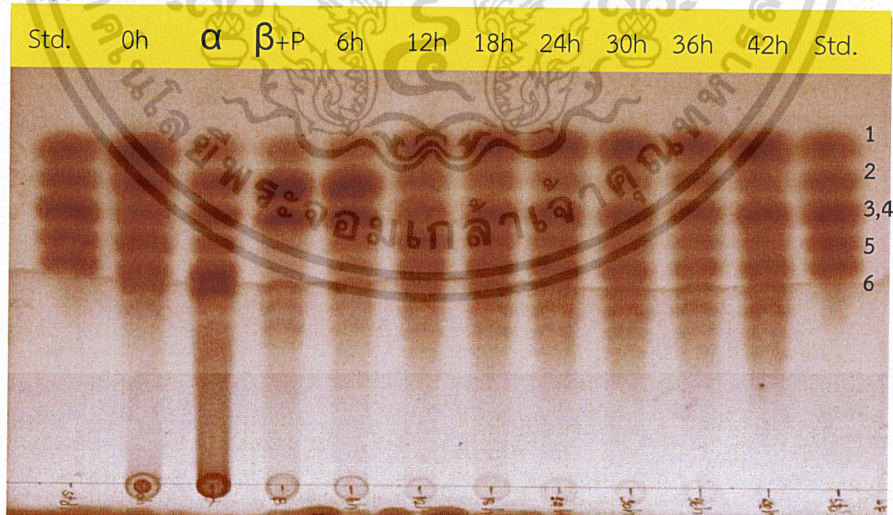
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แป้งมัน



รูปที่ 4.7 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของแป้งมันโดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานของ กลูโคส (1), มอลโทส (2), ไอโซมอลโทส (3), มอลโทไตรโอส (4), พาโนส (5) และไอโซมอลโทไตรโอส (6)

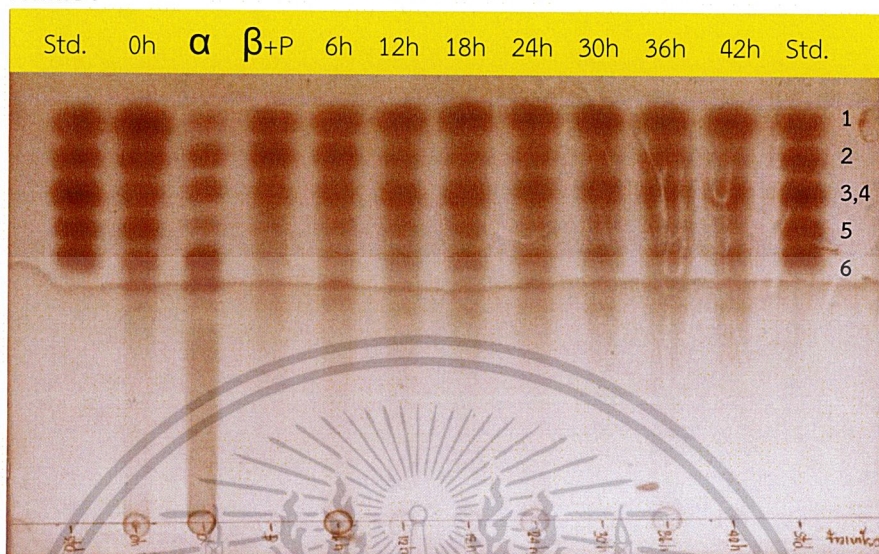
แป้งข้าวเจ้า



รูปที่ 4.8 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของแป้งข้าวเจ้า โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานของ กลูโคส (1), มอลโทส (2), ไอโซมอลโทส (3), มอลโทไตรโอส (4), พาโนส (5) และไอโซมอลโทไตรโอส (6)

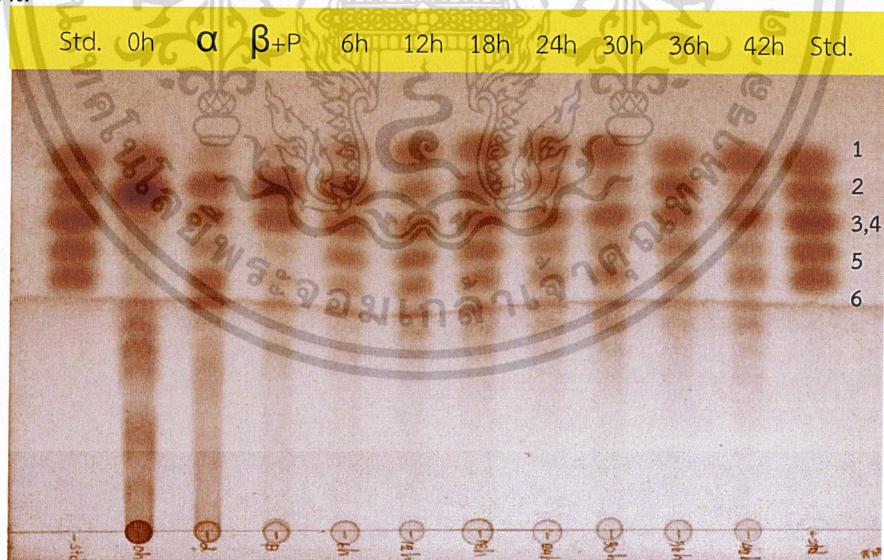
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แป้งข้าวเหนียว



รูปที่ 4.9 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของแป้งข้าวเหนียว โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานของ กลูโคส (1), มอลโทส (2), ไอโซมอลโทส (3), มอลโทไตรโอส (4), พาโนส (5) และไอโซมอลโทไตรโอส (6)

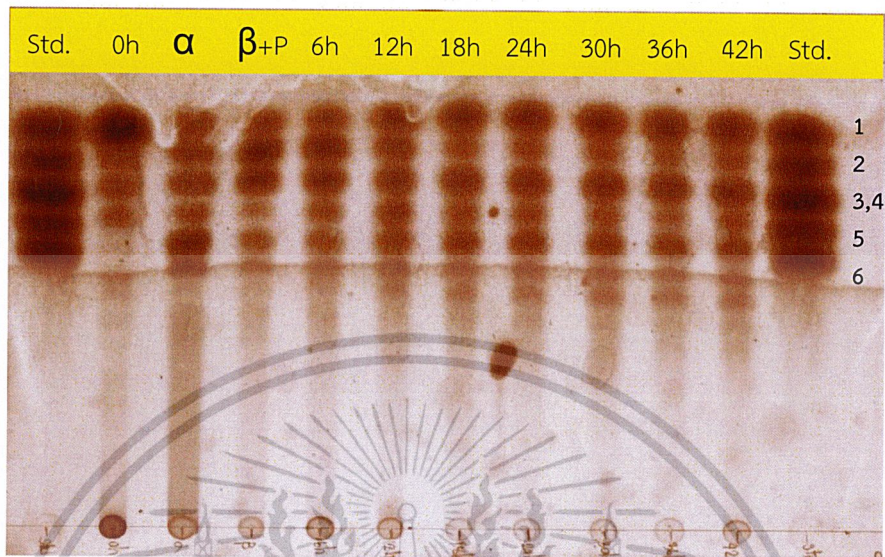
แป้งสาลี



รูปที่ 4.10 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของแป้งสาลี โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานของ กลูโคส (1), มอลโทส (2), ไอโซมอลโทส (3), มอลโทไตรโอส (4), พาโนส (5) และไอโซมอลโทไตรโอส (6)

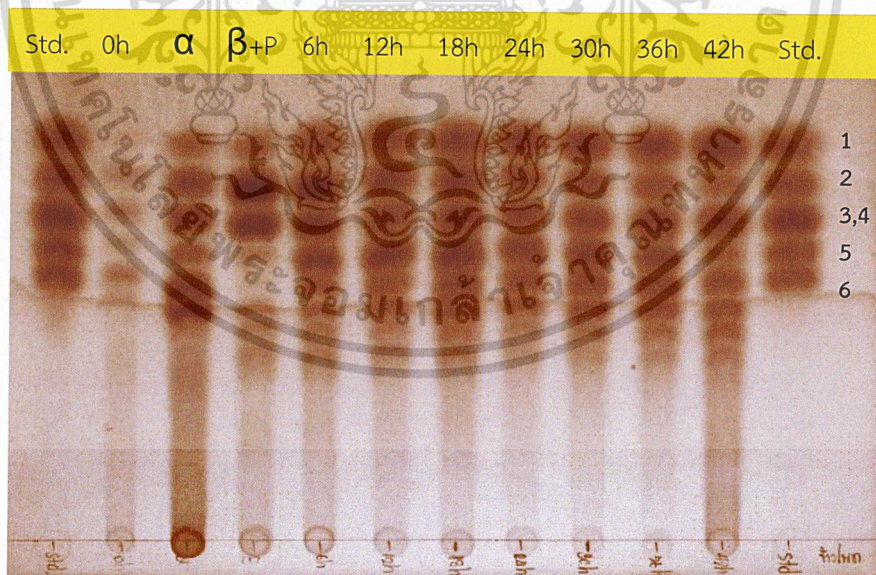
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แป้งกล้วยดิบ



รูปที่ 4.11 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของแป้งกล้วยดิบ โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานของ กลูโคส (1), มอลโทส (2), ไอโซมอลโทส (3), มอลโทไตรโอส (4), พาโนส (5) และไอโซมอลโทไตรโอส (6)

แป้งข้าวโพด



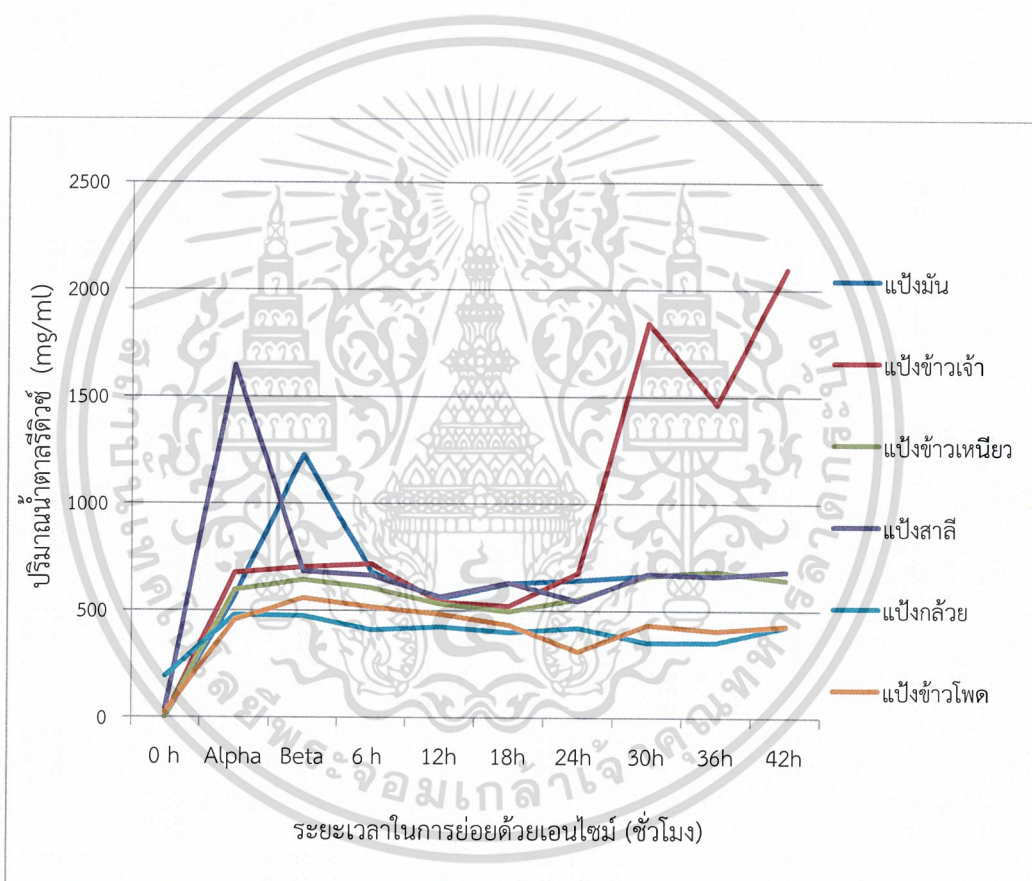
รูปที่ 4.12 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของแป้งข้าวโพด โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานของ กลูโคส (1), มอลโทส (2), ไอโซมอลโทส (3), มอลโทไตรโอส (4), พาโนส (5) และไอโซมอลโทไตรโอส (6)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS)

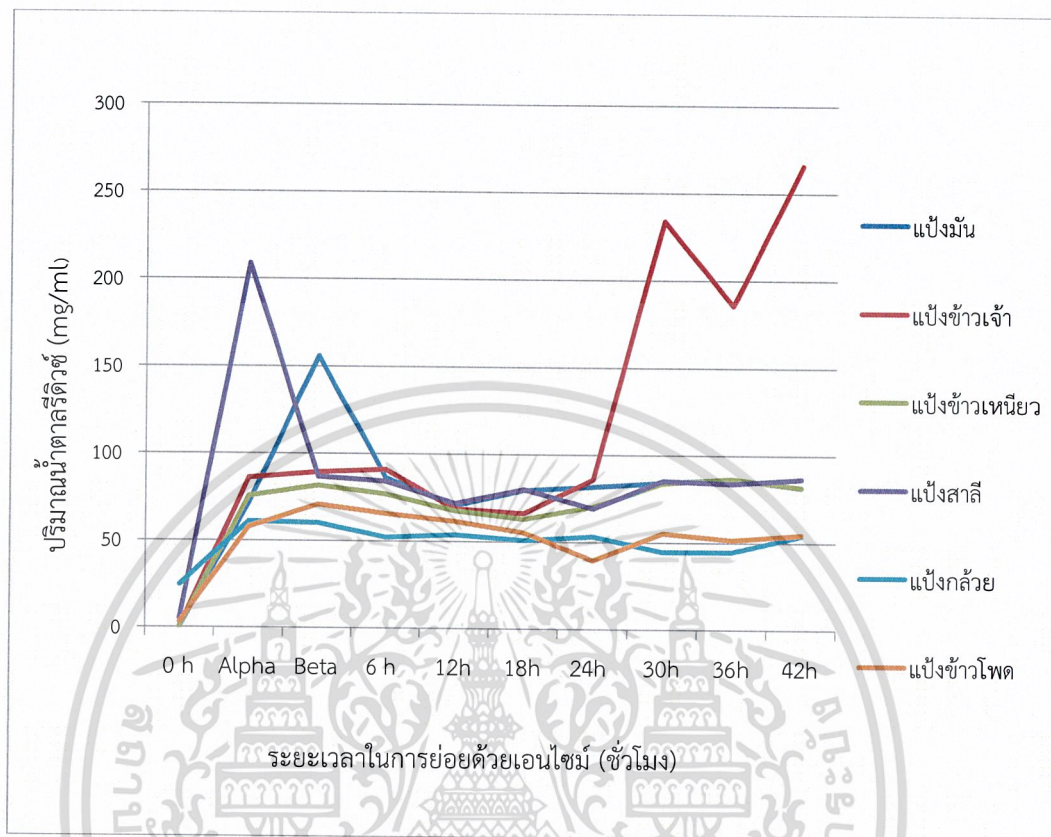
ก) เติมนอนโซมัลแอลฟาอะไมเลส เบตาอะไมเลส และทรานส์กลูโคซิเดส

จากการทดลองวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS) ของน้ำตาลกลูโคสและมอลโทส พบว่าแป้งทุกชนิดให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาลกลูโคสและมอลโทสสูงสุดช่วงเวลาที่ 42 โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาลกลูโคสอยู่ในช่วง 427 - 2095 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาลมอลโทสอยู่ในช่วง 55 - 266 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งแป้งข้าวเจ้าให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุดรองลงมาคือ แป้งสาลี แป้งข้าวเหนียว แป้งมัน แป้งข้าวโพด และแป้งกล้วย ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.13 และ 4.14



รูปที่ 4.13 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาลกลูโคสของการย่อยแป้งกับระยะเวลาที่ทำการย่อยด้วยเอนไซม์

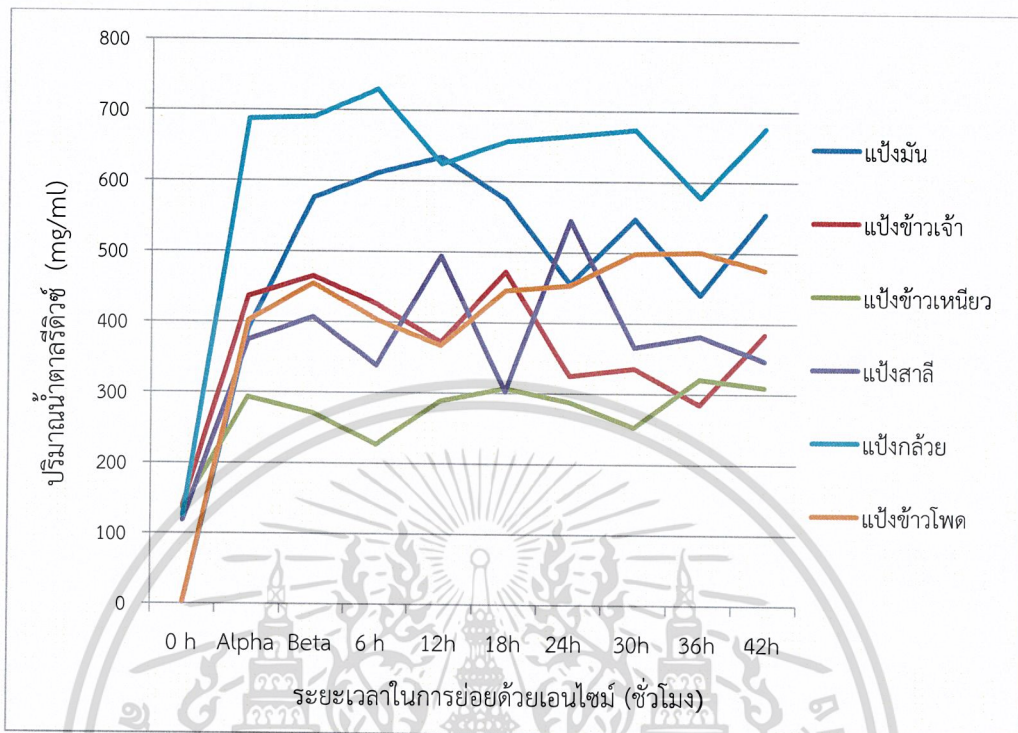
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



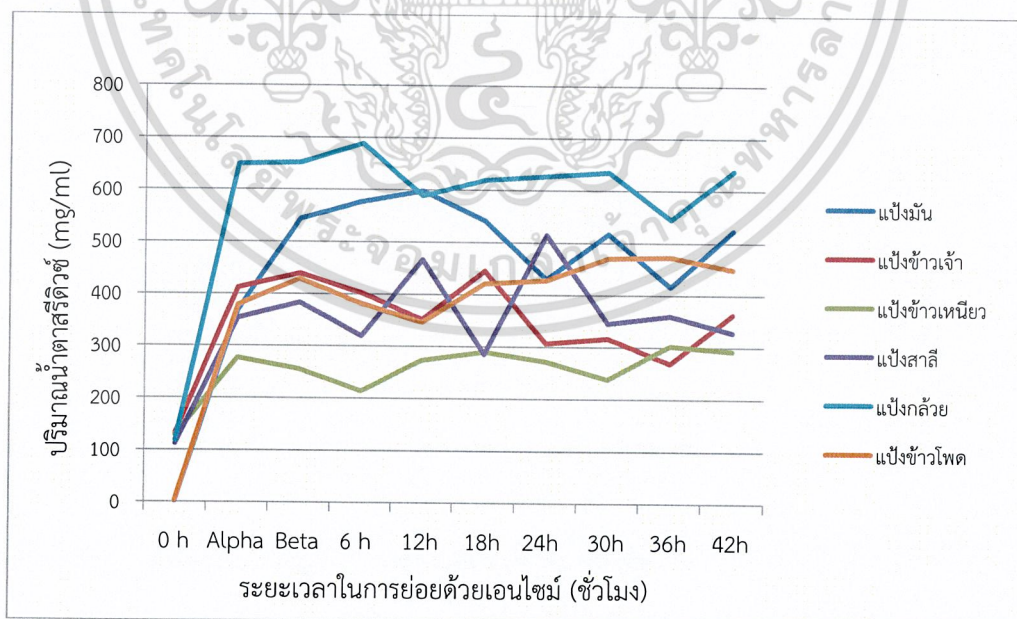
รูปที่ 4.14 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาลมอลโทสของการย่อยแป้งกับระยะเวลาที่ทำการย่อยด้วยเอนไซม์

ข) เติมนอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เบตาอะไมเลส พูลลูลานีส และทรานส์กลูโคซิเดส

จากการทดลองวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS) ของน้ำตาลกลูโคสและมอลโทสพบว่า แป้งทุกชนิดให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาลกลูโคสและมอลโทสสูงสุดชั่วโมงที่ 12 โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาลกลูโคสอยู่ในช่วง 289 – 634 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาลมอลโทส อยู่ในช่วง 351– 598 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งการเติมนอนไซม์พูลลูลานีสได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์น้อยกว่าการไม่เติมนอนไซม์พูลลูลานีส แป้งกล้วยดิบ ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดรองลงมาคือ แป้งมัน แป้งข้าวโพด แป้งข้าวเจ้า แป้งสาลี และแป้งข้าวเหนียว ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.15 และ 4.16



รูปที่ 4.15 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาลกลูโคสของการย่อยแป้งกับระยะเวลาที่ทำการย่อยด้วยเอนไซม์



รูปที่ 4.16 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาลมอลโทสของการย่อยแป้งกับระยะเวลาที่ทำการย่อยด้วยเอนไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองสอดคลองกับงานวิจัยของ ยุทธชัย (2557) ได้ศึกษาการผลิตน้ำเชื่อมมอลโทสความเข้มข้นสูงจากข้าว โดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส จากเชื้อ *Bacillus licheniformis* และศึกษาการใช้เอนไซม์ชนิดต่างๆ ในกระบวนการแปรรูปเค้กคาร์โบไฮเดรต ได้แก่ เอนไซม์พุลลูลานเนสผลิตได้จากเชื้อ *Aerobacter aerogens* และเบตาอะไมเลส จากเชื้อ *Bacillus cereus* โดยใช้เอนไซม์เบตาอะไมเลสร่วมกับเอนไซม์พุลลูลานเนสที่พีเอช 4.0 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 60 ชั่วโมง จะได้น้ำเชื่อมน้ำตาลมอลโทสความเข้มข้นสูงเท่ากับร้อยละ 80.14 จากการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของการเติมเอนไซม์พุลลูลานเนสเพิ่มลงไปพร้อมกับเอนไซม์เบตาอะไมเลส พบว่าปริมาณไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์มีปริมาณน้อยกว่าเดิม ดังรูปที่ 4.7 – 4.12 ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS) พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของกลูโคสมีแนวโน้มลดลงแต่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาลมอลโทสเพิ่มขึ้น ซึ่งแปงกล้วยดิบให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของกลูโคสและมอลโทสสูงที่สุดคือ 634 และ 598 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรดังรูปที่ 4.15 และ 4.16 ซึ่งสอดคลองงานวิจัยของ สุวิมล (2552) ทำการผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแปงกล้วยดิบโดยการลิกวิไฟต์แปงกล้วยโดยเอนไซม์เบตาอะไมเลส (E.C.3.2.1.2) จากนั้นนำสารละลายแซ็กคาไรด์ทั้งสองมาทำการสังเคราะห์ ไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์โดย ทรานส์กลูโคซิเดส L (E.C.3.2.1.20) พบว่าสารละลายทั้งสองไม่แตกต่างกันประมาณร้อยละ 30 ของน้ำตาลทั้งหมด โดยไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่ได้จากกระบวนการแปรรูปเค้กคาร์โบไฮเดรตโดย Fungamyl 800 L และเบตาอะไมเลสร้อยละ 7.67 น้ำหนักโดยปริมาตร และ ร้อยละ 7.06 น้ำหนักโดยปริมาตร

ปริมาณไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่ผลิตขึ้นได้นั้นมีปริมาณค่อนข้างน้อยอาจเนื่องจากอัตราส่วนของเอนไซม์ทรานส์กลูโคซิเดสกับสับสเตรตไม่เหมาะสมกัน ทำให้มีปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลมอลโทสมากไปทำให้เมื่อความเข้มข้นของสับสเตรตเพิ่มขึ้น อัตราเร็วของปฏิกิริยาจะเพิ่มขึ้นจนถึงจุดที่มีความเร็วสูงสุดหากกรณีที่สับสเตรตเพียงชนิดเดียวและความเข้มข้นของเอนไซม์คงที่ และหลังจากนั้นแม้จะเพิ่มความเข้มข้นของสับสเตรต อัตราเร็วของปฏิกิริยาก็จะไม่เพิ่มขึ้นอีกหรือหากความเข้มข้นของสับสเตรตสูงเกินไปอาจยับยั้งปฏิกิริยาทำให้อัตราเร็วการเกิดปฏิกิริยาลดลงได้ (ปราณี, 2543) ดังนั้นจำเป็นต้องเพิ่มปริมาณของเอนไซม์ทรานส์กลูโคซิเดสให้เหมาะสมกับอัตราส่วนเอนไซม์ต่อสับสเตรตเพื่อทำให้ความสามารถในการผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์เพิ่มขึ้น ดังนั้นอาจจะเป็นต้องมีการพัฒนาเพิ่มเติมเพื่อที่จะสามารถต่อยอดการผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ในระดับอุตสาหกรรมต่อไปได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การผลิตฟรีไบโอติกจากบุกและกากมะพร้าว

การผลิตฟรีไบโอติกจากบุกและกากมะพร้าวจะอาศัยเอนไซม์แมนนาเนสในการย่อยสลายพันธะพอลิแซ็กคาไรด์ของแมนแนน และเฮเทอโรแมนแนน ซึ่งเป็นสารในกลุ่มเฮมิเซลลูโลส พบทั่วไประหว่างชั้นของเซลลูโลสและลิกนิน โดยพบว่าแมนแนนจะยึดติดกับส่วนของลิกนินด้วยพันธะโควาเลนต์และจะเชื่อมกับเส้นใยเซลลูโลสด้วยพันธะไฮโดรเจน แมนนาเนสเป็นเอนไซม์ไฮโดรเลสที่ย่อยสลายแบบสุ่มภายในโครงสร้างที่มีน้ำตาลแมนโนสเป็นองค์ประกอบหลักเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเบตา-1,4 คือน้ำตาลกลาแลกโทแมนแนน กลูโคแมนแนน กาแลกโทกลูโคแมนแนน และแมนแนนให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นแมนโนโอลิโกแซ็กคาไรด์ เป็นผลิตภัณฑ์ซึ่งอาจประกอบด้วยแมนโนไตรออส หรือแมนโนไบออส (สุดาทิพย์, 2555) โดยจะใช้ Ammonium acetate buffer ในการช่วยให้พีเอช คงที่ในสภาวะการย่อยและช่วยคงประสิทธิภาพของเอนไซม์ การผลิตฟรีไบโอติกจากบุกและกากมะพร้าวเลือกใช้ความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 50 ปริมาตรต่อน้ำหนัก พบว่าจากการศึกษาของ Chaionkarn และคณะ (2009) พบว่า *Penicillium oxalicum* KUB-SN2-1 ที่ถูกคัดแยกจากดินสามารถผลิตลิกโนเซลลูเลสได้ โดยผลิตแมนนาเนสได้สูงที่สุดเมื่อใช้กากเนื้อมะพร้าวเป็นตัวเหนียวน้ำ โดยมีกิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 19.31 หน่วยต่อมิลลิลิตร และมีสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์คือที่พีเอชเท่ากับ 4.0 และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โดยการศึกษาจะทำการย่อยบุกถึง 48 ชั่วโมงและย่อยกากมะพร้าวถึงเวลา 72 ชั่วโมง ซึ่งจากการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธีการ Thin Layer Chromatography (TLC) โดยใช้สารละลายของน้ำตาลกลูโคสและแมนโนสเป็นสารละลายน้ำตาลมาตรฐานพบว่าปริมาณของน้ำตาลกลูโคสหนาแน่นมากเกินไป และอัตราการผลิตแมนโนโอลิโกแซ็กคาไรด์มีค่อนข้างน้อย ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตแมนโนโอลิโกแซ็กคาไรด์ได้น้อยนั้นเกิดจากอัตราส่วนการใช้เอนไซม์แมนนาเนสมากเกินไปทำให้สารตั้งต้นเปลี่ยนเป็นน้ำตาลกลูโคสมากเกินไปซึ่งในงานวิจัยนี้ผู้ทดลองไม่ต้องการให้เกิดน้ำตาลกลูโคสมาก ความเข้มข้นของเอนไซม์เป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญต่อการทำงานของเอนไซม์ซึ่งถ้ามีเอนไซม์ปริมาณมากไปจะทำให้ปฏิกิริยาเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว แต่ถ้าเอนไซม์มากเกินไปพอความเร็วของปฏิกิริยาจะไม่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เพราะ ไม่มีสับสเตรตเหลือพอที่จะเข้าทำปฏิกิริยา (ปราณี, 2543) และผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS) ในชั่วโมงที่ 5 ของการทดลองการย่อยบุกมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของกลูโคสและแมนโนสสูง คือที่ 10 และ 1.27 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนการย่อยกากมะพร้าวน้ำตาลรีดิวซ์ของกลูโคสและแมนโนสสูงในชั่วโมงที่ 9 คือที่ 30.59 และ 3.87 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ พิชามณูชู และคณะ (2556) ผลิตเอนไซม์สกัดหยาบจากเชื้อ *Penicillium oxalicum* ที่ประกอบด้วยเซลลูเลส ไซลานเนสและแมนนาเนส ทำการย่อยกากมะพร้าวในสภาวะที่มี ซีเตรทบัฟเฟอร์ 10 มิลลิโมลาร์ พีเอช 4 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พบว่าการย่อยกากมะพร้าวในชั่วโมงที่ 30 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของแมนโนสเป็น 7.51 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ผู้วิจัยยังทำการวิเคราะห์ปริมาณ Free amino nitrogen โดยวิธี Ninhydrin เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ซึ่งอาจเกิดจากปัจจัย คือ การถูกยับยั้งโดยผลิตภัณฑ์ การถูกยับยั้งโดยสับสเตรต และการถูกยับยั้งโดยสารที่ผลิตขึ้นระหว่างการทำปฏิกิริยา (ปราณี, 2543) ซึ่งจากการวิเคราะห์ปริมาณ Free amino nitrogen โดยวิธี Ninhydrin ทั้งนี้ทั้งนั้น ปริมาณ Free amino nitrogen ที่เพิ่มขึ้นแสดงถึงปริมาณการถูกยับยั้งของเอนไซม์ไปเนื่องจากปริมาณไนโตรเจนที่เพิ่มขึ้นแสดงถึงการสลายตัวของเอนไซม์จากโครงสร้างจตุรภูมิเป็นโครงสร้างที่เล็กลงกว่าเดิม (Wright และ Biol, 1923) ซึ่งจะเกิดในช่วงชั่วโมงท้ายของการย่อย

นอกจากนี้ผู้วิจัยได้ทำการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสในสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยบุกเพื่อศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสที่จะผลิตแมนโนโอลิโกแซ็กคาไรด์ให้ปริมาณสูงสุด โดยทำการย่อยเป็นเวลา 10 ชั่วโมงด้วยเอนไซม์แมนนาเนสที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1, 2.5, 5, 10, 15, 20 และ 25 ปริมาตรต่อน้ำหนักประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์แมนนาเนสขึ้นอยู่กับจำนวนการแทนที่ของน้ำตาลชนิดอื่นที่ไม่ใช่น้ำตาลแมนโนส เช่น กรณีของสารประกอบกาแลกโทแมนแนน และ กลูโคแมนแนนประสิทธิภาพการย่อยสลายของแมนนาเนสขึ้นอยู่กับปริมาณน้ำตาลกาแลกโทสและกลูโคสในโมเลกุล (McCleary, 1979) ผลจากการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) พบว่าการใช้เอนไซม์แมนนาเนสความเข้มข้นที่ร้อยละ 0.5 มีปริมาณแมนโนโอลิโกแซ็กคาไรด์มากที่สุด ดังรูปที่ 4.24 และ 4.25 และจากการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS) พบว่าปริมาณเอนไซม์แมนนาเนสที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาลกลูโคสและแมนโนสสูงที่สุด ดังรูปที่ 4.40 และ 4.41 เนื่องจากปริมาณเอนไซม์และปริมาณสับสเตรตเหมาะสมต่อการทำปฏิกิริยา ซึ่งปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาลกลูโคสและแมนโนสสูงที่สุดชั่วโมงที่ 4 โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาลกลูโคสสูงที่สุดเท่ากับ 57.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาลแมนโนสสูงที่สุดเท่ากับ 7.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับผลการวิเคราะห์ปริมาณ Free amino nitrogen โดยวิธี Ninhydrin ของการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสในสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยบุกพบว่าปริมาณเอนไซม์แมนนาเนสความเข้มข้นที่ร้อยละ 25 ดังรูปที่ 4.42 มีปริมาณ Free amino nitrogen ต่ำที่สุด ซึ่งปริมาณ Free amino nitrogen แสดง ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดได้จากการวิเคราะห์สามารถประมาณค่าระดับการย่อยสลายโปรตีนที่เพิ่มขึ้นได้ (Moore และ Stein, 1948) ซึ่งหากปริมาณไนโตรเจนมากแสดงถึงการสลายตัวของเอนไซม์ที่มากขึ้นตาม ซึ่งอาจจะเกิดปัจจัยที่ไม่มีเหมาะสมต่อทำงานของเอนไซม์ เช่น อุณหภูมิ พีเอช หรือ สารยับยั้ง (ปราณี, 2543) และความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ร้อยละ 5 มีแนวโน้มที่เอนไซม์จะถูกยับยั้งมากที่สุดซึ่งอาจเกิดจากสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ หรือเกิดจากการถูกยับยั้งจากผลิตภัณฑ์และสารที่ถูกผลิตขึ้นระหว่างการย่อยซึ่งเป็นสารมีคุณสมบัติในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โดยทำปฏิกิริยากับเอนไซม์แล้วยับยั้งที่ขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่งของการทำงาน ตามปกติตัวยับยั้ง อาจเข้าจับหรือทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ที่บริเวณเร่งแล้วทำให้สับสเตรตไม่สามารถจับกับเอนไซม์ได้ตามเดิม หรือหากจับได้ก็ไม่สามารถดำเนินปฏิกิริยาไปตามปกติได้ นอกจากนี้ตัวยับยั้งอาจทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ที่ส่วนอื่นของโมเลกุล และก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโมเลกุลไป ทำให้เอนไซม์หมดประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.1 การผลิตพรีไบโอติกจากบุกและกากมะพร้าวโดยใช้เอนไซม์แมนนาเนสความเข้มข้นร้อยละ 50

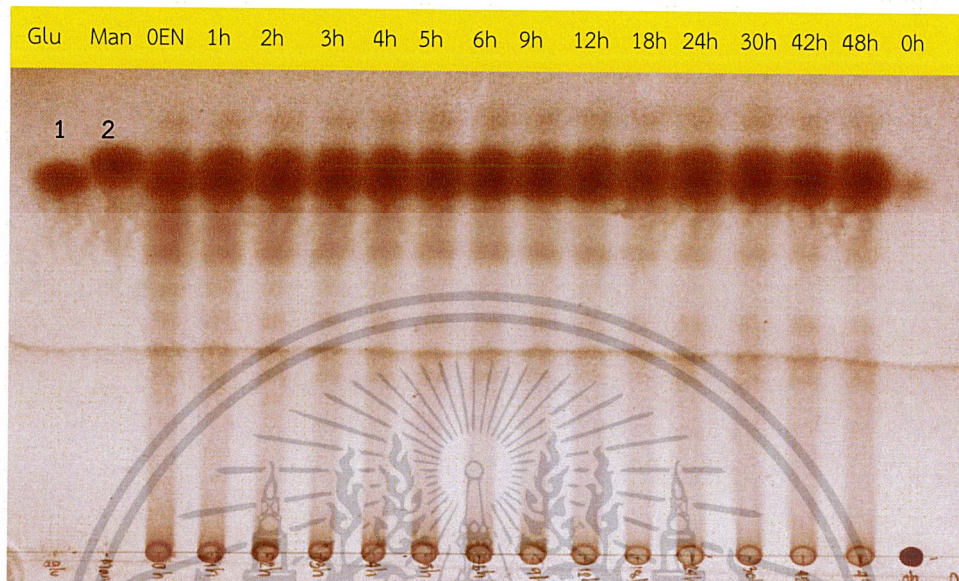
4.2.1.1 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin layer Chromatography (TLC)

คำอธิบายภาพผลการวิเคราะห์น้ำตาลด้วยวิธี Thin Layer chromatography (TLC) ของการย่อยบุกและกากมะพร้าวด้วยเอนไซม์แมนนาเนส รูปที่ 4.24 – 4.39

1. Glu คือ สารละลายมาตรฐานของ Glucose
2. Man คือ สารละลายมาตรฐานของ Mannose
3. 0h คือ การเก็บตัวอย่างในชั่วโมงที่ 0
4. 0EN คือ การเก็บตัวอย่างหลังจากเติมเอนไซม์แมนนาเนสทันที
5. 1h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 1 ชั่วโมง
6. 2h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 2 ชั่วโมง
7. 3h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 3 ชั่วโมง
8. 4h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 4 ชั่วโมง
9. 5h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 5 ชั่วโมง
10. 6h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 6 ชั่วโมง
11. 7h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 7 ชั่วโมง
12. 8h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 8 ชั่วโมง
13. 9h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 9 ชั่วโมง
14. 12h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 12 ชั่วโมง
15. 18h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 18 ชั่วโมง
16. 24h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 24 ชั่วโมง
17. 30h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 30 ชั่วโมง
18. 30h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 30 ชั่วโมง
19. 42h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 42 ชั่วโมง
20. 45h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 45 ชั่วโมง
21. 48h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 48 ชั่วโมง
22. 52h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 52 ชั่วโมง
23. 72h คือ การเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 72 ชั่วโมง

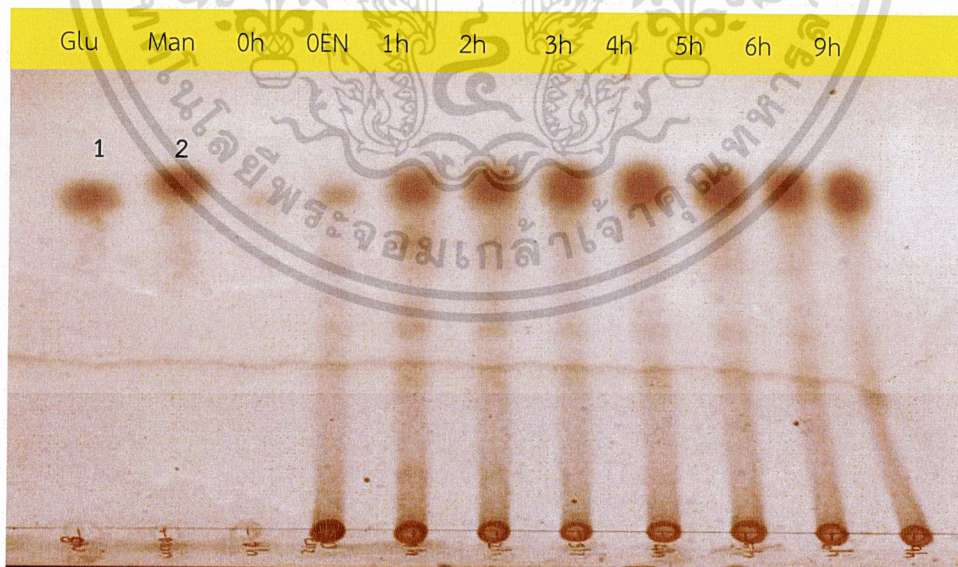
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก) บุก



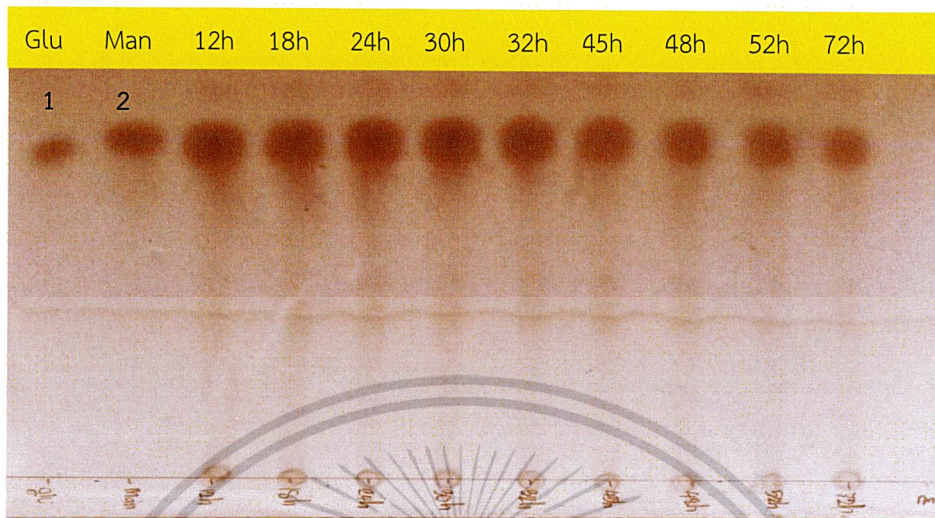
รูปที่ 4.17 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของบุก โดยเทียบกับสารละลายมาตรฐานกลูโคส (1) และน้ำตาลแมนโนส (2)

ข) กากมะพร้าว



รูปที่ 4.18 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของกากมะพร้าว เวลาตั้งแต่ 0 - 9 ชั่วโมงโดยเทียบกับสารละลายมาตรฐาน น้ำตาลกลูโคส (1) และแมนโนส (2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

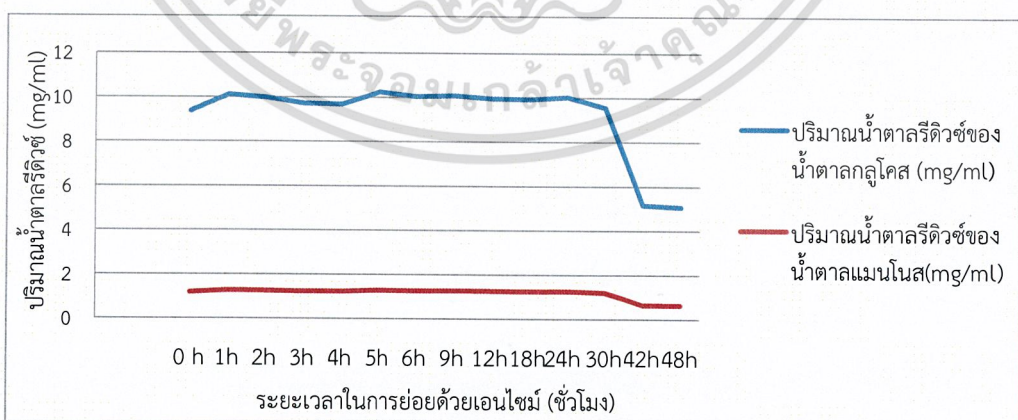


รูปที่ 4.19 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของกากมะพร้าว เวลาตั้งแต่ 12 – 72 ชั่วโมงโดยเทียบกับสารละลายมาตรฐาน น้ำตาลกลูโคส (1) และแมนโนส (2)

4.2.1.2 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS)

ก) ผลการวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ของย้อยบุก

จากการทดลองวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS) ของน้ำตาลกลูโคสและแมนโนสจากการย้อยบุก โดยใช้อัตราส่วนเอนไซม์แมนนาเนส ร้อยละ 50 ปริมาตรต่อน้ำหนัก พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาลกลูโคสและแมนโนสสูงสุดใน ชั่วโมงที่ 5 โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาลกลูโคสอยู่ในช่วง 5 - 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาลแมนโนสอยู่ในช่วง 0.6 - 1.27 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรดังรูปที่ 4.21

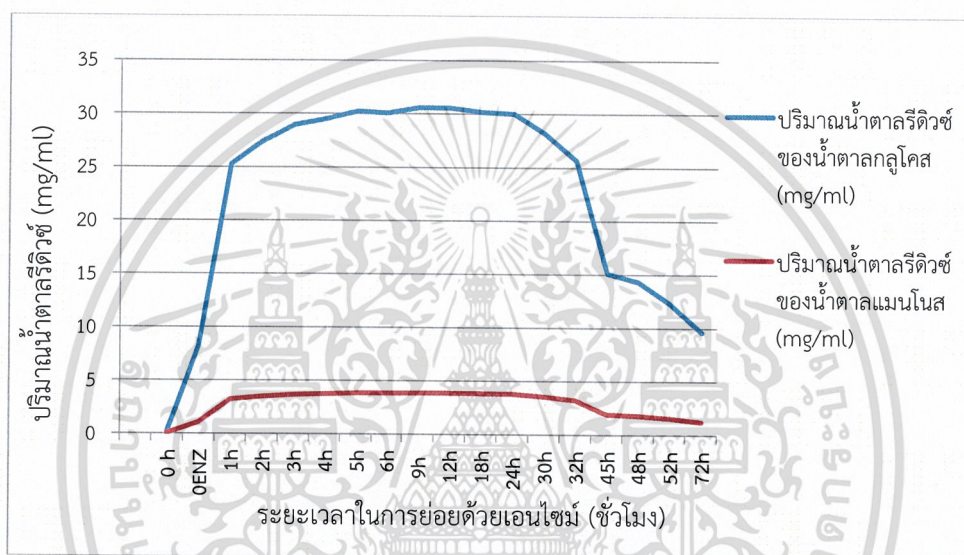


รูปที่ 4.20 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาลกลูโคสและแมนโนสของการย้อยบุก กับระยะเวลาที่ทำการย้อยด้วยเอนไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข) ผลการวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ของการย่อยกากมะพร้าว

จากการทดลองวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS) ของน้ำตาลกลูโคสและแมนโนสจากการย่อยกากมะพร้าว โดยใช้อัตราส่วนเอนไซม์แมนนาเนส ร้อยละ 50 ปริมาตรต่อน้ำหนัก พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาลกลูโคสและแมนโนสสูงสุดในชั่วโมงที่ 9 โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาลกลูโคสอยู่ในช่วง 0.1 - 30.59 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาลแมนโนสอยู่ในช่วง 0.02 - 3.87 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังรูปที่ 4.22

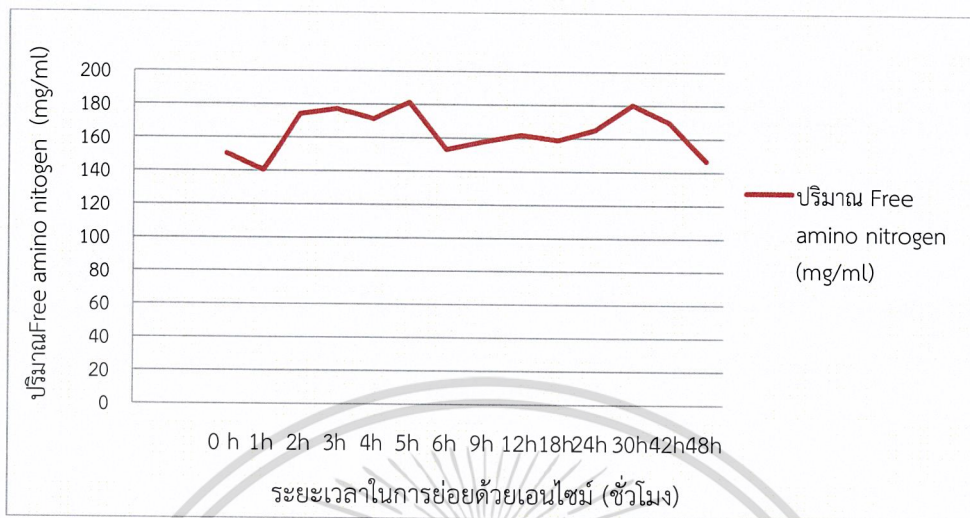


รูปที่ 4.21 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาลกลูโคสและแมนโนสของการย่อยกากมะพร้าวกับระยะเวลาที่ทำการย่อยด้วยเอนไซม์

4.2.1.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณ Free amino nitrogen โดยวิธี Ninhydrin

ก) ผลการวิเคราะห์ปริมาณ Free amino nitrogen ของการย่อยบุก

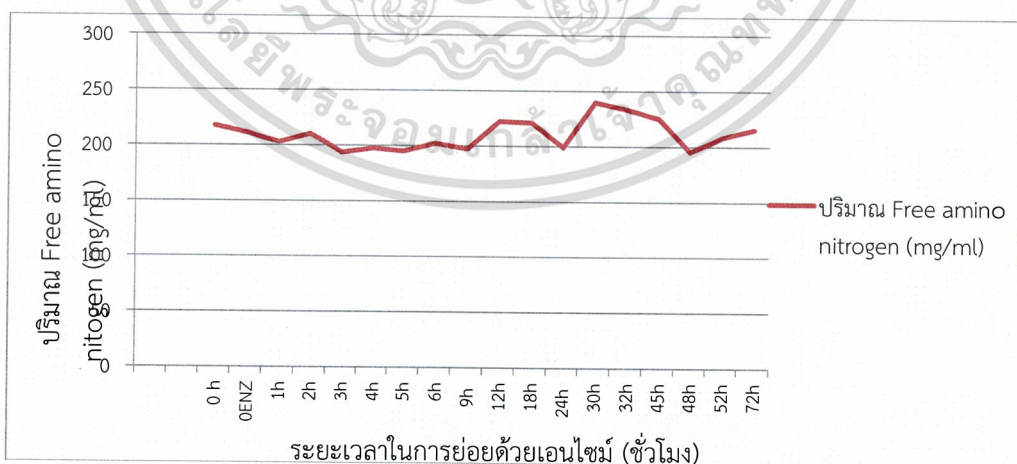
จากการทดลองวิเคราะห์ Free amino nitrogen ของการย่อยบุก โดยใช้อัตราส่วนเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 50 ปริมาตรต่อน้ำหนัก พบว่าชั่วโมงที่ 30 มีปริมาณ Free amino nitrogen สูงที่สุด ซึ่งมีแนวโน้มที่เอนไซม์จะถูกยับยั้งมากที่สุด เนื่องจากเมื่อผ่านไปช่วงระยะเวลาหนึ่งผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นและสารที่ถูกผลิตขึ้นระหว่างการย่อย จะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ส่งผลให้ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ลดลง ดังรูปที่ 4.23



รูปที่ 4.22 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ Free amino nitrogen ของการย่อยบุง กับระยะเวลาที่ทำการย่อยด้วยเอนไซม์

ข) ผลการวิเคราะห์ Free amino nitrogen ของการย่อยกากมะพร้าว

จากการทดลองวิเคราะห์ปริมาณ Free amino nitrogen ของการย่อยกากมะพร้าว โดยใช้อัตราส่วนเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 50 ปริมาตรต่อน้ำหนัก พบว่ากากมะพร้าวมีปริมาณ Free amino nitrogen เริ่มต้นปริมาณมากเนื่องจากกากมะพร้าวที่สกัดน้ำมันออกนั้นจะมีโปรตีนประมาณ ร้อยละ 12 และพบว่าชั่วโมงที่ 30 มีปริมาณ Free amino nitrogen สูงที่สุด ซึ่งมีแนวโน้มที่เอนไซม์จะถูกยับยั้งมากที่สุดเช่นเดียวกับการย่อยบุง เนื่องจากเมื่อผ่านไปช่วงระยะเวลาหนึ่งผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นและสารที่ถูกผลิตขึ้นระหว่างการย่อย จะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ส่งผลให้ประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ลดลงดังรูปที่ 4.24



รูปที่ 4.23 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ Free amino nitrogen ของการย่อยกากมะพร้าว กับระยะเวลาที่ทำการย่อยด้วยเอนไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 การศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสในสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยบุก

4.2.2.1 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin layer Chromatography (TLC)

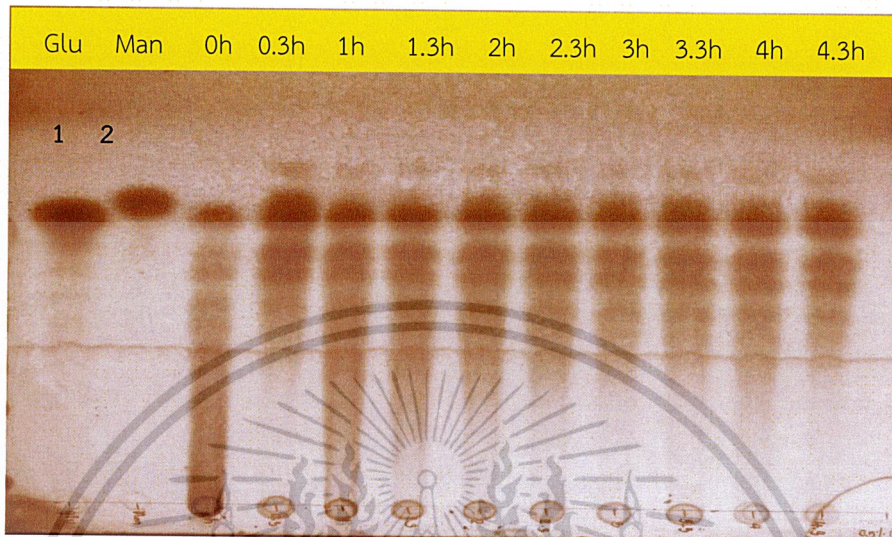
การวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin layer Chromatography (TLC) ของการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสในสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยบุกพบว่าความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสที่ร้อยละ 0.5 ปริมาตรต่อน้ำหนักพบปริมาณแมนโนโอลิโกแซ็กคาไรด์ค่อนข้างหนาแน่นกว่าการใช้เอนไซม์แมนนาเนสความเข้มข้นอื่น ซึ่งแมนโนโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่ย่อยได้ค่อนข้างมีความหลากหลายและใช้ระยะเวลาในการย่อยเพียง 2 – 5 ชั่วโมงเท่านั้น ดังนั้นความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสที่ร้อยละ 0.5 ปริมาตรต่อน้ำหนักนั้นเป็นอัตราส่วนที่เพียงพอต่อการผลิตพรีไบโอติกจากการย่อยบุกแล้ว

คำอธิบายภาพผลการวิเคราะห์น้ำตาลด้วยวิธี Thin Layer chromatography (TLC) ของการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์ทางการค้า รูปที่ 4.1 – 4.6

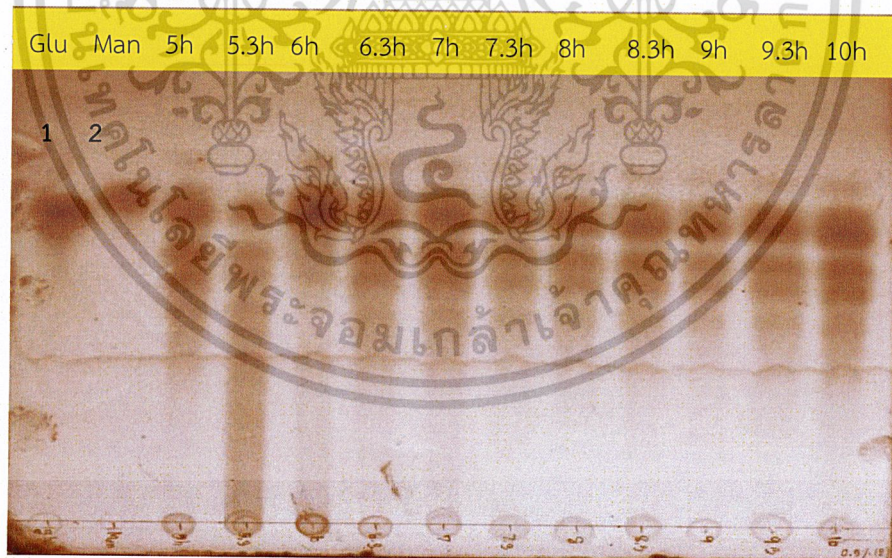
1. Glu คือ สารละลายมาตรฐานของ Glucose
2. Man คือ สารละลายมาตรฐานของ Mannose
3. 0h คือ การเก็บตัวอย่างในชั่วโมงที่ 0
4. 0.3h คือ การการเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 30 นาที
5. 1h คือ การการเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 1 ชั่วโมง
6. 1.3h คือ การการเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 1 ชั่วโมง 30 นาที
7. 2h คือ การการเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 2 ชั่วโมง
8. 2.3h คือ การการเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 2 ชั่วโมง 30 นาที
9. 3h คือ การการเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 3 ชั่วโมง
10. 3.3h คือ การการเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 3 ชั่วโมง 30 นาที
11. 4h คือ การการเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 4 ชั่วโมง
12. 4.3h คือ การการเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 4 ชั่วโมง 30 นาที
13. 5h คือ การการเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 5 ชั่วโมง
14. 5.3h คือ การการเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 5 ชั่วโมง 30 นาที
15. 6h คือ การการเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 6 ชั่วโมง
16. 6.3h คือ การการเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 6 ชั่วโมง 30 นาที
17. 7h คือ การการเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 7 ชั่วโมง
18. 7.3h คือ การการเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 7 ชั่วโมง 30 นาที
19. 8h คือ การการเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 8 ชั่วโมง
20. 8.3h คือ การการเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 8 ชั่วโมง 30 นาที
21. 9h คือ การการเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 9 ชั่วโมง
22. 9.3h คือ การการเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 9 ชั่วโมง 30 นาที
23. 10 คือ การการเก็บตัวอย่างหลังเติมเอนไซม์แมนนาเนส 10 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก) เอนไซม์ร้อยละ 0.5



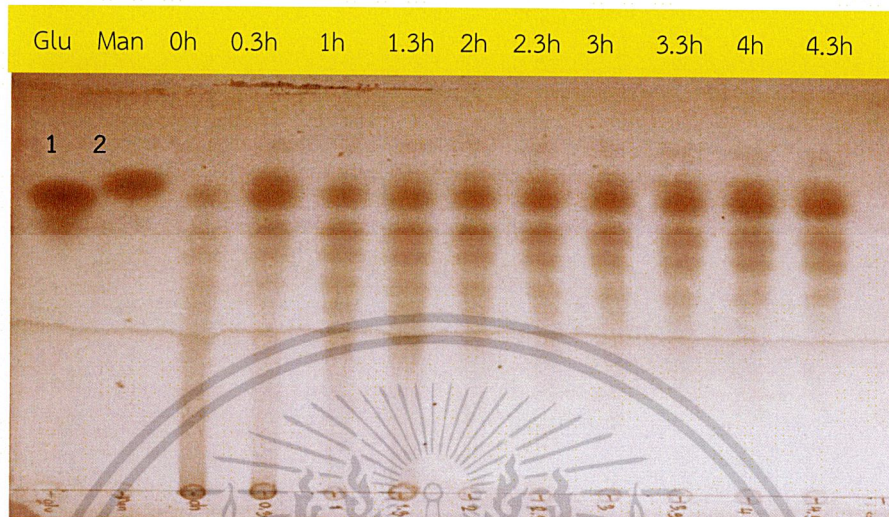
รูปที่ 4.24 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของบุกที่ย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 0.5 เวลาตั้งแต่ 0 – 4.3 ชั่วโมง โดยเทียบสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (1) และแมนโนส (2)



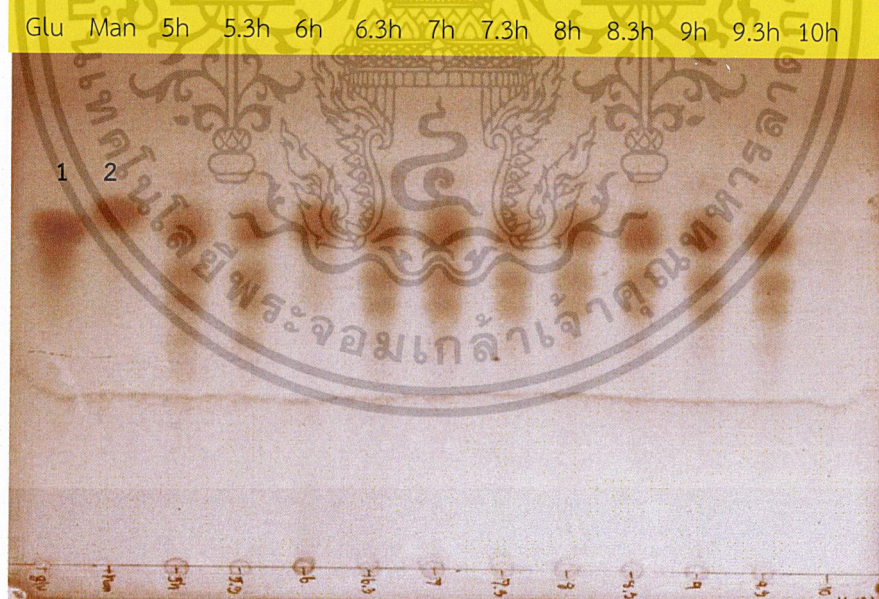
รูปที่ 4.25 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของบุกที่ย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 0.5 เวลาตั้งแต่ 5 – 10 ชั่วโมง โดยเทียบสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (1) และแมนโนส (2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข) เอนไซม์ร้อยละ 1



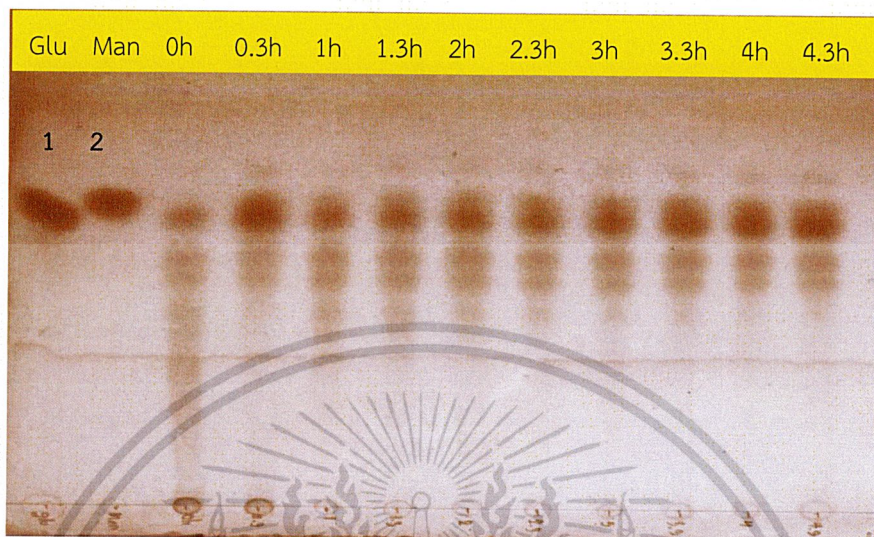
รูปที่ 4.26 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin layer Chromatography (TLC) ของบุกที่ย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 1 เวลาตั้งแต่ 0 – 4.3 ชั่วโมง โดยเทียบสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (1) และแมนโนส (2)



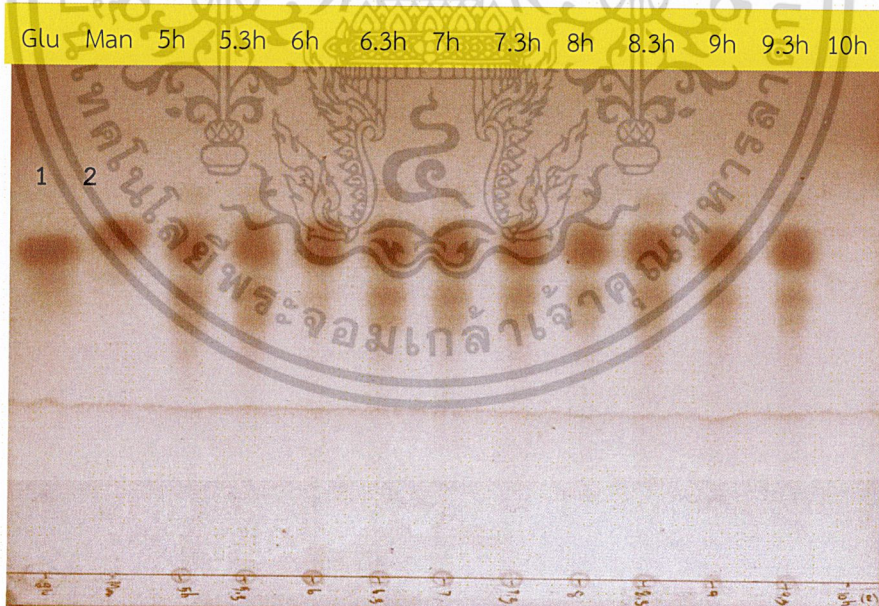
รูปที่ 4.27 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin layer Chromatography (TLC) ของบุกที่ย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 1 เวลา ตั้งแต่ 5 – 10 ชั่วโมง โดยเทียบสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (1) และแมนโนส (2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค) เอนไซม์ร้อยละ 2.5



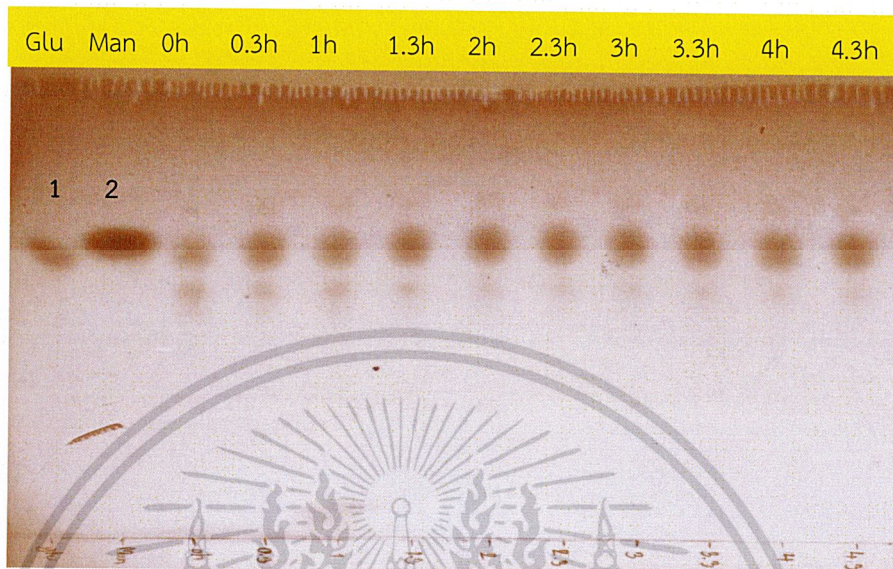
รูปที่ 4.28 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin layer Chromatography (TLC) ของบุกที่ย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 2.5 เวลาตั้งแต่ 0 – 4.3 ชั่วโมง โดยเทียบสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (1) และแมนโนส (2)



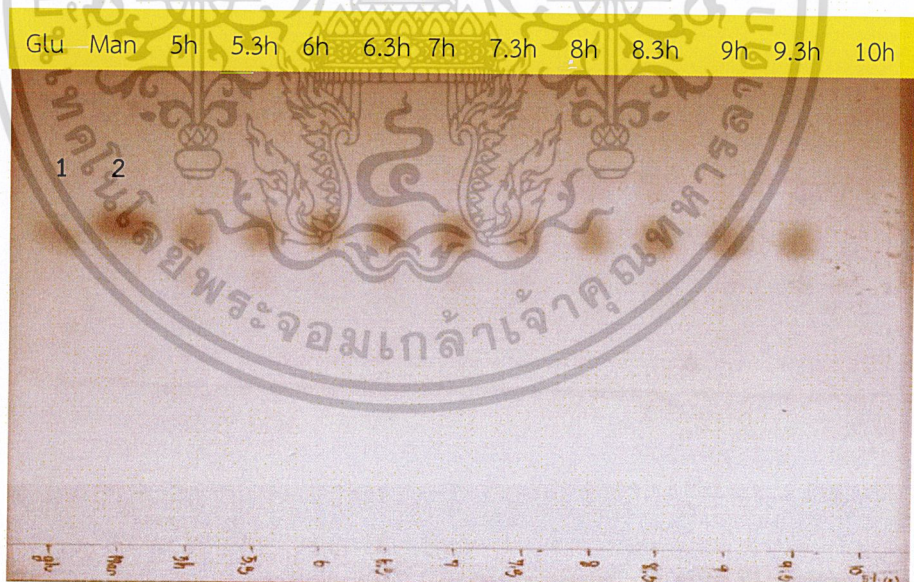
รูปที่ 4.29 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin layer Chromatography (TLC) ของบุกที่ย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 2.5 เวลาตั้งแต่ 5 – 10 โดยเทียบสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (1) และแมนโนส (2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง) เอนไซม์ร้อยละ 5



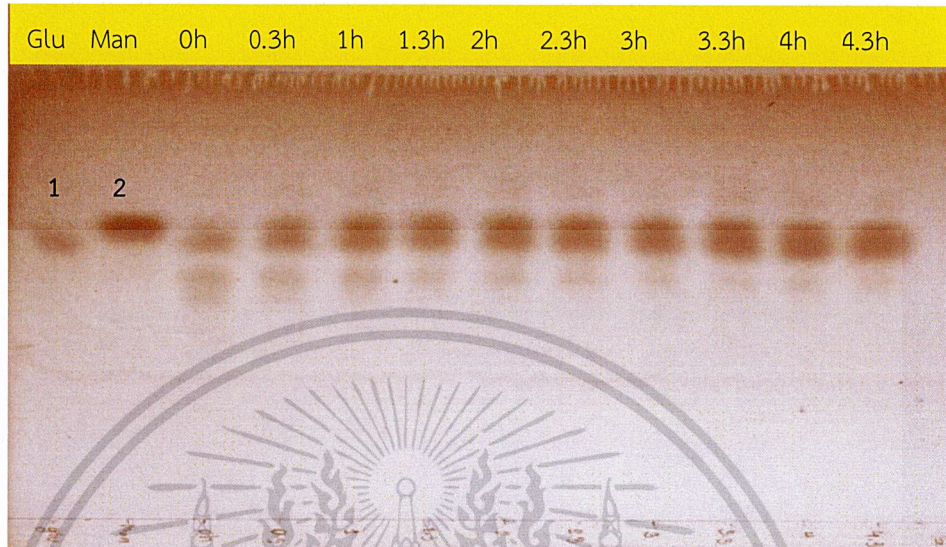
รูปที่ 4.30 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin layer Chromatography (TLC) ของบุงที่ย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 5 เวลาตั้งแต่ 0 – 4.3 ชั่วโมง โดยเทียบสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (1) และแมนโนส (2)



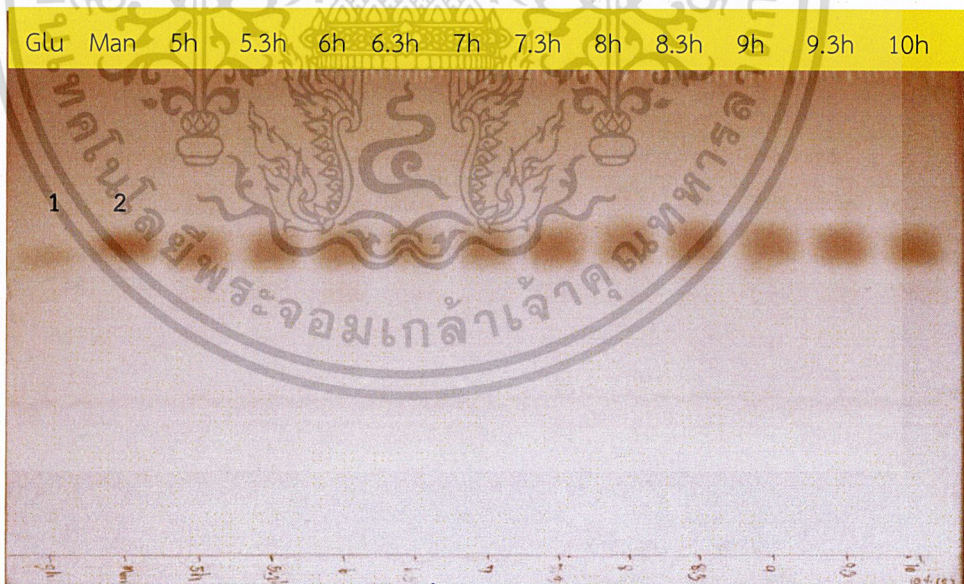
รูปที่ 4.31 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของบุงที่ย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 5 เวลาตั้งแต่ 5 – 10 ชั่วโมง โดยเทียบสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (1) และแมนโนส (2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จ) เอนไซม์ร้อยละ 10



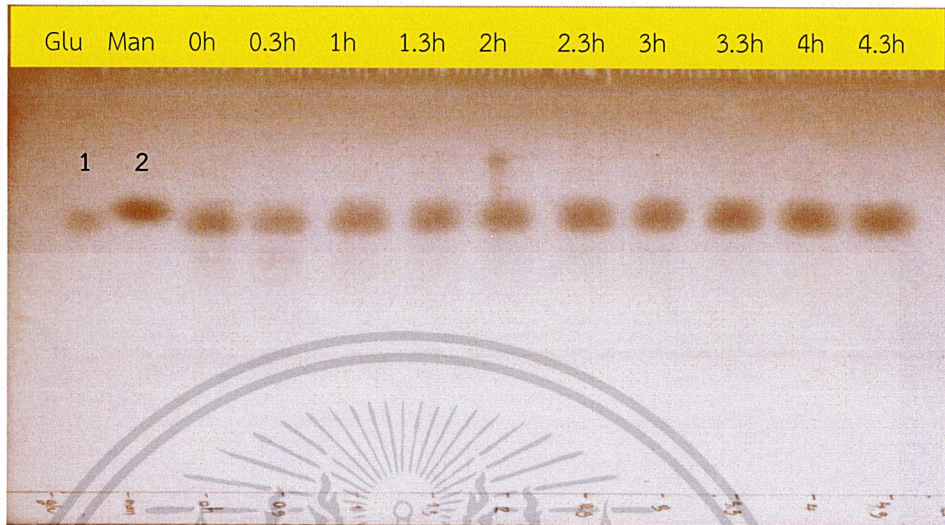
รูปที่ 4.32 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของบูกที่ย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 10 เวลาตั้งแต่ 0 – 4.3 ชั่วโมง โดยเทียบสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (1) และแมนโนส (2)



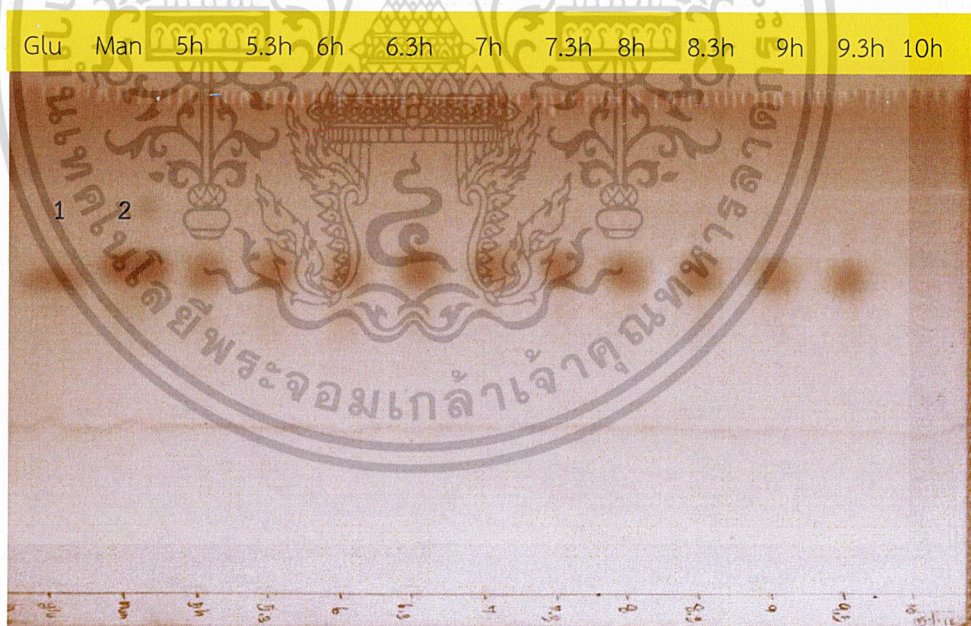
รูปที่ 4.33 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของบูกที่ย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 10 เวลาตั้งแต่ 5 – 10 ชั่วโมง โดยเทียบสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (1) และแมนโนส (2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฉ) เอนไซม์ร้อยละ 15



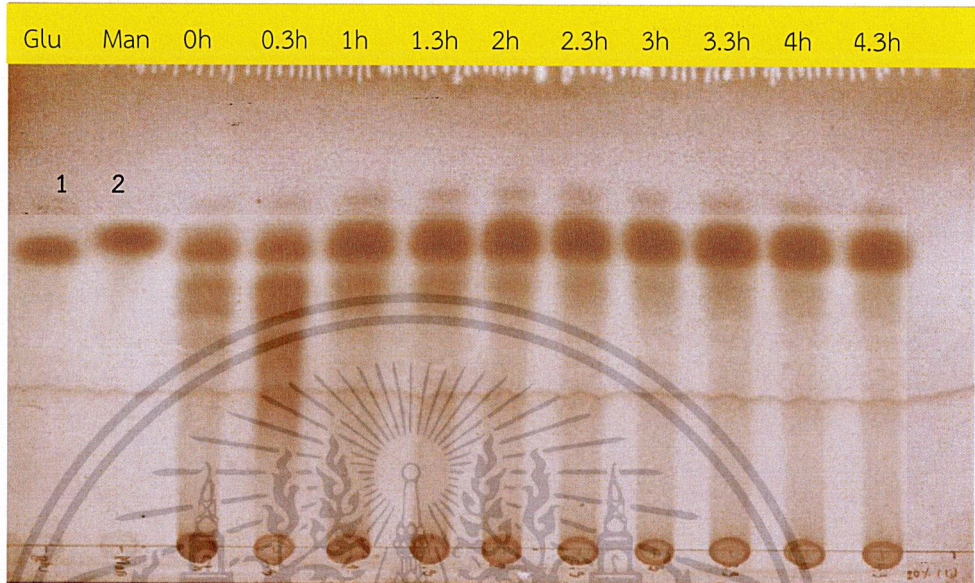
รูปที่ 4.34 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของบูกที่ย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 15 เวลาตั้งแต่ 0 – 4.3 ชั่วโมง โดยเทียบสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (1) และแมนโนส (2)



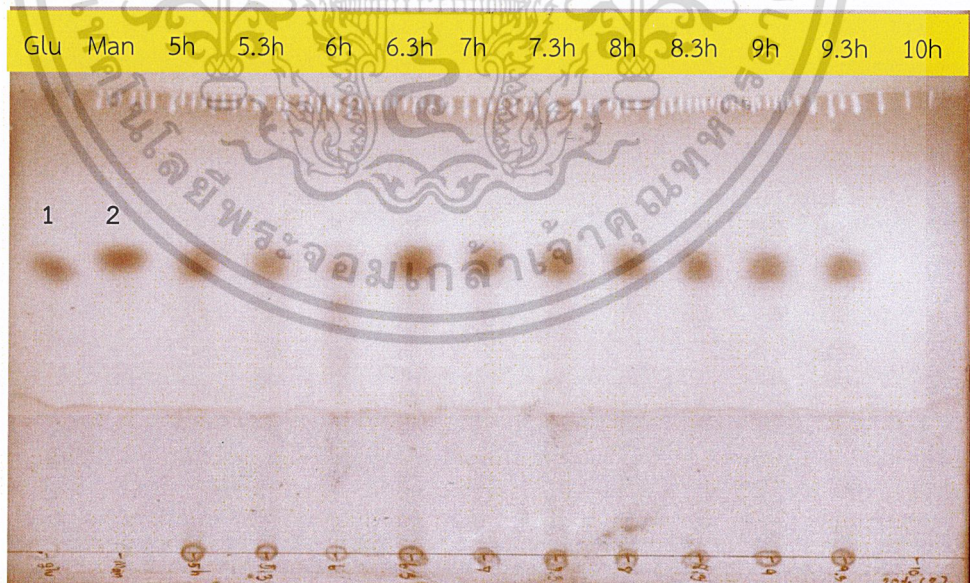
รูปที่ 4.35 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของบูกที่ย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 15 เวลาตั้งแต่ 5 – 10 ชั่วโมง โดยเทียบสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (1) และแมนโนส (2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ช) เอนไซม์ร้อยละ 20



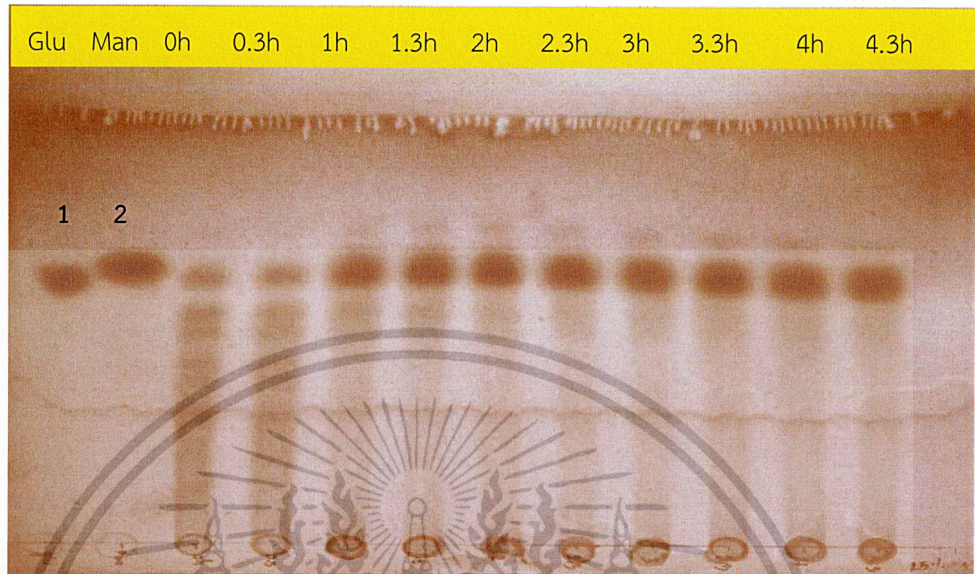
รูปที่ 4.36 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของบุกที่ย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 20 เวลาตั้งแต่ 0 – 4.3 ชั่วโมง โดยเทียบสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (1) และแมนโนส (2)



รูปที่ 4.37 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของบุกที่ย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 20 เวลาตั้งแต่ 5 – 10 ชั่วโมง โดยเทียบสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (1) และแมนโนส (2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข) เอนไซม์ร้อยละ 25



รูปที่ 4.38 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของบुकที่ย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 25 เวลาตั้งแต่ 0 – 4.3 ชั่วโมง โดยเทียบสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (1) และแมนโนส (2)

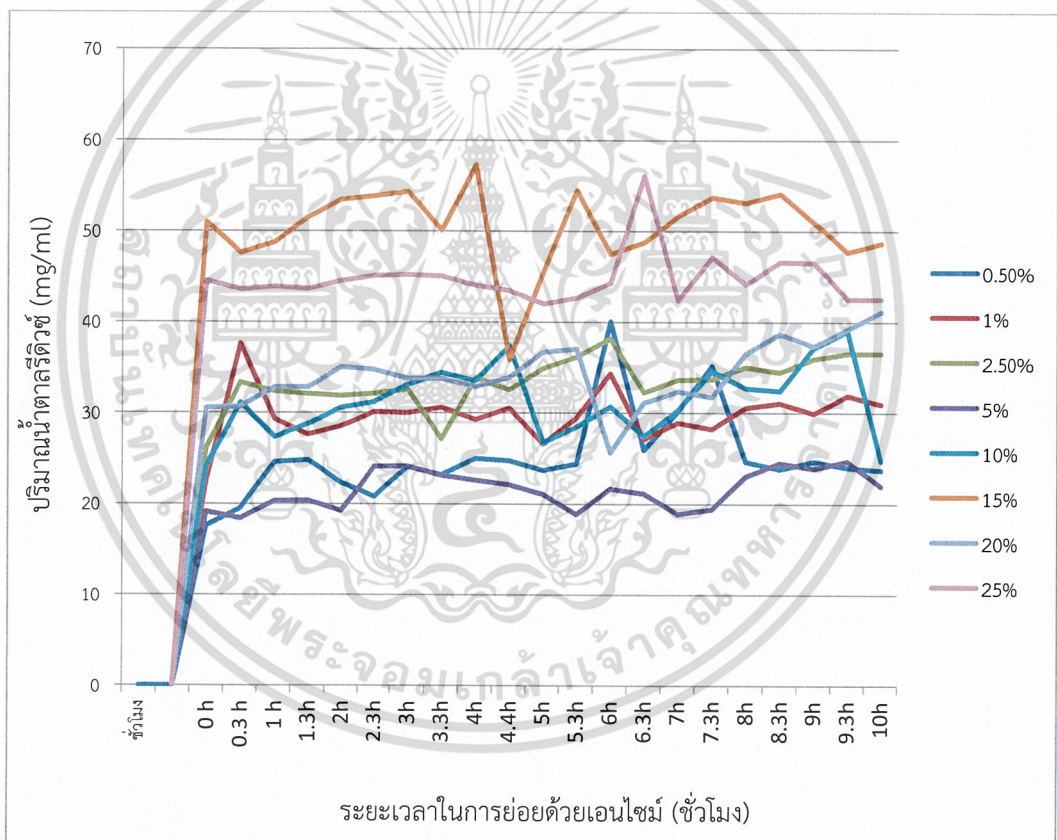


รูปที่ 4.39 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลโดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) ของบुकที่ย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 25 เวลาตั้งแต่ 5 – 10 ชั่วโมง โดยเทียบสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส (1) และแมนโนส (2)

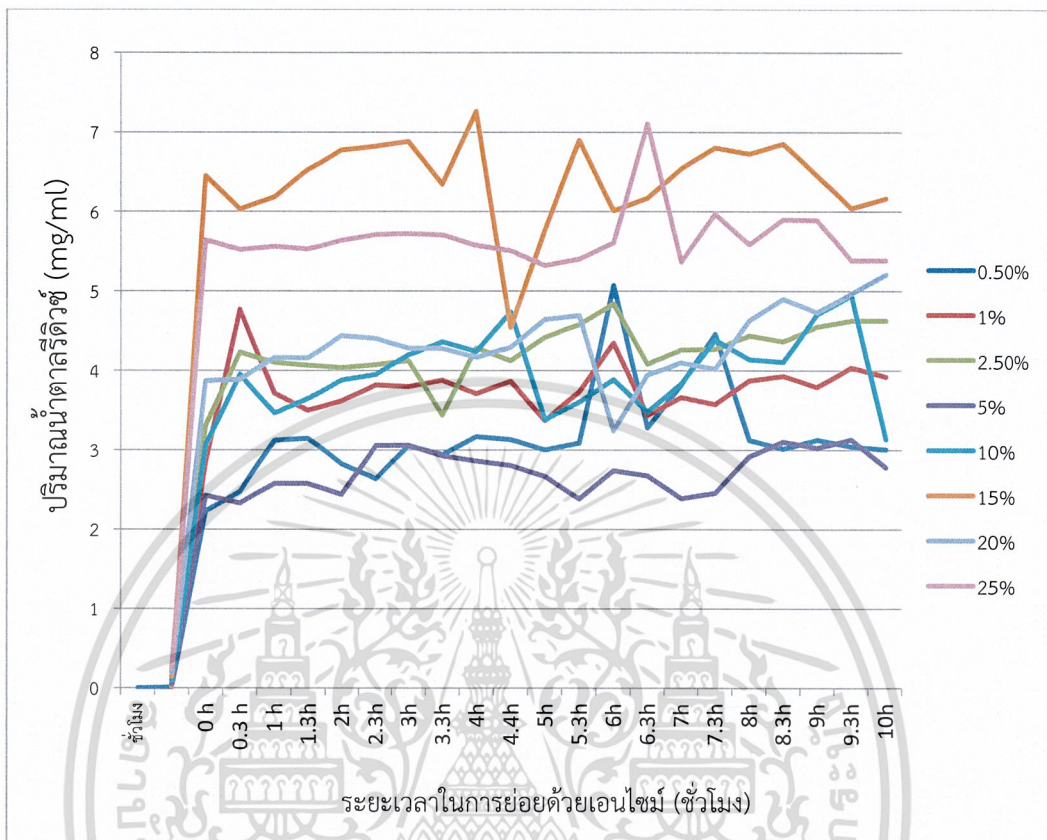
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2.2 ผลการวิเคราะห์น้ำตาลรีตีวซ์โดยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS)

จากการทดลองวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีตีวซ์โดยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS) ของน้ำตาลกลูโคสและแมนโนสพบว่า ความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสที่ ร้อยละ 15 ให้ปริมาณน้ำตาลรีตีวซ์ของน้ำตาลกลูโคสและแมนโนสสูงสุดช่วงเวลาที่ 4 โดยปริมาณน้ำตาลรีตีวซ์ของน้ำตาลกลูโคสอยู่ในช่วง 57.3– 35.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและปริมาณน้ำตาลรีตีวซ์ของน้ำตาลแมนโนสอยู่ในช่วง 4.54 – 7.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งปริมาณน้ำตาลรีตีวซ์รองลงมาคือ ร้อยละ 25, ร้อยละ 2.5, ร้อยละ 10, ร้อยละ 20, ร้อยละ 1, ร้อยละ 0.5 และร้อยละ 5 ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.40 และ 4.41 ซึ่งนั่นหมายความว่าปริมาณเอนไซม์ความเข้มข้นมากไม่สามารถเพิ่มปริมาณผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นได้อาจเนื่องจากปริมาณสับสเตรตมีน้อยกว่าปริมาณเอนไซม์ ดังนั้นจึงไม่มีความจำเป็นต้องใช้เอนไซม์ในปริมาณมากหากปริมาณสับสเตรตมีไม่เพียงพออีกทั้งยังเป็นการเพิ่มต้นทุนในการผลิตอีกด้วย



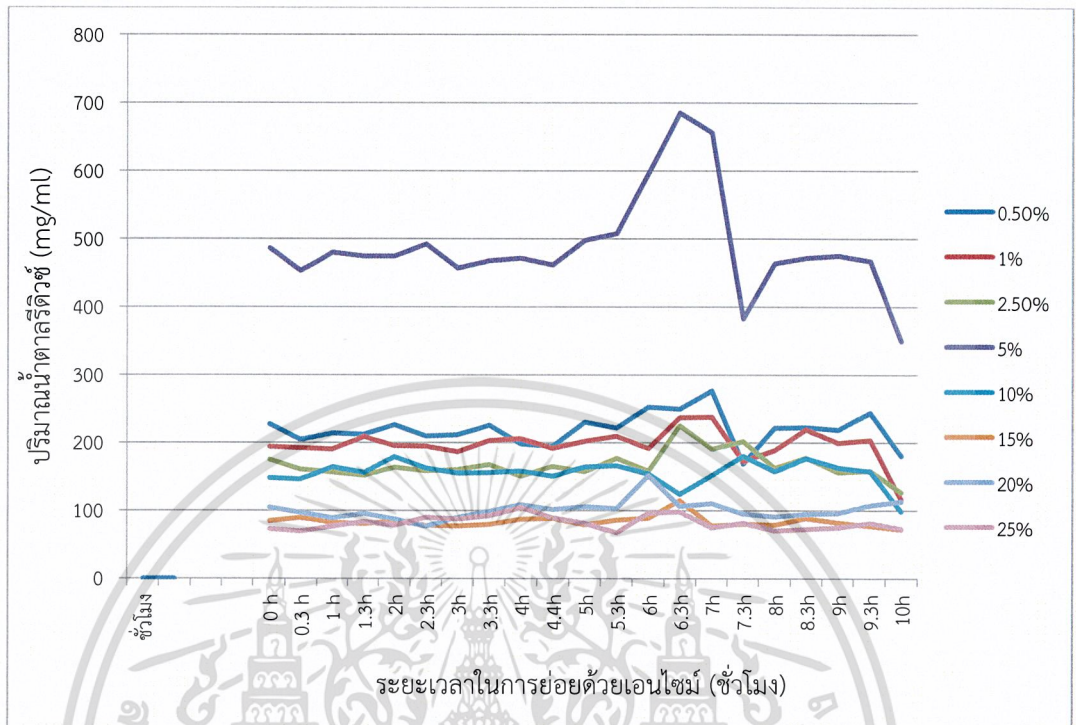
รูปที่ 4.40 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำตาลรีตีวซ์ของน้ำตาลกลูโคสของการย่อยบูคที่ความเข้มข้นต่างๆของเอนไซม์แมนนาเนสกับระยะเวลาที่ทำการย่อยด้วยเอนไซม์



รูปที่ 4.41 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำตาลแมนโนสของการย่อยบุง ที่ความเข้มข้นต่างๆของเอนไซม์แมนนาเนสกับระยะเวลาที่ทำการย่อยด้วยเอนไซม์

4.2.2.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณ Free amino nitrogen โดยวิธี Ninhydrin

จากการทดลองวิเคราะห์ปริมาณ Free amino nitrogen ของการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสในสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยบุงพบว่าความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ร้อยละ 5 มีปริมาณ Free amino nitrogen สูงที่สุดซึ่งมีแนวโน้มที่เอนไซม์จะถูกยับยั้งมากที่สุดซึ่งอาจเกิดจากสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์หรือเกิดจากการถูกยับยั้งจากผลิตภัณฑ์และสารที่ถูกผลิตขึ้นระหว่างการย่อย ส่งผลให้เกิดผลิตภัณฑ์ลดลงสำหรับปริมาณ Free amino nitrogen รองลงมาคือความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ ร้อยละ 0.5, ร้อยละ 1, ร้อยละ 2.5, ร้อยละ 10, ร้อยละ 20, ร้อยละ 15 และ ร้อยละ 25 ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.42



รูปที่ 4.42 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ Free amino nitrogen ของการย่อยบุง ที่ความเข้มข้นต่างๆของเอนไซม์กับระยะเวลาที่ทำการย่อยด้วยเอนไซม์

ผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mikekelson และคณะ (2013) ศึกษาเอนไซม์จากเชื้อ *T. reesei* Cel5A, *T. reesei* Cel7B และเอนไซม์แมนนาเนสในการย่อยบุงพบว่าเมื่อผ่านไป 48 ชั่วโมง จะได้น้ำตาลรีดิวซ์ร้อยละ 50 ของสารตั้งต้นซึ่งได้น้ำตาลกลูโคสร้อยละ 8.2 ของสารตั้งต้น เมื่อใช้เอนไซม์จากเชื้อ *T. reesei* Cel7B และ ร้อยละ 2.6 เมื่อใช้เอนไซม์จากเชื้อ *T. reesei* Cel5A ส่วนน้ำตาลแมนโนสมีปริมาณร้อยละ 7.7 เมื่อใช้เอนไซม์แมนนาเนส และ ร้อยละ 1.5 และสำหรับผลการวิเคราะห์ปริมาณ Free amino nitrogen โดยวิธี Ninhydrin ของการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสในสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยบุงพบว่าปริมาณเอนไซม์แมนนาเนสความเข้มข้นที่ ร้อยละ 25 มีปริมาณ Free amino nitrogen ต่ำที่สุด ซึ่งปริมาณ Free amino nitrogen แสดง ปริมาณ ไนโตรเจนทั้งหมดได้จากการวิเคราะห์สามารถประมาณค่าระดับการย่อยสลายโปรตีนที่เพิ่มขึ้นได้ (Moore และ Stein, 1948) ซึ่งหากปริมาณไนโตรเจนมากแสดงถึงการสลายตัวของเอนไซม์ที่มากขึ้นตาม ซึ่งอาจจะเกิดปัจจัยที่ไม่เหมาะสมต่อทำงานของเอนไซม์ เช่น อุณหภูมิ พีเอช หรือ สารยับยั้ง (ปราณี, 2543) และความเข้มข้นของเอนไซม์ที่ร้อยละ 5 มีแนวโน้มที่เอนไซม์จะถูกยับยั้งมากที่สุดซึ่งอาจเกิดจากสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ หรือเกิดจากการถูกยับยั้งจากผลิตภัณฑ์และสารที่ถูกผลิตขึ้นระหว่างการย่อยซึ่งเป็นสารมีคุณสมบัติในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โดยทำปฏิกิริยากับ เอนไซม์แล้วยับยั้งที่ขั้นตอนใดขั้นตอนหนึ่งของการทำงาน ตามปกติตัวยับยั้ง อาจเข้าจับหรือทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ที่บริเวณเร่งแล้วทำให้สับสเตรตไม่สามารถจับกับเอนไซม์ได้ตามเดิมหรือหากจับได้ก็ไม่สามารถดำเนินปฏิกิริยาไปตามปกติได้ (ปราณี, 2543)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการใช้เทคโนโลยีเอนไซม์ในการผลิตสารที่มีศักยภาพเป็นพรีไบโอติก ประกอบด้วย 2 ส่วน คือการผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแป้งโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้าและการผลิตพรีไบโอติกจากบุกและกากมะพร้าว ซึ่งมีการสรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะดังนี้

5.1.1 การผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแป้งโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้า

การเติมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เบตาอะไมเลส และทรานส์กลูโคซิเดส แป้งข้าวเจ้าจะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุดและแป้งกล้วยดิบให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ต่ำที่สุดสำหรับการย่อยในชั่วโมงที่ 18 ถึง 42 เป็นช่วงเวลาที่เหมาะสมแต่จะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ต่ำกว่าการเติมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เบตาอะไมเลส พุลูลาเนส และทรานส์กลูโคซิเดส ซึ่งแป้งกล้วยดิบจะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุดและแป้งข้าวเหนียวให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ต่ำที่สุด สำหรับการย่อยในชั่วโมงที่ 12 ถึง 42 เป็นช่วงเวลาที่เหมาะสม อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์น้ำตาลด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) และการหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS) เป็นเพียงวิธีหนึ่งในการช่วยทำนายโอกาสการเกิดไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ สูงที่สุด หากต้องการหาปริมาณไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ในช่วงเวลาที่เหมาะสมจำเป็นต้องอาศัยเครื่องมือในการวิเคราะห์ที่ละเอียดต่อไป

5.1.2 การผลิตพรีไบโอติกจากบุกและกากมะพร้าว

การผลิตพรีไบโอติกจากบุกและกากมะพร้าวโดยใช้เอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 50 เป็นอัตราส่วนการใช้เอนไซม์ไม่เหมาะสมกับการผลิตพรีไบโอติก เนื่องจากใช้ปริมาณเอนไซม์มากเกินไป ความเหมาะสมเนื่องจากได้ผลิตภัณฑ์แมนโนโอลิโกแซ็กคาไรด์น้อยและใช้ต้นทุนสูง จึงจำเป็นต้องศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสในสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยบุกเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์สูงที่สุด จากการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสในสภาวะที่เหมาะสมต่อการย่อยบุกพบว่าเมื่อวิเคราะห์น้ำตาลด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) การใช้อัตราส่วนเอนไซม์แมนนาเนสที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ปริมาตรต่อน้ำหนักมีโอกาสการพบแมนโนโอลิโกแซ็กคาไรด์ค่อนข้างหนาแน่น และเมื่อวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี dinitrosalicylic acid (DNS) พบว่าการใช้อัตราส่วนเอนไซม์แมนนาเนสที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 ปริมาตรต่อน้ำหนัก ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด และจากการศึกษาพบว่าการใช้อัตราส่วนเอนไซม์แมนนาเนสที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 เอนไซม์มีโอกาสในการถูกยับยั้งได้มากที่สุด สำหรับเวลาที่เหมาะสมต่อการย่อยคือ 1 ถึง 4 ชั่วโมงพบปริมาณแมนโนโอลิโกแซ็กคาไรด์หนาแน่น หากต้องการวิเคราะห์ปริมาณแมนโนโอลิโกแซ็กคาไรด์ อย่างละเอียดอาจจำเป็นต้องอาศัยการวิเคราะห์โดยเครื่องมือที่ละเอียดต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 การผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแป้งโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้า ควรวิเคราะห์หาไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ด้วยเครื่องมือวิเคราะห์ที่มีความละเอียดสูง เช่น การวิเคราะห์หาปริมาณปริมาณน้ำตาลด้วยเครื่อง High-performance liquid chromatography และ High performance anion exchange chromatography with pulsed amperometric detection เพื่อวิเคราะห์ปริมาณผลิตภัณฑ์ได้อย่างแน่นอน เพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสม และปริมาณผลิตภัณฑ์ที่สูงสุด

5.2.2 การผลิตพรีไบโอติกจากบุกและกากมะพร้าว

ควรมีการศึกษาผลการยับยั้งเชื้อโพรไบโอติกของบุกและกากมะพร้าว และศึกษาศักยภาพของพรีไบโอติกที่ผลิตได้ว่าสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อโพรไบโอติกได้หรือไม่ นอกจากนี้ ยังจำเป็นต้องหาสภาวะต่างๆ เช่น ความเข้มข้นของเอนไซม์ อุณหภูมิ เวลา เพื่อให้ได้ปริมาณพรีไบโอติกที่ผลิตได้ปริมาณสูงสุด



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- กานดา แสนมณี. (2556). หอมใหญ่ลดน้ำตาล ไขมัน คอเลสเตอรอล ความดันโลหิตสูง. [Online]. Available: <https://www.gotoknow.org/posts/547641%20https>
- กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ. (2550). เทคโนโลยีของแป้ง. (พิมพ์ครั้งที่ 4.). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, (หน้าที่ 78-79).
- กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ. (2543). เทคโนโลยีของแป้ง. (พิมพ์ครั้งที่ 4.). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, (บทที่ 2).
- กัรณา อยู่หัตต์, สุทธิพงศ์ ศักดิ์อุบล และ มณฑารพ ยมาภย์. (2556). การใช้แมนโนโอลิโกแซ็กคาไรด์ (มอช.) เพื่อการแปรรูป. [Online]. Available: http://personal.sut.ac.th/montarop/2013%20SITE/school_of_Biotech/Blog/Entries/2013/9/14_การใช้_มอช_เพื่อการ_แปรรูป.html
- งามชื่น คงเสรี. (2549). ผลิตภัณฑ์จากข้าว. [Online]. Available: <http://library.uru.ac.th/webdb/>
- จิตรลดา ฐิติกรอมร, ภัทรา ผาสอน, กนก รัตนะกนกชัย และ คิน เลย์ คู. (2551). การผลิตน้ำตาลไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์จากไซแลนโดย *thermophilic Anoxybacillus sp.* สายพันธุ์ JT-12. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, (บทที่ 2).
- จิรวรรณ อภิรัชชากร. (2540). การผลิตน้ำเชื่อมกลูโคสจากการย่อยกากมันสำปะหลัง. กรุงเทพฯ: คณะวิทยาศาสตร์ สาขาเทคโนโลยีทางชีวภาพ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, (บทที่ 2).
- จุฑา พิรพัชระ, ธาณี สุคนธชาติ, อรุมา มุ่งเจียกกลาง, ชนิตา ประจักษ์จิตร, เจนจิรา สูงเนิน และ แสงแข สพันธุ์พงศ์. (2554). การเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์แปรรูปจากกล้วยเพื่อประโยชน์เชิงพาณิชย์. กรุงเทพฯ: สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏวชิรเวศน์, (บทที่ 2).
- จุฬาลักษณ์ ชูพรหม. (2553). การห่อหุ้มเซลล์โพรไบโอติกร่วมกับพรีไบโอติกและการศึกษาการรอดชีวิตในสภาวะที่เป็นกรดและเกลือในหลอดทดลอง. กรุงเทพฯ: คณะวิทยาศาสตร์ สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, (บทที่ 2).
- ชฎามาศ พินิจสุนทร. (2555). ตำราชีวเคมี. (พิมพ์ครั้งที่ 6.). ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น, (บทที่ 5).
- นฤมล สมคุณา, จรัส สว่างทัฬห, จิรประภา รอดจากเข็ญ และ สุรศักดิ์ อุดรวิเชียร. (2557). การศึกษาการเพิ่มระดับโปรตีนของกากมะพร้าวสดและแห้งโดยกระบวนการหมักยีสต์และยูเรีย. *แก่นเกษตร*, 43, 290-292.
- ประเสริฐ ศรีไพโรจน์. (2530). ชีวเคมี. (พิมพ์ครั้งที่ 4.). มหาสารคาม: ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ มหาสารคาม, (บทที่ 3).
- ปราณี อ่านเปรื่อง. (2543). เอนไซม์ทางอาหาร. (พิมพ์ครั้งที่ 3.). กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, (บทที่ 6).
- ปิ่นมณี ขวัญเมือง. (2548). ฟังชันนัลฟูด: อาหารเพื่อสุขภาพ. *วารสารครุศาสตร์อุตสาหกรรม*, 2, 12-13.
- พรพรรณ รพี. (2557). กินกล้วย-ต้านโรค. [Online]. Available: http://www.booktime.co.th/new/article_detail.php?t_id=1403000022#.VznyPfmLTIU

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- พิมพ์ชนก. (2557). “เผือก” พืชกินหัว สารพัดประโยชน์. [Online]. Available: <http://www.thaihealth.or.th/Content/17779>
- พิชามญชุ์ แดงพราม, สุดาทิพย์ จันทร และ สุนีย์ นิธิสินประเสริฐ. (2556). อิทธิพลของชนิดและปริมาณของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรต่อการผลิตโอลิโกแซ็กคาไรด์ด้วยสารละลายเอนไซม์สกัดหยาบจาก *Penicillium oxalicum* KUB-SN2-1. *วารสารวิจัยและพัฒนา มจร*, 36, 73-84.
- พัศตร์ประไพ ประจำเมือง และ วิเชียร ลีลาวัชรมาศ. (2546). เอนไซม์ที่เกี่ยวกับการย่อยแป้ง. *วารสารศูนย์บริการวิชาการ*, 4, 23-32.
- พิลาณี ไวถนอมสัจย์. (2546). การเพิ่มมูลค่าซังข้าวโพดโดยกระบวนการหมักด้วยยีสต์. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, (บทที่ 2).
- ยุทธชัย เพชรรัตน์ไพศาล. (2557). *สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไฮโซมอลโตโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแป้งมันสำปะหลัง*. ปทุมธานี: คณะวิทยาศาสตร์ สาขาวิชาชีววิทยาประยุกต์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี, (บทที่ 2).
- รุสมัน ดะแซะสามะ. (2557). *การสกัดและการทำบริสุทธิ์โอลิโกแซ็กคาไรด์จากเนื้อแก้วมังกรและการทำบริสุทธิ์*. สงขลา: คณะวิทยาศาสตร์ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, (บทที่ 2).
- วันดี วราวิทย์. (2551). โพรไบโอติกและพรีไบโอติก. [Online]. Available: [https:// www.doctor.or.th/clinic/detail/6931](https://www.doctor.or.th/clinic/detail/6931)
- วิราสินี จันทรเป็ง และ นพพล เล็กสวัสดิ์. (2556). อะไมเลส (Amylase). [Online]. Available: <http://www.agro.cmu.ac.th/absc/data/57/57-025.pdf>
- วิล สันติโสภาคี, วชิราพรรณ บุญญาพิพิธพงศ์, เกื้อกุล ปิยะจอมขวัญ และ กล้านรงค์ ศรีรอด (2543). *การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแป้งมันสำปะหลังโดยเอนไซม์ฟลูกลานาส*. กรุงเทพฯ: สาขาประมงและสาขาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, (บทที่ 3).
- ศิริกุล ศรีวัฒนา. (2559). *ปลูกแก้วสร้างรายได้ดีๆ แก่เกษตรกร*. [Online]. Available: <http://www.thaiarcheep.com/ปลูกแก้วสร้างรายได้.html>
- สาโรจน์ ศิริคันสนียกุล. (2547). *เทคโนโลยีชีวภาพอาหาร การหมัก และสิ่งแวดล้อม*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, (หน้า 57-61).
- สาโรจน์ ศิริคันสนียกุล, ปรีชา ต้นสกุลรัตนชัย, สิทธิวัฒน์ เลิศศิริ และ ไพโรจน์ หลวงพิทักษ์ (2554). *การผลิตฟรุกโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ด้วยวิธีทางเอนไซม์*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, (หน้า 407-412).
- สอนสุพรรณ สรรเสริญ. (2552). *แก้วที่ไม่มีแก้ว*. [Online]. Available: net/blog/phaen/2009/01/15/entry-1
- สุขฤดี อัครศักดิ์สกุล. (2547). *สมบัติทางเคมีและกายภาพของสตาร์ชจากเผือกหอม Colocasia esculenta (L.) Schott*. กรุงเทพฯ: คณะวิทยาศาสตร์ สาขาเทคโนโลยีทางอาหาร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, (บทที่ 2).
- สุดาทิพย์ จิตตะโกภา. (2552). *พรีไบโอติก*. *วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น*, 4, 366-375.
- สุดาทิพย์ จันทร และ ชนิดโชติ ปิยพิทยานันต์. (2555). การผลิตและการประยุกต์แมนนาเนสจากจุลินทรีย์. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, 4, 365-377.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- สุดารัตน์ หอมหวล. (2552). กระเทียม. [Online]. Available: <http://www.thaicrudedrug.com/main.php?action=viewpage&pid=8>
- สุดารัตน์ หอมหวล. (2552). กลัวยดิบ. [Online]. Available: <http://www.thaicrudedrug.com/main.php?action=viewpage&pid=13>
- สุดารัตน์ หอมหวล. (2552). บุก. [Online]. Available: <http://www.thaicrudedrug.com/main.php?action=viewpage&pid=79>
- สุภาภรณ์ พงษ์มณี. (2549). Functional Foods กับผลิตภัณฑ์อาหารหมัก. *วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม*, 1, 1-3.
- สุวิมล โชคชัยสวัสดิ์. (2552). *การผลิตไอโซมอลโตโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแป้งกล้วย*. เลข: คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย, (หน้าที่ 23-33).
- เสาวลักษณ์ แย้มหมื่นอาจ. (2554). *การใช้ประโยชน์จากเปลือกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เพื่อเป็นอาหารหยาดสำหรับโคขาวลำพูน*. เชียงใหม่: คณะเกษตรศาสตร์ ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, (หน้าที่ 10-14).
- โสภิตา บุญเอกทรัพย์. (2542). *การสกัดแป้งจากหัวมันสำปะหลัง*. กรุงเทพฯ: สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี, (หน้าที่ 23).
- องอาจ เต็ดดวง. (2553). *การเปรียบเทียบเพคตินสกัดจากฝรั่ง 3 ชนิดกับเพคตินมาตรฐาน*. กรุงเทพฯ: คณะศึกษาศาสตร์ สาขาเคมี มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ, (บทที่ 2).
- อภิญา เจริญกุล. (2553). *การแปรรูปอาหารเบื้องต้น*. กรุงเทพฯ: คณะวิทยาศาสตร์ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย, (บทที่ 1).
- อรอนงค์ นัยวิกุล. (2540). *ข้าวสาลี: วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*. (ครั้งที่ 2). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, (บทที่ 1-3).
- อานดี นิตธิธรรมง. (2553). *โยอาหารชนิดใหม่...คุณรู้จักยัง*. [Online]. Available: <http://www.inmu.mahidol.ac.th/th/knowledge/view.php?id=190>
- Bello, P. L. A., Agama, A. E., Sanchez, H. L., & Perdes, L. O. (1999). Isolation and partial characterization of banana starch. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 854-857.
- Beynum, G. M. A., Van, M., & Roels, J. A. (1985). *Starch Conversion Technology*. New York: Marcel Dekker Inc, (pp. 326).
- Brand, M. J. C., Holt, S. H., Pawlak, D. B., & Mcmillan, J. (2002). Glycemic index and obesity. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 72, 1.
- Butler, G., Emily, A., & Antony, V. B. (2004). Evolution of the MAT locus and its hondenoclease in yeast species. *The National Academy of Science of The United State of America*, 6, 163-165.
- Chaiongkarn, A., Titapoka, S., Keawsompong, S., & Nitisinprasert, S. (2009). Identification and characterization of β -mannanase producing fungal strain KUB-SN2-1. *Agricultural Biotechnology for Better Living and a Clean Environmental*, 69, 21-30.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Champ, M., Langkilde, A., Brouns, F., Kettlitz, B., Yves, L. B. C. (2013). Advances in dietary fibre characterisation. Consumption, chemistry, physiology and measurement of resistant starch; implications for health and food labeling. *Nutrition Research Reviews*, 16, 143-144.
- Chaplin, M. F. (1986). Monosaccharide. In M. F. Chaplin, & J. F. Kennedy (Eds.), *Carbohydrates Analysis* (pp. 3). New York: Elsevier.
- Crittenden, R. G., & Playne, M. J. (2009). Prebiotics. In Y. K. Lee, & S. Salminen (Eds.), *Handbook of Probiotics and Prebiotics* (2nd ed.) (pp. 535-581). New Jersey: John Wiley & Son Inc.
- Crittenden, R. G. (1999). Prebiotics. In G. Tannock (Ed.), *Probiotics: A Critical Review* (pp. 141-156). London: Academic Press.
- Davies, T., Miller, D. C., & Procter, A. A. (1980). Inclusion complexes of free fatty acids with amylose. In F. T. Richard (Ed), *Starke* (pp. 149). Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co.
- David, A. B. (2005). Non-starch polysaccharide. [Online]. Available: <http://www.encyclopedia.com/doc/1O39-nonstarchpolysaccharides.html>
- Doland, K. (2016). Raffinose, stachyose and verbascose. [Online]. Available: <http://www.nutrientsreview.com/carbs/soluble-fiber-raffinose-stachyose-verbacose.html>
- Douglas, C. W., & Michinson, C. (1997). Enzymes involed in the processing of starch to sugars. *Trends in Biotechnology Journal*, 15, 349-352.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugar and related substances. In J. V. Sweedler (Ed.), *Analytical Chemistry* (pp. 350-356). Washington DC: ACS Publications.
- Fred, A. C. (2008). *Wheat and Flour Testing Methods*. (2nd ed.). Kansas: Kansas State University, (Chapter 2).
- Fujivara, M. (2557). แป้งสาลีคืออะไร. [Online]. Available: <https://handiheart.wordpress.com/2014/11/10/flour-แป้ง-แป้งสาลี-แป้งสาลีคืออะไร/>
- Goto, K., Fukai, K., Hikida, J., Nanjo, F., & Hara, Y. (1995). Isolation and structural analysis of oligosaccharides from yacon (*Polymnia sonchifolia*). In T. Kobayashi (Ed.), *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* (pp. 2346-2347). Tokyo: Japan Science and Technology Information Aggregator Electronic.
- Harrison, D. (2013). Oligosaccharides revealing more health benefits. [Online]. Available: <http://newhope.com/ingredients/oligosaccharides-revealing-more-health-benefits>
- Hizukuri, S. (1988). Recent advances in molecular structure of starch. *Journal of The Technological Society of Starch*, 31, 185.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Hertzler, S. (2012). Isomalto-oligosaccharide. [Online]. <http://easacademy.org/trainer-resources/article/isomalto-oligosaccharides>
- Huebner, J., Wehling, R. L., & Hutkins, R. W. (2007). Functional activity of commercial prebiotic. *International Dairy Journal*, 17, 770-775.
- Joseph, C. T., & Murrell, F. D. (1983). *Practice of Thin Layer Chromatography*. (2nd ed.). New York: John Wiley & Sons, Inc, (Chapter 1).
- Kasemsuwan, T., Jane, J., Chen, Y. Y., Lee, L. F., Mcpherson, A. E., Wong, K. S., & Radosavljevic, M. (1999). Effects of amylopectin branch chain length and amylose content on the gelatinization and pasting properties of starch. *Cereal Chem*, 76, 629-637.
- Kohmoto, T., Fukui, F., Takaku, H., Machida, Y., Arai, M., & Mitsuoka, T. (1998). Effect of isomaltooligosaccharides on human fecal flora. *Bifidobacteria Microflora*, 7, 61-69.
- Kuriki, T., Yanase, M., Takata, H., Takesada, Y., Imanaka, T., & Okada, S. (1993). A new way of producing isomalto-oligosaccharide syrup by using the transglycosylation reaction. *Applied and Environmental Microbiology*, 142, 20-23.
- Land, G. B. (2009). Isomalto-oligosaccharide. [Online]. Available: <http://www.sugar-and-sweetener-guide.com/isomalto-oligosaccharide.html>
- Lairson, L. L., & Wither, S. G. (2004). Mechanistic analogies amongst carbohydrate modifying enzymes. *Chemical Communication*, 20, 243-248.
- Leech, J. (2016). Sugar alcohols: good or bad ?. [Online]. Available: <https://authoritynutrition.com/sugar-alcohols-good-or-bad/>
- Marco, C. (2012). Amylase. [Online]. Available: <http://colon-institute.org/supplements/amylase/>
- Mccleary, B. V. (1979). Modes of action of beta-mannanase enzymes of diverse origin on legume seed galactomannans. In N. Lewis, & R. J. Robins (Eds.), *Phytochemistry* (pp. 757-763). Amsterdam: Elsevier.
- Mendis, M., Mendoza, B. R., & Simsek, S. (2012). Covalent immobilization of transglucosidase on to polymer beads for production of isomalto-oligosaccharides. In H. Freund, & G. A. Somorjai (Eds.), *Catalysis Letters* (pp. 1107-1113). New York: Springer.
- Mercola, J. (1994). What are water chestnut good for ?. [Online]. Available: <http://foodfacts.mercola.com/water-chestnuts.html>
- Mikekkelson, A., Maaheimo, H., & Hakala, T. K. (2013). Hydrolysis of konjac glucomannan by *Trichoderma reesei* mannanase and endoglucanase Cel7B and Cel5A for the production of glucomannooligosaccharide. *Carbohydrate Research*, 372, 60-68.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Analytical Chemistry*, *31*, 426.
- Moore, S., & Stein, W. H. (1948). Photometric ninhydrin method for use in the chromatography amino acid. *The Journal of Biological Chemistry*, *176*, 367-370.
- Moongngarm, A., Trachoo, N., & Sirigungwan, N. (2011). Low molecular weight carbohydrate, prebiotic content, and prebiotic activity of selected food plants in thailand. *Journal of Food Science and Technology*, *3*, 269-274.
- Nang, D. (2016). ข้าวโพดกับคุณค่าอาหารที่หลากหลาย. [Online]. Available: http://ijourney-ifofood.blogspot.com/2015/11/blog-post_38.html
- Pan, Y. C., & Lee, W. C., (2005). Production of high-purity isomalto-oligosaccharide syrup by the enzymatic conversion of transglucosidase and fermentation of yeast cells. *Biotechnology and Bioengineering*, *89*, 797-804.
- Pinoy, E. (2010). Yam bean or singkamas production. [Online]. Available: <http://ag2.kku.ac.th/kaj/PDF.cfm?filename=P07.pdf&id=1217&keeptrack=1>
- Sabater, M. M., Larqué, E., Torrella, F., & Zamora, S. (2009). Dietary fructo-oligosaccharides and potential benefits on health. *Journal of Physiology and Biochemistry*, *65*, 1-4.
- Santos, L. F. C., Silva, F. L. H., Gomes, J. P., & Silva, N. J. M. (2012). Chemical composition of the cashew apple bagasse and potential use for ethanol production. *Chemical Engineering and Science*, *2*, 519-523.
- Schroder, R., Wegrzyn, T. F., Bolitho, K. M., & Redgwell, R. J. (2004). Mannan transglycosylase: a novel enzyme activity in cell walls of higher plants. In A. Melis, & D. Bartels (Eds.), *Planta an International Journal of Plant Biology* (pp. 590-600). Heidelberg: Springer.
- Shetty, J. K., & Lantero, O. J. (1999). Transglucosylation of malto-oligosaccharides: process for producing isomalto-oligosaccharides. *Genencor International*, *5*, 34-35.
- Siew, L. H., Joo, S. T., Tau, C. L., & Arbakariya, B. A. (2012). Pullulanase: role in starch hydrolysis and potential industrial applications. *Hindawi Publishing Corporation Enzyme Research*, *22*, 112-120.
- Songsiriritthigul, C., Buranabanyat, B., Haltrich, D., & Yamabhai, M. (2010). Efficient recombinant expression and secretion of a thermostable GH26 mannan endo-1,4-beta-mannosidase from *Bacillus licheniformis* in *Escherichia coli*. *Microbial Cell Factories*, *21*, 131-135.
- Stool, V. S., & Blanchaed, J. S. (1990). Method in enzymology. In M. P. Deutscher (Ed.), *Buffer: Principle and Practice* (pp. 24-38). New York: Academic Press.

- Timmermans, E. (1996). Lactose; its manufacture and physiochemical properties. In H. V. Bekkum., H. Roper., & A. G. Voragew. (Eds.), *Journal of Carbohydrates as Organic Raw Materials III* (pp. 67-92). Weinheim: VCH. Perrin.
- Wright, W. D., & Biol, S. (1923). The determination of free amino nitrogen in protein. *The Journal of Biological Chemistry*, 56, 191-201.
- William, W. W., (2006). Yummy yacon root. [Online]. Available: <http://www.motherearthnews.com/organic-gardening/yacon-root-zmaz06jjzraw.aspx>



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมีสำหรับวิเคราะห์

1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Agar (NA) ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

Nutrient broth	8 กรัม
Agar	15 กรัม

ส่วนประกอบอาหารเลี้ยงเชื้อที่ซั่งแล้วละลายด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร ด้วย Volumetric flask ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ (MRS-L) ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

Proteose peptone	1 %
Beef Extract	1 %
Yeast Extract	0.5 %
Glucose	2 %
Tween-80	0.1 %
Ammonium citrate	0.2 %
Sodium acetate	0.5 %
Manganese Sulfate	0.005 %
Di-potassium phosphate	0.2 %
Magnesium Sulfate	0.01 %
L-Cysteine hydrochloride monohydrate	0.05 %
Agar	1.5 %

ส่วนประกอบอาหารเลี้ยงเชื้อที่ซั่งแล้วละลายด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร ด้วย Volumetric flask ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Eosin methylene blue agar (EMB Agar) ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

Eosin methylene blue agar (EMB Agar) 37.46 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร ด้วยขวดปรับปริมาตรฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

4. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Basal medium ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

Peptone water	0.2 %
Yeast Extract	0.2 %
Sodium chloride	0.001 %
Potassium hydrogen phosphate	0.004 %
Potassium dihydrogen phosphate	0.004 %
Magnesium Sulfate Heptahydrate	0.001 %
Calcium Chloride Hexahydrate	0.001 %
Sodium Hydrogen carbonate	0.2 %
Tween-80	0.2 %
Hemin	0.005 %
Bile salt	0.05 %
L-cysteine-HCl	0.05 %
Resazurin	0.4 %
Vitamin K	1 %

ส่วนประกอบอาหารเลี้ยงเชื้อที่ซึ่งแล้วละลายละลายด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร ด้วยขวดปรับปริมาตรฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

5. การเตรียมสารละลาย Dinitrosalicylic acid ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

5.1 Reagent 1 ซึ่ง Sodium potassium tartate tetrahydrate ($C_4H_4KNaO_6 \cdot 4H_2O$) 374 กรัมละลายใน 2M NaOH ปริมาตร 250 มิลลิลิตร

5.2 Reagent 2 ซึ่ง 3,5- dinitrosalicylic acid 11.8 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร โดยใช้ความร้อน

5.3 Reagent 2 เติมลงในขวดปรับปริมาตรจากนั้นเติม Reagent 1 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ลงซ้ำๆ จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร ด้วย Volumetric flask

6. การเตรียมสารละลายสำหรับวิเคราะห์ Thin Layer Chromatography (TLC)

6.1 Solvent

1) n- propanol

2) Ethyl acetate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) Water

ใช้อัตราส่วน 6:1:3

6.2 Spay Solution

1) 5% (v/v) H_2SO_4

2) 95% Ethanol 100 มิลลิลิตร

3) 0.5% α -naptol

7. การเตรียมสารละลาย Ninhydrin reagent ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

7.1 Colour Reagent

Ninhydrin ($C_9H_6O_4$) 5 กรัม , $Na_2HPO_4 \cdot 2H_2O$ (BDH) 49.17 กรัม , KH_2PO_4 60 กรัม และ Fructose 3 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรด้วย Volumetric flask ให้ครบ 1 ลิตร

7.2 Dilution Reagent

potassium iodate 2 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร ใน Volumetric flask ขนาด 1000 มิลลิลิตร เติม absolute ethanol 384 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร

8. การเตรียม Stock Ammonium acetate buffer 1.0 M ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

Ammonium acetate 77.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เติม glacial acetic acid 57 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 ลิตรด้วย Volumetric flask และปรับพีเอชให้เท่ากับ 5

ภาคผนวก ข

วิธีการดำเนินงาน

1. การวิเคราะห์ Thin Layer Chromatography (TLC)

ขั้นตอนดำเนินการ

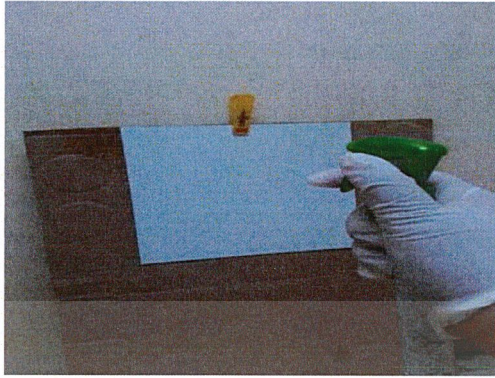
1. เติม solvent ลงในอ่างแก้วสำหรับ Develop แผ่น TLC และเท solvent ลงกระดาดชกรองให้เปียกและแปะรอบผนังด้านในของอ่างแก้ว ปิดฝาทิ้งไว้ 1 คืน
2. ใส่แผ่น TLC ที่หยดตัวอย่างแล้วในอ่างแก้วเพื่อ Develop โดยจะต้องวางอย่างเบา มือที่สุดปิดฝารอประมาณ 3 ชั่วโมง เอาแผ่น TLC ออกรอให้แห้งสนิท
3. ฉีดพ่นด้วย Spray solution ที่เตรียมไว้ รอให้แห้งและอบแผ่น TLC



รูปที่ 1.1 หยดสารลงแผ่นตัวอย่างลง TLC

รูปที่ 1.2 Develop แผ่น TLC ในอ่างแก้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1.3 ฉีดพ่น Spray solution บนแผ่น TLC



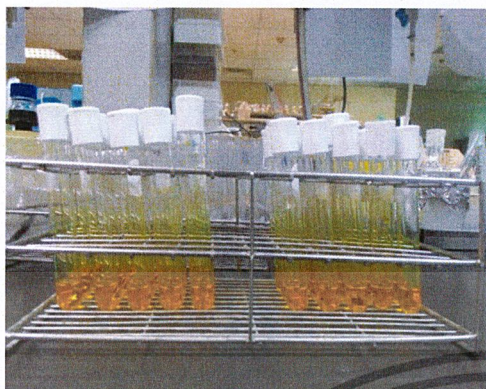
รูปที่ 1.4 อบแผ่น TLC



รูปที่ 1.5 ตัวอย่างแผ่น TLC ที่ผ่านการอบแล้ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

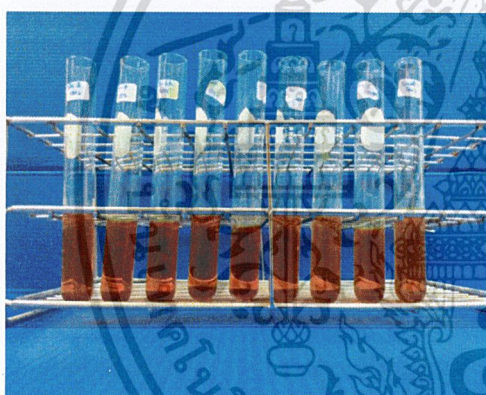
2. การวัด reducing sugar



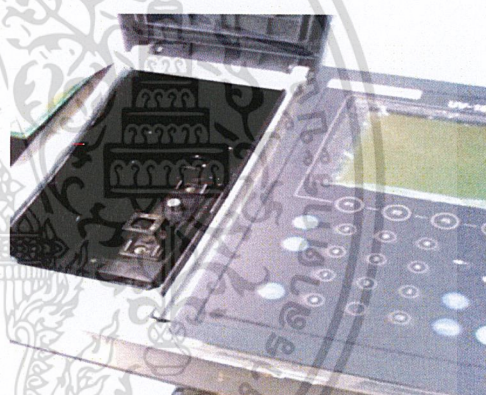
รูปที่ 2.1 ตัวอย่างที่ใส่ DNS



รูปที่ 2.2 ต้มตัวอย่าง



รูปที่ 2.3 ตัวอย่างหลังจากต้มและแช่เย็น
ตัวอย่างที่ผ่านการต้มและแช่น้ำเย็น



รูปที่ 2.4 วัดค่าตูดกลืนแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

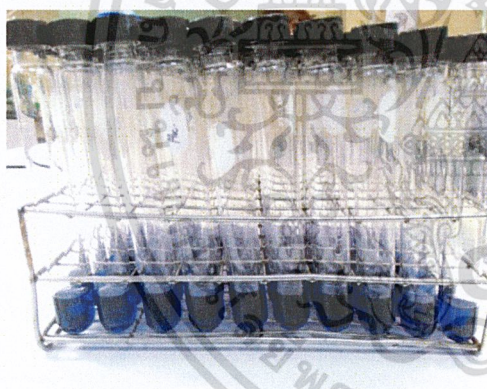
3. การวัด Free amino nitrogen



รูปที่ 3.1 ตัวอย่างที่ใส่ Colour reagent



รูปที่ 3.2 ต้มตัวอย่าง



รูปที่ 3.3 ตัวอย่างที่ผ่านการต้มและแช่น้ำเย็น

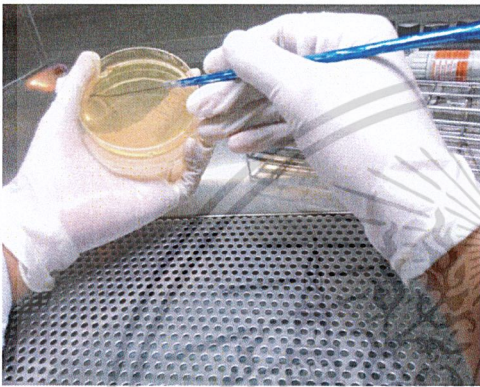


รูปที่ 3.4 วัดค่าตูดกลืนแสง

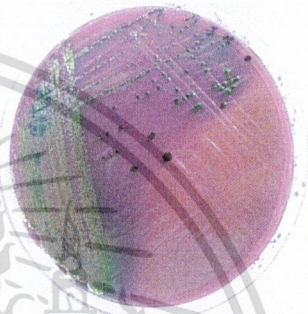
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การแยกเชื้อให้บริสุทธิ์

ใช้ลวดเย็บเย็บแต่เชื้อจาก stock มาลากบนหน้าวุ้นเป็นเส้นขนานกันประมาณ 5-6 เส้น ระวังอย่าให้เส้นทับกันจากนั้นเผาหลอดเย็บเชื้อให้ร้อนแดงทิ้งให้เย็น ลากบนหน้าวุ้นโดยให้เส้นเริ่มต้นทับกับรอยเดิมที่ทำไว้ส่วนหนึ่งจากนั้นลากลวดมาในพื้นที่ว่างของวุ้นขีดเส้นขนานประมาณ 5-6 เส้น ทำเช่นเดียวกันนี้เพิ่มอีก 2-3 ครั้ง จะได้เชื้อบริสุทธิ์ที่ขึ้นเป็นโคโลนีเดี่ยว ทั้งหมดนี้ทำบนหลักเทคนิคปลอดเชื้อ



รูปที่ 4.1 Streak plate technique



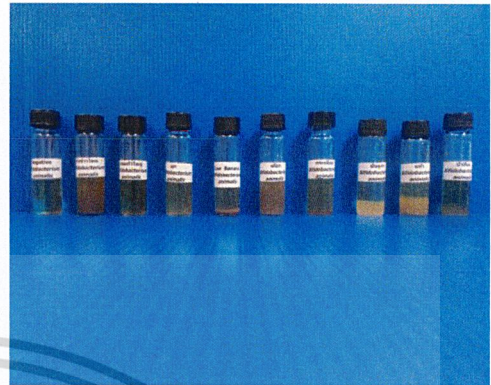
รูปที่ 4.2 ตัวอย่างเชื้อบนอาหารแข็ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. การทดสอบกิจกรรมพรีไบโอติก



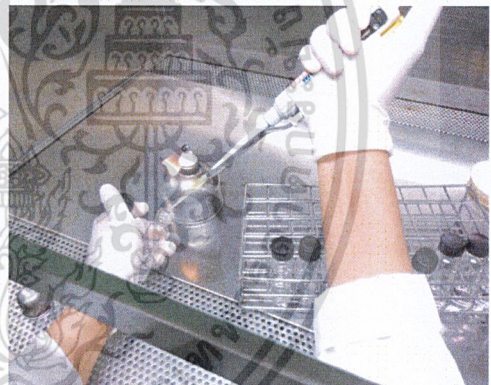
รูปที่ 5.1 ตัวอย่างวัตถุดิบทางการเกษตร



รูปที่ 5.2 ตัวอย่างที่อยู่ใน Basal Medium ที่มีเชื้อก่อนบ่ม



รูปที่ 5.3 ตัวอย่างใน Basal Medium ที่บ่มกับเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง



รูปที่ 5.4 การเจือจางเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 5.5 drop plate



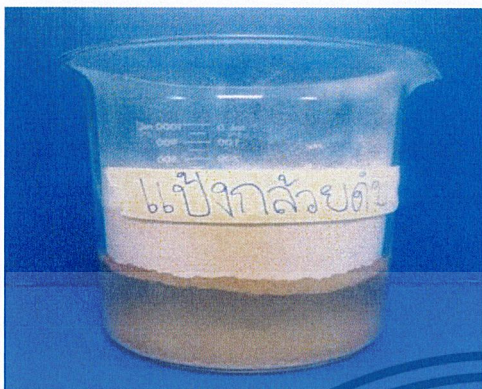
รูปที่ 5.6 บ่มในตู้ 37 องศาเซลเซียส
สภาพไร้อากาศ



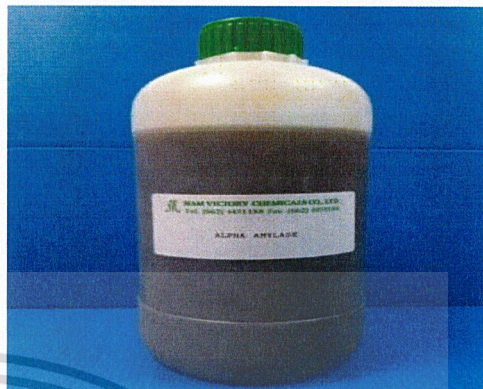
รูปที่ 5.7 ตัวอย่างผลการ
drop plate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. การผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแป้งโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้า



รูปที่ 6.1 ละลายแป้งในน้ำ



รูปที่ 6.2 ใสเอนไซม์



รูปที่ 6.3 ต้มแป้ง



รูปที่ 6.4 ปรับพีเอชเพื่อหยุดการปฏิกิริยาของเอนไซม์



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่รูปที่ 6.5 แป้งที่ผ่านการต้มและพร้อมจะนำไปผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. การทดสอบการยับยั้งด้วยสารละลายจากมะม่วงหิมพานต์



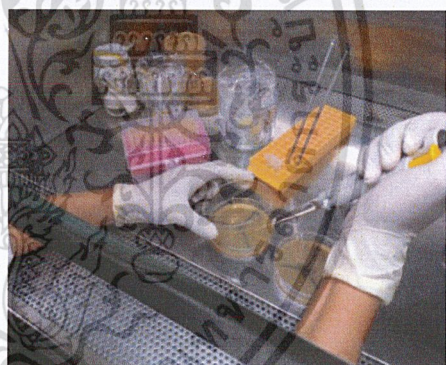
รูปที่ 7.1 เตรียมเชื้อโดยปรับเทียบ
กับ Mcfarland 0.5



รูปที่ 7.2 swab เชื้อลงในอาหารแข็ง

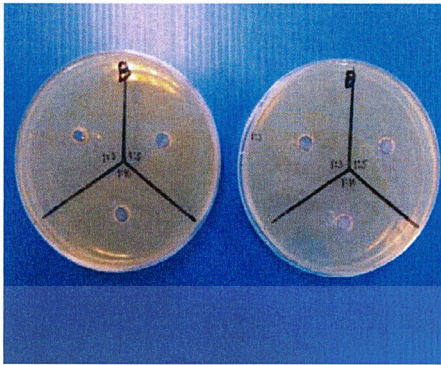


รูปที่ 7.3 เจาะอาหารโดย Cork borer No.3

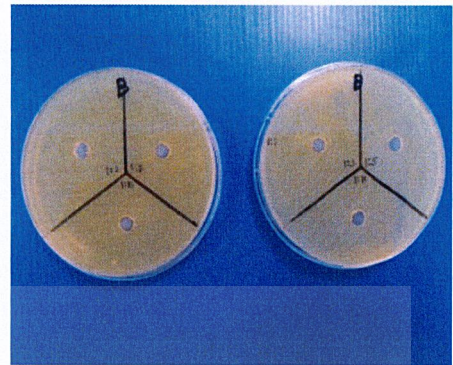


รูปที่ 7.4 หยดสารสกัด 50 ไมโครลิตรลงหลุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 7.5 งานเพาะเชื้อที่ทดสอบสารยับยั้ง
จากมะม่วงหิมพานต์ก่อนบ่ม

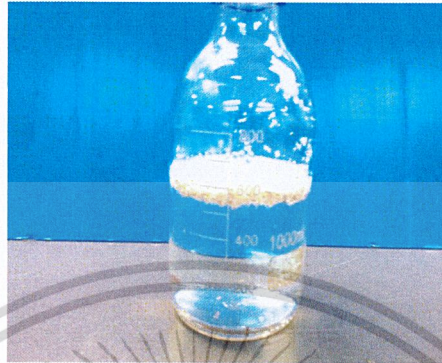


รูปที่ 7.6 งานเพาะเชื้อที่ทดสอบสาร
ยับยั้งจากมะม่วงหิมพานต์หลังบ่ม



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. การผลิตพรีไบโอติกจากบุกและกากมะพร้าว



รูปที่ 8.1 กากมะพร้าวที่ผสมกับ
Ammonium acetate buffer 50 mM



รูปที่ 8.2 บุกที่ผสมกับ ammonium acetate
buffer 50 mM

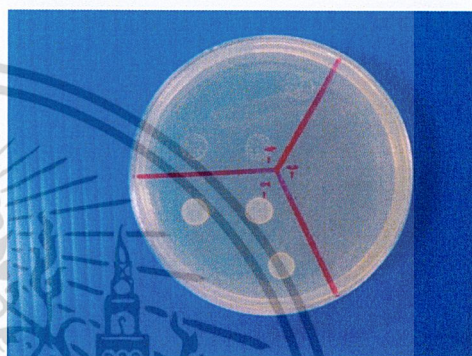
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค ผลการดำเนินการ

1. โคโลนีของเชื้อจากการ drop plate ตัวอย่างที่ 0 ชั่วโมง



รูปที่ 1.1 *E. coli* TISTR 887
ในตัวอย่างที่มีกลูโคส (0 ชม.)



รูปที่ 1.2 *B. animalis* TISTR 2194
ในตัวอย่างที่มี กลูโคส (0 ชม.)

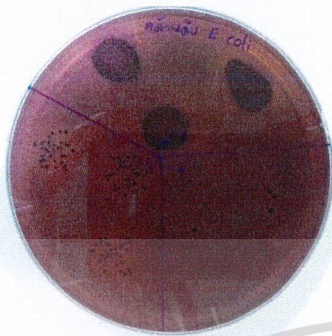


รูปที่ 1.3 *E. faecalis* FM 7-6
ในตัวอย่างที่มี กลูโคส (0 ชม.)

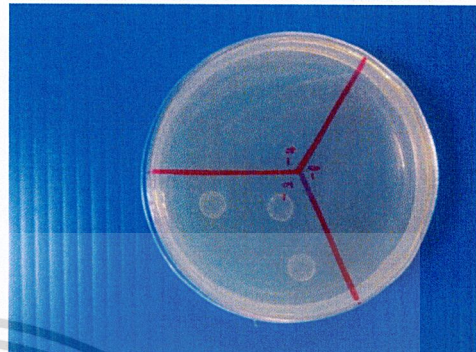


รูปที่ 1.4 *L. fermentum* FW 2.5-6
ในตัวอย่างที่มี กลูโคส (0 ชม.)

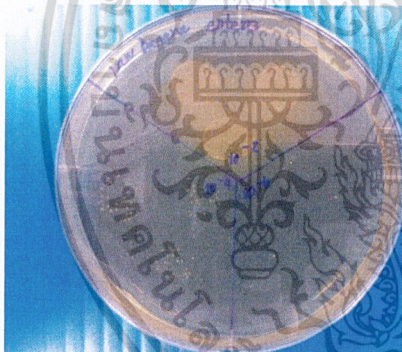
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1.5 *E. coli* TISTR 887
ในตัวอย่างที่มี ผงกล้วยดิบ (0 ชม.)



รูปที่ 1.6 *B. animalis* TISTR 2194
ในตัวอย่างที่มี ผงกล้วยดิบ (0 ชม.)

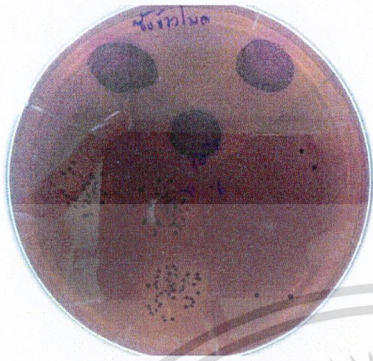


รูปที่ 1.7 *E. faecalis* FM 7-6
ในตัวอย่างที่มีผงกล้วยดิบ (0 ชม.)

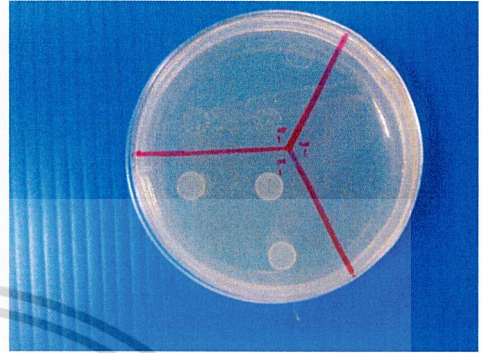


รูปที่ 1.8 *L. fermentum* FW 2.5-6
ในตัวอย่างที่มีผงกล้วยดิบ (0 ชม.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1.9 *E. coli* TISTR 887 ในตัวอย่าง
ที่มีซังข้าวโพด (0 ชม.)



รูปที่ 1.10 *B. animalis* TISTR 2194
ในตัวอย่างที่มีซังข้าวโพด (0 ชม.)



รูปที่ 1.11 *E. faecalis* FM 7-6
ในตัวอย่างที่มีซังข้าวโพด (0 ชม.)

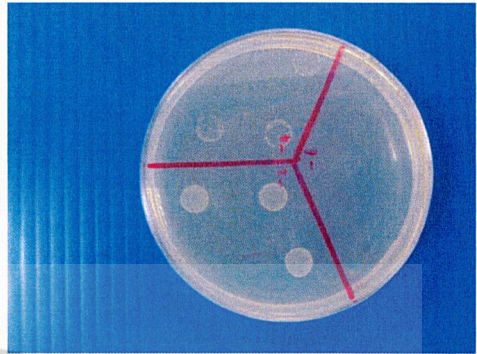


รูปที่ 1.12 *L. fermentum* FW 2.5-6
ในตัวอย่างที่มีซังข้าวโพด (0 ชม.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1.13 *E. coli* TISTR 887
ในตัวอย่างที่มีกระเทียม (0 ชม.)



รูปที่ 1.14 *B. animalis* TISTR 2194
ในตัวอย่างที่มีกระเทียม (0 ชม.)



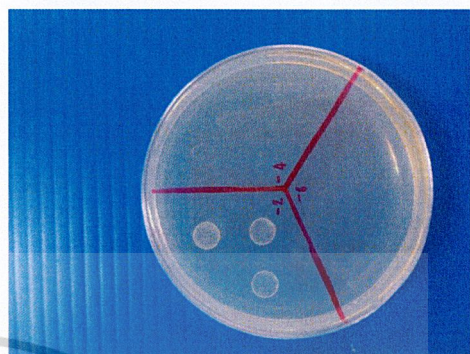
รูปที่ 1.15 *E. faecalis* FM 7-6
ในตัวอย่างที่มีกระเทียม (0 ชม.)

รูปที่ 1.16 *L. fermentum* FW 2.5-6
ในตัวอย่างที่มีกระเทียม (0 ชม.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1.17 *E. coli* TISTR 887
ในตัวอย่างที่มีบัวหิมะ (0 ชม.)



รูปที่ 1.18 *B. animalis* TISTR 2194
ในตัวอย่างที่มีบัวหิมะ (0 ชม.)

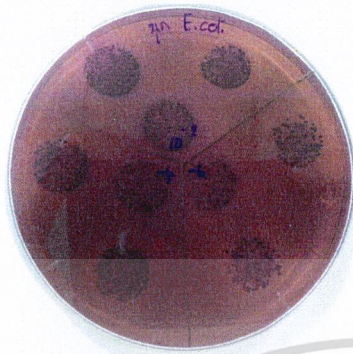


รูปที่ 1.19 *E. faecalis* FM 7-6
ในตัวอย่างที่มีบัวหิมะ (0 ชม.)

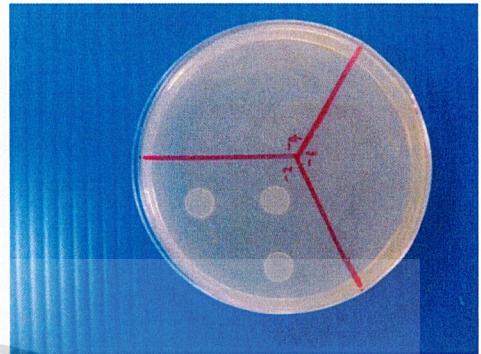


รูปที่ 1.20 *L. fermentum* FW 2.5-6
ในตัวอย่างที่มีบัวหิมะ (0 ชม.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1.21 *E. coli* TISTR 887
ในตัวอย่างที่มีบุก (0 ชม.)



รูปที่ 1.22 *B. animalis* TISTR 2194
ในตัวอย่างที่มีบุก (0 ชม.)

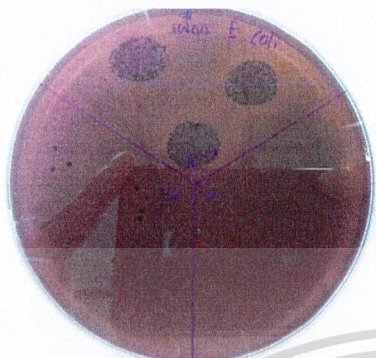


รูปที่ 1.23 *E. faecalis* FM 7-6
ในตัวอย่างที่มีบุก (0 ชม.)

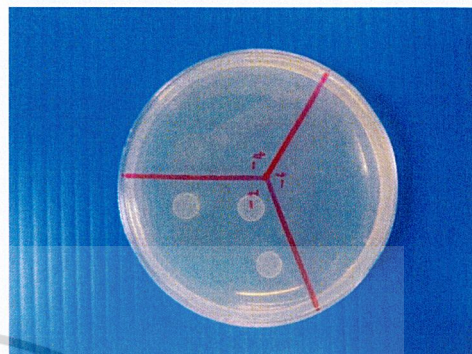


รูปที่ 1.24 *L. fermentum* FW 2.5-6
ในตัวอย่างที่มีบุก (0 ชม.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1.25 *E. coli* TISTR 887
ในตัวอย่างที่มีเปลือก (0 ซม.)



รูปที่ 1.26 *B. animalis* TISTR 2194
ในตัวอย่างที่มีเปลือก (0 ซม.)

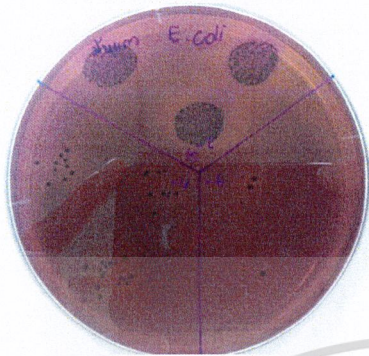


รูปที่ 1.27 *E. faecalis* FM 7-6
ในตัวอย่างที่มีเปลือก (0 ซม.)

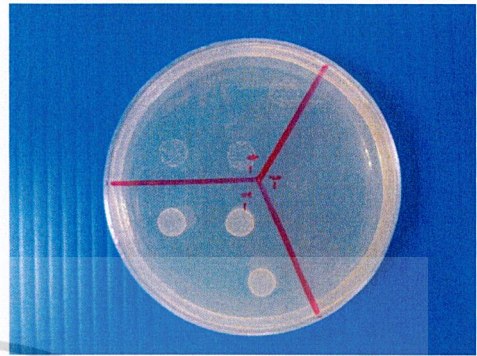


รูปที่ 1.28 *L. fermentum* FW 2.5-6
ในตัวอย่างที่มีเปลือก (0 ซม.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1.29 *E. coli* TISTR 887
ในตัวอย่างที่มีมันแกว (0 ชม.)



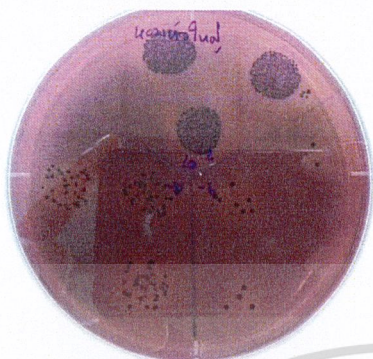
รูปที่ 1.30 *B. animalis* TISTR 2194
ในตัวอย่างที่มีมันแกว (0 ชม.)



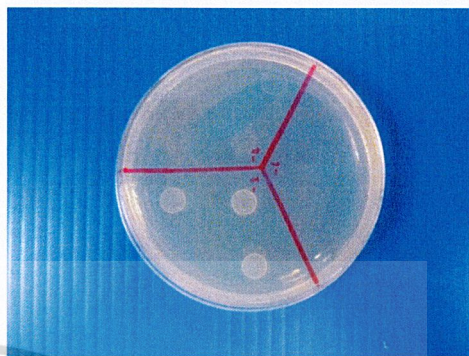
รูปที่ 1.31 *E. faecalis* FM 7-6
ในตัวอย่างที่มีมันแกว (0 ชม.)

รูปที่ 1.32 *L. fermentum* FW 2.5-6
ในตัวอย่างที่มีมันแกว (0 ชม.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1.33 *E. coli* TISTR 887
ในตัวอย่างที่มีหอมหัวใหญ่ (0 ซม.)



รูปที่ 1.34 *B. animalis* TISTR 2194
ในตัวอย่างที่มีหอมหัวใหญ่ (0 ซม.)

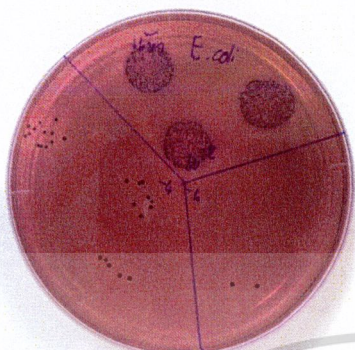


รูปที่ 1.35 *E. faecalis* FM 7-6
ในตัวอย่างที่มีหอมหัวใหญ่ (0 ซม.)

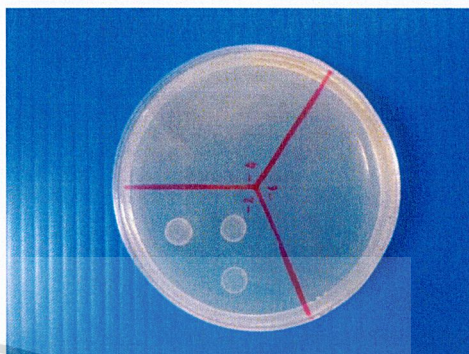


รูปที่ 1.36 *L. fermentum* FW 2.5-6
ในตัวอย่างที่มีหอมหัวใหญ่ (0 ซม.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1.37 *E. coli* TISTR 887
ในตัวอย่างที่มีแก้ว (0 ชม.)



รูปที่ 1.38 *B. animalis* TISTR 2194
ในตัวอย่างที่มีแก้ว (0 ชม.)

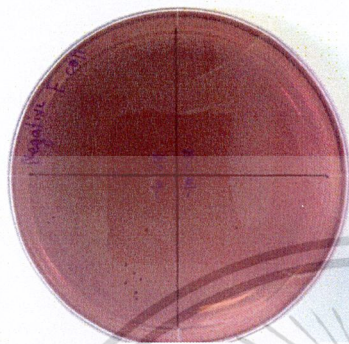


รูปที่ 1.39 *E. faecalis* FM 7-6
ในตัวอย่างที่มีแก้ว (0 ชม.)

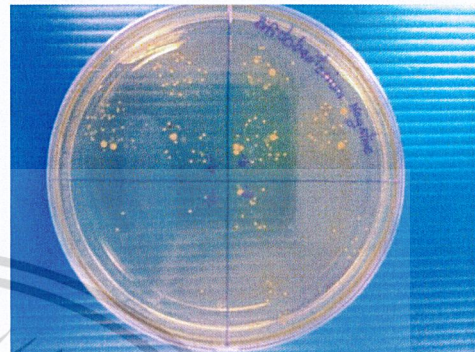
รูปที่ 1.40 *L. fermentum* FW 2.5-6
ในตัวอย่างที่มีแก้ว (0 ชม.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. โคโลนีของเชื้อจากการ drop plate ตัวอย่างที่ 24 ชั่วโมง



รูปที่ 2.1 *E. coli* TISTR 887 ในตัวอย่างที่มี
กลูโคส (24 ชม.)



รูปที่ 2.2 *B. animalis* TISTR 2194
ในตัวอย่างที่มีกลูโคส (24 ชม.)

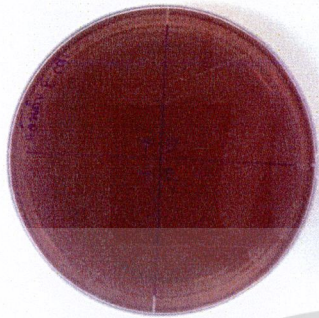


รูปที่ 2.3 *E. faecalis* FM 7-6
ในตัวอย่างที่มี กลูโคส (24 ชม.)

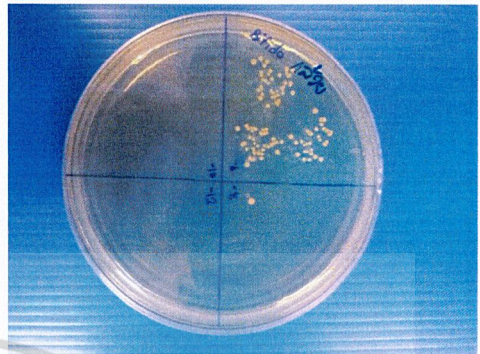


รูปที่ 2.4 *L. fermentum* FW 2.5-6
ในตัวอย่างที่มีกลูโคส (24 ชม.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



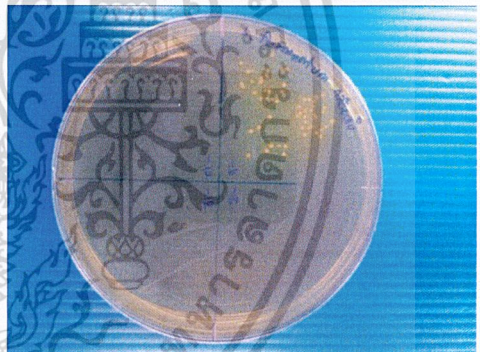
รูปที่ 2.5 *E. coli* TISTR 887 ในตัวอย่างที่มี
ผงกล้วยดิบ (24 ชม.)



รูปที่ 2.6 *B. animalis* TISTR 2194
ในตัวอย่างที่มีผงกล้วยดิบ (24 ชม.)

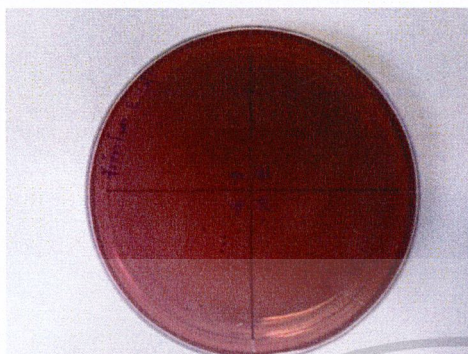


รูปที่ 2.7 *E. faecalis* FM 7-6
ในตัวอย่างที่มีผงกล้วยดิบ (24 ชม.)

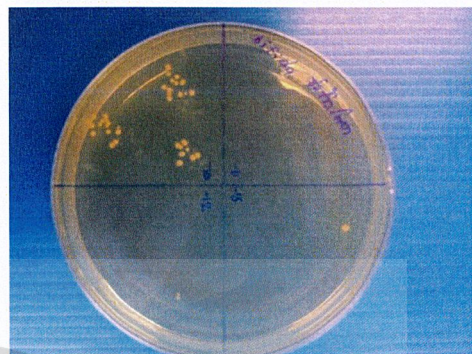


รูปที่ 2.8 *L. fermentum* FW 2.5-6
ในตัวอย่างที่มีผงกล้วยดิบ (24 ชม.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



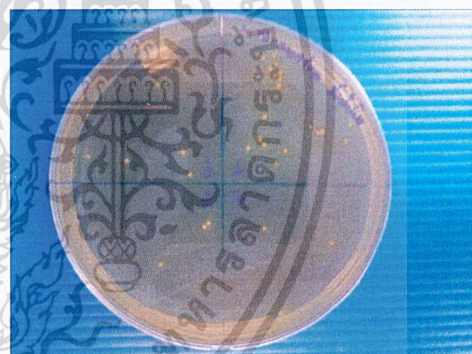
รูปที่ 2.9 *E. coli* TISTR 887 ในตัวอย่างที่มี
ซิงข้าวโพด (24 ชม.)



รูปที่ 2.10 *B. animalis* TISTR 2194
ในตัวอย่างที่มีซิงข้าวโพด (24 ชม.)

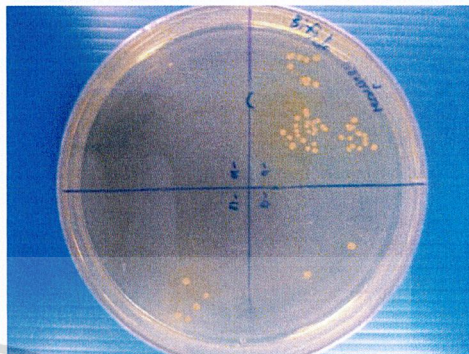
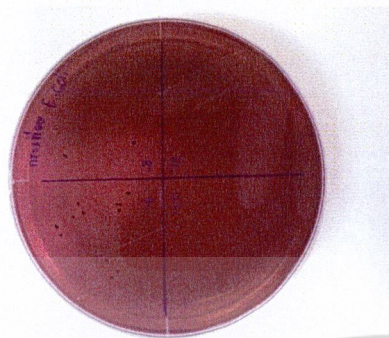


รูปที่ 2.11 *E. faecalis* FM 7-6
ในตัวอย่างที่มีซิงข้าวโพด (24 ชม.)



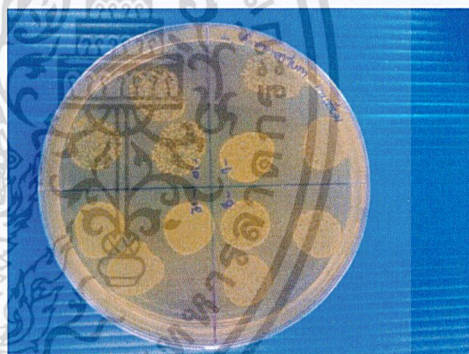
รูปที่ 2.12 *L. fermentum* FW 2.5-6
ในตัวอย่างที่มีซิงข้าวโพด (24 ชม.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.13 *E. coli* TISTR 887
ในตัวอย่างที่มีกระเทียม (24 ชม.)

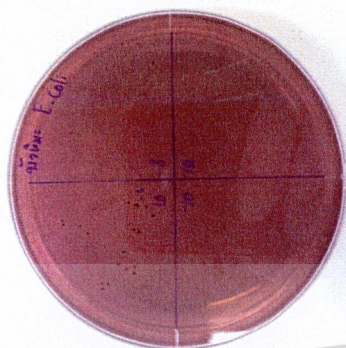
รูปที่ 2.14 *B. animalis* TISTR 2194
ในตัวอย่างที่มีกระเทียม (24 ชม.)



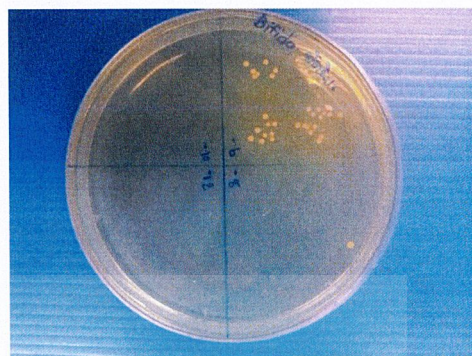
รูปที่ 2.15 *E. faecalis* FM 7-6
ในตัวอย่างที่มีกระเทียม (24 ชม.)

รูปที่ 2.16 *L. fermentum* FW 2.5-6
ในตัวอย่างที่มีกระเทียม (24 ชม.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



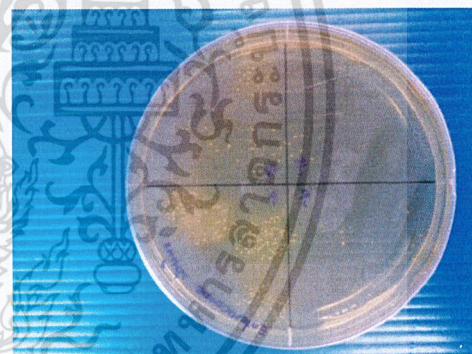
รูปที่ 2.17 *E. coli* TISTR 887
ในตัวอย่างที่มีบัวหิมะ (24 ชม.)



รูปที่ 2.18 *B. animalis* TISTR 2194
ในตัวอย่างที่มีบัวหิมะ (24 ชม.)

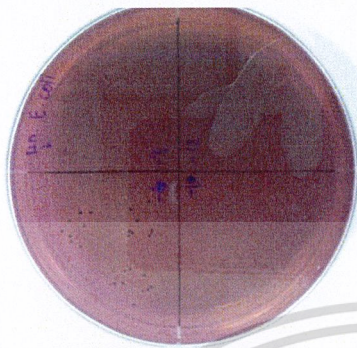


รูปที่ 2.19 *E. faecalis* FM 7-6
ในตัวอย่างที่มีบัวหิมะ (24 ชม.)

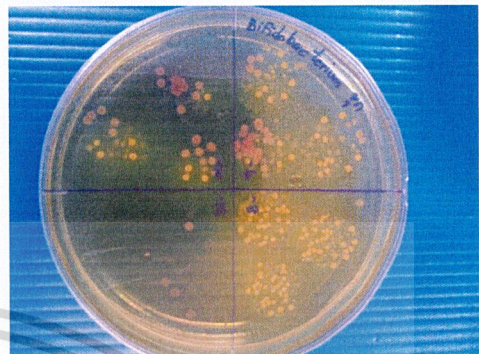


รูปที่ 2.20 *L. fermentum* FW 2.5-6
ในตัวอย่างที่มีบัวหิมะ(24 ชม.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.21 *E. coli* TISTR 887
ในตัวอย่างที่มีบุก (24 ชม.)



รูปที่ 2.22 *B. animalis* TISTR 2194
ในตัวอย่างที่มีบุก (24 ชม.)

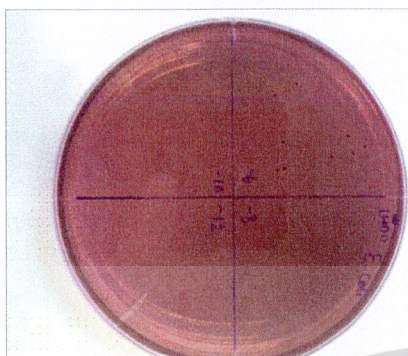


รูปที่ 2.23 *E. faecalis* FM 7-6
ในตัวอย่างที่มีบุก (24 ชม.)

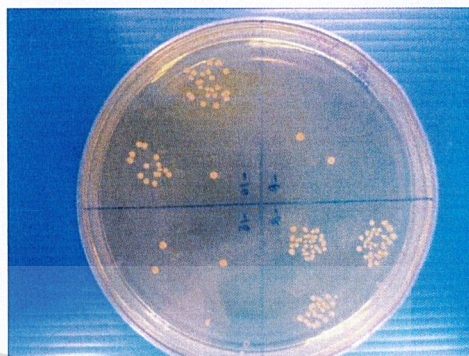


รูปที่ 2.24 *L. fermentum* FW 2.5-6
ในตัวอย่างที่มีบุก (24 ชม.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.25 *E. coli* TISTR 887
ในตัวอย่างที่มีเชื้อ (24 ชม.)



รูปที่ 2.26 *B. animalis* TISTR 2194
ในตัวอย่างที่มีเชื้อ (24 ชม.)

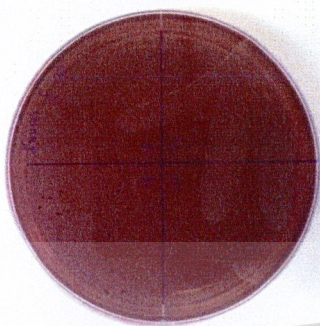


รูปที่ 2.27 *E. faecalis* FM 7-6
ในตัวอย่างที่มีเชื้อ (24 ชม.)

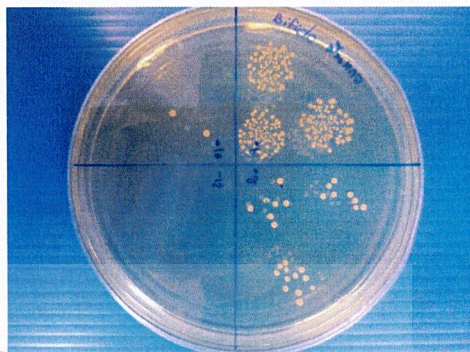


รูปที่ 2.28 *L. fermentum* FW 2.5-6
ในตัวอย่างที่มีเชื้อ (24 ชม.)

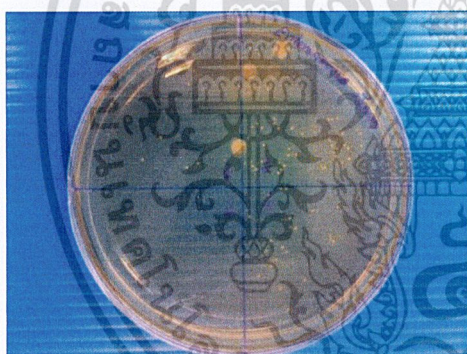
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



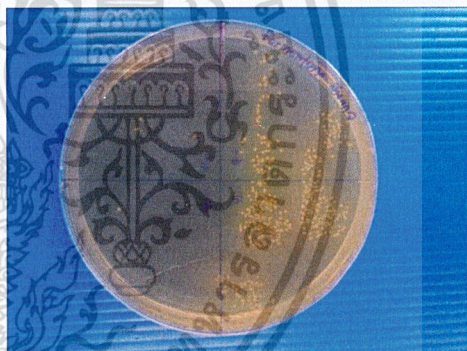
รูปที่ 2.29 *E. coli* TISTR 887
ในตัวอย่างที่มีมันแกว (24 ชม.)



รูปที่ 2.30 *B. animalis* TISTR 2194
ในตัวอย่างที่มีมันแกว (24 ชม.)

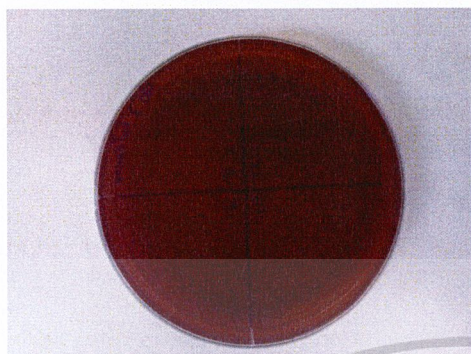


รูปที่ 2.31 *E. faecalis* FM 7-6
ในตัวอย่างที่มีมันแกว (24 ชม.)

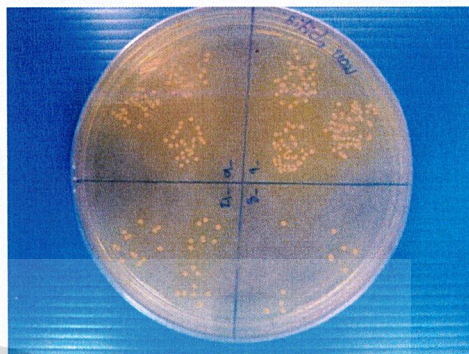


รูปที่ 2.32 *L. fermentum* FW 2.5-6
ในตัวอย่างที่มีมันแกว (24 ชม.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.33 *E. coli* TISTR 887
ในตัวอย่างที่มีหอมหัวใหญ่ (24 ชม.)



รูปที่ 2.34 *B. animalis* TISTR 2194
ในตัวอย่างที่มีหอมหัวใหญ่ (24 ชม.)

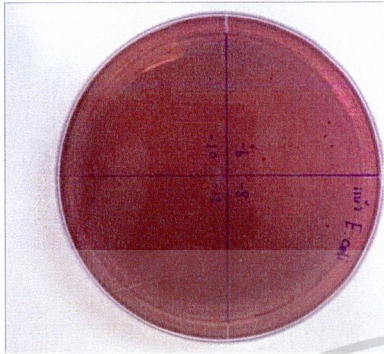


รูปที่ 2.35 *E. faecalis* FM 7-6
ในตัวอย่างที่มีหอมหัวใหญ่ (24 ชม.)

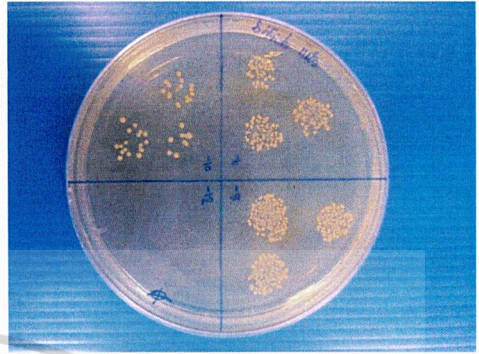


รูปที่ 2.36 *L. fermentum* FW 2.5-6
ในตัวอย่างที่มีหอมหัวใหญ่ (24 ชม.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



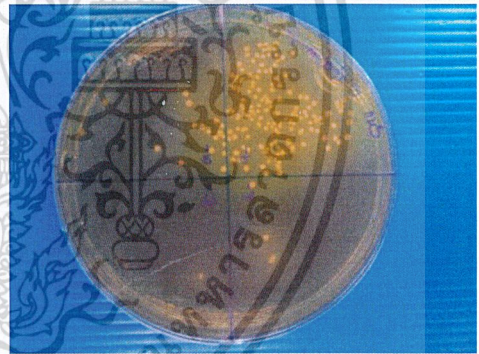
รูปที่ 2.37 *E. coli* TISTR 887
ในตัวอย่างที่มีแก้ว (24 ชม.)



รูปที่ 2.38 *B. animalis* TISTR 2194
ในตัวอย่างที่มีแก้ว (24 ชม.)



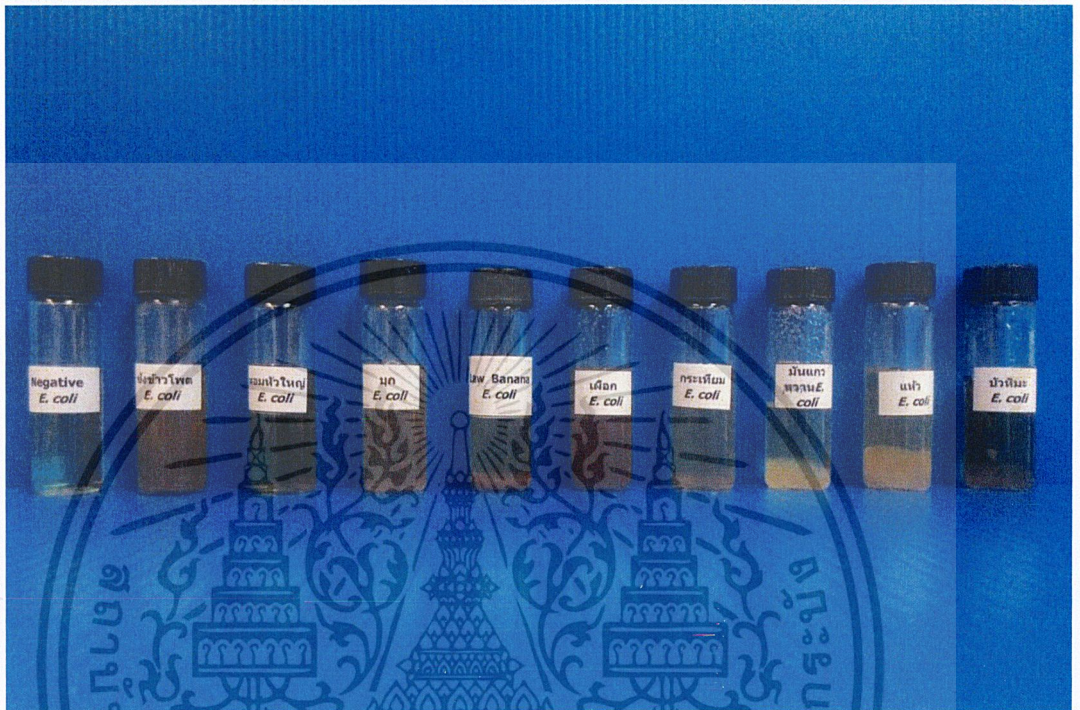
รูปที่ 2.39 *E. faecalis* FM 7-6
ในตัวอย่างที่มีแก้ว (24 ชม.)



รูปที่ 2.40 *L. fermentum* FW 2.5-6
ในตัวอย่างที่มีแก้ว (24 ชม.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ตัวอย่างพืชในอาหาร Basal Medium ที่บ่มกับเชื้อชนิดต่างๆที่ เวลา 0 ชั่วโมงและ 24 ชั่วโมง



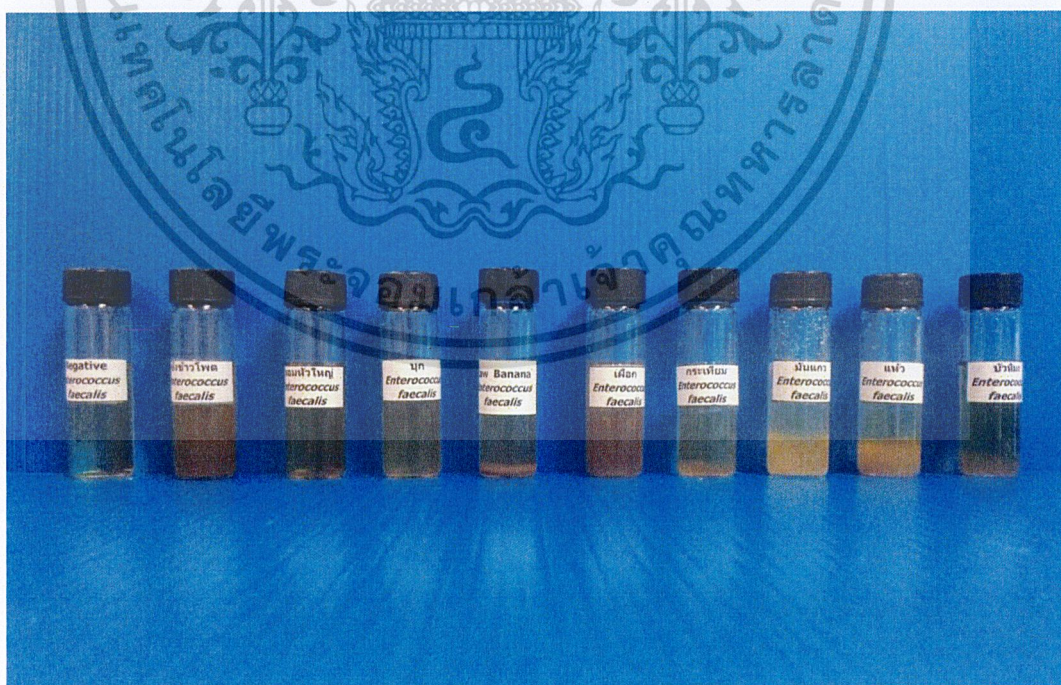
รูปที่ 3.1 ตัวอย่างพืชในอาหาร Basal Medium ที่มีเชื้อ *E. coli* TISTR 887 (0 ชม.)



รูปที่ 3.2 ตัวอย่างพืชในอาหาร Basal Medium ที่มีเชื้อ *B. animalis* TISTR 2194 (0 ชม.)

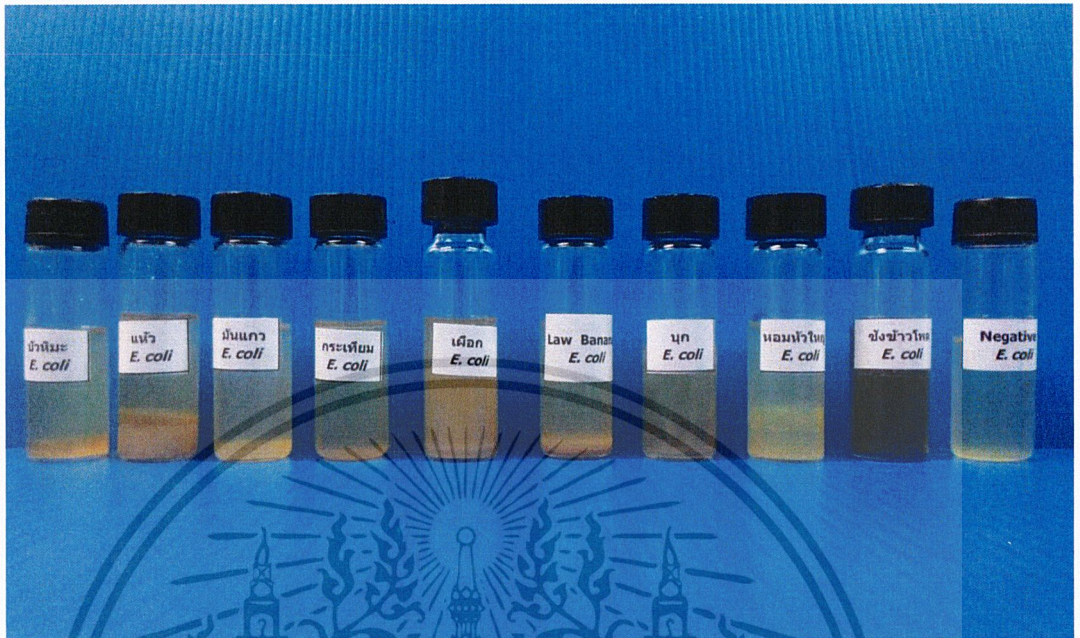


รูปที่ 3.3 ตัวอย่างพืชในอาหาร Basal Medium ที่มีเชื้อ *L. fermentum* FW 2.5-6 (0 ชม.)

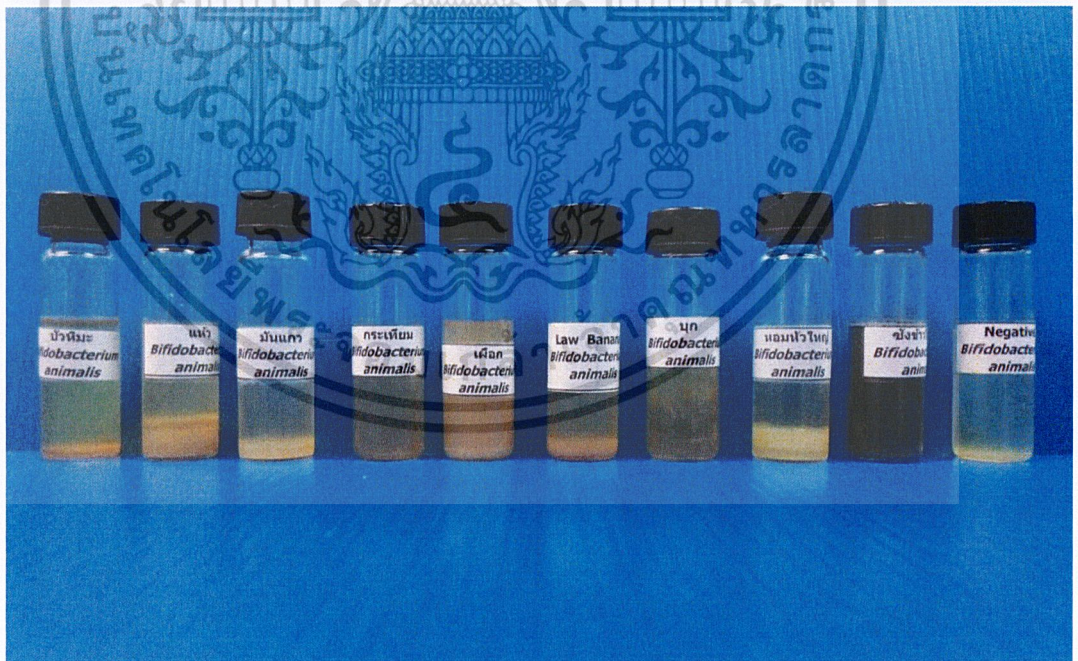


รูปที่ 3.4 ตัวอย่างพืชในอาหาร Basal Medium ที่มีเชื้อ *E. faecalis* FM 7-6 (0 ชม.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

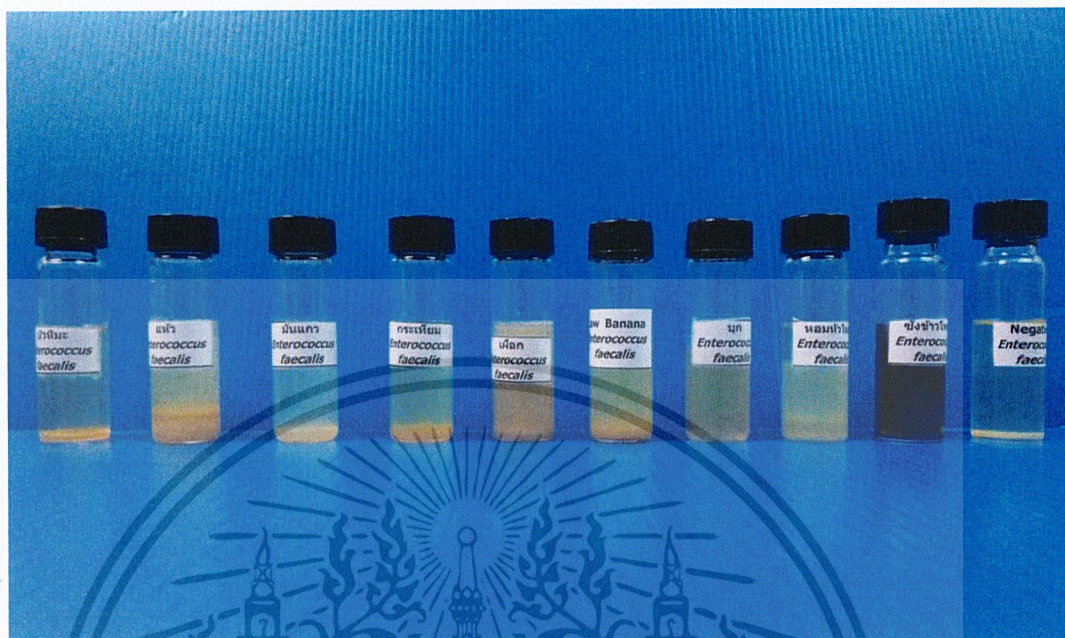


รูปที่ 3.5 ตัวอย่างพืชในอาหาร Basal Medium ที่มีเชื้อ *E. coli* TISTR 887 (24 ชม.)

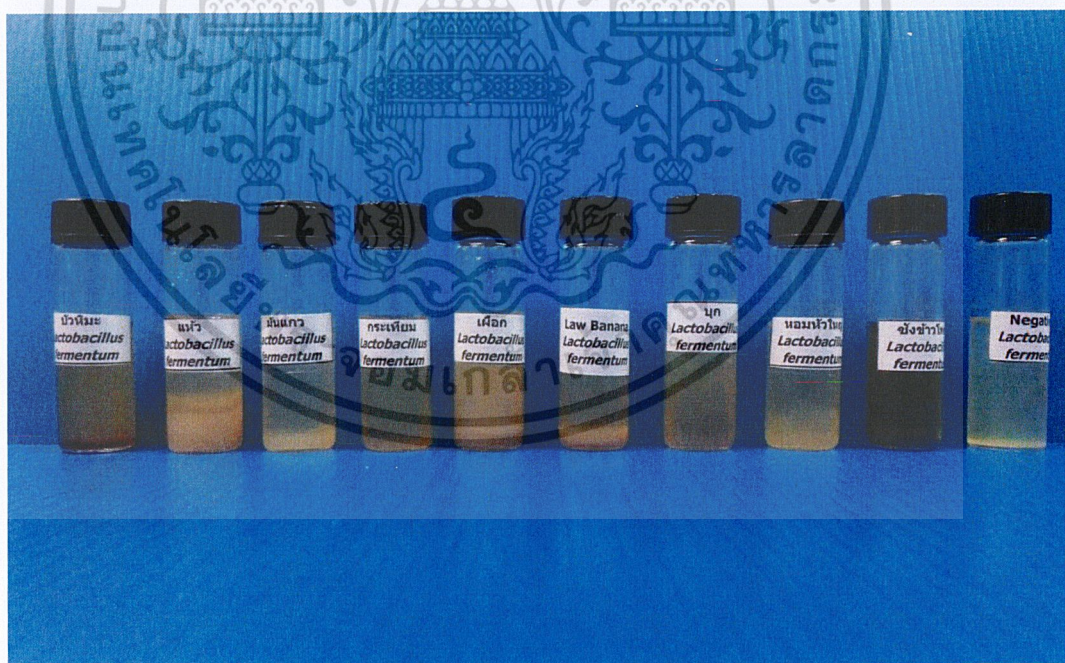


รูปที่ 3.6 ตัวอย่างพืชในอาหาร Basal Medium ที่มีเชื้อ *B. animalis* TISTR 2194 (24 ชม.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



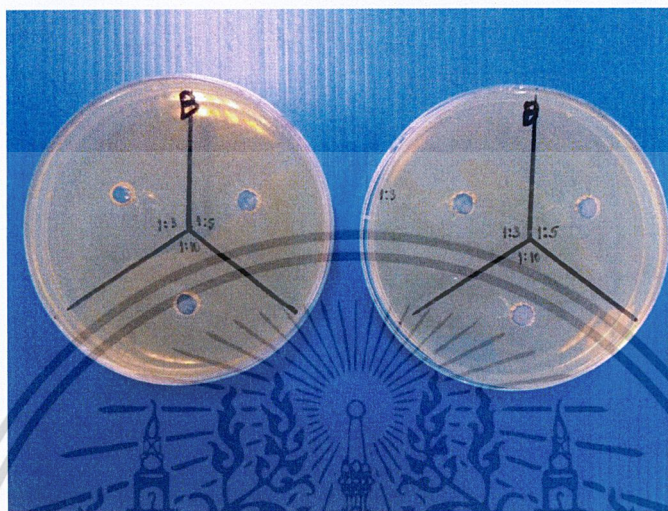
รูปที่ 3.7 ตัวอย่างพืชในอาหาร Basal Medium ที่มีเชื้อ *E. faecalis* FM 7-6 (24 ชม.)



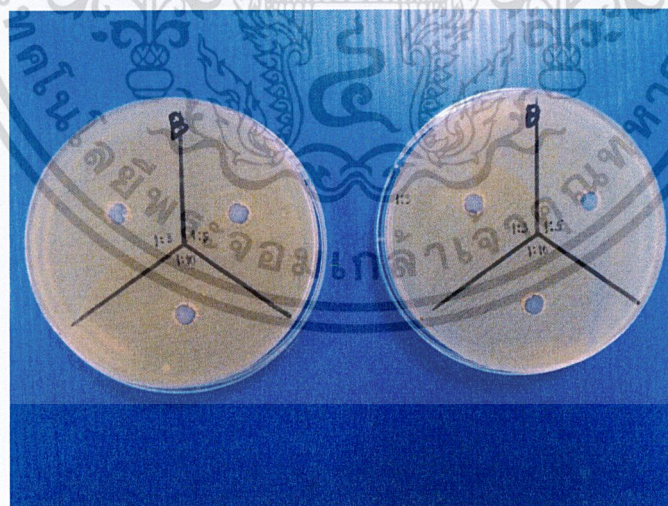
รูปที่ 3.8 ตัวอย่างพืชในอาหาร Basal Medium ที่มีเชื้อ *L. fermentum* FW 2.5-6 (24 ชม.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์โดยสารสกัดจาก ผลมะม่วงหิมพานต์

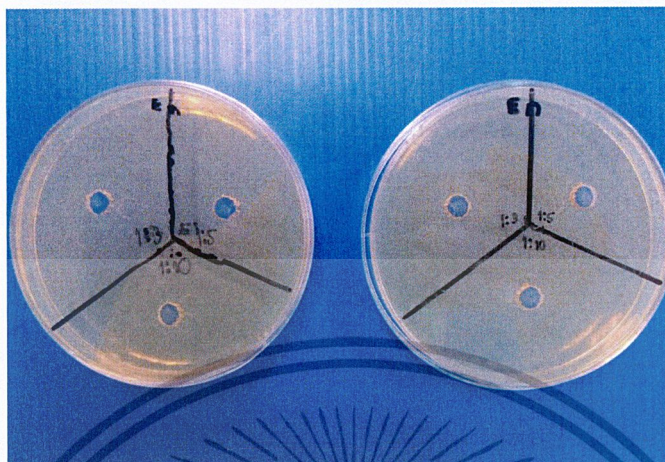


รูปที่ 4.1 ทดสอบสารสกัดจากผลมะม่วงหิมพานต์
กับเชื้อ *B. animalis* TISTR 2194 (ก่อนบ่ม)

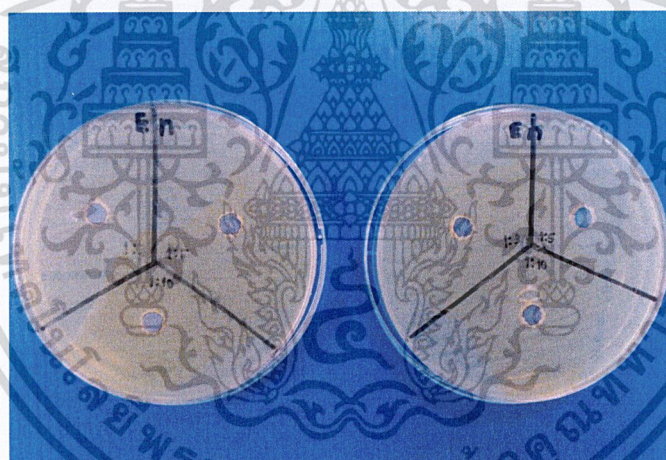


รูปที่ 4.2 ทดสอบสารสกัดจากผลมะม่วงหิมพานต์
กับเชื้อ *B. animalis* TISTR 2194 (หลังบ่ม 24 ชม.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

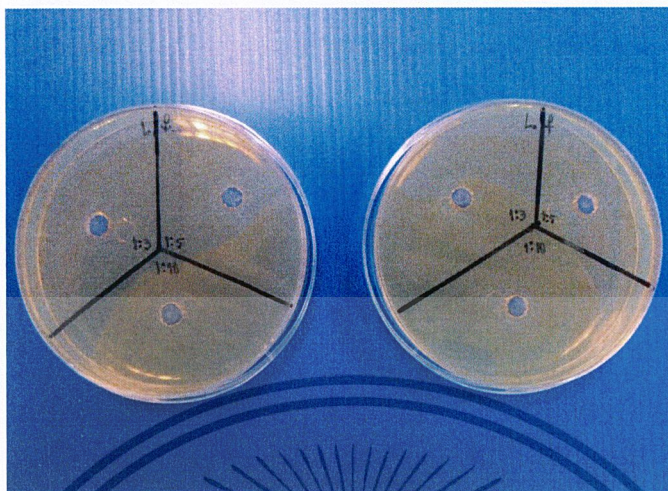


รูปที่ 4.3 ทดสอบสารสกัดจากผลมะม่วงหิมพานต์
กับเชื้อ *E. faecalis* FM 7-6 (ก่อนบ่ม)

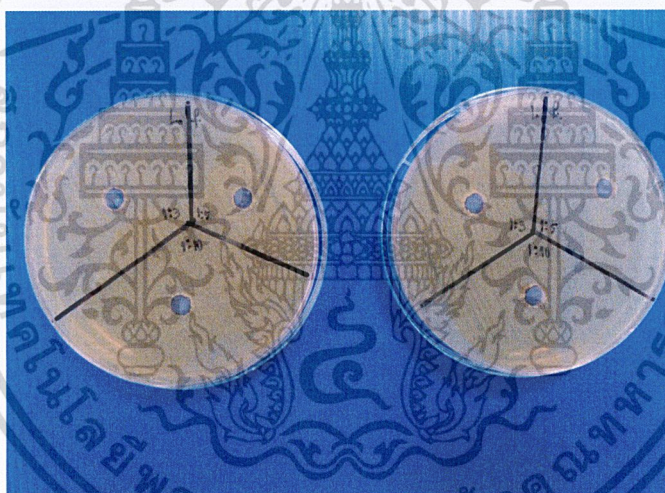


รูปที่ 4.4 ทดสอบสารสกัดจากผลมะม่วงหิมพานต์
กับเชื้อ *E. faecalis* FM 7-6 (หลังบ่ม 24 ชม.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 ทดสอบสารสกัดจากผลมะม่วงหิมพานต์
กับเชื้อ *L. fermentum* FW 2.5-6 (ก่อนบ่ม)



รูปที่ 4.6 ทดสอบสารสกัดจากผลมะม่วงหิมพานต์
กับเชื้อ *L. fermentum* FW 2.5-6 (หลังบ่ม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
เครื่องมือ อุปกรณ์และวัสดุดิบ

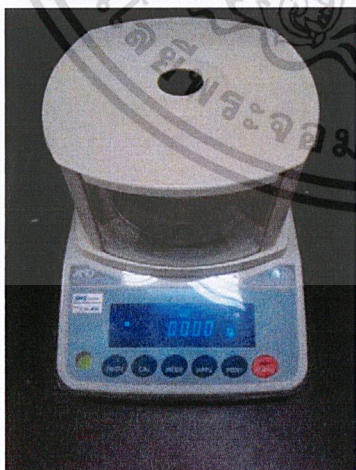
1. เครื่องมือ



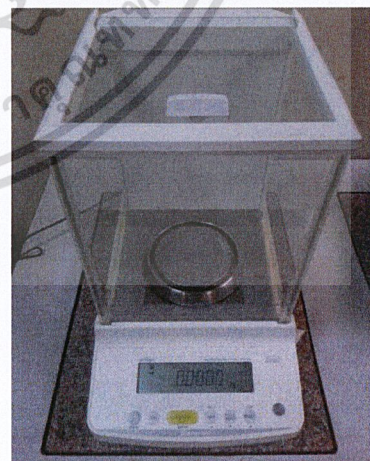
รูปที่ 1.1 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยมสองตำแหน่ง
(AND, FX-2000i, Japan)



รูปที่ 1.2 เครื่องชั่งเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยมสองตำแหน่ง
(SHIMADZU, TXB222L, Japan)

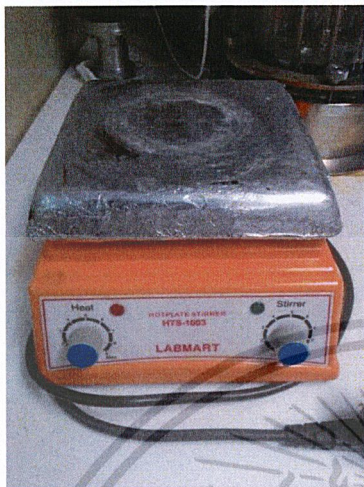


รูปที่ 1.3 เครื่องชั่งเครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยมสามตำแหน่ง
(AND, FX-300i, Japan)



รูปที่ 1.4 เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยมสี่ตำแหน่ง
(SHIMADZU, ATY224, Japan)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1.5 Hot plate stirrer
(LABMART, HTS-1003, America)



รูปที่ 1.6 Hot plate stirrer
(IKA, C-MAG HS7, Japan)



รูปที่ 1.7 เครื่องวิเคราะห์ความชื้น
(AND, MX-50, Japan)



รูปที่ 1.8 เครื่องเขย่าสาร
(VISION, KMC-1300V, Korea)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



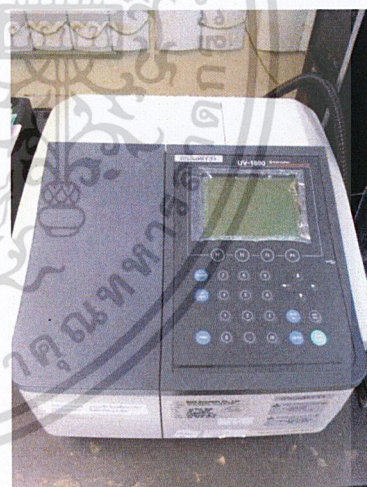
รูปที่ 1.9 เครื่องปั่นเหวี่ยง
(BOECO, s-8, Germany)



รูปที่ 1.10 เครื่องปั่นเหวี่ยง
(Gemmy, PLC-012, Taiwan)



รูปที่ 1.11 Densitometer
(BIO-RAD, GS-900, America)



รูปที่ 1.12 UV Spectrophotometer
(SHIMADZU, UV-1800, Japan)

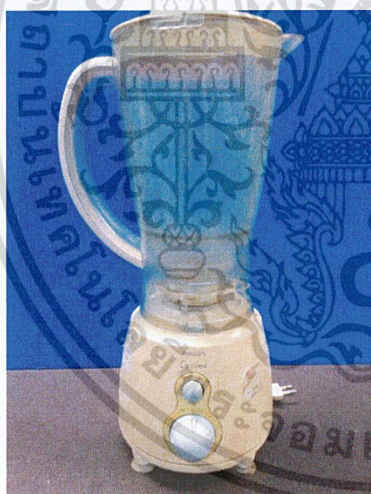
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



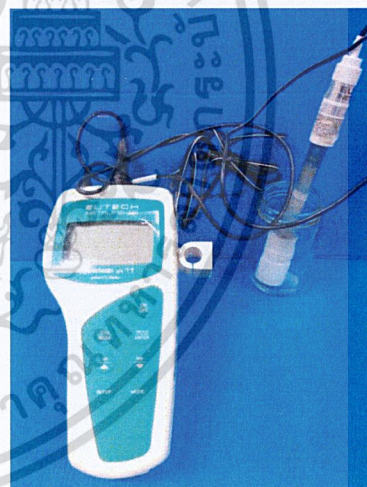
รูปที่ 1.13 ตู้บ่มร้อน
(Memmert, 100-800,
Germany)



รูปที่ 1.14 ตู้บ่ม
(Scientific, 2000, Germany)



รูปที่ 1.15 เครื่องปั่น ยี่ห้อ Philip



รูปที่ 1.16 pH Meter (EUTECH,
CyberScan pH 11, America)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1.17 Water bath shaker
(TAITEC, MM-10, Japan)



รูปที่ 1.18 Bio safety cabinet
Class II (CTL 90 BT, 101)



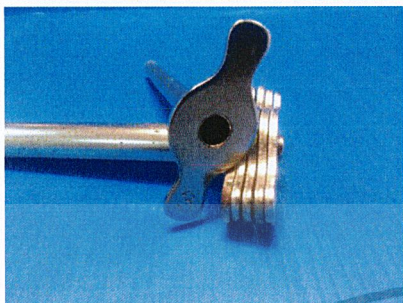
รูปที่ 1.19 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำ
(HIRAYAMA, HVE - 50, Japan)



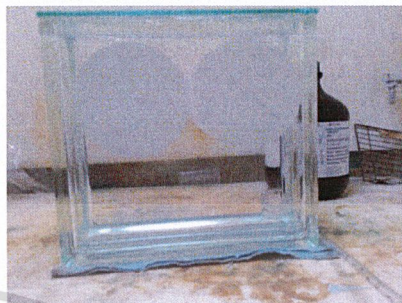
รูปที่ 1.20 เครื่องดูดจ่ายสาร
อัตโนมัติ (Autopipett)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. อุปกรณ์



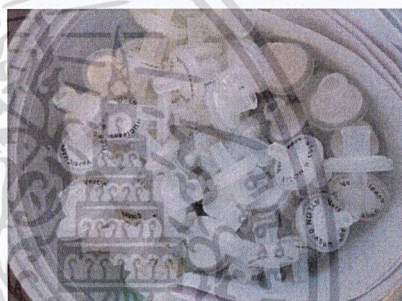
รูปที่ 2.1 Cock Borer No. 3



รูปที่ 2.2 TLC tank



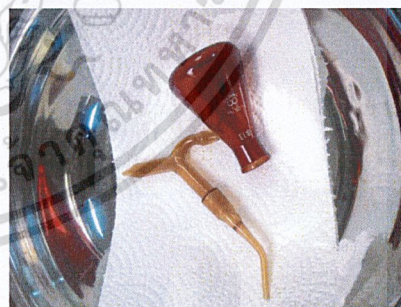
รูปที่ 2.3 Anaerocult® A (MERCK, Germany)



รูปที่ 2.4 ตัวกรอง 0.2 um และ 0.4 um

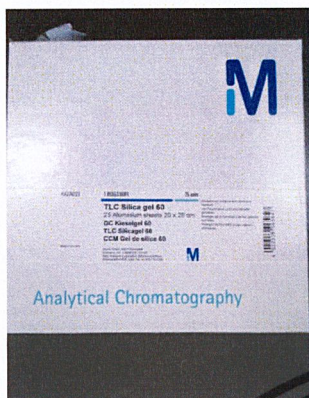


รูปที่ 2.5 ลูกยางสำหรับฟ่นสาร

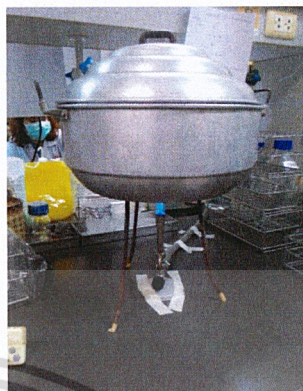


รูปที่ 2.6 ขวดใส่สารและหลอดฟ่นสาร

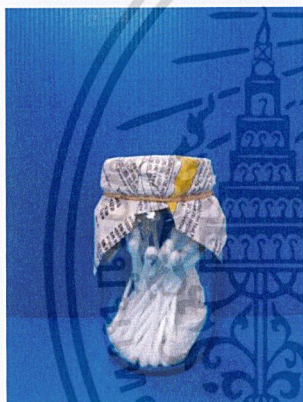
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



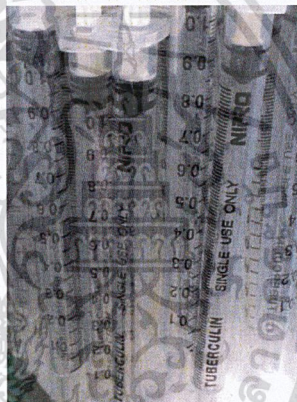
รูปที่ 2.7 แผ่น TLC (MERCK, Germany)



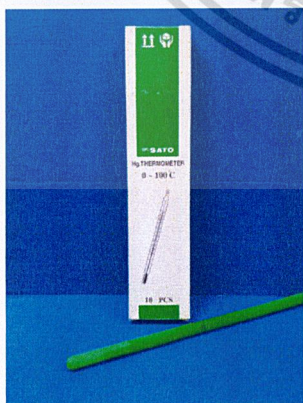
รูปที่ 2.8 ชุดหม้อต้มน้ำ



รูปที่ 2.9 สำลีแบบก้าน



รูปที่ 2.10 หลอดฉีดยาขนาด 1 มิลลิลิตร



รูปที่ 2.11 เทอร์โมมิเตอร์



รูปที่ 2.12 Mcfarland 0.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. วัตถุดิบ



รูปที่ 3.1 แป้งข้าวเหนียว



รูปที่ 3.2 แป้งข้าวเจ้า



รูปที่ 3.3 แป้งข้าวโพด



รูปที่ 3.4 แป้งกล้วยดิบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.5 แป้งมันสำปะหลัง



รูปที่ 3.6 แป้งสาลี



รูปที่ 3.7 ผงผลมะม่วงหิมพานต์แห้ง



รูปที่ 3.8 กากมะพร้าว



รูปที่ 3.9 บุคผง

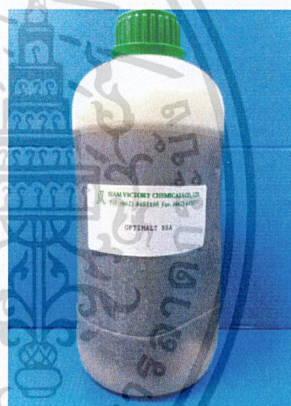
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.10 ตัวอย่างพืช ได้แก่ แอปเปิ้ล ฝรั่ง มังโก บัวหิมะ กลูโคส บุก กระเทียม หอมใหญ่ ซึ่งข้าวโพดและผงกล้วยดิบ

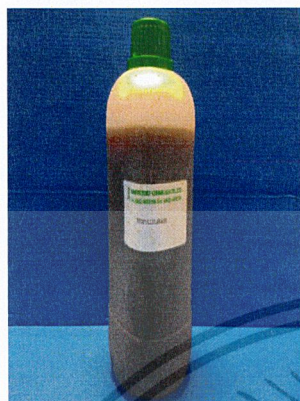


รูปที่ 3.11 Alpha amylase บริษัท
Siam victory chemicals

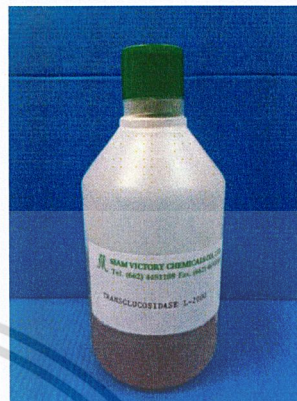


รูปที่ 3.12 Beta amylase บริษัท
Siam victory chemicals

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



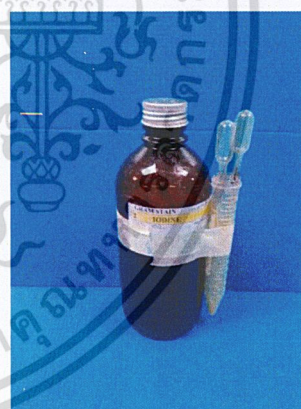
รูปที่ 3.13 Pullulanase บริษัท
Siam victory chemicals



รูปที่ 3.14 Transglucosidase บริษัท
Siam victory chemicals

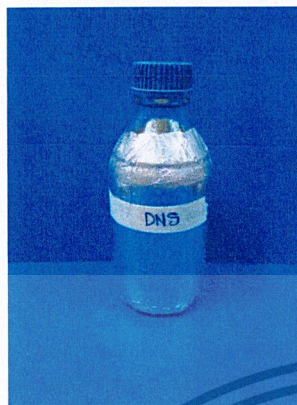


รูปที่ 3.15 Mananase บริษัท Amano

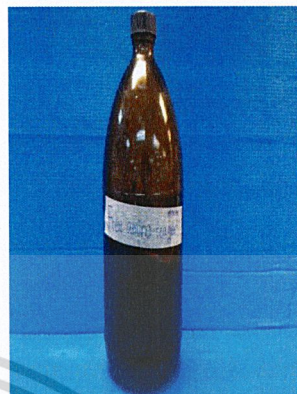


รูปที่ 3.16 Iodine

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



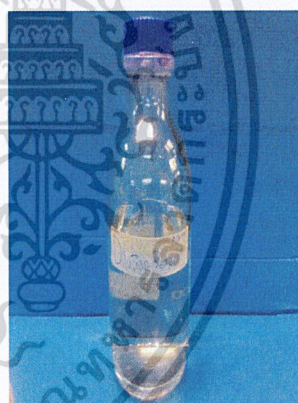
รูปที่ 3.17 DNS
(Dinitrosalicylic acid)



รูปที่ 3.18 Free Amino Nitrogen
Colour reagent



รูปที่ 3.19 Ammonium acetate buffer



รูปที่ 3.20 Dilution reagent

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ
ตารางแสดงข้อมูลดิบ

ตารางที่ 1 ค่า log CFU/ml ของ *E. coli* TISTR 887 ที่ 0 ชั่วโมง

ตารางที่ 2 ค่า log CFU/ml ของ *E. faecalis* FM 7-6 ที่ 0 ชั่วโมง

ลำดับ	ชนิด	ค่าเฉลี่ยเชื้อ <i>E. coli</i> TISTR 887	ระดับ ความ เจือจาง	CFU/ml	log CFU/ml
1	เผือก	8	10^{-4}	4×10^6	6.60206
2	แห้ว	8.67	10^{-4}	4.335×10^6	6.636989
3	บัวหิมะ	19	10^{-4}	9.5×10^6	6.977724
4	หอมใหญ่	13	10^{-6}	6.5×10^9	8.812913
5	กระเทียม	4.66	10^{-4}	2.33×10^6	6.367356
6	บุก	115	10^{-6}	5.75×10^{11}	9.759668
7	มันแกว	12	10^{-4}	6×10^6	6.778151
8	กล้วยดิบ	35	10^{-4}	1.75×10^7	7.243038
9	ซัง ข้าวโพด	9.33	10^{-4}	4.665×10^6	6.668852
10	Negative	41	10^{-4}	2.05×10^6	7.311754

ลำดับ	ชนิด	ค่าเฉลี่ยเชื้อ <i>E. faecalis</i> FM 7-6	ระดับ ความ เจือจาง	CFU/ml	log CFU/ml
1	เผือก	27.67	10^{-4}	1.3835×10^7	7.140979
2	แห้ว	28	10^{-4}	1.4×10^7	7.146128
3	บัวหิมะ	16	10^{-4}	8×10^6	6.90309
4	หอมใหญ่	21	10^{-4}	1.05×10^7	7.021189
5	กระเทียม	35	10^{-4}	1.75×10^7	7.243038
6	บุก	7.33	10^{-6}	3.67×10^{10}	8.564074
7	มันแกว	32	10^{-4}	16×10^7	7.20412
8	กล้วยดิบ	14	10^{-4}	7×10^6	6.845098
9	ซัง ข้าวโพด	3	10^{-6}	1.5×10^9	8.176091
10	Negative	4.33	10^{-4}	2.165×10^6	6.335458

ตารางที่ 3 ค่า log CFU/ml ของ *L. fermentum* FM 2.5-6 ที่ 0 ชั่วโมง

ลำดับ	ชนิด	ค่าเฉลี่ยเชื้อ <i>L. fermentum</i> FM 2.5-6	ระดับ ความ เจือจาง	CFU/ml	log CFU/ml
1	เผือก	26	10^{-4}	1.3×10^6	7.113943
2	แห้ว	11.33	10^{-4}	5.665×10^6	6.7532
3	บัวหิมะ	60.33	10^{-2}	3.0165×10^5	5.479503
4	หอมใหญ่	10	10^{-4}	5×10^6	6.69897
5	กระเทียม	22	10^{-4}	1.1×10^6	7.041393
6	บุก	19.66	10^{-4}	9.83×10^{10}	8.992554
7	มันแกว	11	10^{-4}	5.5×10^6	6.740363
8	กล้วยดิบ	74	10^{-2}	3.7×10^5	5.568202
9	ซังข้าวโพด	4	10^{-4}	2×10^6	6.30103
10	Negative	23.66	10^{-4}	1.183×10^7	7.072985

ตารางที่ 4 ค่า log CFU/ml ของ *B. animalis* TISTR 2194 ที่ 0 ชั่วโมง

ลำดับ	ชนิด	ค่าเฉลี่ยเชื้อ <i>B. animalis</i> TISTR 2194	ระดับ ความ เจือจาง	CFU/ml	log CFU/ml
1	เผือก	5	10^{-6}	2.5×10^9	8.39794
2	แห้ว	23	10^{-4}	1.15×10^7	7.060698
3	บัวหิมะ	18	10^{-4}	9×10^6	6.954243
4	หอมใหญ่	19.3	10^{-4}	9.65×10^6	6.984527
5	กระเทียม	7.3	10^{-6}	3.65×10^{10}	8.562293
6	บุก	26.66	10^{-4}	1.333×10^7	7.12483
7	มันแกว	10.33	10^{-4}	5.17×10^{10}	8.71307
8	กล้วยดิบ	6	10^{-6}	3×10^8	8.477121
9	ซังข้าวโพด	13	10^{-4}	6.5×10^6	6.812913
10	Negative	2.67	10^{-6}	1.34×10^{10}	8.125481

ตารางที่ 5 ค่า log CFU/ml ของ *E. coli* TISTR 887 ที่ 24 ชั่วโมง

ลำดับ	ชนิด	ค่าเฉลี่ยเชื้อ <i>E. coli</i> TISTR 887	ระดับ ความ เจือจาง	CFU/ml	log CFU/ml
1	เผือก	9	10^{-6}	4.5×10^9	8.653213
2	แห้ว	8	10^{-6}	4×10^8	8.60206
3	บัวหิมะ	6.3	10^{-6}	3.15×10^{10}	8.498311
4	หอมใหญ่	3.33	10^{-6}	1.67×10^{10}	8.221414
5	กระเทียม	12	10^{-6}	6×10^8	8.778151
6	บุก	10	10^{-6}	5×10^8	8.69897
7	มันแกว	7.33	10^{-6}	3.67×10^{10}	8.564074
8	กล้วยดิบ	8	10^{-6}	4×10^8	8.60206
9	ซังข้าวโพด	0	-	-	-
10	Negative	4.33	10^{-6}	2.17×10^{10}	8.335458

ตารางที่ 6 ค่า log CFU/ml ของ *E. faecalis* FM 7-6 ที่ 24 ชั่วโมง

ลำดับ	ชนิด	ค่าเฉลี่ยเชื้อ <i>E. faecalis</i> FM 7-6	ระดับ ความ เจือจาง	CFU/ml	log CFU/ml
1	เผือก	5	10^{-12}	2.5×10^{15}	14.39794
2	แห้ว	6	10^{-10}	3×10^{12}	12.47712
3	บัวหิมะ	3	10^{-10}	1.5×10^{13}	12.17609
4	หอมใหญ่	0.66	10^{-6}	3.3×10^7	7.518514
5	กระเทียม	19	10^{-6}	9.5×10^9	8.977724
6	บุก	3.5	10^{-10}	1.75×10^{14}	12.24304
7	มันแกว	22.66	10^{-6}	1.13×10^{11}	9.05423
8	กล้วยดิบ	3	10^{-8}	1.5×10^{11}	10.17609
9	ซังข้าวโพด	7	10^{-6}	3.5×10^9	8.544068
10	Negative	14	10^{-6}	7×10^8	8.845098

ตารางที่ 7 ค่า log CFU/ml ของ *L. fermentum* FM 2.5-6 ที่ 24 ชั่วโมง

ลำดับ	ชนิด	ค่าเฉลี่ยเชื้อ <i>L. fermentum</i> FM 2.5-6	ระดับ ความ เจือจาง	CFU/ml	log CFU/ml
1	เปลือก	16	10^{-8}	8×10^{10}	10.90309
2	แห้ว	3	10^{-8}	1.5×10^{11}	10.17609
3	บัวหิมะ	3	10^{-8}	1.5×10^{11}	10.17609
4	หอมใหญ่	44.33	10^{-6}	2.22×10^{11}	9.345668
5	กระเทียม	7	10^{-8}	3.5×10^{11}	10.54407
6	บุก	33	10^{-12}	1.65×10^{17}	15.21748
7	มันแกว	38	10^{-6}	1.9×10^{10}	9.278754
8	กล้วยดิบ	18.67	10^{-6}	9.34×10^{10}	8.970114
9	ซังข้าวโพด	6	10^{-6}	3×10^8	8.477121
10	Negative	4.33	10^{-6}	2.17×10^{10}	8.335458

ตารางที่ 8 ค่า log CFU/ml ของ *B. animalis* TISTR 2194 ที่ 24 ชั่วโมง

ลำดับ	ชนิด	ค่าเฉลี่ยเชื้อ <i>B. animalis</i> TISTR 2194	ระดับ ความ เจือจาง	CFU/ml	log CFU/ml
1	เปลือก	4	10^{-10}	2×10^{12}	12.30103
2	แห้ว	14.33	10^{-6}	7.17×10^{10}	8.855216
3	บัวหิมะ	10.3	10^{-6}	5.15×10^{10}	8.711807
4	หอมใหญ่	6	10^{-10}	3×10^{12}	12.47712
5	กระเทียม	16	10^{-6}	8×10^8	8.90309
6	บุก	69	10^{-12}	3.45×10^{17}	15.53782
7	มันแกว	9	10^{-6}	4.5×10^9	8.653213
8	กล้วยดิบ	34.66	10^{-6}	1.73×10^{11}	9.238799
9	ซังข้าวโพด	13	10^{-6}	6.5×10^9	8.812913
10	Negative	154	10^{-12}	7.7×10^{16}	15.88649

ตารางที่ 9 แสดงค่าการเจริญของเชื้อ *E. coli* TISTR 887, *E. faecalis* FM 7-6 , *L. fermentum* FM 2.5-6 และ *B. animalis* TISTR 2194

ลำดับ	ชนิด	ค่าการเจริญของเชื้อ			
		<i>E. coli</i> TISTR 887	<i>E. faecalis</i> FM 7-6	<i>L. fermentum</i> FM 2.5-6	<i>B. animalis</i> TISTR 2194
1	เปลือก	2.051153	7.256960845	3.789147	3.90309
2	แห้ว	1.965071	5.330993219	3.422891	1.794518
3	บัวหิมะ	1.520587	5.273001272	4.696588	1.757565
4	หอมใหญ่	-0.5915	0.497324641	2.646698	5.492594
5	กระเทียม	2.410795	1.734685557	3.502675	0.340797
6	บุก	-1.0607	3.67896407	6.22493	8.412989
7	มันแกว	1.785923	1.850109927	2.538391	-0.05986
8	กล้วยดิบ	1.359022	3.330993219	3.401913	0.761677
9	ซังข้าวโพด	-6.66885	0.367976785	2.176091	2
10	Negative	1.023704	2.509640139	1.262473	7.761009

ตารางที่ 10 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 540 นาโนเมตรและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในการผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแป้งมันสำปะหลังโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้า

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	Dilution	ค่าเฉลี่ย* Dilution	Slope glucose	ปริมาณน้ำตาล glucose (mg/ml)	Slope Maltose	ปริมาณน้ำตาล Maltose (mg/ml)
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ 3							
0 h	0.092	0.098	0.09	0.093333	1	0.093333	0.127	0.734908	1	0.093333
Alpha	0.6714	0.7056	0.7718	0.716267	100	71.62667	0.127	563.9895	1	71.62667
Beta	0.5805	0.3112	0.2769	0.389533	400	155.8133	0.127	1226.877	1	155.8133
6 h	0.8844	0.8265	0.8756	0.862167	100	86.21667	0.127	678.8714	1	86.21667
12h	0.6942	0.6695	0.7499	0.704533	100	70.45333	0.127	554.7507	1	70.45333
18h	0.8068	0.6624	0.9181	0.795767	100	79.57667	0.127	626.5879	1	79.57667
24h	0.802	0.8465	0.801	0.8165	100	81.65	0.127	642.9134	1	81.65
30h	0.8098	0.9506	0.7667	0.842367	100	84.23667	0.127	663.2808	1	84.23667
36h	0.9097	0.8891	0.8031	0.8673	100	86.73	0.127	682.9134	1	86.73
42h	0.8068	0.8919	0.7525	0.817067	100	81.70667	0.127	643.3596	1	81.70667

ตารางที่ 11 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 540 นาโนเมตรและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในการผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแป้งข้าวเจ้าโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้า

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	Dilution	ค่าเฉลี่ย* Dilution	Slope glucose	ปริมาณน้ำตาล glucose (mg/ml)	Slope Maltose	ปริมาณน้ำตาล Maltose (mg/ml)
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ 3							
0 h	0.1571	0.1643	0.164	0.1618	1	0.1618	0.127	1.274016	1	0.1618
Alpha	0.8921	0.848	0.839	0.8597	100	85.97	0.127	676.9291	1	85.97
Beta	0.9536	0.7968	0.9273	0.892567	100	89.25667	0.127	702.8084	1	89.25667
6 h	0.8935	0.987	0.8537	0.9114	100	91.14	0.127	717.6378	1	91.14
12h	0.7373	0.6841	0.6366	0.686	100	68.6	0.127	540.1575	1	68.6
18h	0.5578	0.6598	0.7684	0.662	100	66.2	0.127	521.2598	1	66.2
24h	0.8781	0.8455	0.8549	0.8595	100	85.95	0.127	676.7717	1	85.95
30h	0.5635	0.5289	0.6635	0.5853	400	234.12	0.127	1843.465	1	234.12
36h	0.3893	0.5426	0.4614	0.464433	400	185.7733	0.127	1462.782	1	185.7733
42h	0.7412	0.6432	0.6109	0.6651	400	266.04	0.127	2094.803	1	266.04

ตารางที่ 12 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 540 นาโนเมตรและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในการผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแป้งข้าวเหนียวโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้า

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	Dilution	ค่าเฉลี่ย* Dilution	Slope glucose	ปริมาณน้ำตาล glucose (mg/ml)	Slope Maltose	ปริมาณน้ำตาล Maltose (mg/ml)
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3							
0 h	0.4319	0.4408	0.4322	0.434967	1	0.434967	0.127	3.424934	1	0.434967
Alpha	0.8214	0.6898	0.7586	0.7566	100	75.66	0.127	595.748	1	75.66
Beta	0.7672	0.8612	0.8216	0.816667	100	81.66667	0.127	643.0446	1	81.66667
6 h	0.8313	0.6931	0.7827	0.769033	100	76.90333	0.127	605.5381	1	76.90333
12h	0.6676	0.6769	0.6791	0.674533	100	67.45333	0.127	531.1286	1	67.45333
18h	0.6342	0.6009	0.6527	0.629267	100	62.92667	0.127	495.4856	1	62.92667
24h	0.7317	0.6975	0.6789	0.7027	100	70.27	0.127	553.3071	1	70.27
30h	0.7492	0.9775	0.7908	0.839167	100	83.91667	0.127	660.7612	1	83.91667
36h	0.8688	0.9521	0.7782	0.866367	100	86.63667	0.127	682.1785	1	86.63667
42h	0.7803	0.909	0.7626	0.8173	100	81.73	0.127	643.5433	1	81.73

ตารางที่ 13 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 540 นาโนเมตรและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในการผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแป้งสาลีโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้า

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	Dilution	ค่าเฉลี่ย* Dilution	Slope glucose	ปริมาณน้ำตาล glucose (mg/ml)	Slope Maltose	ปริมาณน้ำตาล Maltose (mg/ml)
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3							
0 h	0.5211	0.503	0.4755	0.499867	10	4.998667	0.127	39.35958	1	4.998667
Alpha	0.529	0.5027	0.5364	0.5227	400	209.08	0.127	1646.299	1	209.08
Beta	0.9392	0.7672	0.8966	0.867667	100	86.76667	0.127	683.2021	1	86.76667
6 h	0.8558	0.7754	0.8958	0.842333	100	84.23333	0.127	663.2546	1	84.23333
12h	0.7118	0.7148	0.7254	0.717333	100	71.73333	0.127	564.8294	1	71.73333
18h	0.7901	0.8342	0.776	0.8001	100	80.01	0.127	630	1	80.01
24h	0.6646	0.6743	0.7338	0.6909	100	69.09	0.127	544.0157	1	69.09
30h	0.8276	0.9581	0.7737	0.853133	100	85.31333	0.127	671.7585	1	85.31333
36h	0.8769	0.9186	0.7208	0.838767	100	83.87667	0.127	660.4462	1	83.87667
42h	0.8777	0.9471	0.7773	0.867367	100	86.73667	0.127	682.9659	1	86.73667

ตารางที่ 14 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 540 นาโนเมตรและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในการผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแป้งกล้วยโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้า

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	Dilution	ค่าเฉลี่ย* Dilution	Slope glucose	ปริมาณน้ำตาล glucose (mg/ml)	Slope Maltose	ปริมาณน้ำตาล Maltose (mg/ml)
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ 3							
0 h	0.595	0.6027	0.6378	0.611833	40	24.47333	0.127	192.7034	1	24.47333
Alpha	0.6425	0.5868	0.5958	0.608367	100	60.83667	0.127	479.0289	1	60.83667
Beta	0.6838	0.5695	0.554	0.602433	100	60.24333	0.127	474.357	1	60.24333
6 h	0.4934	0.5351	0.5309	0.5198	100	51.98	0.127	409.2913	1	51.98
12h	0.5421	0.4895	0.5851	0.5389	100	53.89	0.127	424.3307	1	53.89
18h	0.5255	0.5154	0.4816	0.5075	100	50.75	0.127	399.6063	1	50.75
24h	0.5199	0.5563	0.5196	0.531933	100	53.19333	0.127	418.8451	1	53.19333
30h	0.3434	0.4737	0.5178	0.444967	100	44.49667	0.127	350.3675	1	44.49667
36h	0.4152	0.505	0.4191	0.446433	100	44.64333	0.127	351.5223	1	44.64333
42h	0.5781	0.6278	0.4191	0.541667	100	54.16667	0.127	426.5092	1	54.16667

ตารางที่ 15 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 540 นาโนเมตรและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในการผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแป้งข้าวโพดโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้า

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	Dilution	ค่าเฉลี่ย* Dilution	Slope glucose	ปริมาณน้ำตาล glucose (mg/ml)	Slope Maltose	ปริมาณน้ำตาล Maltose (mg/ml)
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ 3							
0 h	0.1565	0.1587	0.1496	0.154933	20	3.098667	0.127	24.39895	1	3.098667
Alpha	0.2027	0.1737	0.2016	0.192667	300	57.8	0.127	455.1181	1	57.8
Beta	0.2247	0.2487	0.2354	0.236267	300	70.88	0.127	558.1102	1	70.88
6 h	0.1982	0.2181	0.2404	0.2189	300	65.67	0.127	517.0866	1	65.67
12h	0.1713	0.2182	0.2247	0.204733	300	61.42	0.127	483.622	1	61.42
18h	0.1715	0.1796	0.1996	0.183567	300	55.07	0.127	433.622	1	55.07
24h	0.1144	0.137	0.142	0.131133	300	39.34	0.127	309.7638	1	39.34
30h	0.1714	0.1749	0.2048	0.1837	300	55.11	0.127	433.937	1	55.11
36h	0.1696	0.1433	0.2031	0.172	300	51.6	0.127	406.2992	1	51.6
42h	0.1769	0.1788	0.19	0.1819	300	54.57	0.127	429.685	1	54.57

ตารางที่ 16 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 540 นาโนเมตรและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในการผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแป้งมันสำปะหลังโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้า(เพิ่มเอนไซม์พุลูลานเนส)

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	Dilution	ค่าเฉลี่ย* Dilution	Slope glucose	ปริมาณน้ำตาล glucose (mg/ml)	Slope Maltose	ปริมาณน้ำตาล Maltose (mg/ml)
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ 3							
0 h	0.2808	0.188	0.1809	0.216567	1	0.216567	0.117	1.850997	0.124	1.746505
Alpha	0.1532	0.1738	0.1295	0.152167	300	45.65	0.117	390.1709	0.124	368.1452
Beta	0.2057	0.2341	0.2346	0.2248	300	67.44	0.117	576.4103	0.124	543.871
6 h	0.2058	0.2381	0.2713	0.2384	300	71.52	0.117	611.2821	0.124	576.7742
12h	0.2291	0.2471	0.2653	0.247167	300	74.15	0.117	633.7607	0.124	597.9839
18h	0.2032	0.2216	0.2469	0.2239	300	67.17	0.117	574.1026	0.124	541.6935
24h	0.1285	0.1902	0.2142	0.177633	300	53.29	0.117	455.4701	0.124	429.7581
30h	0.2008	0.1934	0.2468	0.213667	300	64.1	0.117	547.8632	0.124	516.9355
36h	0.1579	0.1753	0.182	0.171733	300	51.52	0.117	440.3419	0.124	415.4839
42h	0.2188	0.2079	0.2228	0.2165	300	64.95	0.117	555.1282	0.124	523.7903

ตารางที่ 17 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 540 นาโนเมตรและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในการผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแป้งข้าวเจ้าโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้า (เพิ่มเอนไซม์พูลูลานเนส)

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	Dilution	ค่าเฉลี่ย*	Slope glucose	ปริมาณน้ำตาล glucose (mg/ml)	Slope	ปริมาณน้ำตาล Maltose (mg/ml)
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ 3							
0 h	0.6504	0.515	0.4761	0.547167	30	16.415	0.117	140.2991	0.124	132.379
Alpha	0.1719	0.1806	0.158	0.170167	300	51.05	0.117	436.3248	0.124	411.6935
Beta	0.209	0.1504	0.1847	0.181367	300	54.41	0.117	465.0427	0.124	438.7903
6 h	0.1661	0.1791	0.1533	0.166167	300	49.85	0.117	426.0684	0.124	402.0161
12h	0.1296	0.1512	0.1549	0.145233	300	43.57	0.117	372.3932	0.124	351.371
18h	0.1633	0.1852	0.204	0.184167	300	55.25	0.117	472.2222	0.124	445.5645
24h	0.1369	0.1151	0.1284	0.1268	300	38.04	0.117	325.1282	0.124	306.7742
30h	0.1181	0.118	0.1568	0.130967	300	39.29	0.117	335.812	0.124	316.8548
36h	0.1035	0.1046	0.1257	0.111267	300	33.38	0.117	285.2991	0.124	269.1935
42h	0.1392	0.1487	0.1618	0.1499	300	44.97	0.117	384.359	0.124	362.6613

ตารางที่ 18 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 540 นาโนเมตรและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในการผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแป้งข้าวเหนียวโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้า (เพิ่มเอนไซม์ฟูลูกลานอส)

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	Dilution	ค่าเฉลี่ย* Dilution	Slope glucose	ปริมาณน้ำตาล glucose (mg/ml)	Slope Maltose	ปริมาณน้ำตาล Maltose (mg/ml)
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ 3							
0 h	0.6648	0.4602	0.4703	0.531767	30	15.953	0.117	136.3504	0.124	128.6532
Alpha	0.1783	0.172	0.1645	0.1716	200	34.32	0.117	293.3333	0.124	276.7742
Beta	0.1575	0.1631	0.1551	0.158567	200	31.71333	0.117	271.0541	0.124	255.7527
6 h	0.1499	0.1433	0.1041	0.132433	200	26.48667	0.117	226.3818	0.124	213.6022
12h	0.1754	0.1694	0.1623	0.169033	200	33.80667	0.117	288.9459	0.124	272.6344
18h	0.1725	0.1821	0.1841	0.179567	200	35.91333	0.117	306.9516	0.124	289.6237
24h	0.1718	0.1748	0.159	0.168533	200	33.70667	0.117	288.0912	0.124	271.828
30h	0.1503	0.1535	0.1388	0.147533	200	29.50667	0.117	252.1937	0.124	237.957
36h	0.1877	0.1884	0.1871	0.187733	200	37.54667	0.117	320.9117	0.124	302.7957
42h	0.1886	0.1791	0.1762	0.1813	200	36.26	0.117	309.9145	0.124	292.4194

ตารางที่ 19 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 540 นาโนเมตรและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในการผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จากสาเกโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้า (เพิ่มเอนไซม์พุลูลานาส)

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	Dilution	ค่าเฉลี่ย* Dilution	Slope glucose	ปริมาณน้ำตาล glucose (mg/ml)	Slope Maltose	ปริมาณน้ำตาล Maltose (mg/ml)
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ 3							
0 h	0.4883	0.4503	0.4483	0.4623	30	13.869	0.117	118.5385	0.124	111.8468
Alpha	0.1541	0.1308	0.1532	0.146033	300	43.81	0.117	374.4444	0.124	353.3065
Beta	0.1575	0.1487	0.1698	0.158667	300	47.6	0.117	406.8376	0.124	383.871
6 h	0.1232	0.1359	0.1374	0.132167	300	39.65	0.117	338.8889	0.124	319.7581
12h	0.1765	0.1893	0.2122	0.192667	300	57.8	0.117	494.0171	0.124	466.129
18h	0.1037	0.1241	0.1261	0.117967	300	35.39	0.117	302.4786	0.124	285.4032
24h	0.6816	0.6316	0.6	0.637733	100	63.77333	0.117	545.0712	0.124	514.3011
30h	0.1284	0.1413	0.1586	0.142767	300	42.83	0.117	366.0684	0.124	345.4032
36h	0.183	0.1368	0.1266	0.1488	300	44.64	0.117	381.5385	0.124	360
42h	0.1277	0.1487	0.1304	0.1356	300	40.68	0.117	347.6923	0.124	328.0645

ตารางที่ 20 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 540 นาโนเมตรและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในการผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแป้งกล้วยดิบโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้า (เพิ่มเอนไซม์พุลูลาเนส)

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	Dilution	ค่าเฉลี่ย* Dilution	Slope glucose	ปริมาณน้ำตาล glucose (mg/ml)	Slope Maltose	ปริมาณน้ำตาล Maltose (mg/ml)
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ 3							
0 h	0.3853	0.3817	0.3328	0.3666	40	14.664	0.117	125.3333	0.124	118.2581
Alpha	0.73	0.7408	0.9412	0.804	100	80.4	0.117	687.1795	0.124	648.3871
Beta	0.6984	0.7525	0.9732	0.808033	100	80.80333	0.117	690.6268	0.124	651.6398
6 h	0.778	0.7943	0.9888	0.8537	100	85.37	0.117	729.6581	0.124	688.4677
12h	0.6348	0.6478	0.9077	0.7301	100	73.01	0.117	624.0171	0.124	588.7903
18h	0.6851	0.7026	0.9164	0.768033	100	76.80333	0.117	656.4387	0.124	619.3817
24h	0.6957	0.7158	0.9217	0.777733	100	77.77333	0.117	664.7293	0.124	627.2043
30h	0.7046	0.7208	0.9385	0.787967	100	78.79667	0.117	673.4758	0.124	635.457
36h	0.6009	0.622	0.8056	0.676167	100	67.61667	0.117	577.9202	0.124	545.2957
42h	0.7175	0.7189	0.9359	0.790767	100	79.07667	0.117	675.8689	0.124	637.7151

ตารางที่ 21 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 540 นาโนเมตรและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในการผลิตไอโซมอลโทโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแป้งข้าวโพดโดยการย่อยด้วยเอนไซม์ทางการค้า (เพิ่มเอนไซม์พูลูลานเนส)

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	Dilution	ค่าเฉลี่ย* Dilution	Slope glucose	ปริมาณน้ำตาล glucose (mg/ml)	Slope Maltose	ปริมาณน้ำตาล Maltose (mg/ml)
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3							
0 h	0.282	0.2985	0.3069	0.2958	1	0.2958	0.117	2.528205	0.124	2.385484
Alpha	0.1471	0.1717	0.1511	0.156633	300	46.99	0.117	401.6239	0.124	378.9516
Beta	0.1712	0.1803	0.1801	0.1772	300	53.16	0.117	454.359	0.124	428.7097
6 h	0.1635	0.1402	0.1684	0.157367	300	47.21	0.117	403.5043	0.124	380.7258
12h	0.1137	0.1555	0.1603	0.143167	300	42.95	0.117	367.094	0.124	346.371
18h	0.1739	0.1752	0.172	0.1737	300	52.11	0.117	445.3846	0.124	420.2419
24h	0.1586	0.1851	0.1865	0.176733	300	53.02	0.117	453.1624	0.124	427.5806
30h	0.2066	0.1869	0.1897	0.1944	300	58.32	0.117	498.4615	0.124	470.3226
36h	0.1792	0.2027	0.204	0.1953	300	58.59	0.117	500.7692	0.124	472.5
42h	0.1572	0.1956	0.2041	0.185633	300	55.69	0.117	475.9829	0.124	449.1129

ตารางที่ 22 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 540 นาโนเมตรและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในการผลิตพรีไบโอติกจากบุกผง A

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	Dilution	ค่าเฉลี่ย* Dilution	Slope glucose	ปริมาณน้ำตาล glucose (mg/ml)	Slope Maltose	ปริมาณน้ำตาล Mannose (mg/ml)
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ 3							
0 h	0.1	0.1056	0.136	0.113867	10	1.138667	0.127	8.965879	1.0024	1.13594
1h	0.1352	0.127	0.1167	0.1263	10	1.263	0.127	9.944882	1.0024	1.259976
2h	0.1336	0.1265	0.1067	0.122267	10	1.222667	0.127	9.627297	1.0024	1.219739
3h	0.1103	0.1215	0.1075	0.1131	10	1.131	0.127	8.905512	1.0024	1.128292
4h	0.123	0.1183	0.1072	0.116167	10	1.161667	0.127	9.146982	1.0024	1.158885
5h	0.1352	0.1295	0.1233	0.129333	10	1.293333	0.127	10.18373	1.0024	1.290237
6h	0.1398	0.1284	0.1265	0.131567	10	1.315667	0.127	10.35958	1.0024	1.312517
9h	0.1348	0.1235	0.1213	0.126533	10	1.265333	0.127	9.963255	1.0024	1.262304
12h	0.1272	0.1343	0.1065	0.122667	10	1.226667	0.127	9.658793	1.0024	1.22373
18h	0.1272	0.1239	0.119	0.123367	10	1.233667	0.127	9.713911	1.0024	1.230713
24h	0.1276	0.1276	0.1091	0.121433	10	1.214333	0.127	9.56168	1.0024	1.211426
30h	0.1373	0.1324	0.1172	0.128967	10	1.289667	0.127	10.15486	1.0024	1.286579
42h	0.1261	0.1342	0.1247	0.128333	10	1.283333	0.127	10.10499	1.0024	1.280261
48h	0.1345	0.1337	0.1167	0.1283	10	1.283	0.127	10.10236	1.0024	1.279928

ตารางที่ 23 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 540 นาโนเมตรและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในการผลิตพรีไบโอติกจากบุกผง B

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	Dilution	ค่าเฉลี่ย*	Slope glucose	ปริมาณน้ำตาล glucose (mg/ml)	Slope Maltose	ปริมาณน้ำตาล Mannose (mg/ml)
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ 3							
0 h	0.1301	0.1336	0.1091	0.124267	10	1.242667	0.127	9.784777	1.0024	1.239691
1h	0.1456	0.1298	0.1167	0.1307	10	1.307	0.127	10.29134	1.0024	1.303871
2h	0.1434	0.1252	0.1254	0.131333	10	1.313333	0.127	10.34121	1.0024	1.310189
3h	0.1456	0.1289	0.1268	0.133767	10	1.337667	0.127	10.53281	1.0024	1.334464
4h	0.1338	0.1254	0.1295	0.129567	10	1.295667	0.127	10.2021	1.0024	1.292565
5h	0.149	0.1239	0.1195	0.1308	10	1.308	0.127	10.29921	1.0024	1.304868
6h	0.1436	0.1142	0.1126	0.123467	10	1.234667	0.127	9.721785	1.0024	1.231711
9h	0.1378	0.1269	0.1246	0.129767	10	1.297667	0.127	10.21785	1.0024	1.29456
12h	0.1429	0.1347	0.1136	0.1304	10	1.304	0.127	10.26772	1.0024	1.300878
18h	0.1409	0.1314	0.1141	0.1288	10	1.288	0.127	10.14173	1.0024	1.284916
24h	0.1491	0.1199	0.1302	0.133067	10	1.330667	0.127	10.47769	1.0024	1.327481
30h	0.149	0.0919	0.1	0.113633	10	1.136333	0.127	8.947507	1.0024	1.133613
42h	0.001	0.0047	0.0033	0.003	10	0.03	0.127	0.23622	1.0024	0.029928
48h	0	0.001	0.0004	0.000467	10	0.004667	0.127	0.036745	1.0024	0.004655

ตารางที่ 24 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 540 นาโนเมตรและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในการผลิตพรีไบโอติกจากกากมะพร้าว

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	Dilution	ค่าเฉลี่ย* Dilution	Slope glucose	ปริมาณน้ำตาล glucose (mg/ml)	Slope Maltose	ปริมาณน้ำตาล Mannose (mg/ml)
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ 3							
0 h	0.006	0.0056	0.0024	0.004667	5	0.023333	0.127	0.183727	1.0024	0.023277
0ENZ	0.1955	0.2145	0.2198	0.209933	5	1.049667	0.127	8.265092	1.0024	1.047153
1h	0.6032	0.6469	0.6751	0.641733	5	3.208667	0.127	25.26509	1.0024	3.200984
2h	0.6761	0.7224	0.69	0.696167	5	3.480833	0.127	27.40814	1.0024	3.472499
3h	0.6893	0.7574	0.7573	0.734667	5	3.673333	0.127	28.92388	1.0024	3.664538
4h	0.7015	0.7802	0.7653	0.749	5	3.745	0.127	29.48819	1.0024	3.736034
5h	0.7085	0.7974	0.7968	0.767567	5	3.837833	0.127	30.21916	1.0024	3.828645
6h	0.7195	0.8199	0.7525	0.763967	5	3.819833	0.127	30.07743	1.0024	3.810688
9h	0.7476	0.8362	0.7478	0.7772	5	3.886	0.127	30.59843	1.0024	3.876696
12h	0.7399	0.7726	0.8134	0.7753	5	3.8765	0.127	30.52362	1.0024	3.867219
18h	0.7486	0.7881	0.7615	0.766067	5	3.830333	0.127	30.1601	1.0024	3.821163
24h	0.7199	0.8183	0.7477	0.761967	5	3.809833	0.127	29.99869	1.0024	3.800712
30h	0.6991	0.726	0.7199	0.715	5	3.575	0.127	28.14961	1.0024	3.566441
32h	0.619	0.6865	0.6468	0.650767	5	3.253833	0.127	25.62073	1.0024	3.246043
45h	0.3616	0.4178	0.3706	0.383333	5	1.916667	0.127	15.09186	1.0024	1.912078
48h	0.3345	0.3793	0.3783	0.364033	5	1.820167	0.127	14.33202	1.0024	1.815809
52h	0.2939	0.3237	0.3178	0.3118	5	1.559	0.127	12.27559	1.0024	1.555267
72h	0.2211	0.2284	0.2825	0.244	5	1.22	0.127	9.606299	1.0024	1.217079

ตารางที่ 25 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 570 นาโนเมตรและปริมาณ Free amino nitrogen ในการผลิตพรีไบโอติกจากบุงผง A

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	dilution	conc.Std	OD Standard	FAN
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3					
0 h	0.366	0.4422	0.5211	0.4431	100	2	0.480333	184.497
1h	0.2968	0.3495	0.5243	0.3902	100	2	0.480333	162.4706
2h	0.4214	0.4702	0.7838	0.558467	100	2	0.480333	232.5331
3h	0.4035	0.4681	0.8343	0.568633	100	2	0.480333	236.7663
4h	0.5173	0.4686	0.7177	0.567867	100	2	0.480333	236.4471
5h	0.4554	0.4052	0.8874	0.582667	100	2	0.480333	242.6095
6h	0.405	0.4893	0.5236	0.472633	100	2	0.480333	196.794
9h	0.3793	0.4435	0.6273	0.483367	100	2	0.480333	201.2632
12h	0.489	0.4768	0.5239	0.496567	100	2	0.480333	206.7593
18h	0.3479	0.4622	0.6414	0.483833	100	2	0.480333	201.4575
24h	0.3327	0.6256	0.6169	0.525067	100	2	0.480333	218.6261
30h	0.4146	0.9257	0.5247	0.621667	100	2	0.480333	258.8482
42h	0.5451	0.6327	0.5648	0.580867	100	2	0.480333	241.86
48h	0.3841	0.5063	0.5234	0.471267	100	2	0.480333	196.225

ตารางที่ 26 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 570 นาโนเมตรและปริมาณ Free amino nitrogen ในการผลิตพรีไบโอติกจากบุงผง B

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	dilution	conc.Std	OD Standard	FAN
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ 3					
0 h	0.277	0.293	0.265	0.278333	100	2	0.480333	115.8918
1h	0.293	0.272	0.287	0.284	100	2	0.480333	118.2513
2h	0.319	0.256	0.258	0.277667	100	2	0.480333	115.6142
3h	0.328	0.258	0.262	0.282667	100	2	0.480333	117.6961
4h	0.269	0.251	0.242	0.254	100	2	0.480333	105.76
5h	0.304	0.3	0.259	0.287667	100	2	0.480333	119.778
6h	0.267	0.263	0.257	0.262333	100	2	0.480333	109.2298
9h	0.317	0.288	0.219	0.274667	100	2	0.480333	114.3651
12h	0.296	0.285	0.263	0.281333	100	2	0.480333	117.141
18h	0.288	0.282	0.267	0.279	100	2	0.480333	116.1694
24h	0.294	0.262	0.253	0.269667	100	2	0.480333	112.2832
30h	0.248	0.245	0.239	0.244	100	2	0.480333	101.5962
42h	0.257	0.225	0.219	0.233667	100	2	0.480333	97.29361
48h	0.239	0.225	0.237	0.233667	100	2	0.480333	97.29361

ตารางที่ 27 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 570 นาโนเมตรและปริมาณ Free amino nitrogen ในการผลิตพรีไบโอติกจากกากมะพร้าว

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	dilution	conc.Std	OD Standard	FAN
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ 3					
0 h	0.277	0.293	0.265	0.278333	100	2	0.480333	115.8918
1h	0.293	0.272	0.287	0.284	100	2	0.480333	118.2513
2h	0.319	0.256	0.258	0.277667	100	2	0.480333	115.6142
3h	0.328	0.258	0.262	0.282667	100	2	0.480333	117.6961
4h	0.269	0.251	0.242	0.254	100	2	0.480333	105.76
5h	0.304	0.3	0.259	0.287667	100	2	0.480333	119.778
6h	0.267	0.263	0.257	0.262333	100	2	0.480333	109.2298
9h	0.317	0.288	0.219	0.274667	100	2	0.480333	114.3651
12h	0.296	0.285	0.263	0.281333	100	2	0.480333	117.141
18h	0.288	0.282	0.267	0.279	100	2	0.480333	116.1694
24h	0.294	0.262	0.253	0.269667	100	2	0.480333	112.2832
30h	0.248	0.245	0.239	0.244	100	2	0.480333	101.5962
42h	0.257	0.225	0.219	0.233667	100	2	0.480333	97.29361
48h	0.239	0.225	0.237	0.233667	100	2	0.480333	97.29361

ตารางที่ 28 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 540 นาโนเมตรและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสที่ร้อยละ 0.5

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	Dilution	ค่าเฉลี่ย* Dilution	Slope glucose	ปริมาณน้ำตาล glucose (mg/ml)	Slope Mannose	ปริมาณน้ำตาล Mannose (mg/ml)
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ 3							
0 h	0.2087	0.2656	0.1958	0.223367	10	2.233667	0.127	17.58793	1.0024	2.228319
0.3 h	0.2169	0.298	0.229	0.247967	10	2.479667	0.127	19.52493	1.0024	2.47373
1 h	0.268	0.338	0.3325	0.312833	10	3.128333	0.127	24.63255	1.0024	3.120843
1.3h	0.2783	0.339	0.329	0.315433	10	3.154333	0.127	24.83727	1.0024	3.146781
2h	0.2682	0.2428	0.3392	0.2834	10	2.834	0.127	22.31496	1.0024	2.827215
2.3h	0.2224	0.2849	0.2853	0.2642	10	2.642	0.127	20.80315	1.0024	2.635674
3h	0.341	0.286	0.2909	0.305967	10	3.059667	0.127	24.09186	1.0024	3.052341
3.3h	0.2655	0.3102	0.3093	0.295	10	2.95	0.127	23.22835	1.0024	2.942937
4h	0.2666	0.3419	0.3439	0.317467	10	3.174667	0.127	24.99738	1.0024	3.167066
4.4h	0.2657	0.3424	0.3344	0.314167	10	3.141667	0.127	24.73753	1.0024	3.134145
5h	0.3234	0.3288	0.2506	0.300933	10	3.009333	0.127	23.69554	1.0024	3.002128
5.3h	0.3354	0.3372	0.2569	0.309833	10	3.098333	0.127	24.39633	1.0024	3.090915
6h	0.5397	0.547	0.4388	0.5085	10	5.085	0.127	40.03937	1.0024	5.072825
6.3h	0.361	0.3521	0.2741	0.329067	10	3.290667	0.127	25.91076	1.0024	3.282788
7h	0.4184	0.4096	0.3215	0.383167	10	3.831667	0.127	30.1706	1.0024	3.822493
7.3h	0.5042	0.4516	0.3859	0.447233	10	4.472333	0.127	35.21522	1.0024	4.461625
8h	0.3517	0.3223	0.2654	0.313133	10	3.131333	0.127	24.65617	1.0024	3.123836
8.3h	0.2749	0.3591	0.2739	0.302633	10	3.026333	0.127	23.8294	1.0024	3.019088
9h	0.2855	0.3664	0.289	0.313633	10	3.136333	0.127	24.69554	1.0024	3.128824
9.3h	0.2735	0.3595	0.2825	0.305167	10	3.051667	0.127	24.02887	1.0024	3.04436
10h	0.2911	0.3207	0.2921	0.3013	10	3.013	0.127	23.72441	1.0024	3.005786

ตารางที่ 29 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 540 นาโนเมตรและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสที่ร้อยละ 1

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	Dilution	ค่าเฉลี่ย*Dilution	Slope glucose	ปริมาณน้ำตาล glucose (mg/ml)	Slope Mannose	ปริมาณน้ำตาล Mannose (mg/ml)
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ 3							
0 h	0.2969	0.287	0.2749	0.286267	10	2.862667	0.127	22.54068	1.0024	2.855813
0.3 h	0.5103	0.4623	0.4621	0.478233	10	4.782333	0.127	37.65617	1.0024	4.770883
1 h	0.3828	0.3675	0.3669	0.3724	10	3.724	0.127	29.32283	1.0024	3.715084
1.3h	0.3766	0.3111	0.3655	0.351067	10	3.510667	0.127	27.64304	1.0024	3.502261
2h	0.3648	0.3677	0.3553	0.3626	10	3.626	0.127	28.55118	1.0024	3.617318
2.3h	0.3894	0.3774	0.3813	0.3827	10	3.827	0.127	30.13386	1.0024	3.817837
3h	0.3774	0.385	0.381	0.381133	10	3.811333	0.127	30.0105	1.0024	3.802208
3.3h	0.4661	0.3551	0.3456	0.388933	10	3.889333	0.127	30.62467	1.0024	3.880021
4h	0.3838	0.3456	0.3864	0.371933	10	3.719333	0.127	29.28609	1.0024	3.710428
4.4h	0.3793	0.3533	0.4308	0.3878	10	3.878	0.127	30.53543	1.0024	3.868715
5h	0.3396	0.3531	0.3212	0.337967	10	3.379667	0.127	26.61155	1.0024	3.371575
5.3h	0.3691	0.379	0.3752	0.374433	10	3.744333	0.127	29.48294	1.0024	3.735368
6h	0.4456	0.4341	0.428	0.4359	10	4.359	0.127	34.32283	1.0024	4.348563
6.3h	0.3448	0.3478	0.3414	0.344667	10	3.446667	0.127	27.13911	1.0024	3.438414
7h	0.3726	0.3911	0.3383	0.367333	10	3.673333	0.127	28.92388	1.0024	3.664538
7.3h	0.3448	0.3403	0.3908	0.358633	10	3.586333	0.127	28.23885	1.0024	3.577747
8h	0.3755	0.397	0.3931	0.388533	10	3.885333	0.127	30.59318	1.0024	3.876031
8.3h	0.3888	0.3839	0.4102	0.3943	10	3.943	0.127	31.04724	1.0024	3.933559
9h	0.3973	0.3455	0.3984	0.3804	10	3.804	0.127	29.95276	1.0024	3.794892
9.3h	0.4055	0.3921	0.4174	0.405	10	4.05	0.127	31.88976	1.0024	4.040303
10h	0.426	0.386	0.3681	0.393367	10	3.933667	0.127	30.97375	1.0024	3.924248

ตารางที่ 30 แสดงค่าการดูดกลืนแสงที่ A 540 นาโนเมตรและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสที่ร้อยละ 2.5

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	Dilution	ค่าเฉลี่ย*Dilution	Slope glucose	ปริมาณน้ำตาล glucose (mg/ml)	Slope Mannose	ปริมาณน้ำตาล Mannose (mg/ml)
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ 3							
0 h	0.3529	0.3169	0.3264	0.332067	10	3.320667	0.127	26.14698	1.0024	3.312716
0.3 h	0.4342	0.4207	0.4167	0.423867	10	4.238667	0.127	33.37533	1.0024	4.228518
1 h	0.4462	0.372	0.4146	0.410933	10	4.109333	0.127	32.35696	1.0024	4.099495
1.3h	0.4335	0.4059	0.3832	0.407533	10	4.075333	0.127	32.08924	1.0024	4.065576
2h	0.4176	0.4068	0.39	0.4048	10	4.048	0.127	31.87402	1.0024	4.038308
2.3h	0.4193	0.4178	0.3871	0.408067	10	4.080667	0.127	32.13123	1.0024	4.070897
3h	0.429	0.4157	0.3964	0.4137	10	4.137	0.127	32.5748	1.0024	4.127095
3.3h	0.3437	0.356	0.3348	0.344833	10	3.448333	0.127	27.15223	1.0024	3.440077
4h	0.4458	0.4394	0.4044	0.429867	10	4.298667	0.127	33.84777	1.0024	4.288375
4.4h	0.4226	0.4186	0.3992	0.413467	10	4.134667	0.127	32.55643	1.0024	4.124767
5h	0.4537	0.4009	0.4758	0.443467	10	4.434667	0.127	34.91864	1.0024	4.424049
5.3h	0.47	0.4218	0.4863	0.459367	10	4.593667	0.127	36.1706	1.0024	4.582668
6h	0.4794	0.4811	0.495	0.485167	10	4.851667	0.127	38.2021	1.0024	4.840051
6.3h	0.4041	0.4041	0.4211	0.409767	10	4.097667	0.127	32.26509	1.0024	4.087856
7h	0.4089	0.4146	0.4584	0.4273	10	4.273	0.127	33.64567	1.0024	4.262769
7.3h	0.4081	0.4019	0.4743	0.4281	10	4.281	0.127	33.70866	1.0024	4.27075
8h	0.4545	0.4334	0.4474	0.4451	10	4.451	0.127	35.04724	1.0024	4.440343
8.3h	0.4405	0.4258	0.4479	0.438067	10	4.380667	0.127	34.49344	1.0024	4.370178
9h	0.4602	0.4368	0.4725	0.4565	10	4.565	0.127	35.94488	1.0024	4.55407
9.3h	0.4244	0.4474	0.5208	0.4642	10	4.642	0.127	36.55118	1.0024	4.630886
10h	0.453	0.4798	0.4596	0.464133	10	4.641333	0.127	36.54593	1.0024	4.630221

ตารางที่ 31 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 540 นาโนเมตรและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสที่ร้อยละ 5

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	Dilution	ค่าเฉลี่ย*Dilution	Slope glucose	ปริมาณน้ำตาล glucose (mg/ml)	Slope Mannose	ปริมาณน้ำตาล Mannose (mg/ml)
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ 3							
0 h	0.2505	0.2613	0.2182	0.243333	10	2.433333	0.127	19.1601	1.0024	2.427507
0.3 h	0.2339	0.2356	0.2318	0.233767	10	2.337667	0.127	18.40682	1.0024	2.33207
1 h	0.253	0.2915	0.2298	0.2581	10	2.581	0.127	20.32283	1.0024	2.57482
1.3h	0.3022	0.2586	0.2146	0.258467	10	2.584667	0.127	20.35171	1.0024	2.578478
2h	0.2755	0.2738	0.1838	0.244367	10	2.443667	0.127	19.24147	1.0024	2.437816
2.3h	0.3305	0.3165	0.2726	0.306533	10	3.065333	0.127	24.13648	1.0024	3.057994
3h	0.3389	0.3255	0.2558	0.306733	10	3.067333	0.127	24.15223	1.0024	3.059989
3.3h	0.3037	0.3286	0.2483	0.293533	10	2.935333	0.127	23.11286	1.0024	2.928305
4h	0.3122	0.3289	0.2205	0.2872	10	2.872	0.127	22.61417	1.0024	2.865124
4.4h	0.286	0.3177	0.24	0.281233	10	2.812333	0.127	22.14436	1.0024	2.8056
5h	0.2751	0.2786	0.2491	0.2676	10	2.676	0.127	21.07087	1.0024	2.669593
5.3h	0.2403	0.1746	0.3026	0.239167	10	2.391667	0.127	18.83202	1.0024	2.38594
6h	0.2845	0.2911	0.2496	0.275067	10	2.750667	0.127	21.65879	1.0024	2.744081
6.3h	0.2956	0.2789	0.2306	0.268367	10	2.683667	0.127	21.13123	1.0024	2.677241
7h	0.2301	0.2042	0.2851	0.2398	10	2.398	0.127	18.88189	1.0024	2.392259
7.3h	0.2831	0.2523	0.2042	0.246533	10	2.465333	0.127	19.41207	1.0024	2.459431
8h	0.3535	0.3279	0.1963	0.292567	10	2.925667	0.127	23.03675	1.0024	2.918662
8.3h	0.3657	0.3284	0.239	0.311033	10	3.110333	0.127	24.49081	1.0024	3.102886
9h	0.3465	0.3308	0.2335	0.3036	10	3.036	0.127	23.90551	1.0024	3.028731
9.3h	0.3471	0.3497	0.2452	0.314	10	3.14	0.127	24.72441	1.0024	3.132482
10h	0.2507	0.2787	0.3076	0.279	10	2.79	0.127	21.9685	1.0024	2.78332

ตารางที่ 32 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 540 นาโนเมตรและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสที่ร้อยละ 10

ชั่วโมง	ค่าOD			ค่าเฉลี่ย	Dilution	ค่าเฉลี่ย*Dilution	Slope glucose	ปริมาณน้ำตาล glucose (mg/ml)	Slope Mannose	ปริมาณน้ำตาล Mannose (mg/ml)
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ 3							
0 h	0.3225	0.3373	0.2606	0.3068	10	3.068	0.127	24.15748	1.0024	3.060654
0.3 h	0.4215	0.4072	0.3589	0.395867	10	3.958667	0.127	31.1706	1.0024	3.949189
1 h	0.3046	0.3691	0.3683	0.347333	10	3.473333	0.127	27.34908	1.0024	3.465017
1.3h	0.3382	0.3451	0.4138	0.3657	10	3.657	0.127	28.79528	1.0024	3.648244
2h	0.3807	0.3956	0.3898	0.3887	10	3.887	0.127	30.6063	1.0024	3.877694
2.3h	0.3917	0.4072	0.3901	0.396333	10	3.963333	0.127	31.20735	1.0024	3.953844
3h	0.4624	0.4612	0.3385	0.4207	10	4.207	0.127	33.12598	1.0024	4.196927
3.3h	0.4905	0.4239	0.3985	0.437633	10	4.376333	0.127	34.45932	1.0024	4.365855
4h	0.3675	0.4647	0.4444	0.425533	10	4.255333	0.127	33.50656	1.0024	4.245145
4.4h	0.5076	0.5159	0.402	0.475167	10	4.751667	0.127	37.4147	1.0024	4.74029
5h	0.3977	0.3551	0.2643	0.339033	10	3.390333	0.127	26.69554	1.0024	3.382216
5.3h	0.4533	0.3893	0.2422	0.3616	10	3.616	0.127	28.47244	1.0024	3.607342
6h	0.4402	0.4493	0.2797	0.389733	10	3.897333	0.127	30.68766	1.0024	3.888002
6.3h	0.3887	0.3696	0.2875	0.3486	10	3.486	0.127	27.44882	1.0024	3.477654
7h	0.4282	0.4151	0.312	0.3851	10	3.851	0.127	30.32283	1.0024	3.84178
7.3h	0.4285	0.4643	0.4262	0.439667	10	4.396667	0.127	34.61942	1.0024	4.38614
8h	0.4306	0.3859	0.43	0.4155	10	4.155	0.127	32.71654	1.0024	4.145052
8.3h	0.4089	0.3857	0.4418	0.412133	10	4.121333	0.127	32.45144	1.0024	4.111466
9h	0.4478	0.5563	0.4127	0.472267	10	4.722667	0.127	37.18635	1.0024	4.711359
9.3h	0.5907	0.4692	0.4277	0.495867	10	4.958667	0.127	39.04462	1.0024	4.946794
10h	0.3009	0.3233	0.3191	0.314433	10	3.144333	0.127	24.75853	1.0024	3.136805

ตารางที่ 33 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 540 นาโนเมตรและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสที่ร้อยละ 15

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	Dilution	ค่าเฉลี่ย* Dilution	Slope glucose	ปริมาณน้ำตาล glucose (mg/ml)	Slope Mannose	ปริมาณน้ำตาล Mannose (mg/ml)
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3							
0 h	0.6971	0.6351	0.6083	0.646833	10	6.468333	0.127	50.93176	1.0024	6.452847
0.3 h	0.6286	0.6286	0.5558	0.604333	10	6.043333	0.127	47.5853	1.0024	6.028864
1 h	0.5885	0.624	0.6472	0.6199	10	6.199	0.127	48.81102	1.0024	6.184158
1.3h	0.6666	0.633	0.6628	0.654133	10	6.541333	0.127	51.50656	1.0024	6.525672
2h	0.6578	0.655	0.7246	0.679133	10	6.791333	0.127	53.47507	1.0024	6.775073
2.3h	0.6513	0.71	0.6899	0.683733	10	6.837333	0.127	53.83727	1.0024	6.820963
3h	0.702	0.693	0.6747	0.6899	10	6.899	0.127	54.32283	1.0024	6.882482
3.3h	0.7231	0.5054	0.6797	0.636067	10	6.360667	0.127	50.08399	1.0024	6.345438
4h	0.7096	0.7836	0.6899	0.7277	10	7.277	0.127	57.29921	1.0024	7.259577
4.4h	0.4469	0.4618	0.4575	0.4554	10	4.554	0.127	35.85827	1.0024	4.543097
5h	0.6852	0.5347	0.5146	0.578167	10	5.781667	0.127	45.52493	1.0024	5.767824
5.3h	0.7158	0.6621	0.6965	0.691467	10	6.914667	0.127	54.44619	1.0024	6.898111
6h	0.6211	0.5756	0.6123	0.603	10	6.03	0.127	47.48031	1.0024	6.015563
6.3h	0.6872	0.6679	0.5017	0.618933	10	6.189333	0.127	48.73491	1.0024	6.174514
7h	0.7321	0.7064	0.5282	0.655567	10	6.555667	0.127	51.61942	1.0024	6.539971
7.3h	0.8025	0.714	0.5302	0.682233	10	6.822333	0.127	53.71916	1.0024	6.805999
8h	0.7595	0.7185	0.5452	0.6744	10	6.744	0.127	53.10236	1.0024	6.727853
8.3h	0.744	0.7229	0.5936	0.686833	10	6.868333	0.127	54.08136	1.0024	6.851889
9h	0.738	0.6852	0.5182	0.647133	10	6.471333	0.127	50.95538	1.0024	6.455839
9.3h	0.6127	0.6381	0.566	0.6056	10	6.056	0.127	47.68504	1.0024	6.0415
10h	0.6677	0.6491	0.538	0.618267	10	6.182667	0.127	48.68241	1.0024	6.167864

ตารางที่ 34 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 540 นาโนเมตรและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสที่ร้อยละ 20

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	Dilution	ค่าเฉลี่ย*Dilution	Slope glucose	ปริมาณน้ำตาล glucose (mg/ml)	Slope Mannose	ปริมาณน้ำตาล Mannose (mg/ml)
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ 3							
0 h	0.5285	0.3179	0.3179	0.3881	10	3.881	0.127	30.55906	1.0024	3.871708
0.3 h	0.5403	0.3134	0.3151	0.3896	10	3.896	0.127	30.67717	1.0024	3.886672
1 h	0.5809	0.3391	0.3314	0.417133	10	4.171333	0.127	32.84514	1.0024	4.161346
1.3h	0.5531	0.3491	0.3487	0.416967	10	4.169667	0.127	32.83202	1.0024	4.159683
2h	0.6225	0.3584	0.354	0.444967	10	4.449667	0.127	35.03675	1.0024	4.439013
2.3h	0.5459	0.3938	0.3851	0.4416	10	4.416	0.127	34.77165	1.0024	4.405427
3h	0.5674	0.3572	0.363	0.4292	10	4.292	0.127	33.79528	1.0024	4.281724
3.3h	0.5441	0.3692	0.3736	0.428967	10	4.289667	0.127	33.7769	1.0024	4.279396
4h	0.51	0.3725	0.3708	0.417767	10	4.177667	0.127	32.89501	1.0024	4.167664
4.4h	0.5484	0.3715	0.3728	0.4309	10	4.309	0.127	33.92913	1.0024	4.298683
5h	0.6521	0.3677	0.3778	0.465867	10	4.658667	0.127	36.68241	1.0024	4.647513
5.3h	0.6431	0.3721	0.3959	0.470367	10	4.703667	0.127	37.03675	1.0024	4.692405
6h	0.4	0.2516	0.3248	0.325467	10	3.254667	0.127	25.6273	1.0024	3.246874
6.3h	0.519	0.3331	0.3344	0.3955	10	3.955	0.127	31.14173	1.0024	3.945531
7h	0.5436	0.3389	0.3504	0.410967	10	4.109667	0.127	32.35958	1.0024	4.099827
7.3h	0.563	0.4065	0.2402	0.403233	10	4.032333	0.127	31.75066	1.0024	4.022679
8h	0.6139	0.3877	0.3912	0.464267	10	4.642667	0.127	36.55643	1.0024	4.631551
8.3h	0.6841	0.3878	0.4017	0.4912	10	4.912	0.127	38.67717	1.0024	4.900239
9h	0.6297	0.4047	0.3902	0.474867	10	4.748667	0.127	37.39108	1.0024	4.737297
9.3h	0.6535	0.3951	0.4453	0.497967	10	4.979667	0.127	39.20997	1.0024	4.967744
10h	0.654	0.496	0.4178	0.5226	10	5.226	0.127	41.14961	1.0024	5.213488

ตารางที่ 35 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 540 นาโนเมตรและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสที่ร้อยละ 25

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	Dilution	ค่าเฉลี่ย* Dilution	Slope glucose	ปริมาณน้ำตาล glucose (mg/ml)	Slope Mannose	ปริมาณน้ำตาล Mannose (mg/ml)
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ 3							
0 h	0.6297	0.5723	0.4952	0.565733	10	5.657333	0.127	44.54593	1.0024	5.643788
0.3 h	0.6222	0.5436	0.4947	0.5535	10	5.535	0.127	43.58268	1.0024	5.521748
1 h	0.6854	0.5242	0.4633	0.557633	10	5.576333	0.127	43.90814	1.0024	5.562982
1.3h	0.6685	0.5267	0.468	0.5544	10	5.544	0.127	43.65354	1.0024	5.530726
2h	0.6916	0.5376	0.4671	0.565433	10	5.654333	0.127	44.52231	1.0024	5.640795
2.3h	0.7239	0.5216	0.4721	0.572533	10	5.725333	0.127	45.08136	1.0024	5.711625
3h	0.693	0.5379	0.4906	0.573833	10	5.738333	0.127	45.18373	1.0024	5.724594
3.3h	0.731	0.4915	0.4945	0.572333	10	5.723333	0.127	45.06562	1.0024	5.70963
4h	0.692	0.4699	0.5158	0.559233	10	5.592333	0.127	44.03412	1.0024	5.578944
4.4h	0.6668	0.4991	0.4902	0.552033	10	5.520333	0.127	43.46719	1.0024	5.507116
5h	0.6162	0.4975	0.487	0.533567	10	5.335667	0.127	42.01312	1.0024	5.322892
5.3h	0.72	0.4443	0.4612	0.541833	10	5.418333	0.127	42.66404	1.0024	5.40536
6h	0.6041	0.5346	0.5488	0.5625	10	5.625	0.127	44.29134	1.0024	5.611532
6.3h	0.8551	0.6651	0.6165	0.712233	10	7.122333	0.127	56.08136	1.0024	7.105281
7h	0.6822	0.4726	0.4597	0.538167	10	5.381667	0.127	42.37533	1.0024	5.368782
7.3h	0.734	0.5397	0.5228	0.598833	10	5.988333	0.127	47.15223	1.0024	5.973996
8h	0.7165	0.4795	0.4858	0.5606	10	5.606	0.127	44.14173	1.0024	5.592578
8.3h	0.7362	0.5136	0.5253	0.5917	10	5.917	0.127	46.59055	1.0024	5.902833
9h	0.7445	0.518	0.5099	0.5908	10	5.908	0.127	46.51969	1.0024	5.893855
9.3h	0.7011	0.4345	0.4858	0.540467	10	5.404667	0.127	42.55643	1.0024	5.391727
10h	0.6373	0.4876	0.4955	0.540133	10	5.401333	0.127	42.53018	1.0024	5.388401

ตารางที่ 36 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 570 นาโนเมตรและปริมาณ Free amino nitrogen ในการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 0.5

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	dilution	conc.Std	OD Standard	FAN
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ 3					
0 h	0.554	0.559	0.525	0.546	100	2	0.480333	227.3423
0.3 h	0.455	0.508	0.512	0.491667	100	2	0.480333	204.7191
1 h	0.501	0.515	0.524	0.513333	100	2	0.480333	213.7406
1.3h	0.517	0.5	0.511	0.509333	100	2	0.480333	212.0751
2h	0.52	0.534	0.573	0.542333	100	2	0.480333	225.8156
2.3h	0.509	0.532	0.471	0.504	100	2	0.480333	209.8544
3h	0.497	0.513	0.512	0.507333	100	2	0.480333	211.2423
3.3h	0.594	0.524	0.507	0.541667	100	2	0.480333	225.538
4h	0.488	0.467	0.474	0.476333	100	2	0.480333	198.3346
4.4h	0.481	0.539	0.381	0.467	100	2	0.480333	194.4484
5h	0.547	0.594	0.518	0.553	100	2	0.480333	230.2569
5.3h	0.533	0.531	0.535	0.533	100	2	0.480333	221.9294
6h	0.699	0.563	0.558	0.606667	100	2	0.480333	252.6025
6.3h	0.596	0.551	0.654	0.600333	100	2	0.480333	249.9655
7h	0.613	0.723	0.657	0.664333	100	2	0.480333	276.6137
7.3h	0.403	0.401	0.415	0.406333	100	2	0.480333	169.1882
8h	0.512	0.547	0.539	0.532667	100	2	0.480333	221.7906
8.3h	0.604	0.482	0.519	0.535	100	2	0.480333	222.7621
9h	0.514	0.53	0.536	0.526667	100	2	0.480333	219.2923
9.3h	0.545	0.605	0.608	0.586	100	2	0.480333	243.9974
10h	0.49	0.389	0.423	0.434	100	2	0.480333	180.708

ตารางที่ 37 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 570 นาโนเมตรและปริมาณ Free amino nitrogen ในการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสส์ร้อยละ 1

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	dilution	conc.Std	OD Standard	FAN
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ 3					
0 h	0.477	0.549	0.373	0.466333	100	2	0.480333	194.1708
0.3 h	0.501	0.517	0.367	0.461667	100	2	0.480333	192.2278
1 h	0.485	0.518	0.369	0.457333	100	2	0.480333	190.4234
1.3h	0.573	0.529	0.403	0.501667	100	2	0.480333	208.8829
2h	0.521	0.5	0.387	0.469333	100	2	0.480333	195.42
2.3h	0.508	0.513	0.381	0.467333	100	2	0.480333	194.5872
3h	0.489	0.494	0.363	0.448667	100	2	0.480333	186.8148
3.3h	0.573	0.511	0.377	0.487	100	2	0.480333	202.776
4h	0.5	0.597	0.385	0.494	100	2	0.480333	205.6906
4.4h	0.497	0.517	0.368	0.460667	100	2	0.480333	191.8114
5h	0.553	0.529	0.374	0.485333	100	2	0.480333	202.082
5.3h	0.497	0.608	0.405	0.503333	100	2	0.480333	209.5768
6h	0.507	0.497	0.376	0.46	100	2	0.480333	191.5338
6.3h	0.627	0.603	0.476	0.568667	100	2	0.480333	236.7802
7h	0.638	0.607	0.471	0.572	100	2	0.480333	238.1681
7.3h	0.447	0.452	0.347	0.415333	100	2	0.480333	172.9356
8h	0.49	0.512	0.359	0.453667	100	2	0.480333	188.8967
8.3h	0.531	0.597	0.456	0.528	100	2	0.480333	219.8475
9h	0.509	0.553	0.375	0.479	100	2	0.480333	199.445
9.3h	0.545	0.528	0.396	0.489667	100	2	0.480333	203.8863
10h	0.277	0.286	0.276	0.279667	100	2	0.480333	116.447

ตารางที่ 38 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 570 นาโนเมตรและปริมาณ Free amino nitrogen ในการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสส์ร้อยละ 2.5

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	dilution	conc.Std	OD Standard	FAN
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ 3					
0 h	0.445	0.418	0.394	0.419	100	2	0.480333	174.4623
0.3 h	0.406	0.386	0.363	0.385	100	2	0.480333	160.3055
1 h	0.411	0.335	0.378	0.374667	100	2	0.480333	156.0029
1.3h	0.365	0.356	0.37	0.363667	100	2	0.480333	151.4227
2h	0.393	0.398	0.384	0.391667	100	2	0.480333	163.0813
2.3h	0.379	0.382	0.379	0.38	100	2	0.480333	158.2236
3h	0.384	0.393	0.375	0.384	100	2	0.480333	159.8891
3.3h	0.396	0.408	0.402	0.402	100	2	0.480333	167.3839
4h	0.354	0.365	0.368	0.362333	100	2	0.480333	150.8676
4.4h	0.393	0.401	0.394	0.396	100	2	0.480333	164.8856
5h	0.387	0.375	0.369	0.377	100	2	0.480333	156.9744
5.3h	0.48	0.398	0.397	0.425	100	2	0.480333	176.9606
6h	0.39	0.38	0.37	0.38	100	2	0.480333	158.2236
6.3h	0.608	0.502	0.512	0.540667	100	2	0.480333	225.1216
7h	0.443	0.425	0.508	0.458667	100	2	0.480333	190.9786
7.3h	0.497	0.462	0.497	0.485333	100	2	0.480333	202.082
8h	0.391	0.384	0.399	0.391333	100	2	0.480333	162.9425
8.3h	0.475	0.375	0.432	0.427333	100	2	0.480333	177.9321
9h	0.348	0.399	0.378	0.375	100	2	0.480333	156.1417
9.3h	0.373	0.373	0.397	0.381	100	2	0.480333	158.6399
10h	0.312	0.31	0.291	0.304333	100	2	0.480333	126.7176

ตารางที่ 39 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 570 นาโนเมตรและปริมาณ Free amino nitrogen ในการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสส์ร้อยละ 5

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	dilution	Conc.Std	OD Standard	FAN
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ 3					
0 h	0.401	0.376	0.391	1.168	100	2	0.480333	486.3293
0.3 h	0.367	0.352	0.369	1.088	100	2	0.480333	453.0191
1 h	0.352	0.41	0.391	1.153	100	2	0.480333	480.0836
1.3h	0.371	0.414	0.354	1.139	100	2	0.480333	474.2543
2h	0.416	0.362	0.361	1.139	100	2	0.480333	474.2543
2.3h	0.392	0.383	0.407	1.182	100	2	0.480333	492.1586
3h	0.378	0.352	0.367	1.097	100	2	0.480333	456.7665
3.3h	0.4	0.375	0.348	1.123	100	2	0.480333	467.5923
4h	0.405	0.367	0.361	1.133	100	2	0.480333	471.7561
4.4h	0.371	0.354	0.384	1.109	100	2	0.480333	461.763
5h	0.416	0.39	0.39	1.196	100	2	0.480333	497.9879
5.3h	0.429	0.387	0.403	1.219	100	2	0.480333	507.5645
6h	0.49	0.471	0.472	1.433	100	2	0.480333	596.6694
6.3h	0.567	0.558	0.521	1.646	100	2	0.480333	685.3579
7h	0.521	0.509	0.545	1.575	100	2	0.480333	655.795
7.3h	0.31	0.307	0.302	0.919	100	2	0.480333	382.6512
8h	0.377	0.362	0.376	1.115	100	2	0.480333	464.2613
8.3h	0.384	0.378	0.372	1.134	100	2	0.480333	472.1724
9h	0.379	0.368	0.394	1.141	100	2	0.480333	475.0871
9.3h	0.37	0.377	0.375	1.122	100	2	0.480333	467.1759
10h	0.268	0.292	0.28	0.84	100	2	0.480333	349.7574

ตารางที่ 40 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 570 นาโนเมตรและปริมาณ Free amino nitrogen ในการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสส์ร้อยละ 10

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	dilution	conc.Std	OD Standard	FAN
	ซ้ำ 1	ซ้ำ 2	ซ้ำ 3					
0 h	0.358	0.352	0.355	0.355	100	2	0.480333	147.8141
0.3 h	0.351	0.36	0.338	0.349667	100	2	0.480333	145.5934
1 h	0.386	0.407	0.391	0.394667	100	2	0.480333	164.3304
1.3h	0.374	0.389	0.358	0.373667	100	2	0.480333	155.5865
2h	0.422	0.418	0.451	0.430333	100	2	0.480333	179.1812
2.3h	0.376	0.4	0.394	0.39	100	2	0.480333	162.3873
3h	0.373	0.378	0.366	0.372333	100	2	0.480333	155.0313
3.3h	0.386	0.371	0.366	0.374333	100	2	0.480333	155.8641
4h	0.396	0.388	0.357	0.380333	100	2	0.480333	158.3624
4.4h	0.366	0.378	0.342	0.362	100	2	0.480333	150.7288
5h	0.381	0.387	0.415	0.394333	100	2	0.480333	164.1916
5.3h	0.385	0.395	0.418	0.399333	100	2	0.480333	166.2735
6h	0.371	0.346	0.392	0.369667	100	2	0.480333	153.921
6.3h	0.301	0.281	0.313	0.298333	100	2	0.480333	124.2194
7h	0.351	0.354	0.391	0.365333	100	2	0.480333	152.1167
7.3h	0.433	0.418	0.45	0.433667	100	2	0.480333	180.5692
8h	0.408	0.35	0.379	0.379	100	2	0.480333	157.8072
8.3h	0.533	0.363	0.38	0.425333	100	2	0.480333	177.0994
9h	0.381	0.391	0.404	0.392	100	2	0.480333	163.2201
9.3h	0.368	0.361	0.409	0.379333	100	2	0.480333	157.946
10h	0.237	0.225	0.252	0.238	100	2	0.480333	99.09792

ตารางที่ 41 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 570 นาโนเมตรและปริมาณ Free amino nitrogen ในการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 15

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	dilution	conc.Std	OD Standard	FAN
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ 3					
0 h	0.211	0.199	0.201	0.203667	100	2	0.480333	84.80228
0.3 h	0.21	0.218	0.216	0.214667	100	2	0.480333	89.38244
1 h	0.181	0.217	0.195	0.197667	100	2	0.480333	82.30401
1.3h	0.195	0.188	0.197	0.193333	100	2	0.480333	80.49971
2h	0.189	0.195	0.221	0.201667	100	2	0.480333	83.96952
2.3h	0.194	0.171	0.197	0.187333	100	2	0.480333	78.00144
3h	0.189	0.182	0.186	0.185667	100	2	0.480333	77.30748
3.3h	0.181	0.182	0.208	0.190333	100	2	0.480333	79.25058
4h	0.187	0.21	0.229	0.208667	100	2	0.480333	86.88417
4.4h	0.215	0.18	0.243	0.212667	100	2	0.480333	88.54968
5h	0.169	0.212	0.186	0.189	100	2	0.480333	78.69541
5.3h	0.207	0.213	0.198	0.206	100	2	0.480333	85.77383
6h	0.206	0.213	0.222	0.213667	100	2	0.480333	88.96606
6.3h	0.269	0.301	0.257	0.275667	100	2	0.480333	114.7815
7h	0.177	0.183	0.2	0.186667	100	2	0.480333	77.72386
7.3h	0.17	0.203	0.203	0.192	100	2	0.480333	79.94454
8h	0.174	0.198	0.196	0.189333	100	2	0.480333	78.8342
8.3h	0.186	0.222	0.233	0.213667	100	2	0.480333	88.96606
9h	0.166	0.208	0.218	0.197333	100	2	0.480333	82.16522
9.3h	0.171	0.181	0.207	0.186333	100	2	0.480333	77.58506
10h	0.167	0.174	0.178	0.173	100	2	0.480333	72.03336

ตารางที่ 42 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 570 นาโนเมตรและปริมาณ Free amino nitrogen ในการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แมนนาเนสร้อยละ 20

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	dilution	conc.Std	OD Standard	FAN
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ 3					
0 h	0.24	0.247	0.266	0.251	100	2	0.480333	104.5108
0.3 h	0.257	0.224	0.217	0.232667	100	2	0.480333	96.87724
1 h	0.136	0.249	0.255	0.213333	100	2	0.480333	88.82726
1.3h	0.274	0.197	0.217	0.229333	100	2	0.480333	95.48931
2h	0.242	0.183	0.204	0.209667	100	2	0.480333	87.30055
2.3h	0.227	0.152	0.17	0.183	100	2	0.480333	76.19714
3h	0.227	0.204	0.216	0.215667	100	2	0.480333	89.79881
3.3h	0.269	0.245	0.198	0.237333	100	2	0.480333	98.82033
4h	0.291	0.234	0.256	0.260333	100	2	0.480333	108.397
4.4h	0.264	0.225	0.243	0.244	100	2	0.480333	101.5962
5h	0.24	0.264	0.26	0.254667	100	2	0.480333	106.0375
5.3h	0.229	0.226	0.289	0.248	100	2	0.480333	103.2617
6h	0.345	0.336	0.41	0.363667	100	2	0.480333	151.4227
6.3h	0.265	0.267	0.236	0.256	100	2	0.480333	106.5927
7h	0.262	0.24	0.295	0.265667	100	2	0.480333	110.6177
7.3h	0.217	0.254	0.217	0.229333	100	2	0.480333	95.48931
8h	0.223	0.225	0.208	0.218667	100	2	0.480333	91.04795
8.3h	0.26	0.223	0.202	0.228333	100	2	0.480333	95.07293
9h	0.213	0.248	0.234	0.231667	100	2	0.480333	96.46086
9.3h	0.245	0.255	0.277	0.259	100	2	0.480333	107.8419
10h	0.276	0.256	0.286	0.272667	100	2	0.480333	113.5323

ตารางที่ 43 ค่าการดูดกลืนแสงที่ A 570 นาโนเมตรและปริมาณ Free amino nitrogen ในการศึกษาความเข้มข้นของเอนไซม์แมนแนนสรี้อยละ 25

ชั่วโมง	ค่า OD			ค่าเฉลี่ย	dilution	conc.Std	OD Standard	FAN
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ 3					
0 h	0.227	0.189	0.109	0.175	100	2	0.480333	72.86612
0.3 h	0.193	0.171	0.137	0.167	100	2	0.480333	69.53509
1 h	0.215	0.225	0.114	0.184667	100	2	0.480333	76.8911
1.3h	0.223	0.209	0.168	0.2	100	2	0.480333	83.27556
2h	0.188	0.214	0.16	0.187333	100	2	0.480333	78.00144
2.3h	0.212	0.23	0.205	0.215667	100	2	0.480333	89.79881
3h	0.23	0.237	0.162	0.209667	100	2	0.480333	87.30055
3.3h	0.238	0.275	0.151	0.221333	100	2	0.480333	92.15829
4h	0.276	0.275	0.198	0.249667	100	2	0.480333	103.9557
4.4h	0.275	0.235	0.132	0.214	100	2	0.480333	89.10485
5h	0.241	0.214	0.132	0.195667	100	2	0.480333	81.47126
5.3h	0.192	0.139	0.153	0.161333	100	2	0.480333	67.17562
6h	0.249	0.202	0.244	0.231667	100	2	0.480333	96.46086
6.3h	0.316	0.248	0.144	0.236	100	2	0.480333	98.26516
7h	0.165	0.21	0.164	0.179667	100	2	0.480333	74.80921
7.3h	0.257	0.203	0.13	0.196667	100	2	0.480333	81.88763
8h	0.207	0.161	0.139	0.169	100	2	0.480333	70.36785
8.3h	0.215	0.157	0.155	0.175667	100	2	0.480333	73.1437
9h	0.21	0.161	0.171	0.180667	100	2	0.480333	75.22559
9.3h	0.221	0.209	0.158	0.196	100	2	0.480333	81.61005
10h	0.142	0.192	0.194	0.176	100	2	0.480333	73.28249

ภาคผนวก ฉ การทดลองอื่นๆ

1. การคัดเลือกวัตถุดิบทางการเกษตรที่มีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก

1.1 ชั้นเตรียมการ

ชั้นเตรียมการทดลอง ผู้วิจัยจะเตรียมวัตถุดิบอุปกรณ์ เครื่องมือ สารเคมี อาหารเลี้ยงเชื้อและสายพันธุ์จุลินทรีย์ดังต่อไปนี้

1.1.1 วัตถุดิบ

กระเทียม เผือก หอมหัวใหญ่ บัวหิมะ แห้ว มันแกว บุก กล้ายดิบ ผุ่นซังข้าวโพด กลูโคส เพกทิน

1.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

อุปกรณ์และเครื่องมือในการทดลอง ได้แก่ ผ้าขาวบาง ปีกเกอร์ หลอดฝาเกลียว ลวดเขี่ยเชื้อ งานเพาะเชื้อพลาสติก มีด กระบอกตวง ซ้อนตักสาร หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave, HIRIYAMA, HVE-50, Japan) เครื่องวิเคราะห์ความชื้น (moisture, analyzer, AND, MX-50, Japan) เครื่องวัดความเป็นกรดต่าง (pH meter, EUTECH, CyberScan, pH 11 America) เครื่องปั่น (blender, Philips, Cucina) ตู้บ่ม (Incubator, Scientific ,series 2000, America) ตู้ชีวนิรภัย (bio safety carbinet class II, CTL 90 BT, 101) เครื่องเขย่าสาร (vortex, VISION, KMC-1300V, Korea) เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 2 ตำแหน่ง (analytical balance, SHIMADZU, TXB 222L, Japan) เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (analytical balance, SHIMADZU, ATY224, Japan) มาตรฐานชี้หักเท 0-32 degree Brix (Refractometer 0 – 32% degree Brix, ATAGO, N-10 α , Japan) เครื่องดูดจ่ายสารอัตโนมัติ (autopipette 20-200 microliter, Witeg, Germany) เครื่องดูดจ่ายสารอัตโนมัติ (autopipette 1-5 microliter, Witeg, Germany) เครื่องดูดจ่ายสารอัตโนมัติ (autopipette 1-5 milliliter, BOECO, Germany) และ Densitometer (Bio – RAD, GS – 900, America)

1.1.3 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ NaOH ความเข้มข้น 1 M HCl ความเข้มข้น 1 M NaCl ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 อาหารเลี้ยงเชื้อในการทดลอง ได้แก่ Nutrient Broth (NB, HIMEDIA, India) , Nutrient Agar (NA, HIMEDIA, India) , De Man Rogosa and Sharp (MRS, HIMEDIA, India) , Bifidobacterium Agar (HIMEDIA, India) , Methylene Blue Agar (EMB, HIMEDIA, India) และ Basal Medium (HIMEDIA, India)

1.1.4 เชื้อจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ *Bifidobacterium animalis* TISTR 2194 , *Enterococcus faecalis* FM 7-6, *Lactobacillus fermentum* FW 2.5-6 และ *Escherichia coli* TISTR 887

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 ขั้นตอนการดำเนินงาน

1.2.1 การเตรียมวัตถุดิบทางการเกษตร

ล้างและปอก กระเทียม ผีอก หอมหัวใหญ่ บัวหิมะ แห้ว มันแกว และบุก ส่วนผงกล้วยดิบ เพกทิน ผุ่นซังข้าวโพดและกลูโคสมีแบบสำเร็จรูป

1.2.2 การวัดความชื้น

นำตัวอย่างวัตถุดิบทางการเกษตรสำเร็จหรือที่ปลอกเปลือกแล้ววัดความชื้นโดยนำตัวอย่าง 1 กรัมเข้าเครื่องวิเคราะห์ความชื้นและบันทึกความชื้นที่เครื่องอ่านได้

1.2.3 การวัดความเป็นกรด-ด่าง

นำตัวอย่างวัตถุดิบทางการเกษตรมาปั่นกับน้ำกลั่นในอัตราส่วนที่กำหนดและนำตัวอย่างใส่ ปีกเกอร์จำนวน 5 มิลลิลิตร วัดค่ากรด - ด่าง โดย pH meter

1.2.4 การวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด

นำตัวอย่างวัตถุดิบทางการเกษตรไปปั่นกับน้ำกลั่นในอัตราส่วนที่กำหนดแบ่ง ตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร วัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมดด้วย Refractometer

1.2.5 การวิเคราะห์ชนิดของน้ำตาลด้วยวิธี Thinlayer Chromatography (TLC)

นำตัวอย่างที่ทำความสะอาดและปอกเปลือกแล้วมาชั่งและปั่นให้ละเอียดและผสมน้ำกลั่นใน อัตราส่วนที่จะแตกต่างกันในแต่ละตัวอย่างดังนี้ แห้ว 1:1 มันแกว 1:1 บุก 1:30 ผีอก 1:1 ผงกล้วยดิบ 1:4 ซังข้าวโพด 1:4 บัวหิมะ 1:1 กลูโคส 1:1 เพกทิน 1:1 หอมหัวใหญ่ 1:1 กระเทียม 1:1 คั้นกรอง เอาแต่น้ำไม่เอากาก ปั่นเหวี่ยงโดยนำตัวอย่างใส่หลอดสำหรับปั่นเหวี่ยง หลอดละ 2 มิลลิลิตรโดยใช้ ความเร็วรอบ 9000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ดูดเอาแต่ส่วนใสโดยหลอดฉีดยาและกรองผ่านตัว กรอง 0.4 ไมโครเมตรแช่ตู้เย็น -20 องศาเซลเซียส นำตัวอย่างหยดลงแผ่น TLC ตัวอย่างละ 6 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ให้แห้งสนิทและใส่ลงในอ่างแก้วสำหรับ develop แผ่น TLC ที่มี solvent แล้วปิด ฝารอประมาณ 3 ชั่วโมงจากนั้นดึงแผ่น TLC ออกจากอ่างแก้วพักไว้ให้แห้งและฉีดพ่นด้วย spray solution ให้ทั่วแผ่นทิ้งไว้ให้แห้งสนิท นำแผ่น TLC ไปอบภายใต้อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็น เวลา 10 นาที และบันทึกข้อมูลโดยการสแกนด้วยเครื่อง densitometer

1.2.6 การทดสอบกิจกรรมของพรีไบโอติก (prebiotic activity)

1.2.6.1 การเตรียมกล้าเชื้อ

นำเชื้อจากอาหารแข็งซึ่งได้แก่ *B. Animalis* TISTR 2194 , *E. faecalis* FM 7-6 และ *L. fermentum* FW 2.5-6 เลี้ยงใน MRS broth ส่วน *E.coli* TISTR 887 จากอาหารแข็งลงใน NB 10 มิลลิลิตร เลี้ยงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดย *B. animalis* TISTR 2194, *E. faecalis* FM 7-6, และ *L. fermentum* FW 2.5-6 บ่มในตู้บ่ม 37 องศาเซลเซียสในสภาพไร้อากาศส่วน *E. coli* TISTR 887 บ่มปกติในตู้บ่มที่ 37 องศาเซลเซียสนำน้ำเลี้ยงเชื้อไปปั่นเหวี่ยง 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที เทส่วนใสทิ้ง จากนั้นเติม NaCl ร้อยละ 0.85 เท่าปริมาณน้ำเลี้ยงเชื้อของเดิม vortex ให้เข้ากัน และปั่นเหวี่ยง 6,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาที เทส่วนใสทิ้งและเติม NaCl ร้อยละ 0.85 เท่าเดิม vortex ให้เข้ากันได้กล้าเชื้อพร้อมใช้งาน

1.2.6.2 ขั้นตอนการเตรียมอาหาร

ชั่งวัตถุดิบทางการเกษตร ร้อยละ 1 น้ำหนักต่อปริมาตรปั่นกับ Basal Medium 50 มิลลิลิตร แบ่งใส่หลอดฝาเกลียว จำนวน 10 มิลลิลิตร 4 หลอด ทำทั้งหมด 2 ชุดเพื่อแบ่งไปวัดพีเอช นำไปฆ่าเชื้อด้วยหมอนึ่งไอน้ำและนำไปปรับพีเอชเป็น 6.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2.6.3 ขั้นตอนการถ่ายภาพล้าเชื้อ

ทำการเติมกล้าเชื้อ *B. animalis* TISTR 2194, *E. faecalis* FM 7-6, *L. fermentum* FW 2.5-6 และ *E. coli* จำนวน 100 ไมโครลิตร ลงในแต่ละหลอดของ Basal Medium ที่มีตัวอย่างอยู่

1.2.6.4 ขั้นตอนการ drop plate ตัวอย่างจาก Basal Medium ก่อนบ่ม (0 ชั่วโมง)

นำตัวอย่างจาก Basal Medium มาเจือจางโดยปิเปตตัวอย่าง 500 ไมโครลิตร ลงใน NaCl ร้อยละ 0.85 จำนวน 5 มิลลิลิตร ใช้ 10^{-1} เจือจางจนถึง 10^{-6} และใช้เทคนิค drop plate โดย drop plate ที่ระดับการเจือจาง 10^{-2} , 10^{-4} และ 10^{-6} โดยใช้ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ต่อการหยด 1 ครั้ง ทำทั้งหมด 3 ซ้ำ ต่อ 1 ระดับการเจือจางโดยใช้ MRS agar สำหรับบ่มเชื้อ *B. animalis* TISTR 2194, *E. faecalis* FM 7-6, *L. fermentum* FW 2.5-6 และ EMB agar สำหรับบ่ม *E. coli* TISTR 887 บ่มจนเพาะเชื้อในตู้บ่ม 37 องศาเซลเซียส โดย *B. animalis* TISTR 2194, *E. faecalis* FM 7-6, *L. fermentum* FW 2.5-6 บ่มในสภาพไร้อากาศส่วน *E. coli* TISTR 887 บ่มปกติในตู้บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส

1.2.6.5 ขั้นตอนการ drop plate ตัวอย่างจาก Basal Medium หลังบ่ม (24 ชั่วโมง)

นำ Basal Medium ที่มีตัวอย่างวัตถุประสงค์ทางการเกษตรบ่มในตู้บ่ม 37 องศาเซลเซียส ให้ครบ 24 ชั่วโมง และนำมาเจือจางให้ถึง 10^{-12} drop plate ที่ระดับการเจือจาง 10^{-6} , 10^{-8} , 10^{-10} และ 10^{-12} โดยใช้ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ต่อการหยด 1 ครั้ง ทำทั้งหมด 3 หยด ต่อ 1 ระดับการเจือจางโดยใช้ MRS agar สำหรับเจือจาง *B. animalis* TISTR 2194, *E. faecalis* FM 7-6 และ *L. fermentum* FW 2.5-6 ส่วน EMB agar ใช้สำหรับ *E. coli* บ่มจนเพาะเชื้อ ในตู้บ่ม 37 องศาเซลเซียส โดย *B. animalis* TISTR 2194, *E. faecalis* FM 7-6, *L. fermentum* FW 2.5-6 บ่มในสภาพไร้อากาศส่วน *E. coli* บ่มปกติในตู้บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส

1.2.6.6 ตรวจสอบผลและการคำนวณ

นับจำนวนโคโลนีของเชื้อในระดับการเจือจางที่เหมาะสมในระหว่าง 3-33 โคโลนี ในแต่ละจานเพาะเชื้อเพื่อนำค่าที่ได้มาคำนวณจำนวนเซลล์มีชีวิตและค่ากิจกรรมของฟรีไบโอติก

$$\text{จำนวนเซลล์มีชีวิต (CFU/ml)} = \frac{\text{ค่าเฉลี่ยโคโลนี} \times \text{ระดับความเจือจาง}}{\text{ปริมาตร}}$$

$$\text{กิจกรรมฟรีไบโอติก} =$$

$$\left(\frac{\text{การเจริญของโพรไบโอติกในฟรีไบโอติกที่ 24 ชั่วโมง} - \text{การเจริญของโพรไบโอติกในฟรีไบโอติกที่ 0 ชั่วโมง}}{\text{การเจริญของเชื้อโพรไบโอติกในกลูโคสที่ 24 ชั่วโมง} - \text{การเจริญของเชื้อโพรไบโอติกในกลูโคสที่ 0 ชั่วโมง}} \right) - \left(\frac{\text{การเจริญของเชื้อก่อโรคในฟรีไบโอติกที่ 24 ชั่วโมง} - \text{การเจริญของเชื้อก่อโรคในฟรีไบโอติกที่ 0 ชั่วโมง}}{\text{การเจริญของเชื้อก่อโรคในกลูโคสที่ 24 ชั่วโมง} - \text{การเจริญของเชื้อก่อโรคในกลูโคสที่ 0 ชั่วโมง}} \right)$$

หมายเหตุ : ค่าการเจริญต้องนำค่าที่เป็น log cfu ต่อ มิลลิลิตร มาคำนวณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ผลการทดลองและวิจารณ์

1.3.1 ผลการวัดความชื้นพีเอชและปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำ

จากการทดลองโดยนำตัวอย่างวัตถุดิบทางการเกษตรทั้งหมด 10 ชนิด ส่วนหนึ่งนำมาชั่งน้ำหนักและวัดความชื้น อีกส่วนหนึ่งนำมาปั่นกรองเพื่อแบ่งไปวัดพีเอช และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำทั้งหมด พบว่าตัวอย่างส่วนใหญ่ที่เป็นของสดจะมีค่าความชื้นที่สูงแต่ตัวอย่างอีกส่วนที่เป็นแบบผงแห้งจะมีค่าความชื้นที่ต่ำ ในด้านของค่าพีเอช พบว่าตัวอย่างส่วนใหญ่มีค่าค่อนข้างเป็นกลางแต่มีเพกทินที่มีค่าพีเอช เป็นกรดมากที่สุดคือ 3.5 และในส่วนของปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้พบว่า กระจเทียมมีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดสูงสุดคือ 36°Bx ซึ่งแสดงผลในตารางที่ 1.1

ตารางที่ 1.1 แสดงค่าความชื้นค่า พีเอช และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำของตัวอย่างวัตถุดิบทางการเกษตรทั้งหมด 10 ชนิด

ลำดับ	ชนิด	ความชื้น(ร้อยละ)	พีเอช	Degrees Brix
1	กระจเทียม	63.52	5.89	36
2	เผือก	82.89	6.22	2.00
3	กล้วยดิบผง	8.45	5.97	4.00
4	หอมหัวใหญ่	83.16	5.3	10.6
5	ฝุ่นซึ่งข้าวโพด	7.3	5.6	7.00
6	บัวหิมะ	86.4	6.49	9
7	แห้ว	82.86	6	2.5
8	มันแกว	84.21	6.14	5.2
9	บุก	4.66	5.2	3.8
10	เพกทิน	9.25	3.5	6

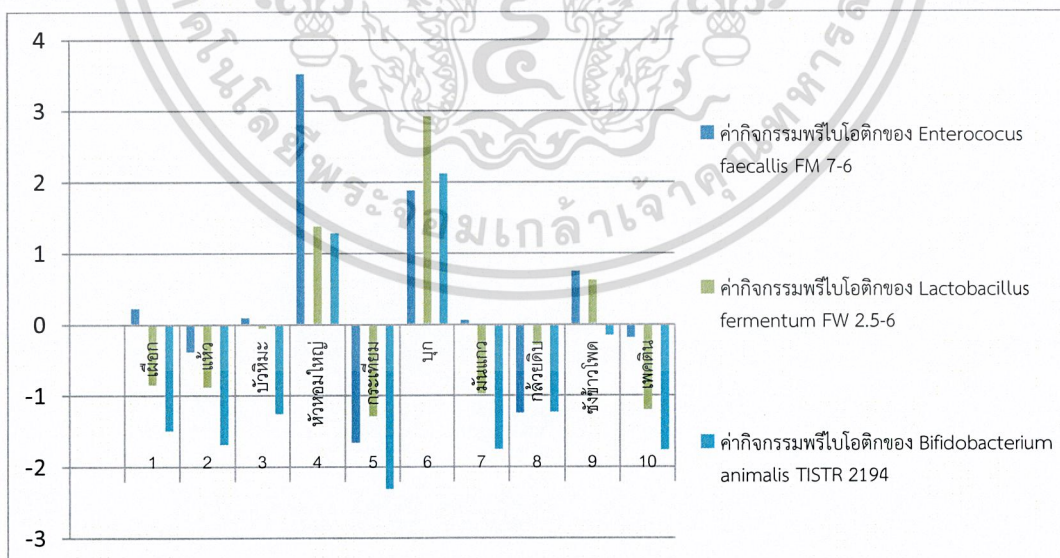
1.3.2 ผลการคำนวณค่ากิจกรรมของฟรีไบโอติก

จากการนำตัวอย่างวัตถุดิบทางการเกษตรมาปั่นรวมกับ Basal Medium และทำการถ่ายกล้ำเชื้อ *Bifidobacterium animalis* TISTR 2194, *Lactobacillus fermentum* FW 2.5-6, *Enterococcus faecalis* FM 7-6 และ *Escherichia coli* TISTR 887 ทำการเจือจางทันทีและ drop plate บ่มที่ 37 องศาเซลเซียสในสภาพไร้อากาศจะได้จำนวนของเชื้อเริ่มต้นทั้งหมดที่ 0 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำ Basal Medium ที่มีตัวอย่างและเชื้ออยู่บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส ในสภาพไร้อากาศเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาเจือจางและ drop plate บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส ในสภาพไร้อากาศจะได้จำนวนเชื้อที่บ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำจำนวนโคโลนีของเชื้อมาคำนวณค่ากิจกรรมฟรีไบโอติกพบว่า หอมหัวใหญ่ บุกและซึ่งข้าวโพดมีแนวโน้มที่จะเป็นฟรีไบโอติกที่ดีได้เนื่องจากมีค่ากิจกรรมฟรีไบโอติกที่สูงแสดงให้เห็นในตารางที่ 1.2 และรูปที่ 1.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1.2 แสดงค่ากิจกรรมฟรีไบโอติกของ *Enterococcus faecalis* FM 7-6, *Lactobacillus fermentum* FW 2.5-6 และ *Bifidobacterium animalis* TISTR 2194 ในตัวอย่างวัตถุดิบทางการเกษตรทั้ง 10 ชนิด

ลำดับ	ชนิด	ค่ากิจกรรมฟรีไบโอติกของ <i>Enterococcus faecalis</i> FM 7-6	ค่ากิจกรรมฟรีไบโอติกของ <i>Lactobacillus fermentum</i> FW 2.5-6	ค่ากิจกรรมฟรีไบโอติกของ <i>Bifidobacterium animalis</i> TISTR 2194
1	เปลือก	0.227492232	-0.853469606	-1.500747647
2	แห้ว	-0.386821173	-0.880557293	-1.688347055
3	บัวหิมะ	0.093458472	-0.059737318	-1.258916662
4	หอมหัวใหญ่	3.517168782	1.381202835	1.285519291
5	กระเทียม	-1.663764074	-1.291742625	-2.311061514
6	บุก	1.883319262	2.925702796	2.12014425
7	มันแกว	0.062700933	-0.974045734	-1.752282019
8	กล้วยดิบ	-1.244145792	-0.29490957	-1.229412035
9	ซังข้าวโพด	0.748249027	0.625659023	-0.154608554
10	เพกทิน	-0.186166349	-1.201895774	-1.766256206



รูปที่ 1.1 แสดงค่ากิจกรรมฟรีไบโอติกของเชื้อ *Enterococcus faecalis* FM 7-6, *Lactobacillus fermentum* FW 2.5-6 และ *Bifidobacterium animalis* TISTR 2194 ในตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับอาจารย์และบุคลากรศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทำการทดลองพบว่าหอมหัวใหญ่มีค่ากิจกรรมฟรีไบโอติกของ *Enterococcus faecalis* FM 7-6, *Lactobacillus fermentum* FW 2.5-6 และ *Bifidobacterium animalis* TISTR 2194 มีค่าเป็น 3.5, 1.38 และ 1.28 ในส่วนของบุกมีค่ากิจกรรมฟรีไบโอติกของ *Enterococcus faecalis* FM 7-6, *Lactobacillus fermentum* FW 2.5-6 และ *Bifidobacterium animalis* TISTR 2194 มีค่าเป็น 1.9, 2.9 และ 2.1 ในส่วนสุดท้ายคือค่ากิจกรรมฟรีไบโอติกของซังข้าวโพดเป็น 0.7, 0.6 และ -0.5 ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Moonnggarm และคณะ (2011) ได้ทำการทดลองวัดค่ากิจกรรมฟรีไบโอติกของหอมหัวใหญ่โดยใช้เชื้อ *Lactobacillus acidophilus* พบว่ามีค่ากิจกรรมฟรีไบโอติก 1.78 ซึ่งสนับสนุนว่าหอมหัวใหญ่มีแนวโน้มที่จุลินทรีย์ที่ดีจะสามารถเจริญเติบโตได้

1.4 สรุปผลการทดลอง

การศึกษาค่ากิจกรรมฟรีไบโอติกพบว่า หอมใหญ่ บุก และ ซังข้าวโพดสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อโปรไบโอติกคือ *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus fermentum* และ *Bifidobacterium animalis* ได้ ซึ่งแนวโน้มที่หอมใหญ่ บุก และ ซังข้าวโพด จะสามารถนำไปต่อยอดเพื่อผลิตเป็นฟรีไบโอติกในอุตสาหกรรมได้

2. การทดสอบการยับยั้งด้วยสารละลายจากมะม่วงหิมพานต์

2.1 ชั้นเตรียมการ

ชั้นเตรียมการทดลอง ผู้วิจัยจะเตรียมวัตถุดิบอุปกรณ์ เครื่องมือ สารเคมี อาหารเลี้ยงเชื้อและสายพันธุ์จุลินทรีย์ดังต่อไปนี้

2.1.1 วัตถุดิบ

วัตถุดิบในการทดลองได้แก่ ผลมะม่วงหิมพานต์ที่คั้นเอาน้ำออก

2.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

อุปกรณ์และเครื่องมือในการทดลองได้แก่ งานเพาะเชื้อพลาสติก ปีกเกอร์ ซ้อนตักสาร เข็มฉีดยาขนาดเล็ก ตัวกรอง 0.2 ไมโครเมตร หลอดเก็บตัวอย่าง กระดัง Cork borer No.3 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge, Gemmy, PLC-012, Taiwan) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (analytical balance, SHIMADZU, TXB 222L, Japan) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (analytical balance, SHIMADZU, ATY224, Japan) เครื่องดูดจ่ายสารอัตโนมัติ (autopipette 20-200 microliter, Witeg, Germany) เครื่องดูดจ่ายสารอัตโนมัติ (autopipette 1-5 microliter, Witeg, Germany) เครื่องดูดจ่ายสารอัตโนมัติ (autopipette 1-5 milliliter, BOECO, Germany)

2.1.3 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

สารเคมีที่ใช้ในการทดลองได้แก่ NaCl ร้อยละ 0.85 และ McFarland 0.5 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ De Man Rogosa and Sharp (MRS, HIMEDIA, India)

2.1.4 เชื้อจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ *Bifidobacterium animalis* TISTR 2194, *Enterococcus faecalis* FM 7-6 และ *Lactobacillus fermentum* FW 2.5-6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ขั้นตอนการดำเนินงาน

2.2.1 วิธีเตรียมผลเมล็ดมะม่วงหิมพานต์

นำผลมะม่วงหิมพานต์ที่สุกล้างน้ำคั้นเอาน้ำออกส่วนที่เป็นกากเหลือทิ้งซึ่งน้ำหนักและนำไปตากแดดให้แห้งในกระด้ง ตากแดดให้แห้งใช้เวลาประมาณ 3 วัน ซึ่งน้ำหนักผลมะม่วงหิมพานต์ที่แห้งแล้วนำไปป่นให้ละเอียด เก็บตัวอย่างที่เป็นผงไว้ในห้องเย็นอุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียส

2.2.2 การเตรียมเชื้อสำหรับทดสอบการยับยั้งด้วยสารละลายจากมะม่วงหิมพานต์

เตรียมจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร MRS agar (ไม่ใส่ Bromocresol purple , agar ร้อยละ 1.8) นำเชื้อบริสุทธิ์เลี้ยงจากอาหารแข็ง 24 ชม ซึ่งได้แก่ *L. fermentum* FW 2.5-6, *E. faecalis* FM 7-6 และ *B. animalis* TISTR 2194 ถ่ายเชื้อจำนวน 1 โคโลนีลงใน ปรับเทียบความขุ่นให้เท่ากับสารละลาย Mcfarland 0.5

2.2.3 การทดสอบการยับยั้งด้วยสารละลายจากมะม่วงหิมพานต์

นำเชื้อจาก NaCl ร้อยละ 0.85 ที่ปรับเทียบกับสารละลาย Mcfarland 0.5 นำมา swab ลงในอาหารแข็ง โดยเชื้อ *L. fermentum* FW 2.5-6 , *E. faecalis* FM 7-6 และ *B. animalis* TISTR 2194 ทำการ swab ลงใน MRS agar จากนั้นใช้ Cork borer No.3 เจาะให้เป็นรูจานเพาะเชื้อละ 3 หลุม ปิเปตต์สารละลายจากผลมะม่วงหิมพานต์ลงในหลุม ที่เจาะไว้ที่ความเข้มข้นต่างกัน คือ 1:3, 1:5 และ 1:10 ทำการบ่มในสภาพไร้อากาศ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สารละลายมะม่วงหิมพานต์เตรียมโดยนำผงมะม่วงหิมพานต์ 1 กรัมละลายในน้ำ 1, 3, 5 และ 10 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 6,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที ตูดเอาส่วนใสมากรองด้วยตัวกรองขนาด 0.2 ไมโครเมตร ตรวจสอบผลโดยการดูบริเวณโซนใสที่เกิดขึ้น

2.3 ผลการทดลองและวิจารณ์

จากการทดลอง โดยการนำผงแห้งจากผลมะม่วงหิมพานต์ผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วนที่กำหนดไว้ปั่นเหวี่ยง แล้วดูแต่ส่วนใสนำมาทดสอบกับเชื้อโพรไบโอติก 3 ชนิด พบว่าไม่เกิดโซนใสแสดงดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 แสดงโซนใสจากการยับยั้งของสารสกัดผลมะม่วงหิมพานต์ต่อเชื้อ *Enterococcus faecalis* FM 7-6, *Lactobacillus fermentum* FW 2.5-6 และ *Bifidobacterium animalis* TISTR 2194

ขนาดโซนใสบน MRS agar ของเชื้อโพรไบโอติก(เซนติเมตร)	สารละลายมะม่วงหิมพานต์ (ตัวอย่าง : น้ำกลั่น)		
	1 : 3	1 : 5	1 : 10
<i>Enterococcus faecalis</i> FM 7-6	-	-	-
<i>Lactobacillus fermentum</i> FW 2.5-6	-	-	-
<i>Bifidobacterium animalis</i> TISTR 2194	-	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลการยับยั้งจากสารละลายจากมะม่วงหิมพานต์ โดยการนำผงแห้งจากผลมะม่วงหิมพานต์ผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วนต่างๆ พบว่าสารละลายจากมะม่วงหิมพานต์ไม่ยับยั้งการเจริญของเชื้อโพรโตอิก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้