เอกโซพอลิแซ็กคาไรด์จากแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกและการประยุกต์ใช้ในมายองเนส

นางสาวกุลธิดา ทองภูเบศร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาจุลชีววิทยาและเทคโนโลยีจุลินทรีย์ ภาควิชาจุลชีววิทยา
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2559
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

EXOPOLYSACCHARIDE FROM LACTIC ACID BACTERIA AND THE APPLICATION IN MAYONNAISE

Miss Kullathida Thongbhubate

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Microbiology and Microbial Technology
Department of Microbiology
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2016

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	เอกโซพอลิแซ็กคาไรด์จากแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกและการประยุกต์ใช้ในมายองเนส
โดย	นางสาวกุลธิดา ทองภูเบศร์
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาและเทคโนโลยีจุลินทรีย์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ จิราภรณ์ ธนียวัน
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธนียวัน

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ ดร. พลกฤษณ์ แสงวณิช)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุชาดา จันทร์ประทีป นภาธร)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ จิราภรณ์ ธนียวัน)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุเทพ ธนียวัน)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปาหนัน เริงสำราญ)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รมณี สงวนดีกุล)

กุลธิดา ทองภูเบศร์ : เอกโซพอลิแซ็กคาไรด์จากแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกและการประยุกต์ใช้ในมายองเนส (EXOPOLYSACCHARIDE FROM LACTIC ACID BACTERIA AND THE APPLICATION IN MAYONNAISE) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ. จิราภรณ์ ธนียวัน, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: รศ. ดร. สุเทพ ธนียวัน, 156 หน้า.

แบคทีเรียผลิตกรดแลกติกจัดเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่ได้รับความสนใจในวงการอุตสาหกรรมต่างๆ โดยเฉพาะอุตสาหกรรมอาหารเนื่องจากความสามารถในการผลิต สารทุติยภูมิหนึ่งในนั้นคือเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ประกอบกับการได้รับการรับรองว่าเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ปลอดภัยอีกทั้งเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้ก็มีความปลอดภัยและมีลักษณะเฉพาะที่คงรสชาติของผลิตภัณฑ์จึงได้รับการใช้ในอุตสาหกรรมอาหารอย่างกว้างขวาง ในการศึกษานี้ได้คัดแยกแบคทีเรียจากผัก ผลไม้ และอาหารหมักดองทั้งสิ้น 11 ตัวอย่าง และทดสอบความสามารถในการผลิตเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ (EPS) บนอาหาร MRS คัดเลือกแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกที่มีโคโลนีเยิ้มที่สุด 8 ไอโซเลตกำหนดรหัสเป็น P01 ถึง P08 หลังการศึกษาลักษณะทางโครงสร้าง ทางเคมี ทางกายภาพ และทางชีวเคมีของเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้สามารถจัดแบคทีเรียที่ได้ในสกุล *Leuconostoc, Lactobacillus, Acetobacter* และ *Pediococcus* ในจำนวนนี้ P06 (*Pediococcus pentosaceus*) ให้ผลผลิตเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์สูงสุดที่ 21.91± 0.98 กรัมต่อลิตร การวิเคราะห์ชนิดของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบโดยการย่อยด้วยกรดและวิเคราะห์โดย HPLC พบว่ามีกลูโคสเป็นองค์ประกอบเพียงอย่างเดียว เอ็กโซพอลิแซ็กคาไรด์นี้สามารถละลายได้ดีในน้ำกลั่น แต่ไม่ละลายใน ตัวทำละลายอินทรีย์ เมทานอล อะซิโตน ไอโซโพรพานอล บิวทานอล สมบัติที่สำคัญสำหรับการใช้พอลิแซ็กคาไรด์ในการผลิตมายองเนสคือความเป็นอิมัลซีไฟเออร์และความหนืดที่ได้ พบว่า สายพันธุ์ P06 ก่ออิมัลชั่นได้สูงสุดในน้ำมันมะกอก (45.14 ± 0.89 %) และมีความหนืดที่ 0.613 Pa·s จึงเลือก P06 เพื่อใช้ในการผลิตมายองเนสโดยทดลองใช้กับมายองเนสสูตรไขมันต่ำ 3 สูตรได้แก่ มายองเนสชนิดลดไขมันลดไข่แดงและชนิดลดทั้งไข่แดงและไขมันและใช้มายองเนสสูตรปกติและมายองเนสไขมันต่ำทางการค้าเป็นชุดควบคุม ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติของมายองเนสพบว่า มายองเนสสูตรลดไขมันที่เติมพอลิแซ็กคาไรด์ 5% (w/w) และมายองเนสสูตรลดไข่แดงและไขมันที่เติมพอลิแซ็กคาไรด์ 3% (w/w) แสดงค่าความหนืด 32.722 Pa·s และ 28.928 Pa·s ตามลำดับที่สูงกว่ามายองเนสสูตรไขมันต่ำทางการค้าและมีค่าความหนืดเท่ากับ 32.722 Pa·s และ 28.928 Pa·s เทียบกับ 25.433 Pa·s ของมายองเนสสูตรไขมันต่ำทางการค้า นอกจากนี้ยังมีค่าการให้พลังงานความร้อนของสูตรลดไข่แดงและไขมันที่มีการเติมพอลิแซ็กคาไรด์ 3% (w/w) ที่ 6.11 กิโลแคลอรี่ต่อกรัมซึ่งสูงกว่าของสูตรไขมันต่ำทางการค้าเล็กน้อย (5.42 กิโลแคลอรี่ต่อกรัม)

ภาควิชา	จุลชีววิทยา	ลายมือชื่อนิสิต .....
สาขาวิชา	จุลชีววิทยาและเทคโนโลยีจุลินทรีย์	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....
ปีการศึกษา	2559	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม .....

5871914423 : MAJOR MICROBIOLOGY AND MICROBIAL TECHNOLOGY
KEYWORDS: EXOPOLYSACCHARIDE/LACTIC ACID BACTERIA/MAYONNAISE

KULLATHIDA THONGBHUBATE: EXOPOLYSACCHARIDE FROM LACTIC ACID BACTERIA AND THE APPLICATION IN MAYONNAISE. ADVISOR: ASSOC. PROF. JIRAPORN THANIYAVARN, CO-ADVISOR: ASSOC. PROF. SUTHEP THANIYAVARN, Ph.D., 156 pp.

Lactic acid bacteria is a group of bacteria gain interested in various industries, in particular, Food industry owing to their abilities of producing metabolites. Among them couple to the widely acceptance as GRAS (generally recognized as safe) without altering their tastes contribute to highly attracted to food industry. In the present study, samples were collected from Thai fermented vegetables and fruits. Eighty eight isolated with ability in producing exopolysaccharide on MRS medium were isolated. Among these, 8 isolates (P01-P08) showed higher mucoid colonies were selected for further studies. Morphological, chemical, physiological and biochemical studies were performed thus, the bacteria obtained could be classified as genera *Leuconostoc, Lactobacillus, Acetobacter* and *Pediococcus* by which the strain P06 (*Pediococcus pentosaceus*) gave highest exopolysaccharide production at 21.91± 0.98 g/l in MRS supplemented with 4% sucrose. Analysis of its monosaccharide content upon acid digestion followed by HPLC analysis revealed glucose as the only monosaccharide present. This exopolysaccharide is soluble in distilled water but failed to dissolved in organic solvent including methanol, acetone, isopropanol and butanol. As the important features of the polysaccharide for their employment in Mayonnaise production are their emulsifying activities as well as viscosities obtained. We therefore selected P06 EPS producer in further studies in which P6 exopolysaccharide was added into 3 formula of Mayonnaise including: low fat mayonnaise which is form of Reduced oil (RF); Reduced egg yolk (RE) and Reduced both oil and egg yolk (RFE using Full fat (FF) and low fat mayonnaise from commercial (Heinz) as a control. EPS P06 showed highest emulsified activity in olive oil as well as highest viscosity at 0.613 Pa·s as well. Regarding their rheology, 5% RF and 3% RFE showed 32.722 Pa·s and 28.928 Pa·s respectively the vales of which higher than control (commercially available) 25.433 Pa·s. In addition, 3% RFE mayonnaise gave lowest caloric value (6.11 kcal/g) slightly higher than that of commercial low fat mayonnaise (5.42 kcal/g).

Department:	Microbiology	Student's Signature .....
Field of Study:	Microbiology and Microbial Technology	Advisor's Signature .....
		Co-Advisor's Signature .....
Academic Year:	2016	

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความอนุเคราะห์ช่วยเหลือจากบุคคลหลายท่าน ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร.สุเทพ ธนียวัน และรองศาสตราจารย์จิราภรณ์ ธนียวัน อาจารย์ที่ปรึกษา ที่ให้คำปรึกษา คำแนะนำ หลักการในการดำเนินงานวิจัย และเป็นกำลังใจที่สำคัญในการทำวิจัย ขอบพระคุณอาจารย์อย่างสูงที่ให้ความกรุณาและความเมตตามาโดยตลอดจนทำให้งานวิจัยสามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีจนวิทยานิพนธ์เสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. สุชาดา จันทร์ประทีป นภาธร ที่กรุณารับเป็นประธานในการสอบวิทยานิพนธ์ และขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปาหนัน เริงสำราญที่กรุณารับเป็นกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้คำแนะนำ และความช่วยเหลือต่างๆ รวมทั้งช่วยปรับปรุงและแก้ไขเล่มวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณศาสตราจารย์ ดร.สมบูรณ์ ธนาศุภวัฒน์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการตรวจวิเคราะห์การใช้น้ำตาลของเชื้อ

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านในภาควิชาจุลชีววิทยาที่ให้ความรู้ และความช่วยเหลือต่างๆ และเจ้าหน้าที่ของภาควิชาจุลชีววิทยา และภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ที่ให้ความช่วยเหลือ คำแนะนำ และให้ความเอ็นดู จนทำให้การทำวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รมณี สงวนดีกุล อาจารย์ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความช่วยเหลือ ความเมตตา กำลังใจและคำแนะนำต่างๆที่เป็นประโยชน์ต่อการทำงานวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณนางสาวรุ่งนภา อ่อนชู นางอำไพ เขตสาลี เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาเทคโนโลยีทางการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความช่วยเหลือ ตลอดคำแนะนำต่างๆที่เป็นประโยชน์สำหรับการทำงานวิจัย

ขอขอบคุณพี่ๆน้องๆห้อง 1804/12 พี่ชินจู พี่นุช พี่มุก พี่เกด พี่พิน พี่พลอย พี่กมล พี่ติ๋ง พี่เหมียว พี่นุ่น เฟิร์น จ๋อม พลอย ตลอดทั้งพี่ๆน้องๆเพื่อนๆในภาควิชาจุลชีววิทยาทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือ ให้คำแนะนำ ให้ความรู้ในการทำวิจัย และให้กำลังใจมาโดยตลอด

สุดท้ายขอกราบขอบพระคุณครอบครัวและเพื่อนๆทุกคนที่ให้คำแนะนำ และกำลังใจจนทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ

กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ

สารบัญ ..... ช

สารบัญรูป ..... ฌ

สารบัญตาราง ..... ต

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ประวัติความเป็นมา 1

1.2 วัตถุประสงค์ 4

1.3 ขั้นตอนการดำเนินการ 4

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 4

บทที่ 2 ปริทัศน์วรรณกรรม 5

2.1 พอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) 5

2.2 พอลิแซ็กคาไรด์จากจุลินทรีย์ (microbial polysaccharide) 7

2.2.1 การจัดจำแนกตามชนิดของพอลิแซ็กคาไรด์ 7

2.2.1.1 ฮอมอพอลิแซ็กคาไรด์ 8

2.2.1.1.1 ฟรักแทน 9

2.2.1.1.1.1 ลีแวน 9

2.2.1.1.1.2 อินูลิน 10

2.2.1.1.2 กลูแคน 10

2.2.1.1.2.1 เดกซ์แทรน 11

2.2.1.1.2.2 มิวแทน 11

หน้า

2.2.1.1.2.3 อัลเทอแนน 12
2.2.1.1.2.4 ริวเทอแรน 12
2.2.1.2 เฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ 13
2.2.1.2.1 แซนแทน 13
2.2.1.2.2 เจลแลน 14
2.2.1.2.3 อัลจิเนต 14
2.2.1.2.4 กรดไฮยาลูโลนิก 15
2.2.2 การจัดจำแนกตามชนิดของประจุไฟฟ้าภายในอนุภาคของพอลิแซ็กคาไรด์ แบ่งได้เป็น 3 ชนิด (Cui, 2005) 15
2.2.2.1 พอลิแซ็กคาไรด์ที่มีประจุเป็นลบ (anionic polysaccharide) 15
2.2.2.2 พอลิแซ็กคาไรด์ที่มีประจุเป็นกลาง (neutral polysaccharide) 15
2.2.2.3 พอลิแซ็กคาไรด์ที่มีประจุเป็นบวก (cationic polysaccharide) 15
2.3 แบคทีเรียผลิตกรดแลกติก และพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก 16
2.3.1 *Aerococcus* 16
2.3.2 *Alloiococcus* 16
2.3.3 *Bifidobacterium* 16
2.3.4 *Carnobacterium* 16
2.3.5 *Enterococcus* 17
2.3.6 *Lactobacillus* 17
2.3.7 *Lactococcus* 18
2.3.8 *Leuconostoc* 18
2.3.9 *Pediococcus* 18
2.3.10 *Streptococcus* 18

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หน้า

2.3.11 *Tetragenococcus* 19
2.3.12 *Vagococcus* 19
2.3.13 *Weisella* 19
2.4 การนำพอลิแซ็กคาไรด์ไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม 22
2.5 การนำพอลิแซ็กคาไรด์ไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร 25
2.6 อิมัลชัน 28
2.7 เทคนิคการวิเคราะห์สมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์ 33
2.7.1 ไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี (High Performance Liquid chromatography หรือ HPLC) 33
2.7.2 เทอร์โมกราวิเมทริกแอนาไลซิส (Thermogravimetric analysis: TGA) 34
2.8 สมบัติการไหล (Rheological properties) 34
2.8.1 ลักษณะทางการไหลของของเหลว 35
บทที่ 3 อุปกรณ์ เคมีภัณฑ์ และวิธีการทดลอง 37
3.1 วัสดุและอุปกรณ์ 37
3.2 เคมีภัณฑ์ 38
3.3 วิธีการทดลอง 40
3.3.1 การคัดแยกแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก 40
3.3.2 การเก็บรักษาแบคทีเรียเพื่อใช้ในงานวิจัย 40
3.3.2.1 การเก็บเชื้อระยะสั้น 40
3.3.2.2 การเก็บเชื้อระยะยาว 40
3.3.3 การพิสูจน์เอกลักษณ์ทางอนุกรมวิธานของแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกที่คัดเลือกโดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rDNA (16S ribosomal DNA) 41
3.3.4 การผลิตและสกัดแยกพอลิแซ็กคาไรด์จากแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกที่คัดเลือกได้ 41
3.3.4.1 การเตรียมหัวเชื้อ 41

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หน้า

3.3.4.2 การผลิตและสกัดแยกพอลิแซ็กคาไรด์ 41
3.3.5 การคัดเลือกแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกไอโซเลตที่เหมาะสม 42
3.3.6 การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและการทดสอบลักษณะทางชีวเคมีเบื้องต้นของแบคทีเรียที่คัดเลือก 42
3.3.6.1 การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา 42
3.3.6.2 การทดสอบทางชีวเคมีเบื้องต้น โดยวิธีอ้างอิงจาก Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Kandler และ Weiss, 1986) 42
3.3.6.2.1 ความสามารถในการสร้างเอนไซม์แคทาเลส 43
3.3.6.2.2 ความสามารถในการสร้างเอนไซม์ออกซิเดส (oxidase test) 43
3.3.6.2.3 ความสามารถในการเคลื่อนที่ (motility test) 43
3.3.6.2.4 ความสามารถในการเจริญในอาหาร 6.5% และ 18% NaCl 43
3.3.6.2.5 ความสามารถในการเจริญในอาหารที่มี pH 4.4 และ 9.6 43
3.3.6.2.6 ความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิ 10 และ 45 องศาเซลเซียส 44
3.3.6.2.7 ความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคสด้วยกระบวนการหมักเพื่อศึกษาถึงความสามารถในการผลิตกรดแลกติกเพียงอย่างเดียว (homofermentative) 44
3.3.6.2.8 ความสามารถในการใช้น้ำตาล 44
3.3.7 ศึกษาปริมาณแหล่งคาร์บอนในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ 44
3.3.8 ศึกษาลักษณะสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของพอลิแซ็กคาไรด์ 45
3.3.8.1 ความสามารถในการละลาย (solubility test) 45
3.3.8.2 ความสามารถในการอุ้มน้ำโดยใช้กระดาษโครมาโตกราฟี (paper chromatography) 45
3.3.8.3 ความสามารถการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของพอลิแซ็กคาไรด์ 45

หน้า

3.3.8.4 วิเคราะห์ชนิดของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์ 46

3.3.8.5 วิเคราะห์องค์ประกอบโดยรวมของพอลิแซ็กคาไรด์ 46

3.3.8.5.1 วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของพอลิแซ็กคาไรด์โดยวิธี Phenol-Sulfuric acid ตามวิธีของ DuBois และคณะ (1956) ... 46

3.3.8.5.2 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์โดยวิธี Protein Dye Binding ตามวิธีของ Bradford (1976) 47

3.3.8.6 การวิเคราะห์หาชนิดประจุของพอลิแซ็กคาไรด์ 47

3.3.8.7 การวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนด้วยเทคนิคเทอร์โมกราวิเมทริกอะนาไลซิส (TGA) 47

3.3.8.8 การวัดความหนืด 47

3.3.9 การคัดเลือกแบคทีเรียสายพันธุ์ที่เหมาะสมเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในอาหาร 48

3.3.10 ศึกษาชนิดของแหล่งคาร์บอนในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ในสายพันธุ์ที่คัดเลือกเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ 48

3.3.11 ศึกษารูปแบบการเจริญ การใช้น้ำตาล และการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้ 48

3.3.11.1 ศึกษารูปแบบการเจริญของแบคทีเรียจากสายพันธุ์ที่คัดเลือกเพื่อนำไปประยุกต์ใช้โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสง 48

3.3.11.2 ศึกษารูปแบบการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือก เพื่อนำไปประยุกต์ใช้โดยการวัดน้ำหนักเซลล์แห้ง 48

3.3.11.3 ศึกษารูปแบบการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุที่คัดเลือกเพื่อนำไปประยุกต์ใช้โดยการ Drop plate 49

3.3.11.4 การศึกษาการใช้น้ำตาลของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้ 49

3.3.11.5 ศึกษารูปแบบการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือกเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ 49

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

หน้า

3.3.11.6 ศึกษาความหนืดของพอลิแซ็กคาไรด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือก เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ที่ความเข้มข้นต่างๆ 50
3.3.12 การประยุกต์ใช้ในมายองเนส 50
3.3.12.1 เตรียมมายองเนสไขมันต่ำตามวิธีดัดแปลงของ Kiosseoglou และ Sherman (1983) 50
3.3.12.2 ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์และการกระจายอนุภาคของอิมัลชัน 51
3.3.12.3 วัดความหนืดของมายองเนส 51
3.3.12.4 วัดค่าความเป็นกรดด่างของมายองเนส 51
3.3.12.5 วิเคราะห์ค่าปริมาณการให้พลังงาน 51
3.3.12.6 วิเคราะห์ค่าสี 51
3.3.12.7 วัดค่าปริมาณน้ำอิสระในมายองเนส 52
3.3.12.8 วิเคราะห์ความคงตัวของมายองเนส 52
3.3.12.9 วิเคราะห์จุลินทรีย์ทั้งหมดในมายองเนส 52
3.3.12.10 วิเคราะห์ยีสต์และราในมายองเนส 52
3.3.12.11 วิเคราะห์โคลิฟอร์มในมายองเนส 52
3.3.12.12 วิเคราะห์แล็กโทบาซิลลัสในมายองเนส 53
บทที่ 4 ผลการทดลอง 54
4.1 การคัดแยกแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกที่สามารถสร้างพอลิแซ็กคาไรด์ได้จากตัวอย่าง 54
4.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์ทางอนุกรมวิธานของแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกที่คัดเลือกได้ 57
4.3 การสร้างสายสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ 58
4.4 ประสิทธิภาพในการผลิตเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ของแบคทีเรียไอโซเลตที่คัดเลือกได้ 60
4.5 การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและการทดสอบลักษณะทางชีวเคมีเบื้องต้นของแบคทีเรียที่คัดเลือก 60
4.5.1 การทดสอบทางชีวเคมีเบื้องต้นของแบคทีเรียไอโซเลต P01, P03 และ P06 60

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หน้า

4.5.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา 63
4.6 ศึกษาปริมาณแหล่งคาร์บอนในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ . 65
4.7 การศึกษาลักษณะสมบัติทางเคมีและกายภาพของพอลิแซ็กคาไรด์..... 67
4.7.1 ความสามารถในการละลาย 67
4.7.2 ความสามารถในการอุ้มน้ำโดยใช้กระดาษโครมาโตกราฟี..... 67
4.7.3 ความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของพอลิแซ็กคาไรด์ 68
4.7.4 วิเคราะห์ชนิดของน้ำตาลที่เป็นโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์.. 69
4.7.5 วิเคราะห์องค์ประกอบโดยรวมของพอลิแซ็กคาไรด์..... 71
4.7.6 วิเคราะห์หาชนิดประจุของพอลิแซ็กคาไรด์ 71
4.7.7 วิเคราะห์สมบัติทางความร้อนด้วยเทคนิคเทอร์โมกราวิเมทริกอะนาไลซิส (TGA)..... 72
4.7.8 การวัดความหนืด 75
4.7.9 การคัดเลือกแบคทีเรียสายพันธุ์ที่เหมาะสมเพื่อนำไปประยุกต์ในมายองเนส 78
4.7.10 ศึกษาชนิดแหล่งคาร์บอนในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ในแบคทีเรียไอโซเลต P06..... 79
4.7.11 ศึกษารูปแบบการเจริญ การใช้น้ำตาล และการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ของแบคทีเรียไอโซเลต P06 80
4.7.11.1 ศึกษารูปแบบการเจริญของแบคทีเรียไอโซเลต P06 โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสง..... 80
4.7.11.2 ศึกษารูปแบบการเจริญของแบคทีเรียไอโซเลต P06 โดยการวัดน้ำหนักเซลล์..... 80
4.7.11.3 ศึกษารูปแบบการเจริญของแบคทีเรียไอโซเลต P06 ด้วยวิธี Drop plate .. 81
4.7.11.4 ศึกษารูปแบบการใช้น้ำตาลของแบคทีเรียไอโซเลต P06..... 82
4.7.11.5 ศึกษารูปแบบการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ของแบคทีเรียไอโซเลต P06 83

หน้า

4.7.11.6 ความหนืดของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของแบคทีเรีย ไอโซเลต P06 84
4.7.12 การประยุกต์ใช้ในมายองเนส 87
4.7.12.1 ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์และการกระจายอนุภาคของอิมัลชัน 87
4.7.12.2 วัดความหนืดของมายองเนส 89
4.7.12.3 ติดตามค่าความเป็นกรดด่างของมายองเนส 91
4.7.12.4 วัดค่าปริมาณการให้พลังงาน 93
4.7.12.5 วิเคราะห์ค่าสี 94
4.7.12.6 วัดค่าปริมาณน้ำอิสระในมายองเนส 100
4.7.12.7 วิเคราะห์ความคงตัวของมายองเนส 102
4.7.12.8 วิเคราะห์จุลินทรีย์ทั้งหมดในมายองเนส 104
4.7.12.9 วิเคราะห์ยีสต์และราในมายองเนส 104
4.7.12.10 วิเคราะห์โคลิฟอร์มในมายองเนส 104
4.7.12.11 วิเคราะห์แล็กโทบาซิลลัสในมายองเนส 105
บทที่ 5 สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง 106
รายการอ้างอิง 113
ภาคผนวก ก สูตรอาหารและวิธีเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ 129
ภาคผนวก ข สารเคมี 132
ภาคผนวก ค กราฟมาตรฐาน 134
ภาคผนวก ง มอก. มายองเนสและสลัดครีม 140
ภาคผนวก จ ข้อมูลนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ 16s rDNA 147
ภาคผนวก ช ลักษณะอนุภาคมายองเนสและมายองเนสที่ผลิตได้ 151
ภาคผนวก ช สูตรมายองเนสทางการค้า บริษัท ไฮน์ 155

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

หน้า

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 156

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญรูป

รูปที่ 2.1 การจำแนกฮอมอพอลิแซ็กคาไรด์ 8

รูปที่ 2.2 การสังเคราะห์ฮอมอพอลิแซ็กคาไรด์ 8

รูปที่ 2.3 โครงสร้างของลีแวน 9

รูปที่ 2.4 โครงสร้างของอินูลิน 10

รูปที่ 2.5 โครงสร้างของเดกซ์แทรน 11

รูปที่ 2.6 โครงสร้างของมิวแทน 12

รูปที่ 2.7 โครงสร้างของอัลเทอแนน 12

รูปที่ 2.8 โครงสร้างของแซนแทน 13

รูปที่ 2.9 โครงสร้างของเจลแลน 14

รูปที่ 2.10 โครงสร้างของอัลจิเนต 14

รูปที่ 2.11 โครงสร้างของกรดไฮยาลูโลนิก 15

รูปที่ 2.12 ความสัมพันธ์ระหว่างสมบัติทางกายภาพและการนำไปประยุกต์ใช้ 23

รูปที่ 2.13 กลไกความไม่คงตัวของอิมัลชัน (mechanisms of emulsion instability) 30

รูปที่ 2.14 ลักษณะการไหลของของเหลว 36

รูปที่ 4.1 สายสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของแบคทีเรียไอโซเลต P01, P03, P06 และP07 เพื่อจำแนกชนิดของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ จากนั้นสร้างสายสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) โดยวิธีวิเคราะห์ Neighbor-joining ด้วยโปรแกรม MEGA 6 ใช้แบบจำลอง Kimura-2 parameter สำหรับการวิเคราะห์ nucleotide sequence divergence และวิเคราะห์ค่า Boostrap จำนวน 1,000 ซ้ำ 59

รูปที่ 4.2 โครมาโทแกรมแสดงชนิดมอนอเมอร์ที่เป็นองค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์ของแบคทีเรีย ก) ไอโซเลต P01 ข) ไอโซเลต P03 และค) ไอโซเลต P06 70

รูปที่ 4.3 ก) ชนิดประจุของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียไอโซเลต P01 ข) พอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียไอโซเลต P03 ค) พอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียไอโซเลต P06 ง) สารละลาย CPC และโซเดียมคลอไรด์ (ชุดควบคุมที่มีประจุบวก) และจ) แซนแทนกัม (ชุดควบคุมที่มีประจุลบ)..... 72

รูปที่ 4.4 โครมาโทแกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิที่สลายตัวและการสูญเสียน้ำหนักของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียไอโซเลต P01 โดยการทดสอบใช้ช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 30–600 องศาเซลเซียส 73

รูปที่ 4.5 โครมาโทแกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิที่สลายตัวและการสูญเสียน้ำหนักของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียไอโซเลต P03 โดยการทดสอบใช้ช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 30–600 องศาเซลเซียส 74

รูปที่ 4.6 โครมาโทแกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิที่สลายตัวและการสูญเสียน้ำหนักของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียไอโซเลต P06 โดยการทดสอบใช้ช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 30–600 องศาเซลเซียส 75

รูปที่ 4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างความหนืดและอัตราเฉือนในช่วง 0.04–400 วินาที$^{-1}$ ของพอลิแซ็กคาไรด์จากไอโซเลต P01 ที่ความเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร..... 76

รูปที่ 4.8 ความสัมพันธ์ระหว่างความหนืดและอัตราเฉือนในช่วง 0.04–400 วินาที$^{-1}$ ของพอลิแซ็กคาไรด์จากไอโซเลต P03 ที่ความเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร..... 77

รูปที่ 4.9 ความสัมพันธ์ระหว่างความหนืดและอัตราเฉือนในช่วง 0.04–400 วินาที$^{-1}$ ของพอลิแซ็กคาไรด์จากไอโซเลต P06 ที่ความเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร..... 77

รูปที่ 4.10 ความสัมพันธ์ระหว่างความหนืดและอัตราเฉือนในช่วง 0.04–400 วินาที$^{-1}$ ของแซนแทนกัมที่ความเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร..... 78

รูปที่ 4.11 รูปแบบการเจริญของแบคทีเรียไอโซเลต P06 โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร 80

รูปที่ 4.12 รูปแบบการเจริญของแบคทีเรียไอโซเลต P06 โดยการวัดน้ำหนักเซลล์แห้ง..... 81

รูปที่ 4.13 รูปแบบการเจริญของแบคทีเรียไอโซเลต P06 ด้วยวิธี Drop Plates 82

รูปที่ 4.14 รูปแบบการใช้น้ำตาลซูโครสของแบคทีเรียไอโซเลต P06..... 83

รูปที่ 4.15 รูปแบบการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ของแบคทีเรียไอโซเลต P06..... 84

รูปที่ 4.16 ความสัมพันธ์ระหว่างความหนืดและอัตราเฉือนในช่วง 0.04–400 วินาที$^{-1}$ ของพอลิแซ็กคาไรด์จากไอโซเลต P06 ที่ความเข้มข้น 1% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร..... 85

รูปที่ 4.17 ความสัมพันธ์ระหว่างความหนืดและอัตราเฉือนในช่วง 0.04–400 วินาที$^{-1}$ ของพอลิแซ็กคาไรด์จากไอโซเลต P06 ที่ความเข้มข้น 3% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร..... 86

รูปที่ 4.18 ความสัมพันธ์ระหว่างความหนืดและอัตราเฉือนในช่วง 0.04–400 วินาที$^{-1}$ ของพอลิแซ็กคาไรด์จากไอโซเลต P06 ที่ความเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร..... 86

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญตาราง

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างพอลิแซ็กคาไรด์จากสิ่งมีชีวิต 6

ตารางที่ 2.2 ชนิดและหน้าที่ของไบโอพอลิเมอร์ที่พบในธรรมชาติ 7

ตารางที่ 2.3 การแบ่งกลุ่มของแบคทีเรีย *Lactobacillus* ตามชนิดของผลผลิตและอุณหภูมิที่ใช้ในการเจริญ 17

ตารางที่ 2.4 ฮอมอพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก 20

ตารางที่ 2.5 เฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก 21

ตารางที่ 2.6 การประยุกต์ใช้ของพอลิแซ็กคาไรด์ในอุตสาหกรรมต่างๆ 24

ตารางที่ 2.7 ลักษณะสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์และการประยุกต์ใช้ในอาหาร 26

ตารางที่ 2.8 ลักษณะสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์จากจุลินทรีย์ที่ประยุกต์ใช้ในอาหาร 27

ตารางที่ 2.9 ตัวอย่างสูตรมายองเนสและสารเติมแต่งที่ใช้จากบริษัทต่างๆ 32

ตารางที่ 3.1 ส่วนผสมมายองเนสสูตรปกติ สูตรลดไขมัน และสูตรลดไข่แดงตามวิธีดัดแปลงของ **Kiosseoglou และ Sherman (1983)** 50

ตารางที่ 4.1 จำนวนไอโซเลตของแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก และแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกที่สามารถผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างทั้งหมด 55

ตารางที่ 4.2 ความกว้างโคโลนีของแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกที่คัดเลือกจากอาหารหมักดองบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MRS และอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MRS ที่มีความเข้มข้นซูโครส 4% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร 56

ตารางที่ 4.3 ตารางเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16 rDNA ของแบคทีเรียจำนวน 8 ไอโซเลต โดยเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูล Genbank 58

ตารางที่ 4.4 การทดสอบทางชีวเคมีเบื้องต้นของแบคทีเรียที่คัดเลือก 61

ตารางที่ 4.5 ความสามารถในการใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ ของไอโซเลต P01, P03 และ P06 62

ตารางที่ 4.6 การย้อมแกรมของแบคทีเรียที่คัดเลือก 64

ตารางที่ 4.7 ปริมาณเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากไอโซลเต P01 P03 และ P06 ที่ความเข้มข้นซูโครสต่างกัน 66

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4.8 ความสามารถในการละลายของพอลิแซ็กคาไรด์แห้งในตัวทำละลายต่างๆ ที่ความเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ณ อุณหภูมิห้อง 67

ตารางที่ 4.9 เปอร์เซ็นต์การสกัดของเหลวออกจากสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากแบคทีเรียที่คัดเลือกที่ความเข้มข้น 0.5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร 68

ตารางที่ 4.10 ความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากแบคทีเรียไอโซเลตที่คัดเลือกที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผสมกับน้ำมันพืชชนิดต่างๆ ในอัตราส่วน 4:6 69

ตารางที่ 4.11 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณโปรตีนทั้งหมดที่เป็นองค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกไอโซเลต P01, P03 และ P06 71

ตารางที่ 4.12 ความหนืดปรากฏที่อัตราเฉือน 76

ตารางที่ 4.13 ปริมาณการผลิตพอลิแซ็กไรด์จากแบคทีเรียไอโซเลต P06 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาล 4% โดยน้ำหนักต่อปริมาตรเป็นแหล่งคาร์บอนแตกต่างกัน 79

ตารางที่ 4.14 ความหนืดปรากฏที่อัตราเฉือนของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียไอโซเลต P06 ที่ความเข้มข้นต่างๆ 85

ตารางที่ 4.15 ค่าขนาดไขมันอนุภาคมายองเนส (volume-surface mean diameters) ชนิดต่างๆ ที่ผลิตจากพอลิแซ็กคาไรด์ 88

ตารางที่ 4.16 ความหนืดปรากฏที่อัตราเฉือนของมายองเนสที่ผลิตจากพอลิแซ็กคาไรด์และอัตราส่วนที่แตกต่างกัน 90

ตารางที่ 4.17 ค่าความเป็นกรดด่างของมายองเนสที่ผลิตจากพอลิแซ็กคาไรด์และอัตราส่วนที่แตกต่างกัน 92

ตารางที่ 4.18 ค่าพลังงานความร้อนของมายองเนสที่ผลิตจากพอลิแซ็กคาไรด์และอัตราส่วนที่แตกต่างกัน 93

ตารางที่ 4.19 ค่าสี L* ของมายองเนสที่ผลิตจากพอลิแซ็กคาไรด์และอัตราส่วนที่แตกต่างกัน 95

ตารางที่ 4.20 ค่าสี a* ของมายองเนสที่ผลิตจากพอลิแซ็กคาไรด์และอัตราส่วนที่แตกต่างกัน 97

ตารางที่ 4.21 ค่าสี b* ของมายองเนสที่ผลิตจากพอลิแซ็กคาไรด์และอัตราส่วนที่แตกต่างกัน 98

ตารางที่ 4.22 ค่า ΔE^* ของมายองเนสที่ผลิตจากพอลิแซ็กคาไรด์และอัตราส่วนที่แตกต่างกัน 99

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4.23 ค่าปริมาณน้ำอิสระในมายองเนสที่ผลิตจากพอลิแซ็กคาไรด์และอัตราส่วนที่แตกต่างกัน..... 101

ตารางที่ 4.24 ค่าความคงตัวของมายองเนสที่ผลิตจากพอลิแซ็กคาไรด์และอัตราส่วนที่แตกต่างกัน..... 103

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ประวัติความเป็นมา

ภายหลังจากการเข้าร่วมกลุ่มประชาคมอาเซียนทำให้ประเทศต่างๆในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้มีการขยายตัวทางเศรษฐกิจอย่างต่อเนื่อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งอุตสาหกรรมที่มีความเกี่ยวเนื่องกับการดำรงชีพของมนุษย์มากที่สุดอุตสาหกรรมหนึ่ง คือ อุตสาหกรรมอาหาร โดยการพัฒนาคุณภาพและคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์อาหารวิธีหนึ่งที่นิยมคือ การใช้สารเติมแต่ง (Amatayakul และคณะ, 2006) กลุ่มของสารเติมแต่งที่ถูกนำมาใช้คือสารจำพวกไฮโดรคอลลอยด์ (hydrocolloid) สารกลุ่มนี้ถูกนำมาใส่ในอาหาร เพื่อให้อาหารมีคุณลักษณะตรงตามที่ผู้บริโภคต้องการ (Bixler และ Porse, 2010) ประเทศไทยนิยมใช้สารไฮโดรคอลลอยด์ในอุตสาหกรรมอาหารเช่นเดียวกัน แต่สารไฮโดรคอลลอยด์เหล่านี้เป็นวัตถุดิบที่ต้องนำเข้าจากต่างประเทศ ทำให้ต้นทุนการผลิตเพิ่มขึ้นและส่งผลโดยตรงต่อราคาของสินค้า จนเป็นข้อจำกัดต่อการแข่งขันในตลาดโลก หากประเทศไทยมีความสามารถในการผลิตสารดังกล่าวได้เอง จะช่วยลดข้อจำกัดทางการค้าและราคาของผลิตภัณฑ์ลงได้อย่างมาก

สารไฮโดรคอลลอยด์เป็นกลุ่มที่มีสมบัติชอบน้ำ เมื่อละลายน้ำแล้วจะมีสมบัติเป็นคอลลอยด์หรือเจล โครงสร้างของไฮโดรคอลลอยด์เกิดจากมอนอเมอร์ของน้ำตาลมาต่อกันเป็นสายยาวด้วยพันธะไกลโคซิดิก เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ซึ่งจัดว่าเป็นพอลิเมอร์ชนิดหนึ่ง สามารถจำแนกพอลิเมอร์ได้ออกเป็น 2 ชนิด ตามมอนอเมอร์ที่เป็นองค์ประกอบ คือ ฮอมอพอลิเมอร์ (homopolymer) เป็นกลุ่มพอลิเมอร์ที่ประกอบขึ้นจากหน่วยย่อยของน้ำตาลชนิดเดียวกัน และเฮเทอโรพอลิเมอร์ (heteropolymer) เป็นกลุ่มพอลิเมอร์ที่ประกอบขึ้นจากหน่วยย่อยของน้ำตาลมากกว่าหนึ่งชนิด ปัจจุบันพบว่าสิ่งมีชีวิตหลายชนิดสามารถผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้ เช่น พืช สาหร่ายสัตว์ และจุลินทรีย์ (Maeda และคณะ, 2004, Shirsath, 2015) จุลินทรีย์ผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ในช่วงของการเจริญเติบโตโดยอาจยึดติดอยู่ตรงบริเวณผิวของเซลล์หรือกรณีปลดปล่อยออกมาสู่ภายนอกเซลล์เรียกว่าเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ (exopolysaccharide) (Maalej และคณะ, 2016, Mende และคณะ, 2016)

ในอุตสาหกรรมนิยมใช้สารไฮโดรคอลลอยด์ที่สังเคราะห์ทางเคมีและสารสกัดจากพืชซึ่งสหภาพยุโรปไม่อนุญาติให้มีการใช้ (De Vuyst และ Leroy, 2007) จากสมบัติที่เอกโซพอลิแซ็กคาไรด์เป็นโครงสร้างคล้ายร่างแห ช่วยในการอุ้มโมเลกุลน้ำไว้ ทำให้เอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ถูกนำมาแก้ปัญหาด้านข้อจำกัดดังกล่าวในอุตสาหกรรมอาหารอย่างแพร่หลายได้แก่สารเพิ่มความข้นหนืด(viscosifying) สารเพิ่มรสสัมผัส (texture) สารให้ความคงตัว (stabilizer) และสารก่ออิมัลชัน (emulsifier) โดยพบว่ามีการนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์จากนมเช่นโยเกิร์ตและชีส(Van Den Berg และคณะ, 1998) นอกจากนี้เอกโซพอลิแซ็กคาไรด์จากจุลินทรีย์ยังนำไปประยุกต์ใช้งานในอุตสาหกรรมอื่น ได้แก่ อุตสาหกรรมเภสัชกรรม (pharmaceuticals) สารตกตะกอนชีวภาพ (bioflocculants) กระบวนการผลิตสารเคมี (chemical products) (Wang และคณะ, 2008) และอุตสาหกรรมทางการแพทย์ โดยใช้เป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (immunomodulatory) สารต้านการเกิดมะเร็ง (antitumour) สารต้านทานการอักเสบ (anti-inflammatory) รวมไปถึงใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant agent) ตัวอย่างพอลิแซ็กคาไรด์ที่ถูกนำมาใช้งานในอุตสาหกรรมทางการค้า ได้แก่ แซนแทนกัมที่ผลิตจาก Xanthomonas sp. เจลแลนที่ผลิตจาก Sphingomonas sp. เซลลูโลสที่ผลิตจาก Acetobacter xylinum และเคอร์ดแลนที่ผลิตจาก Agrobacterium sp. ซึ่งจะเห็นได้ว่าเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์สามารถผลิตได้จากจุลินทรีย์หลายสายพันธุ์ (Kanlayavattanakul และ Lourith, 2015) หนึ่งในกลุ่มของจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญอย่างมากต่อการผลิตเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์เป็นกลุ่มแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกหรือแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก (Lactic Acid Bacteria หรือ LAB) งานวิจัยก่อนหน้านี้ได้รายงานความสามารถในการผลิตและประยุกต์ใช้งานของเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์จากแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก และได้รับการยอมรับว่ามีความปลอดภัยในการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

แบคทีเรียผลิตกรดแลกติก เป็นกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างทั้งแบบกลมและท่อน ไม่มีความสามารถในการสร้างสปอร์และเอนไซม์แคทาเลส (catalase) (Cerning, 1995) ได้แก่ *Lactobacillus, Leuconostoc* และ *Pediococcus* เป็นต้น บางสายพันธุ์พบว่ามีความสามารถในการทนกรดและเจริญที่ความเข้มข้นเกลือสูงได้ (Erkkilä และ Petäjä, 2000) แบคทีเรียในกลุ่มนี้มีความสามารถในการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 อะตอมให้กลายเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ กันไปตามสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ สามารถแบ่งกลุ่มได้เป็น 2 จำพวกตามประเภทและปริมาณของผลิตภัณฑ์จากการย่อย ได้แก่ ฮอมอเฟอร์เมนเททีฟ (homofermentative) ซึ่งมีความสามารถในการผลิตกรดแลกติกเป็นผลิตภัณฑ์หลักและมีการผลิตกรดแอซิติกเล็กน้อย และเฮเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ (heterofermentative) ซึ่งภายหลังกระบวนการย่อยสามารถผลิตกรดแลกติก เอทานอล กรดฟอร์มิก และคาร์บอนไดออกไซด์ (Khalid, 2011) แบคทีเรียผลิตกรดแลกติกสามารถพบได้ในอาหารหมักดอง น้ำปลา เนื้อสัตว์ และซอสปรุงรส เป็นต้น (Tanasupawat Somboon, 1983)

นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้นั้นยังขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น สารอาหาร อุณหภูมิ และปริมาณออกซิเจน (Mathur และ Singh, 2005) แบคทีเรียผลิตกรดแลกติกถูกจัดอยู่ในกลุ่ม GRAS (Generally Reconized as Safe) ซึ่งแสดงว่ามีความปลอดภัยในการนำมาใช้ด้านอาหาร (Kaplan และ Hutkins, 2000)

จากงานวิจัยของสมฤดี ชุณหโรจน์ฤทธิ์ (2551) ที่คัดแยกแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกสายพันธุ์ EN02 จากอ้อย พบว่าผลิตเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ได้เท่ากับ 8.75 กรัมต่อลิตร จากการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางอนุกรมวิธานของ EN02 พบว่าเป็น *Enterobacter cloacae* ปีถัดมาธิดารัตน์ วงศ์รัตน์ (2552) ได้คัดแยกแบคทีเรียสายพันธุ์ CU-CH4 จากผลไม้ พบว่าผลิตเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ได้เท่ากับ 2.38 กรัมต่อลิตร จากการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางอนุกรมวิธานของ CU-CH4 พบว่าเป็นแบคทีเรียในสกุล *Klebsiella* จากงานวิจัยของทั้งสองท่านจะเห็นได้ว่าจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ก่อโรคซึ่งไม่เป็นที่ยอมรับจากผู้บริโภค ต่อมามีงานวิจัยของวิชชุดา วิไลรัศมี (2555) ได้คัดแยกแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกจากผักดอง คือ สายพันธุ์ L06 และ L07 พบว่าผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้เท่ากับ 11.20 และ 11.40 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางอนุกรมวิธานของสายพันธุ์ L06 และ L07 พบว่าเป็นแบคทีเรียในสกุล *Weissella* เมื่อนำพอลิแซ็กคาไรด์จากสายพันธุ์ดังกล่าวมาประยุกต์ใช้ในอาหารเบื้องต้นพบว่ามีความสามารถในการเป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ และสารคงตัวอิมัลชันในน้ำสลัดที่มีส่วนผสมของน้ำมันมะกอกได้ นอกจากนี้ในงานวิจัยของอรพิน บุญเกิด (2557) ได้คัดแยกแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกจากน้ำนม คือ สายพันธุ์ L42 และ L50 พบว่าผลิตพอลิแซ็กคาไรด์อยู่ในช่วงระหว่าง 0.63-1.17 กรัมต่อลิตร และถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการผลิตโยเกิร์ต

ปัจจุบันการผลิตมายองเนสในอุตสาหกรรมใช้สารให้ความคงตัวทางเคมี และไข่แดงเป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ ซึ่งเป็นปัญหาต่อกลุ่มผู้บริโภคที่แพ้ไข่และกลุ่มผู้บริโภคที่ควบคุมอาหาร ดังนั้นมีงานวิจัยนำเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์มาใช้เพื่อทดแทนสารดังกล่าว (Harrison และ Cunningham, 1985) เนื่องจากแอกโซพอลิแซ็กคาไรด์มีสมบัติที่เหมาะสมกับการนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตมายองเนส ได้แก่ ความสามารถในการละลาย ความสามารถในการอุ้มน้ำ และความสามารถในการก่ออิมัลชันที่ดี ในงานวิจัยของSu และคณะ (2010) ได้ศึกษาผลของการใช้พอลิแซ็กคาไรด์เป็นสารให้ความคงตัวในมายองเนสชนิดไขมันต่ำ พบว่าสารพอลิแซ็กคาไรด์มีสมบัติช่วยเพิ่มความข้นหนืดในผลิตภัณฑ์ทดแทนสารให้ความข้นหนืดทางเคมีได้ นอกจากนี้ในงานวิจัยของ Marinescu และคณะ (2011) พบว่ามีการใช้สารพอลิเมอร์จากยีสต์เป็นสารทดแทนไขมัน จัดว่าเป็นการปรับปรุงเนื้อสัมผัสของมายองเนสโดยการใช้สารไบโอพอลิเมอร์มาทดแทนสารสังเคราะห์ทางเคมี ผู้วิจัยจึงสนใจที่จะผลิตพอลิแซ็กคาไรด์จากแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกตลอดจนศึกษาสมบัติต่างๆ ของพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งด้าน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สมบัติทางเคมีและทางกายภาพ เพื่อใช้เป็นเกณฑ์ในการคัดเลือกพอลิแซ็กคาไรด์ประยุกต์ใช้เบื้องต้นในอาหารได้อย่างเหมาะสม

1.2 วัตถุประสงค์

เพื่อคัดแยกแล็กติกแอซิดแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตเอ็กโซพอลิแซคคาไรด์โดยศึกษาลักษณะสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของเอ็กโซพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้ เพื่อเป็นแนวทางการศึกษาและนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

1.3 ขั้นตอนการดำเนินการ

1. คัดแยกแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกจากอาหารหมักและผลไม้จากแหล่งต่างๆ
2. ผลิตและสกัดแยกพอลิแซ็กคาไรด์จากแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกที่คัดแยกได้
3. ศึกษาลักษณะสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของพอลิแซ็กคาไรด์
4. ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและพิสูจน์เอกลักษณ์ทางอนุกรมวิธานของแบคทีเรียที่คัดเลือก
5. ประยุกต์ใช้ในการผลิตมายองเนส

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

งานวิจัยนี้ทำให้ทราบสมบัติทางเคมีและกายภาพของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตโดยแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกที่คัดแยกจากอาหารหมักและผลไม้ เพื่อเป็นข้อมูลสำหรับนำไปใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาในการผลิตมายองเนส

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 2
ปริทัศน์วรรณกรรม

2.1 พอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide)

พอลิเมอร์ประกอบจากภาษากรีกสองคำคือคำว่า poly ที่แปลว่ามาก และ mer ที่แปลว่าหน่วย ดังนั้นพอลิเมอร์จึงหมายถึง โครงสร้างของสารประกอบที่เกิดจากการรวมตัวกันของหน่วยย่อยที่ซ้ำกันจำนวนมาก (repeat subunit) โดยเรียกหน่วยย่อยนั้นว่ามอนอเมอร์ (monomer) ตัวอย่างของมอนอเมอร์ที่เป็นองค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์ เช่น กลูโคส (glucose) แมนโนส (mannose) กาแลกโทส (galactose) และกลูโคซามีน (glucosamine) เป็นต้น (Honegger และ Bartnicki-Garcia, 1991) ตัวอย่างพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากสิ่งมีชีวิตแสดงในตารางที่ 2.1 การเชื่อมกันของพอลิเมอร์จะเกิดโดยพันธะโควาเลนต์ พอลิเมอร์จะมีโมเลกุลขนาดใหญ่และมวลโมเลกุลที่สูงโดยพอลิแซ็กคาไรด์จัดเป็นพอลิเมอร์ชนิดหนึ่งที่มีสมบัติเป็นไบโอพอลิเมอร์ คือ พอลิเมอร์ที่เกิดจากกระบวนการทางชีวภาพ โดยมีหน้าที่หลากหลายดังแสดงในตารางที่ 2.2

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 2.1 ตัวอย่างพอลิแซ็กคาไรด์จากสิ่งมีชีวิต

สิ่งมีชีวิต	**พอลิแซ็กคาไรด์**
แบคทีเรีย	แซนแทน (xanthan)
	เดกซ์แทรน (dextran)
	เจลแลน (gellan)
	ลีแวน (levan)
	เคอร์ดแลน (curdlan)
รา	พูลลูแลน (pullulan)
	อัลซิแนน (elsinan)
พืช/สาหร่าย	แป้ง (starch)
	เซลลูโลส (cellulose)
	วุ้น (agar)
	อัลจิเนต (alginate)
	คาราจีแนน (carragenan)
สัตว์	ไคติน (chitin)
	กรดไฮยาลูโรนิก (hyaluronic acid)
	อิมัลแซน (emulsan)

ที่มา Hermand (1993)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 2.2 ชนิดและหน้าที่ของไบโอพอลิเมอร์ที่พบในธรรมชาติ

ชนิดของพอลิเมอร์	หน้าที่
แป้ง	แหล่งสะสมพลังงาน
เซลลูโลส	โครงสร้างของผนังเซลล์
ไกลโคอะมิโนไกลแคน	ช่วยในการติดต่อสื่อสารระหว่างเซลล์
นิวคลีอิกแอซิด	บรรจุข้อมูลทางพันธุกรรม
โปรตีน	แอนติบอดี ตัวเร่งปฏิกิริยา
พอลิไฮดรอกซีอัลคาโนเอท (PHA)	แหล่งสะสมพลังงาน

ที่มา Badel และคณะ (2011)

พอลิแซ็กคาไรด์สามารถแบ่งได้ออกเป็นสองชนิดตามประเภทของมอนอเมอร์ที่เป็นองค์ประกอบในโครงสร้าง คือ ฮอมอพอลิแซ็กคาไรด์คือ พอลิแซ็กคาไรด์ที่เกิดจากมอนอเมอร์เพียงชนิดเดียวเป็นองค์ประกอบในโครงสร้าง หรือเฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์คือ พอลิแซ็กคาไรด์ที่ประกอบขึ้นจากพอลิเมอร์มากกว่าหนึ่งชนิดเป็นองค์ประกอบในโครงสร้าง (Izydorczyk และคณะ, 2005) พอลิแซ็กคาไรด์ทั้งสองชนิดนี้สามารถมีโครงสร้างของพอลิเมอร์ทั้งแบบเส้นตรง หรือแบบที่มีกิ่งก้าน (ramified) โดยโครงสร้างดังกล่าวนี้จะมีผลโดยตรงต่อการเกิดปฏิสัมพันธ์กันในสารละลาย เช่น โครงสร้างแบบเกลียว แผ่นพับ พันธะเดี่ยว พันธะคู่ หรือพันธะสาม เป็นต้น (Sutherland, 2006)

2.2 พอลิแซ็กคาไรด์จากจุลินทรีย์ (microbial polysaccharide)

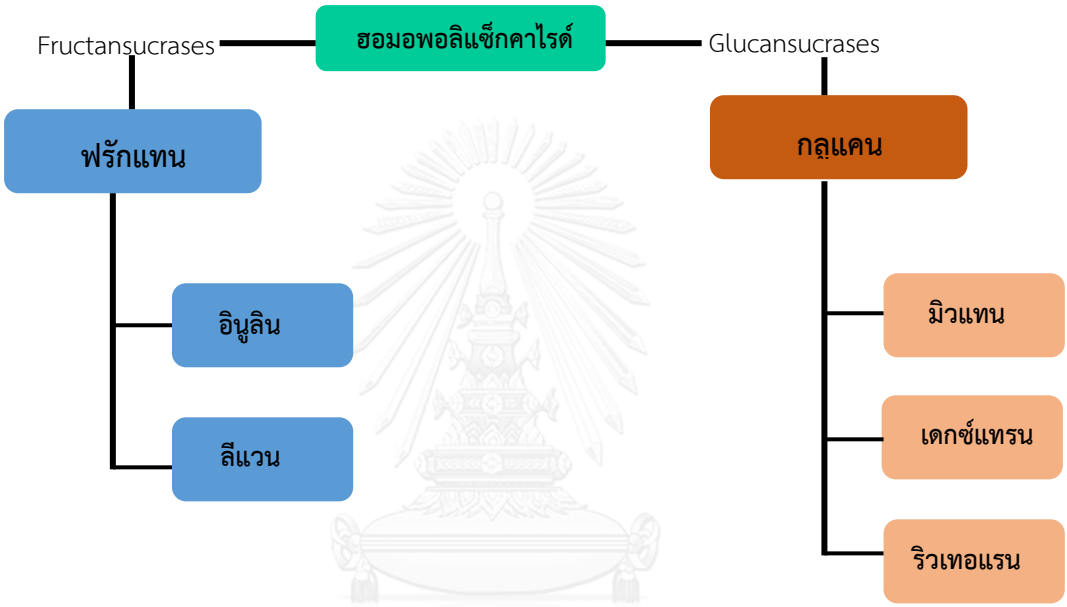
พอลิแซ็กคาไรด์จากจุลินทรีย์ จัดเป็นเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตขึ้นในจุลินทรีย์แล้วปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ในระหว่างการเจริญและไม่ได้ติดอยู่กับผิวของเซลล์ (Laws และ Marshall, 2001) โดยโครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์นี้จะคล้ายคลึงกับแคปซูลที่ติดกับผิวของเซลล์อย่างถาวร การจัดจำแนกชนิดของพอลิแซ็กคาไรด์นั้นสามารถจัดจำแนกได้หลากหลายโดยเกณฑ์การจัดจำแนกดังนี้

2.2.1 การจัดจำแนกตามชนิดของพอลิแซ็กคาไรด์

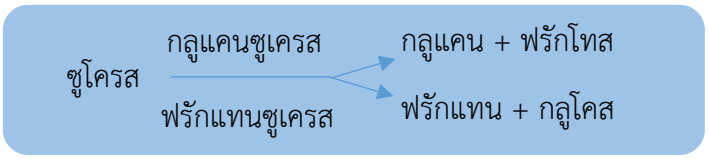
โดยยึดมอนอเมอร์ที่เป็นองค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์ทำให้สามารถจำแนกได้เป็นสองชนิด ได้แก่

2.2.1.1 ฮอมอพอลิแซ็กคาไรด์

เป็นพอลิเมอร์ที่ประกอบขึ้นจากมอนอเมอร์เพียงชนิดเดียว ตัวอย่างเช่น มอนอเมอร์ที่มีองค์ประกอบหลักเป็นกลูโคสจะเรียกพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีกลูโคสเป็นมอนอเมอร์ว่า กลูแคน แต่หากพอลิเมอร์นั้นประกอบขึ้นจากฟรักโตสเป็นมอนอเมอร์จะเรียกว่าฟรักแทน แสดงดังรูปที่ 2.2 โดยการสังเคราะห์พอลิเมอร์ชนิดกลูแคนจะต้องแคตาไลซ์โดยเอนไซม์กลูแคนซูเครส ในขณะที่ฟรักแทนจะอาศัยการทำงานของฟรักแทนซูเครสที่มีความจำเพาะต่อซูโครสเป็นสารตั้งต้น แสดงดังรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.1 การจำแนกฮอมอพอลิแซ็กคาไรด์
ที่มา ดัดแปลงจากBadel และคณะ (2011)



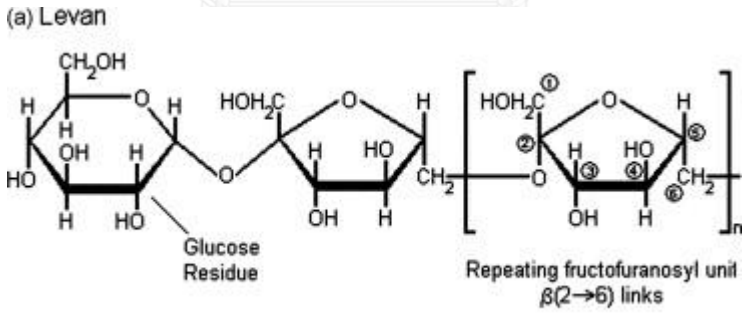
รูปที่ 2.2 การสังเคราะห์ฮอมอพอลิแซ็กคาไรด์
ที่มา Manandhar และคณะ (2009)

2.2.1.1.1 ฟรักแทน

การสังเคราะห์ฟรักแทนนั้นเกิดขึ้นจากฟรักแทนซูเครสซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ปลดปล่อยมาเพื่อใช้ในการสังเคราะห์พอลิเมอร์จำพวกฟรักแทนที่มีมวลโมเลกุลสูงหรือพอลิเมอร์จำพวกฟรักโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่มีมวลโมเลกุลต่ำ โดยฟรักแทนซูเครสสามารถแบ่งออกได้เป็นสองชนิดตามพอลิเมอร์ที่ผลิตคือ ลีแวนซูเครสซึ่งใช้ในการสังเคราะห์ลีแวน อีกชนิดหนึ่งคืออินนูโลซูเครสซึ่งใช้ในการสังเคราะห์อินูลิน (Roberfroid, 2007)

2.2.1.1.1.1 ลีแวน

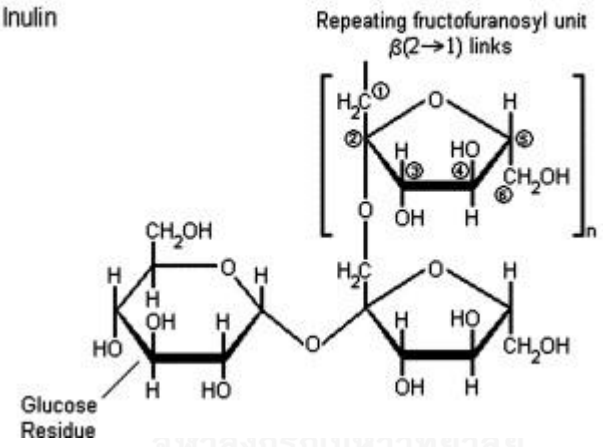
เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดหนึ่งในจำพวกฟรักแทน มีโครงสร้างแบบแตกกิ่งก้าน โดยมีมอนอเมอร์คือฟรักโทส ซึ่งเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ $\beta(2\longrightarrow6)$ การสังเคราะห์ลีแวนนั้นเกิดขึ้นในสิ่งมีชีวิตหลากหลายชนิด และส่งผลให้มีความแตกต่างทั้งขนาดของโมเลกุลและกิ่งก้านในโครงสร้าง โดยมีรายงานระบุว่าลีแวนที่ผลิตจากพืชจะมีมวลโมเลกุลในช่วง 2000 ถึง 33000 ดาลตัน (Rhee และคณะ, 2005) ในขณะที่ลีแวนที่ผลิตจากแบคทีเรียจะมีขนาดมวลโมเลกุลที่สูงมากถึง 2 ถึง 100 ล้านดาลตัน (Keith และคณะ, 1991) โดยลีแวนเป็นพอลิเมอร์ที่มีความหนืดต่ำ (Arvidson และคณะ, 2006) ที่สามารถสลายตัวได้และมีความสามารถในการละลายน้ำ แต่ไม่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ (Manandhar และคณะ, 2009) โครงสร้างของลีแวนแสดงใน รูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 โครงสร้างของลีแวน
ที่มา Manandhar และคณะ (2009)

2.2.1.1.1.2 อินูลิน

เป็นพอลิเมอร์ที่พบได้มากในพืช เช่น ข้าวสาลี หอมใหญ่ กล้วย และกระเทียม เป็นต้น (Niness, 1999) โดยโครงสร้างของโมเลกุลประกอบขึ้นจากฟรักโทสต่อกันด้วยพันธะ $\beta(2\longrightarrow1)$ โดยพบว่าจะมีโมเลกุลของกลูโคสต่ออยู่ในส่วนปลายของสายพอลิเมอร์ซึ่งเชื่อมด้วยพันธะ $\alpha(1\longrightarrow2)$ โดยขนาดของพอลิเมอร์จะอยู่ในช่วง 2 ถึง 60 โมเลกุลของฟรักโทส โดยเฉลี่ยจะอยู่ที่ประมาณ 10 โมเลกุล (De Leenheer และ Hoebregs, 1994) อินูลินถูกนำมาประยุกต์ใช้อย่างกว้างขวาง เช่น ใช้เป็นสารทดแทนความหวานและไขมัน สารเพิ่มความคงตัวของโฟม สารเพิ่มความสเถียรของอิมัลชัน (Franck, 2002) นอกจากนี้อินูลินยังถูกใช้เพื่อเป็นสารเพิ่มรสชาติและเนื้อสัมผัสอีกด้วย (Coussement, 1997) โครงสร้างของอินูลินแสดงในรูปที่ 2.4



จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

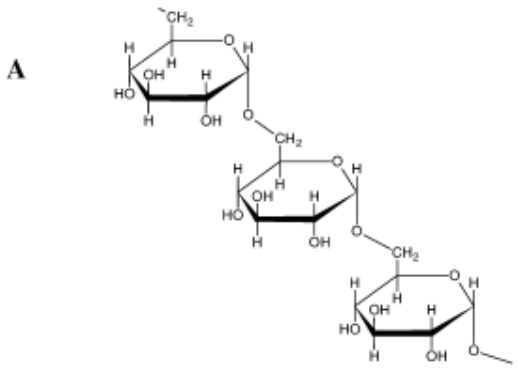
รูปที่ 2.4 โครงสร้างของอินูลิน
ที่มา Manandhar และคณะ (2009)

2.2.1.1.2 กลูแคน

เป็นพอลิเมอร์ที่ประกอบขึ้นจากกลูโคสเป็นมอนอเมอร์ โดยการสังเคราะห์กลูแคนจะอาศัยการทำงานของเอนไซม์กลูแคนซูเครส โดยการตัดซูโครสซึ่งเป็นสารตั้งต้นจำเพาะให้ได้เป็นโมเลกุลกลูโคส ชนิดของกลูแคนถูกจำแนกโดยเอนไซม์ โดยแบ่งออกเป็นสี่ชนิด คือ เดกซ์แทรน มิวแทน อัลเทอแนน และริวเทอแลน (Galle และ Arendt, 2014)

2.2.1.1.2.1 เดกซ์แทรน

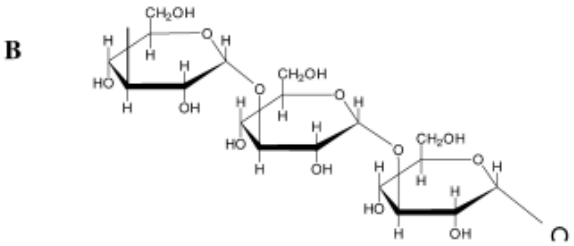
เป็นพอลิเมอร์ที่เกิดจากการทำงานของเอนไซม์เดกซ์แทรนซูเครส โดยมีโครงสร้างหลักคือ $\alpha(1\rightarrow6)$ นอกจากนี้จะมีโครงสร้างของกิ่งก้านแบบ $\alpha(1\rightarrow2)$, $\alpha(1\rightarrow3)$ หรือ $\alpha(1\rightarrow6)$ โดยโครงสร้างของเดกซ์แทรนจะขึ้นกับสายพันธุ์ของจุลินทรีย์หรือชนิดของเอนไซม์ (Naessens และคณะ, 2005) โครงสร้างของเดกซ์แทรนแสดงในรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 โครงสร้างของเดกซ์แทรน
ที่มา Monsan และคณะ (2001)

2.2.1.1.2.2 มิวแทน

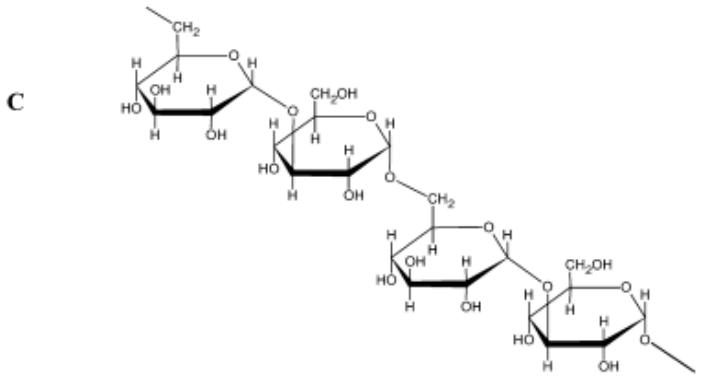
เป็นพอลิเมอร์ที่ประกอบขึ้นโดยมีกลูโคสเป็นหน่วยย่อย ที่เชื่อมกันด้วยพันธะกลูโคซิดิกชนิด $\alpha(1\rightarrow6)$ และ $\alpha(1\rightarrow3)$ โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์มิวแทนซูเครสที่ผลิตจาก *L. mesenteroides* NRRL B-523, B-1149 และ *Streptococcus sp.* (Sidebotham, 1974, Mooser, 1992) โดยมิวแทนจัดเป็นพอลิเมอร์ที่ไม่สามารถละลายน้ำได้ (Monsan และคณะ, 2001) โครงสร้างของมิวแทนแสดงในรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 โครงสร้างของมิวแทน
ที่มา Monsan และคณะ (2001)

2.2.1.1.2.3 อัลเทอแนน

เป็นพอลิเมอร์ที่ประกอบขึ้นโดยมีกลูโคสเป็นหน่วยย่อย ที่เชื่อมกันด้วยพันธะกลูโคซิดิกชนิด $\alpha(1\longrightarrow6)$ และ $\alpha(1\longrightarrow3)$ โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์อัลเทอซูเครสผลิตจาก *L.mesenteroides* NRRL B-512F (Lopez-Munguia และคณะ, 1993) โครงสร้างของอัลเทอแนนแสดงในรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 โครงสร้างของอัลเทอแนน
ที่มา Monsan และคณะ (2001)

2.2.1.1.2.4 ริวเทอแรน

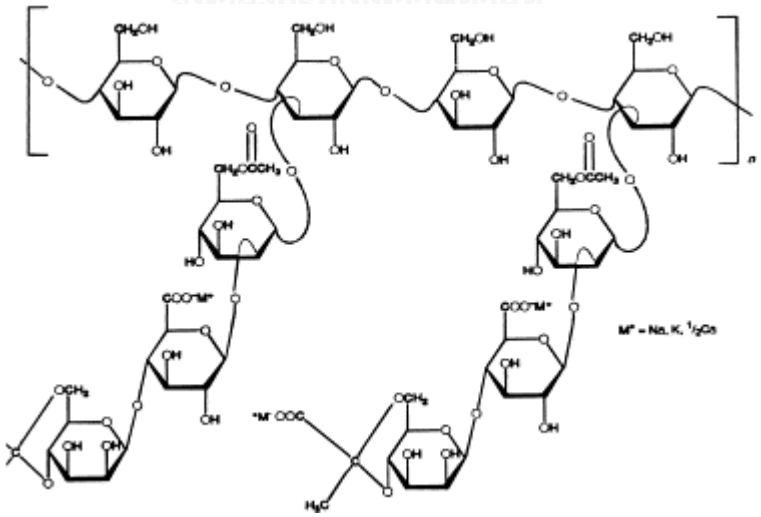
เป็นพอลิเมอร์ที่ประกอบขึ้นโดยมีกลูโคสเป็นหน่วยย่อย ที่เชื่อมกันด้วยพันธะกลูโคซิดิกชนิด $\alpha(1\longrightarrow4)$ และ $\alpha(1\longrightarrow6)$ โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ริวเทอแรนซูเครส (Korakli และ Vogel, 2006, van Hijum และคณะ, 2006)

2.2.1.2 เฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์

คือพอลิเมอร์ที่ประกอบขึ้นจากหน่วยย่อยมากกว่าหนึ่งชนิด โดยมอนอเมอร์ที่เป็นองค์ประกอบในโครงสร้างของเฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์มักพบกาแลกโทส กลูโคส และแรมโนส ตามลำดับ และยังพบมอนอเมอร์อื่นๆเช่น ฟรักโทส เอ็น-แอซิทิลกลูโคซามีน เอ็น-แอซิทิลกาแลกโทซามีน (De Vuyst และ Degeest, 1999) ตัวอย่างพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดเฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ ได้แก่ แซนแทน เจลแลน อัลจิเนต และกรดไฮยาลูโลนิก เป็นต้น

2.2.1.2.1 แซนแทน

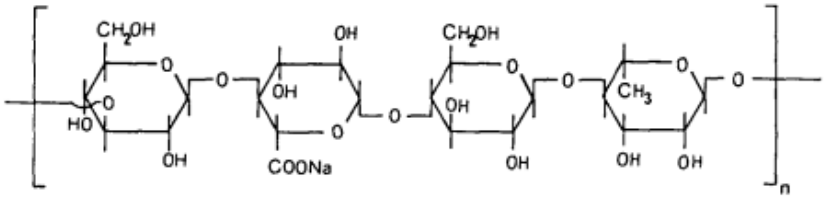
เป็นพอลิเมอร์ที่ถูกนำไปประยุกต์ใช้อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรม โดยถูกค้นพบตั้งแต่ปี 1950 (Margaritis และ Zajic, 1978) โดยผลิตได้จากแบคทีเรีย *Xanthomonas campestris* NRRL B-1459 ซึ่งโครงสร้างของแซนแทนประกอบขึ้นจากน้ำตาลที่มีคาร์บอนห้าอะตอม โดยเกิดจากกลูโคสสองโมเลกุลเชื่อมกับกรดกลูโคโลนิกหนึ่งโมเลกุล โดยเกิดพันธะ β-D-(1$\longrightarrow$4) แซนแทนเป็นพอลิเมอร์ที่มีมวลโมเลกุลสูง มีความหนืดและความคงตัวที่สูง จึงนิยมนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น การใช้ในการผลิตน้ำสลัด ไส้กรอก ขนมหวาน และอาหารไขมันต่ำ นอกจากนี้ยังมีการใช้แซนแทนในการทำความสะอาดและการเกษตรด้วย (Katzbauer, 1998) โครงสร้างของแซนแทนแสดงในรูปที่ 2.8



รูปที่ 2.8 โครงสร้างของแซนแทน
ที่มา Garcia-Ochoa และคณะ (2000)

2.2.1.2.2 เจลแลน

เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่นำไปใช้ทางการค้าอย่างกว้างขวาง โดยผลิตได้จาก *Pseudomonas elodea* โดยเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดที่เป็นเตตระแซ็กคาไรด์ (tetrasaccharide) ในแต่ละหน่วยย่อย (Jansson และคณะ, 1983) โครงสร้างของเจลแลนประกอบขึ้นจากหน่วยย่อยชนิดที่เป็นเตตระแซ็กคาไรด์ โดยประกอบขึ้นจาก สองโมเลกุลของ D - glucose (D -Glc) หนึ่งโมเลกุลของ L- rhamnose (L-Rha) และอีกหนึ่งโมเลกุลของ D - glucuronic acid (D -GlcA) (Rodríguez-Hernández และคณะ, 2003) โครงสร้างของเจลแลนแสดงในรูปที่ 2.9



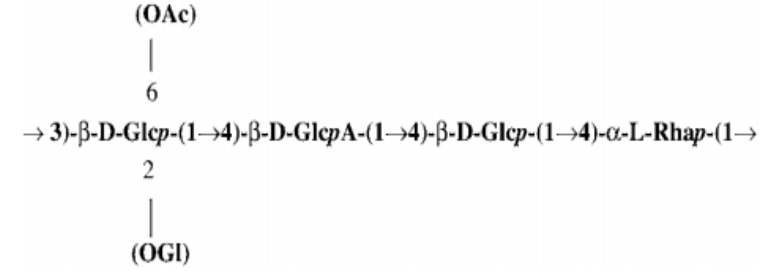
→3)-β-D-Glc*p*-(1→4)-β-D-Glc*p*A-(1→4)-β-D-Glc*p*-(1→4)-α-L-Rha*p*-(1→

รูปที่ 2.9 โครงสร้างของเจลแลน

ที่มา Grasdalen และ Smidsrød (1987)

2.2.1.2.3 อัลจิเนต

เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีโครงสร้างเป็นแบบเส้นตรง โดยประกอบขึ้นจากหน่วยย่อยของกรดแมนนูโรนิก (β-D-mannuronic acid) สองโมเลกุลที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ (1,4)- กับอีกสองโมเลกุลของกรดกูลูโรนิก (α-L-guluronic acid) ซึ่งพอลิเมอร์ชนิดนี้สามารถผลิตได้จากสาหร่ายสีน้ำตาล *Laminaria* sp. และแบคทีเรียสกุล *Azotobacter vinelandii* และ *Pseudomonas aeruginosa* (Sworn และคณะ, 1995, Rowley และคณะ, 1999) โครงสร้างของอัลจิเนตแสดงในรูปที่ 2.10

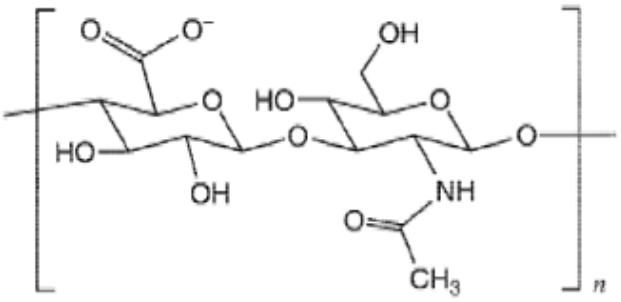


รูปที่ 2.10 โครงสร้างของอัลจิเนต

ที่มา Sá-Correia และคณะ (2002)

2.2.1.2.4 กรดไฮยาลูโลนิก

เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีโครงสร้างเป็นเส้นตรง โดยมีพันธะ β-(1⟶3) N-acetyl-D-glucosamine และ β-(1⟶4) glucuronic acid เป็นองค์ประกอบภายในโครงสร้าง มีมวลโมเลกุลที่สูง และพบเป็นองค์ประกอบในโครงสร้างของสารคัดหลั่งและเนื้อเยื่อทางชีวภาพ (Kogan และคณะ, 2007) โครงสร้างของกรดไฮยาลูโลนิกแสดงในรูปที่ 2.11



รูปที่ 2.11 โครงสร้างของกรดไฮยาลูโลนิก
ที่มา Collier และคณะ (2000)

2.2.2 การจัดจำแนกตามชนิดของประจุไฟฟ้าภายในอนุภาคของพอลิแซ็กคาไรด์ แบ่งได้เป็น 3 ชนิด (Cui, 2005)

2.2.2.1 พอลิแซ็กคาไรด์ที่มีประจุเป็นลบ (anionic polysaccharide)

เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีน้ำตาลกรด ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของมอนอแซ็กคาไรด์ เช่น แซนแทน และ อัลจิเนต

2.2.2.2 พอลิแซ็กคาไรด์ที่มีประจุเป็นกลาง (neutral polysaccharide)

เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ประกอบขึ้นจากมอนอแซ็กคาไรด์เท่านั้น เช่น เดกซ์แทรน ลีแวน เซลลูโลส และพูลลูแลน

2.2.2.3 พอลิแซ็กคาไรด์ที่มีประจุเป็นบวก (cationic polysaccharide)

เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนหรือหมู่ NH3 เชื่อมอยู่ เช่น ไคโตซาน

2.3 แบคทีเรียผลิตกรดแลกติก และพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก

แบคทีเรียผลิตกรดแลกติกเป็นกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวก มีความสามารถในการหมักน้ำตาลกลูโคสแล้วเกิดแก๊ส และเมื่อหมักน้ำตาลแล้วให้ผลิตภัณฑ์ได้ทั้ง D- หรือ L- แลกติก สามารถเจริญได้ในสภาพแวดล้อมที่มีเกลือสูง (16% NaCl) ไม่สร้างสปอร์และไม่มีการเคลื่อนที่ (Axelsson, 2004) สามารถเจริญได้ในอุณหภูมิที่หลากหลาย ทนต่อสภาพแวดล้อมที่เป็นกรดด่างได้ (Axelsson และ Ahrné, 2000) โดยแบคทีเรียในกลุ่มนี้สามารถจำแนกได้เป็นสองชนิด ตามผลิตภัณฑ์จากการหมักน้ำตาล คือ กลุ่มฮอมอเฟอร์เมนเททีฟ โดยเมื่อหมักน้ำตาลแล้วจะให้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดแลกติกเพียงอย่างเดียว ในขณะที่กลุ่มเฮทอโรเฟอร์เมนเททีฟเป็นกลุ่มที่เมื่อหมักน้ำตาลแล้วจะให้ผลผลิตเป็นกรดแลกติก และมีการผลิตเอทานอล แอซีเตทและคาร์บอนไดออกไซด์ร่วมด้วย (Khalid, 2011) ซึ่งสามารถจำแนกได้ออกเป็น 13 สกุล (บุษกร อุตรภิชาติ, 2548) ดังนี้

2.3.1 *Aerococcus*

เป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างกลม มีการจัดเรียงตัวเป็นสี่ สามารถเจริญในภาวะที่มีหรือไม่มีออกซิเจน เมื่อเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ blood agar จะทำให้อาหารมีสีเขียว เจริญได้ดีที่ pH 9.6 โดยมีเพียงหนึ่งสายพันธุ์ คือ *Aerococcus viridans* (Collins และคณะ, 1990)

2.3.2 *Alloiococcus*

เป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างกลม มักอยู่เป็นคู่หรือเรียงตัวแบบสี่ มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์แคทาเลสได้ (Holzapfel และ Wood, 1995)

2.3.3 *Bifidobacterium*

เป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างเป็นแท่ง ไม่สร้างแก๊ส เจริญได้ดีในภาวะไร้ออกซิเจน มีทั้งหมด 30 สายพันธุ์ โดยมีสิบสายพันธุ์ที่มาจากมนุษย์ (ช่องปาก อุจจาระและช่องคลอด) สิบเจ็ดสายพันธุ์จากสัตว์ (ลำไส้และกระเพาะ) สองสายพันธุ์จากน้ำเสียและหนึ่งสายพันธุ์จากนมหมัก เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่มีค่าปริมาณเบส G+C สูง (54 ถึง 67 โมลเปอร์เซ็นต์) (Gomes และ Malcata, 1999)

2.3.4 *Carnobacterium*

เป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างเป็นท่อน มีการจัดเรียงตัวเป็นคู่หรือเดี่ยว เป็นแบคทีเรียในกลุ่มเฮทอโรเฟอร์เมนเททีฟโดยสามารถหมักน้ำตาลเฮกโซสแล้วให้ผลผลิตเป็นกรดแลกติกชนิดแอล แอซีเตท เอทานอลและคาร์บอนไดออกไซด์ โดยแบคทีเรียในกลุ่มนี้จะมี 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *C. divergens*, *C. gallinarum*, *C. piscicola*, *C. funditum*, *C. alterfunditum* และ *C. mobile* เป็นต้น (Hammes และ Hertel, 2006)

2.3.5 *Enterococcus*

เป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างกลมหรือไข่ มีการจัดเรียงตัวเป็นคู่หรือเป็นสายสั้นๆ เคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลา สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 10 และ 45 องศาเซลเซียส สามารถหมักน้ำตาลแลกโทสได้ และมีความสามารถที่ก่อให้เกิดโรคได้ แบคทีเรียในกลุ่มนี้มีทั้งหมด 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *E. faecalis, E. gallinarum*, *E. avium*, *E. faecium* และ *E. cecorum* เป็นต้น (Murray, 1990)

2.3.6 *Lactobacillus*

เป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างเป็นท่อน เป็นแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกกลุ่มที่ใหญ่ที่สุด แบ่งได้เป็นสองกลุ่ม คือ กลุ่มที่เป็นฮอมอเฟอร์เมนเททีฟ ได้แก่สายพันธุ์ *L. delbrueckii*, *L. leichmannii*, *L. jensenii*, *L. lactis*, *L. bulgaricus*, *L. helveticus*, *L. acidophilus*, *L. salivarius*, *L. casei*, *L. xylosus*, *L. plantarum*, *L. curratus*, *L. coryniformis* และ *L. homohiocill* ส่วนอีกกลุ่มหนึ่งคือกลุ่มที่เป็นเฮเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ ได้แก่ สายพันธุ์ *L. fermentum*, *L. cellobiosus*, *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. viridans* และ *L. coprophilus* เป็นต้น (บุษกร อุตรภิชาติ, 2548) ซึ่งสามารถจำแนกแบคทีเรียในกลุ่มนี้ได้ตามชนิดของผลผลิตและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 การแบ่งกลุ่มของแบคทีเรีย *Lactobacillus* ตามชนิดของผลผลิตและอุณหภูมิที่ใช้ในการเจริญ

อุณหภูมิ	ฮอมอเฟอร์เมนเททีฟ	เฮเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ
อุณหภูมิที่เหมาะสมไม่ต่ำกว่า 37 องศาเซลเซียส	*L. bulgaricus* *L. helveticus* *L. lactis* *L. bulgaricus* *L. thermophilus* *L. delbrueckii*	*L. fermentum*
อุณหภูมิที่เหมาะสมต่ำกว่า 37 องศาเซลเซียส	*L. casei* *L. plantarum* *L. leichmannii*	*L. brevis* *L. buchneri* *L. pastorionus* *L. hilgardii* *L. trichodes*

ที่มา Martín และคณะ (2007)

2.3.7 *Lactococcus*

เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่แยกออกมาจากแบบทีเรียในกลุ่ม Streptococcus มีรูปร่างกลมหรือไข่ มีการจัดเรียงตัวแบบคู่หรือต่อกันเป็นสายยาว เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 10 ถึง 30 องศาเซลเซียส แต่ไม่เจริญที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ประกอบด้วย 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *L. garvieae*, *L. lactis*, *L. plantarum*, *L. piscium* และ *L. raffinolactis* เป็นต้น (Holt และคณะ, 1994)

2.3.8 *Leuconostoc*

เป็นแบคทีเรียรูปร่างกลมหรือยาว มีการจัดเรียงตัวเป็นคู่หรือเป็นสายสั้นๆ โคโลนีขนาดเล็ก เจริญได้ดีที่ช่วงอุณหภมิ 20 ถึง 30 องศาเซลเซียส มีความสามารถในการผลิตไดอะซิติลซึ่งช่วยให้เกิดกลิ่นในการผลิตเนย เป็นแบคทีเรียกลุ่มเฮทอโรเฟอร์เมนเททีฟมีความสามารถในการทนภาวะที่เกลือและน้ำตาลสูงได้ มีความสามารถในการผลิตพอลิเมอร์จำพวกเดกซ์แทรน แบคทีเรียในกลุ่มนี้มีทั้งหมด 8 สายพันธุ์ ได้แก่ *L. gelidum*, *L. citreum*, *L. lactis*, *L. argentimum*, *L. fallax*, *L. mesenteroides*, *L. pseudomesenteroides* และ *L. carnosum* เป็นต้น (บุษกร อุตรภิชาติ, 2548)

2.3.9 *Pediococcus*

เป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างกลม มีการจัดเรียงตัวแบบคู่หรือสี่เซลล์ ต้องการออกซิเจนในการเจริญต่ำ เป็นแบคทีเรียกลุ่มฮอมอเฟอร์เมนเททีฟ สามารถหมักน้ำตาลกลูโคส ฟรักโทส แมนโนส และซอร์บิทอลได้กรดแต่ไม่สร้างแก๊ส มีความสามารถในการเจริญที่ภาวะเกลือสูง แบคทีเรียในกลุ่มนี้ประกอบด้วย 6 สายพันธุ์ ได้แก่ *P. damnosus*, *P. inopinatus*, *P. acidilactici*, *P. pentosaceus*, *P. parvulus* และ *P. dextrinicus* เป็นต้น (บุษกร อุตรภิชาติ, 2548)

2.3.10 *Streptococcus*

เป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างกลมหรือไข่ มีการจัดเรียงตัวเป็นสาย ต้องการออกซิเจนเล็กน้อยในการเจริญ เจริญได้ดีที่ช่วงอุณหภูมิ 24 ถึง 45 องศาเซลเซียส บางสายพันธุ์เป็นปรสิตในสัตว์มีกระดูกสันหลัง (Holt และคณะ, 1994) แต่ก็พบว่ามีหลายสายพันธุ์ที่มีความสำคัญในผลิตภัณฑ์อาหาร โดยแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม (วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล, 2539) คือ กลุ่มไพโอจินิก คือกลุ่มที่ไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 10 หรือ 45 องศาเซลเซียส สามารถสร้างสารพิษและทำให้เกิดโรคได้ ได้แก่ *S. pyogenes* กลุ่มวิริแดนเป็นกลุ่มที่มีความสำคัญในกระบวนการผลิตเนยและโยเกิร์ต เป็นกลุ่มที่ทนต่อความร้อนและเจริญได้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส แต่ไม่สามารถเจริญที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสได้ และกลุ่มเอนเทอโรคอคคัส เป็นกลุ่มที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิสูงถึง 50 องศาเซลเซียส

และพบว่าบางชนิดสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส สามารถเจริญในภาวะที่มีความเข้มข้นเกลือสูงได้

2.3.11 *Tetragenococcus*

เป็นแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ในภาวะที่มีเกลือสูงและสามารถผลิตฮิสตามีนได้ (สมบูรณ์ ธนาศุภวัฒน์, 2541)

2.3.12 *Vagococcus*

เป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างกลมหรือไข่ มีการจัดเรียงตัวแบบเดี่ยว คู่ หรือเป็นสายสั้นๆ สามารถเคลื่อนที่ได้โดยอาศัยแฟลกเจลลา มีการเจริญแบบใช้ออกซิเจนเล็กน้อย หมักน้ำตาลแล้วเกิดกรดแต่ไม่เกิดแก๊ส เจริญได้ดีที่ช่วงอุณหภูมิ 25 ถึง 35 องศาเซลเซียส (Holt และคณะ, 1994)

2.3.13 *Weisella*

เป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างแท่งหรือกลม แต่เดิมแบคทีเรียกลุ่มนี้ถูกจัดอยู่ในสกุล *Leuconostoc* และ*Lactobacillus* โดยประกอบด้วย 7 สายพันธุ์ ได้แก่ *W. confuses*, *W. minor*, *W. hellenica, W. paramesenteroides*, *W. kandleri*, *W. viridescens* และ *W. halotolerans* เป็นต้น (Björkroth และคณะ, 2002)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตัวอย่างพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกแสดงในตารางที่ 2.4 และ 2.5

ตารางที่ 2.4 ฮอมอพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก

EPS	สายพันธุ์	ลักษณะการเชื่อมของพันธะ
α-D-กลูแคน	*Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides*	α-1,6-D-gL
เดกซ์แทรน	*Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum*	α-1,3-D-gL
มิวแทน	*Streptococcus mutans*	α-1,3-D-gL/
อัลเทอแนน	*Streptococcus sobrinus*	α-1,6-D-gL
ริวเทอแรน	*Leuconostoc mesenteroides*	α-1,4--D-gL
β-D-กลูแคน	*Lactobacillus reuteri*	β-1,3-D-gL
β-D-ฟรุกแทน	*Pediococcus* spp.	β-2,6-D-fru
ลีแวน	*Streptococcus* spp.	β-2,1-D-fru
อินูลิน	*Streptococcus salivarius*	α-D-gal/
พอลิกาแลกแทน	*Streptococcus mutans* *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* H414	β-D-gal

ที่มา Ruas-Madiedo และคณะ (2002)

หมายเหตุ glc = กลูโคส (glucose) fru = ฟรุกโทส (fructose) และ gal = กาแลกโทส (galactose)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 2.5 เฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก

สายพันธุ์	**มอนอแซ็กคาไรด์ที่เป็นองค์ประกอบ**
Lactobacillus	
Lb. delbrueckii subsp. *bulgaris*	กาแลกโตส, กลูโคส,แรมโนส
Lb. helveticus	กลูโคส, กาแลกโตส, แรมโนส, เอ็นแอเซทิลกลูโคซามีน
Lb. helveticus var *jugurti*	กลูโคส, กาแลกโตส
Lb. rhamnosus	กลูโคส, กาแลกโตส
Lb. paracasei subsp. *paracasei*	กลูโคส, กาแลกโตส, แรมโนส
Streptococcus	
S. macedonius Sc136	กาแลกโตส, กลูโคส, เอ็นแอเซทิลกลูโคซามีน
S. thermophiles SFi 20	กาแลกโตส, กลูโคส, เอ็นแอเซทิลกลูโคซามีน
Lactococcus	
L. lactis subsp. *cremoris*	กลูโคส, กาแลกโตส, แรมโนส, เอ็นแอเซทิลกลูโคซามีน
L. lactis subsp. *cremoris*	กลูโคส, แรมโนส, กาแลกโตส

ที่มา Cerning (1995)

ปัจจัยในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์มีหลายประการได้แก่ ภาวะในการเจริญ เช่น อุณหภูมิในการบ่ม ปริมาณออกซิเจน ค่าความเป็นกรดด่าง ระยะเวลาในการบ่ม แหล่งอาหารเลี้ยงเชื้อ เช่น แหล่งไนโตรเจน คาร์บอน และธาตุอื่นๆที่ช่วยในการเจริญ นอกไปจากนี้สายพันธุ์ของจุลินทรีย์และวิธีการสกัดแยกพอลิแซ็กคาไรด์ก็เป็นอัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อปริมาณของพอลิแซ็กคาไรด์เช่นกัน (Mende และคณะ, 2013)

2.4 การนำพอลิแซ็กคาไรด์ไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม

พอลิแซ็กคาไรด์สามารถผลิตได้จากสิ่งมีชีวิตหลากหลายชนิด เช่น พืช สัตว์ และจุลินทรีย์ ดังนั้นพอลิแซ็กคาไรด์ในธรรมชาติจึงมีสมบัติทางกายภาพที่หลากหลาย (Welman และ Maddox, 2003) ดังแสดงในรูปที่ 2.12 ทำให้สามารถประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอย่างกว้างขวาง เช่น ในรูปสารเพิ่มความข้นหนืด สารเพิ่มรสสัมผัส สารให้ความคงตัว และสารก่ออิมัลชัน (Kitazawa และคณะ, 1998) เช่นในอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์จากนม เช่น โยเกิร์ตและชีส (Van Den Berg และคณะ, 1998) นอกจากนี้ยังพบว่าเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์จากจุลินทรีย์ยังถูกนำไปประยุกต์ใช้งานในอุตสาหกรรมอื่นๆ อีก เช่น อุตสาหกรรมเภสัชกรรม สารตกตะกอนชีวภาพ กระบวนการผลิตสารเคมี (Wang และคณะ, 2008) และอุตสาหกรรมทางการแพทย์ เช่น สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน สารต้านการเกิดมะเร็ง สารต้านทานการอักเสบ รวมไปถึงสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ พอลิแซ็กคาไรด์สามารถผลิตได้จากจุลินทรีย์หลายสายพันธุ์ (Kanlayavattanakul และ Lourith, 2015) หนึ่งในกลุ่มของจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญอย่างมากต่อการผลิตเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์คือ กลุ่มแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก งานวิจัยก่อนหน้านี้ได้รายงานความสามารถในการผลิตและประยุกต์ใช้งานของเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์จากแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก ดังแสดงในตารางที่ 2.6

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รูปที่ 2.12 ความสัมพันธ์ระหว่างสมบัติทางกายภาพและการนำไปประยุกต์ใช้

ที่มา Freitas และคณะ (2011)

ตารางที่ 2.6 การประยุกต์ใช้ของพอลิแซ็กคาไรด์ในอุตสาหกรรมต่างๆ

การประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม	**สมบัติ**	**พอลิแซ็กคาไรด์**
สารยึดเกาะ	ควบคุมการไหลและเพิ่มความข้นหนืด	
กาวลาเท็กซ์		**เซลลูโลส**
ปูนซีเมนต์		**เซลลูโลส**
กระดาษติดผนัง		**อัลจิเนตและแป้ง**
การเกษตร	ควบคุมการลอยตัวของสารละลาย และเป็นส่วนประกอบ	
ยาฆ่าแมลงชนิดผง		**แซนแทนกัม**
ปุ๋ยน้ำ		**แซนแทนกัม**
สารเติมแต่งในอาหารสัตว์		**แซนแทนกัมและกัวกัม**
เซรามิก วัสดุทนความร้อน	ช่วยในการขึ้นรูปและเพิ่มความลื่น	**อัลจิเนต**
ลวดเชื่อม	สารแขวนลอย	**แซนแทนกัม**
ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดและขัด	นำมาใช้ขัด, สารแขวนลอย และ ทนต่อความเป็นกรด และด่าง	**แซนแทนกัม**
สารวัตถุระเบิด	ความสามารถในการอุ้มน้ำ	**กัวกัมและแซนแทนกัม**
สารดับเพลิง	ช่วยคงตัวของเนื้อโฟม และช่วยในการติดไฟ	**กัวกัมและแซนแทนกัม**
เหมืองแร่ (ใช้แยกวัสดุที่หนัก)	สารแขวนลอย	**แซนแทนกัม แป้ง และกัวกัม**
การขุดเจาะน้ำมัน		
เพิ่มผลผลิตน้ำมันดิบ	ความหนืด	**แซนแทนกัม**
โคลนเจาะ	ความหนืด สารแขวนลอย	**แซนแทนกัม และ เซลลูโลส**
สี	ควบคุมการไหลของสาร	**ไฮดรอกซีเอทิลเซลลูโลส และเมทิลเซลลูโลส**
เจลดับกลิ่น	**ช่วงคงตัวเจล**	**คาราจีแนน**

ที่มา Sandford และคณะ (1984)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.5 การนำพอลิแซ็กคาไรด์ไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร

ในปัจจุบันพอลิแซ็กคาไรด์ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารมากยิ่งขึ้น โดยเฉพาะในสหภาพยุโรปเนื่องจากข้อห้ามในการใช้สารคาร์โบไฮเดรตจากพืช หรือเจลาตินเนื่องจากการระบาดของโรควัวบ้า (bovine spongiform encephalopathy: BSE) ซึ่งการผลิตเจลาตินซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่ผลิตจากหนังและกระดูกของวัว (De Vuyst และ Degeest, 1999) จึงทำให้พอลิแซ็กคาไรด์จากจุลินทรีย์เข้ามามีบทบาทสำคัญในการเป็นสารเติมแต่งอาหารมากขึ้น (Guler-Akin, 2009) ทั้งนี้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอาหารเช่น การปรับปรุงความข้นหนืด รสสัมผัส ความคงตัว การลดการแยกชั้นในผลิตภัณฑ์ (Cerning, 1990, Galle และคณะ, 2012) นอกไปจากนี้ยังมีรายงานเกี่ยวกับข้อดีของพอลิแซ็กคาไรด์ต่อสุขภาพอีกด้วย เช่น การลดคอเลสเตอรอล การกระตุ้นภูมิคุ้มกัน การปรับสมดุลเกี่ยวกับจุลินทรีย์ในลำไส้ เป็นต้น (Nikolic และคณะ, 2012, Salazar และคณะ, 2012) ด้วยสมบัติทางกายภาพของพอลิแซ็กคาไรด์จึงส่งผลต่อการนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น พอลิแซ็กคาไรด์จะมีความสามารถในการเกิดเป็นโครงสร้างแบบร่างแห ด้วยสมบัตินี้จะทำให้โมเลกุลของน้ำถูกกักเก็บไว้ในโครงสร้างดังกล่าว จึงทำให้พอลิแซ็กคาไรด์สามารถนำไปใช้ในการลดการแยกชั้นของน้ำในการผลิตโยเกิร์ตได้ (Cheng และคณะ, 2017) นอกจากนี้ยังพบว่ามีสมบัติทางกายภาพของพอลิแซ็กคาไรด์อีกหลายประการที่ส่งผลต่อการนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ดังแสดงในตารางที่ 2.7

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 2.7 ลักษณะสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์และการประยุกต์ใช้ในอาหาร

ลักษณะสมบัติ	การประยุกต์ใช้
การยึดเกาะ	น้ำตาลโรยหน้าขนม (ไอซ์ซิ่ง) และ ผงเคลือบหน้าขนม (glaze)
สารจับเกาะ	อาหารสัตว์
สารเคลือบ	ลูกกวาด
สารก่ออิมัลชัน	น้ำสลัด
การห่อหุ้ม	ผงปรุงกลิ่น
การก่อฟิล์ม	เคลือบผิวบนไส้กรอก
สารช่วยตกตะกอน	ไวน์และเบียร์
สารช่วยคงตัวโฟม	เบียร์
สารก่อเจล	ลูกกวาด ขนมหวานที่มีส่วนผสมของนม เยลลี่ และพาย
สารยับยั้งการเกิดผลึก	อาหารแช่แข็ง ยาเม็ดอม และน้ำเชื่อม
สารเพิ่มความคงตัว	ไอศกรีม และน้ำสลัด
สารก่อความบวม	ผลิตภัณฑ์เนื้อที่ผ่านกระบวนการ
สารลดการสูญเสียน้ำ	ชีส และอาหารแช่แข็ง
สารเพิ่มความหนืด	แยม ซอส น้ำเชื่อม และ ไส้พาย

ที่มา Sutherland (1990)

อย่างไรก็ตามการนำเอาพอลิแซ็กคาไรด์มาประยุกต์ใช้ในขบวนการผลิตอาหารอาจส่งผลต่อคุณลักษณะบางประการ เช่น รส กลิ่น สีและรสสัมผัส ด้วยเหตุนี้การนำเอาพอลิแซ็กคาไรด์มาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารจึงต้องคำนึงถึงปัจจัยต่างๆ ดังนี้ (Sutherland, 1990)

1. ประเภทของการนำไปประยุกต์ใช้
2. ลักษณะข้นหนืด หรือ ก่อเจล
3. ความรู้สึกในการบริโภค (mouthfeel)
4. ผลต่อลักษณะปรากฏของอาหาร เช่น ความใส

5. ความสามารถการเป็นอิมัลซิไฟเออร์
6. สามารถเข้าได้กับส่วนผสมอื่นๆในอาหาร
7. ผลกระทบแบบเสริม หรือผลกระทบอื่นๆ
8. ความทนต่อปัจจัยทางกายภาพและชีวภาพภายใต้ภาวะที่นำไปใช้
9. ราคา
10. การยอมรับ เช่น กฎหมายในการบริโภค
11. คุณภาพ เช่น คำนึงถึงสี รส และคุณภาพสม่ำเสมอหรือไม่

พอลิแซ็กคาไรด์จากจุลินทรีย์ที่มีการนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารมากที่สุด คือ แซนแทนกัม และ เจลแลน ซึ่งจัดเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ทางการค้า (Farnworth และคณะ, 2006) นอกจากนี้พบว่าเคอร์ดแลน และ พูลลูแลน ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเช่นกัน ในการนำไปใช้งานต้องคำนึงถึงสมบัติทางกายภาพจำเพาะว่าเหมาะต่อการใช้งานนั้นๆอย่างไร ดังแสดงในตารางที่ 2.8

ตารางที่ 2.8 ลักษณะสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์จากจุลินทรีย์ที่ประยุกต์ใช้ในอาหาร

EPS	ลักษณะสมบัติ						
	ก่อเจล	เพิ่มความหนืด	การกระจาย	ก่ออิมัลชัน	จับเกาะ	อุ้มน้ำ	ก่อฟิล์ม
แซนแทน	X [1]	X	X	X	/	/	
เจลแลน	X		X				/
เคอร์ดแลน	X					/	/
พูลลูแลน					X		X
อินูลิน		/		X			
เดกซ์แทรน	/	/		X			/

หมายเหตุ X ถูกนำมาใช้บ่อยมากในอุตสาหกรรมอาหาร / ถูกนำมาใช้บ่อยในอุตสาหกรรมอาหาร

[1] ไม่สามารถก่อเจลได้เอง ต้องร่วมกับสารอื่น

ที่มา Funami (2009)

2.6 อิมัลชัน

อิมัลชัน คือ รูปแบบของผลิตภัณฑ์ที่ประกอบขึ้นจากของเหลวอย่างน้อยสองชนิดที่ไม่เข้ากัน เช่นน้ำและน้ำมัน นำมาผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยอาศัยตัวทำอิมัลชัน (emulsifier) เมื่อมองด้วยตาเปล่าจะเห็นอิมัลชันเป็นเนื้อเดียวกันแต่อย่างไรก็ตามหากส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์จะเห็นอิมัลชันแยกเป็น 2 วัฏภาคคือ วัฏภาคภายใน เป็นส่วนของของของเหลวที่แทรกตัวอยู่ภายในของเหลวอีกชนิดหนึ่งที่เรียกว่า วัฏภาคภายนอก (พิมพร ลีลาพรพิสิฐ, 2534) อาหารที่ต้องอาศัยกระบวนการเกิดอิมัลชันนั้น เรียกว่า อาหารอิมัลชัน (food emulsion) เป็นระบบที่มีความซับซ้อนมาก ประกอบด้วยอากาศ น้ำมัน น้ำ และส่วนประกอบอื่นๆ เช่น ไขมัน โปรตีน เกลือที่ละลายน้ำ คาร์โบไฮเดรต พอลิแซ็กคาไรด์ที่ละลายน้ำ เส้นใย และเม็ดแป้ง เป็นต้น (Garti, 2000) ตัวอย่างอาหารอิมัลชัน เช่น นม ครีม น้ำผลไม้ น้ำสลัด มายองเนส ซอส ไอศกรีม เนย และ เนยเทียม เป็นต้น

อิมัลชันที่เกิดในอาหาร จะมีเส้นผ่านศูนย์กลางของหยดน้ำมันหรือน้ำอยู่ระหว่าง 0.1 ถึง 100 ไมโครเมตร (Friberg และคณะ, 2003) โดยสามารถแบ่งการเกิดอิมัลชันตามชนิดของของเหลวที่เป็นวัฏภาคภายใน และวัฏภาคภายนอก ออกได้เป็น 3 ประเภท ดังนี้

1. อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ (oil in water หรือ O/W emulsion) อิมัลชันประเภทนี้จะมีวัฏภาคภายในคือหยดน้ำมันที่กระจายตัวอยู่ในน้ำซึ่งเป็นวัฏภาคภายนอก ตัวอย่างเช่น นม ครีม น้ำสลัด มายองเนส เครื่องดื่ม และซอส

2. อิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (water in oil หรือ W/O emulsion) อิมัลชันประเภทนี้จะมีวัฏภาคภายในคือหยดน้ำที่กระจายตัวอยู่ในน้ำมันซึ่งเป็นวัฏภาคภายนอก ตัวอย่างเช่น เนย (butter) และ เนยเทียม (magarine)

3. อิมัลชันเชิงซ้อน (multiple emulsion) เป็นอิมัลชันที่มีวัฏภาคภายในซ้อนกันอยู่ เกิดได้หลายรูปแบบ เช่น อิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำในน้ำมัน (O/W/O) หรือ อิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันในน้ำ (W/O/W) ถ้าเป็นอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำในน้ำมัน (O/W/O) ก็คือ จะมีน้ำมันเป็นวัฏภาคภายนอก โดยมีน้ำเป็นวัฏภาคภายใน ซึ่งในหยดน้ำก็จะมีหยดน้ำมันซ้อนอยู่อีกที (Garti, 1997, Garti และ Bisperink, 1998, Garti และ Benichou, 2004)

กลไกการทำให้เกิดอิมัลชัน คือ การทำให้ของเหลวสองชนิดที่ไม่รวมกันเกิดการผสมให้เป็นเนื้อเดียว (homogenization) โดยการเขย่าซึ่งเป็นการเพิ่มพลังงานและพื้นที่ผิวสัมผัสให้แก่ของเหลวทั้งสอง จึงส่งผลให้เกิดการกระจายตัวเป็นอนุภาคเล็กๆในกันและกัน แต่อย่างไรก็ตามการเขย่าจะทำให้เกิดภาวะของอิมัลชันเพียงชั่วคราวหรือภาวะที่ไม่คงสภาพ โดยการทำให้เกิดอิมัลชันแบบถาวรจะต้องเติมตัวทำอิมัลชัน (emulsifier) หรือสารให้ความคงตัว (stabilizer) ลงไป (McClements, 2015)

สารให้ความคงตัวที่ทำให้อิมัลชันคงตัวอยู่ได้นาน สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท ตามกลไกการทำงาน (mode of action) ดังนี้

สารอิมัลซิไฟเออร์ เป็นสารจำพวก surface-active molecule ซึ่งจะดูดซับอยู่บนหยดน้ำมันในระหว่างกระบวนการผสม จะทำหน้าที่คล้ายกับเกราะป้องกันไม่ให้หยดเล็กๆเคลื่อนที่เข้ามารวมตัวกันจนกลายเป็นหยดใหญ่ได้ สารอิมัลซิไฟเออร์ส่วนใหญ่จะเป็น แอมฟิฟิลิก (amphiphilic molecule) คือ ในโมเลกุลเดียวกันจะมีทั้งส่วนที่มีขั้วและส่วนที่ไม่มีขั้วซึ่งสารอิมัลซิไฟเออร์ที่นำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารส่วนใหญ่จะจัดเป็นแอมพิฟิลิกเช่นกัน ได้แก่ สารลดแรงตึงผิวโมเลกุลขนาดเล็ก (small-molecule surfactant) ฟอสโฟลิปิด โปรตีน และพอลิแซ็กคาไรด์ ซึ่งพอลิแซ็กคาไรด์บางชนิดมีโครงสร้างตรงสายหลักเป็นส่วนมีขั้ว และเส้นกิ่งเป็นส่วนไม่มีขั้ว (Dickinson, 2003)

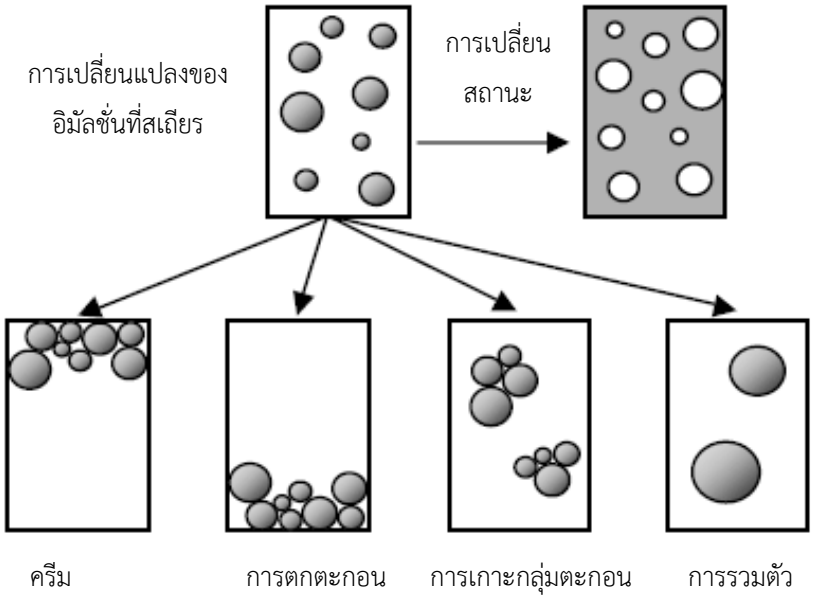
สารดัดแปลงเนื้อสัมผัส (texture modifier) แบ่งออกเป็น 2 ชนิด ตามกลไกการปฏิบัติงาน (mode of operation) และลักษณะของของไหล

2.1 สารข้นหนืด (thickening agent) ใช้เพิ่มความหนืดของวัฏภาคภายนอก

2.2 สารก่อเจล (gelling agent) ใช้ก่อเจลในวัฏภาคภายนอก

สารดัดแปลงเนื้อสัมผัสจะช่วยให้อิมัลชันคงตัวอยู่ได้นาน โดยการลดการเคลื่อนที่ของวัฏภาคภายใน หรือ หยดเล็กๆไม่ให้มารวมตัวกันได้ เนื่องจากของเหลวที่อยู่รอบๆมีความหนืด หรือมีเจลเกิดขึ้น จึงทำให้ยากแก่การเคลื่อนที่ของวัฏภาคภายใน ในอุตสาหกรรมอาหาร ใช้สารข้นหนืด และสารก่อเจล เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ และโปรตีนในอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ และ ผลึกไขมันในอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมัน (McClements, 2015)

การคงตัวของอิมัลชัน (emulsion stability) คือ ความสามารถของอิมัลชันที่สามารถทนต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะต่อเวลา กลไกทางเคมีกายภาพ (physicochemical mechanism) ทำให้ลักษณะอิมัลชันเปลี่ยนไปได้หลายแบบ ดังต่อไปนี้ (รูปที่ 2.13)



รูปที่ 2.13 กลไกความไม่คงตัวของอิมัลชัน (mechanisms of emulsion instability)
ที่มา McClements (2015)

1. Creaming กลไกประเภทนี้จะแสดงให้เห็นถึงการลอยตัวของวัฏภาคภายในเนื่องจากวัฏภาคภายในมีความหนาแน่นที่ต่ำกว่าวัฏภาคภายนอก

2. Sedimentation กลไกประเภทนี้จะแสดงให้เห็นว่าวัฏภาคภายในจะจมลงสู่ด้านล่างเนื่องจากวัฏภาคภายในมีความหนาแน่นที่สูงกว่าวัฏภาคภายนอก

3. Flocculation กลไกประเภทนี้จะเกิดจากการที่อนุภาคสองอันมารวมตัวกันทำให้มีขนาดที่ใหญ่ขึ้น แต่ยังคงความเป็นอนุภาคอยู่

4. Coalescence กลไกประเภทนี้จะเกิดจากการที่อนุภาคมากกว่าสองอันมารวมตัวกันทำให้มีขนาดที่ใหญ่ขึ้น โดยหากเกิดกลไกเช่นนี้ไปเรื่อยๆจะส่งผลให้เกิดปรากฏการณ์ที่เรียกว่า oiling-off ซึ่งหมายถึงการการแยกขั้นของน้ำมันที่ด้านบน

5. Phase inversion หมายถึงการที่เกิดวัฏภาคสลับกัน เช่นจากเดิมเป็นอิมัลชันชนิดน้ำในน้ำมันแต่ภายหลังเกิดการสลับกลายเป็นอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำแทน เป็นต้น (Chidambaram และ Burgess, 2005, Schramm และ Stasiuk, 2005)

จากข้อกำหนดของมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก.) ประกาศโดย สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กระทรวงอุตสาหกรรม ว่าด้วยเรื่อง มายองเนสและน้ำสลัด (สำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม, 2540) ได้มีการระบุถึงการอนุญาติให้ใช้สารทำให้คงตัว มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2540) ดังต่อไปนี้

1. สารต่อไปนี้ ชนิดใดชนิดหนึ่งหรือผสมกันในปริมาณที่เหมาะสม

1.1 คาราจีแนน

1.2 โซเดียมอัลจิเนต หรือโพแทสเซียมอัลจิเนต หรือโพรพิลีนไกลคอลอัลจิเนต

1.3 คารอบกัม หรือกัวกัม หรือแซนแทนกัม

1.4 โซเดียมคาร์บอกซีเมทีลเซลลูโลส

1.5 ทรากะแคนต์

1.6 เพกทิน

1.7 กัมอะคาเซีย

2. แป้งดัดแปรต่อไปนี้ ชนิดใดชนิดหนึ่งหรือผสมกันในปริมาณที่เหมาะสม

2.1 แอซีทิเลเตดไดสตาร์ชอะดิเพต

2.2 แอซีทิเลเตดไดสาร์ชฟอสเฟต

2.3 ไดสตาร์ชฟอสเฟต

2.4 ไฮดรอกซี-โพรพิลฟอสเฟต

ตัวอย่างสูตรมายองเนสและสารเติมแต่งที่นำมาใช้ในการผลิตมายองเนสแสดงในตารางที่ 2.9

ตารางที่ 2.9 ตัวอย่างสูตรมายองเนสและสารเติมแต่งที่ใช้จากบริษัทต่างๆ

สูตรมายองเนส	ชนิดน้ำมัน	สารเติมแต่ง	บริษัท
มายองเนสสูตรปกติ	ถั่วเหลือง	สารให้ความข้นเหนียว (INS1442) สารทำให้คงตัว (INS 145) สารควบคุมความเป็นกรด (INS 296) วัตถุกันเสีย (INS 211, INS 202) สารป้องกันการเกิดออกซเดชั่น (INS 385)	คิวพี
มายองเนสสูตรปกติ	ถั่วเหลือง	สารให้ความข้นเหนียว (INS 1442) สารควบคุมความเป็นกรด (INS 330) วัตถุกันเสีย (INS 202, INS 211) สารทำให้คงตัว (INS 415) สารป้องกันการเกิดออกซเดชั่น (INS 385)	เบสต์ฟู้ด
มายองเนสสูตรปกติ	ถั่วเหลือง	สารทำให้คงตัว (INS 415) สารป้องกันการเกิดออกซเดชั่น (INS 385)	สุขุม
มายองเนสสูตรลดไขมัน		สารให้ความข้นเหนียว (INS 1442) วัตถุกันเสีย (INS 211, INS 202)	ไฮน์
มายองเนสสูตรปกติ		สารป้องกันการเกิดออกซเดชั่น (INS 385)	คราฟท์
มายองเนสสูตรปกติ		สารทำให้คงตัว (INS 415) สารป้องกันการเกิดออกซเดชั่น (INS 320) สารควบคุมความเป็นกรด (INS 330)	ซูซ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

มายองเนสจัดเป็นอาหารอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำซึ่งได้รับการบริโภคอย่างกว้างขวาง (Worrasinchai และคณะ, 2006) ไขมันเป็นส่วนที่มีความสำคัญต่ออาหารจำพวกอิมัลชัน ซึ่งส่งผลต่อกลิ่น ลักษณะปรากฏ รสสัมผัส และอายุการจัดเก็บของผลิตภัณฑ์ (McClements และ Demetriades, 1998) โดยทั่วไปมายองเนสทางการค้าจะประกอบไปด้วยไข่แดง เกลือ น้ำส้มสายชู สารเพิ่มความข้นหนืด สารเพิ่มกลิ่นรส และส่วนของไขมัน โดยมายองเนสบางชนิดจะมีส่วนของไขมันสูงถึง 80 เปอร์เซ็นต์ ในไม่กี่ปีที่ผ่านมาเริ่มมีการผลิตมายองเนสชนิดไขมันต่ำออกสู่ท้องตลาด โดย

ปริมาณไขมันจะมีเพียง 36 เปอร์เซ็นต์ อย่างไรก็ตามการพัฒนาสูตรมายองเนสแบบไขมันต่ำต้องมีการใช้สารให้ความคงตัวหรือสารทดแทนไขมันเข้ามาเป็นองค์ประกอบ โดยสมบัติของสารดังกล่าวจะต้องมีความสามารถในการอุ้มน้ำและก่ออิมัลชันได้ดี (McClements, 2005)

กระบวนการผลิตมายองเนสสามารถทำได้โดยง่าย ไม่ซับซ้อน ทำได้โดยการผสมไข่แดงกับน้ำส้มสายชู จากนั้นตีผสมแล้วค่อยๆเติมน้ำมันลงไปอย่างช้าๆ เติมเกลือ น้ำตาล และสารแต่งรสและกลิ่น ตีผสมจนเป็นเนื้อเดียวกันโดยดัดแปลงมาจาก Ghoush และคณะ (2008)

2.7 เทคนิคการวิเคราะห์สมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์

2.7.1 ไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี (High Performance Liquid chromatography หรือ HPLC)

ไฮเพอร์ฟอร์แมนซ์ลิควิดโครมาโทกราฟี เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์สารประกอบในตัวอย่าง โดยมักนิยมใช้สำหรับวิเคราะห์สารประกอบที่ระเหยยาก หรือมีมวลโมเลกุลที่สูง ทั้งนี้การตวจวัดสามารถตรวจวัดได้ทั้งเชิงคุณภาพวิเคราะห์ (qualitative analysis) และเชิงปริมาณวิเคราะห์ (quantitative analysis) โดยการวิเคราะห์เชิงเปรียบเทียบนั้นจะเป็นการเทียบจากค่า Retention time (RT) กับสารมาตรฐาน เพื่อใช้ในการระบุว่าเป็นสารชนิดใด ในกรณีที่ต้องการวัดเพื่อศึกษาข้อมูลเชิงปริมาณก็สามารถทำได้โดยการวัดความสูงของพีคกับสารมาตรฐานที่ทราบปริมาณอยู่แล้ว หรือวัดพื้นที่ใต้กราฟเปรียบเทียบกับพื้นที่ของสารมาตรฐานที่ทราบปริมาณ หลักการทำงานของเครื่องมือชนิดนี้จะประกอบไปด้วยสองส่วนหลักคือ เฟสอยู่กับที่ (stationary phase) หรือคอลัมน์ และเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ในขั้นตอนการวิเคราะห์จะต้องอาศัยภาวะความดันสูงเพื่อที่จะดันสารละลายให้เคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ไปพร้อมกับเฟสเคลื่อนที่ โดยสารประกอบจะถูกแยกออกมาในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน ทั้งนี้การที่สารแยกออกมาได้ในช่วงเวลาที่ต่างกันนั้นเป็นสาเหตุจากความจำเพาะต่อการดูดซับของสารประกอบกับเฟสอยู่กับที่ หากสารประกอบสามารถจับเฟสอยู่กับที่ได้ดีก็จะทำให้ถูกชะออกมาพร้อมกับเฟสเคลื่อนที่ได้ในเวลาที่ช้า ในการแสดงผลนั้นจะแสดงในรูปแบบของพีคที่เรียกว่าเรียกว่า โครมาโทแกรม (Linsay, 1987) ลักษณะตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ เช่น สารอินทรีย์ สารประกอบชีวภาพ พอลิเมอร์ และไอออนขนาดเล็ก เป็นต้น เทคนิค HPLC ถูกนำไปใช้วิเคราะห์ตัวอย่างในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น อุตสาหกรรมยา อาหาร ปิโตรเคมี และสิ่งแวดล้อม (Skoog และคณะ, 2007)

2.7.2 เทอร์โมกราวิเมทริกแอนาไลซิส (Thermogravimetric analysis: TGA)

เทอร์โมกราวิเมทริกแอนาไลซิส เป็นเครื่องมือสำหรับวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนของวัตถุ โดยวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของวัตถุ เมื่อได้รับความร้อนที่อุณหภูมิสูงขึ้นเรื่อยๆ ภายใต้บรรยากาศที่กำหนด สามารถใช้วิเคราะห์ตัวอย่างได้หลากหลายชนิด เช่น พอลิเมอร์ สารอินทรีย์ ยา เครื่องสำอาง สี และสารประกอบในอาหาร เป็นต้น ผลการวิเคราะห์ทดสอบสามารถทำให้ทราบความเสถียรทางความร้อนของสาร ความร้อนที่วัตถุดูดหรือคาย น้ำหนักที่เปลี่ยนแปลงและน้ำหนักที่หายของสารไปเมื่อได้รับความร้อน และปริมาณความชื้นหรือสารระเหยของวัตถุ เป็นต้น (Galwey และ Craig, 2007)

TGA ประกอบด้วย สองส่วนประกอบที่สำคัญ ได้แก่ ตัววัดสัญญานน้ำหนัก (mass detector) และ ตัววัดสัญญาณความร้อน (temperature detector) ในการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงน้ำหนักจะขึ้นกับอุณหภูมิ เวลา และบรรยากาศ โดยการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักวัดด้วยเครื่องชั่งที่มีความละเอียดและความไวสูง (thermobalance) ข้อมูลจะถูกตรวจวัดและบันทึกออกมาเป็นโครมาโทแกรมระหว่างน้ำหนักกับเวลา หรือ น้ำหนักที่หายไปกับเวลา (Gilman, 2000)

2.8 สมบัติการไหล (Rheological properties)

ความหนืด (viscosity) คือ ความสามารถในการต้านการไหลของของไหล เมื่อมีแรงมากระทำ ส่วนของไหล หมายถึง สสารที่สามารถไหลได้ เช่น ของเหลว และก๊าซ ของไหลที่มีความหนืดสูง จะมีการต้านทานต่อการไหลสูง ขณะที่ของไหลที่มีความหนืดต่ำ ก็จะมีการต้านทานต่อการไหลต่ำ การวัดความหนืด จะเป็นการวัดแรงต้านทานการไหลภายในของของไหล เมื่อมีแรงมากระทำในแนวขนานกับพื้นผิว เรียกว่า แรงเฉือน (shear force) เมื่อพิจารณาก้อนของไหลสี่เหลี่ยมที่ประกอบด้วยแผ่นโมเลกุลหลายแผ่นขนานกันอยู่ โดยแผ่นล่างสุดถูกยึดไว้อยู่ เมื่อแผ่นบนได้รับแรงกระทำคงที่ แผ่นด้านล่างถัดไปจะเคลื่อนที่ด้วยความเร็วเป็นสัดส่วนโดยตรงกับระยะทางจากแผ่นล่างสุดที่ไม่เคลื่อนที่ ความแตกต่างของความเร็ว (dv) ระหว่างของไหลสองแผ่นกับระยะทางที่เปลี่ยนไป (dx) คืออัตราเฉือน (shear rate) ส่วนค่าแรงต่อหน่วยพื้นที่ที่ทำให้เกิดการไหลเรียกว่าแรงเค้นเฉือน (shear stress) (Grassi และคณะ, 2006)

2.8.1 ลักษณะทางการไหลของของเหลว

การประเมินลักษณะทางการไหลของของเหลวสามารถทำได้ 2 ทาง คือ ให้แรงเฉือนแก่ของไหลด้วยอัตราที่คงที่หรือด้วยอัตราที่แปรไปและวัดความเค้นเฉือนที่เกิดขึ้น หรือให้ความเค้นเฉือนแก่ของไหลและวัดอัตราเฉือนที่แปรเปลี่ยนไป การประเมินลักษณะทางการไหลนี้สามารถทำได้โดยใช้เครื่องมือวัดที่เรียกว่าเครื่อง rheometer หรือหากต้องการทราบเพียงความหนืดก็สามารถใช้เครื่องวัดความหนืด (viscometer) ได้ (จิรารัตน์ ทัตติยกุล, 2554)

ประเภทของของเหลวแบ่งตามลักษณะการไหลได้เป็น 2 ประเภท (จิรารัตน์ ทัตติยกุล, 2554) ได้แก่

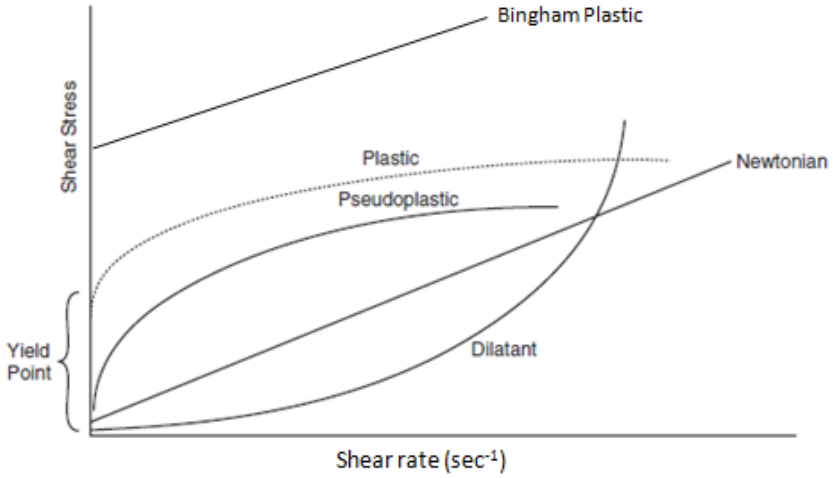
1. ของไหลนิวโตเนียน (Newtonian fluid) คือของเหลวที่มีความหนืดไม่ขึ้นกับอัตราเฉือนหรือความเร็วในการกวน จะขึ้นกับอุณหภูมิและองค์ประกอบของของเหลว ตัวอย่างเช่น น้ำ น้ำเชื่อม น้ำมัน น้ำผลไม้ นม กาแฟ แอลกอฮอล์ เป็นต้น (Tracton, 2006)

2. ของไหลนอนนิวโตเนียน (Non Newtonian fluid) คือของเหลวที่มีความหนืดขึ้นอยู่กับอัตราเฉือนหรือ ความเร็วในการกวน ณ อุณหภูมิหนึ่งๆค่าความหนืดไม่คงที่ ของไหลนอนนิวโตเนียนที่มีความหนืดไม่แปรตามเวลาในการให้แรงเฉือน (Farid, 2010) ได้แก่

2.1 Pseudoplastic fluid มีความหนืดลดลง เมื่ออัตราเฉือนเพิ่มขึ้น หรือความเร็วการกวนมาก ยิ่งกวน ยิ่งไหลง่ายขึ้น พฤติกรรมนี้แสดงสมบัติที่เรียกว่า “shear thinning” ตัวอย่างเช่น สารละลายพอลิเมอร์ที่ได้จากธรรมชาติ สารละลายพอลิเมอร์สังเคราะห์ น้ำผลไม้เข้มข้น น้ำผึ้ง และเนย เป็นต้น

2.2 Dilatant fluid มีความหนืดเพิ่มขึ้น เมื่ออัตราเฉือนเพิ่มขึ้นในระหว่างการให้แรงเฉือน หรือ ความเร็วในการกวนมาก ยิ่งกวน ยิ่งมีความหนืดมากขึ้น พฤติกรรมนี้แสดงสมบัติที่เรียกว่า “shear thickening” ตัวอย่างเช่น น้ำแป้ง และ น้ำดินข้น เป็นต้น

2.3 Bingham plastic fluid ของไหลที่แสดงการไหลแบบพลาสติก ของไหลที่เมื่อมีแรงกระทำสูงพอเพื่อเอาชนะค่าความเค้น ณ จุดคราก (yield stress) ถึงจะเริ่มไหลได้ และความหนืดของของเหลว ไม่ขึ้นกับอัตราเฉือน ตัวอย่างเช่น ซอสมะเขือเทศ สี ดินเหนียว มายองเนส เป็นต้น (จิรารัตน์ ทัตติยกุล, 2554) ลักษณะการไหลของของเหลว แสดงในรูปที่ 2.14



รูปที่ 2.14 ลักษณะการไหลของของเหลว
ที่มา ดัดแปลงมาจาก Tracton (2006)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 3
อุปกรณ์ เคมีภัณฑ์ และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

1. กล้องจุลทรรศน์ (microscope) รุ่น CH30RF200ของบริษัท Olympus, Japan
2. กระดาษกรอง Whatman ของบริษัท General Electric (GE), China
3. เครื่องชั่งหยาบ รุ่น PG 2002-S และรุ่น PG 6002-S ของบริษัท Mettler Toledo Co., Ltd., Switzerland
4. เครื่องชั่งละเอียด รุ่น AG 204 และรุ่น AG 285 ของบริษัท Mettler Toledo Co., Ltd., Switzerland
5. เครื่องนึ่งอบฆ่าเชื้อ (autoclave) รุ่นSS-352และ ES-315 ของบริษัท Tomy, Japan
6. เครื่องปั่นเหวี่ยงชนิดทำความเย็น (centrifuge) รุ่น 6500 ของบริษัท Kubota, Japan
7. เครื่องปั่นผสม (vortex) รุ่น Gene 2 ของบริษัท Scientific Industries, USA
8. เครื่องระเหิดแห้งแบบสูญญากาศรุ่น N-100 ของบริษัท Eyela, Japan
9. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) รุ่น Spectronic 20 Genesys ของบริษัท Spectronic Unicam, USA
10. เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) รุ่น S-20k ของบริษัท Mettler Toledo, Switzerland
11. ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส (incubator) ของบริษัท New Brunwick Scientific, USA
12. ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (incubator) ของบริษัท New Brunwick Scientific, USA
13. ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส (incubator) ของบริษัท New Brunwick Scientific, USA
14. ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส (incubator) ของบริษัท New Brunwick Scientific, USA
15. ตู้บ่มเชื้อแบบเขย่า (shaker) ของบริษัท New Brunwick Scientific, USA
16. ตู้เขี่ยเชื้อ (laminar flow) ของบริษัท Lab service, Thailand
17. ตู้อบความร้อนแห้ง (hot air oven) รุ่น D06063 ของบริษัท Mammert, Germany
18. ตู้อบความร้อนแห้ง (hot air oven) รุ่น UE600 ของบริษัท Mammert, Germany
19. ตู้แช่เย็น อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (freezer) ของบริษัท Sanyo, Japan

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

20. ตู้แช่แข็งจุดเยือกแข็งต่ำ -80 องศาเซลเซียส ของบริษัท Forma Scientific, USA
21. โถดูดความชื้น (dessicator)
22. ปิเปตต์ (pipette) ขนาด 5, 10 มิลลิลิตร ของบริษัท Gilson, France
23. ไมโครปิเปตต์(micropipette) ขนาด 20, 100, 200, 1000 ไมโครลิตร ของบริษัท Gilson, France

3.2 เคมีภัณฑ์

1. กลูโคส ของบริษัท Merck, Germany
2. กลีเซอรอล (glycerol) ของบริษัท Merck, Germany
3. กรดฟอสฟอริก (phosphoric acid) ของบริษัท Mallinckrodt chemicals, USA
4. กรดไตรคลอโรอะซิติก (trichloro acetic acid) ของบริษัท Merck, Germany
5. กรดซัลฟิวริก (sulfuric acid) ของบริษัท Merck, Germany
6. กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid) ของบริษัท Merck, Germany
7. เกลือ ตราปรุงทิพย์ ของบริษัท อุตสาหกรรมเกลือบริสุทธิ์ จำกัด ประเทศไทย
8. ซูโครส (sucrose) ของบริษัท น้ำตาลมิตรผล ประเทศไทย
9. โซเดียมอะซิเตท (sodium acetate) ของบริษัท Merck, Germany
10. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide) ของบริษัท Merck, Germany
11. แซนแทนกัม (xanthan gum) ของบริษัท Sigma Chemical Co., USA
12. ไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนซิเตรท (diammonium hydrogen citrate) ของบริษัท Carlo Erba, Italy
13. ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (dipotassium hydrogen phosphate) ของบริษัท Merck, Germany
14. ทวีน 80 (Tween 80) ของบริษัท Merck, Germany
15. น้ำมันปาล์มของบริษัทมรกต อินดัสตรี้ส์ จำกัด (มหาชน) ประเทศไทย
16. น้ำมันมะกอกของบริษัท Sabroso, Spain
17. น้ำมันถั่วเหลืองของบริษัท ธนากรผลิตภณัฑ์น้ำมันพืช ประเทศไทย
18. โบไวน์ซีรัมอัลบูมิน (Bovine Serum Albumin, BSA) ของบริษัท Sigma Chemical Co., USA
19. บิวทานอล (butanol) ของบริษัท Merck, Germany
20. โปรติโอส เพปโทน (proteose peptone) เบอร์ 3 ของบริษัท Becton, Dickinson and Company, USA

21. ผงวุ้น (agar)
22. ฟีนอล (phenol) ของบริษัท Merck, Germany
23. แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต (magnesium sulfate heptahydrate) ของบริษัท Merck, Germany
24. แมงกานีสซัลเฟตเตทตระไฮเดรต (manganese sulfate tetrahydrate) ของบริษัท Merck, Germany
25. เมทานอล (methanol) ของบริษัท Merck, Germany
26. สารสกัดจากเนื้อ (beef extract) ของบริษัท Labscan Asia, Co., Ltd., Thailand
27. สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) ของบริษัท Biospringer, France
28. สีโบรโมครีซอล เพอร์เพิล (bromocresol purple) ของบริษัท Merck, Germany
29. สีคูเมสซีบริลเลียนท์บลู (coomassie brilliant blue) ของบริษัท Fluka, Switzerland
30. เอทานอล (ethanol) ของบริษัท Labscan Asia, Co., Ltd., Thailand
31. อะซิโตน (acetone) ของบริษัท Merck, Germany
32. ไอโซโพรพานอล (isopropanol) ของบริษัท Merck, Germany
33. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ของบริษัท Merck, Germany
34. อาหารเลี้ยงเชื้อทริปโตเฟนของบริษัท Himedia,India
35. อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป de Man, Rogosa และ Sharpe (MRS) ของบริษัท Becton, Dickinson and Company, USA
36. อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป Macconkey ของบริษัท Difco, USA
37. Motility test medium ของบริษัท Himedia,India
38. Decarboxylase Test Medium Base ของบริษัท Himedia, India

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1 การคัดแยกแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก

เก็บตัวอย่างอาหารหมักดองและน้ำผลไม้ทั้งหมด 26 ตัวอย่างเนื่องจากคาดว่าจะเป็นแหล่งที่มีปริมาณเชื้อที่สนใจศึกษา จากกรุงเทพฯและจังหวัดใกล้เคียง ได้แก่ ตลาดคลองเตย ตลาดนัดจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตลาดอุดมสุข ตลาดมหาสิน ตลาดสามย่าน ตลาดราชพฤกษ์ ตลาดน้ำอัมพวา ห้างเทสโก้โลตัสสาขาจามจุรีสแควร์ ตลาดราชเทวี สยามพารากอน และตลาดสดจังหวัดชุมพร คัดแยกแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกจากตัวอย่างโดยการเขี่ยลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งแลกโตบาซิลไล เอ็ม อาร์ เอส (Lactobacilli MRS Agar) (ภาคผนวก ก) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ภายใต้ภาวะออกซิเจนต่ำโดยใช้ candle jar เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเลือกโคโลนีที่มีลักษณะแตกต่างกันไปเขี่ยบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MRS ที่มีโบรโมครีซอล เพอร์เพิลเป็นอินดิเคเตอร์ (ภาคผนวก ก) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสภายใต้ภาวะออกซิเจนต่ำ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง คัดเลือกโคโลนีที่รอบโคโลนีเปลี่ยนสีอินดิเคเตอร์จากสีม่วงเป็นสีเหลือง ซึ่งแสดงว่ามีการสร้างกรดขึ้น และนำโคโลนีนั้นไปเขี่ยบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MRS ที่มีความเข้มข้นซูโครส 4% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (ภาคผนวก ก) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้ภาวะออกซิเจนต่ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยเลือกโคโลนีที่มีลักษณะเมือกเยิ้ม ซึ่งแสดงว่าสามารถสร้างพอลิแซ็กคาไรด์ได้ (Ruas-Madiedo และ De Los Reyes-Gavilán, 2005) ทำให้เป็นโคโลนีเดี่ยวที่บริสุทธิ์ จากนั้นเก็บรักษาสายพันธุ์แบคทีเรียผลิตกรดแลกติกเพื่อนำไปศึกษาต่อไป

3.3.2 การเก็บรักษาแบคทีเรียเพื่อใช้ในงานวิจัย

3.3.2.1 การเก็บเชื้อระยะสั้น

นำแบคทีเรียที่คัดแยกได้ในข้อ 3.3.1 มาเขี่ยลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MRS นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ภายใต้ภาวะออกซิเจนต่ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยต้องถ่ายเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อใหม่ในระยะเวลาไม่เกิน 2 สัปดาห์

3.3.2.2 การเก็บเชื้อระยะยาว

นำแบคทีเรียที่คัดแยกได้ในข้อ 3.3.1 มาเขี่ยลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MRS นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ภายใต้ภาวะออกซิเจนต่ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เขี่ยเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MRS ที่มีการเติมน้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้ภาวะออกซิเจนต่ำ จนมีค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร อยู่ในช่วงระหว่าง 0.8-1.0 ดูดหัวเชื้อปริมาตร 1 มิลลิลิตรใส่ลงในหลอดเซนตริฟิวจ์ นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นดูดส่วนน้ำใสทิ้งและเติมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ชนิดเดียวกันที่มีกลีเซอรอลผสมในอัตราส่วน 15% โดยปริมาตรต่อปริมาตร หลังจากนั้นนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ –80 องศาเซลเซียส

3.3.3 การพิสูจน์เอกลักษณ์ทางอนุกรมวิธานของแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกที่คัดเลือก โดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rDNA (16S ribosomal DNA)

นำแบคทีเรียที่คัดเลือกเขี่ยเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MRS นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ภายใต้ภาวะออกซิเจนต่ำ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถูกใช้สำหรับการเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอและสำหรับการส่งซีเควนซิ่ง (Macrogen,Korea) โดยใช้โอลิโกนิวคลีโอไทด์ไพรเมอร์ที่จำเพาะต่อยีน 16s ribosomal DNA : 785F (GGA TTA GAT ACC CTG GTA) และ 907R (CCG TCA ATT CCT TTR AGT TT) เป็น forward primer และ reverse primer ตามลำดับข้อมูลลำดับนิวคลีโอไทด์แสดงในภาคผนวก จ แล้วปรับแนวลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยโปรแกรม Bioedit Sequence Alignment Editor เวอร์ชัน 7.2.5 (Hall, T.A., Departmeny of Microbiology, North Carolina State University) จากนั้นวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยโปรแกรม BlastN จากฐานข้อมูล GenBlank ของ National Center for Biotechnology Information (NCBI) (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST) เพื่อจำแนกชนิดของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ จากนั้นสร้างสายสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) โดยวิธีวิเคราะห์ Neighbor-*joining* ด้วยโปรแกรม MEGA 6 ใช้แบบจำลอง Kimura-2 parameter สำหรับการวิเคราะห์ nucleotide sequence divergence และวิเคราะห์ค่า Boostrap จำนวน 1,000 ซ้ำ

3.3.4 การผลิตและสกัดแยกพอลิแซ็กคาไรด์จากแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกที่คัดเลือกได้

3.3.4.1 การเตรียมหัวเชื้อ

นำแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกที่สร้างพอลิแซ็กคาไรด์ที่คัดแยกได้จากข้อ 3.3.1 มาเขี่ยลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MRS ที่มีความเข้มข้นซูโครส 4% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้ภาวะออกซิเจนต่ำ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเขี่ยเชื้อข้างต้นลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MRS ที่มีความเข้มข้นซูโครส 4% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสภายใต้ภาวะออกซิเจนต่ำ จนมีค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร อยู่ในช่วงระหว่าง 0.8-1.0 เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อ

3.3.4.2 การผลิตและสกัดแยกพอลิแซ็กคาไรด์

ถ่ายหัวเชื้อจากข้อ 3.3.4.1 ปริมาณ 10% โดยปริมาตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MRS ที่มีความเข้มข้นซูโครส 4% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่บรรจุอยู่ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้ภาวะออกซิเจนต่ำ เป็นเวลา 18

ชั่วโมง หลังจากนั้นสกัดแยกพอลิแซ็กคาไรด์ ตามวิธีดัดแปลงของ Kumar และคณะ (2004) โดยเติมกรดไตรคลอโรแอซิติกให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 4% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ตั้งไว้เป็นเวลา 30 นาที ปั่นแยกเซลล์ออกที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที นำส่วนใสไปตกตะกอนพอลิแซ็กคาไรด์ด้วย 95% เอทานอลเย็น ปริมาตร 2 เท่าของส่วนใส ตั้งไว้ข้ามคืน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำตะกอนละลายด้วยน้ำกลั่นและตกตะกอนอีกครั้งด้วยเอทานอลเย็น 95% ปริมาตร 2 เท่าของส่วนใส ตั้งไว้ข้ามคืนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที เก็บตะกอนที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ข้ามคืน นำพอลิแซ็กคาไรด์ไปทำแห้งด้วยเครื่องระเหิดแห้งที่อุณหภูมิต่ำ นำไปใส่ในเดซิเคเตอร์เพื่อให้น้ำหนักมีความคงที่และชั่งน้ำหนักแห้งพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดได้ รายงานในหน่วยกรัมต่อลิตร

3.3.5 การคัดเลือกแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกไอโซเลตที่เหมาะสม

คัดเลือกแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกสายพันธุ์ที่เหมาะสมที่จะนำไปใช้ศึกษาต่อโดยพิจารณาจากความแตกต่างของสายพันธุ์และประสิทธิภาพในการผลิตเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ จากนั้นนำสายพันธุ์ที่ถูกคัดเลือกมาสร้างสายสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (phylogenetic tree) ของแบคทีเรียโดยวิธีวิเคราะห์ Neighbor-*joining* ด้วยโปรแกรม MEGA 7 ใช้แบบจำลอง Kimura-2 parameter สำหรับการวิเคราะห์ nucleotide sequence divergence และวิเคราะห์ค่า Boostrap จำนวน 1,000 ซ้ำและนำไปทดสอบสมบัติอื่นๆ เพิ่มเติมต่อไป

3.3.6 การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและการทดสอบลักษณะทางชีวเคมีเบื้องต้นของแบคทีเรียที่คัดเลือก

3.3.6.1 การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา

นำแบคทีเรียที่คัดเลือกจากข้อ 3.3.4.1 เขี่ยลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MRS นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ภายใต้ภาวะออกซิเจนต่ำ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นสังเกตลักษณะโคโลนี และย้อมเซลล์ด้วยสีแกรมเพื่อดูการติดสี ลักษณะรูปร่าง และการจัดเรียงตัวของเซลล์

3.3.6.2 การทดสอบทางชีวเคมีเบื้องต้น โดยวิธีอ้างอิงจาก Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Kandler และ Weiss, 1986)

นำแบคทีเรียที่คัดเลือกจากข้อ 3.3.4.1 เขี่ยลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MRS นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ภายใต้ภาวะออกซิเจนต่ำ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเขี่ยโคโลนีเดี่ยวไปทดสอบในอาหารทดสอบชนิดต่างๆ ตามวิธีของ Bergey's Manual of Systematic Bacteriology ดังนี้

3.3.6.2.1 ความสามารถในการสร้างเอนไซม์แคทาเลส

นำแบคทีเรียที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MRS ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เขี่ยลงบนแผ่นสไลด์ จากนั้นหยดสารละลาย 3% H_2O_2 (ภาคผนวก ข) ลงบนเชื้อ ถ้ามีฟองก๊าซเกิดขึ้นแสดงว่าผลการทดสอบเป็นบวก และถ้าไม่เกิดฟองก๊าซแสดงว่าผลการทดสอบเป็นลบ

3.3.6.2.2 ความสามารถในการสร้างเอนไซม์ออกซิเดส (oxidase test)

หยดสารละลาย 1% tetramethyl-p- phenylenediamine-di hydrochloride ในน้ำเกลือปราศจากเชื้อ ลงบนแผ่นกระดาษกรองปราศจากเชื้อและขีดเชื้ออายุ 24 ชั่วโมงลงบนแผ่นกระดาษกรอง ถ้าเกิดสีม่วงหรือสีน้ำเงินเข้มบนกระดาษกรองภายใน 10 วินาที แสดงว่าผลการทดสอบเป็นบวก

3.3.6.2.3 ความสามารถในการเคลื่อนที่ (motility test)

เขี่ยเชื้อลงใน motility test medium (ภาคผนวก ก) โดยปักเชื้อตรงๆ (stab) ประมาณ 2/3 ของส่วนลูปของอาหาร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ถ้าเห็นการเจริญของเชื้อออกมานอกรอยปักเชื้อ (stab) แสดงว่าผลการทดสอบเป็นบวก

3.3.6.2.4 ความสามารถในการเจริญในอาหาร 6.5% และ 18% NaCl

เขี่ยเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MRS ที่มีความเข้มข้นของเกลือ NaCl 6.5% และ 18% บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ถ้าเห็นการเจริญของเชื้อโดยการสังเกตการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์ในอาหารจากสีม่วงเป็นสีเหลืองแสดงว่าผลการทดสอบเป็นบวก

3.3.6.2.5 ความสามารถในการเจริญในอาหารที่มี pH 4.4 และ 9.6

เขี่ยเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MRS ที่ pH 4.4 และ 9.6 บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ถ้าเห็นการเจริญของเชื้อโดยการสังเกตการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์ในอาหารจากสีม่วงเป็นสีเหลือง แสดงว่าผลการทดสอบเป็นบวก

3.3.6.2.6 ความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิ 10 และ 45 องศาเซลเซียส

เขี่ยเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MRS บ่มที่อุณหภูมิ 10 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง ถ้าเห็นการเจริญของเชื้อโดยการสังเกตการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์ในอาหารจากสีม่วงเป็นสีเหลืองแสดงว่าผลการทดสอบเป็นบวก

3.3.6.2.7 ความสามารถในการใช้น้ำตาลกลูโคสด้วยกระบวนการหมักเพื่อศึกษาถึงความสามารถในการผลิตกรดแลกติกเพียงอย่างเดียว (homofermentative)

เขี่ยเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ phenol red base broth (ภาคผนวก ก) ที่มีการเติม 1% กลูโคสและหลอดดักแก๊ส บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง สังเกตการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์ในอาหารจากสีส้มเป็นสีเหลือง แสดงว่าผลการทดสอบเป็นบวก หากไม่พบแก๊สแสดงว่าเชื้อเป็นกลุ่มฮอมอเฟอร์เมนเททีฟและถ้ามีการพบแก๊สในหลอดดักแก๊สแสดงว่าเป็นกลุ่มเฮเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ (Axelsson, 2004)

3.3.6.2.8 ความสามารถในการใช้น้ำตาล

เขี่ยเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MRS ที่มีการเติมโบรโมครีซอล เพอร์เพิลเป็นอินดิเคเตอร์ และใช้แหล่งคาร์บอนจากน้ำตาลต่างชนิดกัน 18 ชนิด ได้แก่อะราบิโนส (arabinose), เซลโลไบโอส (cellobiose), ฟรุกโทส (fructose), กาแลกโทส, กลูโคเนต (gluconate), กลูโคส, แลกโทส (lactose), มอลโทส (maltose), แมนนิทอล (mannitol), แมนโนส, แรฟฟิโนส (raffinose), แรมโนส (rhamnose), ไรโบส (ribose), ซาลิซิน (salicin), ซอร์บิทอล (sorbitol), ซูโครส (sucrose), ทรีฮาโลส (trehalose), ไซลิทอล (xylitol) และไซโลส (xylose) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง สังเกตการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์ในอาหารจากสีม่วงเป็นสีเหลืองแสดงว่าผลการทดสอบเป็นบวก

3.3.7 ศึกษาปริมาณแหล่งคาร์บอนในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์

หลังจากคัดเลือกเชื้อสายพันธุ์ที่เหมาะสม นำแบคทีเรียที่คัดเลือกจากข้อ 3.3.4.1 มาผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ โดยเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งน้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน โดยมีการแปรผันความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่ 2%, 4%, 6%, 8% และ 10% จากนั้นสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ตามวิธีข้อ 3.3.4.2 แล้วนำน้ำหนักแห้งรายงานผลในหน่วยของกรัมต่อลิตร

3.3.8 ศึกษาลักษณะสมบติทางเคมีและทางกายภาพของพอลิแซ็กคาไรด์

3.3.8.1 ความสามารถในการละลาย (solubility test)

นำพอลิแซ็กคาไรด์จากข้อ 3.3.4.2 ละลายในตัวทำละลาย 5 ชนิด คือ น้ำกลั่น เมทานอล อะซีโทน ไอโซโพรพานอล และ n-บิวทานอล ให้มีความเข้มข้น 0.5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จากนั้นผสมให้เข้ากันที่อุณหภูมิห้อง สังเกตการละลายของพอลิแซ็กคาไรด์โดยทดสอบเปรียบเทียบกับแซนแทนกัม (Collins และคณะ, 1973)

3.3.8.2 ความสามารถในการอุ้มน้ำโดยใช้กระดาษโครมาโตกราฟี (paper chromatography)

นำพอลิแซ็กคาไรด์จากข้อ 3.3.4.2 บดละเอียดเป็นผง และนำไปละลายในน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 0.5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จากนั้นใช้กระดาษกรอง (filter paper) จุ่มลงในสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และทำทดสอบเทียบอีกหนึ่งชุดในน้ำกลั่น จากนั้นวัดระยะทางของเหลวที่เคลื่อนที่ได้ โดยแสดงเป็นเปอร์เซ็นต์ระยะทางของเหลวในสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ที่เคลื่อนที่ได้ต่อระยะทางของน้ำกลั่นที่เคลื่อนที่ได้ หรือเรียกว่าอัตราการสกัดของเหลวออกจากพอลิแซ็กคาไรด์ (% syneresis) ถ้าเปอร์เซ็นต์อัตราการสกัดของเหลวออกจากพอลิแซ็กคาไรด์ต่ำแสดงถึงความสามารถในการอุ้มน้ำสูง เปรียบเทียบกับแซนแทนกัม (Tako และคณะ, 1982)

3.3.8.3 ความสามารถการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของพอลิแซ็กคาไรด์

นำพอลิแซ็กคาไรด์จากข้อ 3.3.4.2 บดละเอียดเป็นผงและละลายน้ำให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรโดยน้ำหนักต่อปริมาตร นำไปผสมกับน้ำมันพืชแต่ละชนิด ได้แก่ น้ำมันมะกอก น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันปาล์ม น้ำมันข้าวโพด และน้ำมันเมล็ดดอกทานตะวัน ตามลำดับในอัตราส่วน 4:6 นำไปเขย่าด้วยเครื่องปั่นผสมสารโดยใช้ความเร็วสูงสุด เป็นเวลา 2 นาที วัดค่าความสามารถการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ (Emulsion index, E_{24}) หลังจาก 24 ชั่วโมง โดยแสดงเป็นเปอร์เซ็นต์ของระดับความสูงของอิมัลชันต่อระดับความสูงทั้งหมด เปรียบเทียบกับแซนแทนกัม ใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์เป็นชุดควบคุม (Ashtaputre และ Shah, 1995)

3.3.8.4 วิเคราะห์ชนิดของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์

เตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (high performance liquid chromatography, HPLC) ที่ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย นำพอลิแซ็กคาไรด์จากแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกที่สกัดแยกได้จากข้อ 3.3.4.2 บดละเอียดเป็นผง และนำผงพอลิแซ็กคาไรด์ปริมาณ 10 มิลลิกรัมย่อยด้วยกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตรใส่ในหลอดฝาเกลียว จากนั้นนำไปผ่านความร้อนในเครื่องนึ่งอบฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (Kambourova และคณะ, 2009) ตั้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำไปปรับค่าความเป็นกรดด่างให้มีค่าเท่ากับ 7 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (ภาคผนวก ข) ที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 0.1, 1 และ 10 โมลาร์ จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที กรองส่วนน้ำใสผ่านกระดาษกรองขนาด 0.2 ไมโครเมตร ลงในหลอดเอพเพนดอร์ฟ นำไปเก็บที่อุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียส นำสารละลายใสที่ได้ไปฉีดวิเคราะห์ชนิดของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Sugar SZ5532 อุณหภูมิคอลัมน์ 60 องศาเซลเซียส ที่มีอัตราการไหล 1.0 มิลลิลิตรต่อนาที โดยมีเฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายอะซิโตไนไทรล์ 80% โดยปริมาตร แล้วนำโครมาโทแกรมที่ได้เปรียบเทียบชนิดของน้ำตาลจากสารละลายมาตรฐานจากเวลาที่สารตัวอย่างถูกชะออกจากคอลัมน์ซึ่งน้ำตาลมาตรฐานคือ น้ำตาลกลูโคส, ฟรุกโทส, อะราบิโนส, ไซโลส, แรมโนส และไรโบส (ภาคผนวก ค)

3.3.8.5 วิเคราะห์องค์ประกอบโดยรวมของพอลิแซ็กคาไรด์

3.3.8.5.1 วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของพอลิแซ็กคาไรด์โดยวิธี Phenol-Sulfuric acid ตามวิธีของ DuBois และคณะ (1956)

เตรียมตัวอย่างสารละลายเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดแยกได้จากข้อ 3.3.4.2 ให้มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง ทำblank โดยใช้น้ำกลั่น จากนั้นเติมสารละลายฟีนอล (ภาคผนวก ข) ที่ความเข้มข้น 5% ปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงในสารละลายตัวอย่าง ผสมให้เข้ากันที่อุณหภูมิห้อง เติมสารละลายกรดซัลฟูริก (ภาคผนวก ข) เข้มข้นปริมาตร 5 มิลลิลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเขย่าให้เข้ากันที่อุณหภูมิห้อง ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 นาโนเมตร ทดลองเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกลูโคส (ภาคผนวก ค)

3.3.8.5.2 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์โดยวิธี Protein Dye Binding ตามวิธีของ Bradford (1976)

เตรียมตัวอย่างสารละลายเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ที่สกัดแยกได้จากข้อ 3.3.4.2 ให้มีความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง ทำ blank โดยใช้น้ำกลั่น จากนั้นเติมสีคูเมสซีบริลเลียนท์บลู (ภาคผนวก ข) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในสารละลายตัวอย่าง ผสมให้เข้ากัน ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที นำไปวัดค่าการดูด กลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร ทดลองเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของโบไวน์ซีรัมอัลบูมิน (ภาคผนวก ค)

3.3.8.6 การวิเคราะห์หาชนิดประจุของพอลิแซ็กคาไรด์

นำพอลิแซ็กคาไรด์จากข้อ 3.3.4.2 ที่สกัดแยกได้มาละลายในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.01 โมลาร์ (ภาคผนวก ข) เติมสารละลายเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้น 10% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (ภาคผนวก ข) บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง สังเกตการเกิดตะกอนของสารละลาย ถ้าพบตะกอนในสารละลายแสดงว่าเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีประจุลบ (acidic polysaccharide) ถ้าไม่พบตะกอนให้นำมาตกตะกอนซ้ำด้วยเอทานอล 95% ถ้าเกิดตะกอนแสดงว่าเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีประจุเป็นกลาง (neutral polysaccharide) (Ueda และคณะ, 1981) โดยใช้แซนแทนกัมเป็นตัวควบคุมที่มีประจุลบและโซเดียมคลอไรด์เป็นตัวควบคุมที่มีประจุบวก

3.3.8.7 การวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนด้วยเทคนิคเทอร์โมกราวิเมทริกอะนาไลซิส (TGA)

นำพอลิแซ็กคาไรด์จากข้อ 3.3.4.2 ที่สกัดแยกได้ปริมาณ 10 มิลลิกรัม ส่งวิเคราะห์สมบัติทางความร้อนด้วยเทคนิค TGA ด้วยเครื่อง Perkin-Elmer TGA 7 thermogravimetric analyzer ที่ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยใช้ภาวะในการทดสอบเริ่มจากอุณหภูมิ 30 ถึง 600 องศาเซลเซียส อัตราการเพิ่มความร้อน 10 องศาเซลเซียสต่อนาที ทดสอบภายใต้บรรยากาศของแก๊สไนโตรเจน (Kumar และคณะ, 2004)

3.3.8.8 การวัดความหนืด

เตรียมสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์โดยใช้ที่สกัดได้จากข้อ 3.3.4.2 ให้มีความเข้มข้น 5% โดยมวลต่อปริมาตร วัดสมบัติการไหลและความหนืดด้วยเครื่อง Rheometer Bohlin รุ่น C-VOR ประมวลผลด้วยโปรแกรม Bohlin software CVOR15 ที่อัตราเฉือนระหว่าง 0.04 – 400 วินาที$^{-1}$เปรียบเทียบกับแซนแทนกัม (Rao และ Goyal, 2013)

3.3.9 การคัดเลือกแบคทีเรียสายพันธุ์ที่เหมาะสมเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในอาหาร

คัดเลือกสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกที่สามารถนำไปประยุกต์ในอาหาร โดยพิจารณาจากผลทดลองการศึกษาสมบัติทางเคมีและกายภาพ เพื่อนำไปใช้เพื่อประยุกต์ในการผลิตมายองเนสต่อไป จากการวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยใช้วิธี ANOVA (analysis of variance) ด้วยโปรแกรม SPSS version 23.0 (Polar Engineering and Consulting company) และเปรียบเทียบความแตกต่าง (Significant differences; $p < 0.05$) ของค่าเฉลี่ยทดสอบด้วย Least Significant Different (LSD) ถ้า $p < 0.05$ แสดงว่า ค่าเฉลี่ยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อ 95% และ $p > 0.05$ แสดงว่า ค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อ 95%

3.3.10 ศึกษาชนิดของแหล่งคาร์บอนในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ในสายพันธุ์ที่คัดเลือกเพื่อนำไปประยุกต์ใช้

นำเชื้อสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งน้ำตาลต่างๆ กัน ได้แก่ แมนโนส เด็กซ์โทรส กลูโคส ฟรุกโตส มอลโทส ไซโลส และซูโครส ที่ความเข้มข้น 4% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร สกัดพอลิแซ็กคาไรด์ตามวิธีข้อ 3.3.4.2 แล้วนำน้ำหนักแห้งรายงานผลในหน่วยของกรัมต่อลิตร

3.3.11 ศึกษารูปแบบการเจริญ การใช้น้ำตาล และการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้

เลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.3.9 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MRS ที่เติมซูโครสความเข้มข้น 4% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ตามภาวะในข้อ 3.3.4.2 เก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 15, 18, 24 และ 48 ชั่วโมง

3.3.11.1 ศึกษารูปแบบการเจริญของแบคทีเรียจากสายพันธุ์ที่คัดเลือกเพื่อนำไปประยุกต์ใช้โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสง

ติดตามการเจริญของแบคทีเรีย โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร จากนั้นนำมาสร้างกราฟแสดงรูปแบบการเจริญของเชื้อ

3.3.11.2 ศึกษารูปแบบการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือก เพื่อนำไปประยุกต์ใช้โดยการวัดน้ำหนักเซลล์แห้ง

เก็บตัวอย่างตามระยะเวลาที่กำหนดตามข้อ 3.3.11.1 เพื่อติดตามการเจริญของเชื้อ โดยตกตะกอนโปรตีนด้วยกรดไตรคลอโรแอซิติกซึ่งปรับให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 4% โดย

น้ำหนักต่อปริมาตร ตั้งไว้เป็นเวลา 30 นาที นำไปปั่นเก็บเซลล์ที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที เพื่อแยกเอาตะกอนเซลล์ออกแล้วไปนำเซลล์ที่ได้ใส่ในอะลูมินัมฟอยล์ (aluminum foil)ไปอบในตู้อบแห้ง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในเดซิเคเตอร์ นำไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งละเอียด รายงานผลเป็นค่าน้ำหนักเซลล์แห้งในหน่วยกรัมต่อลิตร จากนั้นนำมาสร้างกราฟแสดงรูปแบบการเจริญของเชื้อ

3.3.11.3 ศึกษารูปแบบการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือกเพื่อนำไปประยุกต์ใช้โดยการ Drop plate

เก็บตัวอย่างตามระยะเวลาที่กำหนดตามข้อ 3.3.11.1 เพื่อติดตามการเจริญของแบคทีเรียโดยการนำตัวอย่างมาเจือจางให้มีความเข้มข้น 10^{-1} จนถึง 10^{-9} ดูดตัวอย่างที่เจือจางแล้วปริมาตร 10 ไมโครลิตร หยดลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MRS บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นับจำนวนโคโลนีที่ความเข้มข้นต่างๆ ในช่วง 3-30 โคโลนีต่อหยด จากนั้นนำมาสร้างกราฟแสดงรูปแบบการเจริญของเชื้อ

3.3.11.4 การศึกษาการใช้น้ำตาลของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้

เลี้ยงแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้จากข้อ 3.3.9 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MRS ที่เติม ซูโครสความเข้มข้น 4% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เก็บตัวอย่างตามระยะเวลาที่กำหนดตามข้อ 3.3.11.1 เพื่อติดตามการใช้น้ำตาลของแบคทีเรีย นำตัวอย่างมากรองผ่านหัวกรองขนาด 0.2 ไมโครเมตร ลงในหลอดเอพเพนดอร์ฟ นำไปเก็บที่อุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียส นำสารละลายใสที่ได้ไปฉีดวิเคราะห์ชนิดของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้คอลัมน์ Sugar SZ5532 อุณหภูมิคอลัมน์ 60 องศาเซลเซียส ที่มีอัตราการไหล 1.0 มิลลิตรต่อนาที โดยมีเฟสเคลื่อนที่เป็นสารละลายอะซิโตไนไทรล์ 80% โดยปริมาตร นำโครมาโทแกรมที่ได้เปรียบเทียบชนิดของน้ำตาลจากสารละลายมาตรฐานจากเวลาที่สารตัวอย่างถูกชะออกจากคอลัมน์ ซึ่งน้ำตาลมาตรฐานคือ น้ำตาลซูโครส (ภาคผนวก ค) จากนั้นนำมาสร้างกราฟแสดงรูปแบบการใช้น้ำตาลของแบคทีเรีย

3.3.11.5 ศึกษารูปแบบการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือกเพื่อนำไปประยุกต์ใช้

เก็บตัวอย่างตามระยะเวลาที่กำหนดตามข้อ 3.3.11.1 เพื่อติดตามการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ จากนั้นสกัดแยกพอลิแซ็กคาไรด์ตามวิธีการสกัดในข้อ 3.3.4.2 จากนั้นนำมาสร้างกราฟแสดงรูปแบบการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ของแบคทีเรีย

3.3.11.6 ศึกษาความหนืดของพอลิแซ็กคาไรด์ของแบคทีเรียสายพันธุ์ที่คัดเลือกเพื่อนำไปประยุกต์ใช้ที่ความเข้มข้นต่างๆ

เตรียมสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์โดยพอลิแซ็กคาไรด์จากไอโซเลตที่คัดเลือกได้เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ที่สกัดได้จากข้อ 3.3.4.2 ให้มีความเข้มข้น 1%, 3% และ5% โดยมวลต่อปริมาตร วัดสมบัติการไหลและความหนืดด้วยเครื่อง Rheometer Bohlin รุ่น C-VOR โดยประมวลผล ด้วยโปรแกรม Bohlin software CVOR15 ที่อัตราเฉือนระหว่าง 0.04 -400วินาที-1 (Rao และ Goyal, 2013)

3.3.12 การประยุกต์ใช้ในมายองเนส

3.3.12.1 เตรียมมายองเนสไขมันต่ำตามวิธีดัดแปลงของ Kiosseoglou และ Sherman (1983)

ผสมไข่แดงและน้ำส้มสายชูลงในชามผสม จากนั้นใช้เครื่องผสมอาหารรุ่น SMX-250 ตราหัวม้าลายปั่นที่ความเร็วระดับ 4 เป็นเวลา 2 นาที ค่อยๆเติมน้ำมันลงไปอย่างช้าๆ โดยคงความเร็วระดับ 4 เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้น 1%, 3%และ 5% เกลือ และน้ำตาล ตีต่อด้วยความเร็วระดับ 4 เป็นเวลา 10 นาที ชุดควบคุมบวกคือมายองเนสสูตรที่ไม่มีการสัดส่วนของส่วนผสม (มายองเนสสูตรปกติ) และมายองเนสทางการค้าที่เลือกใช้คือ มายองเนส บริษัท ไฮน์ สูตรลดไขมันซึ่งในสูตรของมายองเนสจากทางการค้าใช้แซนแทนกัมเป็นสารให้ความคงตัว (ภาคผนวก ฉ) ชุดควบคุมลบคือ มายองเนสที่ไม่มีการเติมพอลิแซ็กคาไรด์โดยอัตราส่วนของส่วนผสมของมายองเนสแต่ละชนิดแสดงดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 ส่วนผสมมายองเนสสูตรปกติ สูตรลดไขมัน และสูตรลดไข่แดงตามวิธีดัดแปลงของ **Kiosseoglou และ Sherman (1983)**

ส่วนผสม (กรัม)	มายองเนสสูตรปกติ (Full Fat)	มายองเนสสูตรลดไขมัน (Reduce Fat)	มายองเนสสูตรลดไข่แดง (Reduce Egg)	มายองเนสสูตรลดไข่แดงและไขมัน (Reduce Egg)
ไข่แดง	9.5	9.5	4.5	4.5
น้ำส้มสายชู	8.7	8.7	8.7	8.7
น้ำมัน	75	37.5	75	37.5
น้ำ	5	37.5	5	42
เกลือ	1.1	1.1	1.1	1.1
น้ำตาลทราย	0.7	0.7	0.7	0.7
สารละลายพอลิแซ็กคาไรด์	0	0, 1, 3, 5	0, 1, 3, 5	0, 1, 3, 5

3.3.12.2 ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์และการกระจายอนุภาคของอิมัลชัน

ตรวจสอบลักษณะและถ่ายภาพอิมัลชันมายองเนสภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ภายหลังการเกิดอิมัลชัน 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ขนาดการกระจายอนุภาค (particle size distribution) ของอิมัลชันโดยใช้โปรแกรม ImageJ (National Institutes of Health, USA) (Prasanna และคณะ, 2012) และเปรียบเทียบกับมายองเนสที่ไม่ใส่พอลิแซ็กคาไรด์และแซนแทนกัม

3.3.12.3 วัดความหนืดของมายองเนส

นำมายองเนสมาวัดสมบัติการไหลและความหนืดด้วยเครื่อง Rheometer Bohlin รุ่น C-VOR โดยประมวลผลด้วยโปรแกรม Bohlin software CVOR15 ที่อัตราเฉือนระหว่าง 0.04-400 วินาที$^{-1}$ ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส (Prasanna และคณะ, 2012)

3.3.12.4 วัดค่าความเป็นกรดด่างของมายองเนส

วัดการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่างของมายองเนสในวันที่ 1 7 15 และ 30 โดยใช้เครื่องวัดค่าความเป็นกรดด่าง

3.3.12.5 วิเคราะห์ค่าปริมาณการให้พลังงาน

วิเคราะห์ค่าการให้พลังงานโดยวัดจากค่าพลังงานความร้อนด้วยเครื่อง Bomb Calorimeter AC-500 โดยศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.3.12.6 วิเคราะห์ค่าสี

นำตัวอย่างมายองเนสในวันที่ 0 และ 7 วิเคราะห์ค่าสีโดยใช้เครื่องโครมามิเตอร์ที่ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในระบบ CIE โดยจะแสดงเป็นค่าของ L* a* และ b* ทั้งนี้ค่า L* บ่งบอกถึงความสว่าง (Lightness) โดยมีค่าตั้งแต่ 0 (สีดำ) ถึง 100 (สีขาว) ค่า a* (redness/greenness) แสดงความเป็นสีแดงและสีเขียวโดยค่าทางบวกแสดงถึงความเป็นสีแดงและค่าทางลบแสดงถึงความเป็นสีเขียว และค่า b* แสดงถึงสีเหลืองและ สีน้ำเงิน (yellowness/blueness) โดยค่าทางบวกแสดงถึงความเป็นสีเหลืองและค่าทางลบแสดงถึงความเป็นสีเขียว จากนั้นนำค้ังหมดที่ได้จากการวิเคราะห์ไปคำนวณหาค่า ΔE ซึ่งคือค่าการเปลี่ยนแปลงสีทั้งหมด (Ahmad และคณะ, 2012) ตามสูตรต่อไปนี้

$$\Delta E* = \sqrt{(\Delta L*)\ 2+\ (\Delta a*)\ 2+\ (\Delta b*)\ 2}$$

3.3.12.7 วัดค่าปริมาณน้ำอิสระในมายองเนส

นำมายองเนสในวันที่ 0 และ7 วิเคราะห์ค่าปริมาณน้ำอิสระในตัวอย่าง (aw) โดยใช้เครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระในอาหาร (Aw: water activity Meter) AquaLab Model : Series3 TE, USA ที่ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.3.12.8 วิเคราะห์ความคงตัวของมายองเนส

นำมองยองเนสภายหลังการจัดเก็บ 24 ชั่วโมงใส่หลอดทดลองปริมาตร 15 มิลลิลิตร วัดความสูงของชั้นอิมัลชันเริ่มต้น (F0) จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง 10,000 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซสเซียส แล้ววัดความสูงของอิมัลชันที่คงเหลือ (F1) และคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ความคงตัวของอิมัลชันตามสูตรต่อไปนี้ (Amatayakul และคณะ, 2006)

$$Emulsion\ stability\ (\%) = \frac{\text{ความสูงของอิมัลชันที่คงเหลือ}(F1)}{\text{ความสูงของชั้นอิมัลชันเริ่มต้น}\ (F0)} \times 100$$

3.3.12.9 วิเคราะห์จุลินทรีย์ทั้งหมดในมายองเนส

ทดสอบในมายองเนสที่มีการฆ่าเชื้อและไม่ฆ่าเชื้อ โดยเก็บตัวอย่างทดสอบภายหลังการจัดเก็บ 1และ30 วันเปรียบเทียบกัน โดยปฏิบัติตาม สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2523) (ภาคผนวก ง)

3.3.12.10 วิเคราะห์ยีสต์และราในมายองเนส

ทดสอบในมายองเนสที่มีการฆ่าเชื้อและไม่ฆ่าเชื้อ โดยเก็บตัวอย่างทดสอบภายหลังการจัดเก็บ 1และ30 วันเปรียบเทียบกัน โดยปฏิบัติตาม สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2523)

3.3.12.11 วิเคราะห์โคลิฟอร์มในมายองเนส

ทดสอบในมายองเนสที่มีการฆ่าเชื้อและไม่ฆ่าเชื้อ โดยเก็บตัวอย่างทดสอบภายหลังการจัดเก็บ 1และ30 วันเปรียบเทียบกัน โดยใช้วิธีเอ็มพีเอ็น ปฏิบัติตาม AOAC (1990) ข้อ 17.2.02 (ภาคผนวก ง)

3.3.12.12 วิเคราะห์แล็กโทบาซิลลัสในมายองเนส

ทดสอบในมายองเนสที่มีการฆ่าเชื้อและไม่ฆ่าเชื้อ โดยเก็บตัวอย่างทดสอบภายหลังการจัดเก็บ 1และ30 วันเปรียบเทียบกัน โดยปฏิบัติตามสำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม (2540) ข้อ 11.2 (ภาคผนวก ง)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 4
ผลการทดลอง

4.1 การคัดแยกแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกที่สามารถสร้างพอลิแซ็กคาไรด์ได้จากตัวอย่าง

การคัดแยกแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกจากตัวอย่างดังต่อไปนี้ คือ หน่อไม้ดอง 11 ตัวอย่าง ผักกาดดอง 5 ตัวอย่าง มะนาวดอง 2 ตัวอย่าง ขิงดอง 1 ตัวอย่าง ถั่วงอกดอง 1 ตัวอย่าง กระเทียมดอง 3 ตัวอย่าง แหนม 12 ตัวอย่าง น้ำส้ม 1 ตัวอย่าง น้ำฝรั่ง 1 ตัวอย่าง น้ำสับปะรด 1 ตัวอย่าง และน้ำมะพร้าว 1 ตัวอย่าง โดยเก็บตัวอย่างจากเขตกรุงเทพฯ และจังหวัดใกล้เคียง ได้แก่ ตลาดคลองเตย ตลาดนัดจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ตลาดอุดมสุข ตลาดมหาสิน ตลาดสามย่าน ตลาดราชพฤกษ์ ตลาดน้ำอัมพวา ห้างเทสโก้โลตัสสาขาจามจุรีสแควร์ ตลาดราชเทวี สยามพารากอน และตลาดสดจังหวัดชุมพร จากนั้นนำตัวอย่างที่เก็บมาคัดแยกแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MRS และเลือกโคโลนีที่แสดงลักษณะแตกต่างกันมาคัดแยกแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MRS ที่มีการเติมโบรโมครีซอลเพอร์เพิลเป็นอินดิเคเตอร์สี ภายหลังการสังเกตลักษณะโคโลนีที่มีการเปลี่ยนสีอาหารจากสีม่วงเป็นสีเหลือง แล้วคัดเลือกโคโลนีที่ผลิตกรดแลกติกได้ไปทดสอบความสามารถในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MRS ที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 4% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ใช้เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าสามารถคัดแยกแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกได้ทั้งหมด 205 ไอโซเลต ซึ่งมีเพียง 88 ไอโซเลต ตารางที่ 4.1 ที่มีความสามารถในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ โดยโคโลนีมีลักษณะเป็นเมือกเยิ้ม ได้คัดเลือกไอโซเลตที่โคโลนีมีความกว้างที่สุดจำนวน 8 ไอโซเลตบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และ MRS ที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 4% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ตารางที่ 4.2 เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป โดยได้รับการกำหนดรหัสเป็น P01, P02, P03, P04, P05, P06, P07 และ P08 ตามลำดับ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ 4.1 จำนวนไอโซเลตของแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก และแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกที่สามารถผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ที่คัดแยกได้จากตัวอย่างทั้งหมด

ลำดับ	ตัวอย่างอาหาร	แหล่งที่มา	จำนวนไอโซเลต	
			แบคทีเรียผลิตกรดแลกติก	แบคทีเรียผลิตกรดแลกติกที่สร้างพอลิแซ็กคาไรด์
1	หน่อไม้ดอง	ตลาดคลองเตย	19	10
2	หน่อไม้ดอง	ตลาดอุดมสุข	14	7
3	หน่อไม้ดอง	ตลาดมหาสิน	7	3
4	หน่อไม้ดอง	ตลาดราชพฤกษ์	12	5
5	ผักกาดดอง	ตลาดมหาสิน	11	2
6	ผักกาดดอง	ตลาดคลองเตย	3	ไม่พบ
7	ผักกาดดอง	ตลาดราชพฤกษ์	7	4
8	มะนาวดอง	เทสโกโลตัส สาขา จามจุรีสแควร์	3	ไม่พบ
9	มะนาวดอง	ตลาดน้ำดอนหวาย	11	6
10	มะนาวดอง	สยามพารากอน	ไม่พบ	ไม่พบ
11	กระเทียมดอง	ตลาดน้ำดอนหวาย	4	1
12	กระเทียมดอง	ตลาดสามย่าน	7	5
13	กระเทียมดอง	ตลาดคลองเตย	2	1
14	ขิงดอง	เทสโกโลตัส สาขา จามจุรีสแควร์	ไม่พบ	ไม่พบ
15	ถั่วงอกดอง	ตลาดสดจังหวัดชุมพร	15	7
16	แหนมหมู	ตลาดคลองเตย	13	5
17	แหนมเนื้อวัว	ตลาดคลองเตย	9	4
18	แหนมเนื้อวัว	ตลาดราชเทวี	17	9
19	แหนมหมู	ตลาดราชเทวี	14	6
20	แหนมหมู	ตลาดนัดจุฬาฯ	9	5
21	แหนมหมู	ตลาดบางเขน	10	2
22	แหนมหมู	ตลาดสามย่าน	12	3
23	น้ำส้ม	ตลาดบางเขน	ไม่พบ	ไม่พบ
24	น้ำฝรั่ง	ตลาดสามย่าน	3	ไม่พบ
25	น้ำสับปะรด	ตลาดบางเขน	ไม่พบ	ไม่พบ
26	น้ำมะพร้าว	ตลาดสามย่าน	3	3
	รวม		205	88

ตารางที่ 4.2 ความกว้างโคโลนีของแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกที่คัดเลือกจากอาหารหมักดองบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MRS และอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MRS ที่มีความเข้มข้นซูโครส 4% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

รหัสเชื้อ	**แหล่งที่มา**	**ความกว้างโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MRS (เซนติเมตร)**	**ความกว้างโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MRS ที่มีความเข้มข้นซูโครส 4% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (เซนติเมตร)**
P01	กระเทียมดอง / ตลาดน้ำดอนหวาย	0.10	0.30
P02	กระเทียมดอง / ตลาดคลองเตย	0.15	0.10
P03	หน่อไม้ดอง / ตลาดอุดมสุข	0.10	0.10
P04	หน่อไม้ดอง / ตลาดคลองเตย	0.20	0.70
P05	แหนมหมู / ตลาดราชเทวี	0.15	0.35
P06	แหนมเนื้อ / ตลาดราชเทวี	0.30	0.60
P07	มะนาวดอง / ตลาดน้ำดอนหวาย	0.30	0.70
P08	กระเทียมดอง / ตลาดสามย่าน	0.15	0.20

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.2 การพิสูจน์เอกลักษณ์ทางอนุกรมวิธานของแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกที่คัดเลือกได้

นำแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกที่คัดเลือกทั้ง 8 ไอโซเลต ไปวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rDNA (Macrogen, Korea) และปรับแนวของลำดับนิวคลีโอไทด์ด้วยโปรแกรม Bioedit Sequence Alignment Editor version 7.2.5 (Hall, T.A., Departmeny of Microbiology, North Carolina State University) โดยลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ใช้มีความยาวอยู่ในช่วง 1500 คู่เบส จากนั้นนำลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ปรับแต่งมาวิเคราะห์เปรียบเทียบโดยใช้โปรแกรม BlastN จากฐานข้อมูล GenBlank ของ National Center for Biotechnology Information (NCBI) ด้วยโปรแกรม BlastN (www.ncbi.nlm.nih.gov/BLAST) เพื่อจำแนกชนิดของแบคทีเรีย พบว่า ไอโซเลต P01 อยู่ในสปีชีส์ *Leuconostoc mesenteroides* ไอโซเลต P02 และ P03 อยู่ในสปีชีส์ *Lactobacillus plantarum* ไอโซเลต P04, P05 และ P08 อยู่ในสปีชีส์ *Acetobacter indonesiensis* และไอโซเลต P06 และ P07 อยู่ในสปีชีส์ *Pediococcus pentosaceus* (Lisdiyanti และคณะ, 2001)จากการวิเคราะห์พบว่าไอโซเลต P02 แสดง%identity มีค่าต่ำถึง 77% ทำให้ข้อมูลที่ได้มีความน่าเชื่อถือน้อย จึงไม่นำไปศึกษาต่อ จึงนำไอโซเลตอื่นๆนำไปศึกษาประสิทธิภาพในการผลิตเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์คือ P01, P03, P04, P05,P06, P07 และ P08

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

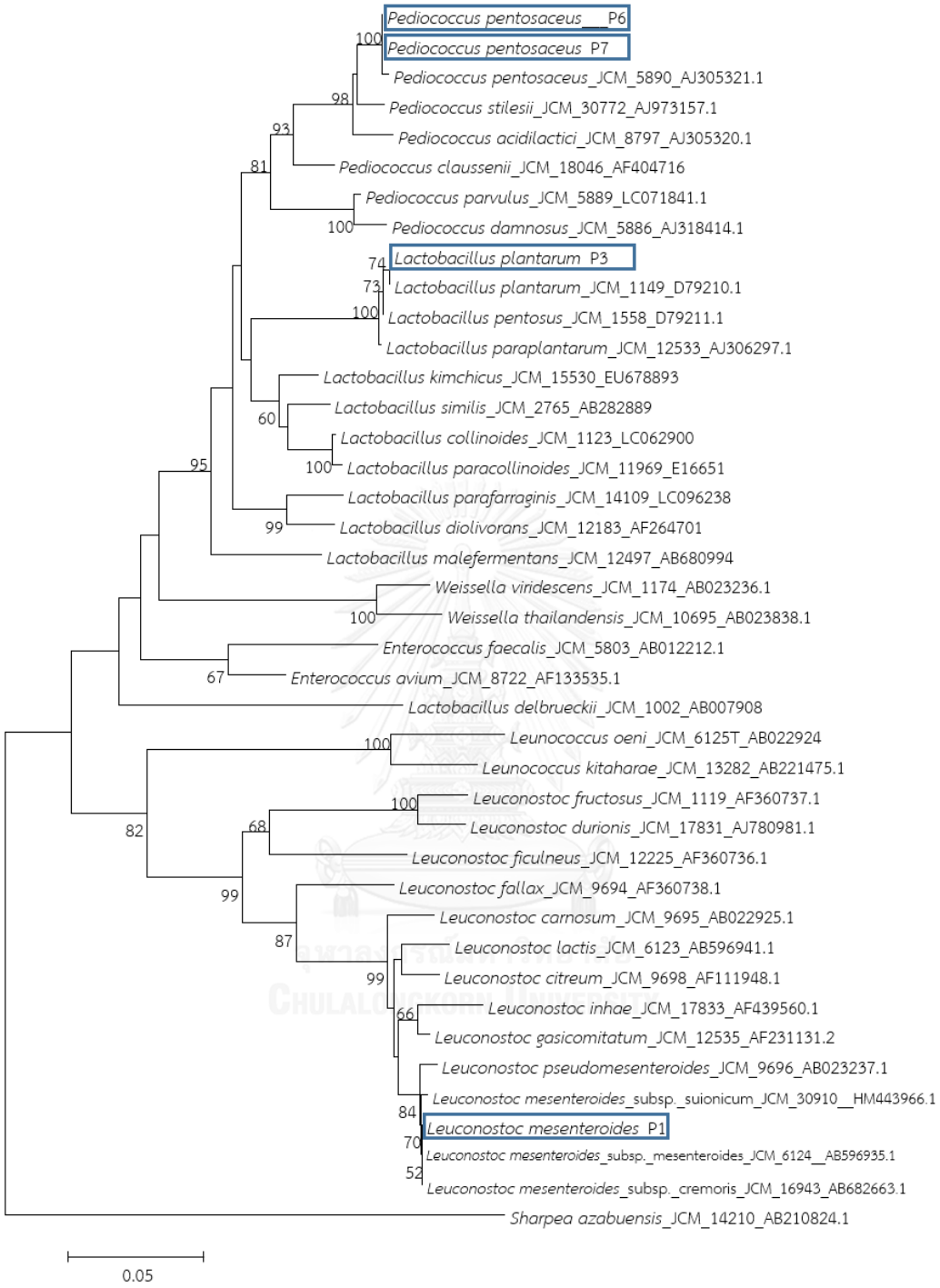
ตารางที่ 4.3 ตารางเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16 rDNA ของแบคทีเรียจำนวน 8 ไอโซเลต โดยเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์จากฐานข้อมูล Genbank

ไอโซเลต	แบคทีเรียที่แสดงความคล้ายคลึงกัน	Accession No.	Sequencing identity (%)
P01	*Leuconostoc mesenteroides* strain TA	KU361186.1	99
P02	*Lactobacillus plantarum* strain B10	KJ920199.1	77
P03	*Lactobacillus* sp. Strain 14-1	KX499347.1	100
P04	*Acetobacter indonesiensis* strain LMG 1588	AJ419841.1	99
P05	*Acetobacter indonesiensis* strain BCC15762	AB906398.1	92
P06	*Pediococcus pentosaceus* GG1	KX430829.1	100
P07	*Pediococcus pentosaceus* strain Ni1379	AB598980.1	99
P08	*Acetobacter indonesiensis* strain LMG 1588	AJ419841.1	99

4.3 การสร้างสายสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ

พบว่า ไอโซเลต P01 คือ Leuconostoc mesenteroides ไอโซเลต P03 คือ Lactobacillus plantarum และไอโซเลต P06 คือ Pediococcus pentosaceus (รูปที่ 4.1)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University



รูปที่ 4.1 สายสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการของแบคทีเรียไอโซเลต P01, P03, P06 และP07 เพื่อจำแนกชนิดของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ จากนั้นสร้างสายสัมพันธ์เชิงวิวัฒนาการ (Phylogenetic tree) โดยวิธีวิเคราะห์ Neighbor-joining ด้วยโปรแกรม MEGA 6 ใช้แบบจำลอง Kimura-2 parameter สำหรับการวิเคราะห์ nucleotide sequence divergence และวิเคราะห์ค่า Boostrap จำนวน 1,000 ซ้ำ

4.4 ประสิทธิภาพในการผลิตเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ของแบคทีเรียไอโซเลตที่คัดเลือกได้

ทดสอบประสิทธิภาพในการผลิตเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ของแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ โดยนำแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกที่สร้างพอลิแซ็กคาไรด์ไอโซเลต P01, P03, P04, P05, P06, P07 และ P08 เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MRS ที่มีการเติมน้ำตาลซูโครส 4% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้ภาวะออกซิเจนต่ำ เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นนำไปสกัดแยกพอลิแซ็กคาไรด์ตามวิธีในข้อ 3.3.4.2 รายงานผลน้ำหนักพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้ในหน่วยกรัมต่อลิตร

จากการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการผลิตเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ของเชื้อทั้ง 7 ไอโซเลต พบว่าไอโซเลต P06 ผลิตเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ได้สูงสุด เท่ากับ 21.91 ± 0.98 กรัมต่อลิตร ส่วนไอโซเลต P07, P01 และ P03 ผลิตเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ได้เท่ากับ 15.71±0.70, 6.26 ± 1.30 และ 3.55±0.62 กรัมต่อลิตรตามลำดับ ในขณะที่ไอโซเลต P04, P05 และ P08 แสดงค่าประสิทธิภาพในการผลิตเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ต่ำกว่ามากจึงไม่เลือกใช้แบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลตนี้ไปใช้ในงานวิจัยขั้นต่อไป นอกจากนี้เนื่องจากแบคทีเรียไอโซเลต P06 และ P07 เป็นแบคทีเรียในสปีชีส์และจีนัสเดียวกัน ดังนั้นผู้วิจัยจึงใช้ผลจากประสิทธิภาพในการผลิตที่ต่ำกว่าในการตัดไอโซเลต P07 และเลือกใช้ไอโซเลต P06 ในการทดลองต่อไป

4.5 การศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและการทดสอบลักษณะทางชีวเคมีเบื้องต้นของแบคทีเรียที่คัดเลือก

4.5.1 การทดสอบทางชีวเคมีเบื้องต้นของแบคทีเรียไอโซเลต P01, P03 และ P06

นำแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลต ทดสอบสมบัติทางชีวเคมีเบื้องต้น ตามวิธีที่อธิบายในข้อ 3.3.5.2 พบว่าทั้ง 3 ไอโซเลต ได้ผลทางชีวเคมีเป็นลบ (negative) ได้แก่ การทดสอบแคทาเลส การทดสอบออกซิเดส การทดสอบ Gas production จากกลูโคส การเจริญเติบโตใน NaCl 18% และการทดสอบการเคลื่อนที่ ขณะที่ผลการทดสอบเป็นบวก (positive) ได้แก่ การเจริญเติบโต ที่อุณหภูมิ 10 กับ 45 องศาเซลเซียส การเจริญเติบโตที่ pH 4.4 และ 9.6 และการเจริญเติบโตใน NaCl 6.5% ดังแสดงในตารางที่ 4.4

สำหรับความสามารถในการใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ ของไอโซเลต P01, P03 และ P06 พบว่าทั้ง 3 ไอโซเลต มีการเจริญเติบโตได้ในน้ำตาล ดังต่อไปนี้ คือ เซลโลไบโอส, ฟรุกโทส, กาแลกโตส, กลูโคเนต, กลูโคส, แลกโตส, มอลโตส, แมนนิทอล, แมนโนส, ไรโบส, ซาลิซิน, ซูโครส และทรีฮาโลส ดังแสดงในตารางที่ 4.5

เมื่อพิจารณาผลการทดสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสมบัติทางชีวเคมีอ้างอิงจากเกณฑ์ของ Bergey's Manual of Systematic Bacteriology (Kandler และ Weis, 1986) กับลักษณะของแบคทีเรียมาตรฐาน พบว่าแบคทีเรียไอโซเลต P01, P03 และ P06 เป็นแบคทีเรียในสกุล *Leuconostoc*, *Lactobacillus* และ *Pediococcus* ตามลำดับ ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับผลที่ได้จากการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางอนุกรมวิธานที่วิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rDNA

ตารางที่ 4.4 การทดสอบทางชีวเคมีเบื้องต้นของแบคทีเรียที่คัดเลือก

คุณลักษณะ	**ไอโซเลต**		
	P01	P03	P06
ความสามารถในการสร้างเอนไซม์แคทาเลส	-	-	-
ความสามารถในการสร้างเอนไซม์ออกซิเดส	-	-	-
การผลิตแก๊ซจากการหมักน้ำตาลกลูโคส	-	-	-
อุณหภูมิที่ใช้ในการเจริญ			
10°C	+	+	+
45 ° C	+	+	+
ค่าความเป็นกรดด่างที่ใช้ในการเจริญ			
4.4	+	+	+
9.6	+	+	+
การเจริญที่มีความเข้มข้น NaCl			
6.5%	+	+	+
18%	-	-	-
การเคลื่อนที่	-	-	-

หมายเหตุ + = มีการเจริญ –= ไม่มีการเจริญ NG = ไม่มีการผลิตแก๊ส G= มีการผลิตแก๊ส

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4.5 ความสามารถในการใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ ของไอโซเลต P01, P03 และ P06

ชนิดของน้ำตาล	**ไอโซเลต**		
	P01	P03	P06
อะราบิโนส	+	+	-
เซลโลไบโอส	+	+	+
ฟรุกโทส	+	+	+
กาแลกโตส	+	+	+
กลูโคเนต	+	+	+
กลูโคส	+	+	+
แลกโตส	+	+	+
มอลโตส	+	+	+
แมนนิทอล	+	+	+
แมนโนส	+	+	+
แรฟฟิโนส	-	-	-
แรมโนส	+	+	-
ไรโบส	+	+	+
ซาลิซิน	+	+	+
ซอร์บิทอล	-	-	-
ซูโครส	+	+	+
ทรีฮาโลส	+	+	+
ไซลิทอล	-	-	-
ไซโลส	-	+	-

หมายเหตุ + = มีการเจริญ – = ไม่มีการเจริญ

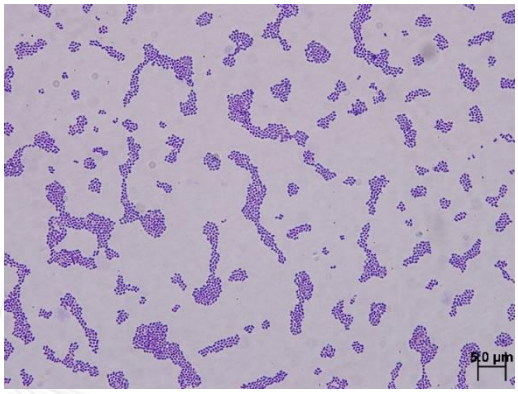
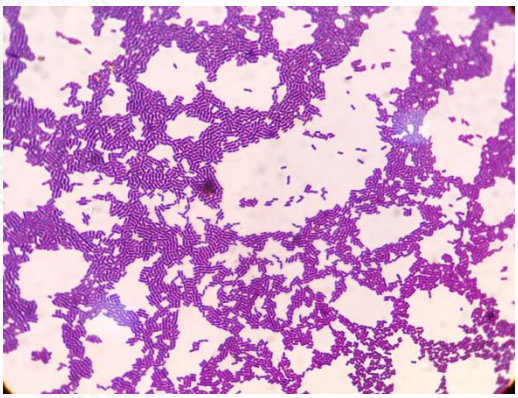
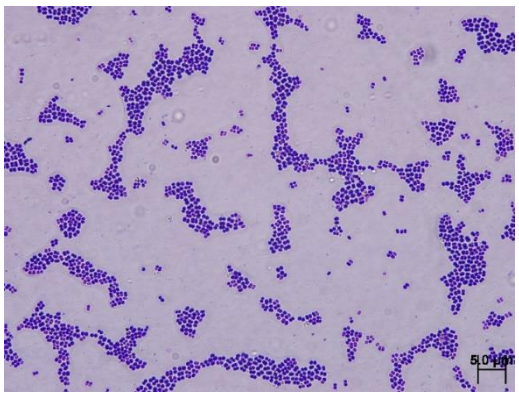
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.5.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

จากการพิสูจน์เอกลักษณ์ทางอนุกรมวิธานของแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกจำนวน 3 ไอโซเลต พบว่า P01 อยู่ในสกุล Leuconostoc P03 อยู่ในสกุล Lactobacillus และ P06 อยู่ในสกุล Pediococcus เพื่อเป็นการยืนยันผลที่ได้จึงได้ศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาและทดสอบชีวเคมีเบื้องต้นเพิ่มเติมด้วย ซึ่งจากการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยา พบว่า ไอโซเลต P01 ย้อมติดสีม่วง รูปร่างกลม อยู่เป็นสายหรือเป็นกลุ่ม ไอโซเลต P03 ย้อมติดสีม่วง รูปร่างเป็นแท่งสั้น อยู่เป็นคู่และเป็นสาย และไอโซเลต P06 ย้อมติดสีม่วง รูปร่างกลม อยู่เป็นคู่หรือเป็นสี่ (tetrad) ดังแสดงในตารางที่ 4.6

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4.6 การย้อมแกรมของแบคทีเรียที่คัดเลือก

รหัสเชื้อ	การย้อมแกรม		
	การติดสี	**รูปร่าง/การจัดเรียงตัว**	**รูปภายใต้กล้องจุลทรรศน์ขนาด 1000 เท่า**
P01	ม่วง	กลม/อยู่เป็นสายหรือเป็นกลุ่ม	
P03	ม่วง	แท่งสั้น/อยู่เป็นคู่และเป็นสาย	
P06	ม่วง	กลม/อยู่เป็นคู่หรือเป็นสี่	

4.6 ศึกษาปริมาณแหล่งคาร์บอนในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์

จากการนำเชื้อ 3 ไอโซเลต คือ P01, P03 และ P06 เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งน้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนที่ความเข้มข้น 2%, 4%, 6%, 8% และ 10% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร พบว่าเชื้อทั้ง 3 ไอโซเลต ผลิตพอลิแซ็กคาไรด์สูงสุดที่ความเข้มข้นของซูโครส 4% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร พบว่าไอโซเลต P01, P03 และ P06 ผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้เท่ากับ 4.10 ± 0.13, 0.628 ± 0.135 และ 15.18 ± 0.24 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.7

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4.7 ปริมาณเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากไอโซลเต P01 P03 และ P06 ที่ความเข้มข้นซูโครสต่างกัน

ไอโซเลต	ความเข้มข้นซูโครส (% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)	น้ำหนักแห้งพอลิแซ็กคาไรด์ (กรัมต่อลิตร)
P01	0	0.25 ± 0.08^{a}
	2	2.98 ± 0.17^{b}
	4	4.10 ± 0.13^{c}
	6	3.91 ± 0.27^{cd}
	8	3.79 ± 0.21^{d}
	10	3.73 ± 0.15^{d}
P03	0	0.083 ± 0.046^{a}
	2	0.532 ± 0.038^{bc}
	4	0.628 ± 0.135^{c}
	6	0.532 ± 0.063^{bc}
	8	0.494 ± 0.052^{b}
	10	0.463 ± 0.048^{b}
P06	0	0.63 ± 0.16^{a}
	2	10.02 ± 0.21^{b}
	4	15.18 ± 0.24^{d}
	6	15.02 ± 0.22^{d}
	8	14.60 ± 0.36^{c}
	10	14.42 ± 0.14^{c}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันของแต่ละไอโซเลตระหว่างข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.7 การศึกษาลักษณะสมบัติทางเคมีและกายภาพของพอลิแซ็กคาไรด์

4.7.1 ความสามารถในการละลาย

จากการนำพอลิแซ็กคาไรด์ละลายในตัวทำละลายชนิดต่างๆ คือ น้ำกลั่น เมทานอล อะซีโทน ไอโซโพรพานอล และ n-บิวทานอล ซึ่งเปรียบเทียบกับสารมาตารฐานคือ แซนแทนกัม พบว่าเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากไอโซเลต P01, P03 และ P06 มีความสามารถในการละลายในน้ำกลั่นได้ดี ขณะที่ไม่ละลายในเมทานอล อะซีโทน ไอโซโพรพานอล และ n-บิวทานอล (ตารางที่ 4.8)

ตารางที่ 4.8 ความสามารถในการละลายของพอลิแซ็กคาไรด์แห้งในตัวทำละลายต่างๆ ที่ความเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ณ อุณหภูมิห้อง

ไอโซเลต	ความสามารถในการละลายในตัวทำละลาย	
	น้ำกลั่น	เมทานอล อะซีโทน ไอโซโพรพานอล และ n-บิวทานอล
P01	+++	-
P03	+++	-
P06	+++	-
แซนแทนกัม	+++	-

หมายเหตุ
- = ไม่ละลายพบตะกอนที่ก้นหลอด
\+ = มีความสามารถในการละลายต่ำ ยังพบตะกอนเหลืออยู่มาก
++ = มีความสามารถในการละลายได้บางส่วน ยังพบตะกอนเหลืออยู่บ้าง
+++ = มีความสามารถในการละลายได้ดี ไม่พบตะกอนเหลือ

4.7.2 ความสามารถในการอุ้มน้ำโดยใช้กระดาษโครมาโตกราฟี

พอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากทั้ง3ไอโซเลต พบว่า P06 มีอัตราการสกัดของเหลวต่ำที่สุด ดังนั้นจึงมีความสามารถในการอุ้มน้ำสูงที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับคาราจีแนน พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) และเมื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบกับแซนแทนกัม เจลแลนกัม แอลจิเนต และกัวกัม ซึ่งเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ใช้ในทางการค้า พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้มีความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำกว่ามาก ส่วนพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากไอโซเลต P01 และ P03 พบว่ามีเปอร์เซ็นต์อัตราการสกัดของเหลวที่สูงกว่า P06 แสดงว่ามีประสิทธิภาพในการอุ้มน้ำที่ต่ำ (ตารางที่ 4.9)

ตารางที่ 4.9 เปอร์เซ็นต์การสกัดของเหลวออกจากสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากแบคทีเรียที่คัดเลือกที่ความเข้มข้น 0.5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

ไอโซเลต	เปอร์เซ็นต์การสกัดของเหลวออกจากสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์
P01	79.45 ± 2.33^{e}
P03	80.56 ± 3.37^{e}
P06	59.25 ± 1.61^{d}
แซนแทนกัม	13.84 ± 1.21^{a}
เจลแลนกัม	22.94 ± 4.74^{b}
แอลจิเนต	34.24 ± 2.63^{c}
กัวกัม	14.19 ± 2.78^{a}
คาราจีแนน	58.32 ± 0.53^{d}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างระหว่างข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4.7.3 ความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของพอลิแซ็กคาไรด์

นำสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผสมกับน้ำมันพืชแต่ละชนิด ได้แก่ น้ำมันมะกอก น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันปาล์ม น้ำมันข้าวโพด และน้ำมันรำข้าว ในอัตราส่วน 4:6 (ตามวิธีที่ 3.3.6.3) จากนั้นวัดความสูงของอิมัลชัน และความสูงของของเหลวทั้งหมด เพื่อนำมาคำนวณค่าความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ หรือ E_{24} และวิเคราะห์ค่าทางสถิติด้วยวิธี one way ANOVA

จากตารางที่ 4.10 พบว่าค่า E_{24} ของพอลิแซ็กคาไรด์จากแบคทีเรียทั้งสามไอโซเลตมีค่าใกล้เคียงกันในน้ำมันทุกชนิดและพบว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับแซนแทนกัมในน้ำมันมะกอก น้ำมันข้าวโพด และน้ำมันถั่วเหลือง ซึ่งแสดงว่าพอลิเมอร์ที่ผลิตจากแบคทีเรียทั้งสามไอโซเลตนี้มีความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ได้ดีเทียบเท่าแซนแทนกัมในน้ำมันมะกอก น้ำมันข้าวโพด และน้ำมันถั่วเหลือง

โดยเมื่อพิจารณาอิมัลชันที่เกิดในน้ำมันทั้งสามชนิดพบว่าในน้ำมันมะกอกพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากไอโซเลต P06 แสดงค่า E24 ที่สูงที่สุด (45.14 ± 0.89) ซึ่งสามาถบ่งชี้ถึงการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ที่ดีในน้ำมันมะกอก นอกจากนี้ยังพบว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากไอโซเลต P06 นี้ยังแสดง

ความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ในน้ำมันมะกอกได้ดีกว่าแซนแทนกัม (44.88 ± 1.22) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้น้ำมันมะกอกเพื่อใช้เป็นองค์ประกอบของอิมัลชันการผลิตมายองเนส (ตารางที่ 4.10)

ตารางที่ 4.10 ความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากแบคทีเรียไอโซเลตที่คัดเลือกที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ผสมกับน้ำมันพืชชนิดต่างๆ ในอัตราส่วน 4:6

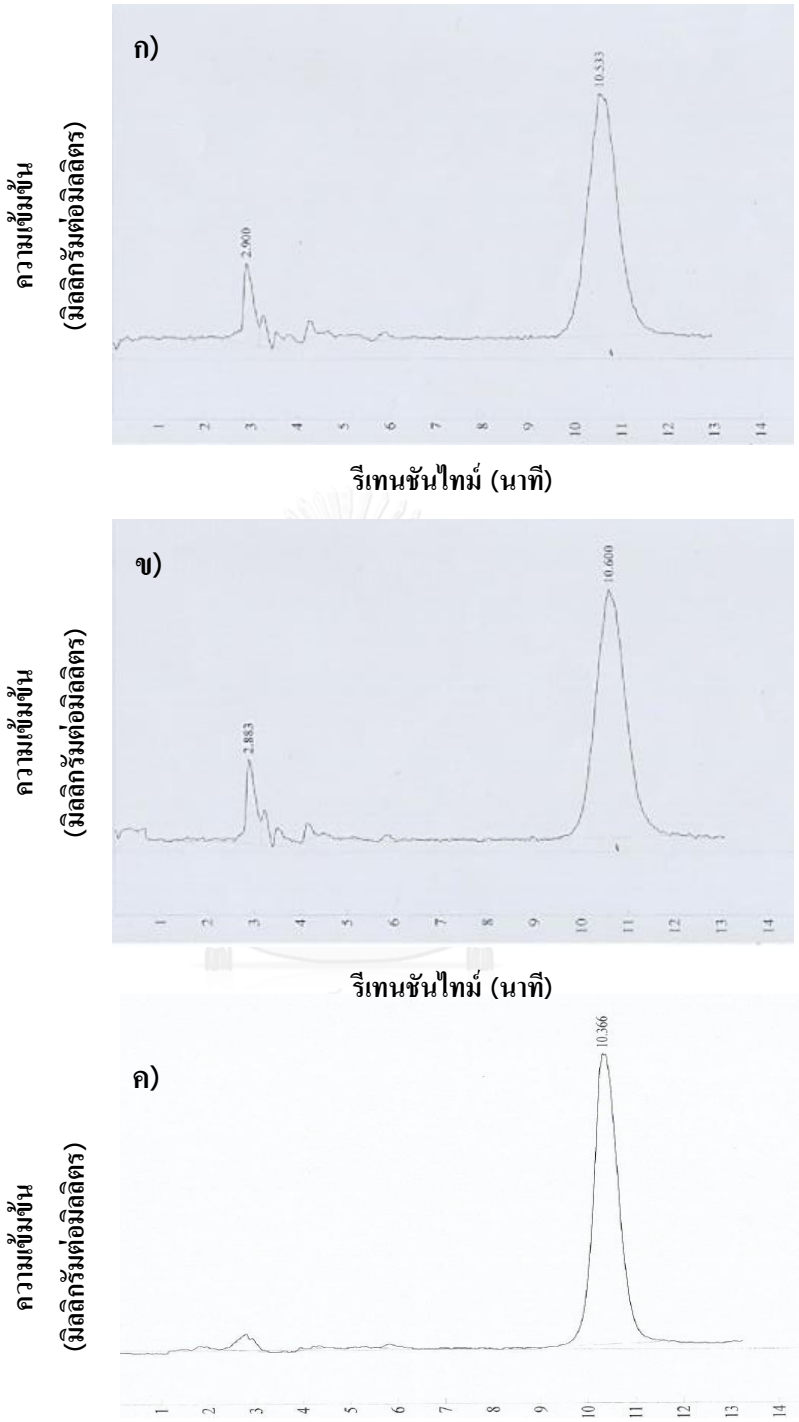
ไอโซเลต	Emulsifying activity (%) ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร				
	น้ำมันมะกอก	น้ำมันข้าวโพด	น้ำมันรำข้าว	น้ำมันถั่วเหลือง	น้ำมันปาล์ม
P01	43.48 ± 2.60^{ab}	44.50 ± 0.37^{ab}	44.35 ± 1.18^{ab}	44.29 ± 1.43^{ab}	41.25 ± 1.58^{a}
P03	44.60 ± 0.87^{ab}	42.38 ± 0.43^{ab}	42.15 ± 0.87^{ab}	43.81 ± 1.65^{ab}	42.93 ± 1.07^{ab}
P06	45.14 ± 0.89^{ab}	44.71 ± 1.13^{ab}	44.97 ± 0.80^{ab}	43.26 ± 1.14^{ab}	43.20 ± 1.53^{ab}
แซนแทนกัม	44.88 ± 1.22^{ab}	45.75 ± 1.64^{ab}	59.52 ± 1.97^{c}	45.42 ± 1.65^{ab}	58.36 ± 1.83^{c}

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างระหว่างข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4.7.4 วิเคราะห์ชนิดของน้ำตาลที่เป็นโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์

นำพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากข้อ 3.3.4 ย่อยด้วยกรดซัลฟูริกและย่อยต่อด้วยความร้อนโดยการอบฆ่าเชื้อ แล้วเปรียบเทียบกับสารละลายมอนอแซ็กคาไรด์มาตรฐาน คือ กลูโคส,ฟรุกโทส, อะราบิโนส, ไซโลส, แรมโนส และไรโบส จากการวิเคราะห์พบว่า พอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลต เป็นพอลิเมอร์ชนิดฮอมอพอลิแซ็กคาไรด์และมอนอเมอร์เป็นกลูโคส (รูปที่ 4.2)



รูปที่ 4.2 โครมาโทแกรมแสดงชนิดมอนอเมอร์ที่เป็นองค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์ของแบคทีเรีย ก) ไอโซเลต P01 ข) ไอโซเลต P03 และค) ไอโซเลต P06

4.7.5 วิเคราะห์องค์ประกอบโดยรวมของพอลิแซ็กคาไรด์

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของพอลิแซ็กคาไรด์โดยวิธี Phenol-Sulfuric acid ตามวิธีของ DuBois และคณะ (1956) โดยเตรียมสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากแบคทีเรียไอโซเลต P01, P03 และ P06 พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากไอโซเลต P01 และ P06 มีปริมาณน้ำตาลค่อนข้างสูง อยู่ในช่วง 75-78% โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก ส่วนไอโซเลต P03 มีปริมาณน้ำตาลปานกลางอยู่ในช่วง 58% โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก (ตารางที่ 4.11)

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์โดยวิธี Protein Dye Binding ตามวิธีของ Bradford (1976) โดยเตรียมสารละลายพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากแบคทีเรียไอโซเลต P01, P03 และ P06 พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากไอโซเลต P01 และ P06 มีปริมาณโปรตีนค่อนข้างต่ำมาก โดยมีค่าปริมาณโปรตีนทั้งหมดเท่ากับ 2.92% และ 3.39% โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักตามลำดับ และพอลิแซ็กคาไรด์จากไอโซเลต P03 มีค่าปริมาณโปรตีนที่ปรากฏในระดับปานกลาง พบว่ามีค่าเท่ากับ 9.33% โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก (ตารางที่ 4.11)

ตารางที่ 4.11 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและปริมาณโปรตีนทั้งหมดที่เป็นองค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกไอโซเลต P01, P03 และ P06

ไอโซเลต	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (% โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก)	ปริมาณโปรตีนทั้งหมด (%โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก)
P01	$78.08^{b} \pm 0.026$	$2.92^{a} \pm 0.055$
P03	$57.83^{a} \pm 0.028$	$9.33^{b} \pm 0.050$
P06	$75.91^{b} \pm 0.034$	$3.39^{a} \pm 0.050$

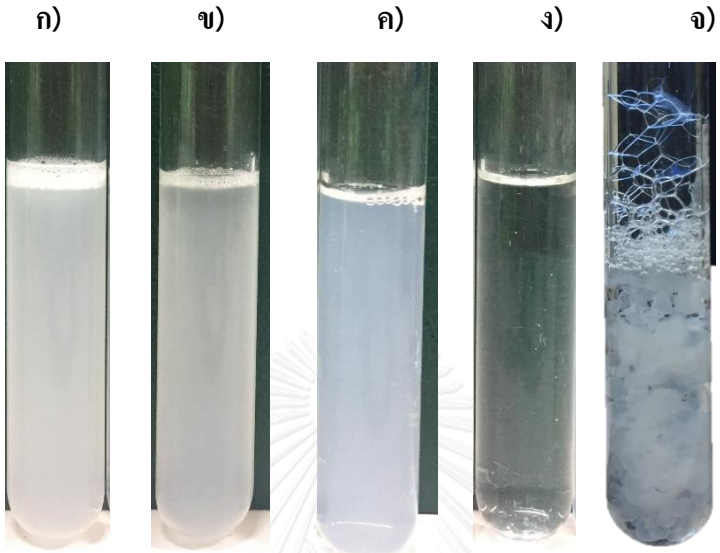
หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างระหว่างข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4.7.6 วิเคราะห์หาชนิดประจุของพอลิแซ็กคาไรด์

นำพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกไอโซเลต P01, P03 และ P06 วิเคราะห์ชนิดของประจุของพอลิแซ็กคาไรด์ หลังจากเติมสารละลายเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์ พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลต ไม่พบการตะกอนของพอลิแซ็กคาไรด์ (รูปที่ 4.3) ดังนั้นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลตเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีประจุเป็นกลาง

ขณะที่แซนแทนกัมเกิดเป็นตะกอนสีขาวขึ้นภายหลังการเติมสารละลายเซทิลไพริดิเนียมคลอไรด์แสดงว่าเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีประจุลบ

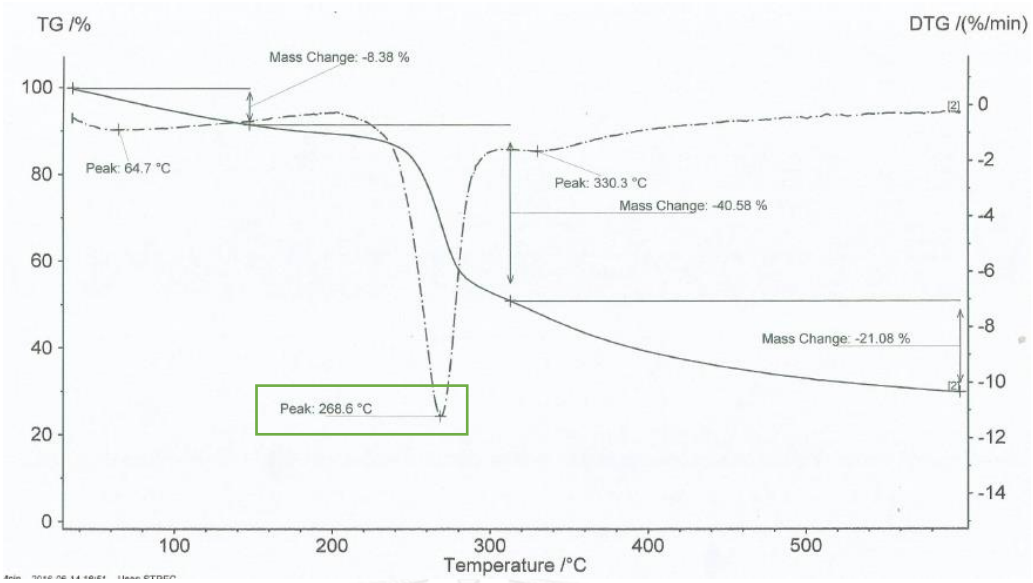


รูปที่ 4.3 ก) ชนดบระจุของพอลแซกคาไรดทผลตจากแบคทเรยเอโซเลต P01 ข) พอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียไอโซเลต P03 ค) พอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียไอโซเลต P06 ง) สารละลาย CPC และโซเดียมคลอไรด์ (ชุดควบคุมที่มีประจุบวก) และจ) แซนแทนกัม (ชุดควบคุมที่มีประจุลบ)

4.7.7 วิเคราะห์สมบัติทางความร้อนด้วยเทคนิคเทอร์โมกราวิเมทริกอะนาไลซิส (TGA)

จากการนำพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก P01, P03 และ P06 ปริมาณ 10 มิลลิกรัม วิเคราะห์สมบัติทางความร้อนด้วยเทคนิค TGA ด้วยเครื่อง Perkin-Elmer TGA 7 thermogravimetric analyzer ที่ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียไอโซเลต P01 มีอุณหภูมิสลายตัว (degradation temperature) ที่อุณหภูมิ 268.6 องศาเซลเซียส เมื่อสังเกตการลดลงของน้ำหนักพอลิแซ็กคาไรด์ พบว่าเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงโดยลดลงตั้งแต่ช่วงเริ่มต้นที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เมื่อสังเกตอัตราการลดลงของน้ำหนักอย่างรวดเร็ว พบว่าเกิดขึ้นที่ช่วงอุณหภูมิ 260 องศาเซลเซียส และน้ำหนักพอลิแซ็กคาไรด์ลดลง 70.04% จากอุณหภูมิ 30 ถึง 600 องศาเซลเซียส (รูปที่ 4.4)

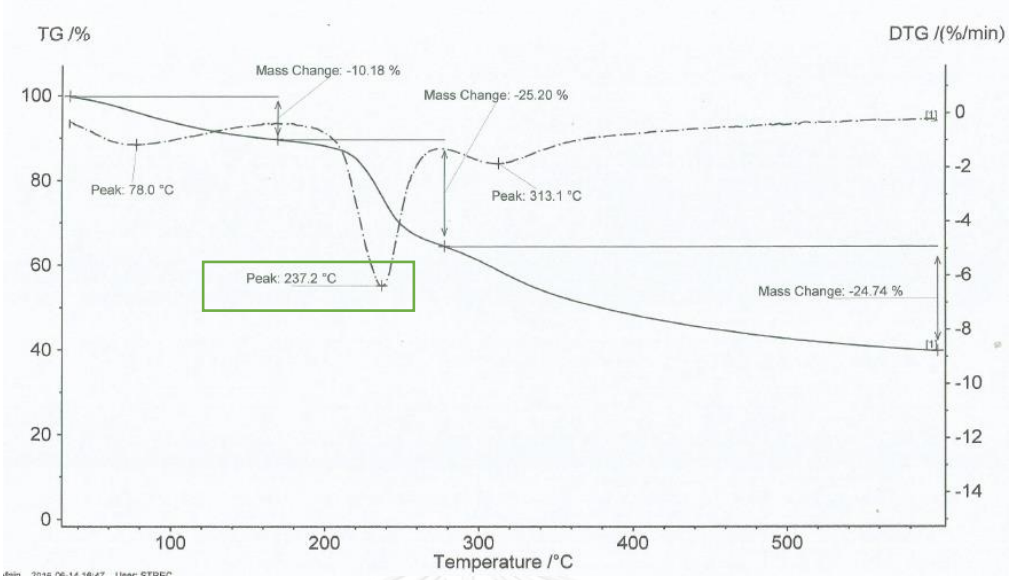


รูปที่ 4.4 โครมาโทแกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิที่สลายตัวและการสูญเสียน้ำหนักของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียไอโซเลต P01 โดยการทดสอบใช้ช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 30–600 องศาเซลเซียส

---------- หมายถึง โครมาโทแกรมแสดงช่วงอุณหภูมิของการสลายตัวของพอลิแซ็กคาไรด์

———— หมายถึง โครมาโทแกรมแสดงการสูญเสียน้ำหนักของพอลิแซ็กคาไรด์

พอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียไอโซเลต P03 มีอุณหภูมิสลายตัวที่อุณหภูมิ 237.2 องศาเซลเซียส เมื่อสังเกตการลดลงของน้ำหนักพอลิแซ็กคาไรด์พบว่าเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงโดยลดลงตั้งแต่ช่วงเริ่มต้นที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เมื่อสังเกตอัตราการลดลงของน้ำหนักอย่างรวดเร็ว พบว่าเกิดขึ้นที่ช่วงอุณหภูมิ 220 องศาเซลเซียส และน้ำหนักพอลิแซ็กคาไรด์ลดลง 60.12% จากอุณหภูมิ 30 ถึง 600 องศาเซลเซียส (รูปที่ 4.5)

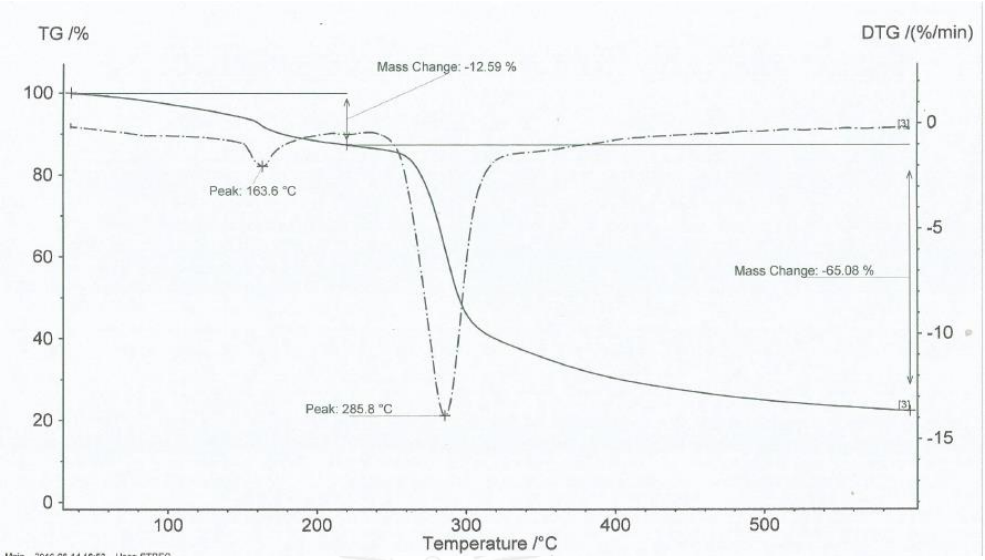


รูปที่ 4.5 โครมาโทแกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิที่สลายตัวและการสูญเสียน้ำหนักของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียไอโซเลต P03 โดยการทดสอบใช้ช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 30–600 องศาเซลเซียส

---------- หมายถึง โครมาโทแกรมแสดงช่วงอุณหภูมิของการสลายตัวของพอลิแซ็กคาไรด์

———— หมายถึง โครมาโทแกรมแสดงการสูญเสียน้ำหนักของพอลิแซ็กคาไรด์

พอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียไอโซเลต P06 มีอุณหภูมิสลายตัวที่อุณหภูมิ 285.8 องศาเซลเซียส เมื่อสังเกตการลดลงของน้ำหนักพอลิแซ็กคาไรด์พบว่าเริ่มมีการเปลี่ยนแปลงโดยลดลงตั้งแต่ช่วงเริ่มต้นที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เมื่อสังเกตอัตราการลดลงของน้ำหนักอย่างรวดเร็ว พบว่าเกิดขึ้นที่ช่วงอุณหภูมิ 270 องศาเซลเซียส และน้ำหนักพอลิแซ็กคาไรด์ลดลง 77.67% จากอุณหภูมิ 30 ถึง 600 องศาเซลเซียส (รูปที่ 4.6) จากผลการทดลองแสดงว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากไอโซเลต P06 มีความสามารถในการทนความร้อนได้สูงสุดเมื่อเทียบกับพอลิแซ็กคาไรด์จากไอโซเลต P01 และ P03 ตามลำดับ จากค่าอุณหภูมิการสลายตัวที่แตกต่างกันของพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งสามชนิดนี้สามารถบ่งชี้ได้ถึงการมีองค์ประกอบภายในโครงสร้างและน้ำหนักมวลโมเลกุลที่แตกต่างกัน



รูปที่ 4.6 โครมาโทแกรมแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิที่สลายตัวและการสูญเสียน้ำหนักของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียไอโซเลต P06 โดยการทดสอบใช้ช่วงอุณหภูมิตั้งแต่ 30–600 องศาเซลเซียส

---------- หมายถึง โครมาโทแกรมแสดงช่วงอุณหภูมิของการสลายตัวของพอลิแซ็กคาไรด์

———— หมายถึง โครมาโทแกรมแสดงการสูญเสียน้ำหนักของพอลิแซ็กคาไรด์

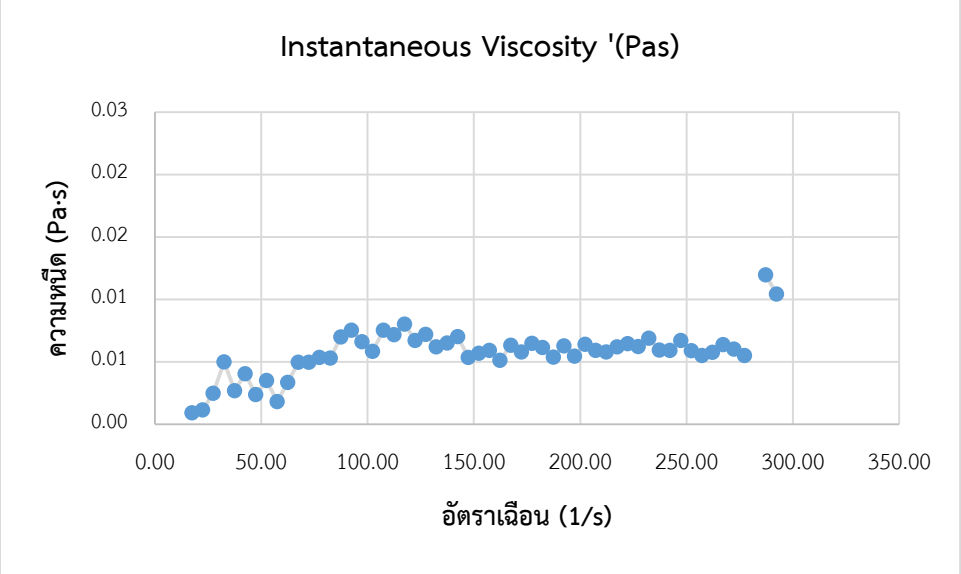
4.7.8 การวัดความหนืด

ภายหลังการวิเคราะห์ค่าความหนืดของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกไอโซเลต P01, P03 และ P06 ที่ความเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จากนั้นวัดสมบัติการไหลและความหนืดด้วยเครื่อง Rheometer Bohlin รุ่น C-VOR ที่อัตราเฉือนระหว่าง 0.04-400 วินาที$^{-1}$ เปรียบเทียบกับแซนแทนกัม พบค่าความหนืดปรากฏ (apparent viscosity) ที่อัตราเฉือน 2.485 วินาที$^{-1}$ แสดงว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากไอโซเลต P01 และ P03 มีค่าความหนืดปรากฏที่ค่อนข้างต่ำมาก โดยมีค่า 0.002 Pa·s ในขณะที่พอลิแซ็กคาไรด์จากไอโซเลต P06 แสดงค่าความหนืดปรากฏที่สูงกว่าอย่างเห็นได้ชัด มีค่าเท่ากับ 0.613 Pa·s แต่อย่างไรก็ตามพบว่าเมื่อเทียบค่าความหนืดปรากฏของพอลิแซ็กคาไรด์จากไอโซเลต P06 กับแซนแทนกัมแล้วพบว่ายังคงมีค่าต่ำกว่าแซนแทนกัมเล็กน้อย เมื่อพิจารณาค่า n หรือ ค่าดัชนีลักษณะทางการไหล (flow behavior index) จากสมการ Power law model พบว่า n มีค่าน้อยกว่า 1 ซึ่งของไหลที่มีค่า n น้อยกว่า 1 แสดงถึงสมบัติของพฤติกรรมการไหลแบบซูโดพลาสติก (pseudoplastic fluid) (ตารางที่ 4.12)

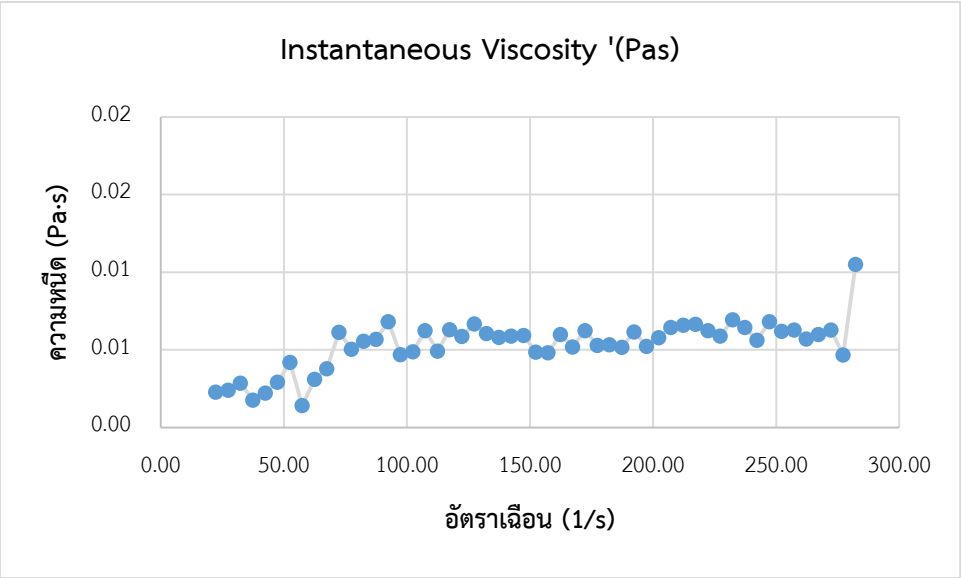
ตารางที่ 4.12 ความหนืดปรากฏที่อัตราเฉือน

ไอโซเลต	ค่าความหนืดปรากฏ (Pa·s)	อัตราเฉือน (s^{-1})	K ($Pa·s^n$)	n
P01	0.002	2.485	0.001	1.491
P03	0.002	2.485	0.001	1.450
P06	0.613	2.485	0.037	0.662
แซนแทนกัม	1.127	2.536	2.115	0.290

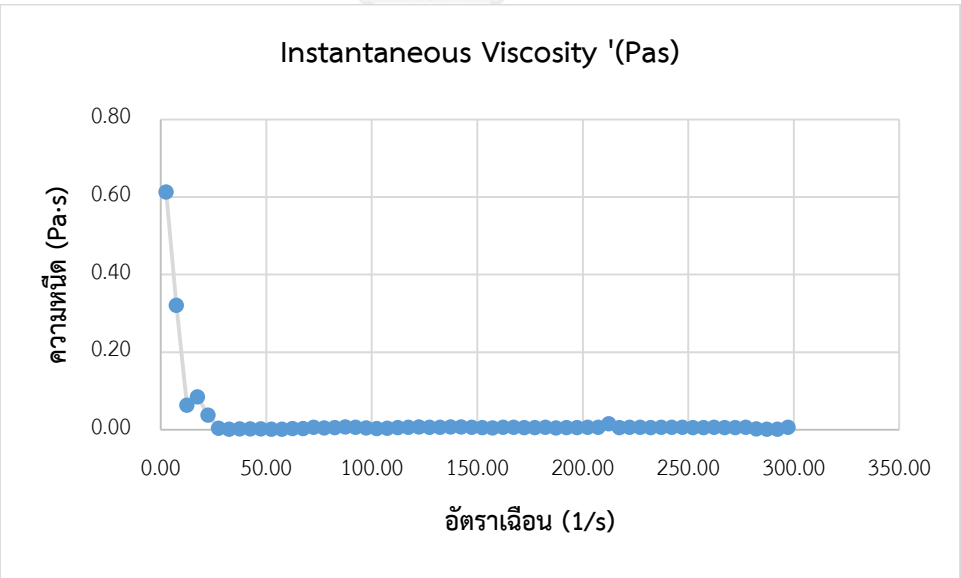
หมายเหตุ K หมายถึง ค่าดัชนีเนื้อสัมผัส (consistency index)
n หมายถึง ค่าดัชนีลักษณะทางการไหล (flow behavior index)



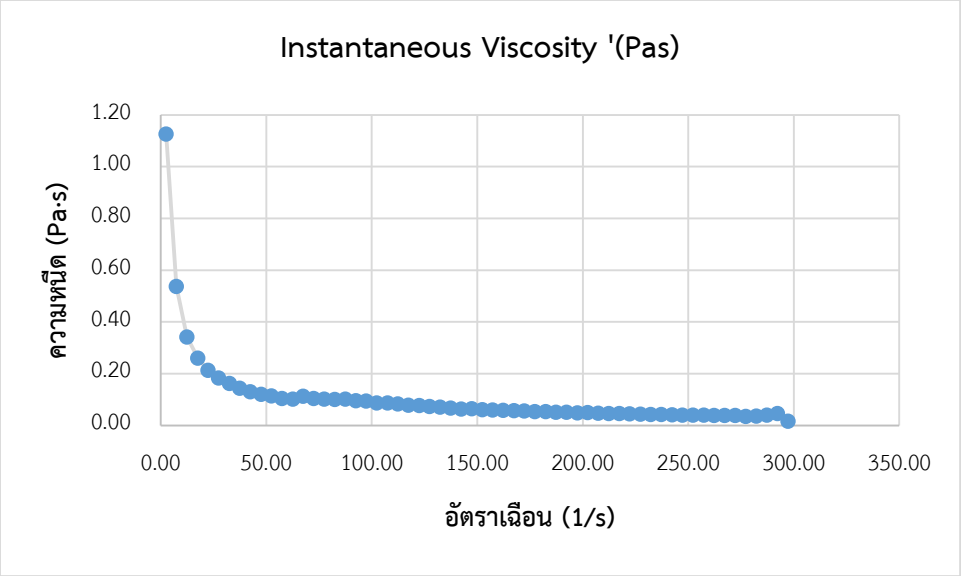
รูปที่ 4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างความหนืดและอัตราเฉือนในช่วง 0.04–400 วินาที$^{-1}$ ของพอลิแซ็กคาไรด์จากไอโซเลต P01 ที่ความเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร



รูปที่ 4.8 ความสัมพันธ์ระหว่างความหนืดและอัตราเฉือนในช่วง 0.04–400 วินาที$^{-1}$ ของพอลิแซ็กคาไรด์จากไอโซเลต P03 ที่ความเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร



รูปที่ 4.9 ความสัมพันธ์ระหว่างความหนืดและอัตราเฉือนในช่วง 0.04–400 วินาที$^{-1}$ ของพอลิแซ็กคาไรด์จากไอโซเลต P06 ที่ความเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร



รูปที่ 4.10 ความสัมพันธ์ระหว่างความหนืดและอัตราเฉือนในช่วง 0.04–400 วินาที$^{-1}$ ของแซนแทนกัมที่ความเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

จากรูปที่ 4.7-4.10 พบว่าลักษณะกราฟของความความสัมพันธ์ระหว่างความหนืดและอัตราเฉือนมีแนวโน้มใน 2 รูปแบบ ซึ่งลักษณะกราฟของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากไอโซเลต P06 และแซนแทนกัมมีลักษณะกราฟที่เป็นไปในทิศทางเดียวกันคือ เมื่อเพิ่มอัตราเฉือน ความหนืดจะลดลง แต่ในช่วงท้ายจะพบว่าเมื่อเพิ่มอัตราเฉือน ค่าความหนืดจะคงที่ซึ่งกราฟในลักษณะนี้เป็นลักษณะของของไหลประเภท Non Newtonian fluid ชนิด Pseudoplastic ในขณะที่ลักษณะกราฟของพอลิแซ็กคาไรด์จากไอโซเลต P01 และ P03 พบว่าเมื่อเพิ่มอัตราเฉือน ค่าความหนืดก็ค่อนข้างคงที่ ไม่เปลี่ยนแปลง ซึ่งแสดงลักษณะของไหลแบบนิวโตเนียนที่ค่าความหนืดไม่ขึ้นกับอัตราเฉือน จากตารางที่ 4.13 แสดงค่าความหนืดของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากไอโซเลต P01, P03 และ P06 เท่ากับ 0.002, 0.002 และ 0.613 Pa·s ที่อัตราเฉือน 2.485 วินาที$^{-1}$ ตามลำดับ ซึ่งค่าความหนืดต่ำกว่าแซนแทนกัม โดยแซนแทนกัมมีความหนืดสูงสุดเท่ากับ 1.127 Pa·s ที่อัตราเฉือน 2.536 วินาที$^{-1}$

4.7.9 การคัดเลือกแบคทีเรียสายพันธุ์ที่เหมาะสมเพื่อนำไปประยุกต์ในมายองเนส

จากการวิเคราะห์สมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียไอโซเลต P01, P03 และ P06 ทั้งสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมี โดยการวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS version 23.00 (Polar Engineering and Consulting company) และเปรียบเทียบความแตกต่าง (Significant differences; $p<0.05$) ของค่าเฉลี่ยทดสอบด้วย Least Significant Different (LSD) พบว่าไอโซเลต P06 มีประสิทธิภาพสูงสุดในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ นอกจากนี้เมื่อพิจารณาสมบัติทางกายภาพ

และทางเคมี เช่น การละลาย การอุ้มน้ำ การเกิดอิมัลชัน และความหนืด พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากไอโซเลต P06 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากไอโซเลต P01 และ P03 ดังนั้นงานวิจัยนี้ผู้วิจัยจึงเลือกไอโซเลต P06 เพื่อการประยุกต์ในการการผลิตมายองเนสต่อไป

4.7.10 ศึกษาชนิดแหล่งคาร์บอนในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ในแบคทีเรียไอโซเลต P06

จากการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียไอโซเลต P06 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมแหล่งคาร์บอนจากน้ำตาลต่างชนิดกัน คือ แมนโนส เด็กซ์โทรส กลูโคส ฟรักโตส มอลโทส ไซโลส และซูโครส ที่ความเข้มข้น 4% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จากนั้นสกัดพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้ตามวิธีการข้อ 3.3.4.2 ผลการทดลองพบว่า ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนสามารถผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้สูงสุดคือ 6.9016 กรัมต่อลิตร เนื่องจากพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้มีน้ำตาลกลูโคสเป็นมอนอเมอร์ ซึ่งเรียกพอลิเมอร์ชนิดนี้ว่า กลูแคน ในกระบวนการสังเคราะห์กลูแคนจะอาศัยการทำงานของเอนไซม์กลูแคนซูเครส ซึ่งมีสารตั้งต้นที่จำเพาะคือน้ำตาลซูโครส จึงทำให้ในการใช้น้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนแสดงประสิทธิภาพในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์สูงที่สุดเมื่อเทียบกับน้ำตาลชนิดอื่นๆ ซึ่งผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้น้อยกว่า 2 กรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.13

ตารางที่ 4.13 ปริมาณการผลิตพอลิแซ็กไรด์จากแบคทีเรียไอโซเลต P06 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาล 4% โดยน้ำหนักต่อปริมาตรเป็นแหล่งคาร์บอนแตกต่างกัน

ชนิดน้ำตาล	ปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์ (กรัมต่อลิตร)
แมนโนส	$1.7288^{a} \pm 0.0075$
เด็กซ์โทรส	$1.8856^{a} \pm 0.0165$
กลูโคส	$1.8964^{a} \pm 0.0125$
ฟรักโตส	$1.8348^{a} \pm 0.0167$
มอลโทส	$1.9376^{a} \pm 0.0091$
ไซโลส	$1.7188^{a} \pm 0.0117$
ซูโครส	$6.9016^{b} \pm 0.0175$

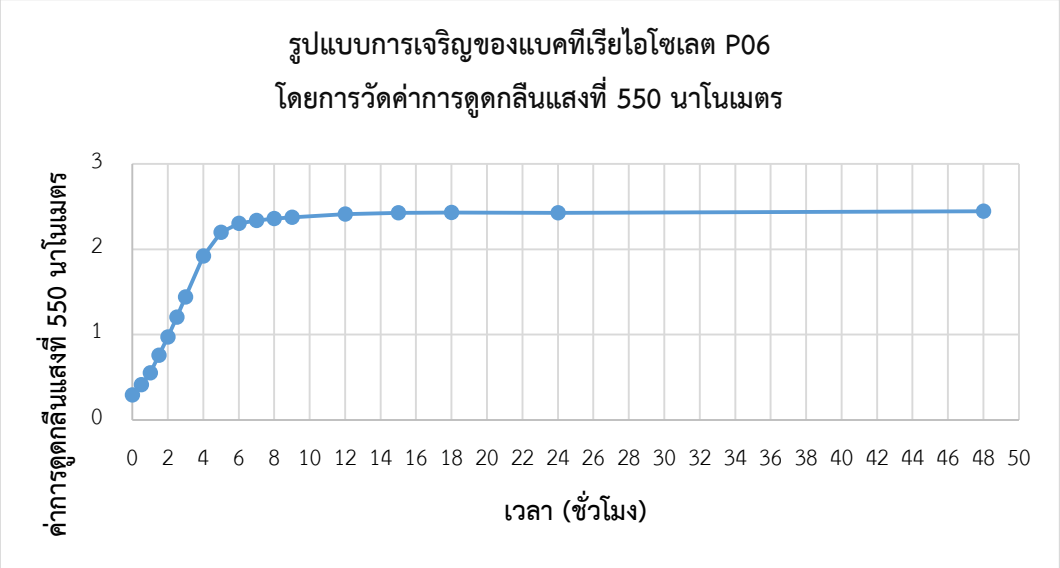
หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างระหว่างข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4.7.11 ศึกษารูปแบบการเจริญ การใช้น้ำตาล และการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ของแบคทีเรียไอโซเลต P06

4.7.11.1 ศึกษารูปแบบการเจริญของแบคทีเรียไอโซเลต P06 โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสง

ภายหลังการศึกษาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ ศึกษารูปแบบการเจริญของแบคทีเรียไอโซเลต P06 โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร ซึ่งเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MRS ที่มีการให้น้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าแบคทีเรียไอโซเลต P06 ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึง 5 อยู่ในช่วง log phase โดยมีค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร ในช่วง 0.29-2.19 และตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 เป็นต้นเป็นอยู่ในช่วง stationary phase โดยมีค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร อยู่ในช่วง 2.30–2.44 (รูปที่ 4.11)

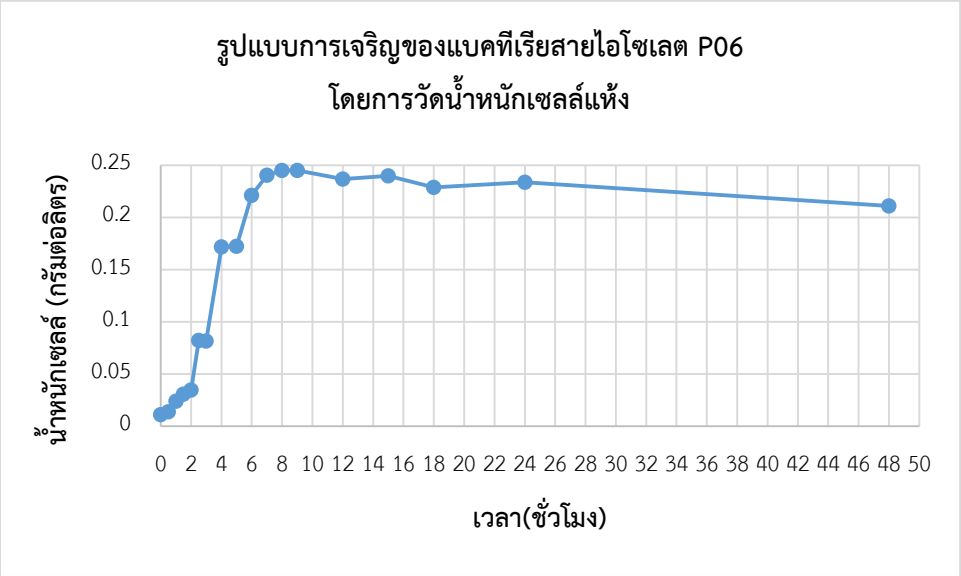


รูปที่ 4.11 รูปแบบการเจริญของแบคทีเรียไอโซเลต P06 โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร

4.7.11.2 ศึกษารูปแบบการเจริญของแบคทีเรียไอโซเลต P06 โดยการวัดน้ำหนักเซลล์

ภายหลังการศึกษาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ นำแบคทีเรียไอโซเลต P06 มาศึกษารูปแบบการเจริญโดยเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MRS ที่มีการให้น้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า ช่วงตั้งแต่ระยะเวลา 0 ถึง 6 ชั่วโมงของการบ่มพบว่าเชื้อมีการเจริญในระยะ log phase โดยมีค่าน้ำหนักของเซลล์ในช่วง 0.011–0.22 และเริ่มต้นเข้าสู่ระยะ

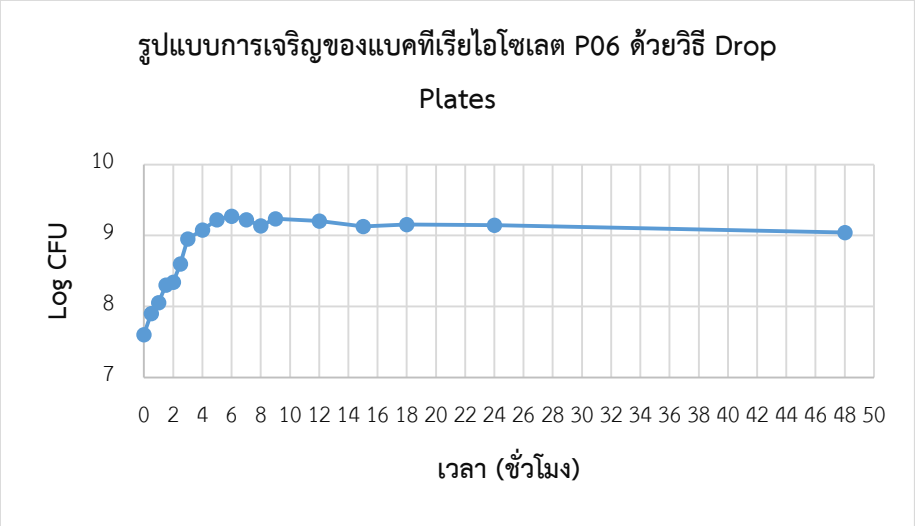
stationary phase ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 7 ของการบ่ม โดยเมื่อพิจารณาน้ำหนักเซลล์แห้งมีค่าอยู่ในช่วง 0.21-0.24 (รูปที่ 4.12)



รูปที่ 4.12 รูปแบบการเจริญของแบคทีเรียไอโซเลต P06 โดยการวัดน้ำหนักเซลล์แห้ง

4.7.11.3 ศึกษารูปแบบการเจริญของแบคทีเรียไอโซเลต P06 ด้วยวิธี Drop plate

ภายหลังการศึกษาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ นำแบคทีเรียไอโซเลต P06 มาศึกษารูปแบบการเจริญโดยเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MRS ที่มีการให้น้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าในช่วงแรกของการบ่มตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 ถึง 5 เชื้ออยู่ในระยะ log phase โดยค่า log CFU อยู่ในช่วง 7.60–9.22 จากนั้นเมื่อถึงชั่วโมงที่ 6 เป็นต้นไปพบว่าเชื้อได้เข้าสู่ระยะ stationary phase โดยมีค่า log CFU ในช่วง 9.04–9.27 (รูปที่ 4.13)



รูปที่ 4.13 รูปแบบการเจริญของแบคทีเรียไอโซเลต P06 ด้วยวิธี Drop Plates

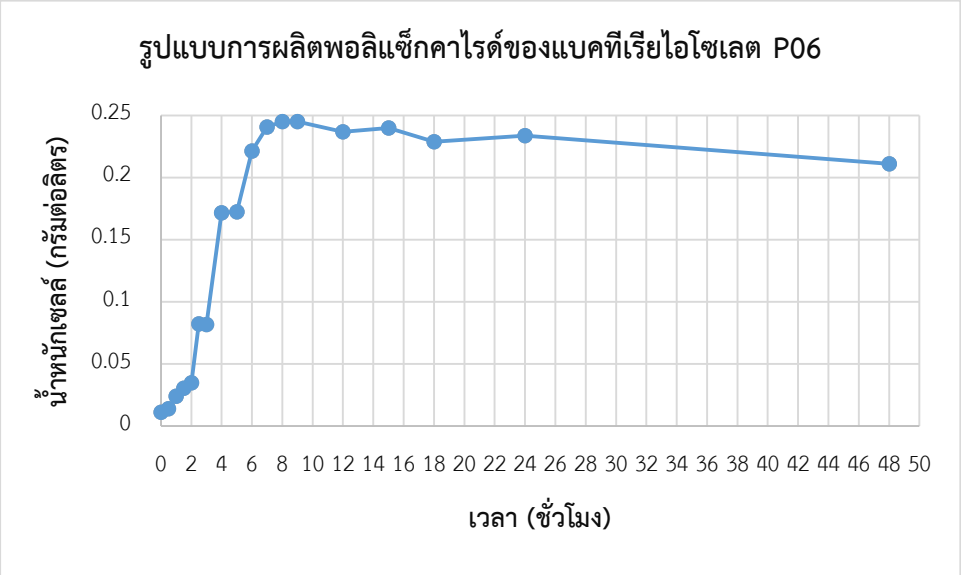
4.7.11.4 ศึกษารูปแบบการใช้น้ำตาลของแบคทีเรียไอโซเลต P06

จากการติดตามรูปแบบการเจริญของเชื้อได้ศึกษารูปแบบการใช้น้ำตาลของเชื้อในขณะเดียวกันเพื่อที่จะได้เข้าใจรูแปบบการเจริญ การผลิต และการใช้แหล่งคาร์บอนของเชื้อ โดยติดตามการใช้น้ำตาลของเชื้อตามวิธีในข้อ 3.3.11.4 ในช่วงแรกของการเจริญเชื้อมีการใช้น้ำตาลในอัตราต่ำและพบว่ามีการใช้น้ำตาลอย่างรวดเร็วขึ้นตั้งแต่ชั่วโมงที่ 2 จนถึงชั่วโมงที่ 5 และได้หยุดการใช้น้ำตาลเมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 6 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าในชั่วโมงที่ 6 เชื้อได้ใช้น้ำตาลจนหมดแล้ว ซึ่งผลการทดลองนี้ได้สอดคล้องกับการเจริญที่เชื้อเริ่มจะชะลอการเจริญและเข้าสู่ระยะ stationary phase ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 6 เป็นต้นไปอย่างเห็นได้ชัด (รูปที่ 4.14) ในงานวิจัยนี้ผู้วิจัยได้ติดตามการเจริญของเชื้อทั้งหมด 3 วิธี เนื่องจากในการวัดค่าการดูดกลืนแสงอาจจะมีการรบกวนจากปริมาณเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์จึงอาจทำให้ค่าที่วัดได้มีความคลาดเคลื่อน และการวัดปริมาณน้ำหนักเซลล์แห้งนั้นพบว่าในขั้นตอนของการเก็บเซลล์อาจจะมีความผิดพลาดจากบุคคลเพื่อเป็นการลดความผิดพลาดดังกล่าวผู้วิจัยจึงได้ติดตามการเจริญด้วยการ Drop Plate ร่วมด้วย

รูปที่ 4.14 รูปแบบการใช้น้ำตาลซูโครสของแบคทีเรียไอโซเลต P06

4.7.11.5 ศึกษารูปแบบการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ของแบคทีเรียไอโซเลต P06

การติดตามรูปแบบการเจริญและการใช้น้ำตาลของเชื้อได้มีการศึกษาผลการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ร่วมด้วยเพื่อที่จะได้เข้าใจรูปแบบการเจริญ การผลิต และการใช้แหล่งคาร์บอนของเชื้อ โดยติดตามการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ของเชื้อตามวิธีในข้อ 3.3.11.5 ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเชื้อเริ่มมีการสร้างพอลิแซ็กคาไรด์ตั้งแต่ช่วงแรกของการเจริญ แสดงให้เห็นว่าเชื้อมีการเจริญไปพร้อมกับการสร้างพอลิแซ็กคาไรด์ ซึ่งผลการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ในช่วงแรกตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนถึง ชั่วโมงที่ 2 ยังคงมีปริมาณไม่มากนัก และเริ่มเพิ่มสูงขึ้นอย่างต่อเนื่องภายหลังจากชั่วโมงที่ 2 เป็นต้นไป จนถึงชั่วโมงที่ 6 โดยมีค่าอยู่ในช่วง 10.76–22.07 หลังจากนั้นน้ำหนักพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้เริ่มคงที่ โดยอยู่ในช่วง 21.68–22.71 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 4.15)



รูปที่ 4.15 รูปแบบการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ของแบคทีเรียไอโซเลต P06

4.7.11.6 ความหนืดของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้นต่างๆ ของแบคทีเรียไอโซเลต P06

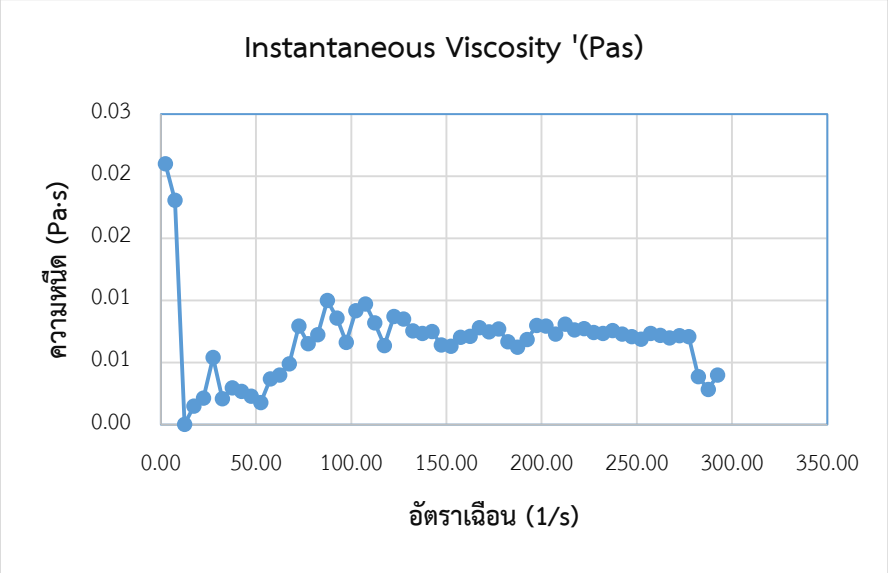
เนื่องจากสมบัติความหนืดเป็นหนึ่งในสมบัติที่มีความสำคัญต่อลักษณะของมายองเนส ได้นำพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียไอโซเลต P06 ที่ความเข้มข้น 1%, 3% และ 5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ทดสอบวัดสมบัติการไหลและความหนืดด้วยเครื่อง Rheometer Bohlin รุ่น C-VOR ประมวลผลด้วยโปรแกรม Bohlin software CVOR15 โดยใช้ภาวะตามวิธีการข้อ 3.3.11.6 ผลการวิเคราะห์พบว่า ค่าความหนืดของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียไอโซเลต P06 ที่ความเข้มข้นของพอลิแซ็กคาไรด์ 1%, 3% และ 5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร มีค่าเท่ากับ 0.0210, 0.1669 และ 3.4533 Pa.s ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าความเข้มข้นของพอลิแซ็กคาไรด์แปลผันตรงกับค่าความหนืด (ตารางที่ 4.14)

ตารางที่ 4.14 ความหนืดปรากฏที่อัตราเฉือนของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียไอโซเลต P06 ที่ความเข้มข้นต่างๆ

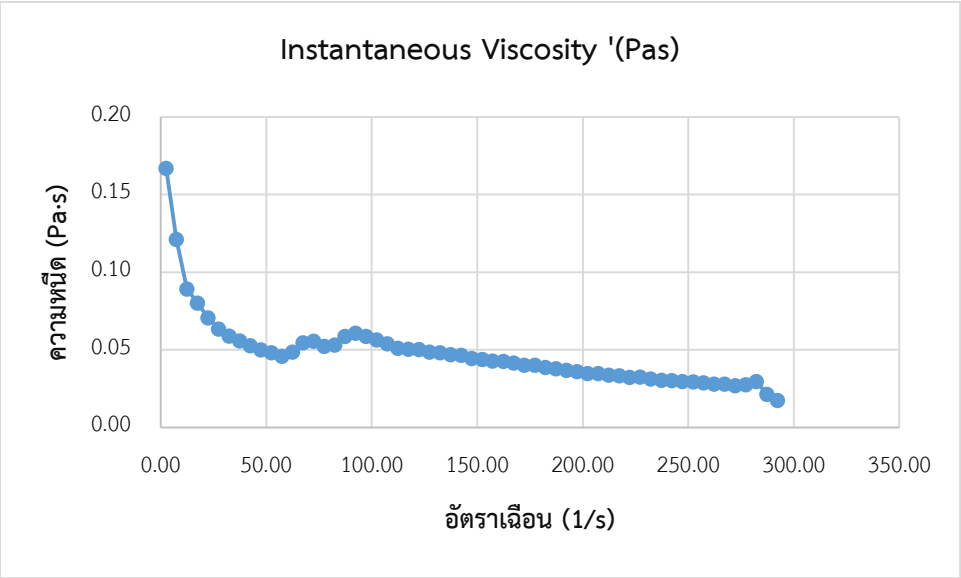
ความเข้มข้น (% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)	ค่าความหนืดปรากฏ (Pa.s)	อัตราเฉือน (s^{-1})	K ($Pa{\cdot}s^{n}$)	n
1	0.0210	2.485	0.0006	1.4851
3	0.1669	2.485	0.2267	0.6529
5	3.4533	2.486	5.7676	0.3252

หมายเหตุ K หมายถึง ค่าดัชนีเนื้อสัมผัส (consistency index)

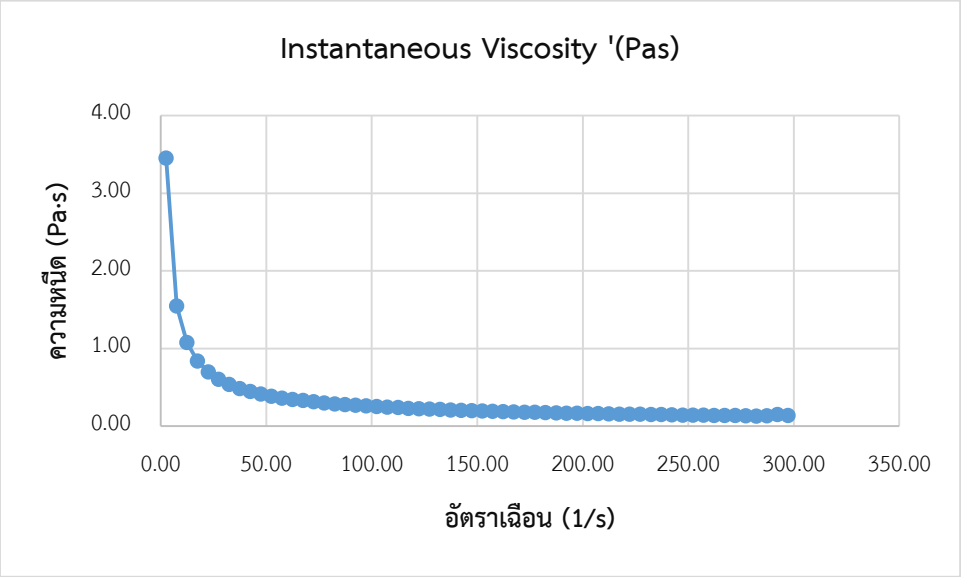
n หมายถึง ค่าดัชนีลักษณะทางการไหล (flow behavior index)



รูปที่ 4.16 ความสัมพันธ์ระหว่างความหนืดและอัตราเฉือนในช่วง 0.04–400 วินาที$^{-1}$ ของพอลิแซ็กคาไรด์จากไอโซเลต P06 ที่ความเข้มข้น 1% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร



รูปที่ 4.17 ความสัมพันธ์ระหว่างความหนืดและอัตราเฉือนในช่วง 0.04–400 วินาที$^{-1}$ ของพอลิแซ็กคาไรด์จากไอโซเลต P06 ที่ความเข้มข้น 3% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร



รูปที่ 4.18 ความสัมพันธ์ระหว่างความหนืดและอัตราเฉือนในช่วง 0.04–400 วินาที$^{-1}$ ของพอลิแซ็กคาไรด์จากไอโซเลต P06 ที่ความเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

4.7.12 การประยุกต์ใช้ในมายองเนส

4.7.12.1 ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์และการกระจายอนุภาคของอิมัลชัน

หลังจากการเกิดอิมัลชันในวันที่ 1, 7, 15 และ 30 นำมายองเนสมาส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และนำมาวิเคราะห์ขนาดการกระจายอนุภาคของอิมัลชันด้วยโปรแกรม ImageJ version 1.50i แสดงผลดังตารางที่ 4.15

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4.15 ค่าขนาดไขมันอนุภาคมายองเนส (volume-surface mean diameters) ชนิดต่างๆ ที่ผลิตจากพอลิแซ็กคาไรด์

ชนิดของมายองเนส	**ขนาดอนุภาคมายองเนส (volume-surface mean diameters)**			
	วันที่ 1	**วันที่ 7**	**วันที่ 15**	**วันที่ 30**
Neg RE	371.580	0.512	15.080	28.194
1% RE	0.056	0.020	0.003	0.154
3% RE	0.051	0.016	0.012	0.055
5% RE	0.047	0.014	0.006	0.028
Neg RF	0.113	5.030	6.212	15.404
1% RF	0.064	0.067	0.024	0.019
3% RF	0.032	0.045	0.027	0.004
5% RF	0.014	0.006	0.004	0.004
Neg RFE	475.288	145.704	179.887	258.498
1% RFE	253.544	3.116	6.952	29.246
3% RFE	0.014	0.020	0.043	1.622
5% RFE	0.015	0.006	0.007	0.194
Full Fat	0.014	0.081	0.096	0.263
Commercial	0.066	0.028	0.014	0.059

หมายเหตุ RE หมายถึงมายองเนสชนิดลดไข่แดง

RF หมายถึงมายองเนสชนิดลดไขมัน

RFE หมายถึงมายองเนสชนิดลดไขมันและไข่แดง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จากผลการทดสอบขนาดอนุภาคมายองเนส (volume-surface mean diameters) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ กำลังขยาย 200 เท่า ภายหลังการเกิดอิมัลชัน ตามระยะเวลาที่กำหนด (1,7,15 และ 30 วัน) แล้วนำมาประมวลผลหาค่าขนาดอนุภาคอิมัลชันโดยใช้โปรแกรม ImageJ version 1.50i ผลการทดสอบพบในมายองเนสเกือบทุกชนิดให้ผลในทางเดียวกัน กล่าวคือ ในวันที่ 7 ของการเกิดอิมัลชันขนาดของอนุภาคอิมัลชันมีค่าลดลงจากวันที่1 และพบว่าบางชนิดมีค่าเพิ่มขึ้นในวันที่ 15 นอกจากนี้พบว่าในมายองเนสบางชนิดขนาดอนุภาคเล็กลงจนถึงวันที่ 15 และมีขนาดใหญ่ขึ้นเมื่อเก็บไปจนถึงวันที่ 30 อย่างไรก็ตามพบว่ามายองเนสชนิดที่ไม่มีการเติมพอลิแซ็กคาไรด์แสดงค่าขนาดของอนุภาคที่ใหญ่กว่ามายองเนสที่มีการเติมพอลิแซ็กคาไรด์อย่างชัดเจน และพบว่ามายองเนสที่มีการเติมพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้นต่างๆมีขนาดอนุภาคเทียบใกล้เคียงกับมายองเนสทางการค้าและมายองเนสสูตรไขมันปกติได้ โดยขนาดของอนุภาคมายองเนสที่ใหญ่หรือเล็กนี้สามารถบ่งชี้ได้ถึงความไม่เป็นเนื้อเดียวกันของอิมัลชั่นที่เกิดขึ้น ภาพลักษณะอนุภาคของมายองเนสแสดงในภาคผนวก ฉ

4.7.12.2 วัดความหนืดของมายองเนส

วัดสมบัติการไหลและความหนืดของมายองเนสด้วยโดยใช้เครื่อง Rheometer Bohlin รุ่น C-VOR ที่อัตราเฉือนระหว่าง 0.04-400 วินาที$^{-1}$ อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส จากนั้นนำค่าที่วิเคราห์ไปประมวลผลด้วยโปรแกรม Bohlin software CVOR15 แสดงผลดังตารางที่ 4.16

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4.16 ความหนืดปรากฏที่อัตราเฉือนของมายองเนสที่ผลิตจากพอลิแซ็กคาไรด์และอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

ชนิดของมายองเนส	ค่าความหนืดปรากฏ (Pa.s)	อัตราเฉือน (s^{-1})	K ($Pa \cdot s^n$)	n
Neg RE	0.137	2.485	0.132	0.923
1% RE	1.071	2.536	0.412	0.660
3% RE	3.488	2.487	1.300	0.705
5% RE	4.127	2.486	7.492	0.429
Neg RF	1.658	2.486	0.275	0.576
1% RF	6.483	2.490	2.933	0.566
3% RF	23.100	2.502	7.535	0.433
5% RF	32.722	2.557	9.533	0.464
Neg RFE	1.0296	2.485	1.648	0.585
1% RFE	1.0274	2.485	0.926	0.584
3% RFE	8.7214	2.491	4.401	0.430
5% RFE	28.928	2.547	11.190	0.351
Full Fat	7.5961	2.488	10.477	0.473
Commercial	25.433	2.496	30.199	0.459

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หมายเหตุ K หมายถึง ค่าดัชนีเนื้อสัมผัส (consistency index)

n หมายถึง ค่าดัชนีลักษณะทางการไหล (flow behavior index)

RE หมายถึงมายองเนสชนิดลดไข่แดง

RF หมายถึงมายองเนสชนิดลดไขมัน

RFE หมายถึงมายองเนสชนิดลดไขมันและไข่แดง

จากตารางที่ 4.16 แสดงค่าความหนืดปรากฏของมายองเนสชนิดต่างๆ พบว่าในมายองเนสทุกชนิดแสดงผลในทิศทางเดียวกัน กล่าวคือ เมื่อยิ่งเพิ่มความเข้มข้นของพอลิแซ็กคาไรด์ในส่วนประกอบของมายองเนสจะมีผลโดยตรงต่อค่าความหนืดปรากฏให้สูงขึ้นด้วย โดยนอกจากนี้พบว่าเมื่อวิเคราะห์ค่า n หรือ ค่าดัชนีลักษณะทางการไหลพบว่า ค่า n ของมายองเนสทุกชนิดมีค่าน้อยกว่า 1 ซึ่งแสดงถึงสมบัติของพฤติกรรมการไหลแบบ pseudoplastic นอกจากนี้เมื่อพิจารณาค่าความหนืดปรากฏของมายองเนสทางการค้ามีค่า 25.433 พาสคาลต่อวินาที พบว่า มายองเนสที่ผลิตจากพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดที่ลดไขมันที่ความเข้มข้นพอลิแซ็กคาไรด์ 5% โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก และมายองเนสชนิดที่ลดไขมันและไข่แดงที่ความเข้มข้นพอลิแซ็กคาไรด์ 5% โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักมีค่าความหนืดปรากฏที่สูงกว่ามายองเนสทางการค้า โดยมีค่า 32.722 และ 28.928 ตามลำดับ

4.7.12.3 ติดตามค่าความเป็นกรดด่างของมายองเนส

ค่าความเป็นกรดด่างเป็นหนึ่งปัจจัยที่ส่งผลต่อรสชาติและกลิ่นของผลิตภัณฑ์มายองเนส โดยการติดตามค่าความเป็นกรดด่างนี้เป็นหนึ่งเกณฑ์ที่มาตรฐาน มอก. ให้ความสนใจและตระหนัก โดยปกติค่าความเป็นกรดด่างที่ยอมรับได้ตามมาตรฐาน มอก. คือไม่เกิน 4.10 ผลการทดสอบติดตามค่าความเป็นกรดด่างของมายองเนสทุกชนิดตั้งแต่วันที่ 1, 7, 14 และ30 จากนั้นนำค่าที่ได้ไปวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS version 23 พบว่ามายองเนสทุกชนิดมีค่าความเป็นกรดด่างที่ลดลงเมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงวันที่ 30 แสดงว่าการเก็บมายองเนสไว้นานส่งผลให้มายองเนสมีความเป็นกรดเพิ่มมากขึ้นตามไปด้วย อย่างไรก็ตามพบว่ามายองเนสทุกชนิดที่ผลิตมีค่าความเป็นกรดด่างเป็นไปตามมาตรฐาน มอก. กล่าวคือมีค่าความเป็นกรดด่างไม่เกิน 4.10 (ตารางที่ 4.17) เมื่อวิเคราะห์ผลการทดสอบด้วยโปรแกรม SPSS version 23 ซึ่งทดสอบเปรียบเทียบความแตกต่างในมายองเนสแต่ละชนิดตามระยะเวลาที่เก็บ พบว่ามายองเนสทุกชนิดแสดงความแตกต่างอย่างชัดเจนระหว่างวันที่ 1 และวันที่ 30 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ 4.17 ค่าความเป็นกรดด่างของมายองเนสที่ผลิตจากพอลิแซ็กคาไรด์และอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

ชนิดของมายองเนส	ค่าความเป็นกรดด่าง			
	วันที่ 1	วันที่ 7	วันที่ 15	วันที่ 30
Neg RE	$3.76^{b} \pm 0.01$	$3.74^{b} \pm 0.01$	$3.67^{a} \pm 0.01$	$3.65^{a} \pm 0.01$
1% RE	$3.77^{c} \pm 0.00$	$3.77^{c} \pm 0.01$	$3.72^{b} \pm 0.02$	$3.68^{a} \pm 0.01$
3% RE	$3.83^{c} \pm 0.01$	$3.73^{b} \pm 0.00$	$3.73^{b} \pm 0.01$	$3.68^{a} \pm 0.01$
5% RE	$3.79^{c} \pm 0.01$	$3.74^{b} \pm 0.01$	$3.65^{a} \pm 0.01$	$3.65^{a} \pm 0.01$
Neg RF	$3.90^{b} \pm 0.01$	$3.88^{b} \pm 0.00$	$3.83^{a} \pm 0.02$	$3.78^{a} \pm 0.03$
1% RF	$4.05^{c} \pm 0.02$	$3.95^{b} \pm 0.02$	$3.94^{b} \pm 0.01$	$3.86^{a} \pm 0.00$
3% RF	$4.09^{d} \pm 0.01$	$4.00^{c} \pm 0.01$	$3.96^{b} \pm 0.00$	$3.90^{a} \pm 0.01$
5% RF	$4.00^{b} \pm 0.02$	$4.01^{b} \pm 0.01$	$3.97^{b} \pm 0.02$	$3.92^{a} \pm 0.01$
Neg RFE	$3.82^{c} \pm 0.02$	$3.80^{c} \pm 0.01$	$3.77^{b} \pm 0.00$	$3.69^{a} \pm 0.01$
1% RFE	$3.75^{b} \pm 0.02$	$3.73^{ab} \pm 0.01$	$3.72^{a} \pm 0.01$	$3.71^{a} \pm 0.01$
3% RFE	$3.85^{c} \pm 0.01$	$3.76^{b} \pm 0.01$	$3.75^{b} \pm 0.01$	$3.71^{a} \pm 0.00$
5% RFE	$3.76^{c} \pm 0.02$	$3.70^{b} \pm 0.02$	$3.65^{b} \pm 0.02$	$3.58^{a} \pm 0.02$
Full Fat	$4.08^{b} \pm 0.01$	$4.07^{b} \pm 0.02$	$4.01^{a} \pm 0.01$	$4.00^{a} \pm 0.01$
Commercial	$3.91^{c} \pm 0.01$	$3.91^{c} \pm 0.01$	$3.82^{b} \pm 0.01$	$3.67^{a} \pm 0.03$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันเปรียบเทียบในวันที่1 7 15 และ30ของมายองเนสแต่ละชนิดแสดงถึงความแตกต่างระหว่างข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

RE หมายถึงมายองเนสชนิดลดไข่แดง

RF หมายถึงมายองเนสชนิดลดไขมัน

RFE หมายถึงมายองเนสชนิดลดไขมันและไข่แดง

4.7.12.4 วัดค่าปริมาณการให้พลังงาน

จุดประสงค์ของงานวิจัยนี้คือเพื่อผลิตมายองเนสไขมันต่ำ ดังนั้นได้ปรับปรุงโดยลดการใช้สารเติมแต่งทางเคมี แล้วนำมายองเนสที่จัดเก็บภายหลัง 24 ชั่วโมงวิเคราะห์ค่าปริมาณการให้พลังงานโดยใช้เครื่อง Bomb Calorimeter AC-500 ที่ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ซึ่งค่าที่ได้จะแสดงเป็นค่าพลังงานความร้อน แสดงดังตารางที่ 4.18

ตารางที่ 4.18 ค่าพลังงานความร้อนของมายองเนสที่ผลิตจากพอลิแซ็กคาไรด์และอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

ชนิดของมายองเนส	ค่าพลังงานความร้อน (กิโลแคลอรีต่อกรัม)
Neg RE	$9.38^{f} \pm 0.00$
1% RE	$7.94^{d} \pm 0.03$
3% RE	$8.91^{e} \pm 0.04$
5% RE	$8.99^{e} \pm 0.32$
Neg RF	$9.18^{ef} \pm 0.02$
1% RF	$6.71^{c} \pm 0.00$
3% RF	$6.30^{b} \pm 0.02$
5% RF	$6.19^{b} \pm 0.05$
Neg RFE	$9.23^{ef} \pm 0.09$
1% RFE	$9.47^{f} \pm 0.59$
3% RFE	$6.11^{b} \pm 0.00$
5% RFE	$6.30^{b} \pm 0.03$
Full Fat	$8.30^{d} \pm 0.03$
Commercial	$5.42^{a} \pm 0.02$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันระหว่างชนิดของมายองเนสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

RE หมายถึงมายองเนสชนิดลดไข่แดง

RF หมายถึงมายองเนสชนิดลดไขมัน

RFE หมายถึงมายองเนสชนิดลดไขมันและไข่แดง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จากตารางที่ 4.18 พบว่าเมื่อวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS version 23 ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% มายองเนสที่ให้ค่าต่ำที่สุดคือ มายองเนสชนิดที่ลดไข่แดงและไขมันโดยเติมพอลิแซ็กคาไรด์ 3% โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก โดยให้ค่าพลังงานความร้อน 6.11 กิโลแคลอรีต่อกรัม เมื่อเปรียบเทียบกับมายองเนสชนิดอื่นๆ พบว่ามายองเนสอีก 2 ชนิด ให้ค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% คือ มายองเนสชนิดที่ลดไข่แดงและไขมันโดยเติมพอลิแซ็กคาไรด์ 5% โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก และมายองเนสชนิดที่ลดไขมันโดยเติมพอลิแซ็กคาไรด์ 5% โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก ซึ่งให้ค่าพลังงานความร้อน 6.30 และ 6.19 กิโลแคลอรีต่อกรัม ตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามเมื่อทดสอบเปรียบเทียบกับมายองเนสทางการค้าพบว่ายังให้ค่าพลังงานที่สูงกว่ามายองเนสจากทางการค้าอยู่เล็กน้อย แต่เมื่อทดสอบเปรียบเทียบกับมายองเนสชนิดไขมันปกติพบว่าให้ค่าต่ำกว่าอย่างเห็นได้ชัด โดยหากต้องการให้มายองเนสมีค่าพลังงานความร้อนที่ต่ำกว่านี้อาจจะต้องลดสัดส่วนของน้ำมันลงโดยเพิ่มปริมาณของเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์เข้าไปทดแทน

4.7.12.5 วิเคราะห์ค่าสี

คุณลักษณะหนึ่งที่สำคัญต่อการเลือกซื้อผลิตภัณฑ์ของผู้บริโภคคือลักษณะทางกายภาพ ซึ่งสำหรับผลิตภัณฑ์มายองเนส สีของผลิตภัณฑ์เป็นสิ่งที่มีผลต่อการตัดสินใจของผู้บริโภคด้วยเหตุผลดังกล่าว มอก. จึงให้ความสนใจในการวิเคราะห์สมบัติของลักษณะของมายองเนส โดยตามมาตรฐาน มอก.1402-2540 ระบุว่ามายองเนสต้องมีสีขาวนวลถึงสีเหลืองนวล ผู้วิจัยจึงได้ทดสอบค่าสีของมายองเนสโดยใช้เครื่องโครมามิเตอร์ที่ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารคณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยในระบบ CIE ซึ่งผลการวิเคราะห์ที่ได้จะแสดงเป็นค่า L* a* และ b* โดยค่า L* เป็นค่าที่บ่งชี้ถึงความสว่าง (lightness) มีค่าตั้งแต่ 0 (สีดำ) ถึง 100 (สีขาว) ค่า a* (redness/greenness) บ่งชี้ถึงความเป็นสีแดงและสีเขียว ค่าทางบวกแสดงถึงความเป็นสีแดงและค่าทางลบแสดงถึงความเป็นสีเขียว และค่า b* บ่งชี้ถึงสีเหลืองและสีน้ำเงิน (yellowness/blueness) โดยค่าทางบวกแสดงถึงความเป็นสีเหลืองและค่าทางลบแสดงถึงความเป็นสีเขียว จากนั้นนำค่าที่ได้ทั้งหมดจากการวิเคราะห์ไปคำนวณหาค่า ΔE^* ซึ่งคือค่าการเปลี่ยนแปลงสีทั้งหมด เปรียบเทียบกันระหว่างวันที่ 1 และวันที่ 7 โดยนำค่าวิเคราะห์ที่ได้มาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS version 23 แสดงผลดังตารางที่ 4.19–4.22

ตารางที่ 4.19 ค่าสี L* ของมายองเนสที่ผลิตจากพอลิแซ็กคาไรด์และอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

ชนิดของมายองเนส	ค่าสี L*	
	วันที่ 1	วันที่ 7
Neg RE	$66.09^{g} \pm 0.41$	$46.12^{a} \pm 0.94$
1% RE	$57.00^{d} \pm 0.11$	$51.40^{b} \pm 0.41$
3% RE	$76.76^{l} \pm 0.61$	$76.25^{l} \pm 0.27$
5% RE	$78.27^{m} \pm 0.13$	$76.46^{l} \pm 0.05$
Neg RF	$69.87^{i} \pm 0.25$	$65.07^{fg} \pm 0.12$
1% RF	$73.88^{jk} \pm 0.87$	$73.15^{j} \pm 0.29$
3% RF	$76.92^{l} \pm 0.57$	$74.05^{jk} \pm 0.08$
5% RF	$76.01^{l} \pm 0.47$	$73.16^{j} \pm 0.28$
Neg RFE	$64.80^{f} \pm 0.31$	$52.71^{c} \pm 0.25$
1% RFE	$69.98^{i} \pm 0.20$	$68.37^{h} \pm 0.41$
3% RFE	$74.25^{jk} \pm 0.43$	$73.71^{jk} \pm 0.11$
5% RFE	$61.65^{e} \pm 0.34$	$60.81^{e} \pm 0.17$
Full Fat	$76.48^{l} \pm 0.41$	$74.70^{kl} \pm 0.30$
Commercial	$76.33^{l} \pm 0.30$	$75.78^{l} \pm 0.21$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันระหว่างชนิดของมายองเนสและวันที่ทดสอบข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

RE หมายถึงมายองเนสชนิดลดไข่แดง

RF หมายถึงมายองเนสชนิดลดไขมัน

RFE หมายถึงมายองเนสชนิดลดไขมันและไข่แดง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

จากการทดลองค่าสีของมายองเนสโดยในตารางที่ 4.19 แสดงค่าสี L* ของมายองเนสชนิดต่างๆ โดยทดสอบเทียบระหว่างวันที่ 1กับวันที่ 7 ของการจัดเก็บ โดยผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่าเมื่อเก็บไปเป็นระยะเวลา 7 วันค่าสี L* จะมีค่าลดลง โดยค่าสี L* แสดงถึงค่าความสว่างของมายองเนส ซึ่งในวันที่1 ค่าสี L* ของมายองเนส อยู่ในช่วง 57.00 ± 0.11 ถึง 78.27 ± 0.13 ซึ่งให้ค่าในช่วงสีขาว และเป็นไปตามที่มาตรฐาน มอก. กำหนดว่าสีของมายองเนสจะต้องเป็นสีขาวหรือเหลืองนวล และค่าสีของมายองเนสอยู่ในช่วง 46.12 ± 0.94 ถึง 76.46^{l} ± 0.05 ภายหลังจากการจัดเก็บ 7 วัน ซึ่งแสดงให้เห็นว่าค่าสี L* ลดลง โดยเมื่อค่าสี L* ลดลงหมายถึงความสว่างของมายองเนสลดลง โดยเมื่อผ่านการจัดเก็บไปเป็นระยะเวลา 7 วันพบว่า มายองเนสชนิดที่มีการลดไข่แดงโดยเติมพอลิแซ็กคาไรด์ 5% โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักแสดงค่าสี L* ที่สูงที่สุด คือ 78.27 ± 0.13

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4.20 ค่าสี a* ของมายองเนสที่ผลิตจากพอลิแซ็กคาไรด์และอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

ชนิดของมายองเนส	ค่าสี a*	
	วันที่ 1	วันที่ 7
Neg RE	$2.37^{a} \pm 0.20$	$2.21^{ab} \pm 0.07$
1% RE	$2.34^{a} \pm 0.20$	$1.98^{bc} \pm 0.03$
3% RE	$1.71^{cde} \pm 0.03$	$1.38^{fghijk} \pm 0.04$
5% RE	$1.53^{defghij} \pm 0.17$	$1.21^{jk} \pm 0.04$
Neg RF	$0.38^{op} \pm 0.04$	$0.29^{p} \pm 0.03$
1% RF	$1.36^{ghijk} \pm 0.32$	$0.85^{lm} \pm 0.08$
3% RF	$0.67^{mno} \pm 0.04$	$0.49^{nop} \pm 0.08$
5% RF	$0.68^{mno} \pm 0.05$	$0.49^{nop} \pm 0.05$
Neg RFE	$1.56^{defghi} \pm 0.06$	$1.25^{ijk} \pm 0.02$
1% RFE	$1.68^{cdef} \pm 0.04$	$1.65^{defg} \pm 0.08$
3% RFE	$0.80^{mn} \pm 0.07$	$0.66^{mno} \pm 0.07$
5% RFE	$1.73^{cd} \pm 0.08$	$1.69^{cdef} \pm 0.04$
Full Fat	$1.31^{hijk} \pm 0.05$	$1.17^{kl} \pm 0.08$
Commercial	$1.60^{defgh} \pm 0.07$	$1.40^{efghijk} \pm 0.07$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างระหว่างชนิดของมายองเนสและวันที่ทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

RE หมายถึงมายองเนสชนิดลดไข่แดง

RF หมายถึงมายองเนสชนิดลดไขมัน

RFE หมายถึงมายองเนสชนิดลดไขมันและไข่แดง

จากการทดสอบค่าสี a* (redness/greenness) ของมายองเนส โดยค่าสี a* เป็นค่าที่แสดงถึงบ่งชี้ถึงความเป็นสีแดงและสีเขียว โดยที่ค่าทางบวกแสดงถึงความเป็นสีแดงและค่าทางลบแสดงถึงความเป็นสีเขียว โดยพบว่าในวันที่ 1 ของการจัดเก็บ ค่าสี a* อยู่ในช่วง -2.37 ± 0.20 ถึง -0.38 ± 0.04 และเมื่อผ่านการจัดเก็บจนถึงวันที่ 7 พบว่าค่าสี a* เพิ่มขึ้นโดยอยู่ในช่วง -2.21 ± 0.07 ถึง -0.29 ± 0.03 โดยการที่ค่าสี a* เพิ่มขึ้นนี้แสดงว่ามายองเนสมีสีแดงเพิ่มขึ้นภายหลังการจัดเก็บจนครบ 7 วัน

ตารางที่ 4.21 ค่าสี b* ของมายองเนสที่ผลิตจากพอลิแซ็กคาไรด์และอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

ชนิดของมายองเนส	ค่าสี b*	
	วันที่ 1	วันที่ 7
Neg RE	$22.64^{m} \pm 0.09$	$17.49^{e} \pm 0.60$
1% RE	$20.45^{k} \pm 0.23$	$18.65^{gh} \pm 0.07$
3% RE	$18.52^{fgh} \pm 0.17$	$16.59^{d} \pm 0.17$
5% RE	$16.04^{c} \pm 0.08$	$14.07^{a} \pm 0.10$
Neg RF	$26.54^{p} \pm 0.07$	$26.06^{o} \pm 0.08$
1% RF	$18.11^{f} \pm 0.06$	$18.62^{gh} \pm 0.08$
3% RF	$18.80^{h} \pm 0.12$	$18.25^{fg} \pm 0.09$
5% RF	$19.24^{i} \pm 0.10$	$18.37^{fg} \pm 0.18$
Neg RFE	$22.56^{m} \pm 0.21$	$23.40^{n} \pm 0.18$
1% RFE	$20.25^{k} \pm 0.13$	$19.73^{j} \pm 0.14$
3% RFE	$19.29^{i} \pm 0.17$	$19.63^{ij} \pm 0.14$
5% RFE	$21.35^{l} \pm 0.10$	$19.28^{i} \pm 0.04$
Full Fat	$17.32^{e} \pm 0.20$	$16.46^{cd} \pm 0.10$
Commercial	$14.54^{b} \pm 0.21$	$14.22^{ab} \pm 0.08$

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างระหว่างชนิดของมายองเนสและวันที่ทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

RE หมายถึงมายองเนสชนิดลดไข่แดง

RF หมายถึงมายองเนสชนิดลดไขมัน

RFE หมายถึงมายองเนสชนิดลดไขมันและไข่แดง

จากตารางที่ 4.21 แสดงค่าสี b* ซึ่งบ่งชี้ถึงสีเหลืองและสีน้ำเงิน (yellowness/blueness) โดยค่าทางบวกแสดงถึงความเป็นสีเหลืองและค่าทางลบแสดงถึงความเป็นสีเขียว ผลการวิเคราะห์พบว่าในวันที่ 1 ของการจัดเก็บ ค่าสี b* ของมายองเนส อยู่ในช่วง 14.54 ± 0.21 ถึง 26.54 ± 0.07 ในขณะที่ค่าสี b* ของวันที่ 7 มีค่าลดลงโดยอยู่ในช่วง 14.22 ± 0.08 ถึง 26.06 ± 0.08 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเมื่อเวลาผ่านไปจะส่งผลให้มายองเนสเปลี่ยนเป็นสีเขียวมากขึ้นแต่อย่างไรก็ตามยังคงแสดงค่าสีในช่วงสีเหลืองอยู่

ตารางที่ 4.22 ค่า ΔE* ของมายองเนสที่ผลิตจากพอลิแซ็กคาไรด์และอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

ชนิดของมายองเนส	ค่า ΔE*
Neg RE	7.07
1% RE	3.75
3% RE	2.05
5% RE	2.63
Neg RF	3.22
1% RF	1.21
3% RF	2.55
5% RF	2.66
Neg RFE	4.68
1% RFE	2.04
3% RFE	0.35
5% RFE	2.39
Full Fat	2.24
Commercial	1.16

หมายเหตุ RE หมายถึงมายองเนสชนิดลดไข่แดง
RF หมายถึงมายองเนสชนิดลดไขมัน
RFE หมายถึงมายองเนสชนิดลดไขมันและไข่แดง

จากตารางที่ 4.22 แสดงค่า ΔE* ซึ่งแสดงถึงค่าการเปลี่ยนแปลงสีทั้งหมดของมายองเนสทุกชนิด โดยพบว่ามายองเนสที่มีค่า ΔE* หรือมีการเปลี่ยนแปลงค่าสีมากที่สุดคือ มายองเนสชนิดที่ลดไข่แดงโดยไม่มีการเติมพอลิแซ็กคาไรด์ มีค่าการเปลี่ยนแปลงสีทั้งหมด เท่ากับ 7.02 และมายองเนสชนิดที่มีการเปลี่ยนแปลงค่าสีน้อยที่สุดคือ มายองเนสชนิดที่มีการลดไข่แดงและเติมพอลิแซ็กคาไรด์ 3% โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก โดยมีค่า ΔE* เท่ากับ 0.35 การที่สีของมายองเนสมีค่าเปลี่ยนแปลงไปเมื่อผ่านการจัดเก็บเป็นระยะเวลา 7วัน พบว่ามีสาเหตุมาจากการที่แคโรทีนอยด์ (carotenoid) ในองค์ประกอบของไข่แดงละลายในน้ำมันที่เป็นองค์ประกอบในการผลิตมายองเนส (Li-Chan และ Kim, 2008)

4.7.12.6 วัดค่าปริมาณน้ำอิสระในมายองเนส

ด้วยวัตถุประสงค์เพื่อที่จะเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไว้ในระยะเวลานานค่าปริมาณน้ำอิสระในอาหารก็เป็นตัวแปรที่สำคัญต่อการจัดเก็บผลิตภัณฑ์ ดังนั้นผู้วิจัยจึงศึกษาค่าปริมาณน้ำในมายองเนสตั้งแต่วันที่ 1 และ วันที่ 7 โดยวิเคราะห์ด้วยเครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระในอาหาร (Aw: water activity Meter) AquaLab Model : Series3 TE, USA ที่ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารคณะวิทยาศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย แสดงผลดังตารางที่ 4.23

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4.23 ค่าปริมาณน้ำอิสระในมายองเนสที่ผลิตจากพอลิแซ็กคาไรด์และอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

ชนิดของมายองเนส	ค่าปริมาณน้ำอิสระในมายองเนส	
	วันที่ 1	วันที่ 7
Neg RE	$0.998^{k} \pm 0.001$	$0.962^{d} \pm 0.002$
1% RE	$0.988^{fghi} \pm 0.001$	$0.948^{b} \pm 0.003$
3% RE	$0.986^{fgh} \pm 0.001$	$0.990^{hi} \pm 0.001$
5% RE	$0.984^{f} \pm 0.001$	$0.991^{ij} \pm 0.001$
Neg RF	$0.996^{k} \pm 0.002$	$0.995^{jk} \pm 0.001$
1% RF	$0.974^{e} \pm 0.001$	$0.984^{fg} \pm 0.001$
3% RF	$0.965^{d} \pm 0.002$	$0.975^{e} \pm 0.003$
5% RF	$0.954^{c} \pm 0.001$	$0.975^{e} \pm 0.001$
Neg RFE	$0.997^{k} \pm 0.001$	$1.000^{k} \pm 0.000$
1% RFE	$0.998^{k} \pm 0.001$	$1.000^{k} \pm 0.000$
3% RFE	$0.999^{k} \pm 0.000$	$1.000^{k} \pm 0.000$
5% RFE	$0.987^{fghi} \pm 0.002$	$0.989^{ghi} \pm 0.002$
Full Fat	$0.966^{d} \pm 0.002$	$0.963^{d} \pm 0.003$
Commercial	$0.941^{a} \pm 0.001$	$0.947^{b} \pm 0.002$

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันระหว่างมายองเนสแต่ละชนิดและวันที่ทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

RE หมายถึงมายองเนสชนิดลดไข่แดง

RF หมายถึงมายองเนสชนิดลดไขมัน

RFE หมายถึงมายองเนสชนิดลดไขมันและไข่แดง

ผลการทดสอบค่าปริมาณน้ำอิสระในมายองเนสชนิดต่างๆแสดงให้เห็นว่ามายองเนสจัดเป็นอาหารในกลุ่มที่มีปริมาณน้ำอิสระอยู่สูงมาก โดยจากผลการทดสอบพบว่าในวันที่ 1 ของการจัดเก็บผลิตภัณฑ์มีค่าปริมาณน้ำอิสระอยู่ในช่วง 0.941 ± 0.001ถึง 0.999^{k} ± 0.000 และเมื่อพิจารณาค่าปริมาณน้ำอิสระในมายองเนสเมื่อระยะเวลาผ่านไปจนถึงวันที่ 7 พบว่ามีค่าอยู่ในช่วง 0.947 ± 0.002 ถึง 1.000 ± 0.000 จากผลการวิเคราะห์พบว่าปริมาณน้ำอิสระในมายองเนสมีค่าสูงขึ้นเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นเล็กน้อย (ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%) และเมื่อพิจารณาในแต่ละชนิดของมายองเนสพบว่ามายองเนสบางชนิด เช่น มายองเนสชนิดที่มีการลดไขมันเมื่อมีการเพิ่มปริมาณพอลิแซ็กคาไรด์จะมีค่าแปรผกผันต่อค่าปริมาณน้ำอิสระ กล่าวคือ เมื่อความเข้มข้นของพอลิแซ็กคาไรด์เพิ่มขึ้นค่าปริมาณน้ำอิสระในมายองเนสจะน้อยลง อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบค่าปริมาณน้ำอิสระในมายองเนสจากงานวิจัยที่มีการรายงานก่อนหน้าพบว่า ในรายงานของ Hwang และ Tamplin (2005) ได้ระบุค่าปริมาณน้ำอิสระในมายองเนสที่ผลิตได้ว่ามีค่าเท่ากับ 0.95 นอกไปจากนี้จากรายงานของ Worrasinchai และคณะ (2006) ได้รายงานค่าปริมาณน้ำอิสระของมายองเนสสูตรปกติเท่ากับ 0.958 แต่พบว่าในมายองเนสสูตรที่มีการลดไขมันจะมีค่าปริมาณน้ำอิสระอยู่ในช่วง 0.989 ถึง 0.998 นอกจากนี้ในรายงานของ Su และคณะ (2010) ระบุถึงค่าปริมาณน้ำอิสระในมายองเนสสูตรปกติเท่ากับ 0.945 และในทำนองเดียวกันพบว่าในมายองเนสสูตรลดไขมันมีค่าปริมาณน้ำอิสระอยู่ในช่วง 0.982 ถึง 0.984 ซึ่งจากผลการรายงานของงานวิจัยก่อนหน้านี้แสดงผลการวิเคราะห์สอดคล้องกับผลการทดลอง โดยสาเหตุที่ทำให้ค่าปริมาณน้ำอิสระเพิ่มขึ้นมีปัจจัยมาจากการที่ในสูตรของมายองเนสที่เติมพอลิแซ็กคาไรด์จะต้องมีการใช้น้ำเข้ามาเป็นตัวทำละลายของพอลิแซ็กคาไรด์จึงทำให้ในสูตรที่ใช้ผลิตมายองเนสมีการเติมน้ำเพิ่มขึ้นจากมายองเนสสูตรปกติ

Chulalongkorn University

4.7.12.7 วิเคราะห์ความคงตัวของมายองเนส

เพื่อศึกษาถึงความสามารถในการคงตัวและอายุของผลิตภัณฑ์จึงได้ทดสอบความคงตัวของอิมัลชันโดยวิธี centrifugation ตามวิธีข้อ 3.3.12.3 โดยผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 4.16

นำมองยองเนสใส่หลอดทดลองปริมาตร 15 มิลลิลิตร วัดความสูงของชั้นอิมัลชันเริ่มต้น (F0) จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง 10,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แล้ววัดความสูงของอิมัลชันที่คงเหลือ (F1) จากนั้นคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์ความคงตัวของอิมัลชันตามสูตร

$$Emulsion\ stability\ (\%) = \frac{\text{ความสูงของอิมัลชันที่คงเหลือ } (F1)}{\text{ความสูงของชั้นอิมัลชันเริ่มต้น } (F0)} \times 100$$

ตารางที่ 4.24 ค่าความคงตัวของมายองเนสที่ผลิตจากพอลิแซ็กคาไรด์และอัตราส่วนที่แตกต่างกัน

ชนิดของมายองเนส	เปอร์เซ็นต์ความคงตัวของอิมัลชัน (Emulsion stability)
Neg RE	$43.00^{b} \pm 0.06$
1% RE	$46.72^{c} \pm 0.03$
3% RE	$99.95^{m} \pm 0.04$
5% RE	$99.52^{h} \pm 0.08$
Neg RF	$34.03^{a} \pm 0.03$
1% RF	$99.80^{k} \pm 0.04$
3% RF	$99.86^{l} \pm 0.03$
5% RF	$99.61^{i} \pm 0.03$
Neg RFE	$48.50^{d} \pm 0.07$
1% RFE	$79.71^{f} \pm 0.11$
3% RFE	$83.01^{g} \pm 0.06$
5% RFE	$62.37^{e} \pm 0.17$
Full Fat	$99.95^{m} \pm 0.04$
Commercial	$99.77^{j} \pm 0.03$

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ยที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างระหว่างกันของมายองเนสแต่ละชนิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

RE หมายถึงมายองเนสชนิดลดไข่แดง

RF หมายถึงมายองเนสชนิดลดไขมัน

RFE หมายถึงมายองเนสชนิดลดไขมันและไข่แดง

ผลแสดงความคงตัวของมายองเนสพบว่ามายองเนสทุกชนิดมีค่าเปอร์เซ็นต์ความคงตัวที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยพบว่ามายองเนสชนิดที่ไม่มีการเติมพอลิแซ็กคาไรด์มีเปอร์เซ็นต์ความคงตัวอยู่ในช่วง 34.03 ± 0.03 ถึง 48.50 ± 0.07 ในขณะที่มายองเนสชนิดที่มีการเติมพอลิแซ็กคาไรด์มีค่าเปอร์เซ็นต์ความคงตัวอยู่ในช่วง 46.72 ± 0.03 ถึง 99.95 ± 0.04 ซึ่งมายองเนสชนิดที่ลดไขมันโดยเติมพอลิแซ็กคาไรด์ 3% โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักแสดงค่าเปอร์เซ็นต์ความคงตัวที่สูงที่สุด คือ 99.95 ± 0.04 และพบว่ามีค่าเทียบเคียงมายองเนสทางการค้าได้ (99.77 ± 0.03)

4.7.12.8 วิเคราะห์จุลินทรีย์ทั้งหมดในมายองเนส

ผลการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในมายองเนสทั้งชนิดที่มีการฆ่าเชื้อและไม่มีการฆ่าเชื้อ ภายหลังการจัดเก็บที่ 1 และ 30 วันทำโดยอ้างอิงจากสำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม (2540) ภายหลังการทำ Pour plate โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งเพลตเคานต์(Plate Count Agar; PCA) แล้วบ่มที่ 37 องศาเซลเซียสนาน 48 ชั่วโมงพบว่า ไม่มีการเจริญของจุลินทรีย์ในมายองเนสทุกชนิด

4.7.12.9 วิเคราะห์ยีสต์และราในมายองเนส

ผลการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในมายองเนสทั้งชนิดที่มีการฆ่าเชื้อและไม่มีการฆ่าเชื้อ ภายหลังการจัดเก็บที่ 1 และ 30 วันทำโดยอ้างอิงจากสำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม (2540) โดยใช้วิธี Pour plate และใช้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งโปเตโตเดกซโตรส(Potato Dextrose Agar; PDA) ที่ปรับค่าความเป็นกรดด่างเป็น 3.5 ภายหลังการบ่มที่ 37 องศาเซลเซียสนาน 5 วัน แล้วนับจำนวนโคโลนีของยีสต์และราที่ปรากฏ พบว่าไม่มีการเจริญของยีสต์และราในมายองเนสทุกชนิด

4.7.12.10 วิเคราะห์โคลิฟอร์มในมายองเนส

ผลการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในมายองเนสทั้งชนิดที่มีการฆ่าเชื้อและไม่มีการฆ่าเชื้อ ภายหลังการจัดเก็บที่ 1 และ 30 วัน ทดสอบโดยใช้วิธีเอ็มพีเอ็น ปฏิบัติตาม AOAC (1990) ข้อ 17.2.02 อ้างอิงวิธีจาก BAM (2002) โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเหลวลอริลทริปโตส (Lauryl Tryptose Broth; LST) ที่มีหลอดดักแก๊ส จากนั้นนำไปบ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำหลอดที่เกิดแก๊สไปทดสอบต่อเพื่อยืนยันผลด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวบริลลิแอนต์กรีนแลกโตสไบล์ (Brilliant green lactose bile broth; BGLB) และอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวอีซี (EC medium) โดยผลการทดสอบพบว่าไม่ปรากฏฟองแก๊สในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวลอริลทริปโตส (Lauryl Tryptose Broth; LST ที่มีหลอดดักแก๊ส

4.7.12.11 วิเคราะห์แล็กโทบาซิลลัสในมายองเนส

ผลการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในมายองเนสทั้งชนิดที่มีการฆ่าเชื้อและไม่มีการฆ่าเชื้อ ภายหลังการจัดเก็บที่ 1 และ 30 วัน ทดสอบโดยใช้วิธีปฏิบัติตามสำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม (2540) ข้อ 11.2 ทำโดยใช้วิธี Pout Plate และใช้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งเอ็มอาร์เอส (de Man, Rogosa Sharpe agar; MRS) แล้ว ปิดทับด้วยวุ้นที่หลอมเหลวแล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสนาน 72 ชั่วโมง ผลการทดสอบพบว่าไม่มีการเจริญของจุลินทรีย์ใดๆบนอาหารเลี้ยงเชื้อในมายองเนสทุกชนิดที่ทดสอบ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 5
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ความสามารถในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์พบในแบคทีเรียหลายชนิด เช่น งานวิจัยของ Danese และคณะ (2000) รายงานการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์จาก *Escherichia coli* แต่การนำพอลิแซ็กคาไรด์ทางชีวภาพมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารนั้นแบคทีเรียต้องอยู่ในกลุ่ม food grade ซึ่งเป็นกลุ่มที่มีการยอมรับว่าปลอดภัยในการนำมาใช้ในการประกอบอาหาร หนึ่งในกลุ่มของแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์คือ แบคทีเรียผลิตกรดแลกติก แบคทีเรียกลุ่มนี้ได้รับการยอมรับว่ามีความปลอดภัย (General Recognized As Safe; GRAS) นอกจากนี้ยังพบว่าบางสายพันธุ์ของแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกมีความสามารถในการเป็นโพรไบโอติกด้วย (Tsuda และคณะ, 2008) แบคทีเรียผลิตกรดแลกติกคัดแยกได้จากแหล่งธรรมชาติที่หลากหลาย เช่น เนื้อสัตว์ (Lewus และคณะ, 1991) ลำไส้มนุษย์ (Pereira และ Gibson, 2002) และอาหารพื้นเมือง (Ruas-Madiedo และ De Los Reyes-Gavilán, 2005) เป็นต้น ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจในการคัดแยกแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกที่มีความสามารถในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์จากอาหารหมักดองในประเทศไทย โดยเก็บตัวอย่างทั้งหมด 39 ตัวอย่าง เบื้องต้นคัดแยกความสามารถในการผลิตกรดแลกติกโดยสังเกตการเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MRS ที่เติมสีโบรโมคลีซอลเพอเพิลเป็นอินดิเคเตอร์ แล้วคัดเลือกโคโลนีที่ผลิตกรดแลกติกได้ไปทดสอบความสามารถในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MRS ที่เติมน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 4% โดยน้ำหนักต่อปริมาตรเพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าสามารถคัดแยกแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกได้ทั้งหมด 205 ไอโซเลต ซึ่งมีเพียง 88 ไอโซเลตที่มีความสามารถในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ ลักษณะโคโลนีเป็นเมือกเยิ้ม จากนั้นนำไอโซเลตที่โคโลนี มีความเมือกเยิ้มมากที่สุดจำนวน 8 ไอโซเลต เพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป โดยได้รับการกำหนดรหัสเป็น P01 ถึง P08 ไปทดสอบสมบัติทางชีวเคมีเบื้องต้น พบว่าทุกไอโซเลตย้อมติดสีแกรมบวก รูปร่างกลมและแท่ง ให้ผลแคทาเลสเป็นลบ สรุปในเบื้องต้นได้ว่าจัดอยู่ในกลุ่มแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก

ปัญหาด้านสุขภาพเป็นสิ่งที่ผู้คนให้ความตระหนักถึงมากขึ้น ส่งผลให้อุตสาหกรรมอาหารเพื่อสุขภาพมีการขยายตัวมากตามไปด้วย มายองเนสเป็นหนึ่งในกลุ่มผลิตภัณฑ์ที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบสูง ในปัจจุบันมีการผลิตมายองเนสชนิดไขมันต่ำออกมาสู่ท้องตลาดจำนวนมาก จากสัดส่วนของไขมันที่ลดลงส่งผลโดยตรงต่อลักษณะทางกายภาพของมายองเนส ได้แก่ ความหนืด กลิ่น และรสสัมผัส (Liu และคณะ, 2007) ผู้ผลิตแก้ปัญหาด้วยการเติมสารให้ความคงตัวเพื่อปรับปรุงสมบัติดังกล่าว ซึ่งการใช้สารเติมแต่งทางเคมีไม่เป็นที่ยอมรับจากผู้บริโภค ภายหลังนักวิทยาศาสตร์ได้ค้นพบว่าพอลิแซ็กคาไรด์มีสมบัติในการเป็นสารก่ออิมัลชันและผลิตได้จากกลุ่มแบคทีเรียผลิตกรดแลกติก

จากงานวิจัยของ Marshall และ Rawson (1999) ใช้พอลิแซ็กคาไรด์จากแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกในการผลิตโยเกิร์ต ในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกที่มีความสามารถในการปรับปรุงสมบัติของมายองเนสชนิดไขมันต่ำ โดยนำแบคทีเรียมาผลิตพอลิแซ็กคาไรด์แล้วนำไปใช้ในการผลิตมายองเนสชนิดไขมันต่ำ

การวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์บริเวณ 16S rDNA สามารถจำแนกแบคทีเรียในระดับสกุลได้ทั้งหมด 4 สกุล คือ *Leuconostoc, Lactobacillus, Pediococcus* และ *Acetobacter* เนื่องจากสกุล *Acetobacter* โดยผู้วิจัยเลือกแบคทีเรียไอโซเลต P01, P03, P04, P05, P06, P07 และ P08 ไปศึกษาต่อ

เมื่อนำแบคทีเรียทั้ง 7 ไอโซเลต มาผลิตพอลิแซ็กคาไรด์โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MRS ที่มีการเติมน้ำตาลซูโครส 4% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร พบว่าแบคทีเรียไอโซเลต P06 ผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้สูงสุดเท่ากับ 21.91 ± 0.98 กรัมต่อลิตร นอกจากนี้พบว่าสายพันธุ์ P06 มีประสิทธิภาพในการผลิตสูงกว่าสายพันธุ์ P07 และยังสูงกว่าประสิทธิภาพการผลิตที่มีรายงานในงานวิจัยของ Smitinont และคณะ (1999) ที่ว่า *P. pentosaceus* สายพันธุ์ AP-1 และ AP-3 ที่คัดแยกจากแหนมในเมืองไทย ผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้เท่ากับ 6.0 และ 2.5 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และงานวิจัยของ Siddiqui และคณะ (2014) รายงานว่า *L. mesenteroides* KIBGE-IB22 ผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้สูงสุดเท่ากับ 5.10 กรัมต่อลิตร ในขณะที่สายพันธุ์ P01 P03 และ P07 พบว่าสามารถผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้ในปริมาณ 6.26 ± 1.30, 3.55±0.62 และ 15.71±0.70 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนสายพันธุ์ P04, P05 และ P08 แสดงประสิทธิภาพในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ที่ต่ำกว่ามากจึงไม่เลือกสายพันธุ์ดังกล่าวในการศึกษาขั้นต่อไป โดยผู้วิจัยได้เลือกไอโซเลต P01, P03 และ P06 เนื่องจากความแตกต่างของสายพันธุ์และประสิทธิภาพการผลิตสำหรับใช้ในการทดสอบต่อไป นอกจากนี้ในงานวิจัยของ สมฤดี ชุณหโรจน์ฤทธิ์ (2551) รายงานการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์โดยใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าน้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนที่ให้ผลผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้สูงสุด ผู้วิจัยได้ทดสอบการแปรผันของความเข้มข้นซูโครส 0% - 10% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร พบว่าทั้ง 3 ไอโซเลตแสดงประสิทธิภาพในการผลิตพอลิแซ็กคาไรสูงสุดที่ความเข้มข้นซูโครส 4% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ผลที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Werning และคณะ (2006) พบว่าซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนที่ให้ผลผลิตพอลิแซ็กคาไรด์สูงสุด เนื่องจากมีเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการสร้างพอลิแซ็กคาไรด์ใช้ซูโครสเป็นสารตั้งต้น ปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ เช่น ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ ความเป็นกรดด่าง อุณหภูมิ ระยะเวลาในการบ่ม รวมไปถึงชนิดและสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ (Mende และคณะ, 2013)

ปัจจุบันมีการนำพอลิแซ็กคาไรด์มาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอย่างแพร่หลาย อาทิ สารเพิ่มความข้นหนืด สารเพิ่มรสสัมผัส สารให้ความคงตัว สารก่ออิมัลชัน สารตกตะกอนชีวภาพ สารกระตุ้นภูมิคุ้มกัน สารต้านการเกิดมะเร็ง และสารต้านทานการอักเสบ เป็นต้น (Wang และคณะ, 2008) ด้วยเหตุนี้จึงจำเป็นจะต้องตระหนักถึงสมบัติที่เหมาะสมต่อการนำไปประยุกต์ใช้อย่างเหมาะสม ผู้วิจัยได้ทดสอบสมบัติทางด้านกายภาพและทางด้านเคมีของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากแบคทีเรียจำนวน 3 ไอโซเลต (P01, P03 และ P06) สำหรับใช้เป็นข้อมูลในการคัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมที่สุดไปประยุกต์ใช้ในการผลิตมายองเนส ทางด้านกายภาพด้วยการทดสอบสมบัติการละลายในตัวทำละลาย พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลต ละลายได้ดีในน้ำกลั่น และไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ (เมทานอล อะซีโทน ไอโซโพรพานอล และ n-บิวทานอล) เพราะการละลายขึ้นอยู่กับหมู่ไฮดรอกซิลที่เป็นองค์ประกอบในโครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์ที่สร้างพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลน้ำ การที่พอลิแซ็กคาไรด์ไม่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์เป็นผลมาจากตัวทำละลายอินทรีย์ไปทำให้พอลิแซ็กคาไรด์มีหมู่ไฮดรอกซิลเพิ่มขึ้น สุดท้ายรวมตัวแล้วเกิดเป็นผลึกในตัวทำละลายอินทรีย์ (James, 1986) อีกหนึ่งทางด้านกายภาพที่ทดสอบคือสมบัติการอุ้มน้ำของพอลิแซ็กคาไรด์ พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากทั้ง 3 ไอโซเลต มีเปอร์เซ็นต์การสกัดของเหลวอยู่ในช่วง 59.25% – 80.56% พอลิแซ็กคาไรด์จากแบคทีเรียไอโซเลต P06 มีค่าเปอร์เซ็นต์การสกัดของเหลวที่ต่ำที่สุดเท่ากับ 59.25% ซึ่งค่าที่ได้ใกล้เคียงคาราจีแนน (58.32%) เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับพอลิแซ็กคาไรด์ทางการค้า พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การสกัดของเหลวสูงกว่า แต่มีความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำกว่า สมบัติการอุ้มน้ำของพอลิแซ็กคาไรด์ถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น ช่วยลดการแยกชั้นของโยเกิร์ต (Cheng และคณะ, 2017) ช่วยในการปรับปรุงความสเถียรในกระบวนการผลิตชีส (Paraskevopoulou และคณะ, 2003) ใช้เป็นสารทดแทนกลูเต็นในการผลิตขนมปังที่ไม่ใช้แป้งสาลี (Haque และคณะ, 1994) เป็นต้น

เนื่องจากมายองเนสเป็นซอสชนิดกึ่งแข็ง (semi-solid) จัดเป็นอาหารอิมัลชันชนิดหนึ่ง ดังนั้นสมบัติในการเป็นสารก่ออิมัลชันจึงเป็นสมบัติที่มีความสำคัญในการผลิตมายองเนส โดยผลการทดสอบพบว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลตสามารถก่ออิมัลชันในน้ำมันมะกอก ถั่วเหลือง และข้าวโพดได้ดีเทียบเท่ากับแซนแทนกัม ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ อรพิน บุญเกิด (2557) ที่พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากไอโซเลต L39, L42, L44, L47, L50 และ L53 มีความสามารถในการก่ออิมัลชันในน้ำมันมะกอก ถั่วเหลือง และทานตะวันได้ดีเทียบเท่ากับแซนแทนกัม นอกจากนี้ Prasanna และคณะ (2012) พบว่าการเกิดอิมัลชันระหว่างพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจาก *Bifidobacterium infantis* NCIMB702205 กับน้ำมันทานตะวัน มีค่า E_{24} เท่ากับ 78.2% ซึ่งมีค่าสูงกว่าพอลิแซ็กคาไรด์ทางการค้า ขณะที่ไอโซเลต P06 เกิดอิมัลชันในน้ำมันมะกอกสูงที่สุด

เท่ากับ 45.14% และพบว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับแซนแทนกัม

องค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลตเป็นพอลิเมอร์ชนิดฮอมอพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นหน่วยย่อยในโมเลกุล ซึ่งพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจาก *P. pentosaceus* AP-01 และ AP-03 มีน้ำตาลกลูโคสเป็นหน่วยย่อยในโมเลกุลเช่นเดียวกัน (Smitinont และคณะ, 1999) ส่วนแบคทีเรียชนิดอื่นมีองค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์แตกต่างกัน เช่น สกุล *Leuconostoc* และ *Weissella* ส่วนใหญ่เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดฮอมอแซ็กคาไรด์ประเภทกลูแคน (Korakli และ Vogel, 2006) สกุล *Lactobacillus* มีทั้งชนิดที่เป็นฮอมอพอลิแซ็กคาไรด์และเฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ (Badel และคณะ, 2011) และ *L. plantarum* EP56 ประกอบด้วย *N*-acetylgalactosamine, กลูโคส และกาแลกโทส (Tallon และคณะ, 2003) ในส่วนของปริมาณน้ำตาลและโปรตีนทั้งหมดของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลต พบว่ามีปริมาณน้ำตาลอยู่ในช่วง 57.83% ถึง 78.08% โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก และปริมาณโปรตีนอยู่ในช่วง 2.92% ถึง 9.33% โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก โดยจากรายงานของ Smitinont และคณะ (1999) พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจาก *P. pentosaceus* สายพันธุ์ AP-1 และ AP-3 มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ 90.3% และ 85.2% น้ำหนักต่อน้ำหนักตามลำดับ ขณะที่ปริมาณโปรตีนมีค่า 1.0% และ 4.0% โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักตามลำดับ

ในบางขั้นตอนของกระบวนการผลิตในอุตสาหกรรมอาหารต้องใช้ความร้อน ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้ทดสอบความสามารถในการทนความร้อนของพอลิแซ็กคาไรด์ด้วยเทคนิค TGA พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากไอโซเลต P01, P03 และ P06 มีอุณหภูมิการสลายตัวเท่ากับ 268.6, 237.2 และ 285.5 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ซึ่งอุณหภูมิการสลายตัวใกล้เคียงแบคทีเรียอื่นๆที่มีการรายงานก่อนหน้า เช่น พอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจาก *L. plantarum* MTCC 9510 มีอุณหภูมิการสลายตัวเท่ากับ 260 องศาเซลเซียส (Ismail และ Nampoothiri, 2010) พอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจาก *L. plantarum* KF5 มีอุณหภูมิการสลายตัวเท่ากับ 279.59 องศาเซลเซียส (Wang และคณะ, 2010) และพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจาก *L. kefiranofaciens* ZW3 มีอุณหภูมิการสลายตัวเท่ากับ 261.4 องศาเซลเซียส (Ahmed และคณะ, 2013) เป็นต้น การที่พอลิแซ็กคาไรด์เริ่มสลายตั้งแต่ในช่วงอุณหภูมิที่ไม่สูงเนื่องจากหมู่คาร์บอกซิลในโครงสร้าง โดยพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีหมู่คาร์บอกซิลในโครงสร้างสูงมักจะมีความชื้นในโครงสร้างสูงเช่นกัน เนื่องจากหมู่คาร์บอกซิลจะไปจับกับโมเลกุลของน้ำจึงส่งผลต่อความชื้นที่เพิ่มขึ้น (Parikh และ Madamwar, 2006) นอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกับขนาดของมอนอเมอร์ที่เป็นองค์ประกอบภายในโครงสร้างส่งผลให้พอลิเมอร์มีมวลโมเลกุลที่แตกต่างกันจึงส่งผลต่อความสามารถในการสลายตัวที่อุณหภูมิที่แตกต่างกัน ซึ่งข้อสรุปนี้สอดคล้องกับที่มีการ

รายงานก่อนหน้าเกี่ยวกับกระบวนการสลายตัวพอลิแซ็กคาไรด์ทางความร้อน เกิดขึ้น 4 ขั้นตอน คือ 1) การทำลายการดูดซับของน้ำกับพอลิแซ็กคาไรด์ 2) การกำจัดโมเลกุลของน้ำ 3) การสลายตัวของพอลิเมอร์ โดยการแตกพันธะ C–O และ C–C ในวงแหวนน้ำตาล ทำให้เกิด CO, CO_2 และ H_2O 4) การเกิดโครงสร้างของ polynuclear aromatic และ graphitic carbon ซึ่งเป็นผลผลิตจากกระบวนการเผาไหม้ (Fried, 2000, Zamora และคณะ, 2002)

ความหนืดเป็นอีกหนึ่งสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์ที่เหมาะสมต่อการนำไปปรับปรุงคุณภาพของมายองเนสชนิดไขมันต่ำ ดังนั้นจึงจำเป็นอย่างมากที่จะทดสอบ โดยผลการทดสอบแสดงให้เห็นว่าพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลตมีสมบัติของไหลแบบนอนนิวโตเนียน ประเภทซูโดพลาสติกเช่นเดียวกับแซนแทนกัม ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ทางการค้าที่ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารอย่างแพร่หลาย สอดคล้องกับรายงานของ Rao และ Goyal (2013) พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์จาก *W. cicaria* JAG8 มีสมบัติของไหลแบบนอนนิวโตเนียน ประเภทซูโดพลาสติกเช่นกัน ซึ่งสมบัติดังกล่าวนี้สามารถนำไปประยุกต์ในการเป็นสารก่อเจล สารให้ความคงตัว และสารเพิ่มความข้นหนืดในอุตสาหกรรมอาหารได้ (Paul และคณะ, 1986, Feddersen และคณะ, 1993) อย่างไรก็ตามพบว่าพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากไอโซเลต P06 มีค่าความหนืดสูงที่สุด

จากสมบัติทางกายภาพและเคมีทั้งหมดที่ได้ทดสอบสามารถระบุได้ว่าพอลิแซ็กคาไรด์จากแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลตมีน้ำตาลกลูโคสเป็นหน่วยย่อยในโครงสร้าง มีความสามารถในการอุ้มน้ำได้ปานกลาง ละลายน้ำได้ดีแต่ไม่สามารถละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์อื่นๆ มีความสามารถในการเป็นอิมัลซิไฟเออร์ได้ดีเทียบเท่ากับแซนแทนกัมในน้ำมันมะกอก มีประจุเป็นกลาง และสามารถทนความร้อนได้สูง อย่างไรก็ตามพบว่าพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากไอโซเลต P01 และ P03 แสดงความหนืดที่ต่ำ แต่พอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากไอโซเลต P06 แสดงค่าความหนืดที่สูงที่สุดแต่ยังน้อยกว่าแซนแทนกัม นอกจากนี้พบว่าพอลิแซ็กคาไรด์ทั้ง 3 ไอโซเลตแสดงลักษณะพฤติกรรมการไหลแบบนอนนิวโตเนียนชนิดซูโดพลาสติก เช่นเดียวกับแซนแทนกัม ด้วยสมบัติที่ศึกษาทั้งหมดนี้ผู้วิจัยเลือกใช้พอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตจากไอโซเลต P06 เพื่อประยุกต์ใช้ในการผลิตมายองเนสต่อไป

ในงานวิจัยนี้สนใจที่จะนำพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้มาประยุกต์ใช้ในมายองเนสชนิดไขมันต่ำ เนื่องจากมายองเนสเป็นซอสที่ได้รับความนิยมและแพร่หลาย สามารถทำได้ง่าย องค์ประกอบไม่ซับซ้อนและขั้นตอนการติดตามผลภายหลังการจัดเก็บผลิตภัณฑ์เป็นไปได้ไม่ยาก โดยนำพอลิแซ็กคาไรด์ไปผลิตมายองเนสที่ใช้น้ำมันมะกอกเป็นองค์ประกอบ เนื่องจากผลของความเป็นอิมัลซิไฟเออร์ในการทดลองก่อนหน้าแสดงสมบัติที่ดีที่สุดในน้ำมันมะกอก

ผลการวิเคราะห์หลังจากการผลิตมายองเนสและจัดเก็บเป็นระยะเวลา 1 เดือนพบว่าขนาดอนุภาคของอิมัลชันมีขนาดเล็กลงในวันที่ 7 ของมายองเนสทุกชนิด และพบว่าในบางชนิดของมายองเนสจะมีขนาดอนุภาคใหญ่ขึ้นในวันที่ 15 อย่างไรก็ตามมายองเนสชนิดที่มีการเติมพอลิแซ็กคาไรด์เป็นองค์ประกอบแสดงถึงขนาดอนุภาคของอิมัลชันที่เล็กกว่าและสามารถเทียบเคียงมายองเนสทางการค้าและมายองเนสสูตรปกติได้ โดยรายงานของ Horozov และคณะ (2007) ระบุว่าขนาดอิมัลชันที่เล็กแสดงถึงความคงตัวหรือความเสถียรของอิมัลชันที่ดี

นอกจากการติดตามขนาดอนุภาคของอิมัลชันแล้วค่าความเป็นกรดด่างก็เป็นปัจจัยหนึ่งที่มีผลโดยตรงต่อรสชาติและกลิ่นของมายองเนสทั้งนี้ตามมาตรฐานของ มอก. ได้ระบุว่ามายองเนสควรมีค่าความเป็นกรดด่างไม่เกิน 4.1 (สำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม, 2540) โดยผลการทดสอบพบว่ามายองเนสทุกชนิดมีค่าความเป็นกรดด่างต่ำกว่า 4.1 และนอกจากนี้เมื่อเก็บมายองเนสไว้เป็นเวลา 30 วันพบว่าจะมีผลทำให้ค่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้น ในรายงานของ Laca และคณะ (2010) ได้แสดงค่าความเป็นกรดด่างของมายองเนส อยู่ในช่วง 3.6 ถึง 4.0 จากรายงานของ Worrasinchai และคณะ (2006) ได้ระบุถึงการลดลงของค่าความเป็นกรดด่างในการผลิตมายองเนสทุกชนิดภายหลังการจัดเก็บ 64 วัน นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้บีต้า-กลูแคน ซึ่งเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดหนึ่งที่ผลิตจากยีสต์ โดยการนำไปใช้ประยุกต์ในการผลิตชีส พบว่าให้ค่าความเป็นกรดด่างลดลงเช่นกัน (Volikakis และคณะ, 2004)

จากวัตถุประสงค์หลักของงานวิจัยเพื่อที่จะผลิตมายองเนสไขมันต่ำดังนั้นการวิเคราะห์ค่าพลังงานความร้อนจึงเป็นสิ่งสำคัญ จากการทดสอบพบว่ามายองเนสชนิดที่ลดไข่แดงและไขมันลงโดยมีการเติมพอลิแซ็กคาไรด์ 3% น้ำหนักต่อน้ำหนักจะให้ค่าพลังงานที่ต่ำที่สุดคือ 6.11 กิโลแคลอรีต่อกรัมอย่างไรก็ตามพบว่ายังให้ค่าพลังงานที่สูงกว่ามายองเนสชนิดไขมันต่ำทางการค้าอยู่เล็กน้อย

การจัดเก็บผลิตภัณฑ์เพื่อการบริโภคในระยะยาวนั้นลักษณะของผลิตภัณฑ์เมื่อผ่านการจัดเก็บก็เป็นสิ่งที่ควรตระหนักถึง ด้วยเหตุนี้จึงได้ทดสอบค่าของสีที่เปลี่ยนแปลงไปของมายองเนสในช่วงเวลา 7 วัน ผลการวิเคราะห์พบว่าค่าสีทั้งหมดที่เปลี่ยนแปลงไปอยู่ในช่วง 0.35 ถึง 7.02 โดยมายองเนสชนิดที่มีการเปลี่ยนค่าสีทั้งหมดมากที่สุดคือ มายองเนสชนิดที่มีการลดไข่แดงโดยไม่มีการเติมพอลิแซ็กคาไรด์ นอกจากนี้ปริมาณน้ำอิสระและความคงตัวของอิมัลชันก็เป็นปัจจัยที่มีผลต่อระยะเวลาการจัดเก็บผลิตภัณฑ์เช่นกัน โดยผลการทดสอบพบว่ามายองเนสทุกชนิดจัดอยู่ในอาหารกลุ่มที่มีปริมาณน้ำอิสระสูงมาก แต่อย่างไรก็ตามพบว่าเมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้นของพอลิแซ็กคาไรด์จะมีผลโดยตรงต่อปริมาณน้ำอิสระที่ลดน้อยลง ในส่วนของความคงตัวของอิมัลชันนั้นพบว่ามายองเนสที่ไม่มีการเติมพอลิแซ็กคาไรด์จะมีความคงตัวที่ต่ำกว่ามายองเนสที่เติมพอลิแซ็กคาไรด์ นอกไปจากนี้ในกลุ่มของมายองเนสที่เติมพอลิแซ็กคาไรด์ยังพบว่ามายองเนสที่มีความเข้มข้นของ

พอลิแซ็กคาไรด์ที่สูงกว่าจะมีความคงตัวที่มากกว่าเช่นกัน โดยเป็นสาเหตุมาจากโครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีโครงสร้างแบบเส้นตรงซึ่งจะเป็นส่วนที่มีขั้ว และส่วนที่เป็นกิ่งจะเป็นบริเวณที่ไม่มีขั้ว ด้วยเหตุนี้จึงทำให้สามารถจับกับอนุภาคน้ำมันภายในอิมัลชันได้ (Dickinson, 2003) นอกจากนี้ยังมีรายงานอีกหลายฉบับที่กล่าวถึงการสร้างโครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์แบบร่างแห ซึ่งโครงสร้างแบบร่างแหนี้จะมีผลต่อความสเถียรและการกักเก็บน้ำไว้ในโมเลกุลของร่างแห (Amatayakul และคณะ, 2006, Abbasi และคณะ, 2009, Prasanna และคณะ, 2013) อีกหนึ่งปัจจัยที่อุตสาหกรรมต้องตระหนักถึงคือการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ โดยในงานวิจัยนี้ได้วิเคราะห์การเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา โคลิฟอร์ม และแล็กโทบาซิลลัสในมายองเนส โดยผลการวิเคราะห์ปรากฏว่าไม่มีการเจริญของจุลินทรีย์ หรือยีสต์และราในมายองเนสทุกชนิด ทั้งก่อนและภายหลังการจัดเก็บเป็นระยะเวลา 30 วัน ทั้งนี้เนื่องจากค่าความเป็นกรดที่ต่ำมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

จากการนำแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกที่มีความสามารถในการสร้างพอลิแซ็กคาไรด์ไปใช้ในการผลิตมายองเนส ซึ่งผู้วิจัยได้ทดสอบเบื้องต้นในด้านของค่าความเป็นกรดด่าง และเนื่องจากแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกที่ใช้ในการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่มีความปลอดภัยและได้คัดแยกจากแหล่งธรรมชาติ ดังนั้นจึงไม่น่าที่จะส่งผลต่อมายองเนส ด้วยเหตุผลทั้งหมดนี้จึงสรุปได้ว่าพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้จากแบคทีเรียไอโซเลต P06 นี้มีความเป็นไปได้จริงที่จะนำไปผลิตมายองเนสและมีความปลอดภัยต่อการนำไปบริโภค

ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาสมบัติทางเคมีของพอลิแซ็กคาไรด์เพิ่มเติม เช่น การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชั่นของพอลิแซ็กคาไรด์ ลักษณะการเชื่อมของพันธะระหว่างโมเลกุลในโครงสร้างของพอลิแซ็กคาไรด์ และขนาดโมเลกุลของพอลิแซ็กคาไรด์

2. ควรศึกษาสมบัติทางกายภาพเพิ่มเติม เช่น สมบัติการยับยั้งแบคทีเรีย สมบัติการก่อฟิล์ม เพื่อสามารถใช้เป็นแนวทางในการนำไปประยุกต์ใช้เพิ่มเติม

3. ควรศึกษาสมบัติของมายองเนสเพิ่มเติม เช่น สมบัติทางประสาทสัมผัส เพื่อที่จะได้ปรับปรุงมายองเนสให้เหมาะสม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รายการอ้างอิง

Abbasi H, Mousavi ME, Ehsani MR, Vaziri M, Rahimi J & Aziznia S (2009) Influence of starter culture type and incubation temperatures on rheology and microstructure of low fat set yoghurt. *International Journal of dairy technology* 62: 549-555.

Ahmad M, Benjakul S, Prodpran T & Agustini TW (2012) Physico-mechanical and antimicrobial properties of gelatin film from the skin of unicorn leather jacket incorporated with essential oils. *Food Hydrocolloids* 28: 189-199.

Ahmed Z, Wang Y, Anjum N, Ahmad A & Khan ST (2013) Characterization of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefiranofaciens* ZW3 isolated from Tibet kefir–Part II. *Food Hydrocolloids* 30: 343-350.

Amatayakul T, Sherkat F & Shah N (2006) Physical characteristics of set yoghurt made with altered casein to whey protein ratios and EPS-producing starter cultures at 9 and 14% total solids. *Food Hydrocolloids* 20: 314-324.

Amatayakul T, Sherkat F & Shah NP (2006) Syneresis in set yogurt as affected by EPS starter cultures and levels of solids. *International Journal of Dairy Technology* 59: 216-221.

AOAC (1990)Official method of analysis :Association of Official Analytical Chemists. [ออนไลน์]:https://law.resource.org/pub/us/cfr/ibr/002/aoac.methods.1.1990.pdf [11 มีนาคม 2560]

Arvidson SA, Rinehart BT & Gadala-Maria F (2006) Concentration regimes of solutions of levan polysaccharide from *Bacillus* sp. *Carbohydrate Polymers* 65: 144-149.

Ashtaputre A & Shah A (1995) Emulsifying property of a viscous exopolysaccharide from *Sphingomonas paucimobilis*. *World journal of Microbiology and Biotechnology* 11: 219-222.

Axelsson L (2004) Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. Lactic Acid Bacteria Marcel Dekker. New York:Marcel dekker inc publisher.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Axelsson L & Ahrné S (2000) Lactic acid bacteria:Applied microbial systematics:Applied microbial systematics. Netherlands:Springer.

Badel S, Bernardi T & Michaud P (2011) New perspectives for Lactobacilli exopolysaccharides. *Biotechnology Advances* 29: 54-66.

BAM (2002)Enumeration of Escherichia coli and the Coliform Bacteria. [ออนไลน์]: https://www.fda.gov/Food/FoodScienceResearch/LaboratoryMethods/ucm064948.htm [11 มีนาคม 2560]

Bixler HJ & Porse H (2010) A decade of change in the seaweed hydrocolloids industry. *Journal of Applied Phycology* 23: 321-335.

Björkroth KJ, Schillinger U, Geisen R, Weiss N, Hoste B, Holzapfel WH, Korkeala HJ & Vandamme P (2002) Taxonomic study of Weissella confusa and description of Weissella cibaria sp. nov., detected in food and clinical samples. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 52: 141-148.

Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.

Cerning J (1990) Exocellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews* 7: 113-130.

Cerning J (1995) Production of exopolysaccharides by lactic acid bacteria and dairy propionibacteria. *Dairy Science and Technology* 75: 463-472.

Cheng J, Xie S, Yin Y, Feng X, Wang S, Guo M & Ni C (2017) Physiochemical, texture properties, and the microstructure of set yogurt using whey protein-sodium tripolyphosphate aggregates as thickening agents. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 1-7.

Chidambaram N & Burgess DJ (2005) Emulsions: design and manufacturing. *Drud and the Pharmaceutical Science* 149: 213.

Collier JH, Camp JP, Hudson TW & Schmidt CE (2000) Synthesis and characterization of polypyrrole–hyaluronic acid composite biomaterials for tissue engineering applications. *Journal of Biomedical Materials Research* 50: 574-584.

Collins EA, Bares J & Billmeyer FW (1973) Experiments in polymer science. New York:John Wiley.

Collins M, Williams A & Wallbanks S (1990) The phylogeny of *Aerococcus* and *Pediococcus* as determined by 16S rRNA sequence analysis: description of *Tetragenococcus* gen. *FEMS Microbiology Letters* 70: 255-262.

Coussement P (1997) Multi-functional inulin. *Food Ingredients and Analysis International* 1: 8-10.

Cui SW (2005) Food carbohydrates: chemistry, physical properties, and applications. Florida:CRC Press.

Danese PN, Pratt LA & Kolter R (2000) Exopolysaccharide production is required for development of *Escherichia coli* K-12 biofilm architecture. *Journal of Bacteriology* 182: 3593-3596.

De Leenheer L & Hoebregs H (1994) Progress in the elucidation of the composition of chicory inulin. Germany:Willey.

De Vuyst L & Degeest B (1999) Heteropolysaccharides from lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews* 23: 153-177.

De Vuyst L & Leroy F (2007) Bacteriocins from lactic acid bacteria: production, purification, and food applications. *Journal of Molecular Microbiology and Biotechnology* 13: 194-199.

Dickinson E (2003) Hydrocolloids at interfaces and the influence on the properties of dispersed systems. *Food Hydrocolloids* 17: 25-39.

DuBois M, Gilles KA, Hamilton JK, Rebers P & Smith F (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28: 350-356.

Erkkilä S & Petäjä E (2000) Screening of commercial meat starter cultures at low pH and in the presence of bile salts for potential probiotic use. *Meat Science* 55: 297-300.

Farid MM (2010) Mathematical modeling of food processing. Florida:CRC Press.

Farnworth E, Champagne C & Van Calsteren M (2006) Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: food uses, production, chemical structures and health benefits. Handbook of Nutraceuticals and Functional Foods 353-371. Florida:CRC Press.

Feddersen R, Thorp S, Whistler R & BeMiller J (1993) Polysaccharides and their derivatives. San Diego:Academic Press.

Franck A (2002) Technological functionality of inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition* 87: 287-291.

Freitas F, Alves VD & Reis MA (2011) Advances in bacterial exopolysaccharides: from production to biotechnological applications. *Trends in Biotechnology* 29: 388-398.

Friberg S, Larsson K & Sjoblom J (2003) Food emulsions. Florida:CRC Press.

Fried J (2000) The solid state properties of polymers. New Jersey:Trentice Hall.

Funami T (2009) Functions of food polysaccharides to control the gelatinization and retrogradation behaviors of starch in an aqueous system in relation to the macromolecular characteristics of food polysaccharides. *Food Science and Technology Research* 15: 557-568.

Galle S & Arendt EK (2014) Exopolysaccharides from sourdough lactic acid bacteria. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 54: 891-901.

Galle S, Schwab C, Dal Bello F, Coffey A, Gänzle MG & Arendt EK (2012) Influence of in-situ synthesized exopolysaccharides on the quality of gluten-free sorghum sourdough bread. *International Journal of Food Microbiology* 155: 105-112.

Galwey A & Craig D (2007) Thermogravimetric analysis: Basic principles. New York:CRC.

Garcıa-Ochoa F, Santos V, Casas J & Gomez E (2000) Xanthan gum: production, recovery, and properties. *Biotechnology Advances* 18: 549-579.

Garti N (1997) Progress in stabilization and transport phenomena of double emulsions in food applications. *LWT-Food Science and Technology* 30: 222-235.

Garti N (2000) Food Emulsifiers and Stabilizers. Florida:CRC Press.

Garti N & Bisperink C (1998) Double emulsions: progress and applications. *Current Opinion in Colloid and Interface Science* 3: 657-667.

Garti N & Benichou A (2004) Recent developments in double emulsions for food applications. Israel:The Hebrew University of Jerrusalem.

Ghoush MA, Samhouri M, Al-Holy M & Herald T (2008) Formulation and fuzzy modeling of emulsion stability and viscosity of a gum–protein emulsifier in a model mayonnaise system. *Journal of Food Engineering* 84: 348-357.

Gilman WS (2000) Thermal analysis for coatings characterizations. Florida:CRC Press.

Gomes AM & Malcata FX (1999) *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends in Food Science and Technology* 10: 139-157.

Grasdalen H & Smidsrød O (1987) Gelation of gellan gum. *Carbohydrate Polymers* 7: 371-393.

Grassi G, Crevatin A, Farra R, Guarnieri G, Pascotto A, Rehimers B, Lapasin R & Grassi M (2006) Rheological properties of aqueous Pluronic–alginate systems containing liposomes. *Journal of Colloid and Interface Science* 301: 282-290.

Guler-Akin MB, Serdar Akin, M,Korkmaz, Aziz (2009) Influence of different exopolysaccharide-producing strains on the physicochemical, sensory and syneresis characteristics of reduced-fat stirred yoghurt. *International Journal of Dairy Technology* 62: 422-430.

Hammes WP & Hertel C (2006) The Genera Lactobacillus and Carnobacterium. New York:Springer.

Haque A, Morris ER & Richardson RK (1994) Polysaccharide substitutes for gluten in non-wheat bread. *Carbohydrate Polymers* 25: 337-344.

Harrison L & Cunningham F (1985) Factors influencing the quality of mayonnaise: a review. *Journal of Food Quality* 8: 1-20.

Hermand R (1993) Biopolymers-Making Materials Natures' Way. New York:John Wiley.

Holt J, Krieg N, Sneath P & Staley J (1994) Bergey's manual of determinative bacteriology Williams and Wilkins. Baltimore:MD Publishing.

Holzapfel W & Wood B (1995) Lactic acid bacteria in contemporary perspective. Switzerland:Springer.

Honegger R & Bartnicki-Garcia S (1991) Cell wall structure and composition of cultured mycobionts from the lichens *Cladonia macrophylla, Cladonia caespiticia*, and *Physcia stellaris* (Lecanorales, Ascomycetes). *Mycological Research* 95: 905-914.

Horozov TS, Binks BP & Gottschalk-Gaudig T (2007) Effect of electrolyte in silicone oil-in-water emulsions stabilised by fumed silica particles. *Physical Chemistry Chemical Physics* 9: 6398-6404.

Hwang C & Tamplin ML (2005) The influence of mayonnaise pH and storage temperature on the growth of *Listeria monocytogenes* in seafood salad. *International Journal of Food Microbiology* 102: 277-285.

Ismail B & Nampoothiri KM (2010) Production, purification and structural characterization of an exopolysaccharide produced by a probiotic *Lactobacillus plantarum* MTCC 9510. *Archives of Microbiology* 192: 1049-1057.

Izydorczyk M, Cui SW & Wang Q (2005) Polysaccharide gums: structures, functional properties, and applications. *Food Carbohydrates: Chemistry, physical properties, and applications* 293-299.

James KC (1986) Solubility and related properties. USA:Informa Health Care.

Jansson P-E, Lindberg B & Sandford PA (1983) Structural studies of gellan gum, an extracellular polysaccharide elaborated by *Pseudomonas elodea*. *Carbohydrate Research* 124: 135-139.

Kambourova M, Mandeva R, Dimova D, Poli A, Nicolaus B & Tommonaro G (2009) Production and characterization of a microbial glucan, synthesized by *Geobacillus tepidamans* V264 isolated from Bulgarian hot spring. *Carbohydrate Polymers* 77: 338-343.

Kandler O & Weis N (1986) Regular Nonsporing Gram-Positive Rods. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. New York:Springer.

Kanlayavattanakul M & Lourith N (2015) Biopolysaccharides for Skin Hydrating Cosmetics. *Polysaccharides: Bioactivity and Biotechnology* 1: 1867-1892.

Kaplan H & Hutkins RW (2000) Fermentation of fructooligosaccharides by lactic acid bacteria and bifidobacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 66: 2682-2684.

Katzbauer B (1998) Properties and applications of xanthan gum. *Polymer Degradation and Stability* 59: 81-84.

Keith J, Wiley B, Ball D, Arcidiacono S, Zorfass D, Mayer J & Kaplan D (1991) Continuous culture system for production of biopolymer levan using *Erwinia herbicola*. *Biotechnology and Bioengineering* 38: 557-560.

Khalid K (2011) An overview of lactic acid bacteria. *International Journal of Biosciences* 1: 1-13.

Kiosseoglou V & Sherman P (1983) Influence of egg yolk lipoproteins on the rheology and stability of o/w emulsions and mayonnaise 1. viscoelasticity of groundnut oil-in-water emulsions and mayonnaise. *Journal of Texture Studies* 14: 397-417.

Kitazawa H, Harata T, Uemura J, Saito T, Kaneko T & Itoh T (1998) Phosphate group requirement for mitogenic activation of lymphocytes by an extracellular phosphopolysaccharide from *Lactobacillus delbrueckii* ssp. bulgaricus. *International Journal of Food Microbiology* 40: 169-175.

Kogan G, Soltes L, Stern R & Gemeiner P (2007) Hyaluronic acid: a natural biopolymer with a broad range of biomedical and industrial applications. *Biotechnology Letters* 29: 17-25.

Korakli M & Vogel RF (2006) Structure/function relationship of homopolysaccharide producing glycansucrases and therapeutic potential of their synthesised glycans. *Applied Microbiology and Biotechnology* 71: 790-803.

Kumar CG, Joo H-S, Choi J-W, Koo Y-M & Chang C-S (2004) Purification and characterization of an extracellular polysaccharide from haloalkalophilic Bacillus sp. I-450. *Enzyme and Microbial Technology* 34: 673-681.

Laca A, Sáenz M, Paredes B & Díaz M (2010) Rheological properties, stability and sensory evaluation of low-cholesterol mayonnaises prepared using egg yolk granules as emulsifying agent. *Journal of Food Engineering* 97: 243-252.

Laws AP & Marshall VM (2001) The relevance of exopolysaccharides to the rheological properties in milk fermented with ropy strains of lactic acid bacteria. *International Dairy Journal* 11: 709-721.

Lewus CB, Kaiser A & Montville TJ (1991) Inhibition of food-borne bacterial pathogens by bacteriocins from lactic acid bacteria isolated from meat. *Applied and Environmental Microbiology* 57: 1683-1688.

Li-Chan EC & Kim H (2008) Structure and chemical composition of eggs. Vancouver:Faculty of Land and Food system, The University of British Columbia.

Linsay S (1987) High performance liquid chromatography, analytical chemistry by open learning. New York:John Willey.

Lisdiyanti P, Kawasaki H, Seki T, Yamada Y, Uchimura T & Komagata K (2001) Identification of Acetobacter strains isolated from Indonesian sources, and proposals of *Acetobacter syzygii* sp. nov., *Acetobacter cibinongensis* sp. nov., and *Acetobacter orientalis* sp. nov. *The Journal of General and Applied Microbiology* 47: 119-131.

Liu H, Xu XM & Guo SD (2007) Rheological, texture and sensory properties of low-fat mayonnaise with different fat mimetics. *LWT - Food Science and Technology* 40: 946-954.

Lopez-Munguia A, Pelenc V, Remaud M, Biton J, Michel J, Lang C, Paul F & Monsan P (1993) Production and purification of alternansucrase, a glucosyltransferase from *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-1355, for the synthesis of oligoalternans. *Enzyme and Microbial Technology* 15: 77-85.

Maalej H, Hmidet N, Boisset C, Bayma E, Heyraud A & Nasri M (2016) Rheological and emulsifying properties of a gel-like exopolysaccharide produced by *Pseudomonas stutzeri* AS22. *Food Hydrocolloids* 52: 634-647.

Maeda H, Zhu X, Omura K, Suzuki S & Kitamura S (2004) Effects of an exopolysaccharide (kefiran) on lipids, blood pressure, blood glucose, and constipation. *Biofactors* 22: 197-200.

Manandhar S, Vidhate S & D'Souza N (2009) Water soluble levan polysaccharide biopolymer electrospun fibers. *Carbohydrate Polymers* 78: 794-798.

Margaritis A & Zajic JE (1978) Mixing, mass transfer, and scale-up of polysaccharide fermentations. *Biotechnology and Bioengineering* 20: 939-1001.

Marinescu G, Stoicescu A & Patrascu L (2011) The preparation of mayonnaise containing spent brewer's yeast β-glucan as a fat replacer. *Romanian Biotechnological Letters* 16: 6017-6025.

Marshall VM & Rawson H (1999) Effects of exopolysaccharide-producing strains of thermophilic lactic acid bacteria on the texture of stirred yoghurt. *International Journal of Food Science and Technology* 34: 137-143.

Martín R, Heilig G, Zoetendal E, Smidt H & Rodríguez J (2007) Diversity of the Lactobacillus group in breast milk and vagina of healthy women and potential role in the colonization of the infant gut. *Journal of Applied Microbiology* 103: 2638-2644.

Mathur S & Singh R (2005) Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria--a review. *International Journal of Food Microbiology* 105: 281-295.

McClements DJ (2005) Theoretical analysis of factors affecting the formation and stability of multilayered colloidal dispersions. *Langmuir* 21: 9777-9785.

McClements DJ (2015) Food emulsions: principles, practices, and techniques. Florida:CRC press.

McClements DJ & Demetriades K (1998) An integrated approach to the development of reduced-fat food emulsions. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 38: 511-536.

Mende S, Rohm H & Jaros D (2016) Influence of exopolysaccharides on the structure, texture, stability and sensory properties of yoghurt and related products. *International Dairy Journal* 52: 57-71.

Mende S, Peter M, Bartels K, Rohm H & Jaros D (2013) Addition of purified exopolysaccharide isolates from *S. thermophilus* to milk and their impact on the rheology of acid gels. *Food Hydrocolloids* 32: 178-185.

Monsan P, Bozonnet S, Albenne C, Joucla G, Willemot R & Remaud-Siméon M (2001) Homopolysaccharides from lactic acid bacteria. *International Dairy Journal* 11: 675-685.

Mooser G (1992) 5 Glycosidases and Glycosyltransferases. *The Enzymes* 20: 187-233.

Murray BE (1990) The life and times of the *Enterococcus*. *Clinical Microbiology Reviews* 3: 46-65.

Naessens M, Cerdobbel A, Soetaert W & Vandamme EJ (2005) *Leuconostoc dextransucrase* and dextran: production, properties and applications. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* 80: 845-860.

Nikolic M, López P, Strahinic I, Suárez A, Kojic M, Fernández-García M, Topisirovic L, Golic N & Ruas-Madiedo P (2012) Characterisation of the exopolysaccharide (EPS)-producing *Lactobacillus paraplantarum* BGCG1 1 and its non-EPS producing derivative strains as potential probiotics. *International Journal of Food Microbiology* 158: 155-162.

Niness KR (1999) Inulin and oligofructose: what are they? *The Journal of Nutrition* 129: 1402-1406.

Ogunbanwo S & Okanlawon B (2009) Influence of nutrients utilization and cultivation conditions on the production of lactic acid by homolactic fermenters. *Biotechnology* 8: 107-113.

Paraskevopoulou A, Athanasiadis I, Blekas G, Koutinas A, Kanellaki M & Kiosseoglou V (2003) Influence of polysaccharide addition on stability of a cheese whey kefir-milk mixture. *Food Hydrocolloids* 17: 615-620.

Parikh A & Madamwar D (2006) Partial characterization of extracellular polysaccharides from cyanobacteria. *Bioresource Technology* 97: 1822-1827.

Paul F, Morin A & Monsan P (1986) Microbial polysaccharides with actual potential industrial applications. *Biotechnology Advances* 4: 245-259.

Pereira DI & Gibson GR (2002) Cholesterol assimilation by lactic acid bacteria and bifidobacteria isolated from the human gut. *Applied and Environmental Microbiology* 68: 4689-4693.

Prasanna P, Grandison A & Charalampopoulos D (2013) Microbiological, chemical and rheological properties of low fat set yoghurt produced with exopolysaccharide (EPS) producing *Bifidobacterium* strains. *Food Research International* 51: 15-22.

Prasanna P, Bell A, Grandison AS & Charalampopoulos D (2012) Emulsifying, rheological and physicochemical properties of exopolysaccharide produced by *Bifidobacterium longum* subsp. infantis CCUG 52486 and *Bifidobacterium infantis* NCIMB 702205. *Carbohydrate Polymers* 90: 533-540.

Rao TJM & Goyal A (2013) A novel high dextran yielding *Weissella cibaria* JAG8 for cereal food application. *International Journal of Food Sciences and Nutrition* 64: 346-354.

Rhee SK, Song KB, Kim CH, Park BS, Jang EK & Jang KH (2005) Levan. New York:Willey.

Roberfroid MB (2007) Inulin-type fructans: functional food ingredients. *The Journal of Nutrition* 137: 2493-2502.

Rodríguez-Hernández AI, Durand S, Garnier C, Tecante A & Doublier JL (2003) Rheology-structure properties of gellan systems: evidence of network formation at low gellan concentrations. *Food Hydrocolloids* 17: 621-628.

Rowley JA, Madlambayan G & Mooney DJ (1999) Alginate hydrogels as synthetic extracellular matrix materials. *Biomaterials* 20: 45-53.

Ruas-Madiedo P & De Los Reyes-Gavilán C (2005) Invited review: methods for the screening, isolation, and characterization of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *Journal of Dairy Science* 88: 843-856.

Ruas-Madiedo P, Hugenholtz J & Zoon P (2002) An overview of the functionality of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria. *International Dairy Journal* 12: 163-171.

Sá-Correia I, Fialho A, Videira P, Moreira L, Marques A & Albano H (2002) Gellan gum biosynthesis in *Sphingomonas paucimobilis* ATCC 31461: genes, enzymes and exopolysaccharide production engineering. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology* 29: 170-176.

Salazar N, Ruas-Madiedo P, Prieto A, Calle LP & de los Reyes-Gavilán CG (2012) Characterization of exopolysaccharides produced by *Bifidobacterium longum* NB667 and its cholate-resistant derivative strain *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 60: 1028-1035.

Sandford PA, Cottrell IW & Pettitt DJ (1984) Microbial polysaccharides: new products and their commercial applications. *Pure and Applied Chemistry* 56: 879-892.

Schramm LL & Stasiuk EN (2005) Emulsions. Florida:CRC Press.

Shirsath SPPaLP (2015) Production of exopolysaccharide by an osmotolerant, thermostable and metal resistant *Bacillus subtilis*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 4: 965-971.

Siddiqui NN, Aman A, Silipo A, Qader SAU & Molinaro A (2014) Structural analysis and characterization of dextran produced by wild and mutant strains of *Leuconostoc mesenteroides*. *Carbohydrate Polymers* 99: 331-338.

Sidebotham RL (1974) Dextrans. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry* 30: 371-444.

Skoog DA, Holler FJ & Crouch SR (2007) Principles of instrumental analysis. California:Thomson Brooks Cole.

Smitinont T, Tansakul C, Tanasupawat S, Keeratipibul S, Navarini L, Bosco M & Cescutti P (1999) Exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria strains from traditional Thai fermented foods: isolation, identification and exopolysaccharide characterization. *International Journal of Food Microbiology* 51: 105-111.

Su HP, Lien CP, Lee TA & Ho JH (2010) Development of low-fat mayonnaise containing polysaccharide gums as functional ingredients. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 90: 806-812.

Sutherland I (1990) Food usage of polysaccharides. United Kingdom:University of Edinburgh.

Sutherland IW (2006) Biotechnology of microbial polysaccharides in food. Functional Foods and Biotechnology Florida:CRC Press.

Sworn G, Sanderson G & Gibson W (1995) Gellan gum fluid gels. *Food Hydrocolloids* 9: 265-271.

Tako M, Nakamura S & Nagahama T (1982) Studies on the application of polysaccharide produced by coryneform bacteria strain C-8. *Science Bulletin* 29: 79-85.

Tallon R, Bressollier P & Urdaci MC (2003) Isolation and characterization of two exopolysaccharides produced by *Lactobacillus plantarum* EP56. *Research in Microbiology* 154: 705-712.

Tanasupawat Somboon DW (1983) Pediococcus species and related bacteria found in fermented foods and related materials in Thailand. *The Journal of General and Applied Microbiology* 29: 487-506.

Tracton AA (2006) Coatings technology: fundamentals, testing, and processing techniques. Florida:CRC Press.

Tsuda H, Hara K & Miyamoto T (2008) Binding of mutagens to exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* mutant strain 301102S. *Journal of Dairy Science* 91: 2960-2966.

Ueda S, Momii F, Osajima K & Ito K (1981) Extracellular polysaccharide produced by strain No. 626 of *Aeromonas hydrophila*. *Agricultural and Biological Chemistry* 45: 1977-1981.

Van Den Berg DJC, Ledeboer AM, Robijn GW & Vreeker R (1998) Lactobacillus sake like strains, production and use of their exopolysaccharides. Washington:Patent and Trademark Office.

van Hijum SA, Kralj S, Ozimek LK, Dijkhuizen L & van Geel-Schutten IG (2006) Structure-function relationships of glucansucrase and fructansucrase enzymes from lactic acid bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 70: 157-176.

Volikakis P, Biliaderis CG, Vamvakas C & Zerfiridis GK (2004) Effects of a commercial oat-β-glucan concentrate on the chemical, physico-chemical and sensory attributes of a low-fat white-brined cheese product. *Food Research International* 37: 83-94.

Wang Y, Ahmed Z, Feng W, Li C & Song S (2008) Physicochemical properties of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus kefiranofaciens* ZW3 isolated from Tibet kefir. *International Journal of Biological Macromolecules* 43: 283-288.

Wang Y, Li C, Liu P, Ahmed Z, Xiao P & Bai X (2010) Physical characterization of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus plantarum* KF5 isolated from Tibet Kefir. *Carbohydrate Polymers* 82: 895-903.

Welman AD & Maddox IS (2003) Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: perspectives and challenges. *Trends in Biotechnology* 21: 269-274.

Werning ML, Ibarburu I, Dueñas MT, Irastorza A, Navas J & López P (2006) *Pediococcus parvulus* gtf gene encoding the GTF glycosyltransferase and its application for specific PCR detection of β-D-glucan–producing bacteria in foods and beverages. *Journal of Food Protection* 69: 161-169.

Worrasinchai S, Suphantharika M, Pinjai S & Jamnong P (2006) β-Glucan prepared from spent brewer's yeast as a fat replacer in mayonnaise. *Food Hydrocolloids* 20: 68-78.

Zamora F, Gonzalez M, Duenas M, Irastorza A, Velasco S & Ibarburu I (2002) Thermodegradation and thermal transitions of an exopolysaccharide produced by *Pediococcus damnosus* 2.6. *Journal of Macromolecular Science* 41: 473-486.

จิรารัตน์ ทัตติยกุล (2554) วิทยากระแสของอาหาร. กรุงเทพ:สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ธิดารัตน์ วงศ์รัตน์ (2552) ลักษณะสมบัติทางเคมีและกายภาพของเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์จากแบคทีเรีย. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

บุษกร อุตรภิชาติ. มารู้จัก"แบคทีเรียกรดแลคติก"กันเถอะ.วารสารวิทยาศาสตร์ทักษิณ 2 (กรกฎาคม-ธันวาคม 2548):18-33.

พิมพร ลีลาพรพิสิฐ (2534) อิมัลชั่นทางเครื่องสำอาง. กรุงเทพ:โอเดียนสโตร์.

วรรษมน นิลสันเทียะ (2553) การคัดเลือกและลักษณะสมบัติของเอกโซพอลิแซ็กคาไรด์จากแลคติกแอสิดแบคทีเรีย. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วิชชุดา วิไลรัศมี (2555) เอกโซพอลิแซ็กคาไรด์จากแล็กติกแอซิดแบคทีเรียและการประยุกต์ในน้ำสลัด. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล (2539) จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญทางด้านอาหาร. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สมบูรณ์ ธนาศุภวัฒน์ (2541) แบคทีเรียกรดแลคติก. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย:เอกสารวิชาการภาควิชาจุลชีววิทยา คณะเภสัชศาสตร์.

สมฤดี ชุณหโรจน์ฤทธิ์ (2551) การคัดแยกแบคทีเรียที่ผลิตพอลิแซ็กคาไรด์และลักษณะสมบัติของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ได้. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2523) มอก.335 อาหารที่มีความเป็นกรด. [http://fic.nfi.or.th/law/upload/file1/TH_478.pdf [11 มีนาคม 2560]

สำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม (2540) มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมมายองเนสและสลัดครีม. [http://www.fio.co.th/p/tisi_fio/fulltext/TIS1402-2540.pdf [11 มีนาคม 2560]

อรพิน บุญเกิด (2557) เอกโซพอลิแซ็กคาไรด์จากแบคทีเรียผลิตกรดแลกติกและการประยุกต์ในการผลิตโยเกิร์ต. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ก
สูตรอาหารและวิธีเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งแลกโตบาซิลไล เอ็ม อาร์ เอส (Lactobacilli MRS Agar) ผสม bromocresol purple ตามวิธีของ (Ogunbanwo และ Okanlawon, 2009)

โปรติโอสเปปโตน เบอร์ 3 (Proteose peptone no.3)	10	กรัม
สารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract)	10	กรัม
สารสกัดจากเนื้อ (Beef extract)	5	กรัม
เดกซ์โตรส (Dextrose)	20	กรัม
โซเดียมอะซิเตต (Sodium acetate)	5	กรัม
ไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนซิเตรต (di -Ammonium hydrogen citrate)	2	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	0.05	กรัม
แมงกานีสซัลเฟต ($MnSO_4.H_2O$)	0.05	กรัม
ทวีน 80 (Tween 80)	1	กรัม
ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	2	กรัม
โบรโมครีซอล เพอร์เพิล (bromocresol purple)	0.04	กรัม
วุ้นผง (Agar)	15	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ปรับระดับความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 6.5-6.8

อบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 15 นาที

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

2. อาหารเลี้ยงเชื้อแลกโตบาซิลไล เอ็ม อาร์ เอส (Lactobacilli MRS Agar) สำเร็จรูป

Lactobacilli MRS	55	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

3. อาหารเลี้ยงเชื้อเหลวสูตรดัดแปลงจากอาหารสูตรแลกโตบาซิลไล เอ็ม อาร์ เอส (Lactobacilli MRS) ที่มีซูโครสความเข้มข้น 4% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

โปรติโอสเปปโตน เบอร์ 3 (Proteose peptone no.3)	10	กรัม
สารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract)	5	กรัม
สารสกัดจากเนื้อ (Beef extract)	10	กรัม
ซูโครส (Sucrose)	40	กรัม
โซเดียมอะซิเตต (Sodium acetate)	5	กรัม
ไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนซิเตรต (di -Ammonium hydrogen citrate)	2	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4.7H_2O$)	0.05	กรัม
แมงกานีสซัลเฟต ($MnSO_4.H_2O$)	0.05	กรัม
ทวีน 80 (Tween 80)	1	กรัม
ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4)	2	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ปรับระดับความเป็นกรด-เบสเท่ากับ 6.5-6.8

อบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 10 นาที

หมายเหตุ ถ้าเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง ใส่ผงวุ้น 15.0 กรัมต่อลิตร

4. อาหารฟีนอลเรดบรอทเบสสำเร็จรูป (Phenol Red Broth Base)

ฟีนอลเรดบรอทเบส	15	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร
น้ำตาลชนิดต่างๆ	10	กรัม

ละลายฟีนอลเรดบรอทเบสด้วยน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากัน แล้วเติมน้ำตาลชนิดต่างๆ ที่ต้องการทดสอบ จากนั้นใส่หลอดดักก๊าซ แล้วอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 118 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 15 นาที

Chulalongkorn University

5. อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งสำหรับทดสอบการเคลื่อนที่ของแบคทีเรีย (Motility test medium)

สารสกัดจากเนื้อ (Beef extract)	3.0	กรัม
ทริปโตน (Tryptone)	10.0	กรัม
โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	5.0	กรัม
วุ้นผง (Agar)	4.0	กรัม

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายด้วยน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยใช้ความร้อน จากนั้นนำมาใส่หลอดทดลอง แล้วอบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เวลา 15 นาที

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ข
สารเคมี

1. สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ความเข้มข้น 3% โดยปริมาตร

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เข้มข้น 30%	1.0	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	9.0	มิลลิลิตร

2. สารละลายฟีนอล ความเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

ฟีนอล	5	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

3. สารละลายคูเมสซีบริลเลียนท์บลู

ชั่งสารละลายคูแมสซี่บลู จี 250 100 มิลลิกรัม ละลายในเอทานอล 95% ปริมาตร 50 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติมกรดฟอสฟอริก 85% ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนได้เป็น 1000 มิลลิลิตร แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1

4. สารละลายกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) ความเข้มข้น 1 โมลาร์

กรดซัลฟูริกเข้มข้น (conc. H_2SO_4) มิลลิลิตร	10	
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

5. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 10 โมลาร์

โซเดียมไฮดรอกไซด์	40	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

6. สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.01 นอร์มัล

โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	0.004	กรัม
น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

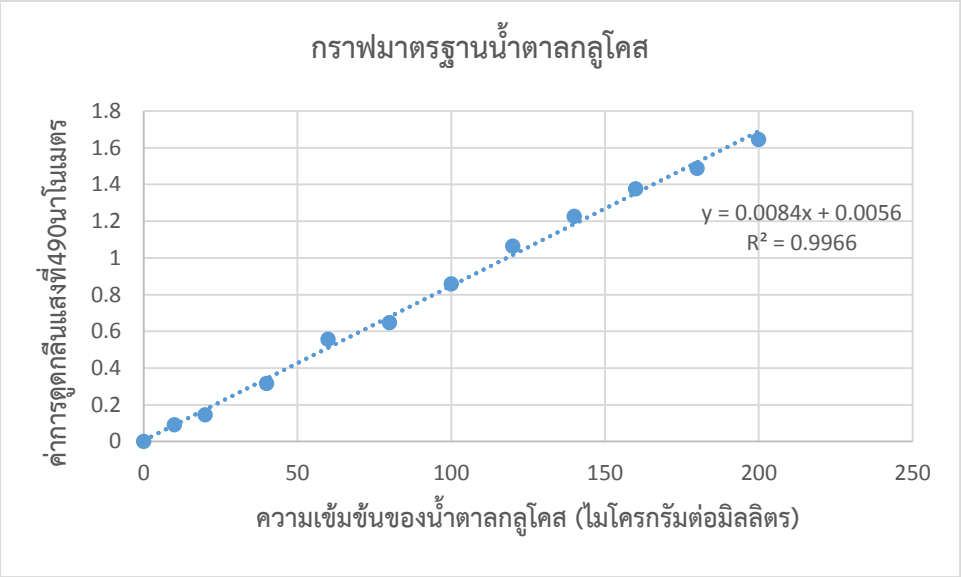
7. สารละลาย Cetylpyridinium Chloride (CPC) ความเข้มข้น 10 เปอร์เซนต์

Cetylpyridinium Chloride (CPC)	10	กรัม
ละลายในน้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร

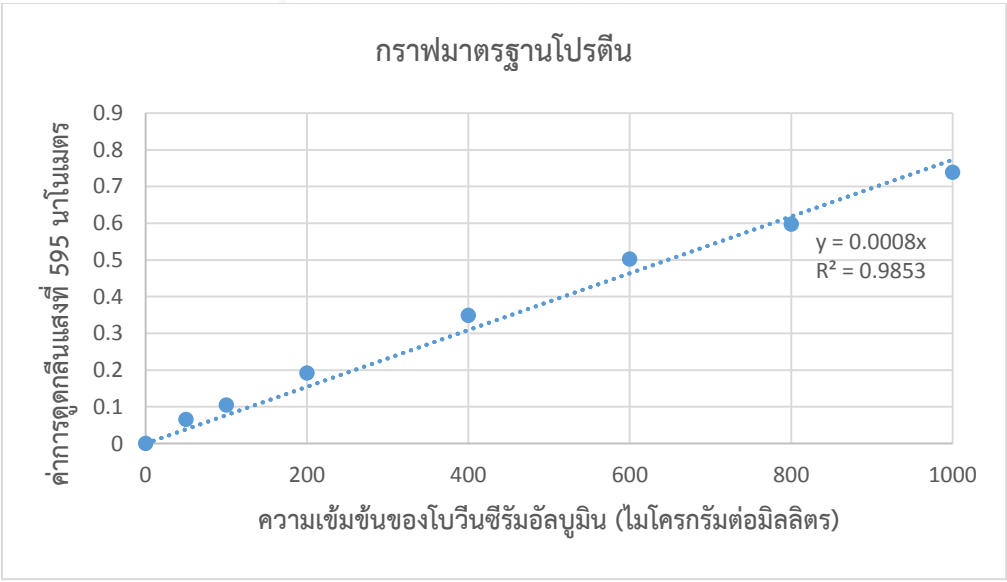
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ค
กราฟมาตรฐาน

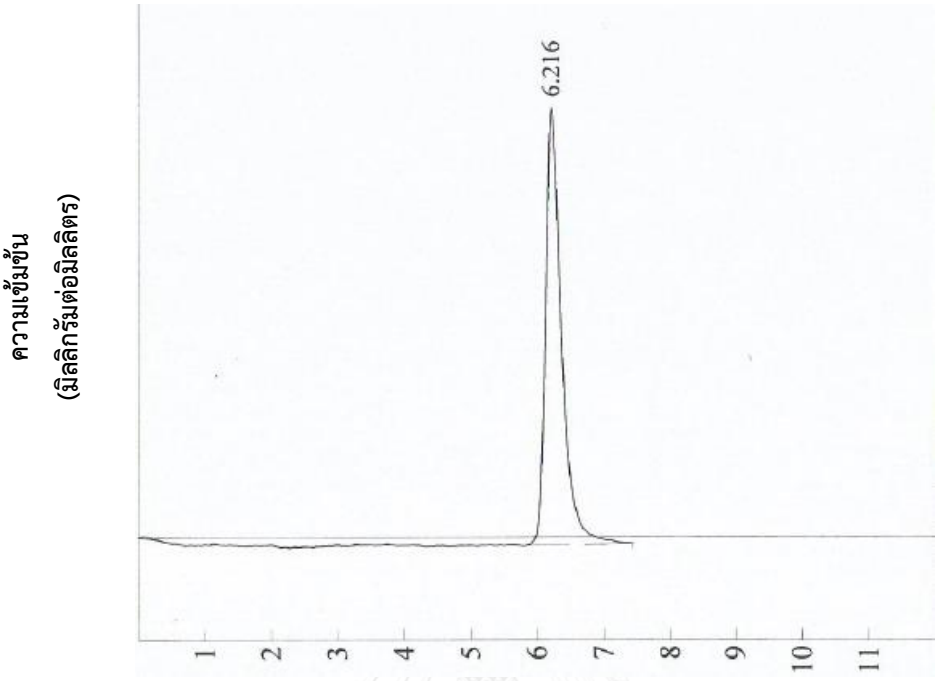
1. กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสวิเคราะห์โดยวิธี Phenol-Sulfuric acid (DuBois และคณะ, 1956)



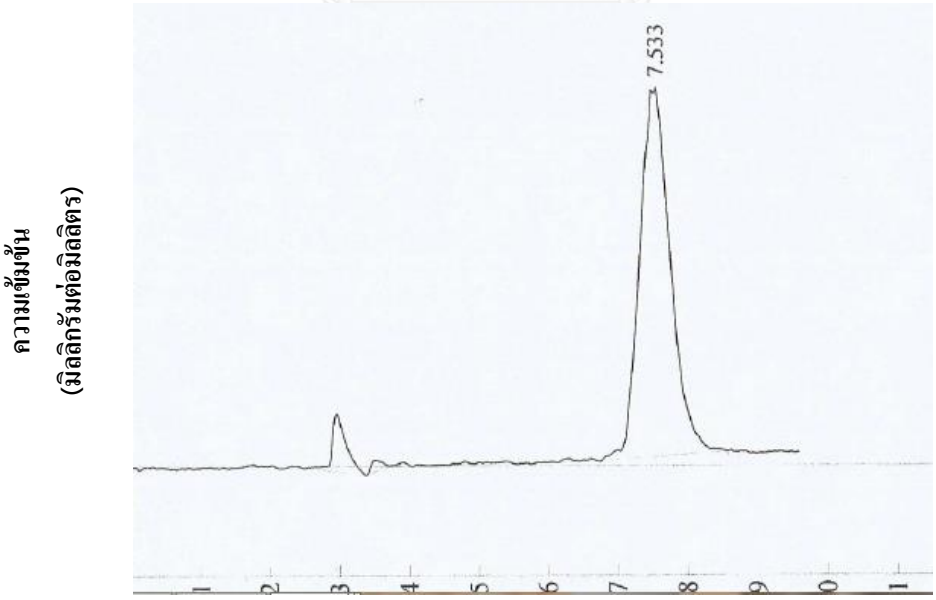
2. กราฟมาตรฐานโปรตีนวิเคราะห์โดยวิธี Protein Dye Binding (Bradford, 1976)



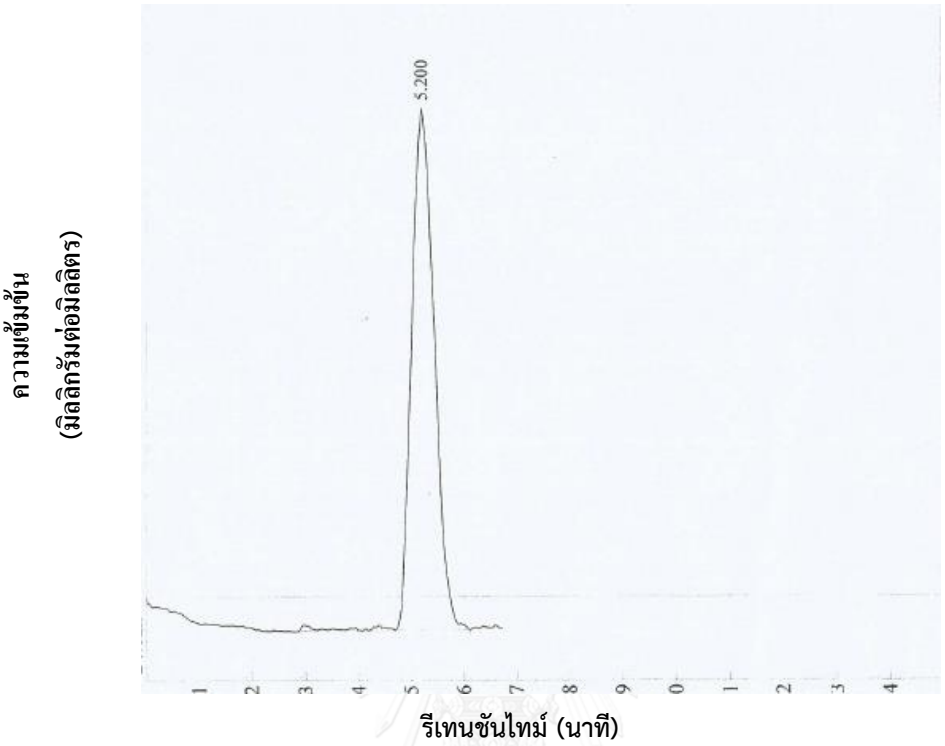
3. โครมาโทแกรมมาตรฐานน้ำตาลซูโครส



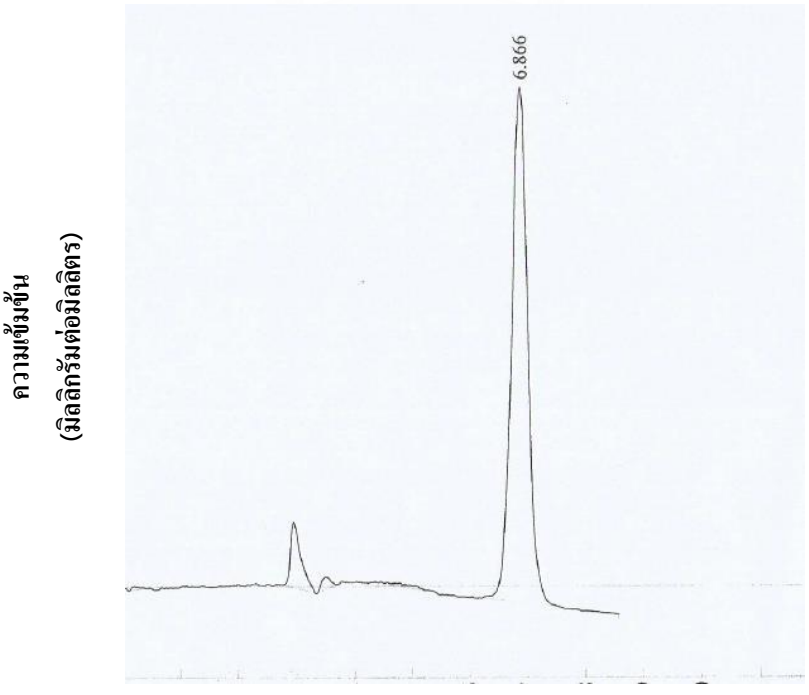
4. โครมาโทแกรมมาตรฐานน้ำตาลไรโบส



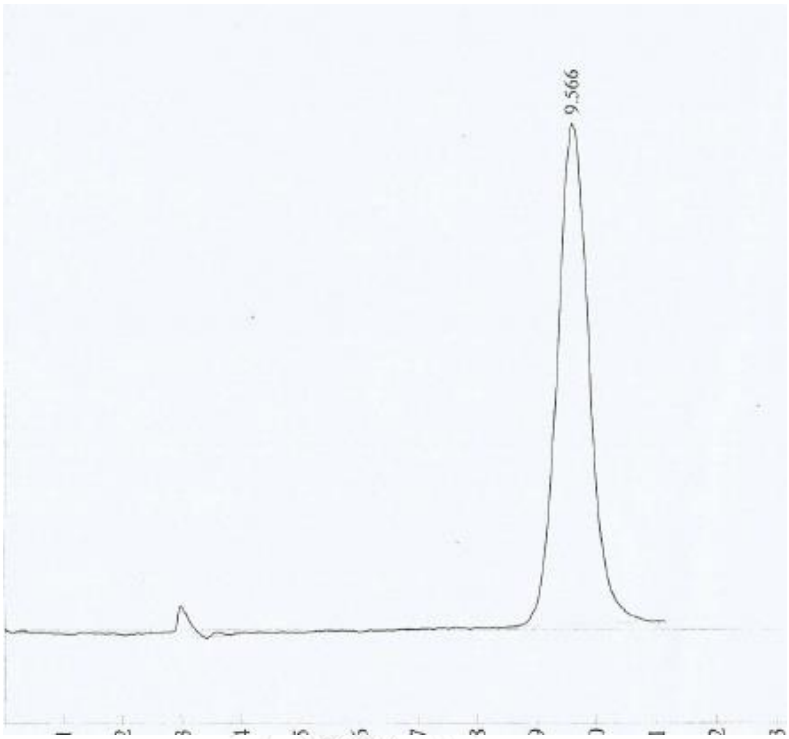
5. โครมาโทแกรมมาตรฐานน้ำตาลแรมโนส



6. โครมาโทแกรมมาตรฐานน้ำตาลไซโลส

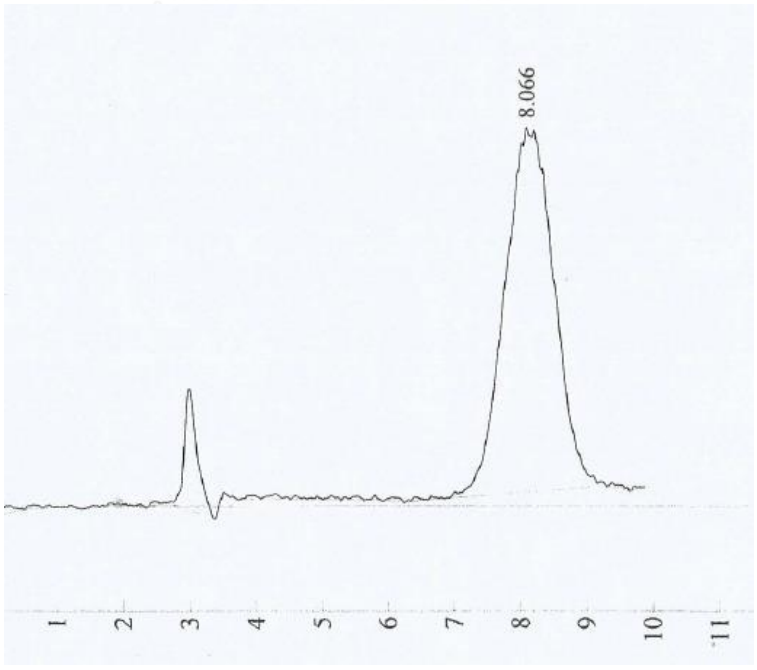


7. โครมาโทแกรมมาตรฐานน้ำตาลฟรักโทส

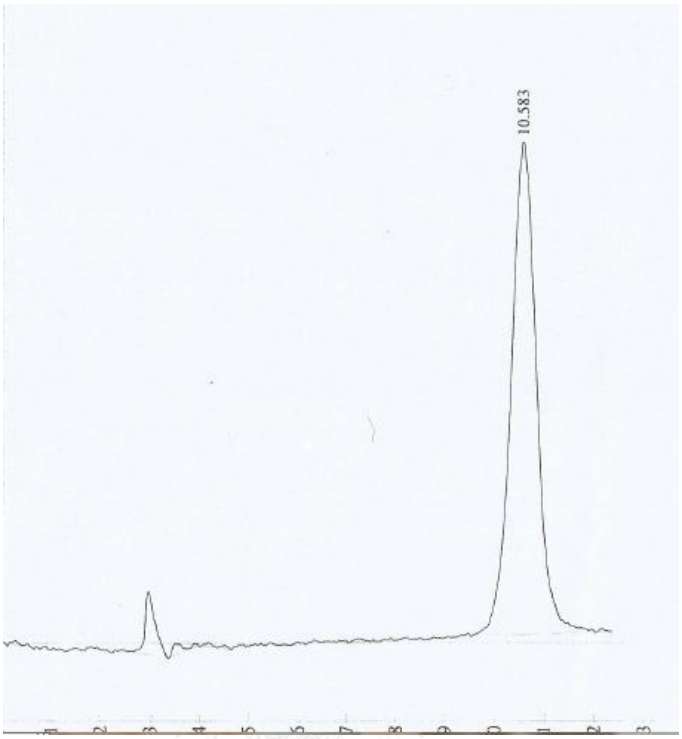


8. โครมาโทแกรมมาตรฐานน้ำตาลอะราบิโนส

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



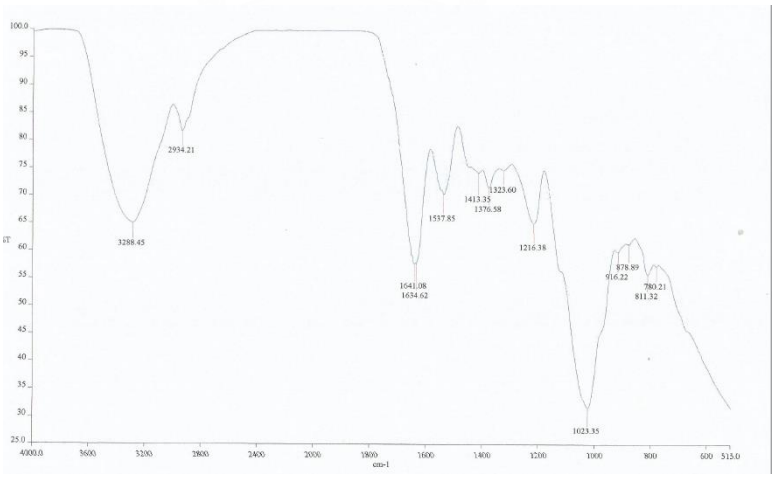
9. โครมาโทแกรมมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส



ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

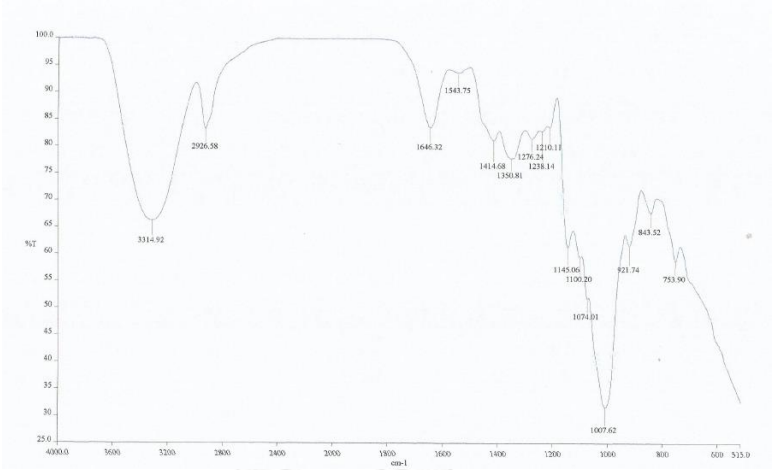
รีเทนชันไทม์ (นาที)

10. โครมาโทแกรม FOURIER TRANSFORM INFRARED SPECTROSCOPY (FTIR) ของพอลิแซ็กคาไรด์จากเชื้อไอโซเลต P01



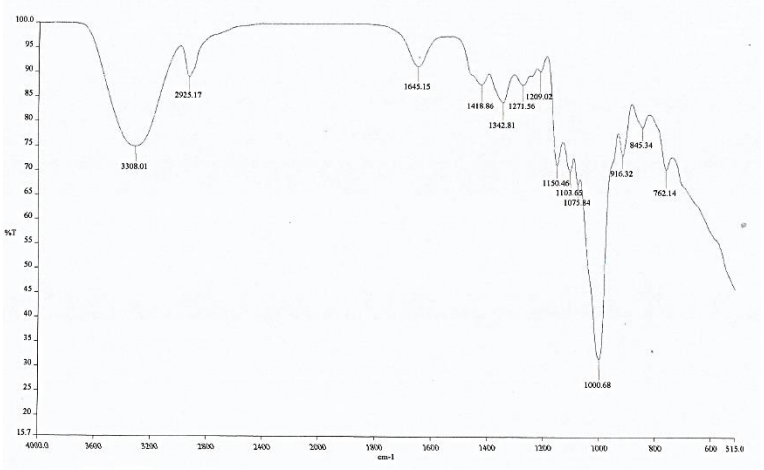
ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)

11. โครมาโทแกรม FOURIER TRANSFORM INFRARED SPECTROSCOPY (FTIR) ของพอลิแซ็กคาไรด์จากเชื้อไอโซเลต P03



ความยาวคลื่น (นาโนเมตร)

12. โครมาโทแกรม FOURIER TRANSFORM INFRARED SPECTROSCOPY (FTIR) ของพอลิแซ็กคาไรด์จากเชื้อไอโซเลต P06



ภาคผนวก ง

มอก. มายองเนสและสลัดครีม

1. มาตรฐานอุตสาหกรรมมายองเนสและสลัดครีม

1.1 บทนิยาม

ความหมายของคำที่ใช้ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมนี้ มีดังต่อไปนี้

1.1.1 มายองเนส หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการผสมน้ำมันพืชและ/หรือไขมันพืช กับไข่แดง ให้เป็นเนื้อเดียวกัน (emulsion) ปรุงแต่งรสด้วยน้ำส้มสายชูและ/หรือน้ำมะนาว และส่วนประกอบอื่นๆ ใช้สำหรับปรุงแต่งรสอาหาร

1.1.2 สลัดครีม หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการผสมน้ำมันพืชและ/หรือไขมันพืช กับไข่แดง ให้เป็นเนื้อเดียวกัน (emulsion) ปรุงแต่งรสด้วยน้ำตาล น้ำส้มสายชู และ /หรือน้ำมะนาว และส่วนประกอบอื่นๆ ช้สำหรับปรุงแต่งรสอาหาร

1.2 ส่วนประกอบ

1.2.1 ส่วนประกอบหลัก

2.1.1.1 น้ำมันพืชและ/ หรือไขมันพืช

2.1.1.2 ไข่แดง

2.1.1.3 น้ำส้มสายชูและ/ หรือน้ำมะนาว

2.1.1.4 น้ำตาล (เฉพาะสลัดครีม)

1.2.2 ส่วนประกอบอื่น

2.2.1.1 ไข่ขาว หรือผลิตภัณฑ์จากไข่

2.2.1.2 เกลือบริโภค

2.2.1.3 น้ำตาล

2.2.1.4 มัสตาร์ด พริกไทย หรือเครื่องเทศอื่นๆ

2.2.1.5 ผลิตภัณฑ์นม

1.3 คุณลักษณะที่ต้องการ

1.3.1 ลักษณะทั่วไป

มีสีขาวนวลถึงสีเหลืองนวล มีลักษณะเหลวค่อนข้างข้นเป็นเนื้อเดียวกัน มีกลิ่นรสตามส่วนประกอบที่ใช้ทำ การทดสอบให้ทำโดยการตรวจพินิจ

1.3.2 ความเป็นกรดด่าง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ต้องไม่เกิน 4.1 การทดสอบให้ทำโดยการวัดด้วยเครื่องวัดความเป็นกรดด่าง

1.3.3 ปริมาณน้ำ

ต้องไม่เกินร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก

1.4 วัตถุเจือปนอาหาร

วัตถุเจือปนอาหาร ให้ใช้ได้ตามชนิดและปริมาณที่กำหนดต่อไปนี้

1.4.1 สารเพิ่มความเป็นกรด ในปริมาณที่เหมาะสม

1.4.1.1 กรดแอซีติก และเกลือโซเดียมหรือเกลือโพแทสเซียมของกรดนี้

1.4.1.2 กรดซิทริก และเกลือโซเดียมหรือเกลือโพแทสเซียมของกรดนี้

1.4.1.3 กรดมาลิก และเกลือโซเดียมหรือเกลือโพแทสเซียมของกรดนี้

1.4.1.4 กรดทาร์ทาริก และเกลือโซเดียมหรือเกลือโพแทสเซียมของกรดนี้ไม่เกิน 5 กรัมต่อกิโลกรัม

การทดสอบให้ปฏิบัติตามวิธีที่กำหนดใน A Laboratory Handbook, edited by E. Stahk, translated by M.R.F. Ashworth, 2nd edition, Springer-Verlag Berlin. Heidelberg-New York, 1969 หน้า 650 ถึง 656

1.4.2 สารกันหืน ดังต่อไปนี้

1.4.2.1 โทโคฟีรอล ไม่เกิน 240 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

การทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC (1995) ข้อ45.1.24

1.4.2.2 กรดอัสคอร์บิก ไม่เกิน 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

การทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC (1995) ข้อ45.1.14

1.4.2.3 บิวทิเลเตดไฮดรอกซีอะนิโซล ไม่เกิน 140 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

การทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC (1995) ข้อ47.2.03

1.4.2.4 แคลเซียมไดโซเอทิลีนไดแอมีนเททระแอซีเทต ไม่เกิน 75 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

การทดสอบให้ปฏิบัติตาม Food Additives Analytical Mamual Vol.1 A Collection of Analytical Methods for Selected Food Additives.U.S. Food and Drug Administration,1988

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

1.4.3 สี

ห้ามใช้สีสังเคราะห์ทุกชนิด

การทดสอบให้ปฏิบัติตาม Modern food analysis, F.L. Hart and Fisher, Springer-Valag, New York, 1971

1.4.4 สารแต่งกลิ่นรส

ให้ใช้ได้ในปริมาณที่เหมาะสม

1.4.5 สารทำให้คงตัว ดังต่อไปนี้

1.4.5.1 สารต่อไปนี้ชนิดใดชนิดหนึ่งหรือผสมกัน ในปริมาณที่เหมาะสม

1.4.5.1.1 คาร์ระจีแนน

1.4.5.1.2 โซเดียมแอลจิเนต หรือโพแทสเซียมแอลจิเนต หรือโพรพิลีนไกลคอลแอลจิเนต

1.4.5.1.3 คารอบกัม หรือกัวกัม หรือแซนแทนกัม

1.4.5.1.4 โซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส

1.4.5.1.5 ทรากะแคนต์

1.4.5.1.6 เพกติน

1.4.5.1.7 กัมอะคาเซีย

1.4.5.2 แป้งดัดแปรต่อไปนี้ ชนิดใดชนิดหนึ่งหรือผสมกัน ในปริมาณที่เหมาะสม

1.4.5.2.1 แอซีทิลเตดไดสตาร์ชอะดิเพต

1.4.5.2.2 แอซีทิลเตดไดสตาร์ชฟอสเฟส

1.4.5.2.3 ไดสตาร์ชฟอสเฟส

1.4.5.2.4 ไฮดรอกซี-โพรพิลฟอสเฟต

1.4.6 วัตถุปรุงแต่งอาหาร

1.4.6.1 โมโนโซเดียม แอล-กลูทาเมต ในปริมาณที่เหมาะสม

1.4.7 สารปนเปื้อน

1.4.7.1 สารหนู ต้องไม่เกิน 0.1 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

การทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC (1995) ข้อ 9.1.01

1.4.7.2 ตะกั่ว ต้องไม่เกิน 0.3 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

การทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC (1995) ข้อ 9.2.19 หรือข้อ 50.1.15

1.4.7.3 ทองแดง ต้องไม่เกิน 2.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

การทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC (1995) ข้อ 9.1.07 หรือข้อ 50.1.15

1.4.8 สุขลักษณะ

1.4.8.1 สุขลักษณะ ให้เป็นไปตาม มอก.34

1.4.8.2 จุลินทรีย์ ให้เป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนดต่อไปนี้

1.4.8.2.1 จุลินทรีย์ทั้งหมด ต้องน้อยกว่า 1000 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม

การทดสอบให้ปฏิบัติตาม มอก. 335 เล่ม 1 อาหารที่มีความเป็นกรด

1.4.8.2.2 ยีสต์และรา ต้องน้อยกว่า 10 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม

การทดสอบให้ปฏิบัติตาม มอก. 335 เล่ม 1 อาหารที่มีความเป็นกรด

1.4.8.2.3 โคลิฟอร์ม โดยวิธีเอ็มพีเอ็น (MPN) ต้องน้อยกว่า 3 ต่อตัวอย่าง 1 กรัม

การทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC (1995) ข้อ 17.2.02

1.4.8.2.4 แล็กโทบาซิลลัส ต้องน้อยกว่า 10 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม

การทดสอบให้ปฏิบัติตามข้อ 1.4.9.1

1.4.9 การทดสอบ

1.4.9.1 แล็กโทบาซิลลัส

1.4.9.1.1 อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการทดสอบ

ให้ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเอ็มอาร์เอสอะการ์สำเร็จรูปที่มีการเติมแคลเซียมคาร์บอเนตและโบรโมครีซอลเพอร์เพิล

1.4.9.1.2 วิธีวิเคราะห์

1.4.9.1.2.1 ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ในสารละลายเพปโทนหรือสารละลายฟอสเฟตเพื่อเจือจาง 225 ลูกบาศก์เซนติเมตร

1.4.9.1.2.2 ใช้ปิเปตต์ดูดตัวอย่างที่มีความเข้มข้นต่างๆ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ในจานเพาะเชื้ออย่างละ 2 จาน เทอาหารเลี้ยงเชื้อเอ็มอาร์เอสอะการ์ที่หลอมเหลวแล้ว มีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ลงในจานเพาะเชื้อจานละ 15 ลูกบาศก์เซนติเมตร ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วเทวุ้นที่หลอมเหลวที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ทับและทิ้งไว้ให้แข็ง

กลับจานเพาะเชื้อ นำไปอบที่อุณหภูมิ 35 ถึง 37 องศาเซลเซียส นาน 72 ชั่วโมง

1.4.9.1.2.2 ตรวจนับโคโลนีที่มีวงใสโดยรอบซึ่งสีของอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนจากสีม่วงเป็นสีเหลือง คำนวณหาจำนวนโคโลนี ดังนี้

(1) จานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนี 30 ถึง 300 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยคูณด้วยค่าตัวอย่างที่เจือจาง

(2) จานเพาะเชื้อทั้งหมดที่มีตัวอย่างที่มีความเข้มข้นถัดกัน นับจำนวนโคโลนีได้ 30 ถึง 300 โคโลนีให้คูณจำนวนโคโลนีในแต่ละจานเพาะเชื้อด้วยค่าตัวอย่างที่เจือจาง แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย

(3) จำนวนโคโลนีในจานเพาะเชื้อทั้งหมดได้น้อยกว่า 30 โคโลนี ให้คูณจำนวนโคโลนีที่มีในตัวอย่างที่เจือจางน้อยที่สุดด้วยค่าความเข้มข้นที่เจือจาง โดยมีคำว่า “ประมาณ”

(4) ไม่มีการเจริญของเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อให้รายงานโคโลนีเป็นค่าความเข้มข้นที่เจือจางน้อยที่สุด โดยมีคำว่า “น้อยกว่า” ข้างหน้า

2. มาตรฐานอุตสาหกรรมวิธีวิเคราะห์อาหารทางจุลชีววิทยาอาหารกระป๋อง (มอก.335 เล่ม 1-2523)

2.1 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (total plate count)

2.1.1 ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม หรือดูดตัวอย่างด้วยปิเปตมา 10 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ในขวดที่มีสารละลายเพื่อเจือจาง 90 ลูกบาศก์เซนติเมตร ผสมให้เข้ากันจะได้ความเข้มข้น 1 ต่อ 10 หรือให้เจือจางต่อไปจนกว่าจะอ่านจำนวนจุลินทรีย์ได้ 30 ถึง 300 โคโลนี

2.1.2 ใช้ปิเปตดูดสารละลายตัวอย่าง จากข้อ 2.1.1 ที่มีความเข้มข้นต่างๆ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อ ความเข้มข้นละ 2 จาน สำหรับของเหลวให้ใช้ปิเปตดูดโดยตรงจากตัวอย่างมา 1 ลูกบาศก์เซนติเมตรใส่ในจานเพาะเชื้อ 2 จานด้วย

2.1.3 เทอาหารเลี้ยงเชื้อเพลตเคานต์อะการ์ ที่หลอมเหลวแล้วมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียสลงในจานเพาะเชื้อ จานละประมาณ 10 ถึง 15 ลูกบาศก์เซนติเมตรผสมให้เข้ากัน

2.1.4 ตั้งไว้ให้แข็ง กลับจานเพาะเชื้อ แล้วนำไปอบเพาะเชื้อ (incubate) ที่อุณหภูมิ 35 ถึง 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง

2.1.5 นับจำนวนโคโลนีในจานเพาะเชื้อซึ่งมีปริมาณ 30 ถึง 300 โคโลนี หาค่าเฉลี่ย แล้วคำนวณเป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัมหรือลูกบาศก์เซนติเมตร

2.2 ยีสต์และรา

วิเคราะห์เช่นเดียวกับการวิเคราะห์หาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (ข้อ 2.1) แต่ให้ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อมอลต์อะการ์หรือโปเตโตเดกซโตรสอะการ์ที่ปรับความเป็นกรดด่างเป็น 3.5 แล้วอบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 ถึง 37 องศาเซลเซียส นาน 3 ถึง 5 วัน แล้วนับจำนวนโคโลนีของยีสต์และรา คิดเป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัมหรือลูกบาศก์เซนติเมตร

3. ทดสอบโดยใช้วิธีเอ็มพีเอ็น ปฏิบัติตาม AOAC (1990) ข้อ 17.2.02

3.1 โคลิฟอร์ม (coliform)

3.1.1 ทดสอบขั้นแรก (presumptive test)

(1) นำตัวอย่างประมาณ 1 กรัม หรือ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร มาเพาะ (incubate) ลงในหลอดที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อบริลลิแอนต์กรีนแลกโตสไบล์บรอทร้อยละ 2 หรือลอริลทริปโตสบรอท จำนวน 2 หลอด

(2) อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 ถึง 37 องศาเซลเซียส เมื่อครบ 24 ชั่วโมงและ 48 ชั่วโมง ถ้ามีก๊าซเกิดขึ้นนำไปทดสอบต่อตามข้อ 2.2.2

3.1.2 ทดสอบขั้นสมบูรณ์ (completed test)

(1) นำหลอดที่มีก๊าซจากข้อ 2.2.1 มาเขย่าเบาๆ แล้วใช้ที่เขี่ยเชื้อซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อแล้วจุ่มลงในอาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดที่มีก๊าซ นำไปขีดเป็นเส้นๆบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อเอนโดอะการ์หรือลีวายน์อีเอ็มบีอะการ์ ในลักษณะที่จะให้โคโลนีแยกจากกันหลังการอบเพาะเชื้อ

(2) อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 ถึง 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ตรวจดูโคโลนีที่มีลักษณะของโคลิฟอร์มในอาหารเลี้ยงเชื้อเอนโดอะการ์ จะมีลักษณะสีแดงและโคโลนีเฉพาะของโคลิฟอร์ม ในอาหารเลี้ยงเชื้อลีวายอีเอ็มบีอะการ์จะมีลักษณะเป็นสีเข้ม อาจเป็นสีแดงเข้มหรือม่วงเข้มก็ได้

(3) ถ่ายโคโลนีที่มีลักษณะเฉพาะจากข้อ (2) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อลงในหลอดที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อบริลลิแอนต์กรีนแลกโตสไบล์บรอทร้อยละ 2 หรือ

ลอริลทริปโตสบรอทหรือลอริลทริปโตสบรอทและบนอาหารเลี้ยงเชื้อนิวเตรียนต์อะการ์

(4) อบเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35 ถึง 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ดูการเกิดแก๊ซในหลอดที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อบริลลิแอนต์กรีนแลกโตสไบล์บรอทหรือลอริลทริปโตสบรอท ถ้ามีก๊าซเกิดขึ้นให้นำเชื้อที่ขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อนิวเตรียต์อะการ์ ไปย้อมด้วยวิผีแกรมสเตน ดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ถ้ามีเชื้อซึ่งเป็นแกรมลบ มีรูปร่างเป็นท่อนสั้นๆ ไม่มีสปอร์แสดงว่าเป็นแบคทีเรียชนิดโคลิฟอร์ม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก จ

ข้อมูลนิวคลีโอไทด์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ 16s rDNA

>Leuconostoc mesenteroides P1

GAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAACGCACAGCGAAAGGTGCTTGCA
CCTTTCAAGTGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGACAACCTGCCTCAAGGCTGG
GGATAACATTTGGAAACAGATGCTAATACCGAATAAAACTTAGTGTCGCATGACACAA
AGTTAAAAGGCGCTTCGGCGTCACCTAGAGATGGATCCGCGGTGCATTAGTTAGTTGG
TGGGGTAAAGGCCTACCAAGACAATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCA
CATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACTCCTACGGGAGGCTGCAGTAGGGAATCTTCCA
CAATGGGCGAAAGCCTGATGGAGCAACGCCGCGTGTGTGATGAAGGCTTTCGGGTCGT
AAAGCACTGTTGTATGGGAAGAACAGCTAGAATAGGAAATGATTTTAGTTTGACGGTA
CCATACCAGAAAGGGACGGCTAAATACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTATGTCCC
GAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGACGGTTTATTAAGTCTGAT
GTGAAAGCCCGGAGCTCAACTCCGGAATGGCATTGGAAACTGGTTAACTTGAGTGCAG
TAGAGGTAAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACAC
CAGTGGCGAAGGCGGCTTACTGGACTGCAACTGACGTTGAGGCTCGAAAGTGTGGGTA
GCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACACCGTAAACGATGAACACTAGGTGTTA
GGAGGTTTCCGCCTCTTAGTGCCGAAGCTAACGCATTAAGTGTTCCGCCTGGGGAGTAC
GACCGCAAGGTTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGACCCGCACAAGCGGTGGAGCATG
TGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTTTGAAGCTTT
TAGAGATAGAAGTGTTCTCTTCGGAGACAAAGTGACAGGTGGTGCATGGTCGTCGTCA
GCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTGTTAGTT
GCCAGCATTCAGATGGGCACTCTAGCGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGCGG
GGACGACGTCAGATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGCG
TATACAACGAGTTGCCAGCCCGCGAGGGTGAGCTAATCTCTTAAAGTACGTCTCAGTTC
GGATTGTAGTCTGCAACTCGACTACATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAG
CACGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGTCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGGGAGT
TTGTAATGCCCAAAGCCGGTGGCCTAACCTTTTAGGAAGGAGCCGTCTAAGGCAGGAC
AGATGACTGGGGTGAAGTCGTAACA

>Pediococcus pentosaceus P6

TGAACGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAACGAACTTCCGTTAATTGATTAT
GACGTACTTGTACTGATTGAGATTTTAACACGAAGTGAGTGGCGAACGGGTGAGTAAC
ACGTGGGTAACCTGCCCAGAAGTAGGGGATAACACCTGGAAACAGATGCTAATACCGT
ATAACAGAGAAAACCGCATGGTTTTCTTTTAAAAGATGGCTCTGCTATCACTTCTGGAT
GGACCCGCGGCGTATTAGCTAGTTGGTGAGGTAAAGGCTCACCAAGGCAGTGATACGT
AGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTAC
GGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGCCGC
GTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAGCTCTGTTGTTAAAGAAGAACGTGGGTAA
GAGTAACTGTTTACCCAGTGACGGTATTTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCC
AGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCG
AGCGCAGGCGGTCTTTTAAGTCTAATGTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCA
TTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTG
AAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGCAACT
GACGCTGAGGCTCGAAAGCATGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATG
CCGTAAACGATGATTACTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACG
CATTAAGTAATCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAAAAGAATTGACG
GGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTA
CCAGGTCTTGACATCTTCTGACAGTCTAAGAGATTAGAGGTTCCCTTCGGGGACAGAAT
GACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCA
ACGAGCGCAACCCTTATTACTAGTTGCCAGCATTAAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGC
CGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCT
GGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTCGCGAGACCGCGAGGTTAAGC
TAATCTCTTAAAACCATTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCCTACACGAAGTC
GGAATCGCTAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTA
CACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGCCGGTGGGGTAACCTTTT
AGGAGCTAGCCGTCTAAGGTGGGACAGATGATTAGGGTGAAGTCG

>Lactobacillus plantarum P3

CGCTGGCGGCGTGCCTAATACATGCAAGTCGAACGAACTCTGGTATTGATTGGTGCTTG
CATCATGATTTACATTTGAGTGAGTGGCGAACTGGTGAGTAACACGTGGGAAACCTGC
CCAGAAGCGGGGGATAACACCTGGAAACAGATGCTAATACCGCATAACAACTTGGACC
GCATGGTCCGAGCTTGAAAGATGGCTTCGGCTATCACTTTTGGATGGTCCCGCGGCGTA
TTAGCTAGATGGTGGGGTAACGGCTCACCATGGCAATGATACGTAGCCGACCTGAGAG
GGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTA
GGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGG
GTTTCGGCTCGTAAAACTCTGTTGTTAAAGAAGAACATATCTGAGAGTAACTGTTCAGG
TATTGACGGTATTTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT
ACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTT
TTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATCGGAAACTGGGAAA
CTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATA
TGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAACTGACGCTGAGGCTCGA
AAGTATGGGTAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATACCGTAAACGATGAAT
GCTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGCATTCCGC
CTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGC
GGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATA
CTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGGATACAGGTGGTGCAT
GGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCT
TATTATCAGTTGCCAGCATTAAGTTGGGCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCG
GAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGT
GCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCTAATCTCTTAAAG
CCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCGGAATCGCTAGTA
ATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCA
CACCATGAGAGTTTGTAACACCCAAAGTCGGTGGGGTAACCTTTTAGGAACCAGCCGC
CTAAGGTGGGACAGATGA

>Pediococcus pentosaceus P7

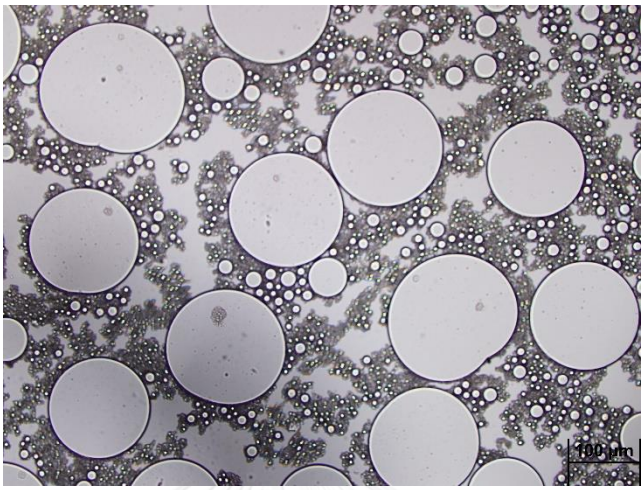
GTGCCTAATACATGCAAGTCGAACGAACTTCCGTTAATTGATTATGACGTACTTGTACT
GATTGAGATTTTAACACGAAGTGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTG
CCCAGAAGTAGGGGATAACACCTGGAAACAGATGCTAATACCGTATAACAGAGAAAAC
CGCATGGTTTTCTTTTAAAAGATGGCTCTGCTATCACTTCTGGATGGACCCGCGGCGTA
TTAGCTAGTTGGTGAGGTAAAGGCTCACCAAGGCAGTGATACGTAGCCGACCTGAGAG
GGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGCAGTA
GGGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGG
GTTTCGGCTCGTAAAGCTCTGTTGTTAAAGAAGAACGTGGGTAAGAGTAACTGTTTACC
CAGTGACGGTATTTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT
ACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTCTT
TTAAGTCTAATGTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATTGGAAACTGGGAGA
CTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATA
TGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGCAACTGACGCTGAGGCTCGA
AAGCATGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAAACGAGGATG
ATACTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGTAATCC
GCCTGGAGAGTACGACCTGG

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

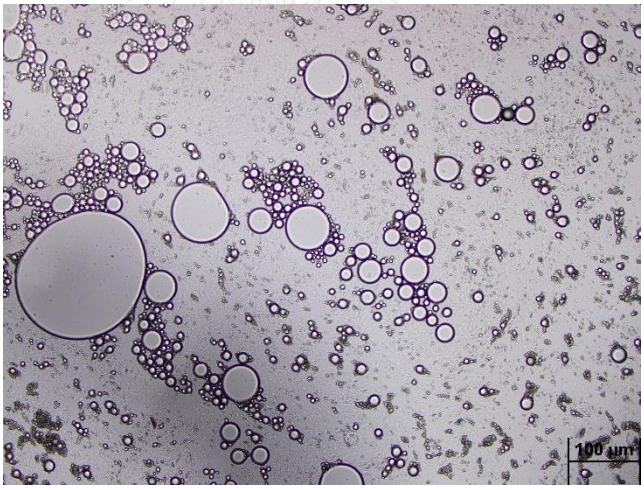
ภาคผนวก ช

ลักษณะอนุภาคมายองเนสและมายองเนสที่ผลิตได้

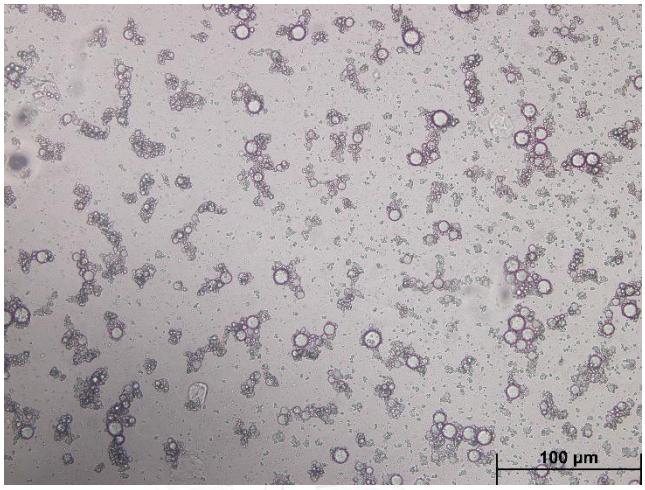
1. ลักษณะอนุภาคมายองเนสจากทางการค้าเมื่อจัดเก็บ 1วันที่กำลังขยาย 200 เท่า



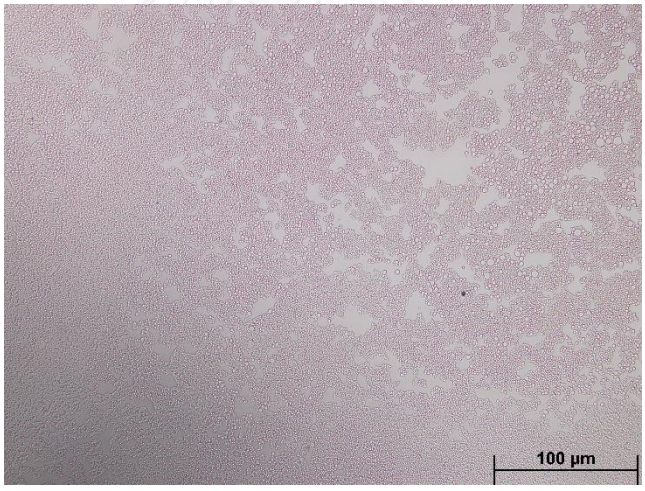
2. ลักษณะอนุภาคมายองเนสสูตรปกติ (full fat) เมื่อจัดเก็บ 1วันที่กำลังขยาย 200 เท่า



3. ลักษณะอนุภาคมายองเนสสูตรลดไข่แดง (reduce egg) ที่มีการเติมพอลิแซ็กคาไรด์ 3% โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก เมื่อจัดเก็บ 1วันที่กำลังขยาย 200 เท่า

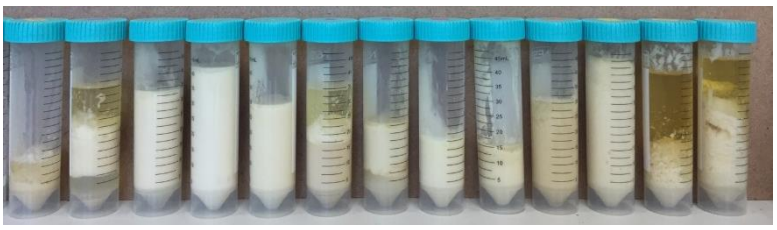


4. ลักษณะอนุภาคมายองเนสสูตรลดไขมัน (reduce fat) ที่มีการเติมพอลิแซ็กคาไรด์ 3% โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก เมื่อจัดเก็บ 1วันที่กำลังขยาย 200 เท่า



5. มายองเนสภายหลังการจัดเก็บ 30 วัน

6. มายองเนสภายหลังการจัดเก็บ 180 วัน



7. มายองเนสสูตรลดไขมัน (reduce fat) ที่มีการเติมพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้น 1% 3% และ 5% โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักภายหลังการจัดเก็บ 1 วัน

8. มายองเนสสูตรลดไข่แดง (reduce egg) ที่มีการเติมพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้น 1% 3% และ 5% โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักภายหลังการจัดเก็บ 1 วัน

9. มายองเนสสูตรลดทั้งไข่แดงและไขมัน (reduce fat and egg) ที่มีการเติมพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้น 1% 3% และ 5% โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักภายหลังการจัดเก็บ 1 วัน

10. มายองเนสสูตรลดทั้งไข่แดงและไขมัน (reduce fat and egg) ที่มีการเติมพอลิแซ็กคาไรด์ที่ความเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักภายหลังการจัดเก็บ 180 วัน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ช
สูตรมายองเนสทางการค้า บริษัท ไฮน์

1. มายองเนสทางการค้า บริษัท ไฮน์ สูตรลดไขมัน

น้ำมันถั่วเหลือง	25.0	กรัม
น้ำส้มสายชูกลั่น 10%	8.0	กรัม
น้ำตาล	8.0	กรัม
ไข่แดง	5.0	กรัม
เกลือ	3.0	กรัม
นมพร่องมันเนย	2.0	กรัม
สารให้ความข้นเหนียว (INS 1414)	2.0	กรัม
มัสตาร์ด	2.0	กรัม

สารกันเสีย(INS 202, INS 211)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาว กุลธิดา ทองภูเบศร์ เกิดวันอาทิตย์ที่ 12 มกราคม 2535 ที่จังหวัดกรุงเทพฯ จบการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2558 และเข้ารับการศึกษาต่อในระดับปริญญามหาบัณฑิต ที่ภาควิชาจุลชีววิทยา สาขาวิชาจุลชีววิทยาและเทคโนโลยีจุลินทรีย์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2558

ผลงานตีพิมพ์เผยแพร่

ส่วนหนึ่งของงานวิจัยนี้ได้เข้าร่วมเสนอผลงานในการประชุมทางวิชาการระดับนานาชาติ ในงาน The 28th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology and International Conference Innovative Biotechnology ระหว่างวันที่ 28-30 พฤศจิกายน 2559 ณ โรงแรมดิเอ็มเพรส จังหวัดเชียงใหม่ ในหัวข้อเรื่อง "Isolation of Exopolysaccharides Producing-Lactic Acid Bacteria for Mayonnaise"

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University