

การพัฒนากระบวนการผลิตน้ำเชื่อมฟรุทโตโอลิโกแซคคาไรด์เข้มข้น
จากพืชตระกูลหัวหอม



ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
มหาวิทยาลัยแม่โจ้
พ.ศ. 2565

การพัฒนากระบวนการผลิตน้ำเชื่อมฟรุทโตโอลิโกแซคคาไรด์เข้มข้น
จากพืชตระกูลหัวหอม



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

สำนักบริหารและพัฒนาระบบราชการ มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2565

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้

การพัฒนากระบวนการผลิตน้ำเชื่อมฟรุทโตโอลิโกแซคคาไรด์เข้มข้น
จากพืชตระกูลหัวหอม

เปรมฤทัย ผ่านสอาด

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษา
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ไพโรจน์ วงศ์พุทธิสิน)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(รองศาสตราจารย์ ดร.ดวงพร อมรเลิศพิศาล)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(อาจารย์ ดร.จุฑามาศ มณีวงศ์)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

ประธานอาจารย์ผู้รับผิดชอบหลักสูตร

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ปิยะนุช เนียมทรัพย์)

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

สำนักบริหารและพัฒนาวิชาการรับรองแล้ว

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.ณัฐนิน โอภาสพัฒนกิจ)

รองอธิการบดี

วันที่.....เดือน.....พ.ศ.

ชื่อเรื่อง	การพัฒนากระบวนการผลิตน้ำเชื่อมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์เข้มข้น จากพืชตระกูลหัวหอม
ชื่อผู้เขียน	นางสาวเปรมฤทัย ผ่านสอาด
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ไพโรจน์ วงศ์พุทธิสิน

บทคัดย่อ

หอมแดง (*Allium ascalonicum* Linn.) เป็นแหล่งของสารอาหารและสารพฤกษเคมีหลายชนิด ที่มีฤทธิ์ชีวภาพหลากหลาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งเป็นแหล่งของน้ำตาลฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS) ซึ่งได้รับการยอมรับว่าเป็นสารพรีไบโอติกที่มีประสิทธิภาพ ดังนั้นจึงมีศักยภาพใช้เป็นส่วนผสมเชิงหน้าที่ในผลิตภัณฑ์อาหารได้ ซึ่งงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนากระบวนการผลิตน้ำเชื่อม FOS ในระดับกึ่งอุตสาหกรรม ศึกษากระบวนการทำให้น้ำเชื่อม FOS ที่ได้มีความบริสุทธิ์ รวมถึงศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพบางประการของสารสกัด ซึ่งได้แก่ ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหอมแดง ผลการศึกษาพบว่า กระบวนการผลิตน้ำเชื่อมที่พัฒนาขึ้นนี้ ซึ่งได้แก่เครื่องล้างทำความสะอาดหอมแดงที่ออกแบบให้เป็นระบบน้ำหมุนวน มีประสิทธิภาพในการล้างและกำจัดสิ่งปนเปื้อนบนผิวของหัวหอมแดงร้อยละ 64-84 จากการล้าง 2 รอบ และอัตราการล้าง 30 กิโลกรัมต่อรอบ เครื่องันสกัดแยกกากมีอัตราการทำงาน 38.46 กิโลกรัมต่อชั่วโมง และได้ผลผลิตน้ำหัวหอม 0.47 ลิตรต่อกิโลกรัม และเครื่องกรองสุญญากาศมีอัตราการกรอง 40 ลิตรต่อชั่วโมง ความใสเพิ่มขึ้นร้อยละ 80.5 น้ำสกัดหอมแดงสามารถนำมาทำให้บริสุทธิ์บางส่วนด้วยการชะผ่านคอลัมน์ถ่านกัมมันต์ พบว่าสามารถกำจัดน้ำตาลโมเลกุลต่ำโดยการดูดซับถึงร้อยละ 91.93 ส่งผลให้น้ำสกัดหอมแดงมีค่า Degree of polymerization (DP) เพิ่มขึ้นจาก 23 เป็น 284 ซึ่งอุดมไปด้วยโอลิโกแซคคาไรด์และโพลีแซคคาไรด์แต่ฤทธิ์กำจัดอนุมูล ABTS ลดลงจากร้อยละ 51 เป็นร้อยละ 12 และเทคนิคการทำให้น้ำหอมแดงเข้มข้นโดยการระเหยด้วยสุญญากาศเป็นเทคนิคที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากไม่กระทบต่อสัดส่วนของน้ำตาล FOS แต่ละชนิด สารสกัดหยาบมีฤทธิ์สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรค *Salmonella Typhimurium* และ *Staphylococcus aureus* ได้ โดยมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญเชื้อดังกล่าว (MIC) เท่ากับ 344 และ 491 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่ใช้ฆ่าเชื้อ (MBC) *Sal. Typhimurium* 442 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แต่ไม่สามารถฆ่าเชื้อ *S. aureus* ได้ นอกจากนี้ พบว่าการชะสารสกัดหัวหอมผ่านคอลัมน์ถ่านกัมมันต์ส่งผลทำให้ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรคลดลง สารสกัดสามารถกระตุ้นการเจริญของเชื้อโพร

ไบโอดีทสายพันธุ์ *Lactobacillus bugericus*, *Lactobacillus plantarum* และ *Lactobacillus johnsonii* ทั้งนี้กระบวนการผลิตมีต้นทุน 0.75 บาทต่อมิลลิลิตร งานวิจัยนี้สามารถสรุปได้ว่าประสบความสำเร็จในการพัฒนากระบวนการระดับกึ่งอุตสาหกรรมในการผลิตน้ำเชื่อม FOS จากหอมแดง เพื่อการใช้ประโยชน์เป็นส่วนผสมในการผลิตอาหารเพื่อสุขภาพต่อไป

คำสำคัญ : สารสกัดหัวหอมแดง, พรีไบโอติกส์, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ, ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย, อาหารเพื่อสุขภาพ



Title	DEVELOPMENT OF FRUCTOOLIGOSACCHARIDE SYRUP PRODUCTION PROCESS FROM ONION
Author	Miss Premruethai Phansaard
Degree	Master of Science in Biotechnology
Advisory Committee Chairperson	Assistant Professor Dr. Pairote Wongputtisin

ABSTRACT

Shallot (*Allium ascalonicum* Linn.) is a source of several nutrients, phytochemicals with various biological activities. In particular, it is a source of fructooligosaccharide (FOS), which is recognized as an effective prebiotic. Therefore, it has potential to be used as a functional ingredient in food products. The aims of this research were then to develop the FOS syrup production process from shallot at the semi-pilot scale, to investigate the purification process of shallot extract and to evaluate the bioactivities of the FOS syrup including antibacterial activity and antioxidant activity. The results showed that the developed cleaning machines with a whirlpool system was effective in cleaning and was able to remove the surface contaminants of shallots 64-84% from 2 washing cycles with capacity rate of 30 kg/cycle. The capacity of screw pressing machine was at 38.46 kg/hr and the extract yield of 0.47 liters/kg was obtained, while the vacuum filtration machine had a filtration rate of 40 liters/hr. The transparency of extract was increased about 80.5%. Shallot extracts could be partially purified by elution through an activated carbon column. It was found that this technique eliminated low molecular weight sugars by adsorption up to 91.93 %, resulting in the degree of polymerization (DP) of shallot extract decreased from 23 to 284, which was rich in oligosaccharides and polysaccharides, but the ABTS scavenging activity decreased from 51% to 12%. Moreover, the optimal technique for concentration of shallot extract was the vacuum evaporation, since the proportion of each FOS was not affected. The crude extract could inhibit growth of pathogenic *Salmonella* Typhimurium and *Staphylococcus aureus* with the minimum inhibitory (MIC) values of crude extract at

344 and 491 mg/ml, respectively, and only *Sal. Typhimurium* was disinfected by crude extract with the minimum bactericidal concentration (MBC) value at 442 mg/ml, while the extract could not disinfect *S. aureus*. In addition, it was found that the antimicrobial activity of extract against those pathogens was decreased after elution through activated carbon. The extract could stimulated the growth of probiotic strains; *Lactobacillus bugarius*, *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus johnsonii*. The production cost of FOS syrup from shallot was 0.75 Baht/ml. This research could conclude that the development of a semi-pilot scale process for FOS syrup from shallots was accomplished for further use as an ingredient in healthy food production.

Keywords : shallot extract, prebiotics, antioxidant activity, antibacterial activity, functional food



กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดีด้วยความกรุณาและความช่วยเหลือจากคณาจารย์ ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ไพโรจน์ วงศ์พุทธิสิน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ให้คำปรึกษา ข้อเสนอแนะ แนวคิด การเรียนรู้เทคนิคและประสบการณ์ตลอดระยะเวลาการปฏิบัติงานของข้าพเจ้าในห้องปฏิบัติการ ตลอดจนแก้ไขปรับปรุงปัญหาและข้อบกพร่องต่างๆ รวมถึงมีความเอาใจใส่ข้าพเจ้าอย่างดียิ่ง จนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ และข้าพเจ้าขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ดวงพร อมรเลิศพิศาล และ อ.ดร.จุฑามาศ มณีวงศ์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมในวิทยานิพนธ์ให้คำปรึกษา ข้อเสนอแนะ แนวคิดต่างๆ ตลอดระยะเวลาในการทำวิทยานิพนธ์ของข้าพเจ้า ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.อภิรักษ์ กันเปียงใจ อาจารย์ผู้ทรงคุณวุฒิที่ให้ความกรุณาเสนอแนะ ให้คำแนะนำ และให้คำปรึกษาเกี่ยวกับวิทยานิพนธ์จนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ ตลอดจนขอขอบคุณแหล่งทุนจากมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ผู้สนับสนุนหลักในการทำวิจัยครั้งนี้

ข้าพเจ้าขอขอบคุณบิดา มารดา และครอบครัวที่คอยให้การสนับสนุน ให้ความหวังใย ใส่ใจ ข้าพเจ้าจนทำวิจัยประสบความสำเร็จ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ นักวิทยาศาสตร์ และผู้มีส่วนร่วมทุกท่าน รวมถึงเพื่อนๆ ที่ช่วยให้คำแนะนำที่ดีมาตลอด และขอขอบคุณห้องปฏิบัติการ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้ความสะดวกแก่ข้าพเจ้าในการปฏิบัติงาน

ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่า วิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะมีประโยชน์อยู่ไม่มากนักน้อย คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากงานวิจัยในครั้งนี้ ข้าพเจ้าขอมอบส่วนดีทั้งหมดนี้ ให้แก่เหล่าคณาจารย์ บิดามารดา และผู้ที่เกี่ยวข้องทุกท่าน และข้าพเจ้ายินดีที่จะรับฟังคำแนะนำจากทุกท่านที่เข้ามาศึกษา เพื่อพัฒนา งานวิจัยต่อไป ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณมาไว้ที่นี้ด้วย

เปรมฤทัย ผ่านสอาด

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ช
สารบัญ	ฅ
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ค
บทที่ 1 บทนำ	1
วัตถุประสงค์.....	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและการตรวจเอกสาร	4
1. หอมแดง.....	4
2. สารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพของหอมแดง	6
3. น้ำตาลฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosaccharide; FOS) และอินูลิน (inulin).....	7
4. การสกัดอินูลินและ FOS จากหัวแก่่นตะวัน	12
5. การผลิต FOS จากอินูลิน.....	12
6. ข้อมูลสิทธิบัตรการผลิตน้ำตาล FOS และอินูลิน	13
7. การขยายกำลังการผลิต (scale up).....	17
8. การทำให้ผลิตภัณฑ์บริสุทธิ์.....	17
9. การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์.....	19
10. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	23
บทที่ 3 อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง	26

อุปกรณ์และสารเคมี.....	26
วิธีการทดลอง	30
1. การผลิตน้ำเชื่อม FOS จากหอมแดงในระดับห้องปฏิบัติการ.....	30
2. การออกแบบผังการผลิต และคัดเลือกหน่วยผลิตเพื่อขยายกำลังการผลิตสู่ระดับกิ่ง อุตสาหกรรม	32
3. การประเมินประสิทธิภาพของหน่วยผลิตน้ำเชื่อม FOS จากหอมแดง.....	33
4. การผลิตน้ำเชื่อม FOS จากหอมแดงในระดับกิ่งอุตสาหกรรม.....	34
5. การศึกษาคุณภาพของวัตถุดิบและน้ำสกัดหอมแดงระหว่างการเก็บรักษา	34
6. การศึกษากระบวนการที่เหมาะสมในการผลิตน้ำหอมแดงสกัดเข้มข้น	35
7. การทำบริสุทธิ์น้ำหอมแดงสกัด	36
8. การทดสอบคุณสมบัติฟิโบริโอติกของน้ำเชื่อม FOS ในการกระตุ้นการเจริญของเชื้อเดี่ยว	36
9. การวิเคราะห์ต้นทุนการผลิตน้ำเชื่อม FOS.....	37
10. สถิติที่ใช้ในการวิจัย	37
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์	38
1. คุณสมบัติทางเคมีและชีวภาพของหอมแดงในการผลิตในระดับห้องปฏิบัติการ	38
2. ผลการออกแบบและประกอบเครื่องมือการผลิตน้ำเชื่อม FOS ในระดับกิ่งอุตสาหกรรม.....	39
2.1. เครื่องล้างทำความสะอาดระบบน้ำหมุนวน	39
2.2. เครื่องคั้นสกัด	46
2.3. เครื่องกรองระบบสุญญากาศ	52
3. ผลการประเมินประสิทธิภาพของเครื่องมือในหน่วยผลิต.....	55
3.1. ผลการศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องล้างทำความสะอาด.....	55
3.2. ผลการศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องคั้นสกัด.....	59
3.3. ผลการศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องกรอง.....	59

4. คุณสมบัติทางเคมีและชีวภาพของน้ำหอมแดงสกัดที่ผลิตจากเครื่องมือระดับกึ่งอุตสาหกรรม	60
5. ผลการศึกษาการเก็บรักษา.....	64
5.1. คุณภาพวัตถุดิบ	64
5.2. น้ำหอมแดงสกัด	65
6. การศึกษากระบวนการที่เหมาะสมในการผลิตน้ำหอมแดงสกัดเข้มข้น	69
7. ผลของการทำให้น้ำสกัดหอมแดงบริสุทธิ์	73
8. การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค.....	79
9. การทดสอบคุณสมบัติฟิโอบีโอติกส์ของน้ำเชื่อม FOS ในการกระตุ้นการเจริญของเชื้อเดี่ยว.....	80
10. การวิเคราะห์ต้นทุนการผลิตน้ำเชื่อม FOS	82
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	87
ข้อเสนอแนะ.....	89
บรรณานุกรม.....	90
ภาคผนวก	96
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อ	97
ภาคผนวก ข การเตรียมและวิธีการวิเคราะห์ทางเคมี.....	100
ภาคผนวก ค การเตรียมและวิธีวิเคราะห์เอนไซม์อินเวอร์เทส.....	107
ประวัติผู้วิจัย	108

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 สายพันธุ์หอมแดงที่นิยมใช้ปลูกในประเทศไทย.....	4
ตารางที่ 2 คุณค่าทางโภชนาการของหัวหอม ต่อ 100 กรัม.....	5
ตารางที่ 3 แสดงปริมาณน้ำตาล FOS ทั้งหมดในพืชบางชนิด.....	9
ตารางที่ 4 แสดงปริมาณน้ำตาล FOS ในหัวหอมสายพันธุ์ต่างๆ.....	9
ตารางที่ 5 แสดงปริมาณ FOS ในน้ำผึ้ง Tualang ประเทศมาเลเซีย.....	10
ตารางที่ 6 แสดงปริมาณอินูลินในพืชบางชนิด ต่อน้ำหนักสด 100 กรัม.....	11
ตารางที่ 7 อุณหภูมิการเก็บของอาหารชนิดต่างๆ.....	20
ตารางที่ 8 อุณหภูมิในการพาสเจอร์ไรส์.....	21
ตารางที่ 9 ปริมาณน้ำตาล โปรตีนที่ละลายได้ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากน้ำหอมแดงสกัดคิดต่อ 1 กิโลกรัมของหอมแดงสด.....	39
ตารางที่ 10 ปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำล้างหัวหอมจากเครื่องล้างทำความสะอาด.....	55
ตารางที่ 11 ร้อยละการรอดชีวิตของเชื้อยีสต์ในน้ำล้างที่เติมสารและระดับความเข้มข้นต่างๆที่ทดลองในระดับปฏิบัติการ.....	57
ตารางที่ 12 ร้อยละของการรอดชีวิตของเชื้อยีสต์ในน้ำล้างจากเครื่องล้างทำความสะอาด.....	58
ตารางที่ 13 ค่าความขุ่น และปริมาณของแข็งทั้งหมดของน้ำสกัดที่ผ่านหน่วยกรอง.....	59
ตารางที่ 14 ประสิทธิภาพของหน่วยการผลิตในกระบวนการผลิตระดับกึ่งอุตสาหกรรมที่พัฒนาขึ้น.....	60
ตารางที่ 15 คุณสมบัติ และฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดน้ำตาลจากหัวหอมที่ผลิตเครื่องมือระดับกึ่งอุตสาหกรรม.....	61
ตารางที่ 16 คุณสมบัติของน้ำหอมแดงสกัดก่อนกรอง หลังกรอง และน้ำเชื่อมที่ผลิตจากเครื่องมือระดับกึ่งอุตสาหกรรม.....	61

ตารางที่ 17 สัดส่วนของปริมาณน้ำตาลฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์และน้ำตาลอื่นๆในน้ำหอมแดง สกัดวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC.....	62
ตารางที่ 18 ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย เชื้อยีสต์ และเชื้อราในน้ำหอมแดง	64
ตารางที่ 19 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และค่า DP ของน้ำสกัดหอมแดงที่เสริม ด้วยสารโพแทสเซียมซอร์เบทต่อการเก็บรักษา.....	66
ตารางที่ 20 ฤทธิ์กำจัดอนุโมลอิสระของน้ำสกัดหอมแดงที่เสริมด้วยโพแทสเซียมซอร์เบทที่ความ เข้มข้นต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษา.....	67
ตารางที่ 21 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียในน้ำสกัดหอมแดงที่เสริมด้วยโพแทสเซียมซอร์เบทระหว่างการ เก็บรักษา.....	68
ตารางที่ 22 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียในน้ำสกัดหอมแดงที่เสริมด้วยโพแทสเซียมซอร์เบทระหว่างการ เก็บรักษา.....	69
ตารางที่ 23 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และค่า DP ของน้ำเชื่อม FOS จากหอมแดงที่ผ่าน การทำให้เข้มข้นด้วยกระบวนการต่างๆ	70
ตารางที่ 24 สัดส่วนของน้ำตาลฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์และน้ำตาลอื่นๆในน้ำตาลสกัด FOS ด้วย เทคนิค HPLC	71
ตารางที่ 25 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำหอมแดงเมื่อผ่านทำให้บริสุทธิ์	73
ตารางที่ 26 ฤทธิ์กำจัดอนุโมลอิสระของน้ำหอมแดงเมื่อผ่านทำให้บริสุทธิ์ 8 รอบ	74
ตารางที่ 27 ฤทธิ์กำจัดอนุโมลอิสระของน้ำหอมแดงสกัดเมื่อผ่านทำให้บริสุทธิ์ โดยการหมักด้วยยีสต์	76
ตารางที่ 28 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และ DP ในน้ำหอมแดงสกัด ที่ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์อินเวอร์เทส	77
ตารางที่ 29 ค่า MIC ของสารสกัดน้ำตาลหอมแดงเริ่มต้นในการยับยั้งการเจริญของ E. coli, Sal. Typhimurium และ S. aureus.....	80
ตารางที่ 30 ผลต่างของค่าการเจริญของเชื้อ โพรไบโอติกและเชื้อก่อโรค	81
ตารางที่ 31 รายการแจกแจงต้นทุนคงที่ของอุปกรณ์ เครื่องมือ และเครื่องจักรสำหรับการเตรียม ผลิตภัณฑ์น้ำเชื่อมหอมแดงด้วยกระบวนการระดับปฏิบัติการ	83

ตารางที่ 32 รายการแจกแจงต้นทุนคงที่ของอุปกรณ์ เครื่องมือ และเครื่องจักรสำหรับการเตรียม ผลิตน้ำเชื่อมหอมแดงด้วยกระบวนการระดับกึ่งอุตสาหกรรมที่พัฒนาขึ้น.....	84
ตารางที่ 33 แสดงการแจกแจงต้นทุนวัตถุดิบการผลิตน้ำเชื่อมหอมแดงในกระบวนการระดับ ปฏิบัติการและกระบวนการผลิตในระดับกึ่งอุตสาหกรรมที่พัฒนาขึ้น.....	85
ตารางที่ 34 แสดงการแจกแจงต้นทุนเวลา สำหรับการเตรียมผลิตน้ำเชื่อมหอมแดงด้วยกระบวนการ ระดับปฏิบัติการและกระบวนการผลิตในระดับกึ่งอุตสาหกรรมที่พัฒนาขึ้น	85
ตารางที่ 35 แสดงการแจกแจงค่าแรงงาน สำหรับการเตรียมผลิตน้ำเชื่อมหอมแดงด้วยกระบวนการ ระดับปฏิบัติการและกระบวนการผลิตในระดับกึ่งอุตสาหกรรมที่พัฒนาขึ้น	85
ตารางที่ 36 สรุป และเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตน้ำเชื่อมหอมแดงด้วยกระบวนการระดับ ปฏิบัติการและกระบวนการผลิตในระดับกึ่งอุตสาหกรรมที่พัฒนาขึ้น.....	86



สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ ฟีนอล (a) ฟีนอลิก (b) และฟลาโวนอยด์ (c)	6
ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของ alliin (A) allicin (B) และ diallyl disulfide (C)	7
ภาพที่ 3 ลักษณะโครงสร้างทางเคมีของน้ำตาล FOSs ชนิดต่างๆ	8
ภาพที่ 4 แสดงโครงสร้างทางเคมีของอินูลิน	11
ภาพที่ 5 แผนภาพขั้นตอนการสกัดน้ำตาลอินูลินและ FOS จากหัวแก่นตะวัน	12
ภาพที่ 6 กระบวนการผลิต FOS จากวัตถุดิบที่อุดมด้วยอินูลินโดยวิธีไฮโครไลซิสด้วยเอนไซม์ ..	13
ภาพที่ 7 การผลิต FOS โดยการสังเคราะห์ด้วยเอนไซม์จากน้ำตาลซูโครส	13
ภาพที่ 8 แผนภาพแสดงขั้นตอนการสกัดน้ำตาล FOS ออกจากหัวหอมแขก	16
ภาพที่ 9 ชนิดของเครื่องมือที่ใช้ในการสกัดเชิงกล (A) เครื่องบีบอัดด้วยไฮดรอลิก (B) เครื่องบีบอัดแบบสกรู	19
ภาพที่ 10 ผังการผลิตและคัดเลือกหน่วยผลิตที่ควรมีการพัฒนาเพื่อขยายกำลังการผลิต	32
ภาพที่ 11 หัวหอมพันธุ์ศรีสะเกษ (A.) และน้ำตาลสกัดที่สกัดได้จากหอมแดง (B.)	38
ภาพที่ 12 แบบฐานยึดมอเตอร์เครื่องล้างทำความสะอาด	39
ภาพที่ 13 แบบฐานยึดเกียร์เครื่องล้างทำความสะอาด	40
ภาพที่ 14 แบบฐานยึดเกียร์เครื่องล้างทำความสะอาด	40
ภาพที่ 15 แบบแผ่นพับถังเครื่องล้างทำความสะอาด	41
ภาพที่ 16 แบบโครงสร้างแกนเลสเครื่องล้างทำความสะอาด	41
ภาพที่ 17 แบบแผ่นกั้นถังเครื่องล้างทำความสะอาด	42
ภาพที่ 18 แบบแผ่นปิดด้านข้างเครื่องล้างทำความสะอาด	42
ภาพที่ 19 แบบแผ่นฝาขอบด้านบนถังเครื่องล้างทำความสะอาด	43

ภาพที่ 20 แบบเสื้อซีลกันน้ำเครื่องล้างทำความสะอาด.....	43
ภาพที่ 21 แบบประกอบเครื่องล้างทำความสะอาด.....	44
ภาพที่ 22 เครื่องล้างทำความสะอาด เครื่องด้านหน้า (A.) แผงควบคุมด้านบน (B.) ภายในถังล้าง (C.)	45
ภาพที่ 23 แบบโครงเครื่องสกัด.....	46
ภาพที่ 24 แบบ HOUSING รอบใน (A.) และรอบนอก (B.) ของเครื่องสกัด.....	46
ภาพที่ 25 แบบประกอบ HOUSING ของเครื่องสกัด.....	47
ภาพที่ 26 แบบแผ่นตัดพับกล่องคอนโทรลเครื่องสกัด.....	47
ภาพที่ 27 แบบแผ่นตัดพับกล่องคอนโทรลเครื่องสกัด.....	48
ภาพที่ 28 แบบแผ่นตัดพับกล่องคอนโทรลเครื่องสกัด.....	48
ภาพที่ 29 แบบฝาปิดถังระบบน้ำหล่อเย็นเครื่องสกัด.....	49
ภาพที่ 30 แบบเพลทเครื่องสกัด.....	49
ภาพที่ 31 แบบเพลทเครื่องสกัด.....	50
ภาพที่ 32 แบบเพลทเครื่องสกัด.....	50
ภาพที่ 33 เครื่องสกัด (เครื่องสกรูเพรส)	51
ภาพที่ 34 แบบประกอบโครงถังเครื่องกรองระบบสุญญากาศ.....	52
ภาพที่ 35 แบบแผ่นด้านหน้า และด้านหลังโครงถังเครื่องกรองระบบสุญญากาศ.....	52
ภาพที่ 36 แบบประกอบเครื่องกรองระบบสุญญากาศ.....	53
ภาพที่ 37 เครื่องกรองระบบสุญญากาศ.....	54
ภาพที่ 38 ความหนาแน่นของเซลล์ยีสต์ในน้ำล้างประกอบด้วย น้ำกลั่น (A.) โซเดียมคลอไรด์ (B.) โซเดียมไบคาร์บอเนต (C.) และ โซเดียมไฮโปคลอไรท์ (D.) ที่ทดลองในระดับปฏิบัติการ	56
ภาพที่ 39 ความหนาแน่นของเซลล์ยีสต์ในน้ำล้างหอมแดงที่เสริมด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 50 ppm จากเครื่องล้างทำความสะอาด.....	58
ภาพที่ 40 กากหัวหอมจากเครื่องล้างสกัด.....	59

ภาพที่ 41 TLC ของน้ำสกัดหอมแดงเทียบกับน้ำตาลมาตรฐาน (Std.) น้ำสกัดหอมแดงก่อนการกรอง (Lane 1) น้ำสกัดหอมแดงหลังการกรอง (Lane 2) และน้ำเชื่อมหัวหอม (Lane 3).....62

ภาพที่ 42 โครมาโตแกรมของน้ำตาลมาตรฐาน (A) น้ำหอมแดงสด (B) น้ำสกัดระดับปฏิบัติการ (C) น้ำสกัดจากระดับกิ่งอุตสาหกรรม (D) น้ำเชื่อมหอมแดง(E) เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC63

ภาพที่ 43 ลักษณะโคโลนีของเชื้อในหัวหอม เชื้อแบคทีเรีย (A.) เชื้อยีสต์ (B.) และเชื้อรา (C.)65

ภาพที่ 44 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสารต้านอนุมูลอิสระกับเวลาการเก็บรักษา67

ภาพที่ 45 ปริมาณของเชื้อแบคทีเรีย (A.) และเชื้อยีสต์ (B.) ในน้ำสกัดหอมแดงเสริมด้วยโพแทสเซียมซอร์เบทระหว่างการเก็บรักษา68

ภาพที่ 46 องค์ประกอบของน้ำตาลในน้ำหอมแดงสกัดเทียบกับน้ำตาลมาตรฐาน (Lane M) น้ำตาลสกัดหอมแดงเริ่มต้น (Lane 1) น้ำตาลสกัด FOS ที่ทำให้เข้มข้นด้วยวิธีการแช่แข็ง (Lane 2) และ 3) การระเหยความร้อน 80 °c (Lane 4) และการระเหยในสภาวะสุญญากาศ (Lane 5).....70

ภาพที่ 47 โครมาโตแกรมของน้ำตาลมาตรฐาน (A) น้ำหอมแดงสกัดก่อนผ่านขั้นตอนการทำให้เข้มข้น (B) น้ำเชื่อม FOS ทำให้เข้มข้นด้วยการแช่แข็ง (C) การระเหยด้วยความร้อน (D) การระเหยในสภาวะสุญญากาศ (E) เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC72

ภาพที่ 48 TLC ของน้ำตาลสกัด FOS เมื่อผ่านคอลัมน์ของถ่านกัมมันต์ในแต่ละรอบเทียบกับน้ำตาลมาตรฐาน (Std.) และน้ำตาลสกัดเริ่มต้น (Lane 0) น้ำตาลสกัดเมื่อผ่านทำให้บริสุทธิ์ 8 ขั้นตอน (Lane 1-8).....74

ภาพที่ 49 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และค่า DP ของน้ำสกัดหอมแดงที่ทำให้บริสุทธิ์โดยการหมักด้วยยีสต์ IR1(■) และ IR5(■)75

ภาพที่ 50 องค์ประกอบน้ำตาลในน้ำสกัดหอมแดงเทียบกับน้ำตาลมาตรฐาน (Std.) น้ำสกัดหอมแดงที่หมักด้วยยีสต์ที่เวลา 0 3 6 9 12 15 18 21 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ (Lane 1-9)76

ภาพที่ 51 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และค่า DP ของน้ำสกัดหอมแดงที่ทำให้บริสุทธิ์ด้วยเอนไซม์อินเวอร์เทส78

ภาพที่ 52 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำตาลด้วยเทคนิค TLC น้ำตาลมาตรฐาน (Lane M) น้ำหอมแดงไม่เติมเอนไซม์อินเวอร์เทส (Lane 1-5) น้ำหอมแดงบ่มด้วยเอนไซม์อินเวอร์เทส 100 ul

(Lane 6-10) เอนไซม์อินเวอร์เทส 200 ul (Lane 11-15) เอนไซม์อินเวอร์เทส 300 ul (Lane 16-20) และเอนไซม์อินเวอร์เทส 400 ul (Lane 21-25) ที่เวลา 0 15 30 45 และ 60 นาที ตามลำดับ.....	79
ภาพที่ 53 ผลต่างของค่าการเจริญของเชื้อโพรไบโอติกและเชื้อก่อโรคในอาหาร basal medium ที่มี carbon source ต่างกัน	82
ภาพที่ 54 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลฟรุกโตสที่ความเข้มข้น 0-250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร.....	101
ภาพที่ 55 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลฟรุกโตสที่ความเข้มข้น 0-2000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร.....	102
ภาพที่ 56 กราฟมาตรฐานของสารละลาย Bovine serum albumin (BSA) ที่ความเข้มข้น 0-100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร	106



บทที่ 1

บทนำ

พืชตระกูลหัวหอม โดยเฉพาะหอมแดง (*Allium ascalonicum* Linn.) เป็นพืชที่มีการสะสมน้ำตาลกลุ่มฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosaccharide, FOS) ในปริมาณสูง ซึ่งน้ำตาลกลุ่มนี้ได้รับการยอมรับว่าเป็นสารพรีไบโอติก (prebiotics) ที่มีประสิทธิภาพ สามารถกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียพรีไบโอติก (probiotics) ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งพรีไบโอติกในจีนัส *Lactobacillus* sp. และ *Bifidobacterium* sp. ซึ่งได้รับการยอมรับว่าเป็นพรีไบโอติกที่มีประโยชน์สูงต่อผู้บริโภคเช่นกัน ส่งผลทำให้สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อก่อโรคและเกิดสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ได้ในที่สุด อีกทั้งในหอมแดงยังประกอบด้วยสารประกอบกำมะถัน (organosulfur) สารประกอบโพลีฟีนอล (phenolic compounds) และฟลาโวนอยด์ (flavonoid) สารดังกล่าวมีบทบาททางการแพทย์หลายประการ เช่น ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ บทบาทในการต่อต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรคและต่อต้านพยาธิ *Thichinella spiralis* (Abu, 2005) มีรายงานว่าสามารถส่งผลให้ลดระดับน้ำตาลกลูโคส ไตรเอซิลกลีเซอรอล (triacylglycerol) และคอเลสเตอรอลชนิดแอลดีแอล (LDL cholesterol) ในเลือดได้ด้วย สุขภาวะที่ดีจึงเกิดขึ้นแก่ผู้บริโภคได้ พบว่าน้ำตาล FOS ทางการค้าส่วนใหญ่ผลิตจากหัวชิโครี่ (chicory root) และหัวแก่นตะวัน (Jerusalem artichoke) โดยอาศัยกระบวนการสกัด และบางส่วนผลิตได้จากกระบวนการสังเคราะห์ด้วยเอนไซม์กลุ่ม fructosyltransferase โดยใช้น้ำตาลซูโครสเป็นสับสเตรท

งานวิจัยจากห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้พบว่าหัวหอมมีน้ำตาล FOS สะสมในปริมาณสูง และเบื้องต้นพบว่าสามารถกระตุ้นการเจริญของพรีไบโอติกสายพันธุ์ *Lactobacillus casei* และ *Enterococcus faecium* ได้ (Wongputtisin, 2003) ต่อมาจึงได้พัฒนากระบวนการสกัดน้ำตาลกลุ่ม FOS จากหัวหอมแขกและยื่นขอจดสิทธิบัตรเรื่อง “กรรมวิธีการเตรียมน้ำตาลสกัดจากพืชตระกูลหัวหอม” (เลขที่คำขอ 1601006677 ยื่นวันที่ 4 พฤศจิกายน 2559) แล้วแต่เป็นเพียงกระบวนการในระดับห้องปฏิบัติการ โดยพบปัญหาในการผลิต เช่น ได้ผลผลิตที่ต่ำ และน้ำสกัดที่ได้มีน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบในหัวหอมไม่ได้มีเพียงกลุ่ม FOS เท่านั้น แต่ยังมีน้ำตาลกลูโคส ฟรุกโตส และซูโครส และมีโปรตีนเป็นส่วนประกอบด้วย องค์ประกอบเหล่านี้นอกจากถูกแบคทีเรียพรีไบโอติกนำไปใช้เพื่อการเจริญได้แล้ว ยังถูกนำไปใช้ได้โดยเชื้อก่อโรคด้วย นอกจากนี้ในการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพเบื้องต้นของน้ำสกัดที่ผลิตได้ สามารถนำไปต่อยอดพัฒนาเป็นนวัตกรรมอาหารฟังก์ชันเพื่อสุขภาพอีกมากมาย ยกตัวอย่างเช่น ใช้เป็นส่วนผสมใน

ผลิตภัณฑ์ไส้กรอก หมูยอ น้ำสลัด เป็นต้น หรือแม้กระทั่งการแปรรูปให้อยู่ในรูปแบบแคปซูลสำหรับบริโภคโดยตรง อาหารเหล่านี้สามารถตอบสนองความต้องการของผู้บริโภคยุคปัจจุบันที่ใส่ใจสุขภาพมากขึ้น จนทำให้ตลาดของผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพเติบโตอย่างรวดเร็วซึ่งรวมถึงในประเทศไทยด้วย อีกทั้งในปัจจุบัน รัฐบาลก็ได้ให้การสนับสนุนการศึกษาวิจัยด้านนวัตกรรมอาหารอย่างเป็นรูปธรรม อีกทั้งคาดว่าจะเกิดประโยชน์แก่ภาคเกษตรกรรมและอุตสาหกรรมอาหารเป็นอย่างมาก เนื่องจากการช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับผลผลิตทางการเกษตร อีกทั้งเป็นปัจจัยก่อให้เกิดการพัฒนา นวัตกรรมอาหารอีกมากมายจากการใช้น้ำเชื่อม FOS จากหัวหอมเป็นส่วนประกอบ

จากข้อมูลข้างต้นจึงเป็นที่มาของงานวิจัยนี้ ที่มุ่งศึกษากระบวนการสกัดน้ำตาลกลุ่ม FOS สู่อุตสาหกรรมเชิงพาณิชย์ในหอมแดงสายพันธุ์ศรีสะเกษ ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่นิยมปลูกในประเทศ และถือเป็นสินค้าเกษตรที่ประเทศไทยมีศักยภาพในการผลิตสูง มีองค์ประกอบและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลากหลายชนิดที่มีความน่าสนใจและมีแนวโน้มในการสกัดสารกลุ่ม FOS ที่มีคุณภาพได้ อีกทั้งหอมแดงยังมีการศึกษาวิจัยค่อนข้างจำกัด จึงต้องมีการศึกษาการขยายกำลังการผลิตสู่ระดับกึ่งอุตสาหกรรม ตลอดจนการทำให้สารสกัดมีความบริสุทธิ์ที่สูงขึ้น ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยครั้งนี้คือเพื่อพัฒนากระบวนการผลิตน้ำเชื่อม FOS เข้มข้นจากหอมแดงในระดับกึ่งอุตสาหกรรม ศึกษากระบวนการทำให้บริสุทธิ์ และศึกษาคุณสมบัติทางเคมี กายภาพ และชีวภาพบางประการของน้ำเชื่อม FOS ที่ผลิตขึ้น เพื่อเพิ่มความเป็นไปได้และขีดความสามารถในการผลิตน้ำตาล FOS จากพืชตระกูลหัวหอม รองรับการต่อยอดใช้ประโยชน์ในการพัฒนานวัตกรรมอาหารเพื่อสุขภาพชนิดใหม่

วัตถุประสงค์

1. เพื่อพัฒนากระบวนการผลิตน้ำเชื่อม FOS ในระดับกึ่งอุตสาหกรรมจากหอมแดง
2. เพื่อศึกษากระบวนการทำให้น้ำเชื่อม FOS ที่ได้มีความบริสุทธิ์
3. เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางเคมี กายภาพ และชีวภาพบางประการของน้ำเชื่อม FOS ที่ผลิตได้จากกระบวนการที่พัฒนาขึ้น

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

งานวิจัยชิ้นนี้ คาดว่าจะเกิดประโยชน์แก่ภาคเกษตรกรรมและอุตสาหกรรมอาหาร โดย

1. ภาคเกษตรกรรม เป็นการเพิ่มความต้องการการใช้ประโยชน์และบริโภคหอมแดง อันเป็นกลไกตลาดที่ผลักดันราคาของหัวหอมในท้องตลาดได้
2. ภาคอุตสาหกรรมอาหาร ทำให้ได้กระบวนการที่มีประสิทธิภาพในการแปรรูปสินค้าเกษตรให้มีมูลค่าสูงขึ้น โดยในงานวิจัยนี้เป็นกระบวนการผลิตน้ำเชื่อมหอมแดงที่อุดมด้วยน้ำตาล FOS ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่มีคุณสมบัติเชิงหน้าที่ (functional ingredient) สำหรับนำไปพัฒนาต่อยอดเชิงนวัตกรรมอาหารอีกมากมาย เช่น สามารถยกระดับอาหารในชีวิตประจำวันและอาหารในท้องถิ่นให้กลายเป็นอาหารที่มีคุณสมบัติเชิงหน้าที่ มีจุดขาย มีคุณประโยชน์ต่อสุขภาพ และสามารถพัฒนาต่อยอดไปในเชิงพาณิชย์ได้

บทที่ 2

ทฤษฎีและการตรวจเอกสาร

1. หอมแดง

หอมแดงมีชื่อวิทยาศาสตร์ *Allium ascalonicum* Linn. จัดอยู่ในวงศ์ Amaryllidaceae เป็นพืชที่มีรากตั้ง ลำต้นมีลักษณะสั้นและอวบ (fleshy) ส่วนที่ใช้บริโภคและขยายพันธุ์คือหัวซึ่งเจริญใต้ดิน และเมล็ดมีสีดำขนาดเล็กมากเป็นอีกส่วนที่ใช้ขยายพันธุ์ ปัจจุบันมีสายพันธุ์หอมแดงที่ใช้ปลูกโดยทั่วไป 4 พันธุ์ แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สายพันธุ์หอมแดงที่นิยมใช้ปลูกในประเทศไทย

ชื่อสามัญ	ลักษณะเด่น
พันธุ์ศรีสะเกษ	เปลือกหนาสีม่วงแดง หัวกลมป้อม กลิ่นฉุน รสหวาน ใบสีเขียวมรกต นิยมปลูกมากในจังหวัดศรีสะเกษ
พันธุ์เชียงใหม่	เปลือกบาง สีส้มอ่อน หัวกลมรี กลิ่นไม่ฉุนจัด มีส่วนสูงมากกว่าส่วนกว้าง รสหวานหัวจะแยกเป็นกลีบชัดเจน ไม่มีเปลือกหุ้ม ใบสีเขียว นิยมปลูกมากในจังหวัดอุดรธานี และเชียงใหม่
พันธุ์บางช้าง	เปลือกนอกสีม่วงแดง แต่มีสีจางกว่าพันธุ์ศรีสะเกษ หัวกลมโต กลิ่นฉุน
พันธุ์สีขาว	เปลือกสีขาวหรือขาวอมเหลือง กลิ่นไม่ฉุน รสหวาน

ที่มา: สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2562.

โดยหอมแดงจะปลูกหลังฤดูทำนาช่วงที่ปลูกได้ผลดีจะมี 2 ช่วงคือ ฤดูฝน และฤดูแล้ง สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญและให้ผลผลิตที่มีคุณภาพของหอมแดง อุณหภูมิเฉลี่ยที่เหมาะสมประมาณ 20-35 องศาเซลเซียส เจริญได้ในทุกสภาพดิน เจริญดีที่สุดในดินร่วนปนทราย หอมแดงต้องการน้ำตลอดระยะเวลาการเพาะปลูก (กรมวิชาการเกษตร, 2545) หอมแดงมีอายุแก่จัดพร้อมเก็บเกี่ยวประมาณ 45-50 วัน และต้องงดการให้น้ำก่อนเก็บเกี่ยว 5-7 วัน โดยหอมแดงที่มีคุณภาพและราคาสูงสังเกตจาก หัวจะมีความแห้ง แดงมัน ใบแห้ง หัวสีแดงเข้ม รากไม่เน่า และหลังจากเก็บเกี่ยวจำเป็นต้องแขวนภายในโรงเรือนที่มีการระบายอากาศที่ดี ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 60-70 อุณหภูมิต่ำและความชื้นสัมพัทธ์นี้เป็นปัจจัยช่วยให้หอมแดงพักตัว ซึ่งจะสามารถเก็บได้นาน 8-10 เดือน ถ้ามีความชื้นสูงกว่าร้อยละ 70 และอุณหภูมิสูงกว่า 10 องศาเซลเซียส จะส่งผลให้

หอมแดงมีการสร้างหน่อ ราก และการพักตัวลดลง (กรมวิชาการเกษตร, 2551) หอมแดงเป็นที่ต้องการของตลาดต่างประเทศที่นิยมอาหารไทย เช่น ยุโรป ญี่ปุ่น อินโดนีเซีย มาเลเซีย จีน โดยพื้นที่ปลูกหอมแดงทั้งประเทศรวม 61,203 ไร่ ผลผลิตรวม 118,055 ตัน ผลผลิตเฉลี่ย 2,012 กิโลกรัมต่อไร่ ปลูกมากที่สุดคือจังหวัดศรีสะเกษ 22,796 ไร่ เชียงใหม่ปลูก 12,427 ไร่ และพะเยาปลูก 8,994 ไร่ (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2562)

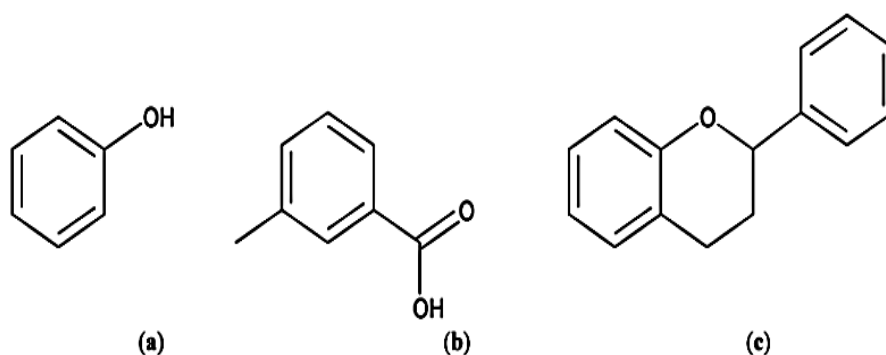
ตารางที่ 2 คุณค่าทางโภชนาการของหัวหอม ต่อ 100 กรัม

รายการ	ปริมาณ	หน่วย
น้ำ	79.8	g
พลังงาน	72	kcal
โปรตีน	2.5	g
ไขมันทั้งหมด	0.1	g
คาร์โบไฮเดรต	16.8	g
เส้นใยอาหาร	3.2	g
น้ำตาลรวม (รวมทั้ง NLEA)	7.87	g
แคลเซียม, Ca	37	mg
เหล็ก, Fe	1.2	mg
แมกนีเซียม, Mg	21	mg
ฟอสฟอรัส, P	60	mg
โพแทสเซียม, K	334	mg
โซเดียม, Na	12	mg
สังกะสี, Zn	0.4	mg
แมงกานีส, Mn	0.292	mg
ซีลีเนียม, Se	1.2	µg
วิตามินซี	8	mg
วิตามินบี 6	0.345	mg
วิตามินเอ	4	IU
กรดแพนโทเทนิค	0.29	mg
โฟเลตรวม	34	µg
ลูทีน+ซีแซนทีน	8	µg

ที่มา: USDA Nutrient database

2. สารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพของหอมแดง

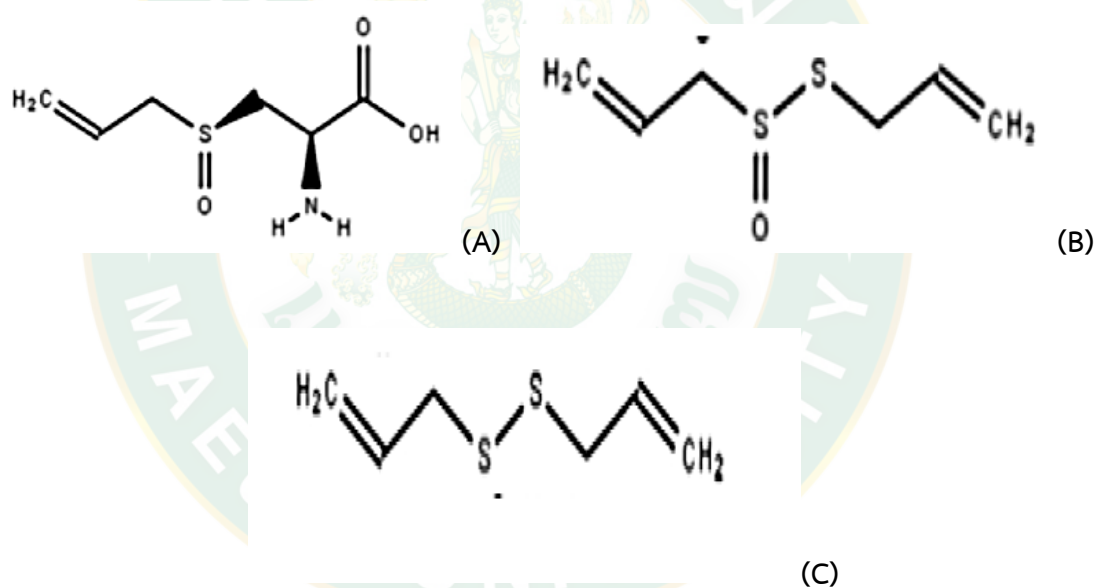
หอมแดงจะมีส่วนประกอบของสารสำคัญที่เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่าง ๆ อยู่มากมาย ส่วนมากเป็นองค์ประกอบของน้ำมันหอมระเหย และสารประกอบฟีนอลิกในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่เป็นที่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูง และสารที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ (Parvu *et al.*, 2014) ด้านเซลล์มะเร็ง สารสำคัญที่ทำให้เกิดกลิ่น คือ โพรพิลซัลไฟด์ (propyl disulfide) ส่วนสารสำคัญที่ช่วยลดปริมาณไขมัน และน้ำตาลกลูโคสในเลือด คือ โพรพิล-อัลลิล ไดซัลไฟด์ (propyl-allyl disulfide) และ ไดโพรพิล ไดซัลไฟด์ (dipropyl disulfide)



ภาพที่ 1 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ ฟีนอล (a) ฟีนอลิก (b) และฟลาโวนอยด์ (c)

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าสารประกอบสำคัญในหอมแดงที่ออกฤทธิ์ได้แก่สารในกลุ่ม organosulfur ประกอบด้วย alliin, allicin, และ diallyl disulfide ซึ่งสารกลุ่มนี้จะทำให้เกิดกลิ่นอันเป็นเอกลักษณ์ในหอมแดง อีกทั้งยังมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ปรสิตและไวรัสได้ ยับยั้งการแสดงออกของยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการการอักเสบ (iNOS, TNF- α , IL-1 β และ IL-6) และ ยับยั้งการแพร่กระจายและการเจริญเติบโตของเซลล์เนื้องอก (HeLa และ MCF-7) (Hamid-Reza *et al.*, 2011; Mnayer *et al.*, 2014; Sakaewan *et al.*, 2019; Werawattanachai *et al.*, 2015) และกลไกที่น่าจะมีบทบาทสำคัญในการต่อต้านพยาธิคือ กลไกการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของเจ้าบ้าน (host) จากการศึกษาของ Patya *et al.* (2004) ที่ศึกษาบทบาทของ allicin ซึ่งสกัดจากกระเทียมที่เป็นพืชตระกูลเดียวกับหอมแดง พบว่าสารดังกล่าวสามารถกระตุ้น cell-mediated cytotoxicity ใน peripheral blood mononuclear cell (PBMC) ของคน และยังสามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวน (proliferation) ของ PBMC ที่ได้จากตับของหนูและคนได้ นอกจากนี้จะมีคุณสมบัติในการกระตุ้นให้เกิดการเพิ่มจำนวนของเซลล์แล้ว สารสกัดนี้ยัง

มีสมบัติเป็นสารเสริมช่วยในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของเจ้าบ้านอีกด้วย อีกทั้งยังมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของตัวพยาธิโดยตรง (Morioka *et al.*, 1993; Mirelman *et al.*, 1987) นอกจากนี้ การศึกษาพบว่าสารสกัดหอมแดงสามารถยับยั้งการแตกของเม็ดเลือดแดงและยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อมาลาเรียในหนูทดลองได้อีกด้วย และการศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหอมแดงต่อการป้องกันความเสียหายของอวัยวะต่าง ๆ ของร่างกายจากภาวะออกซิไดซ์เกินสมดุล(Oxidative stress) พบว่า สารสกัดหอมแดงสามารถป้องกันความเสียหายของอวัยวะสำคัญ ๆ ได้ เช่น ตับและไต จากการเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะออกซิเดชันด้วยสารเคมีและการติดเชื้อแบคทีเรีย โดยมีรายงานว่าสารสกัดหอมแดงหยาบ 3,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม มีฤทธิ์ป้องกันความเสียหายของตับและไตจากการติดเชื้อมาลาเรียในหนูทดลองได้ (วรวิทย์และคณะ, 2558; Fattorusso *et al.*, 2002; Fehrest *et al.*, 2012; *et al.*, 2011)



ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของ alliin (A) allicin (B) และ diallyl disulfide (C)

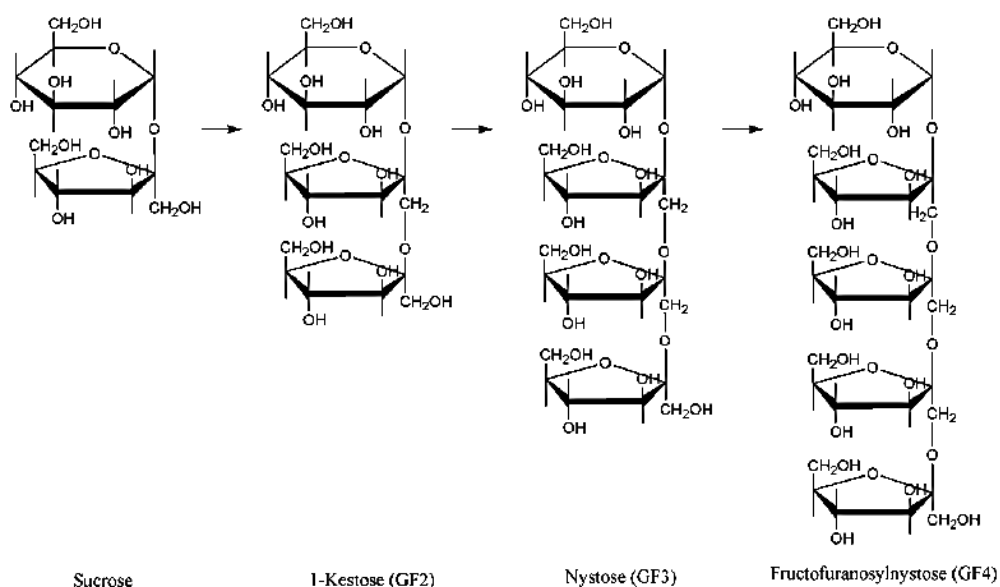
ที่มา: ดัดแปลงจาก Dery *et al.*, 2020.

3. น้ำตาลฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosaccharide; FOS) และอินูลิน (inulin)

น้ำตาล FOS เป็นน้ำตาลชนิดโอลิโกแซคคาไรด์ที่ประกอบไปด้วยหน่วยของน้ำตาลฟรุคโตส (D-fructose) เชื่อมต่อกันอยู่ด้วยพันธะ β -(2, 1) และที่ส่วนปลายจะปิดท้ายด้วยน้ำตาลกลูโคส (D-glucose) ชนิดของน้ำตาล FOS จะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับจำนวนหน่วยของน้ำตาลฟรุคโตส ในโมเลกุล มีจำนวนหน่วยของน้ำตาลฟรุคโตสตั้งแต่ 2 หน่วยและมีชื่อเรียกต่างกันไป ชนิดและลักษณะโครงสร้างของน้ำตาล FOS แสดงดังภาพที่ 3 (Sabater *et al.*, 2008) กรณีของน้ำตาลคีสโตส (kestose) จะมี

ค่า specific rotation และค่าอุณหภูมิการหลอมตัว (melting temperature) เท่ากับ 28.5 และ 199-200 องศาเซลเซียส ตามลำดับ (Yun, 1996) น้ำตาล FOS ไม่เป็นสารก่อมะเร็ง ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในทางเดินอาหาร เช่น *Bifidobacterium* ช่วยลดคอเลสเตอรอล ฟอสโฟลิปิด และไตรกลีเซอไรด์ในเลือดได้ (Kim *et al.*, 1998; Fernandez *et al.*, 2007) นอกจากนี้ยังพบว่าไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ ไม่สามารถย่อยได้ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์และมีรสหวานและพลังงานต่ำกว่าซูโครส ส่งผลให้ไม่มีการดูดซึมในลำไส้เล็ก ซึ่งลำไส้เล็กของมนุษย์ไม่มีเอนไซม์ที่จะไฮโดรไลซ์ได้ และเกิดการหมักในลำไส้ใหญ่ ดังนั้น FOS จึงเป็นอาหารที่ย่อยไม่ได้ในลำไส้เล็กของมนุษย์แต่สามารถย่อยได้ด้วยจุลินทรีย์ที่ดีในลำไส้ได้ (Campbell *et al.*, 1997) ซึ่งล้วนเป็นคุณสมบัติที่ดีของสารพรีไบโอติก

ในธรรมชาติพบน้ำตาล FOS ได้ในพืชชั้นสูงทั่วไป เช่น ข้าวไรย์ ข้าวสาลี หอมหัวใหญ่ กระเทียม อาติไซค์ หน่อไม้ฝรั่ง ลูกแก้วมังกร กล้วย มะเขือเทศ เป็นต้น ส่วนใหญ่ที่ใช้ในท้องตลาดมักสกัดจากหัวชิคอร์รี่ หรือมีการสังเคราะห์ จากน้ำตาลซูโครสโดยใช้เอนไซม์ฟรุกโตซิลทรานสเฟอเรส (β -D-fructosyltransferase; FTF) จากจุลินทรีย์ (Yun, 1996; Maiorano *et al.*, 2008) กลไกการสังเคราะห์ FOS จากน้ำตาลซูโครสนั้นพบว่าเริ่มต้นจะมีการสลายพันธะระหว่างโมเลกุลน้ำตาลกลูโคสและซูโครสออกจากกัน จากนั้นย้ายฟรุกโตส (donor) ไปยังซูโครส (acceptor) หรือ FOS โมเลกุลอื่นๆ



ภาพที่ 3 ลักษณะโครงสร้างทางเคมีของน้ำตาล FOSs ชนิดต่างๆ

ที่มา: ดัดแปลงจาก Tathiana *et al.*, 2008.

ปัจจุบันนิยมนำ FOS มาเสริมในอาหารทางการแพทย์และอาหารเชิงหน้าที่ เนื่องจากมีผลที่ดีต่อร่างกาย โดยมีรายงานว่า เมื่อรับประทาน FOS ในขนาดเพียง 4-8 กรัมต่อวัน จะทำให้เกิด bifidogenic effect หรือ prebiotic effect ซึ่งเป็นผลจาก FOS ที่เสริมการเจริญเติบโตของ bifidobacteria และยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคในลำไส้ ส่งผลให้เกิดความสมดุล นอกจากนี้ FOS ยังส่งผลต่อระบบขับถ่าย การเจริญของเยื่อบุลำไส้ ระดับน้ำตาลในเลือด ระดับไขมันในเลือด และปริมาณสารพิษจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของแบคทีเรียด้วย (วรรณกุล, 2556)

ปริมาณน้ำตาล FOS ในหัวหอม น้ำผึ้ง และผักบางชนิด แสดงในตารางที่ 3-5 ตามลำดับ

ตารางที่ 3 แสดงปริมาณน้ำตาล FOS ทั้งหมดในพืชบางชนิด

พืช	ปริมาณ FOS (%)
ข้าวสาลี	1-4
หัวหอม	2-6
กระเทียมต้น (leek)	2-5
กระเทียม	3-6
อาร์ติโชค	<1
หน่อไม้ฝรั่ง	2-3
กล้วย	0.3-0.7
แก่นตะวัน	16-20
รากชิโครี	5-10

ที่มา: Maiorano *et al.*, 2008.

ตารางที่ 4 แสดงปริมาณน้ำตาล FOS ในหัวหอมสายพันธุ์ต่างๆ

สายพันธุ์	Kestose (g/kg)	Nystose (g/kg)	GF4	ปริมาณรวม (g/kg)
Sturan	73.2	55.4	12.2	140.8
Hysam	74.7	54.2	9.8	138.7
Durco	61.2	28.5	7.2	96.8
Grano de oro	10.4	12.8	ND	23.3

ที่มา: Jaime *et al.*, 2001.

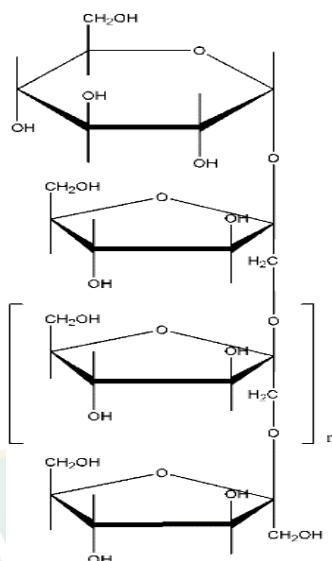
ตารางที่ 5 แสดงปริมาณ FOS ในน้ำผึ้ง Tualang ประเทศมาเลเซีย

FOS	Wild Tualang	Common wild honey	Commercial Tualang
Inulobiose (DP2)	0.018	ND	ND
Kestose (DP3)	ND	0.023	ND
Nystose (DP4)	0.004	0.035	0.001
Total fructan	0.022	0.058	0.001

ที่มา: Jai Mei *et al.*, 2010.

อินูลินเป็นโพลีแซคคาไรด์ชนิดหนึ่งในกลุ่มฟรุคแทน (fructan) ที่ประกอบขึ้นมาจากน้ำตาลฟรุคโตสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเคมีชนิด $\beta(2\rightarrow1)$ แล้วที่ปลายรีดิวซ์เชื่อมต่อกับน้ำตาลกลูโคสด้วยพันธะ $\beta(1\rightarrow2)$ ซึ่งเหมือนกันกับโครงสร้างของน้ำตาล FOS แต่ความแตกต่างคือ อินูลินมีน้ำตาลฟรุคโตสต่อกันเป็นสายที่ยาวกว่า FOS โดยมีจำนวนหน่วยน้ำตาลตั้งแต่ 10 จนถึงประมาณ 60 หน่วยและบางโครงสร้างอาจมีน้ำตาลกลูโคสเชื่อมที่ปลายสายด้วย อินูลินพบได้ทั่วไปในพืชกลุ่มเดียวกับที่มีน้ำตาล FOS สะสมอยู่ ขนาดความยาวของอินูลินและปริมาณขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ระยะเวลาการเก็บเกี่ยว และกระบวนการเก็บรักษา อย่างไรก็ตาม อินูลินที่ผลิตออกขายในเชิงการค้า นั้นได้มีการสกัดมาจากรากชิโครีและหัวแก่นตะวัน โครงสร้างทางเคมีโดยทั่วไปของอินูลิน แสดงดังภาพที่ 4

หากโมเลกุลอินูลินมีน้ำตาลกลูโคสเชื่อมต่อกับน้ำตาลฟรุคโตสที่ปลายรีดิวซ์แล้ว จะทำให้สูญเสียคุณสมบัติการเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ เนื่องจากไม่หลงเหลือหมู่อัลดีไฮด์ (aldehyde) หรือคีโตน (ketone) ในการทำปฏิกิริยา แต่หากไม่มีน้ำตาลกลูโคสที่ปลายรีดิวซ์นั้น อินูลินจะมีคุณสมบัติเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับหมู่อะมิโน (amino group) และน้ำ เกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด (maillard reaction) ทำให้อาหารมีสีน้ำตาลเข้มขึ้น และคุณค่าทางโภชนาการลดลง (Mensink *et al.*, 2015)



ภาพที่ 4 แสดงโครงสร้างทางเคมีของอินูลิน

ที่มา: Tathiana *et al.*, 2015

จากการศึกษาของ Vorasoot *et al.* (2006) ได้รวบรวมสายพันธุ์ Jerusalem artichoke หลายสายพันธุ์จากต่างประเทศ เพื่อนำมาปรับปรุงสายพันธุ์ให้สามารถปลูกได้และมีผลผลิตสูงในสภาพอากาศร้อนของประเทศไทย โดยตั้งชื่อเป็นภาษาไทยว่า แก่นตะวัน ที่เป็นพืชที่สกัดอินูลินได้ผลผลิตสูงในปัจจุบัน นอกจากนี้ยังพบในพืชอื่นๆ แสดงดังตารางที่ 6

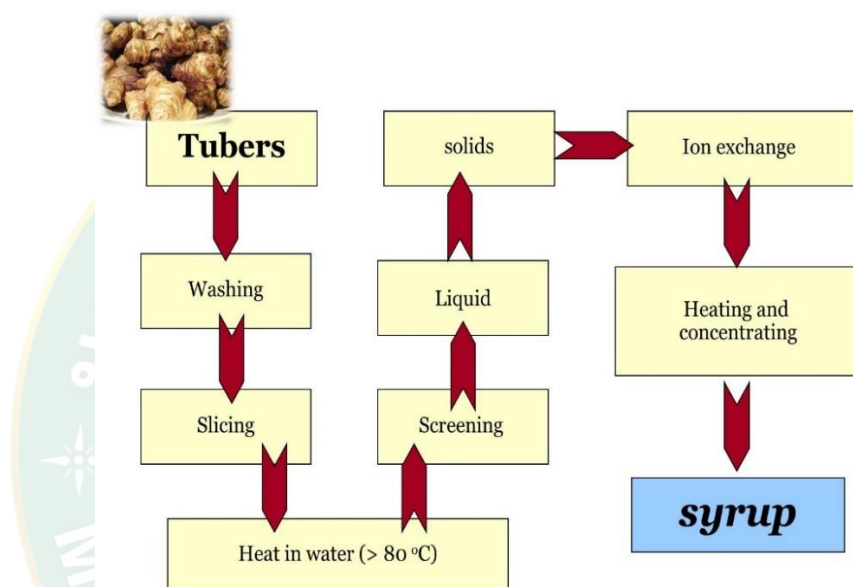
ตารางที่ 6 แสดงปริมาณอินูลินในพืชบางชนิด ต่อน้ำหนักสด 100 กรัม

พืช	ส่วนที่พบ	ปริมาณอินูลิน (g)
กระเทียมโทนหัวใหญ่	หัว	29.16 ± 5.62
กระเทียมจีน	หัว	24.29 ± 1.94
กระเทียมไทย	หัว	22.44 ± 2.86
แก่นตะวัน	หัว	19.36 ± 1.04
หอมแดง	หัว	8.86 ± 0.75
หอมแขก	หัว	3.56 ± 0.95
ช็อคโกแลต	ราก	11-20
อาร์ติโชค	หัว	12-19
หน่อไม้ฝรั่ง	ราก	15

ที่มา: Shoaib *et al.*, 2006. และ Judprasong *et al.*, 2011.

4. การสกัดอินูลินและ FOS จากหัวแก่้นตะวัน

ทำได้โดยล้างหัวแก่้นตะวันให้สะอาด ปอกเปลือก และหั่นให้เป็นชิ้นบาง แล้วทำการสกัดอินูลินและ FOS ด้วยน้ำร้อน จากนั้นกรองเอาแต่ของเหลว แล้วทำให้บริสุทธิ์โดยผ่านคอลัมน์แลกเปลี่ยนประจุ และสุดท้ายให้ความร้อนเพื่อระเหยน้ำออก ก็จะได้สารละลายน้ำตาลเข้มข้นของอินูลินและ FOS หรือบางกระบวนการอาจทำให้เป็นผงด้วยเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray dryer)

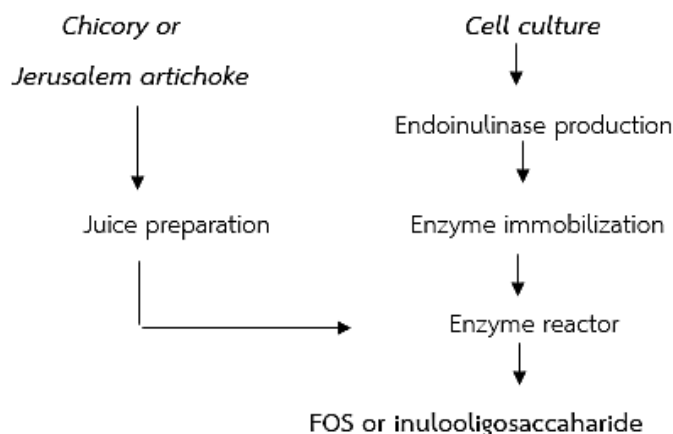


ภาพที่ 5 แผนภาพขั้นตอนการสกัดน้ำตาลอินูลินและ FOS จากหัวแก่้นตะวัน

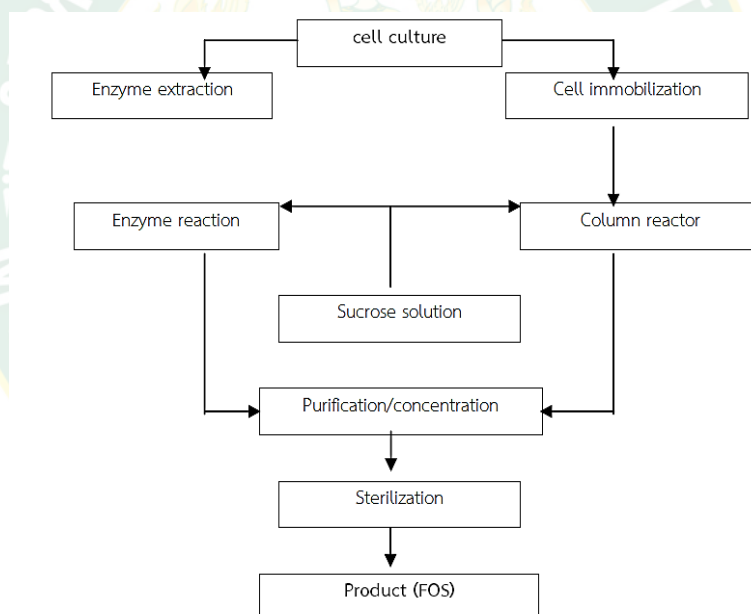
5. การผลิต FOS จากอินูลิน

น้ำตาล FOS คือ อินูลินที่มีขนาดสายสั้น การไฮโดรไลซ์พันธะ β (2 \rightarrow 1) ของอินูลิน ก็จะได้โอลิโกแซคคาไรด์ชนิด FOS หรือบางครั้งถูกเรียกว่า inulooligosaccharide เอนไซม์ที่ใช้ในการไฮโดรไลซ์อินูลินคือ เอนโดอินูลิเนส (endo-inulinase) (β -fructan-fructanohydrolase; EC3.2.1.7) ที่พบได้ทั้งในแบคทีเรียและฟังไจ เช่น *Pseudomonas* sp., *Arthrobacter* sp., *Xanthomonas campestris*, *Xanthomonas oryzae* และ *Bacillus smithii* (Yun, 1996)

ขั้นตอนการผลิตประกอบไปด้วยการเตรียมอินูลินจากหัวแก่้นตะวันหรือรากชิโครี ในขณะที่เดียวกันก็ทำการผลิตเอนไซม์เอนโดอินูลิเนสสำหรับใช้ย่อย โดยเอนไซม์สามารถนำมาใช้ทั้งรูปแบบเอนไซม์อิสระหรือเอนไซม์ตรึงรูป (immobilized enzyme) และรูปแบบการย่อย ก็สามารถทำได้ทั้งแบบครั้งคราว (batch) หรือแบบต่อเนื่อง (continuous) ดังแสดงในภาพที่ 6-7



ภาพที่ 6 กระบวนการผลิต FOS จากวัตถุดิบที่อุดมด้วยอินนูลินโดยวิธีไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์
ที่มา: Yun and Kim, 1999.



ภาพที่ 7 การผลิต FOS โดยการสังเคราะห์ด้วยเอนไซม์จากน้ำตาลซูโครส
ที่มา: Yun and Song, 1999.

6. ข้อมูลสิทธิบัตรการผลิตน้ำตาล FOS และอินนูลิน

จากการสืบค้นการจดสิทธิบัตรหรืออนุสิทธิบัตร ยังไม่พบว่ามีสิ่งประดิษฐ์ใดที่เกี่ยวข้องกับการผลิตน้ำเชื่อมจากหัวหอมที่อุดมด้วยน้ำตาล FOS แต่การผลิตน้ำตาล FOS ในทางการค้า นั้น วิธีการที่ง่ายสุดน่าจะเป็นการสกัดจากพืชที่มีการสะสม FOS โดยตรง โดยเฉพาะอย่างยิ่งหัวแก่นตะวันและราก

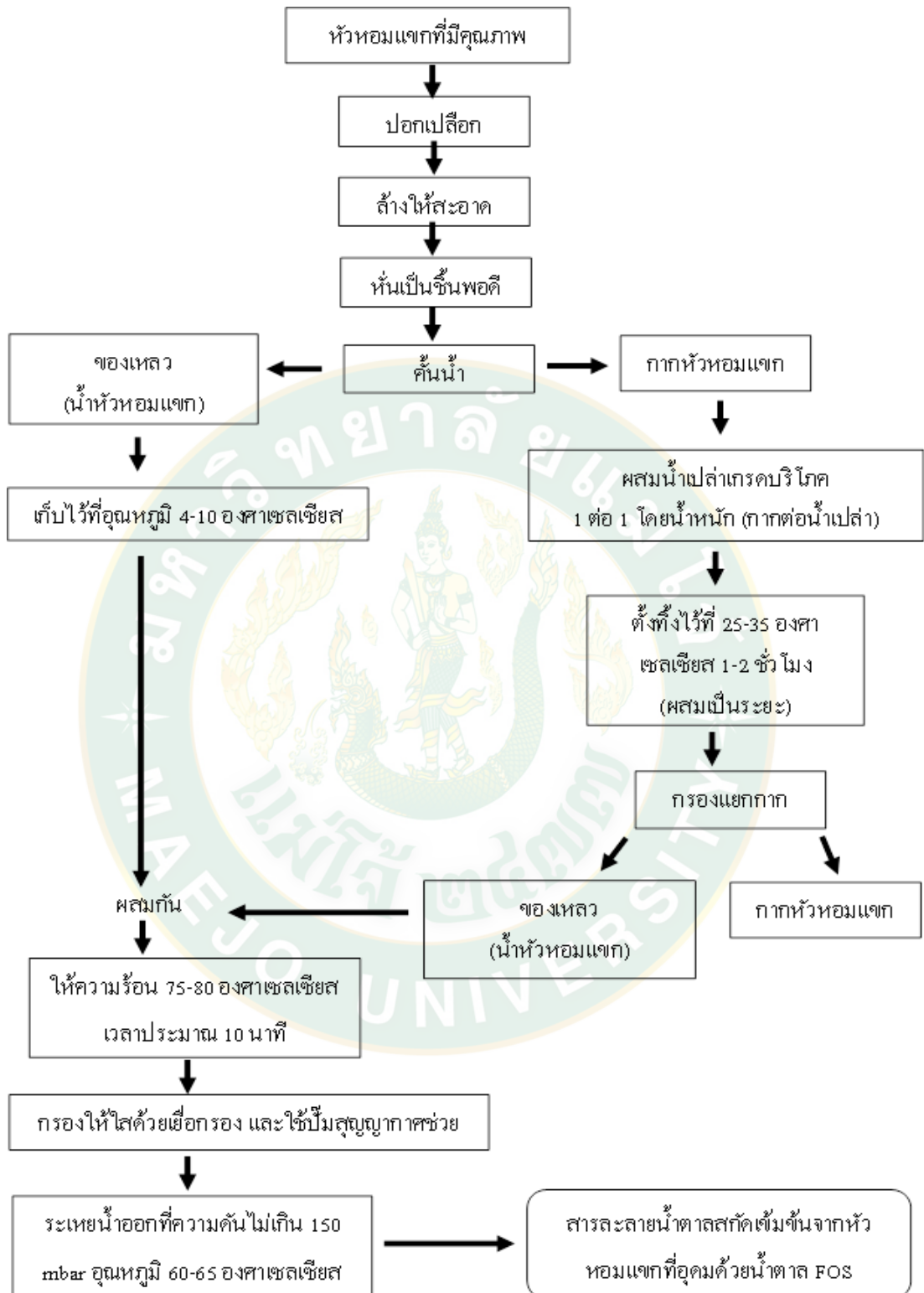
ซีโครี ซึ่งมีการทำอย่างกว้างขวาง อีกทั้งมีการยื่นจดสิทธิบัตรและอนุสิทธิบัตรในกระบวนการผลิตด้วย ยกตัวอย่างเช่น

- **US. Patent เลขที่ 9,096,693 B2** “Method for obtaining inulin from plant” ที่สกัดน้ำตาลอินูลินจากรากอาร์ติโชค ขั้นตอนประกอบไปด้วยการบดพืช การสกัดน้ำตาลด้วยของเหลว การกรองแยกกาก การแยกอินูลินออกจากของเหลว และยังมีขั้นตอนต่อไปในการทำอินูลินให้บริสุทธิ์อีก
 - **US. Patent เลขที่ 4,613,377** “Production of fructose syrup” ที่มีข้อถือสิทธิในกระบวนการผลิตน้ำเชื่อมที่มีส่วนผสมเป็นน้ำตาลฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่เกิดจากย่อยของน้ำตาลอินูลินที่สกัดมาจากรากอาร์ติโชคและรากซีโครี กระบวนการสกัดน้ำตาลอินูลินจากพืชทั้งสองแหล่งก็ถูกอ้างสิทธิในสิทธิบัตรฉบับนี้ด้วย ซึ่งกระบวนการสกัดประกอบไปด้วย การให้ความร้อนแก่พืชบดด้วยน้ำร้อนอุณหภูมิ 80-100 องศาเซลเซียส 20-30 นาที จากนั้นกรองแยกของเหลวที่มีน้ำตาลอินูลินออกจากกาก
- ส่วนในประเทศไทย ก็พบอนุสิทธิบัตรที่ใกล้เคียง ได้แก่
- **อนุสิทธิบัตรเลขที่ 9627** “กรรมวิธีผลิตอินูลินน้ำตาลต่ำ” ที่มีข้อถือสิทธิเกี่ยวกับการสกัดอินูลินออกจากแป้งเยรูซาเล็มอาร์ติโชคด้วยน้ำร้อนและมีการแยกตะกอนออกจากอินูลินด้วยการปั่นเหวี่ยง และสุดท้ายมีกระบวนการกำจัดน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว สี และกลิ่นของน้ำสกัดอินูลินด้วย
 - **อนุสิทธิบัตรเลขที่ 9833** “กรรมวิธีการผลิตฟรักโทสและอินูโลโอลิโกแซคคาไรด์จากแก่นตะวัน (เยรูซาเล็มอาร์ติโชค)” มีข้อถือสิทธิในการสกัดอินูลินจากหัวแก่นตะวัน โดยกระบวนการปอกเปลือกและนึ่งแก่นตะวัน ตีปั่นกับน้ำ สกัดอินูลินที่ 85 องศาเซลเซียส และกรองแยกกากออกจากสารสกัดอินูลิน
 - **อนุสิทธิบัตรเลขที่ 10919** “กรรมวิธีการผลิตผงอินูลินจากหัวแก่นตะวัน” มีข้ออ้างสิทธิในกระบวนการผลิตผงอินูลิน คือการล้างสิ่งสกปรก การหั่น การอบ การบด การร่อน การผสมผงซิลิกา การสกัดด้วยน้ำร้อนภายใต้ความดัน
 - **อนุสิทธิบัตรเลขที่ 15858** “กระบวนการสกัดอินูลินจากแก่นตะวัน” มีข้ออ้างสิทธิในกระบวนการผลิตอินูลินจากแก่นตะวัน โดยการนำผงแก่นตะวันไปต้มในน้ำ ทำการคนอย่างต่อเนื่อง นำสารแขวนลอยที่ได้ไปกรองด้วยเครื่องปั่นแห้ง ทิ้งให้เย็นด้วยอุณหภูมิห้อง นำน้ำสกัดจากแก่นตะวันที่ได้ไปเติมด้วยเอทานอล นำสารละลายที่ได้ไป

กรองเพื่อแยกตะกอนสารด้วยเครื่องปั่นแห้ง นำตะกอนสารอินูลินที่ได้ไปอบจนแห้งสนิท นำตะกอนไปร่อน จะได้ผงสารสกัดอินูลิน

และกรรมวิธีการเตรียมน้ำตาลสกัดจากพืชตระกูลหัวหอมอ้างอิงตามอนุสิทธิบัตรเลขที่ 168032 ที่ใช้ในการงานวิจัยนี้ มีขั้นตอนโดยย่อดังนี้ การคัดเลือกหัวหอม การปอกเปลือก การล้าง การหั่น การคั้นน้ำหัวหอม การสกัดน้ำตาลที่หลงเหลือในกากหัวหอมด้วยน้ำเปล่า การให้ความร้อน การกรองให้ใส และการระเหยน้ำออก ทุกขั้นตอนกระทำภายใต้สภาวะที่กำหนดไว้เพื่อให้ได้น้ำตาลสกัดเข้มข้นจากหัวหอมที่มีน้ำตาลกลุ่มฟรุกแตนเป็นส่วนประกอบ และสามารถใช้เป็นส่วนผสมสำคัญ ในการผลิตอาหารฟังก์ชันเพื่อสุขภาพ แสดงผังแผนภาพที่ 8





ภาพที่ 8 แผนภาพแสดงขั้นตอนการสกัดน้ำตาล FOS ออกจากหัวหอมแขก

7. การขยายกำลังการผลิต (scale up) (วสันต์, 2560)

การขยายกำลังการผลิต หรือการเพิ่มขยายขนาดการผลิต เป็นการนำกระบวนการผลิตในระดับปฏิบัติการที่ประสบผลสำเร็จแล้วมาศึกษาเพื่อนำไปสู่การศึกษาในระดับกึ่งอุตสาหกรรม และระดับอุตสาหกรรม อย่างไรก็ตามในการขยายกำลังการผลิตต้องคำนึงถึง ความสม่ำเสมอของคุณภาพ และประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ในระดับอุตสาหกรรมเหมือนกับการผลิตในระดับปฏิบัติการ

วัตถุประสงค์ในการขยายกำลังการผลิตนั้น เกิดจากการนำผลการทดลองในระดับปฏิบัติการ เพื่อเพิ่มการผลิตในการพาณิชย์ให้ประสบความสำเร็จ ซึ่งจะต้องเริ่มต้นจากการทดลองในระดับโรงงานต้นแบบ (pilot) ก่อนเพื่อเก็บข้อมูลมาช่วยในการออกแบบและกำหนดการดำเนินงานเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ต้องการจากโรงงานที่ออกแบบในอัตราที่ต้องการให้มีคุณภาพและมีมูลค่า อย่างไรก็ตามสิ่งที่ต้องคำนึงถึงคือความปลอดภัยทั้งต่อบุคลากรผู้ปฏิบัติงานต่อชุมชน และสิ่งแวดล้อมด้วย นอกจากนี้เรื่องของระยะเวลาก็เป็นสิ่งสำคัญมากอีกประการหนึ่งเพราะหากเกิดความล่าช้าก็จะเกิดความเสียหายตามมาหรือในบางครั้งหากมีความไม่แน่นอน (uncertainty) และความไม่รู้ (unknown) ในขั้นตอนการออกแบบก่อสร้างหรือการดำเนินงานโดยเฉพาะหากเป็นระบบใหม่ที่เป็น First commercial unit ก็ยังมีความจำเป็นจะต้องได้รับการพัฒนาอีกมากโดยอาศัยโรงงานนำร่อง

ในการขยายขนาดการผลิตจากระดับห้องปฏิบัติการสู่ระดับที่ใหญ่ขึ้นนั้น จะต้องคำนึงถึงข้อมูลทางด้านอุณหพลศาสตร์ ข้อมูลทางด้านจลศาสตร์ และการเลือกใช้เครื่องมือที่เหมาะสม โดยความสำคัญของข้อมูลทั้ง 3 ส่วนดังกล่าว เป็นสิ่งจำเป็นที่ควรทำการศึกษาก่อนทำการขยายการผลิตไปในระดับ pilot และระดับอุตสาหกรรมซึ่งจะช่วยทำให้มั่นใจได้ว่าการใช้เครื่องมือที่มีขนาดใหญ่ขึ้นจะสามารถผลิตสารออกมาได้ผลเหมือนกับที่ทดลองได้ในห้องปฏิบัติการ อย่างไรก็ตามต้องมีแนวทางการป้องกันปัญหาและอุปสรรคที่จะเกิดขึ้น ยกตัวอย่างเช่น ปัญหาสิ่งปนเปื้อน (impurity) ปัญหาการเก็บรักษาวัสดุที่อาจเกิดการเสื่อมสภาพได้

8. การทำให้ผลิตภัณฑ์บริสุทธิ์ (Wipawan et al., 2019)

การทำให้ผลิตภัณฑ์บริสุทธิ์ เป็นการกำจัดสารปนเปื้อนหรือสารที่ไม่ต้องการออกจากสารที่ต้องการโดยการทำให้บริสุทธิ์ของสารนั้นจะขึ้นอยู่กับสารที่ต้องการและวิธีการสกัด ขั้นตอนการสกัดนั้นประกอบด้วยขั้นตอนที่สำคัญดังนี้

1) เตรียมวัตถุดิบตั้งต้น (raw material preparation) เป็นการเตรียมวัตถุดิบให้พร้อมสำหรับการสกัด โดยการเตรียมจะขึ้นอยู่กับลักษณะของทั้งวัตถุดิบและสารที่ต้องการ เช่น การสกัดน้ำจากพืชผักและผลไม้ สกัดน้ำมันจากเมล็ดพืชผัก สกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากสมุนไพร เป็นต้น

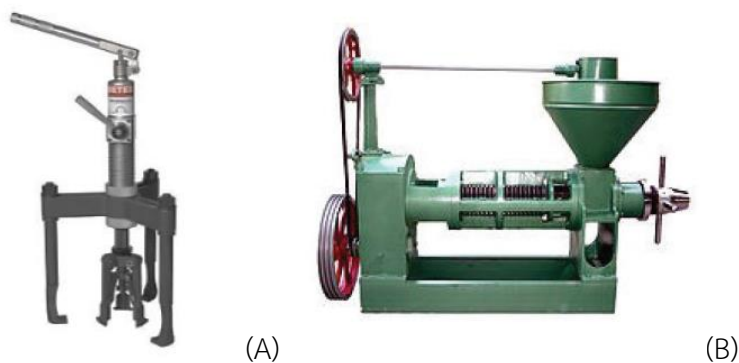
2) สกัด (extraction) การสกัดสารสำคัญสามารถทำได้หลายวิธีทั้งทางกายภาพและทางเคมี เช่นการต้ม (decoction) การคั้นน้ำสด (juice extraction) การสกัดเชิงกล (mechanical

extraction) การกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) และการสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) การสกัดด้วยตัวทำละลายแบ่งออกเป็น การสกัดแบบชง (percolation) การสกัดแบบต่อเนื่อง (Soxhlet extraction) และการสกัดแบบแช่หมัก (maceration)

การสกัดโดยการต้ม เหมาะกับสารสำคัญที่สามารถละลายน้ำและทนต่อความร้อนได้เป็นอย่างดีส่วนใหญ่เป็นแล้วพืชสมุนไพรจำพวกเปลือกไม้ รากไม้ เมล็ดหรือผลของพืชสมุนไพร โดยสมุนไพรที่นำมาต้มอาจเป็นได้ทั้งสมุนไพรแห้งและสมุนไพรสด ข้อดีของการต้มคือ สารสกัดที่ได้จากการต้มสามารถนำไปใช้งานได้ทันที สำหรับข้อเสียของการสกัดโดยการต้มคือ สารสำคัญไม่สามารถเก็บไว้นาน เนื่องจากจะเกิดการเน่าเสีย

การคั้นน้ำสด สารสกัดที่ได้อาจเรียกว่าน้ำสกัดหรือน้ำคั้นทำได้โดยบีบเอาแต่ส่วนของน้ำออกจากส่วนต่างๆของพืชสมุนไพรสด ซึ่งการสกัดวิธีนี้เหมาะกับพืชที่ไม่ทนความร้อนสำหรับ ข้อเสียของการคั้นน้ำสดคือสารสกัดสมุนไพรที่ได้ไม่ค่อยคงตัวเมื่อทิ้งไว้นานจะเกิดการเน่าเสีย หากต้องการเก็บไว้ใช้งานในระยะยาวจำเป็นต้องใช้สารกันเสียหรือต้องผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อโรคสำหรับตัวอย่างการคั้นน้ำสด

การสกัดเชิงกล เป็นวิธีที่ใช้แยกน้ำมันออกจากส่วนต่างๆของพืช เช่นเมล็ดหัวใบดอกผล และเปลือกเหมาะกับพืชที่มีปริมาณน้ำมันสูง วิธีนี้ใช้หลักการการเปลี่ยนปริมาตรของวัตถุดิบที่เคลื่อนที่ไปตามร่องเกลียวของเครื่องมือบีบอัดโดยใช้แรงเสียดทานและความดันอย่างต่อเนื่องจากสกรูไดรฟ์ (screw drive) เพื่อเคลื่อนย้ายและบีบอัดวัตถุดิบซึ่งแรงการอัดจะเกิดขึ้นระหว่างเกลียวกับผนังกระบอกแรงอัดที่ให้แกเนื้อเยื่อของเมล็ดพืชจะทำให้ผนังเซลล์แตกบีบน้ำมันแยกออกมา น้ำมันที่ได้จะไหลผ่านช่องตะแกรงสามารถนำไปใช้ได้โดยไม่ต้องผ่านกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ส่วนกากจะถูกลำเลียงออกทางท้ายเครื่อง โดยการสกัดเชิงกลมีสองลักษณะคือ การสกัดเย็นและการสกัดร้อน สำหรับการสกัดเย็นเป็นการแยกส่วนของน้ำมันโดยบีบอัดที่อุณหภูมิปกติซึ่งพืชที่นำมาสกัดเย็นจะต้องไม่ผ่านความร้อนหรือสารเคมีมาก่อนในขณะที่การสกัดร้อนเป็นกรรมวิธีที่ให้ความร้อนทำให้น้ำมันเกิดการละลายตัวออกมา ข้อดีของการสกัดเชิงกลคือมีต้นทุนต่ำกรรมวิธีไม่ยุ่งยากและสามารถทำเป็นอุตสาหกรรมภายในครัวเรือนได้ แต่มีข้อเสียคือสารสกัดที่ได้อาจมีสิ่งเจือปนที่ติดมากับวัตถุดิบสำหรับตัวอย่างการสกัดเชิงกล เช่นการสกัดน้ำมันมะพร้าวโดยบีบด้วยเครื่องบีบอัดแบบไฮดรอลิก (hydraulic pressure extractors) หรือเครื่องบีบอัดแบบสกรู (screw type expeller) (ภาพที่ 9) การสกัดน้ำมันมะรุมจากส่วนของเมล็ดแก่ของมะรุม



ภาพที่ 9 ชนิดของเครื่องมือที่ใช้ในการสกัดเชิงกล (A) เครื่องบดด้วยไฮดรอลิก (B) เครื่องบดแบบสกรู

ที่มา: Wipawan *et al.*, 2019.

3) ทำให้เข้มข้น (concentration) ด้วยการระเหยด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (rotary evaporation) หรือ การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dehydration หรือ lyophilization)

4) แยกสารสำคัญ (separation) เพื่อให้ได้สารสำคัญที่ต้องการมีความบริสุทธิ์มากขึ้น

5) วิเคราะห์สารสำคัญ (identification) ด้วยเครื่องมือวิเคราะห์ยกตัวอย่างเช่น เทคนิคโครมาโตกราฟีแผ่นบาง (Thin-Layer Chromatography; TLC), เทคนิคโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography; HPLC), รังสีอินฟราเรด (Infrared; IR), เทคนิคอัลตราไวโอเล็ตและวิสิเบิลสเปกโตรสโคปี (UV-Visible Spectrophotometric), แมสสเปกโตรมิเตอร์ (Mass Spectrometry; MS), นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโตรสโคปี (Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy; NMR) เป็นต้น

9. การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ (ภาวินี และคณะ 2563)

การเก็บรักษาอาหารมีความสำคัญทั้งในแง่ของความปลอดภัย การคงสภาพอาหารให้ยังคงน่ารับประทาน และมีรสชาติและสารอาหารต่างๆให้คงสภาพเดิมได้มากที่สุด โดยเกณฑ์ที่ใช้กำหนดอายุการเก็บรักษาของอาหารนั้น อาจแบ่งได้ คือ จุลินทรีย์ ด้านเคมี และด้านประสาทสัมผัส

ตัวแปรสำคัญที่ส่งผลต่ออายุการเก็บของอาหาร (shelf life of food) คือ อุณหภูมิในการเก็บรักษาอาหาร เพื่อป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ โดยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิที่ต่ำจะชะลอการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ จึงเกิดการเก็บรักษาอาหารด้วยการแช่เย็นไปจนถึงการใช้วิธีแช่แข็ง ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเก็บรักษาจะแตกต่างกันตามชนิดของอาหาร แสดงดัง

ตารางที่ 7 แต่ในประเทศไทยนั้นมียุณหภูมิค่อนข้างสูงจึงไม่สามารถเก็บอาหารไว้ที่อุณหภูมิห้องได้นาน การใช้วิธีแช่เย็นหรือแช่แข็งจึงอาจมีความเหมาะสมในการเก็บรักษามากกว่า

ตารางที่ 7 อุณหภูมิการเก็บของอาหารชนิดต่างๆ

อาหาร	อุณหภูมิห้อง (25°C)	แช่เย็น (4°C)	แช่แข็ง (-18°C)
ผัก และผลไม้	1-7 วัน	2-14 วัน	8-12 เดือน
เนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์	2 ชั่วโมง	1-2 วัน	6-12 เดือน
นม และผลิตภัณฑ์นม		5-7 วัน	1 เดือน
นมสด			
โยเกิร์ต	2 ชั่วโมง	2-3 สัปดาห์	1-2 เดือน
ชีส		2-4 เดือน	6-8 เดือน
ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ (ขนมปังไม่มีไส้)	3-5 วัน	1-2 สัปดาห์	2-3 เดือน

การยืดอายุการเก็บอาหาร (shelf life extension for food) การยืดอายุการเก็บอาหารสามารถทำได้หลายเทคนิค ทั้งการใช้บรรจุภัณฑ์ช่วยยืดอายุการเก็บอาหาร หรือการแปรรูปอาหาร

9.1. การใช้บรรจุภัณฑ์ช่วยยืดอายุการเก็บอาหาร

การใช้บรรจุภัณฑ์ช่วยยืดอายุการเก็บอาหาร เป็นการยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ให้มีอายุการเก็บที่นานขึ้น เช่น การบรรจุด้วยระบบสุญญากาศและบรรจุแบบ Gas-Flushing การบรรจุด้วยระบบสุญญากาศเป็นการบรรจุที่มีการดูดอากาศในบรรจุภัณฑ์ออกไปก่อนปิดผนึกหรือปิดฝา และการบรรจุแบบ Gas-Flushing เป็นการบรรจุผลิตภัณฑ์ให้อยู่ภายใต้บรรยากาศของก๊าซชนิดใดชนิดหนึ่ง เช่น ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ หรือก๊าซไนโตรเจน โดยการพ่นก๊าซชนิดที่ต้องการเข้าไปแทนที่อากาศภายในภาชนะบรรจุ ซึ่งเป็นวิธีการหนึ่งที่ยิยมใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะสำหรับบรรจุผลิตภัณฑ์ที่ไวต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation reaction) เช่น อาหารที่มีไขมันมาก น้ำผลไม้ หรือตัวอย่างที่เห็นได้ทั่วไป คือ การที่ขนมขบเคี้ยวบรรจุอยู่ในซองที่มีอากาศอัดอยู่แน่นจนเป็นถุงพอง

9.2. การถนอมอาหารและการแปรรูป

การถนอมอาหาร เป็นกระบวนการเก็บรักษาอาหารเพื่อป้องกันไม่ให้อาหารเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ เป็นการยืดอายุการเก็บอาหารโดยใช้กระบวนการแปรรูป เพื่อให้อาหารสดสามารถเก็บที่อุณหภูมิห้องได้ เช่น นมและผลิตภัณฑ์นม เนื้อสัตว์ ผักและผลไม้ โดยวัตถุประสงค์หลักของการแปรรูปอาหาร คือ การเก็บรักษาอาหารให้ปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค อย่างไรก็ตาม เทคนิคการแปรรูปเหมาะกับอาหารบางชนิด และอาหารที่ผ่านการแปรรูปอาจมีรสชาติที่เปลี่ยนไป

และอาจไม่เป็นที่ยอมรับ เนื่องจากการแปรรูปมีผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัส กลิ่นรส และคุณค่าทางโภชนาการได้ เช่น มีคุณค่าทางโภชนาการที่ต่ำลง เนื่องจากวิตามินบางชนิดถูกทำลายไประหว่างกระบวนการแปรรูป เป็นต้น ดังนั้น เทคโนโลยีการแปรรูปอาหาร จึงต้องมีการปรับปรุงอย่างต่อเนื่อง เพื่อศึกษาหาวิธีที่สามารถยืดอายุการเก็บให้เหมาะสมกับอาหารแต่ละชนิด แต่ในขณะเดียวกันก็สามารถป้องกันการเปลี่ยนแปลงทั้งทางด้านคุณภาพและคุณค่าทางโภชนาการของอาหารได้ ในปัจจุบันการแปรรูปอาหารทำได้ในหลายวิธี เช่น การทำให้แห้ง การหมัก การพาสเจอร์ไรซ์ การใช้ความดันสูง การแช่เย็นและแช่แข็ง เป็นต้น โดยมีหลักการ คือการควบคุมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยการกำจัดออกซิเจน (เป็นก๊าซที่จุลินทรีย์ใช้ในการเจริญเติบโต) การใช้ความร้อน การใช้ความเย็น การลดปริมาณน้ำอิสระ (water activity; aw) เพื่อเป็นการลดน้ำที่จุลินทรีย์นำไปใช้ในการเจริญเติบโต และการลดความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในอาหาร โดยความเป็นกรดสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้

ทั้งนี้การแปรรูปอาหารแบ่งออกเป็นสองกระบวนการใหญ่ๆ ได้แก่ การแปรรูปด้วยความร้อน และการแปรรูปโดยไม่ใช้ความร้อน การแปรรูปด้วยความร้อนเป็นการใช้อุณหภูมิ และเวลาที่เหมาะสมในการทำลายจุลินทรีย์ และสปอร์ และช่วยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ โดยวิธีที่เป็นที่รู้จัก ได้แก่ การพาสเจอร์ไรส์ การสเตอริไลซ์ และการทำแห้ง โดยการพาสเจอร์ไรส์ (pasteurization) คือการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิต่ำกว่า 100 องศาเซลเซียส โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค (pathogen) และจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสีย โดยจุลินทรีย์ที่ถูกทำลายจะเป็นเซลล์จุลินทรีย์ (vegetative cell) แต่ไม่สามารถทำลายสปอร์จุลินทรีย์ได้ การพาสเจอร์ไรส์ยังเป็นวิธีการแปรรูปที่ใช้ร่วมกับวิธีอื่น เช่น การใช้อุณหภูมิต่ำในการเก็บรักษา การใช้สารเคมี การใช้น้ำตาล เกลือ กรด เพื่อทำลายเอนไซม์ ระเบิด และอุณหภูมิของการพาสเจอร์ไรส์ แสดงดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 อุณหภูมิในการพาสเจอร์ไรส์

การพาสเจอร์ไรส์	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา
วิธีใช้ความร้อนต่ำ (Low Temperature - Long Time; LTLT)	60-65	30 นาที
การใช้อุณหภูมิสูงเวลาสั้น (high temperature short time; HTST)	72	15-16 นาที
การใช้อุณหภูมิสูง (rapid, high or flash pasteurization)	90-100	12 วินาที

การสเตอริไลซ์ (sterilization) คือ การใช้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงกว่า 100 องศาเซลเซียส เพื่อทำลายเซลล์สปอร์ (spore) ของจุลินทรีย์ ซึ่งต้องคำนึงถึงคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร สี เนื้อสัมผัส และกลิ่นรสของอาหารได้แก่ จุลินทรีย์ที่สร้างสารพิษ รวมถึง *Clostridium botulinum* และ จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคชนิดอื่นๆ ในอาหาร จุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย และสปอร์จุลินทรีย์ที่เหลืออยู่นั้นต้องไม่เจริญภายใต้สภาวะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิปกติ

การแปรรูปโดยการทำให้แห้ง เป็นการลดปริมาณน้ำในอาหาร เพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของ จุลินทรีย์ ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ หรือชะลอการเปลี่ยนแปลงทางเคมี มีผลทำให้อาหารปลอดภัย จากการลดน้ำในอาหารซึ่งเป็นการลดค่า aw นอกจากนี้ยังทำให้อาหารมีน้ำหนักเบา ทำให้สะดวกต่อการขนส่งและการบริโภค อาหารที่มักใช้การแปรรูปด้วยการทำให้แห้ง เช่น ผักผลไม้ ถั่วเมล็ดแห้ง นมผง ชา กาแฟ เนื้อสัตว์ อาหารทะเล สมุนไพร เครื่องเทศ เป็นต้น

การแปรรูปโดยไม่ใช้ความร้อน ระหว่างการแปรรูปจะไม่เกิดความร้อน แต่มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ ได้แก่ การใช้ความดันสูง (high pressure processing) การใช้สนามไฟฟ้าแบบเป็นจังหวะ (pulse electric field) การแปรรูปโดยใช้ความเย็น และการใช้วัตถุเจือปนอาหาร (food additive) การแปรรูปโดยไม่ใช้ความร้อนอาจเหมาะกับอาหารประเภทเครื่องดื่ม น้ำ ผักผลไม้สด เป็นต้น เพื่อรักษาคุณภาพ ความสด คุณค่าทางโภชนาการ รสชาติและเนื้อสัมผัสให้รู้สึกสดใหม่

การใช้ความดันสูง เป็นการใช้ความดันสูง (100-800 MPa) ทำลายเชื้อจุลินทรีย์ โดยมีน้ำเป็นตัวกลางในการส่งผ่านความดัน และมีผลต่อโมเลกุลของอาหารเพียงเล็กน้อย ทำให้อาหารยังคงความสด นอกจากนี้มีการใช้ความดันร่วมกับความร้อนเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ และเพื่อทำลายเอนไซม์ด้วย และอีกหนึ่งวิธีคือการใช้สนามไฟฟ้าแบบเป็นจังหวะ (pulse electric field) เป็นการปล่อยกระแสไฟฟ้าในอาหารเหลวที่ถูกบรรจุอยู่ระหว่างขั้วอิเล็กโทรด และปล่อยกระแสไฟฟ้าเข้าสู่อาหารภายใต้สนามไฟฟ้าแรงดันสูงเพื่อกระตุ้นการเหนี่ยวนำบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เซลล์จุลินทรีย์เกิดการบวม ผนังเซลล์เกิดการแตกหรือฉีกขาด แต่การแปรรูปด้วยวิธีการนี้ไม่สามารถใช้ในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ จึงอาจต้องมีการใช้ความร้อนร่วมด้วย

การแปรรูปโดยใช้ความเย็น เป็นการลดปฏิกิริยาของเอนไซม์ เคมี และการเจริญของ จุลินทรีย์ เพื่อยืดอายุการอาหาร สามารถทำได้โดยการเก็บแช่เย็น และเก็บแช่แข็ง มีหลักการแช่แข็งอาหาร คือ การลดอุณหภูมิของอาหารให้ต่ำกว่า -18 องศาเซลเซียส โดยน้ำในอาหารจะเปลี่ยนสถานะเป็นน้ำแข็ง จึงเป็นวิธีการถนอมอาหารที่คงความสด และรักษาคุณภาพของอาหารได้ดีกว่าการใช้ความร้อน การแช่แข็งนั้นไม่สามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้ แต่สามารถยับยั้งการเพิ่มจำนวนของ จุลินทรีย์ โดยเทคนิคการแช่แข็งอาหารที่ดัดแปลงต้องแช่แข็งอย่างรวดเร็ว เพื่อให้ผลึกน้ำแข็งที่ได้มี

ขนาดเล็ก ทำให้เกิดความเสียหายต่อเนื้อสัมผัสน้อยที่สุด นอกจากนี้การเลือกสภาวะการเก็บที่เหมาะสมยังมีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์อีกด้วย

การใช้วัตถุดิบอาหาร คือวัตถุดิบที่ตามปกติมิได้ใช้เป็นอาหาร หรือเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของอาหาร ไม่ว่าจะวัตถุดิบนั้นมีคุณค่าทางโภชนาการหรือไม่ก็ตาม แต่ใช้เจือปนในอาหารเพื่อประโยชน์ทางเทคโนโลยีการผลิต การบรรจุ การเก็บรักษา หรือการขนส่ง ซึ่งมีผลต่อคุณภาพหรือมาตรฐานหรือลักษณะของอาหาร และให้หมายความรวมถึงวัตถุดิบมิได้ใช้เจือปนในอาหาร แต่ใช้รวมอยู่กับอาหารเพื่อประโยชน์ดังกล่าวข้างต้นด้วย (ประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 281, พ.ศ.2543) โดยวัตถุดิบหรือสารเคมีที่ใช้ ได้แก่ วัตถุกันเสีย (preservatives) มีหน้าที่ในการยับยั้ง เชลลการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ป้องกันการเสื่อมเสียของอาหาร ใช้ในปริมาณต่ำเพื่อควบคุมไม่ให้จุลินทรีย์เพิ่มจำนวน โดยเหมาะสำหรับอาหารที่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์จำนวนไม่สูงมาก แต่การใช้วัตถุกันเสียนั้นไม่สามารถทดแทนการใช้ความร้อนได้

10. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Judprasong *et al.* (2011) ได้ศึกษาหาปริมาณอินูลินและฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในพืชไทย พบว่าตัวอย่างพืชที่มีอินูลินสูง ได้แก่ กระเทียมโทนหัวใหญ่ กระเทียมจีน กระเทียมไทย และแก่นตะวัน (29.16 ± 5.62 , 24.29 ± 1.94 , 22.44 ± 2.86 และ 19.36 ± 1.04 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสดตามลำดับ) และพบตัวอย่างที่มีปริมาณอินูลินปานกลางคือ หอมแดง และหอมแขก (8.86 ± 0.75 และ 3.56 ± 0.95 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ) ส่วนฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ พบปริมาณสูงในแก่นตะวัน หอมแดง และหอมแขกเช่นกัน (5.18 ± 0.04 , 4.98 ± 0.51 และ 3.09 ± 0.54 กรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ตามลำดับ)

ชื่นสุขมณ (2558) ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากหอมแดงที่ถูกสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ได้แก่ เมทานอล เมทานอลต่อเอทานอล (1:1) และเอทานอลเป็นตัวทำละลาย ใช้เวลา 60 นาที ที่อุณหภูมิห้อง (30 องศาเซลเซียส) พบว่าสารสกัดจากหอมแดงด้วยเอทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดเท่ากับ 198.02 ± 0.19 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของน้ำหนักสด ส่วนความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH พบว่าสารสกัดจากเอทานอลมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดถึงร้อยละ 91.27 ± 0.21

กิติพงษ์ และคณะ (2560) ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของสารสกัดจากหัวหอม 3 สายพันธุ์ ได้แก่ หัวหอมใหญ่ (*Allium cepa* var. *aggregatum*) หอมแดง (*Allium ascalonicum* Linn.) และหอมแขก (*Allium cepa* var. *viviparum*) ด้วยเอทานอล พบว่าสารสกัดจากหอมแดงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ และ

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP และ DPPH สูงสุด ($17.22 \pm 2.24 \mu\text{mol GAE/g DW}$, $3.10 \pm 0.23 \mu\text{mol QT/g DW}$, $5.65 \pm 0.44 \mu\text{mol trolox/g DW}$ และ $6.27 \pm 0.21 \text{ mg vit C/g DW}$ ตามลำดับ) ในขณะที่สารสกัดจากหัวหอมทั้ง 3 ชนิดสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทุกชนิด (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*) ที่ใช้ในการทดสอบได้ ยกเว้น *Sal. Typhimurium* Enteritidis โดยมีค่า MIC ในช่วง 0.125-1.75 กรัมต่อมิลลิลิตร

Sakaewan *et al.* (2019) ได้ศึกษาฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ด้านการอักเสบของหอมแดงสายพันธุ์ของไทย เพื่อใช้ประโยชน์ในการป้องกันภาวะแทรกซ้อนจากโรคหัวใจและหลอดเลือด โดยศึกษาฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ด้านการอักเสบของหอมแดงต่อเซลล์บุผนังหลอดเลือดของมนุษย์ (E.A.hy926) โดยวิธี MTT assay ผลการศึกษาพบว่า สารสกัดหอมแดงมีพิษต่ำมากต่อเซลล์ E.A.hy926 โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 41.9 และ 27.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ แต่อย่างไรก็ตามการศึกษานี้พบว่า สารสกัดหอมแดงไทยนั้นมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระและด้านการอักเสบในเซลล์บุผนังหลอดเลือดได้

วรวิฑูมิ และคณะ (2558) ได้ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดหอมแดงอย่างหยาบต่อความเสียหายของตับและไตจากการติดเชื้อมาลาเรียในหนูทดลอง โดยเตรียมสารสกัดหอมแดงอย่างหยาบด้วยน้ำจากนั้นนำไปทดสอบฤทธิ์ในหนูทดลอง ICR ที่ติดเชื้อ *P. berghei* ANKA ปริมาณ 6×10^6 เซลล์ต่อหนูทดลอง โดยให้หนูทดลองได้รับสารสกัดทางหลอดอาหารวันละครั้งเป็นเวลา 4 วันติดต่อกัน และทำการตรวจวัดตัวบ่งชี้ ได้แก่ เอนไซม์ aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), blood urea nitrogen (BUN) และ creatinine ด้วยชุดตรวจสำเร็จรูป ผลการทดลองพบว่าความเข้มข้นสูงสุดของสารสกัดหอมแดงที่ไม่ก่อให้เกิดความเป็นพิษ คือ 3000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และในขณะที่มีการติดเชื้อมาลาเรียนั้นจะพบความเสียหายของตับและไตเกิดขึ้นในวันที่ 10 หลังจากติดเชื้อโดยดูได้จากระดับของ AST, ALT, BUN และ creatinine ที่สูงที่สุด แต่สารสกัดหอมแดงที่ขนาด 3000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมสามารถป้องกันความเสียหายของตับและไตจากการติดเชื้อมาลาเรียได้ จึงสรุปได้ว่าสารสกัดหอมแดงมีฤทธิ์ป้องกันความเสียหายของตับและไตจากการติดเชื้อมาลาเรียในหนูทดลองได้

Parivash *et al.* (2010) ศึกษาผลของหอมแดงต่อการต้านการสร้างหลอดเลือดใหม่ (anti-angiogenesis) ในหลอดทดลองและในร่างกาย โดยใช้เซลล์บุผนังเม็ดเลือดดำจากสะดือมนุษย์ (HUVECs) โดยใช้ไก่เป็นโมเดล ผลการทดลองพบว่า หอมแดงที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตต (ethyl acetate) มีแนวโน้มในการยับยั้งการสร้างเส้นเลือดใหม่ในหลอดทดลองและในร่างกาย ซึ่งการศึกษานี้เป็นประโยชน์สำหรับเป็นข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับหอมแดงในการรักษาหรือป้องกันการเกิดเซลล์ที่ผิดปกติ

Sara *et al.* (2016) ศึกษาผลของสารสกัดหอมแดงที่มีต่อคุณภาพของปลาเรนโบว์เทราต์ (rainbow trout) กึ่งทอดที่เก็บในตู้เย็น โดยการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเคมี การทดสอบทางจุลชีววิทยา และการประเมินทางประสาทสัมผัสของตัวอย่าง ผลการศึกษาพบว่า การใช้สารสกัดหอมแดงร้อยละ 3 เคลือบบนตัวอย่าง มีส่วนช่วยในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ที่ดีเช่นเดียวกับคะแนนทางประสาทสัมผัส ในระยะเวลาในการเก็บรักษานานถึง 15 วัน การศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า สารสกัดหอมแดงข้างต้นสามารถนำไปใช้ประโยชน์เป็นสารกันบูดตามธรรมชาติได้

Watson *et al.* (2012) ศึกษาการใช้คาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งพลังงานของเชื้อ *Lactobacilli* และ *Bifidobacteria* โดยศึกษาการเจริญของเชื้อ *Lactobacilli* 29 สายพันธุ์ และ *Bifidobacteria* 39 สายพันธุ์ ในอาหาร MRS ที่เสริมด้วยแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน 10 ชนิดทั้งแบบเดี่ยวและผสม ได้แก่ กลูโคส แลคโตส แลคตูโลส มอลโทเดกซ์ทริน พอลิเดกซ์โทรส อินูลิน ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ต่ออินูลิน และกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ต่ออินูลิน ผลการศึกษาพบว่า *Lactobacilli* และ *Bifidobacteria* มีความสามารถในการใช้กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ และแลคตูโลส เป็นแหล่งคาร์บอนได้ดีที่สุดในขณะที่เชื้อทั้งสองชนิดมีการเจริญซ้ำในมอลโทเดกซ์ทริน พอลิเดกซ์โทรส และอินูลิน ในแหล่งคาร์บอนแบบผสม มีการเจริญของเชื้อทั้งสองชนิดใกล้เคียงกับ กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ และฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ตามลำดับ การศึกษาในงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นแนวทางของการ *Lactobacilli* และ *Bifidobacteria* กับพรีไบโอติกส์ที่ส่งเสริมการเจริญได้ดี เป็นซินไบโอติกส์

บทที่ 3

อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

อุปกรณ์และสารเคมี

1. เชื้อจุลินทรีย์

1.1. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี แห่งประเทศไทย
1.2. <i>Lactobacillus bugarius</i>	สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี แห่งประเทศไทย
1.3. <i>Lactobacillus lactis</i>	สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี แห่งประเทศไทย
1.4. <i>Lactobacillus plantarum</i>	สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี แห่งประเทศไทย
1.5. <i>Lactobacillus johnsonii</i> CK3	ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีจุลินทรีย์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
1.6. <i>Lactobacillus johnsonii</i> VCF	ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีจุลินทรีย์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
1.7. <i>Lactobacillus johnsonii</i> JCM1022	JCM, Japan
1.8. <i>Lactobacillus johnsonii</i> JCM8791	JCM, Japan
1.9. <i>Escherichia coli</i>	ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทาง อุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้
1.10. <i>Salmonella</i> Typhimurium enterica serovar Typhimurium TISTR292	สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี แห่งประเทศไทย
1.11. <i>Staphyrococcus aureus</i>	ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทาง อุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้
1.12. <i>Bacillus cereus</i>	ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีจุลินทรีย์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
1.13. <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทาง อุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ

2.1. Eosin Methylene Blue agar	Himedia, India
2.2. Mannitol egg yolk phenol red polymyxin	Himedia, India
2.3. De Man, Rogosa and Sharpe agar	Himedia, India
2.4. Nutrient Broth	Himedia, India
2.5. Potato dextrose agar	Himedia, India
2.6. Sal. Typhimurium Shigella agar	Himedia, India
2.7. Yeast extract peptone dextrose	-

3. สารเคมี

3.1. Ammonium sulfate	RCI labscan, Thailand
3.2. Ampicillin	-
3.3. Bradford solution	-
3.4. Bromocresol purple	Fisher scientific, Thailand
3.5. Buthanol	RCI labscan, Thailand
3.6. Dinitrosalicylic acid	-
3.7. Folin-Ciocalteu reagent	-
3.8. Lactic acid	RCI labscan, Thailand
3.9. Methanol	RCI labscan, Thailand
3.10. Phenol	KemAus, Australia
3.11. Potassium sorbate	-
3.12. Sodium bicarbonate	-
3.13. Sodium carbonate	-
3.14. Sodium chloride	Univer, Australia
3.15. 10% Sodium hypochlorite	-
3.16. Sulfuric acid	Merck, Germany
3.17. Yeast extract	Himedia, India
3.18. กลูโคส (glucose)	Fluka, Japan
3.19. คีส์โตส (kestose)	Sigma-Aldrich
3.20. ซูโครส (sucrose)	Fluka, Japan
3.21. นีสโตส (nystose)	Sigma-Aldrich

3.22. ฟรุคโตส (fructose)	Merck, Germany
3.23. ฟรุคโตฟูราโนซิลนีสโตส (fructofuranosylmystose)	Sigma-Aldrich
3.24. อินูลิน (inulin)	-

4. อุปกรณ์

4.1. กระบอกตวง (cylinder)	-
4.2. ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask)	JSGW
4.3. ขวดฝาเกลียว (duran)	Schott Duran, Germany
4.4. ขวดรูปชมพู่ (erlenmeyer flask)	Schott Duran, Germany
4.5. เครื่องสกัดผลไม้แยกกาก	Sharp, Japan
4.6. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (analytical balance)	Mettler-Toledo, Switzerland
4.7. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (analytical balance)	OHAUS, USA
4.8. เครื่องปั๊มลม (air compressor)	-
4.9. เครื่องผสมสารละลาย (vortex mixer)	Vortex-Genie-2, USA
4.10. เครื่องวัดความหวานแบบส่อง (hand refractometer)	-
4.11. เครื่องระเหยสูญญากาศ (evaporator)	-
4.12. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)	Genesys 20
4.13. เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)	Drawell
4.14. จานเพาะเชื้อ (petri dish)	Hycon
4.15. ช้อนตักสาร (spatula)	-
4.16. ชั้นวางหลอดทดลอง (test tube rack)	-
4.17. ชุดกรองสูญญากาศ (filtration assembly)	-
4.18. ตู้เขี่ยเชื้อ (laminar air flow)	Microtech, Thailand
4.19. ตู้ดูดควัน (fume hood)	-
4.20. ตู้บ่มเชื้อจุลินทรีย์ (incubator)	Gallenkamp
4.21. ตู้อบลมร้อน (hot air oven)	Binder, USA
4.22. เครื่องคั้นสกัดแยกกาก (juicer machine)	-
4.23. แท่งแก้วคนสาร (glass stirring rod)	-

4.24. แท่งแก้วสามเหลี่ยม (spreader)	-
4.25. ปีกเกอร์ (beaker)	KIMAX, USA
4.26. พาราฟิล์ม (parafilm)	BEMIS, USA
4.27. ไมโครปิเปต (automatic pipette)	Gilson, France
4.28. ไมโครปิเปตทิว (pipette tip)	Hycon
4.29. ไมโครเวฟ (microwave)	Sharp, Japan
4.30. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อแรงดันไอน้ำ (autoclave)	Sturdy, Thailand
4.31. หลอดทดลอง (test tube)	PYREX
4.32. หลอดปั่นเหวี่ยง (centrifuge tube)	Superclear, USA
4.33. อ่างควบคุมอุณหภูมิ (water bath)	Memmert, Germany
5. วัตถุดิบ	
หัวหอมแดง (shallot)	Srisaket, Thailand



วิธีการทดลอง

1. การผลิตน้ำเชื่อม FOS จากหอมแดงในระดับห้องปฏิบัติการ

ผลิตน้ำเชื่อม FOS จากหอมแดงในระดับห้องปฏิบัติการ ด้วยกระบวนการที่เสนอไว้ใน “กรรมวิธีการเตรียมน้ำตาลสกัดจากพืชตระกูลหัวหอม (เลขที่คำขอ 1601006677)” (ภาพที่ 6) พร้อมทั้งบันทึกผลที่ได้ (yield) ต้นทุนค่าใช้จ่าย ต้นทุนเวลา และปัญหาและอุปสรรคและวิเคราะห์คุณภาพของน้ำเชื่อม FOS ที่ผลิตได้ดังนี้

1.1. การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของน้ำหอมแดงสกัดและน้ำเชื่อม FOS

1.1.1. วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (total sugar) และน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) (Wongputtisin and Khanongnuch, 2015)

นำตัวอย่างน้ำตาลสกัดหอมแดงที่ได้จากการสกัดทำการเจือจางลงเป็นร้อยละ 1 (stock solution) จากนั้นเจือจางลงเป็นเท่าตัวเพื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (total sugar) ด้วยวิธีฟินอล-กรดซัลฟิวริก (phenol-sulfuric acid) และน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) ด้วยวิธี 3,5- ไดไนโตรซาลิไซลิก (Dinitrosalicylic colorimetric; DNS) ตามลำดับ (ตามรายละเอียดที่แสดงในภาคผนวก ข) จากนั้นคำนวณหาจำนวนหน่วยเฉลี่ยของน้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์ในรูปของค่า Degree of Polymerization (DP) ด้วยสูตรดังนี้

$$DP = \frac{\text{น้ำตาลทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)}}{\text{น้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)}}$$

1.1.2. ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบและปริมาณน้ำตาล FOS แต่ละชนิดโดยเทคนิคโครมาโตกราฟีแบบเยื่อบาง (Thin Layer Chromatography; TLC) และโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography; HPLC)

นำตัวอย่างน้ำตาลสกัดหอมแดงที่ได้จากการสกัดทำการเจือจางลง 3 เท่าด้วยน้ำกลั่น จากนั้นทำการจุด (spot) ปิเปตตัวอย่างและน้ำตาลมาตรฐานลงบนแผ่น TLC ปริมาตร 0.25 ไมโครลิตร ทั้งไว้ให้แห้ง และนำไปแยกสารผ่านเฟสเคลื่อนที่ (butanal: ethanol: water อัตราส่วน 5:3:2) โดยปริมาตร ซึ่งทำระบบอิมมัตวใน TLC chamber จนกระทั่งแนวของ mobile phase ห่างจากขอบบนประมาณ 1 เซนติเมตร จึงนำออกมาผึ่งให้แห้งและวิเคราะห์ในขั้นตอนต่อไป และเก็บตัวอย่างน้ำตาลสกัดหัวหอมเพื่อวิเคราะห์ HPLC โดยใช้น้ำตาล กลูโคส ฟรุคโตส ซูโครส คีส์โตส (GF2) นีสโตส (GF3) และฟรุคโตฟูเรโนซิลนีสโตส (GF4) เป็นน้ำตาลมาตรฐาน (รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ข)

1.1.3. ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ (soluble protein)

นำตัวอย่างน้ำตาลสกัดหอมแดงที่ได้จากการสกัดมาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ โดยวิธีของแบรดฟอร์ด (Bradford, 1976) โดยใช้สารละลายแบรดฟอร์ดปริมาตร 0.9 มิลลิลิตร ใส่ลงในคิวเวท จากนั้นเติมตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วตั้งไว้ 15 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร และคำนวณหาปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ (ตามรายละเอียดที่แสดงในภาคผนวก ข)

1.2. การวิเคราะห์สมบัติทางชีวภาพของน้ำหอมแดงสกัดและน้ำเชื่อม FOS

1.2.1. ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

นำตัวอย่างวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS (2,2'-azono-bis-(3-ethylbenthia zoline-6-sulfonic acid diammonium salt) ตามวิธีการของ Wongputtisin *et al.* (2007) โดยเตรียมอนุมูลอิสระ ABTS^{•+} ที่มีค่าการดูดกลืนแสง 0.70 ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เติมตัวอย่างน้ำสกัด 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันจับเวลา 1 นาทีแล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร คำนวณหาค่าร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ (scavenging activity) (ตามรายละเอียดที่แสดงในภาคผนวก ข)

1.2.2. ฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียของน้ำหอมแดงสกัด

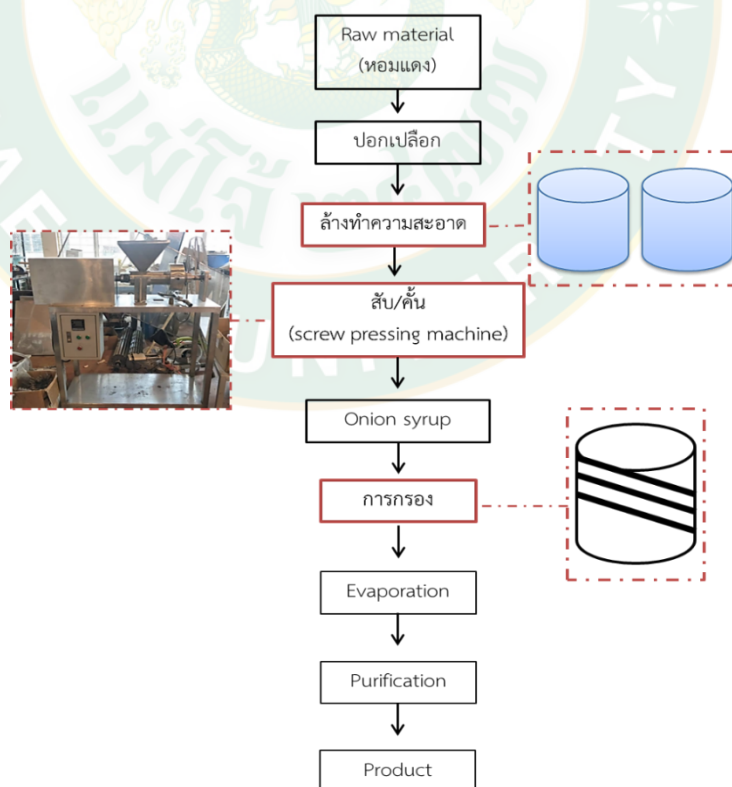
ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านหรือยับยั้งการเจริญเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหอมแดง โดยการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (Minimum inhibitory concentration; MIC) ของน้ำสกัดหอมแดง ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ และการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สารสกัดสามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal bactericidal concentration; MBC) ของน้ำสกัดหอมแดง ต่อการเจริญของเชื้อ *Sal. Typhimurium*, *E. coli* และ *S. aureus* น้ำหอมแดงสกัดถูกฆ่าเชื้อโดยใช้การกรองผ่านตัวกรองเซมิพิดยา (0.2 ไมครอน) ชั้นแรกทดสอบฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียเบื้องต้น ด้วยวิธี gel diffusion โดยการหยดสารสกัด 20 ไมโครลิตรลงในหลุมวุ้น ซึ่งมีเชื้อก่อโรคเจริญอยู่บนผิววุ้นอายุ 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปบ่มต่อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงและบันทึกบริเวณวงใส

สำหรับการศึกษาหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารน้ำสกัดหอมแดงในการยับยั้งการเจริญเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด ได้แก่ *E. coli*, *Sal. Typhimurium* และ *S. aureus* โดยน้ำสกัดหอมแดงที่ปราศจากเขื่อนนำมาเจือจางเป็นลำดับ (serial dilution) ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ NB (ปริมาตรรวมที่ 5 มล. ในหลอดทดลอง) จากนั้นเติมหัวเชื้อก่อโรค 2×10^7 CFUต่อมิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บันทึกผลโดยสังเกตจากสีของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ความเข้มข้นต่ำสุดของสารสกัดที่เชื้อก่อโรคไม่สามารถเจริญได้ หรือสีของอาหารไม่ขุ่น จะถูกบันทึกเป็นค่า MIC และนำตัวอย่างจากการทดสอบหาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ที่ได้ 10 ไมโครลิตรจากหลอดทดลองที่ไม่มี

การเจริญเติบโต มาทดสอบหาค่าความเข้มข้นขั้นต่ำสุดในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC) ด้วยเทคนิคเกลี่ยเชื้อลงบนอาหารแข็งสูตร *Salmonella-Shigella* agar (SS agar) eosin methylene blue agar (EMB agar) และ NA บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนับเซลล์ของ *Sal. Typhimurium*, *E. coli* และ *S. aureus* ตามลำดับ ความเข้มข้นขั้นต่ำที่สุดของสารสกัดที่ไม่มีการเจริญของเชื้อก่อโรคจะถูกบันทึกเป็นค่าความเข้มข้นขั้นต่ำในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย (MBC)

2. การออกแบบผังการผลิต และคัดเลือกหน่วยผลิตเพื่อขยายกำลังการผลิตสู่ระดับกึ่งอุตสาหกรรม

ทบทวนผังการผลิต คัดเลือกหน่วยผลิต ที่ควรมีการพัฒนาเพื่อขยายกำลังการผลิต ให้ได้ไม่ต่ำกว่า 50 กิโลกรัมของวัตถุดิบ (ประมาณ 35 กิโลกรัมของผลิตภัณฑ์น้ำสกัดหอมแดง) ออกแบบและประกอบเครื่องจักรโดยจะมุ่งศึกษาและทำการพัฒนาที่หน่วยล้างทำความสะอาด หน่วยคั้นสกัดน้ำหอมแดง และหน่วยกรอง โดยจากการศึกษาผลการสกัดในระดับหือปฏิบัติการ จะทำการออกแบบและพัฒนาหน่วยผลิตทั้ง 3 หน่วยข้างต้น พร้อมออกแบบและประกอบเครื่องมือเพื่อให้มีกำลังการผลิต ฟังก์ชันการใช้งาน และประสิทธิภาพตามต้องการ ดังภาพที่ 10



ภาพที่ 10 ผังการผลิตและคัดเลือกหน่วยผลิตที่ควรมีการพัฒนาเพื่อขยายกำลังการผลิต

2.1. เครื่องล้างทำความสะอาด

เครื่องล้างทำความสะอาดออกแบบให้มีฟังก์ชันการใช้งานแบบระบบน้ำหมุนวน มีแผงควบคุมการทำงานโดยการตั้งค่าระดับน้ำ เวลาในการล้างทำความสะอาด ระบบน้ำเข้า-ออก ควบคุมด้วยระบบอัตโนมัติ โดยเครื่องต้องสามารถรองรับการทำความสะอาดหัวหอมได้มากกว่า 30 กิโลกรัมต่อรอบการทำงาน

2.2. เครื่องคั้นสกัด

เครื่องคั้นสกัดหอมแดง มีการออกแบบการใช้งานให้เป็นเครื่องคั้นสกัดแบบสกรูเพรส (screw pressing machine) สามารถสกัดแยกกากได้ มีระบบวัดอุณหภูมิภายในเครื่องและมีระบบน้ำหล่อเย็น เพื่อควบคุมอุณหภูมิไม่ให้เกิน 55-60 องศาเซลเซียสในระหว่างที่เครื่องทำงานโดยเครื่องต้องสามารถรองรับการคั้นสกัดแยกกากหัวหอมได้มากกว่า 30 กิโลกรัมต่อชั่วโมง

2.3. เครื่องกรองสุญญากาศ

เครื่องกรองออกแบบให้เป็นระบบสุญญากาศ ต้องการชุดแผ่นกรอง แบบ 3 ชั้น ที่มุมเอียง 15 องศา เพื่อให้การกรองสารสกัดมีประสิทธิภาพดีขึ้น มีวาล์วเปิด-ปิด เพื่อเก็บตัวอย่างน้ำสกัดหอมแดงด้านล่างของเครื่องเพื่อความสะดวก ออกแบบให้มีระบบการตั้งเวลาอัตโนมัติ และมีสัญญาณเตือนเมื่อสิ้นสุดการทำงาน

3. การประเมินประสิทธิภาพของหน่วยผลิตน้ำเชื่อม FOS จากหอมแดง

3.1. เครื่องล้างทำความสะอาด

3.1.1. ตะกอนดิน

นำหอมแดงที่ยังไม่ปอกเปลือกที่ทราบน้ำหนักแน่นอน 30 กิโลกรัม ไปคลุกกับดิน จากนั้นผึ่งให้แห้ง แล้วนำไปชั่งน้ำหนักที่แน่นอน จากนั้นทดสอบประสิทธิภาพเครื่องล้างทำความสะอาดระบบน้ำหมุนวน ใช้น้ำ 80 ลิตรต่อรอบการล้าง ใช้เวลา 30 นาที แล้วเก็บตัวอย่างน้ำล้างที่เวลา 5 10 15 20 25 และ 30 นาที เพื่อมาวิเคราะห์หาปริมาณของแข็งทั้งหมด คิดเป็นร้อยละของแข็งที่ชำระล้างออกมาได้เทียบกับตะกอนดินเริ่มต้น

3.1.2. จุลินทรีย์ปนเปื้อน

นำหอมแดงที่ปอกเปลือกแล้ว 30 กิโลกรัม ไปคลุกกับจุลินทรีย์ โดยการทดลองครั้งนี้จะใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ชนิดแห้งเป็นโมเดลในการศึกษา จากนั้นผึ่งให้แห้งในตู้แช่แข็ง แล้วนำไปชั่งน้ำหนักที่แน่นอน ทดสอบประสิทธิภาพเครื่องล้างทำความสะอาดระบบน้ำหมุนวน โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างการล้างด้วยการเสริมสารทั้งหมด 4 รูปแบบ ได้แก่ 1) น้ำเปล่า 2) น้ำที่เสริมด้วยโซเดียมคลอไรด์ (ความเข้มข้นร้อยละ 0 0.5 1.0 และ 2.0) 3) น้ำที่เสริมด้วยโซเดียมไบคาร์บอเนต (ความเข้มข้นร้อยละ 0 0.5 1.0 และ 2.0) และ 4) น้ำที่เสริมด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์

(ความเข้มข้น 0 50 100 และ 150 ppm) ใช้เวลาในการล้าง 30 นาที โดยเก็บตัวอย่างน้ำล้างที่เวลา 5 10 15 20 25 และ 30 นาที เพื่อวัดความหนาแน่นของเซลล์ยีสต์ในน้ำล้างและเพาะเลี้ยงเชื้อหาร้อยละของการรอดชีวิตของเชื้อยีสต์ในน้ำล้างโดยนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตบนอาหารแข็งสูตร Yeast extract peptone dextrose (YPD agar)

3.2. เครื่องคั่นสกัด

นำนมแดงที่ปอกเปลือก ล้างทำความสะอาด และผึ่งให้แห้งสนิท 30 กิโลกรัม มาสกัดด้วยเครื่องคั่นสกัดแบบสกรูเพลสที่ออกแบบขึ้น จากนั้นบันทึกเวลา ปริมาณน้ำสกัดที่ได้เพื่อวัดอัตราการทำงานของเครื่อง และเก็บตัวอย่างกากหอมแดงที่แยกได้จากเครื่องนี้ไปอบเพื่อวัดหาค่าความชื้นในกากที่เหลือ

3.3. เครื่องกรองสุญญากาศ

นำน้ำสกัดหอมแดงทำการกรอง ด้วยเครื่องกรองสุญญากาศที่ออกแบบขึ้น โดยใช้แผ่นกรองแพลงตอน (plankton filter) ร่วมด้วย ใช้เวลาในการกรอง 30 นาที โดยเก็บตัวอย่างน้ำสกัดหอมแดงและกากหอมแดงบน Plankton filter ที่เวลา 10 20 และ 30 นาที เพื่อวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด และวัดความขุ่นด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร

4. การผลิตน้ำเชื่อม FOS จากหอมแดงในระดับกึ่งอุตสาหกรรม

ทำการผลิตน้ำเชื่อม FOS ด้วยกระบวนการในระดับกึ่งอุตสาหกรรมที่ออกแบบแล้ว โดยมีวิธีการดังภาพที่ 10 จากนั้นนำน้ำสกัดหอมแดงที่ผลิตจากเครื่องมีระดับกึ่งอุตสาหกรรมทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและชีวภาพ ได้แก่ การวิเคราะห์คุณภาพของน้ำตาล ฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ ABTS⁺ ปริมาณโปรตีน และปริมาณของแข็งทั้งหมด เปรียบเทียบระหว่างน้ำสกัดหอมแดงก่อนและหลังกระบวนการกรอง และน้ำเชื่อม FOS ที่ผ่านการระเหยน้ำออกร้อยละ 50 ด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ บันทึกผลที่ได้ (yield) จากนั้นทำการวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์น้ำเชื่อม FOS ที่ผลิตได้ตามวิธีการข้อที่ 1.

5. การศึกษาคุณภาพของวัตถุดิบและน้ำสกัดหอมแดงระหว่างการเก็บรักษา

5.1. คุณภาพวัตถุดิบ

เก็บตัวอย่างหอมแดงสดทำการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา โดยวิเคราะห์คุณภาพการเก็บรักษาหอมแดงด้วยการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ 3 กลุ่ม ได้แก่ เชื้อรา แบคทีเรีย และยีสต์ ที่เจริญบนพื้นผิวของหัวหอม ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 2 ระดับ ได้แก่ อุณหภูมิห้อง (25-27 องศาเซลเซียส) และที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นนำตัวอย่างหอมแดงที่เก็บรักษาภายใต้สภาวะที่กำหนดไปเพาะเลี้ยงบนอาหารเพื่อทดสอบการเจริญของเชื้อทั้ง 3 กลุ่มด้วยเทคนิคเกลี่ยเชื้อ (spread

plate technique) บนอาหารสูตร Nutrient agar (NA) Yeast extract peptone dextrose (TPDA) และ Potato dextrose agar (PDA) ตามลำดับ เป็นเวลา 10 สัปดาห์ จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์

5.2. น้ำสกัดหอมแดง

เก็บตัวอย่างน้ำสกัดหอมแดงที่ผ่านการกำจัดโปรตีนและรอเข้าสู่กระบวนการทำให้สารสกัดเข้มข้น ทำการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา โดยวิเคราะห์คุณภาพการเก็บรักษาน้ำสกัดหอมแดง ทดลองโดยการเสริมสารโพแทสเซียมซอร์เบต (potassium sorbate) ที่ระดับความเข้มข้น 0 50 และ 100 ppm เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 35 วัน จากนั้นเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของสารต่างๆด้วยการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาล ฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ ABTS (ตามรายละเอียดที่แสดงในภาคผนวก ข) และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งจะทำการวิเคราะห์เชื้อแบคทีเรีย เชื้อยีสต์ และเชื้อรา ด้วยเทคนิคเกลี่ยเชื้อบนอาหารแข็งสูตร NA YPDA และ PDA ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีการตรวจสอบการเจริญของเชื้อก่อโรคในอาหารคือ *E.coli* และ *Sal. Typhimurium* บนอาหารคัดเลือก จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์

6. การศึกษากระบวนการที่เหมาะสมในการผลิตน้ำหอมแดงสกัดเข้มข้น

นำน้ำหอมแดงสกัดที่ผ่านการกำจัดโปรตีนเบื้องต้นแล้ว มาทำการศึกษาวิธีการที่ทำให้เข้มข้นโดยทดลองทั้งหมด 3 วิธี ได้แก่ 1) การทำให้น้ำสกัดหอมแดงเข้มข้นด้วยการแช่แข็ง 2) การระเหยด้วยความร้อน และ 3) การใช้เครื่องระเหยในสภาวะสุญญากาศ (vacuum evaporator) การทำให้น้ำหอมแดงสกัดเข้มข้นด้วยการแช่แข็ง ด้วยการนำน้ำหอมแดงสกัดแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส นาน 20 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างมากรองด้วยชุดกรองสุญญากาศเพื่อแยกส่วนน้ำแข็งออกจากน้ำสกัด ทำซ้ำทั้งหมด 2 รอบ จะได้น้ำเชื่อม FOS จากหอมแดง จากนั้นบันทึกปริมาตรและนำสารสกัดไปวิเคราะห์คุณภาพของน้ำตาล

การระเหยด้วยความร้อน โดยนำตัวอย่างน้ำหอมแดงสกัด ให้ด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นบันทึกปริมาตรและนำสารสกัดไปวิเคราะห์คุณภาพของน้ำตาล และนำตัวอย่างไประเหยในสภาวะสุญญากาศที่ความดัน 75 mbar ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส หมุนด้วยความเร็ว 75 rpm จากนั้นบันทึกปริมาตรและนำสารสกัดไปวิเคราะห์คุณภาพของน้ำตาล (ตามรายละเอียดที่แสดงในภาคผนวก ข)

7. การทำบริสุทธิ์น้ำหอมแดงสกัด

7.1. คอลัมน์ถ่านกัมมันต์

ทำการล้างถ่านกัมมันต์ด้วยน้ำกลั่นให้สะอาด จากนั้นนำไปอบให้แห้ง บรรจุถ่านกัมมันต์ 50 กรัมลงในบิวเรต ขนาด 50 มิลลิลิตร นำสารสกัดน้ำตาลมาชะล้างคอลัมน์ถ่านกัมมันต์ที่เตรียมไว้ในอัตราส่วน 1:1 (ถ่านกัมมันต์:น้ำหอมแดงสกัด) โดยจะชะน้ำหอมแดงสกัดทั้งหมด 8 รอบ บันทึกปริมาตร และเก็บตัวอย่างน้ำสกัดที่ผ่านกระบวนการชะในแต่ละรอบ จากนั้นนำตัวอย่างที่ได้ไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ จากนั้นคำนวณหาค่า DP เฉลี่ยของน้ำตาล และการทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำตาลสกัด (ตามรายละเอียดที่แสดงในภาคผนวก ข)

7.2. การหมักด้วยยีสต์

ใช้ยีสต์ *S. cerevisiae* จากคลังเชื้อห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จำนวน 2 ไอโซเลท ได้แก่ IR1 และ IR5 มาใช้ในการศึกษา โดยผสมสารแขวนลอยของยีสต์ปริมาตร 0.03 มิลลิลิตร ลงในน้ำสกัดหอมแดงที่ผ่านการทำให้ปราศจากเชื้อโดยการกรองผ่านตัวกรองเซมิซิดิยา (0.2 ไมครอน) ปริมาตร 3.00 มิลลิลิตร จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิห้อง (25-28 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุกๆ 6 ชั่วโมงเพื่อวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ จากนั้นคำนวณหาค่า DP เฉลี่ยของน้ำตาล (ตามรายละเอียดที่แสดงในภาคผนวก ข)

7.3. เอนไซม์อินเวอร์เทส

นำน้ำสกัดหอมแดงปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร มาทำให้บริสุทธิ์โดยเติมเอนไซม์อินเวอร์เทส ปริมาตร 0 0.157 0.314 0.471 0.628 และ 0.785 ยูนิต นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียสในอ่างควบคุมอุณหภูมิเป็นเวลา 10 นาที นำตัวอย่างที่ได้วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และน้ำตาลรีดิวซ์ โดยใช้น้ำตาลซูโครสเป็นมาตรฐาน (ตามรายละเอียดที่แสดงในภาคผนวก ค)

8. การทดสอบคุณสมบัติพรีไบโอติกของน้ำเชื่อม FOS ในการกระตุ้นการเจริญของเชื้อเดี่ยว

เพาะเลี้ยงหัวเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก ได้แก่ *L. acidophilus*, *L. bugarius*, *L. lactis*, *L. plantarum*, *L. johnsonii* CK3, *L. johnsonii* VCF, *L. johnsonii* 1022 และ *L. johnsonii* 8791 ในอาหารเหลวสูตร MRS และเพาะเลี้ยงหัวเชื้อก่อโรคทางอาหาร ได้แก่ *E. coli*, *Sal. Typhimurium*, *S. aureus* และ *B. cereus* ในอาหารเหลวสูตร NB บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นปั่นแยกเซลล์ และล้างเซลล์ด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 เติมหักเชื้อปริมาณ 10 ไมโครลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร basal medium โดยเติมแหล่งคาร์บอนร้อยละ 1 ประกอบไปด้วย

1. Basal medium ปราศจากแหล่งคาร์บอน
2. Basal medium เสริมด้วยน้ำตาลกลูโคส
3. Basal medium เสริมด้วยน้ำตาลอินูลิน
4. Basal medium เสริมด้วยน้ำหอมแดงสกัดจากระดับห้องปฏิบัติการ
5. Basal medium เสริมด้วยน้ำหอมแดงสกัดจากระดับกึ่งอุตสาหกรรม
6. Basal medium เสริมด้วยน้ำเชื่อม FOS

จากนั้นเก็บตัวอย่างน้ำเลี้ยงในทุกๆ ทริตเมนต์ ที่เวลา 0 และ 18 ชั่วโมง เพื่อวัดค่า pH และทำการเจือจางตัวอย่างด้วยวิธีเจือจางลำดับส่วน จากนั้นเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยเทคนิค drop plate บนอาหารคัดเลือก (selective medium) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนี เพื่อคำนวณหาค่าผลต่างของการเจริญของเชื้อแต่ละสายพันธุ์

9. การวิเคราะห์ต้นทุนการผลิตน้ำเชื่อม FOS

นำข้อมูลผลการทดลองที่ได้ทั้งหมดมาวิเคราะห์ และเปรียบเทียบประสิทธิภาพทั้งทางด้านการผลิต ต้นทุนค่าใช้จ่าย ต้นทุนเวลา รวมถึงคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์น้ำเชื่อม FOS จากหอมแดงที่ผลิตได้ทั้งในระดับห้องปฏิบัติการและกระบวนการระดับกึ่งอุตสาหกรรมที่พัฒนาขึ้น พร้อมทั้งสรุปผลการทดลอง

10. สถิติที่ใช้ในการวิจัย

ผลการวิเคราะห์แสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลองอย่างน้อย 3 ซ้ำ จากนั้นวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ Statistix©

บทที่ 4

ผลการวิจัยและวิจารณ์

1. คุณสมบัติทางเคมีและชีวภาพของหอมแดงในการผลิตในระดับห้องปฏิบัติการ

ตัวอย่างของหอมแดงที่นำมาทดสอบมีแหล่งที่มาจากจังหวัดศรีสะเกษดังแสดงในภาพที่ 11 และตัวอย่างหอมแดงสดนำมาวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นโดยการอบที่ 105 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง พบว่าหอมแดงมีปริมาณร้อยละของความชื้นเท่ากับ 77.12 ± 0.23 นำมาสกัดน้ำตาล โดยใช้เครื่องมือการสกัดในระดับปฏิบัติการ ซึ่งเมื่อนำมาสกัดและวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และคำนวณหาค่า DP เฉลี่ยของน้ำตาล ผลการทดลองพบว่าปริมาณน้ำสกัดหอมแดงเท่ากับ 453.00 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัมของน้ำหนักหอมแดงสด คิดเป็น yield เท่ากับ ร้อยละ 7.6 โดยน้ำหนักสด มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 75.89 ± 2.55 กรัมต่อกิโลกรัมของหอมแดงสด และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 3.26 ± 0.04 กรัมต่อกิโลกรัมของหอมแดงสด (ดังแสดงในตารางที่ 11)



ภาพที่ 11 หัวหอมพันธุ์ศรีสะเกษ (A.) และน้ำตาลสกัดที่สกัดได้จากหอมแดง (B.)

เมื่อนำสารสกัดมา วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ (soluble protein) และวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ พบว่า สารสกัดน้ำตาลมีปริมาณโปรตีนที่ละลายได้เท่ากับ 0.03 ± 0.00 กรัมต่อกิโลกรัมของหอมแดงสด มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในรูปของค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระชนิด ABTS ร้อยละ 50.66 ± 0.22 (ดังแสดงในตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 ปริมาณน้ำตาล โปรตีนที่ละลายได้ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากน้ำหอมแดงสกัดคืดต่อ 1 กิโลกรัมของหอมแดงสด

คุณสมบัติ	ค่าการวิเคราะห์
น้ำตาลทั้งหมด (กรัม)	75.89
น้ำตาลรีดิวซ์ (กรัม)	3.26
Degree of polymerase	23
โปรตีนที่ละลายได้ (กรัม)	0.03
%inhibition ABTS	50.66

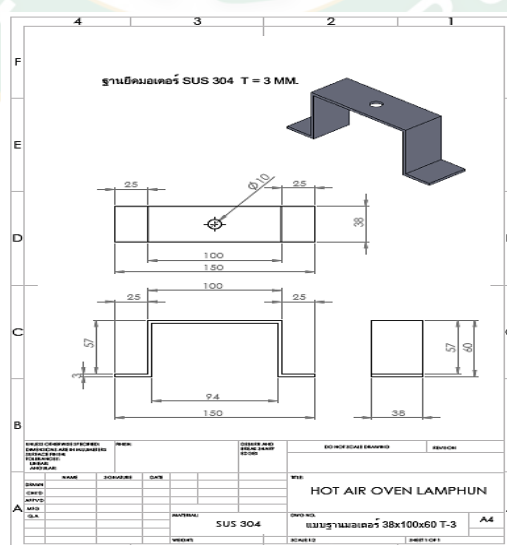
หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย \pm SD จาก 3 ซ้ำ

2. ผลการออกแบบและประกอบเครื่องมือการผลิตน้ำเชื่อม FOS ในระดับกึ่งอุตสาหกรรม

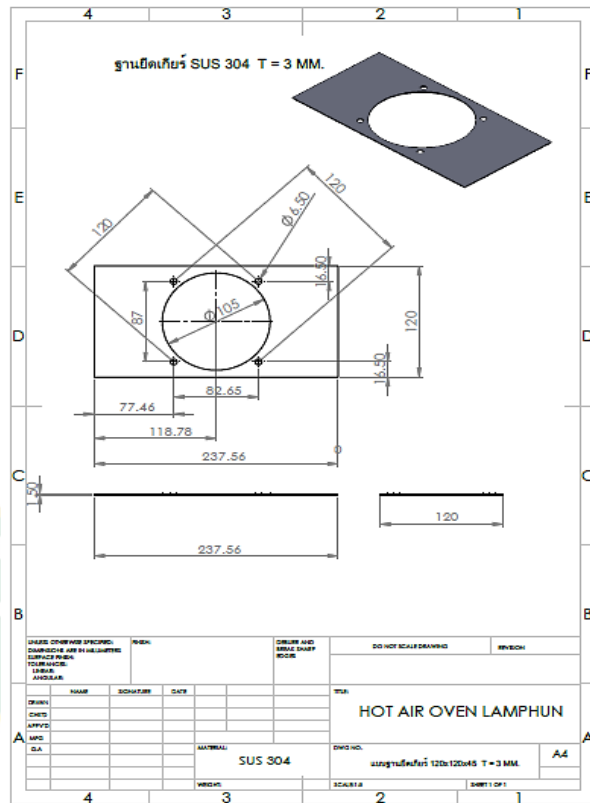
จากการออกแบบเครื่องมือสู่ระดับอุตสาหกรรมเพื่อขยายขนาดในการผลิตประกอบด้วย เครื่องกรองระบบสุญญากาศ เครื่องล้างทำความสะอาด และเครื่องสกัดหรือเครื่องสกรูเพรส ผลการออกแบบแสดงดังต่อไปนี้

2.1. เครื่องล้างทำความสะอาดระบบน้ำหมุนวน

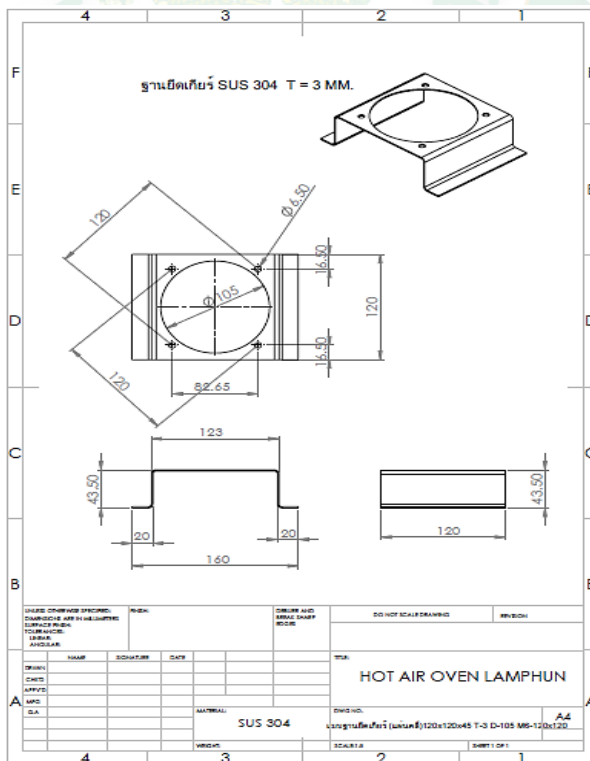
การออกแบบและประกอบเครื่องล้างทำความสะอาด จะเป็นการล้างในระบบน้ำหมุนวน มีแผงควบคุมการทำงานอัตโนมัติ สามารถตั้งค่าระดับน้ำ เวลา และมีระบบน้ำเข้า-ออกอัตโนมัติ โครงสร้างและแบบประกอบ แสดงดังภาพที่ 12-22



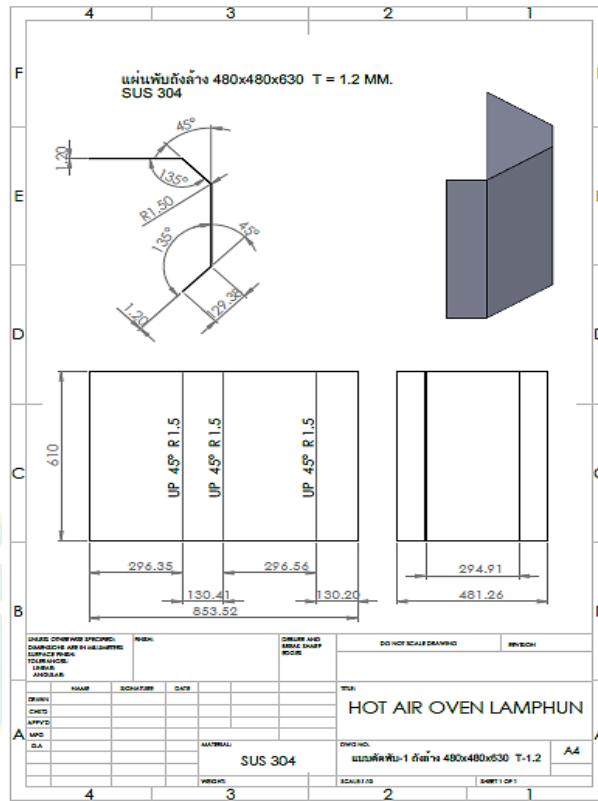
ภาพที่ 12 แบบฐานยึดมอเตอร์เครื่องล้างทำความสะอาด



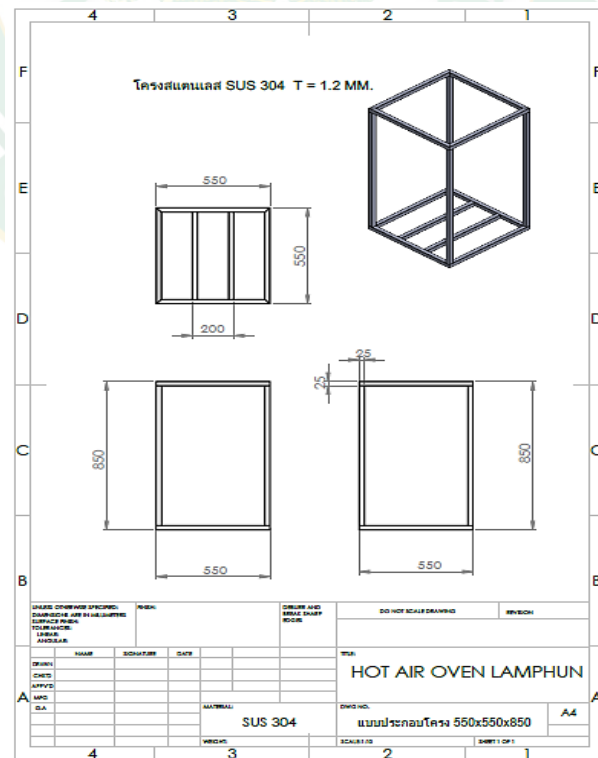
ภาพที่ 13 แบบฐานยึดเกียร์เครื่องล้างทำความสะอาด



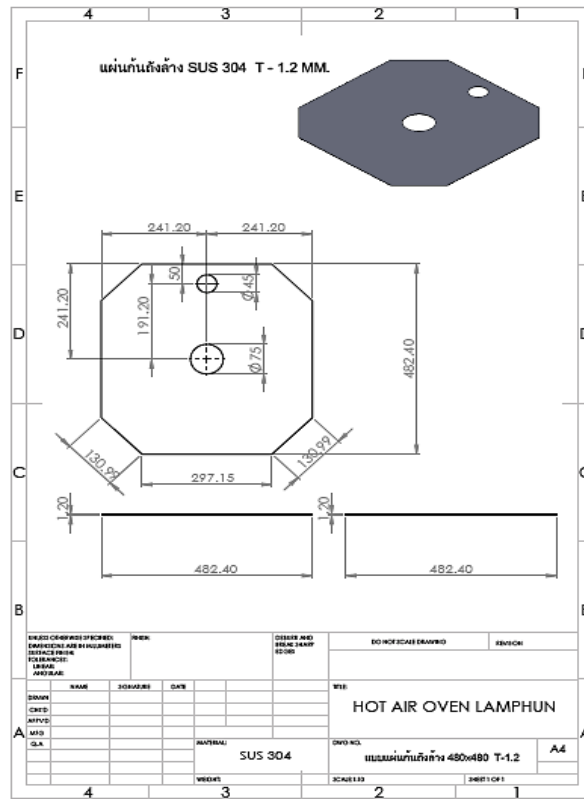
ภาพที่ 14 แบบฐานยึดเกียร์เครื่องล้างทำความสะอาด



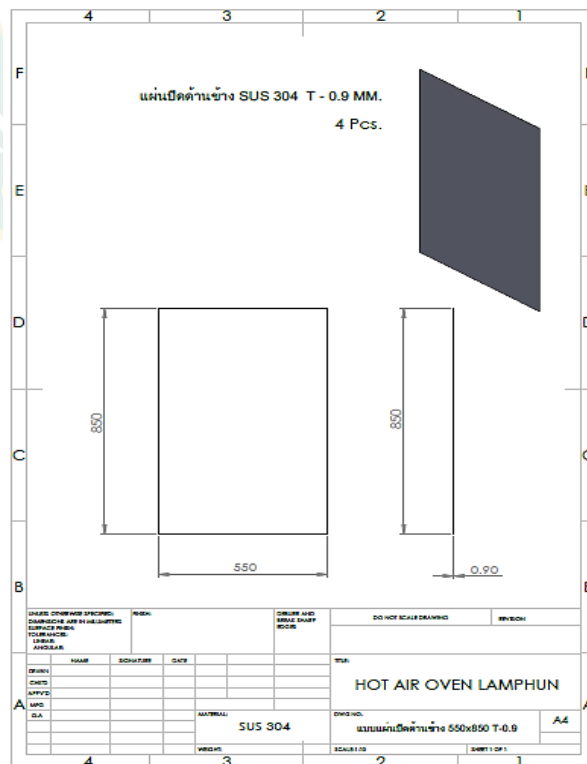
ภาพที่ 15 แบบแผ่นพับตั้งเครื่องล้างทำความสะอาด



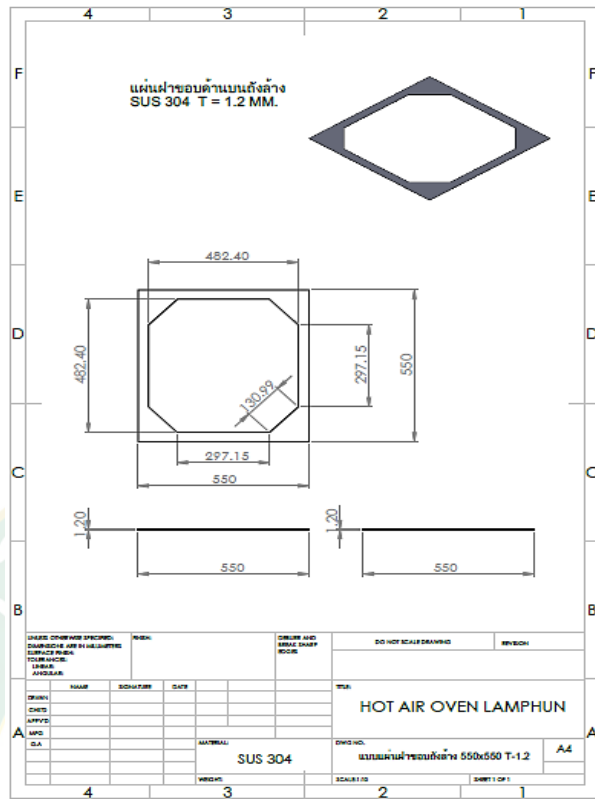
ภาพที่ 16 แบบโครงสแตนเลสเครื่องล้างทำความสะอาด



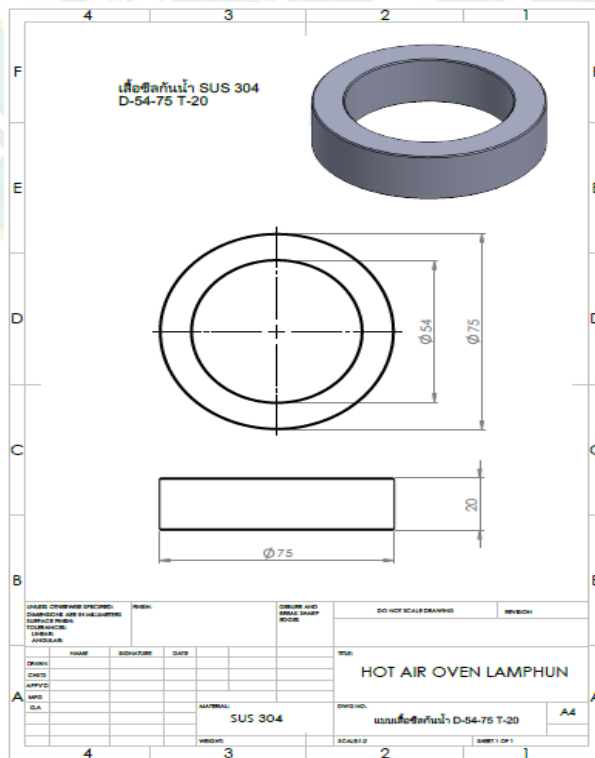
ภาพที่ 17 แบบแผ่นกันถังเครื่องล้างทำความสะอาด



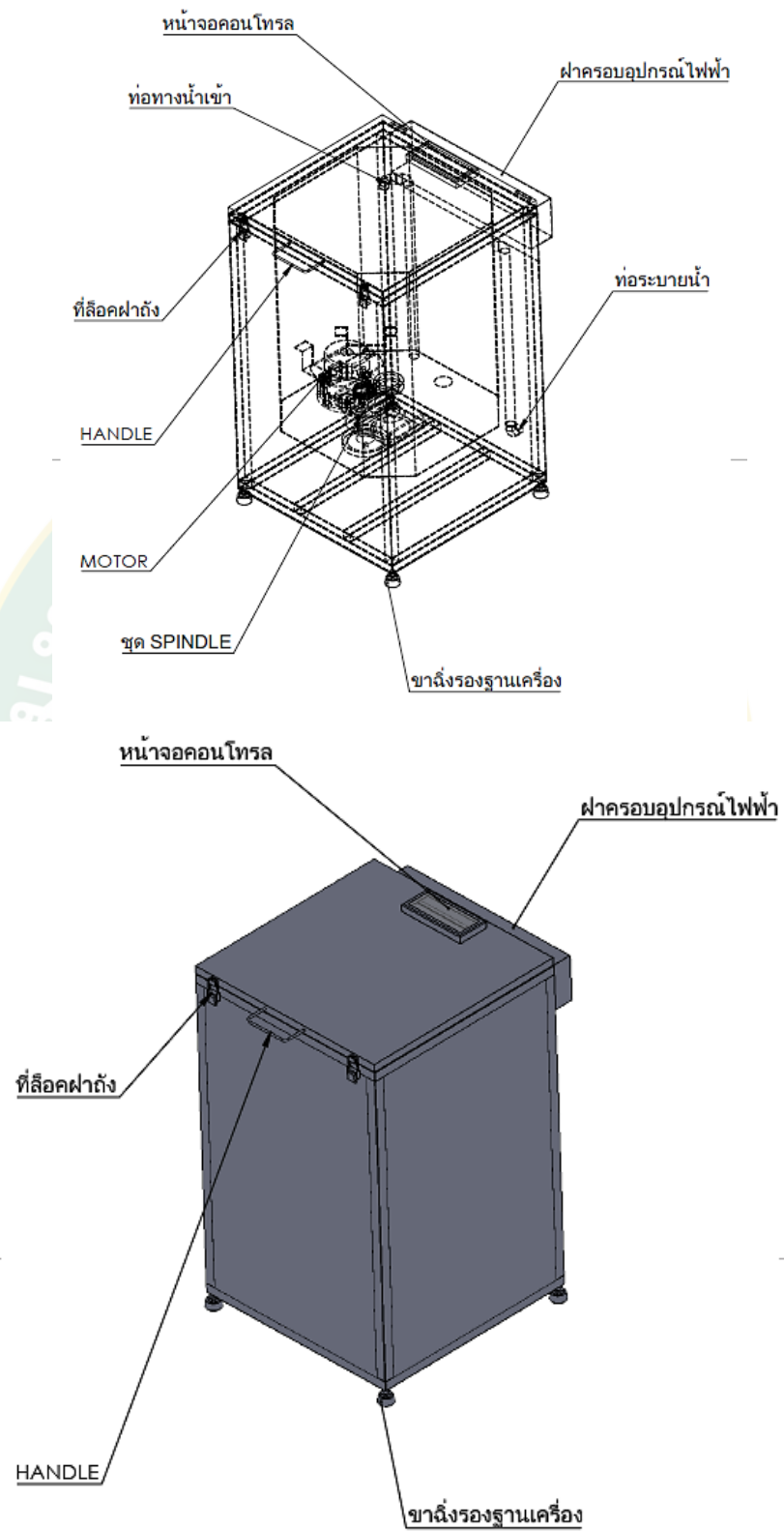
ภาพที่ 18 แบบแผ่นปิดด้านข้างเครื่องล้างทำความสะอาด



ภาพที่ 19 แบบแผ่นฝาขอบด้านบนถึงเครื่องล้างทำความสะอาด



ภาพที่ 20 แบบเสื้อก้นน้ำเครื่องล้างทำความสะอาด



ภาพที่ 21 แบบประกอบเครื่องล้างทำความสะอาด



A.



B.



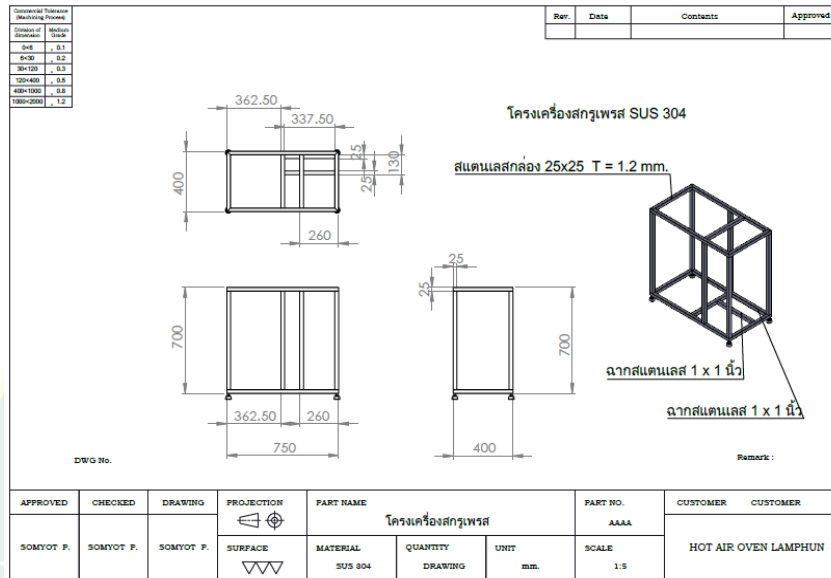
C.

ภาพที่ 22 เครื่องล้างทำความสะอาด เครื่องด้านหน้า (A.) แผงควบคุมด้านบน (B.) ภายในถังล้าง (C.)

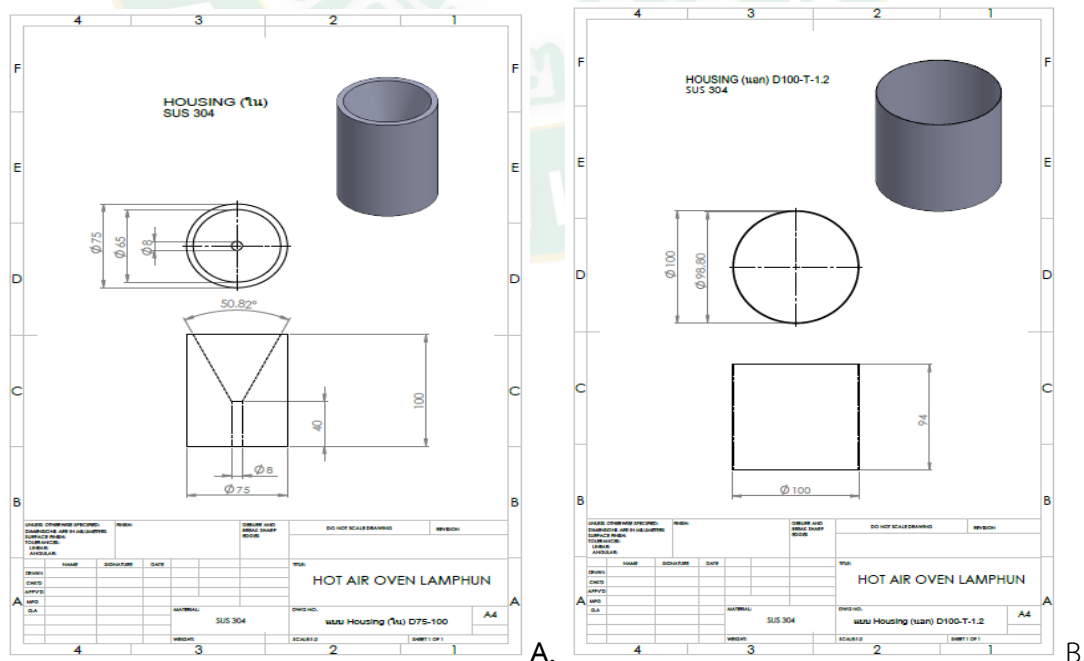
ชื่อหน่วย	รายละเอียด
เครื่องล้างทำความสะอาด	<ol style="list-style-type: none"> 1. โครงสร้างเครื่องล้างทำความสะอาด โครงสแตนเลส SUS 304 ขนาด T = 1.2 MM. 2. เสื้อซีลกันน้ำ สแตนเลส SUS 304 ขนาด D-54-75 T-20 3. ระบบควบคุมระบบการล้างด้วยการตั้งเวลาแบบอัตโนมัติ 4. ระบบล้างแบบน้ำหมุนวน 5. ระบบสัญญาณเตือนการสิ้นสุดการทำงาน 6. ระบบน้ำเข้า น้ำออกควบคุมด้วยระบบอัตโนมัติ 7. ระบบไฟฟ้า 220V 50Hz 1 เฟส

2.2. เครื่องคั้นสกัด

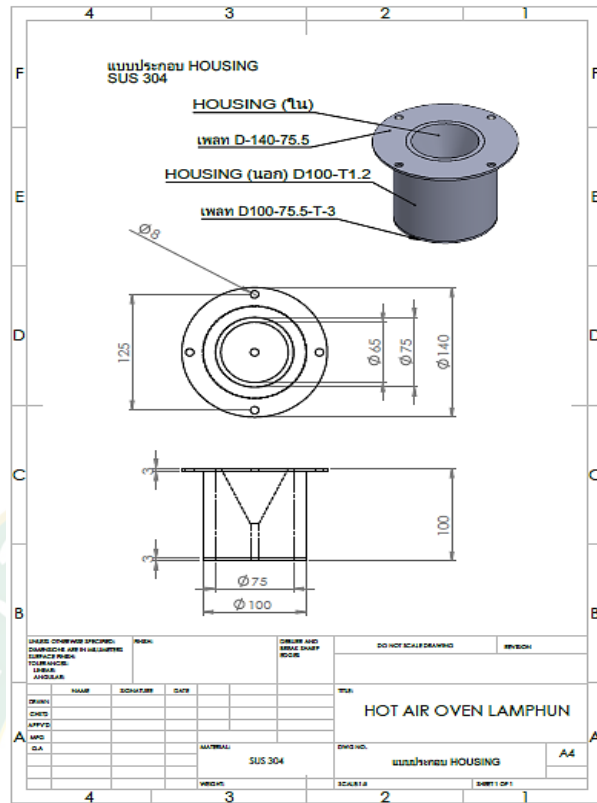
การออกแบบและประกอบเครื่องคั้นสกัด เป็นเครื่องคั้นแบบสกรูเพรส สามารถแยกน้ำ แยกกากได้ มีระบบน้ำหล่อเย็นเพื่อควบคุมอุณหภูมิภายในไม่ให้เกิน 55-60 องศา มีแผงควบคุมการทำงานอัตโนมัติ สามารถตั้งค่าเวลาได้ โครงสร้างและแบบประกอบ แสดงดังภาพที่ 23-33



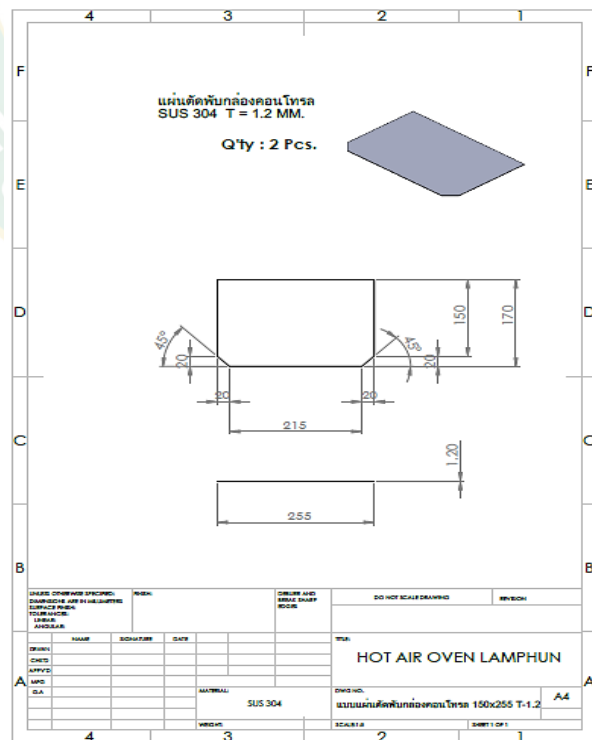
ภาพที่ 23 แบบโครงเครื่องสกัด



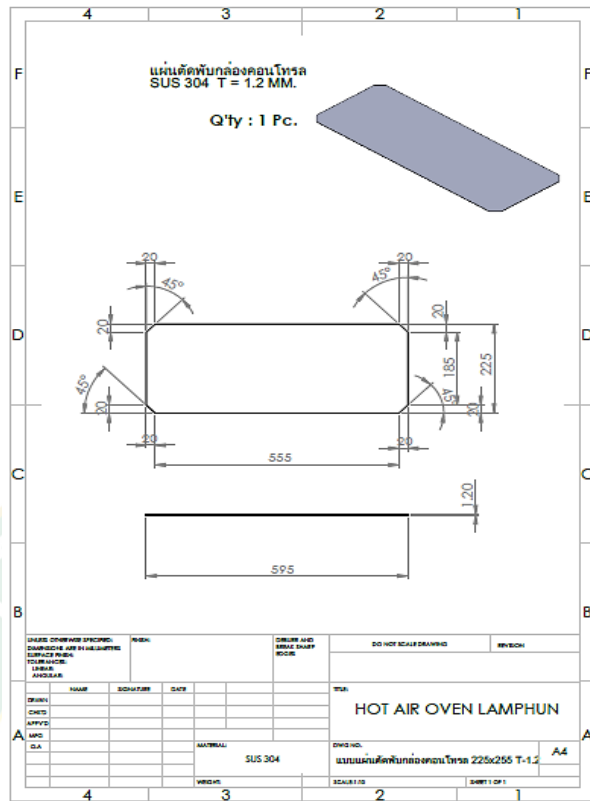
ภาพที่ 24 แบบ HOUSING รอบใน (A.) และรอบนอก (B.) ของเครื่องสกัด



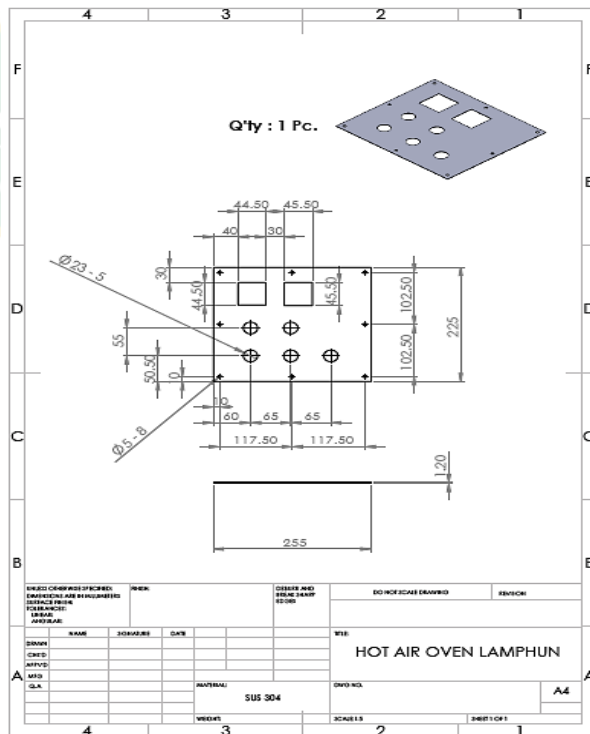
ภาพที่ 25 แบบประกอบ HOUSING ของเครื่องสกัด



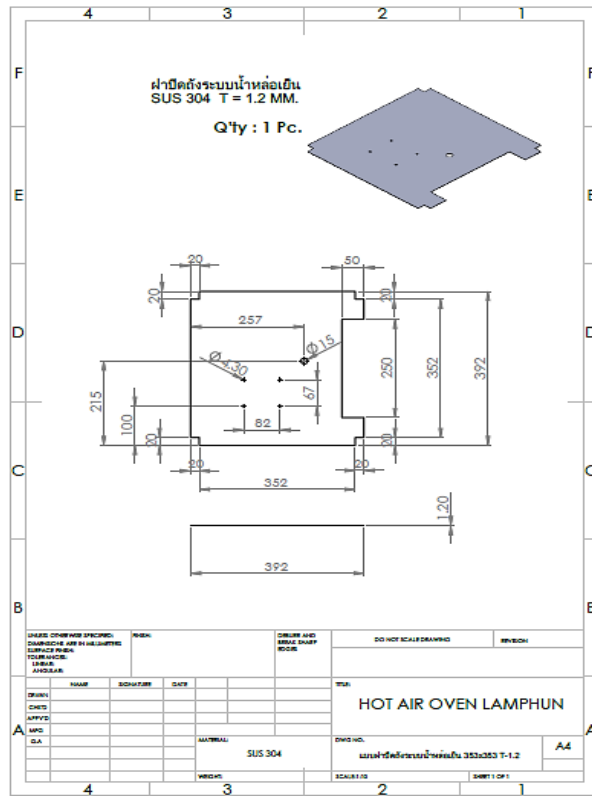
ภาพที่ 26 แบบแผ่นตัดพับกล่องคอนโทรลเครื่องสกัด



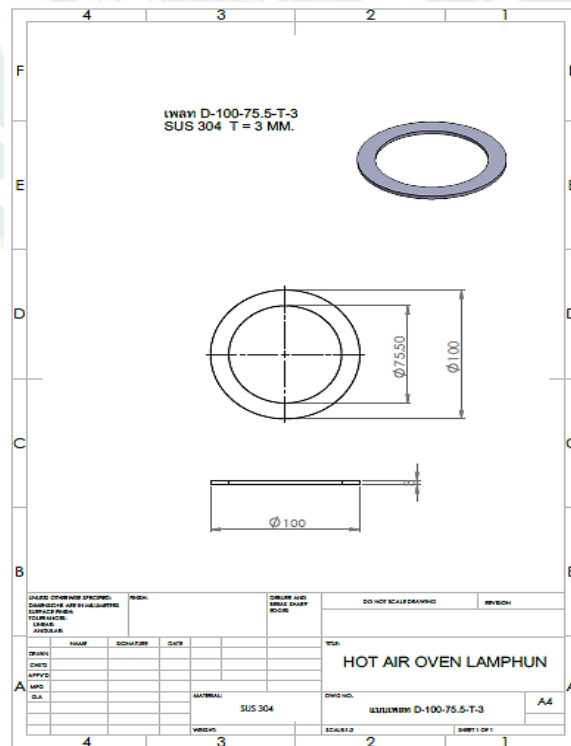
ภาพที่ 27 แบบแผ่นตัดพับกล่องคอนโทรลเครื่องสกัด



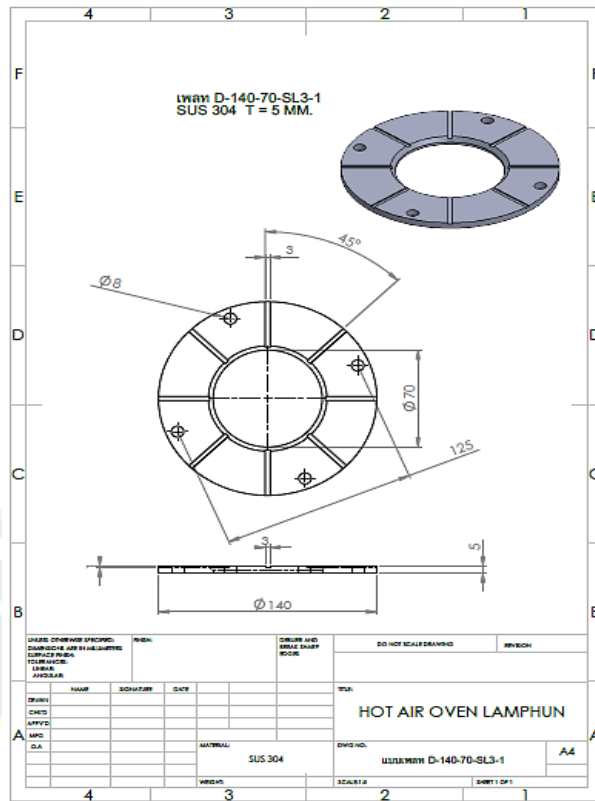
ภาพที่ 28 แบบแผ่นตัดพับกล่องคอนโทรลเครื่องสกัด



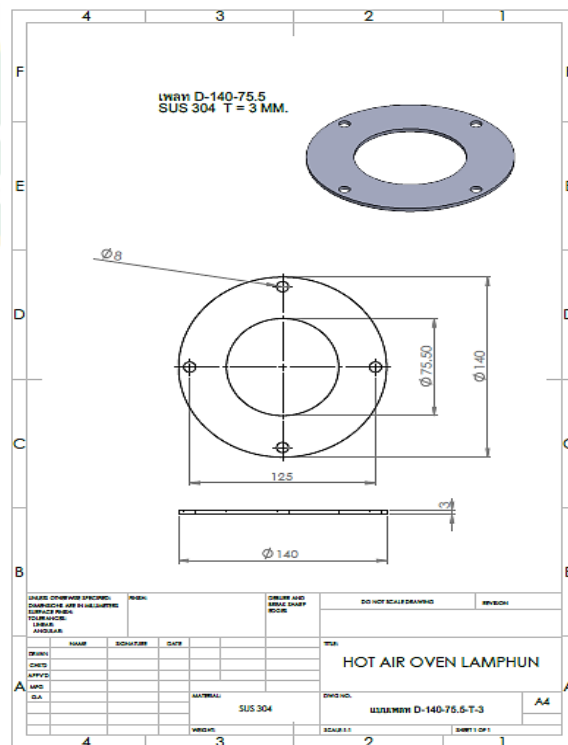
ภาพที่ 29 แบบฝาปิดถังระบบน้ำหล่อเย็นเครื่องสกัด



ภาพที่ 30 แบบเพลตเครื่องสกัด



ภาพที่ 31 แบบเพลตเครื่องสกัด



ภาพที่ 32 แบบเพลตเครื่องสกัด

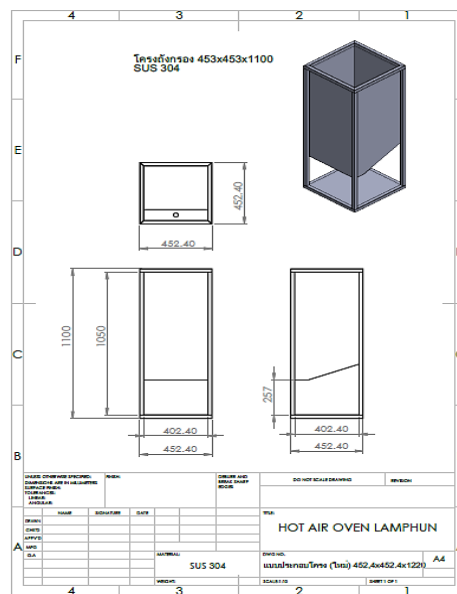


ภาพที่ 33 เครื่องสกัด (เครื่องสกรูเพรส)

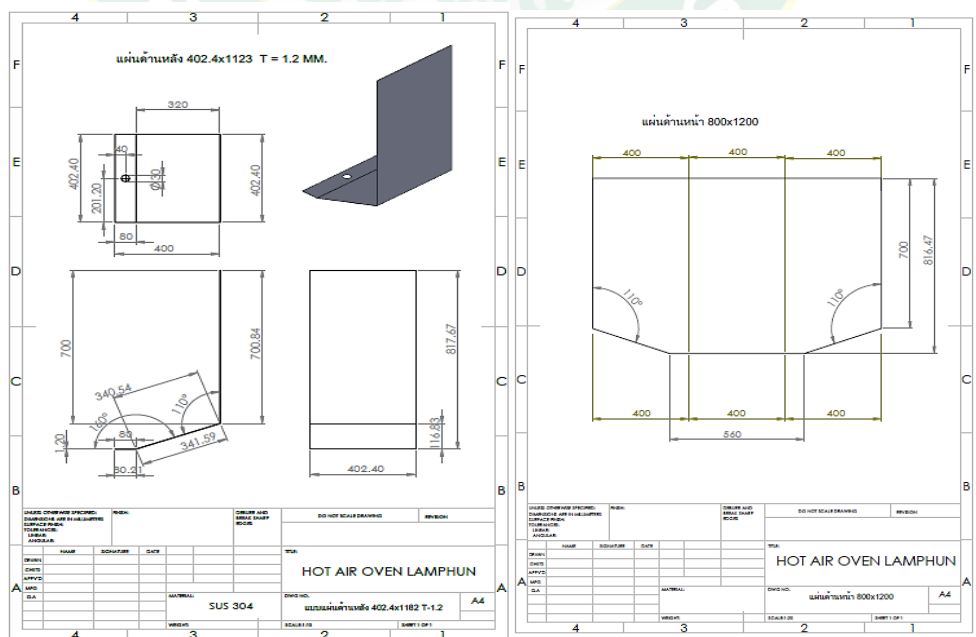
ชื่อหน่วย	รายละเอียด
เครื่องสกัด (เครื่องสกรูเพรส)	<ol style="list-style-type: none"> 1. โครงสร้างเครื่องสกัด (เครื่องสกรูเพรส) วัสดุสแตนเลส SUS 304 กว้างขนาด 25x25 T = 1.2 mm. 2. โครงสร้าง HOUSING วัสดุสแตนเลส SUS 304 3. โครงสร้าง เพลท วัสดุสแตนเลส SUS 304 ขนาด D-100-75.5-T-3 T = 3 MM. 5. โครงสร้างฝาปิดถังระบบน้ำหล่อเย็น วัสดุสแตนเลส SUS 304 ขนาด T = 1.2 MM. 6. แผ่นตัดพับกล่องคอนโทรล วัสดุสแตนเลส SUS 304 ขนาด T = 1.2 MM. 7. ระบบควบคุมระบบการสกัดด้วยการตั้งเวลา 8. ระบบสัญญาณเตือนการสิ้นสุดการทำงาน 9. ระบบไฟฟ้า 220V 50Hz 1 เฟส

2.3. เครื่องกรองระบบสุญญากาศ

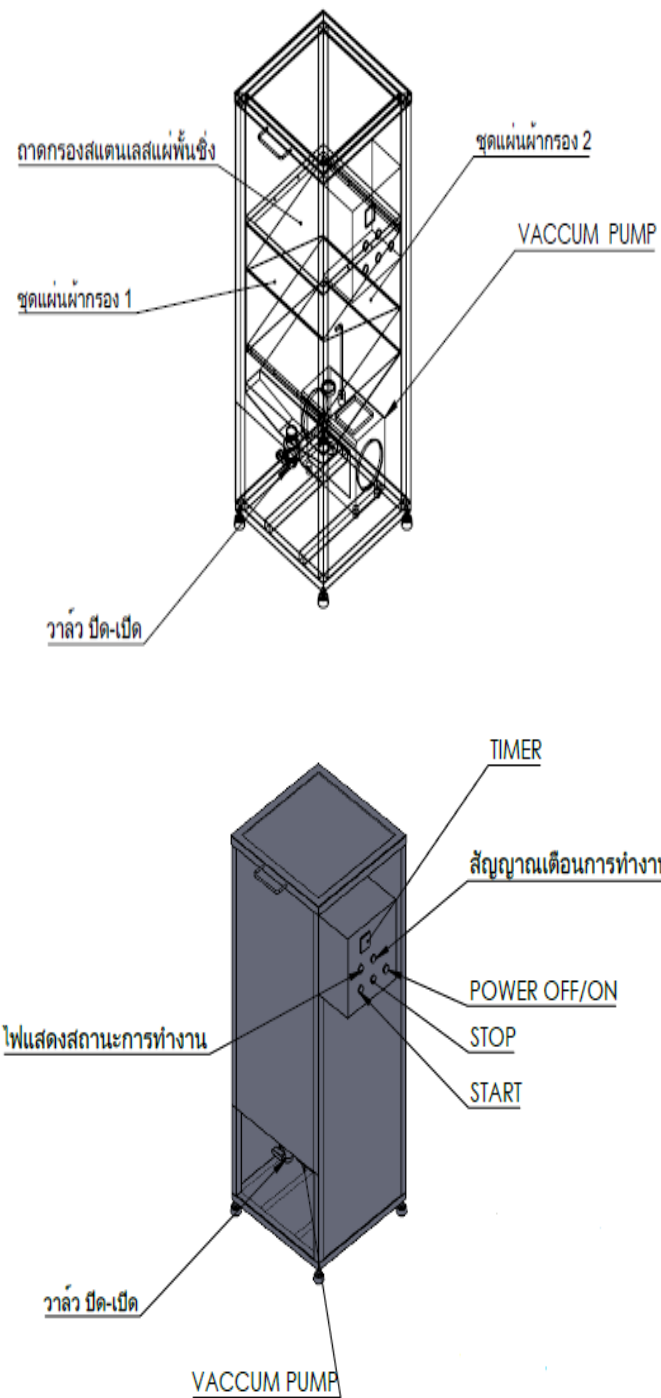
การออกแบบและประกอบเครื่องกรอง จะเป็นระบบสุญญากาศ มีชุดแผ่นกรอง 3 ชั้น ใช้ร่วมกับ Plankton filter สามารถแยกน้ำ แยกกากได้ มีวาล์วเปิด-ปิดเพื่อเก็บตัวอย่างด้านล่างของเครื่องจักร มีแผงควบคุมการทำงานอัตโนมัติ สามารถตั้งค่าเวลาได้ โครงสร้างและแบบประกอบแสดงดังภาพที่ 34-38



ภาพที่ 34 แบบประกอบโครงถึงเครื่องกรองระบบสุญญากาศ



ภาพที่ 35 แบบแผ่นด้านหน้า และด้านหลังโครงถึงเครื่องกรองระบบสุญญากาศ



ภาพที่ 36 แบบประกอบเครื่องกรองระบบสุญญากาศ



ภาพที่ 37 เครื่องกรองระบบสุญญากาศ

ชื่อหน่วย	รายละเอียด
แบบเครื่องกรองระบบสุญญากาศ	<ol style="list-style-type: none"> 1. โครงสร้างเครื่องกรองระบบสุญญากาศ วัสดุสแตนเลส SUS 304 ขนาด 454x454x1154 mm. 2. โครงสร้างถังกรอง วัสดุสแตนเลส SUS 304 ขนาด 400x400x800 mm. 3. ระบบปั๊มสุญญากาศ แบบ Dry rotary vane vaccum pump 4. ชุดแผ่นกรอง แบบ 3 ชั้น มุมเอียง 15 องศา 5. ระบบควบคุมระบบการกรองด้วยการตั้งเวลา 6. ระบบสัญญาณเตือนการสิ้นสุดการทำงาน 7. ระบบไฟฟ้า 220V 50Hz 1 เฟส

3. ผลการประเมินประสิทธิภาพของเครื่องมือในหน่วยผลิต

จากแผนกระบวนการผลิตในระดับห้องปฏิบัติการด้วยกระบวนการที่เสนอไว้ใน “กรรมวิธีการเตรียมน้ำตาลสกัดจากพืชตระกูลหัวหอม (เลขที่คำขอ 1601006677)” หน่วยผลิตที่คัดเลือกเพื่อขยายกำลังการผลิตได้แก่ หน่วยล้างทำความสะอาด หน่วยคั้นสกัดน้ำหอมแดง และหน่วยกรองที่ได้ออกแบบและประกอบเครื่องมือไปแล้วนั้น จึงทำการศึกษาประสิทธิภาพในแง่ของ กำลังการผลิตของเครื่องมือ และประสิทธิภาพในหน่วยนั้นๆ

3.1. ผลการศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องล้างทำความสะอาด

3.1.1. ตะกอนดิน

ประสิทธิภาพการล้างทำความสะอาดตะกอนดินจากหัวหอมด้วยเครื่องล้างระบบน้ำหมุนวนจากการวิเคราะห์หาปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำล้าง โดยตะกอนดินเริ่มต้นที่ผสมกับหัวหอมแดงมีปริมาณ 6.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อทำการทดสอบประสิทธิภาพการล้างหอมแดงแล้วนั้น พบว่า ในระยะเวลา 5 10 15 20 25 และ 30 นาที เครื่องสามารถล้างตะกอนดินออกได้ร้อยละ 30.2 29.2 27.6 30.8 32.1 และ 33.3 เมื่อเทียบกับปริมาณดินเริ่มต้น และในการทดสอบการล้างรอบที่สอง ยังพบว่าเครื่องสามารถล้างตะกอนดินออกทั้งหมดร้อยละ 64.42 แสดงข้อมูลดังตารางที่ 10

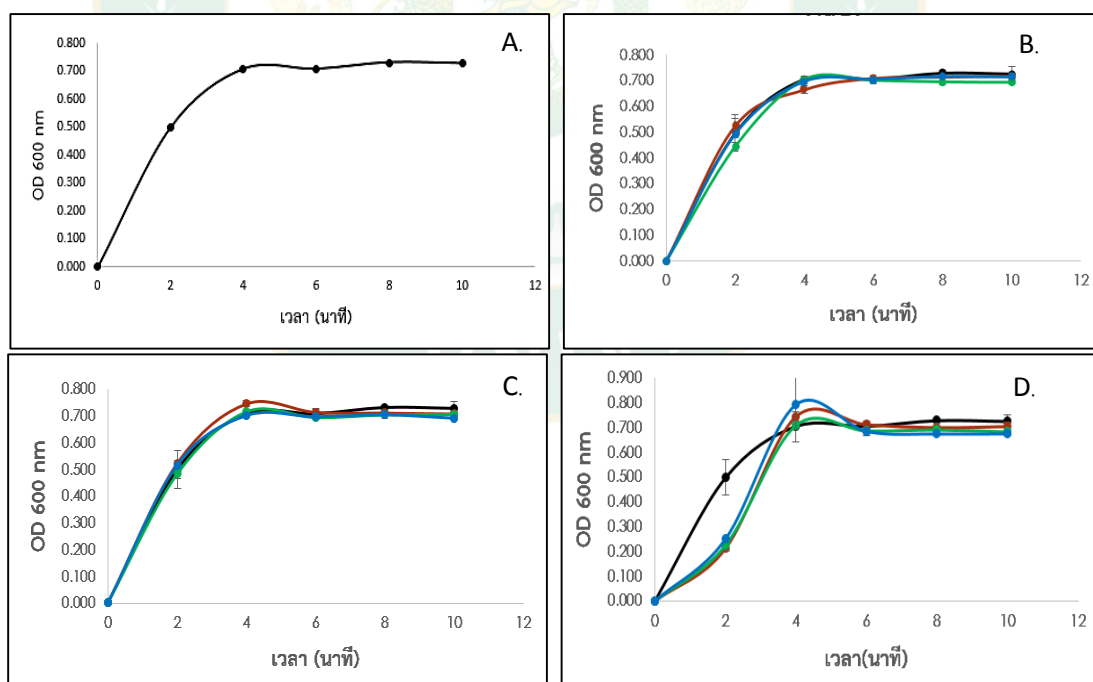
ตารางที่ 10 ปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำล้างหัวหอมจากเครื่องล้างทำความสะอาด

ตัวอย่าง	เวลา (นาที)	ปริมาณของแข็งทั้งหมด* (mg/ml)	ประสิทธิภาพ (%)
ตะกอนดินเริ่มต้น		6.25	100
การล้างรอบแรก	0	0.00±0.00	0.00
	5	2.42±0.03	38.77
	10	2.41±0.05	38.50
	15	2.17±0.05	34.77
	20	2.76±0.10	44.10
	25	3.16±0.03	50.56
	30	3.24±0.02	51.84
การล้างรอบสอง	30	0.79±0.00	64.42

หมายเหตุ: “*” = ค่าเฉลี่ย± SD จาก 3 ซ้ำ

3.1.2. จุลินทรีย์ปนเปื้อน

การศึกษาประสิทธิภาพการล้างทำความสะอาดจุลินทรีย์ปนเปื้อนใช้เชื้อยีสต์เป็นโมเดลในการศึกษา จากการศึกษาขั้นต้นในระดับห้องปฏิบัติการ โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างการล้างด้วยน้ำสะอาดและล้างด้วยการเติมสารเสริมประสิทธิภาพการล้าง โดยเลือกชนิดของสารที่มีการใช้ในการล้างทำความสะอาดทั่วไปในครัวเรือนและในอุตสาหกรรม ได้แก่ โซเดียมคลอไรด์ โซเดียมไบคาร์บอเนต และโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่า จากความหนาแน่นของเซลล์ที่วัดได้ในน้ำล้างของสารทุก ๆ ชนิดรวมถึงน้ำ มีประสิทธิภาพการล้างเชื้อยีสต์ออกจากผิวของหอมแดงได้ไม่แตกต่างกัน โดยความหนาแน่นของเซลล์ยีสต์ที่วัดได้นั้นคงที่ตั้งแต่นาทีที่ 4 ของการล้าง (แสดงดังภาพที่ 38) และการล้างหอมแดงที่เติมสารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 50 ppm เป็นความเข้มข้นที่ต่ำที่สุดของการทดลอง สามารถฆ่าเชื้อบนวัตถุดิบได้ดี โดยเชื้อยีสต์มีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเหลือเพียง 0.04 ในเวลาการล้างที่ 4 นาที (แสดงดังตารางที่ 11) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sara *et al.* (2014) ที่ศึกษาประสิทธิภาพของกรดซิตริกและโซเดียมไฮโปคลอไรท์ในการฆ่าเชื้อไวรัส *Mycoplasma bovis* พบว่าความเข้มข้นของโซเดียมไฮโปคลอไรท์ร้อยละ 1 เป็นยาฆ่าเชื้อที่มีประสิทธิภาพ มีผลลดการแพร่เชื้อ *M. bovis* ได้เกือบ 10^6 เท่า



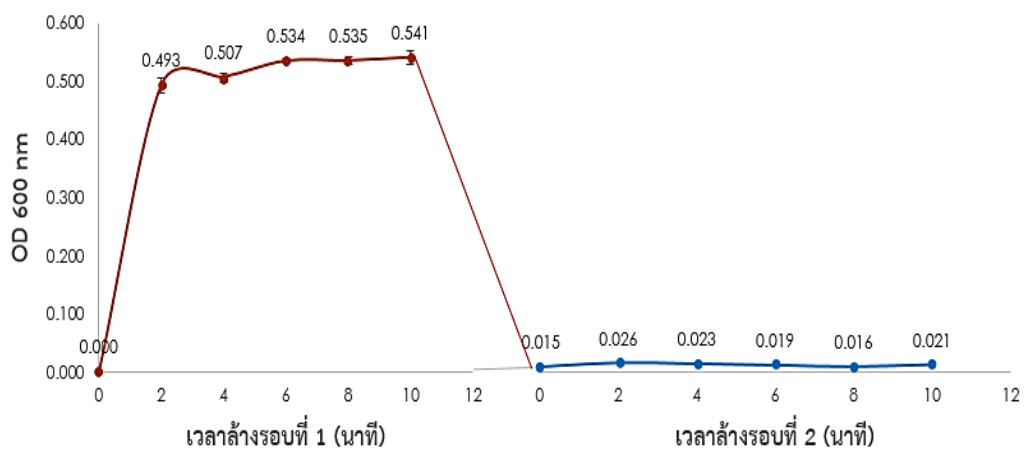
ภาพที่ 38 ความหนาแน่นของเซลล์ยีสต์ในน้ำล้างประกอบด้วย น้ำกลั่น (A.) โซเดียมคลอไรด์ (B.) โซเดียมไบคาร์บอเนต (C.) และโซเดียมไฮโปคลอไรท์ (D.) ที่ทดลองในระดับปฏิบัติการ

ตารางที่ 11 ร้อยละการรอดชีวิตของเชื้อยีสต์ในน้ำล้างที่เติมสารและระดับความเข้มข้นต่างๆที่ทดลองในระดับปฏิบัติการ

สาร	ความเข้มข้น	การรอดชีวิต (%)					
		0 min	2 min	4 min	6 min	8 min	10 min
น้ำ	-	0.00	61.56	62.59	60.51	64.26	59.68
โซเดียมคลอไรด์	0.5%	0.00	55.01	55.09	58.21	58.21	50.48
	1.0%	0.00	56.32	53.28	55.66	50.90	59.68
	2.0%	0.00	58.10	51.20	51.10	51.40	48.50
โซเดียมไบคาร์บอเนต	0.5%	0.00	75.96	77.33	47.23	71.31	68.14
	1.0%	0.00	70.46	58.19	68.68	69.05	66.64
	2.0%	0.00	59.46	59.48	60.00	56.19	58.19
โซเดียมไฮโปคลอไรท์	50 ppm	0.00	0.48	0.04	0.09	0.06	0.07
คลอไรท์	100 ppm	0.00	-	-	-	-	-
	150 ppm	0.00	-	-	-	-	-

หมายเหตุ: “-” = ไม่พบการรอดชีวิตของเชื้อยีสต์

จากผลการทดลองขั้นต้นเลือกระดับความเข้มข้นนี้ในการศึกษาต่อเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของเครื่องล้างทำความสะอาด จากการทดลองพบว่า เครื่องล้างมีประสิทธิภาพการล้างทำความสะอาดโดยสามารถล้างได้ครั้งละ 30 กิโลกรัม ในระยะเวลา 2 4 6 8 และ 10 นาที เครื่องสามารถล้างเชื้อยีสต์ออกได้ร้อยละ 77.64 79.84 84.09 84.25 และ 85.20 ตามลำดับ โดยวัดจากค่าของความหนาแน่นของเซลล์ยีสต์เทียบกับความหนาแน่นเซลล์เริ่มต้น (แสดงดังภาพที่ 39) ผลสอดคล้องกับการเพาะเลี้ยงเชื้อจากน้ำล้างที่เติมโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 50 ppm สามารถกำจัดเชื้อยีสต์ได้ โดยมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตที่ 0 เปอร์เซ็นต์ที่ระยะเวลา 8 นาที ในการล้างรอบแรก (แสดงดังตารางที่ 12) ดังนั้นในกระบวนการล้างด้วยเครื่องจักรที่พัฒนาขึ้นนี้ ในรอบแรกจึงควรใช้น้ำล้างที่เติมสาร โซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 50 ppm ใช้เวลา 8 นาที และล้างในรอบที่สองด้วยน้ำสะอาดบริโภคโดยใช้เวลา 10 นาที โดยสารโซเดียมไฮโปคลอไรท์ ได้รับการอนุญาตให้ใช้ได้ตามที่กฎหมายกำหนด ใช้ในอุตสาหกรรมฟอกกระดาษและสิ่งทอ เป็นน้ำยาทำความสะอาดและฆ่าเชื้อโรค และใช้ซักล้างทำความสะอาดเสื้อผ้า เป็นสารที่นิยมในการใช้ฆ่าเชื้อในกลุ่มผักผลไม้สดส่งออกในอุตสาหกรรม โดยความเข้มข้นที่นิยมใช้อยู่ที่ 150-200 ppm (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2548)



ภาพที่ 39 ความหนาแน่นของเซลล์ยีสต์ในน้ำล้างหอมแดงที่เสริมด้วยโซเดียมไฮโปคลอไรท์ความเข้มข้น 50 ppm จากเครื่องล้างทำความสะอาด

ตารางที่ 12 ร้อยละของการรอดชีวิตของเชื้อยีสต์ในน้ำล้างจากเครื่องล้างทำความสะอาด

รอบ	เวลา(นาที)	ปริมาณเชื้อยีสต์		%การรอดชีวิต
		CFU/ml	Log CFU/ml	
เชื้อเริ่มต้น				
น้ำล้างรอบที่ 1	0	4.07×10^7	7.60	100.00
	2	6.37×10^2	2.78	0.00
	4	3.29×10^5	5.51	0.81
	6	8.51×10^4	4.72	0.21
	8	1.39×10^3	3.11	0.00
	10	1.11×10^3	2.97	0.00
น้ำล้างรอบที่ 2	0	1.22×10^3	3.06	0.00
	2	1.18×10^3	3.02	0.00
	4	1.03×10^3	2.98	0.00
	6	1.08×10^3	3.01	0.00
	8	7.85×10^2	2.86	0.00
	10	5.48×10^2	2.67	0.00

3.2. ผลการศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องคั้นสกัด

การศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องคั้นสกัด โดยวัดจากอัตราการทำงานของเครื่อง และปริมาณของสารสกัดที่ได้ พบว่า เครื่องสามารถทำงานได้ในอัตรา 38.46 กิโลกรัมต่อชั่วโมง โดยได้ปริมาณสารสกัด 466 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัม ได้ผลผลิต (yield) ร้อยละ 46.6 ซึ่งจากการนำกากหอมแดงจากเครื่องคั้นนี้ไปวัดหาค่าความชื้น พบว่า กากหัวหอมมีความชื้นเพียงร้อยละ 1.45 ± 1.17 เท่านั้น



ภาพที่ 40 กากหัวหอมจากเครื่องคั้นสกัด

3.3. ผลการศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องกรอง

การศึกษาประสิทธิภาพของเครื่องกรอง โดยเครื่องกรองสามารถกรองน้ำสกัดได้รอบละ 20 ลิตร พบว่า น้ำสกัดหอมแดงก่อนการกรองมีความขุ่นที่วัดได้เท่ากับ 5.300 ± 0.08 และปริมาณของแข็งทั้งหมดเท่ากับ 0.25 ± 0.00 กรัมต่อมิลลิกรัม และหลังจากผ่านกระบวนการกรองด้วยเครื่องกรองระบบสุญญากาศ น้ำหอมสกัดมีความขุ่นเท่ากับ 1.034 และปริมาณของแข็งทั้งหมดเท่ากับ 0.17 ± 0.00 กรัมต่อมิลลิกรัม โดยน้ำหอมแดงสกัดใสขึ้นร้อยละ 80.46 เมื่อใช้เวลาการกรอง 30 นาที (แสดงดังตารางที่ 13) จากการทดลองสรุปได้ว่า การนำน้ำสกัดผ่านการกรองด้วยเครื่องกรองที่พัฒนาขึ้นโดยใช้เวลาในการกรองเพียง 30 นาทีต่อรอบก็ทำให้น้ำสกัดใสขึ้นได้

ตารางที่ 13 ค่าความขุ่น และปริมาณของแข็งทั้งหมดของน้ำสกัดที่ผ่านหน่วยกรอง

ตัวอย่าง	เวลา(นาที)	ความขุ่น (OD 600)	ปริมาณของแข็งทั้งหมด (g/ml)	
			กาก	น้ำสกัด
น้ำสกัดก่อนกรอง	-	5.300 ± 0.08	-	0.25 ± 0.00
น้ำสกัดหลังกรอง	10	1.086 ± 0.00	0.18 ± 0.00	0.17 ± 0.00
	20	1.105 ± 0.01	0.20 ± 0.00	0.17 ± 0.00
	30	1.034 ± 0.00	0.18 ± 0.00	0.17 ± 0.00

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย \pm SD จาก 3 ซ้ำ

ดังนั้นในขั้นตอนการทดสอบประสิทธิภาพของหน่วยการผลิตต่างๆ ที่มีการพัฒนาเครื่องมือสู่ระดับกึ่งอุตสาหกรรม เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตให้มีกำลังการผลิตเพิ่มขึ้น แสดงเป็น %recovery ดังตารางที่ 14

ตารางที่ 14 ประสิทธิภาพของหน่วยการผลิตในกระบวนการผลิตระดับกึ่งอุตสาหกรรมที่พัฒนาขึ้น

หน่วยการผลิต	น้ำหนักหอม เริ่มต้น	ปริมาณที่ได้รับ	%Recovery	อัตราการ ทำงาน
หน่วยปอกเปลือก*	53 kg	50 kg	94.3	1.17 kg/hr
หน่วยล้างทำความสะอาด**	50 kg	50 kg	100.0	100 kg/hr
หน่วยคั้นสกัด**	50 kg	32.40 L	64.8	38.46 kg/hr
หน่วยกรอง**	32.40 L	23.30 L	46.6	40 L/hr

หมายเหตุ: “*” = หน่วยที่ใช้แรงงานคน “**” = หน่วยที่พัฒนาเครื่องมือ

4. คุณสมบัติทางเคมีและชีวภาพของน้ำหอมแดงสกัดที่ผลิตจากเครื่องมือระดับกึ่งอุตสาหกรรม

การวิเคราะห์คุณสมบัติเคมีของน้ำหอมแดงสกัดที่ผลิตจากเครื่องมือระดับกึ่งอุตสาหกรรม นำน้ำหอมแดงสกัดที่ได้วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ จากนั้นคำนวณหาค่า DP เฉลี่ยของน้ำตาล ผลการทดลองพบว่าปริมาณสารสกัดเท่ากับ 466 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักหัวหอมสด โดยมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 71.12 ± 2.33 กรัมต่อกิโลกรัมของหอมแดงสด และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 3.08 ± 0.13 กรัมต่อกิโลกรัมของหอมแดงสด และวัดปริมาณโปรตีน แสดงดังตารางที่ 15

การวิเคราะห์คุณสมบัติทางชีวภาพของน้ำหอมแดงสกัดด้วยการทดสอบฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระชนิด ABTS พบว่าน้ำหอมแดงสกัดที่ผลิตเครื่องมือระดับกึ่งอุตสาหกรรมมีฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระชนิด ABTS ร้อยละ 46.99 ± 1.56

ตารางที่ 15 คุณสมบัติ และฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดน้ำตาลจากหัวหอมที่ผลิตเครื่องมือระดับกึ่งอุตสาหกรรม

คุณสมบัติและฤทธิ์ทางชีวภาพ	ระดับกึ่งอุตสาหกรรม	ระดับปฏิบัติการ
น้ำตาลทั้งหมด (g/kg)	71.12±2.33	75.89±2.55
น้ำตาลรีดิวซ์ (g/kg)	3.08±0.13	3.26±0.04
Degree of polymerization	23.09±0.68	23.28±0.49
โปรตีนที่ละลายได้ (g/kg)	0.03±0.00	0.03±0.00
%inhibition ABTS	46.99±1.56	50.66±0.22

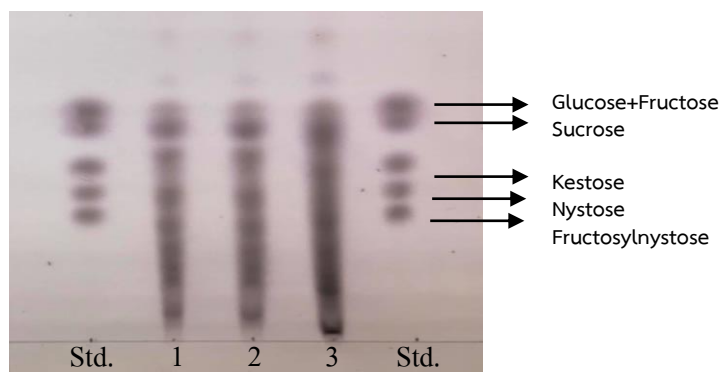
หมายเหตุ: “*” = ค่าเฉลี่ย± SD จาก 3 ซ้ำ

จากผลการทดลองเปรียบเทียบระหว่างน้ำสกัดหอมแดงก่อนและหลังกระบวนการกรอง และน้ำเชื่อม FOS ที่ผ่านการระเหยน้ำออกร้อยละ 50 ด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ ผลการทดลอง (แสดงดังตารางที่ 16) และเมื่อนำไปวิเคราะห์คุณภาพน้ำตาล พบว่า คุณภาพของน้ำตาลไม่แตกต่างกัน และในน้ำเชื่อม FOS มีปริมาณของน้ำตาลทุกชนิดสูงขึ้น (ภาพที่ 41)

ตารางที่ 16 คุณสมบัติของน้ำหอมแดงสกัดก่อนกรอง หลังกรอง และน้ำเชื่อมที่ผลิตจากเครื่องมือระดับกึ่งอุตสาหกรรม

คุณสมบัติ	ตัวอย่าง		
	ก่อนการกรอง*	หลังการกรอง **	น้ำเชื่อม FOS***
น้ำตาลทั้งหมด (mg/ml)	172.62±8.26	152.62±2.33	307.20±13.79
น้ำตาลรีดิวซ์ (mg/ml)	6.42±0.22	6.61±0.13	8.89±0.10
Degree of polymerization	27	23	35
โปรตีนที่ละลายได้ (mg/ml)	0.31±0.14	0.07±0.00	0.15±0.01
Total solid (mg/ml)	246.50±1.05	173.98±0.57	-
%inhibition ABTS	45.09±2.77	46.99±1.56	78.59±5.95

หมายเหตุ: “*” = ตัวอย่างน้ำสกัดหอมแดงที่ยังไม่ผ่านความร้อน “**” = ตัวอย่างน้ำสกัดหอมแดงที่ผ่านความร้อน 70 องศาเซลเซียส และ “***” = น้ำเชื่อม FOS ด้วยกระบวนการ Evaporation



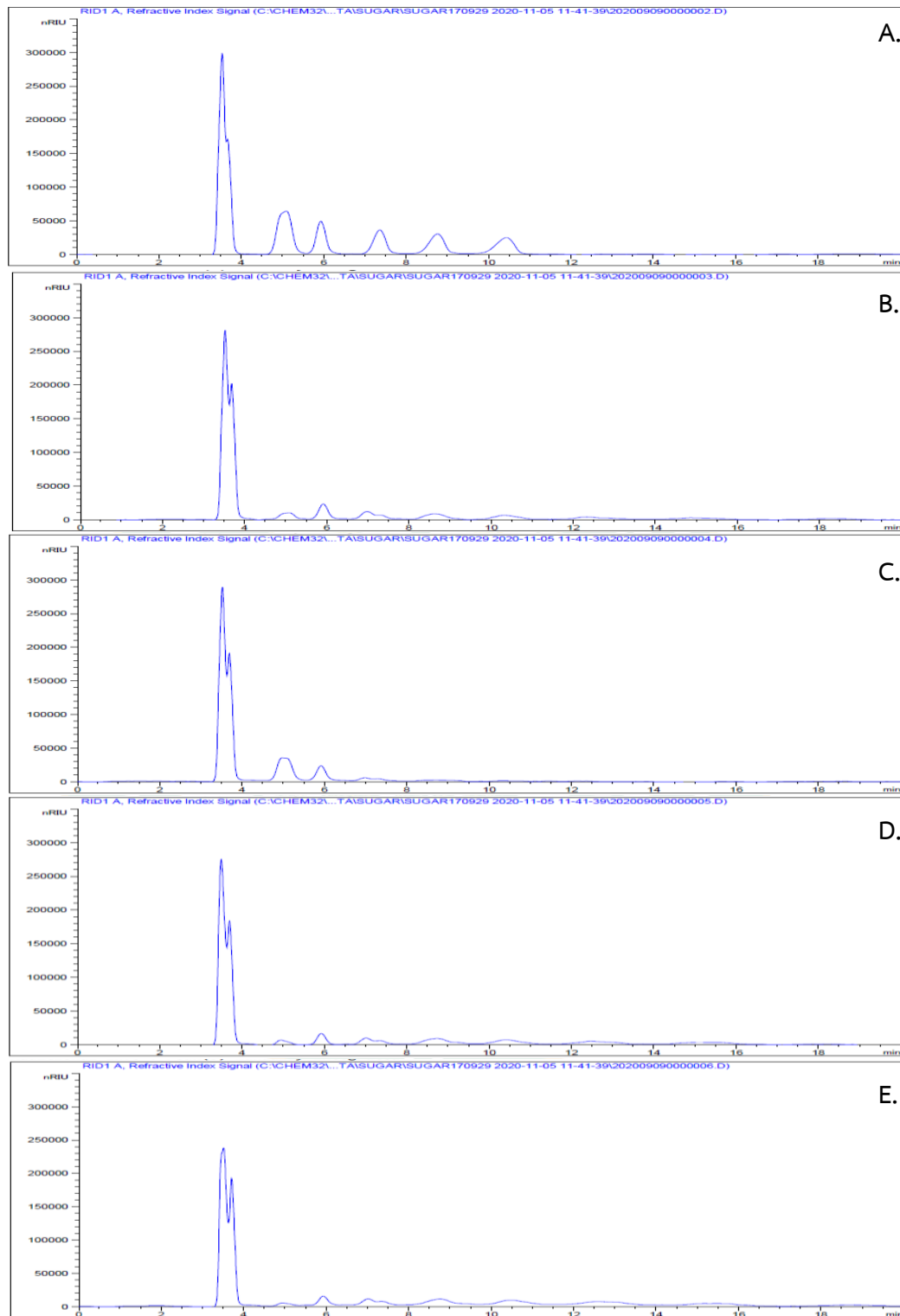
ภาพที่ 41 TLC ของน้ำสกัดหอมแดงเทียบกับน้ำตาลมาตรฐาน (Std.) น้ำสกัดหอมแดงก่อนการกรอง (Lane 1) น้ำสกัดหอมแดงหลังการกรอง (Lane 2) และน้ำเชื่อมหัวหอม (Lane 3)

ผลการทดลองสอดคล้องกับการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณน้ำตาลด้วยเทคนิค HPLC พบว่า น้ำสกัดหอมแดง ประกอบด้วยน้ำตาลหลายชนิด ได้แก่ กลูโคส ฟรุคโตส ซูโครส คีสโตส นีสโตส และฟรุคโตฟูราโนซิลนีสโตส ในปริมาณที่แตกต่างกัน (ภาพที่ 42 และตารางที่ 17) โดยพบว่า น้ำหอมแดงสดที่ไม่ผ่านกระบวนการกำจัดโปรตีนหรือไม่ผ่านการให้ความร้อนและน้ำสกัดในระดับปฏิบัติการ มีสัดส่วนของน้ำตาลซูโครสสูงที่สุดที่ร้อยละ 32.63 ± 1.69 น้ำสกัดจากระดับกิ่งอุตสาหกรรมมีสัดส่วนของน้ำตาลในกลุ่ม FOS สูงเช่นกันกับน้ำสกัดที่แปรรูปไปเป็นน้ำเชื่อม มีองค์ประกอบของน้ำตาลในกลุ่ม FOS สูงกว่าน้ำสกัดอื่นๆ เนื่องจากผ่านกระบวนการระเหยน้ำออกจึงทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่เข้มข้นมากขึ้น อย่างไรก็ตามน้ำเชื่อมนี้ยังมีปริมาณน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และน้ำตาลโมเลกุลคู่อยู่ปริมาณมาก

ตารางที่ 17 สัดส่วนของปริมาณน้ำตาลฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์และน้ำตาลอื่นๆในน้ำหอมแดงสกัดวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

ตัวอย่างน้ำสกัด	สัดส่วนของน้ำตาล (%)*				
	G+F	GF	GF2	GF3	GF4
หอมแดงสด	9.04±2.95	32.63±1.69	9.31±0.03	26.90±1.24	22.13±0.10
ระดับปฏิบัติการ	28.27±1.32	48.80±0.27	8.86±0.22	9.63 ±2.03	4.45±0.70
ระดับกิ่งอุตสาหกรรม	6.97±0.41	24.36±1.69	8.32±0.20	33.85±0.88	26.50±2.00
น้ำเชื่อมหอมแดง	4.48±0.04	21.77±0.50	10.18±1.53	33.80±0.87	29.76±1.53

หมายเหตุ: "*" = ค่าเฉลี่ย ± SD จาก 2 ซ้ำ



ภาพที่ 42 โครมาโตแกรมของน้ำตาลมาตรฐาน (A) น้ำหอมแดงสด (B) น้ำสกัดระดับปฏิบัติการ (C) น้ำสกัดจากระดับกิ่งอุตสาหกรรม (D) น้ำเชื่อมหอมแดง(E) เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

5. ผลการศึกษาการเก็บรักษา

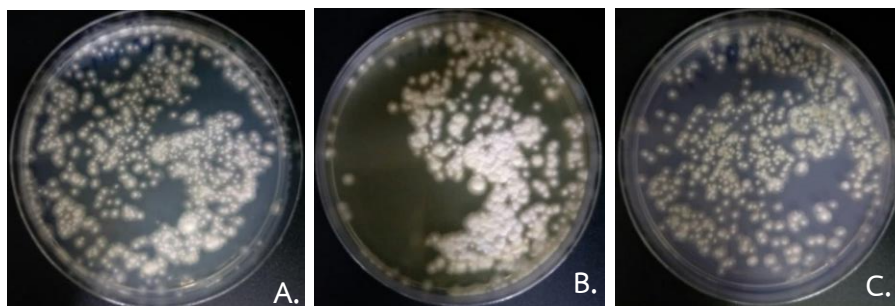
5.1. คุณภาพวัตถุดิบ

การวิเคราะห์คุณภาพการเก็บรักษาหัวหอมแดงโดยวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ 3 กลุ่ม ได้แก่ เชื้อรา แบคทีเรีย และยีสต์ ที่เจริญบนพื้นผิวของหัวหอมแดง ที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 2 ระดับ (อุณหภูมิห้อง และ 4 องศาเซลเซียส) จากนั้นติดตามการเจริญของเชื้อทั้ง 3 กลุ่มด้วยเทคนิค spread plate พบว่าปริมาณเชื้อเริ่มต้นของแบคทีเรีย ยีสต์ และเชื้อราที่มีในหอมแดงเท่ากับ 3.91 ± 0.09 3.81 ± 0.05 และ 3.94 ± 0.02 log CFUต่อมิลลิลิตร ของตามลำดับ (ภาพที่ 43) และหลังจากการเก็บรักษา 10 สัปดาห์พบว่า การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถควบคุมการเจริญของเชื้อได้ทุกกลุ่มซึ่งส่งผลให้คุณภาพของหัวหอมดีกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องที่ส่งเสริมให้เชื้อทุกกลุ่มมีการเจริญได้ดีโดยเชื้อกลุ่มที่เจริญได้ดีที่สุดคือ เชื้อรา แต่เมื่อระยะเวลาผ่านไปเชื้อทุกกลุ่มลดลงอย่างเห็นได้ชัด เนื่องจากสารอาหารหมดลง (แสดงดังตารางที่ 18)

ตารางที่ 18 ปริมาณเชื้อแบคทีเรีย เชื้อยีสต์ และเชื้อราในหัวหอมแดง

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา	กลุ่มของเชื้อ* (log CFU/ml)		
		แบคทีเรีย	ยีสต์	เชื้อรา
เริ่มต้น	เริ่มต้น	3.91 ± 0.09	3.81 ± 0.05	3.94 ± 0.02
อุณหภูมิห้อง (25-27)	2 สัปดาห์	5.21 ± 0.04	5.76 ± 0.92	6.33 ± 0.12
	4 สัปดาห์	6.42 ± 0.03	6.27 ± 0.03	6.33 ± 0.08
	6 สัปดาห์	5.18 ± 0.13	5.22 ± 0.20	5.28 ± 0.09
	8 สัปดาห์	4.42 ± 0.08	4.20 ± 0.17	4.32 ± 0.09
	10 สัปดาห์	3.42 ± 0.07	3.40 ± 0.06	4.26 ± 0.03
4	2 สัปดาห์	4.22 ± 0.12	4.09 ± 0.05	4.28 ± 0.06
	4 สัปดาห์	4.69 ± 0.53	4.19 ± 0.05	4.31 ± 0.02
	6 สัปดาห์	4.14 ± 0.07	4.07 ± 0.08	4.30 ± 0.00
	8 สัปดาห์	3.68 ± 0.06	3.56 ± 0.08	4.21 ± 0.13
	10 สัปดาห์	2.73 ± 0.53	3.52 ± 0.17	4.14 ± 0.13

หมายเหตุ: "*" = ค่าเฉลี่ย \pm SD จาก 3 ซ้ำ



ภาพที่ 43 ลักษณะโคโลนีของเชื้อในหัวหอม เชื้อแบคทีเรีย (A.) เชื้อยีสต์ (B.) และเชื้อรา (C.)

5.2. น้ำหอมแดงสกัด

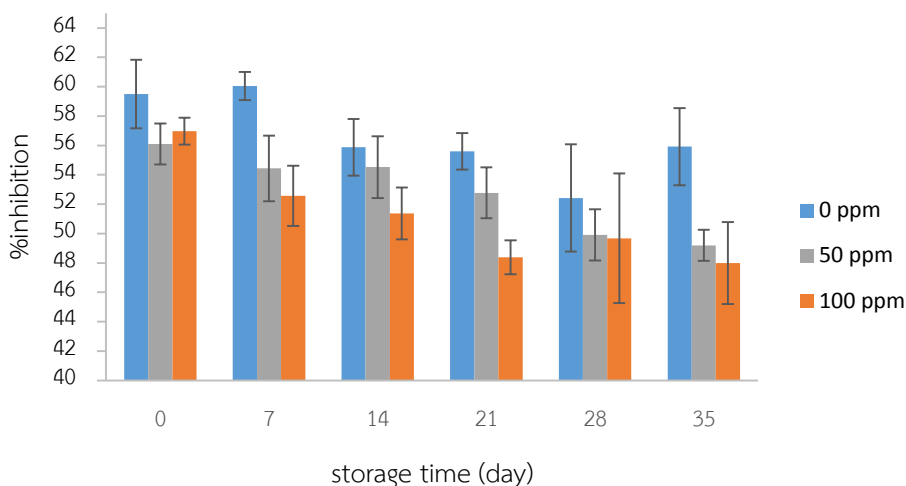
การศึกษาการเก็บรักษาน้ำหอมแดงสกัด โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาล ฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ ABTS และปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ ทดลองโดยการเสริมสาร โพลแทสเซียมซอร์เบทที่ระดับความเข้มข้น 0 50 และ 100 ppm เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 35 วัน เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของสารต่างๆ ผลการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลทั้งหมด พบว่าน้ำสกัดหอมแดงเริ่มต้นมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ เท่ากับ 153.78 ± 5.55 8.78 ± 0.18 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และค่า DP เท่ากับ 18 และมีค่าไม่แตกต่างกันเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาผ่านไป ในน้ำสกัดหอมแดงเมื่อเติม โพลแทสเซียมซอร์เบทในระดับความเข้มข้นที่สูงขึ้น มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และค่า DP ลดลงและคงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา แต่ในส่วนของน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าคงที่ตลอดการเก็บรักษาในทุกระดับระดับความเข้มข้นของสารโพลแทสเซียมซอร์เบท (แสดงดังตารางที่ 19)

ผลการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงของฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ ABTS พบว่า สารสกัดหอมแดงเริ่มต้นมีฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระร้อยละ 59.50 ± 2.32 และเมื่อมีการเติมสาร โพลแทสเซียมซอร์เบทเพิ่มขึ้น ฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระลดลงอย่างมีนัยสำคัญ และสูงสุดที่การเก็บรักษาไว้ที่ 35 วัน (แสดงดังภาพที่ 44 และตารางที่ 20) สาเหตุเนื่องมาจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ไม่สามารถคงสภาพสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆในหอมแดงที่ออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ เช่น สารประกอบฟีนอลิก สารกลุ่มนี้มีองค์ประกอบของสารที่แตกต่างกัน ซึ่งส่งผลต่อลักษณะปรากฏ กลิ่น สี และรสของหอมแดง และส่งผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ลดลงของหอมแดงด้วย สอดคล้องกับการศึกษาของ Galani *et al.* (2017) ทำการเก็บรักษาผักและผลไม้ 19 ชนิด ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสนาน 15 วัน พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีแนวโน้มลดลง เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกบางชนิดมีการสลายตัว ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการทำงานของเอนไซม์

anthocyanases, polyphenol oxidase และ peroxidase ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการสังเคราะห์สารประกอบโพลีฟีนอล

ตารางที่ 19 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และค่า DP ของน้ำสกัดหอมแดงที่เสริมด้วยสารโพแทสเซียมซอร์เบตต่อการเก็บรักษา

โพแทสเซียมซอร์เบต	เวลาการเก็บรักษา (day)	ปริมาณ		
		น้ำตาลทั้งหมด (mg/ml)	น้ำตาลรีดิวซ์ (mg/ml)	DP
0 ppm	0	153.78 ± 5.55	8.78 ± 0.18	18
	7	158.93 ± 7.59	8.76 ± 0.05	18
	14	138.84 ± 10.01	8.96 ± 0.04	16
	21	145.02 ± 11.12	8.62 ± 0.12	17
0 ppm	28	150.84 ± 0.91	8.88 ± 0.04	17
	35	160.27 ± 3.75	8.83 ± 0.17	18
50 ppm	0	125.24 ± 2.69	8.77 ± 0.15	14
	7	134.31 ± 11.16	8.47 ± 0.43	16
	14	140.09 ± 7.22	8.88 ± 0.13	16
	21	136.27 ± 2.36	8.72 ± 0.21	16
	28	127.16 ± 5.17	8.84 ± 0.20	14
	35	136.49 ± 3.07	8.59 ± 0.20	16
100 ppm	0	134.67 ± 3.72	8.00 ± 0.29	17
	7	114.09 ± 3.30	8.62 ± 0.14	13
	14	120.98 ± 2.24	8.76 ± 0.11	14
	21	124.31 ± 3.67	8.72 ± 0.25	14
	28	127.73 ± 4.50	8.73 ± 0.26	15
	35	132.18 ± 0.87	8.47 ± 0.15	16



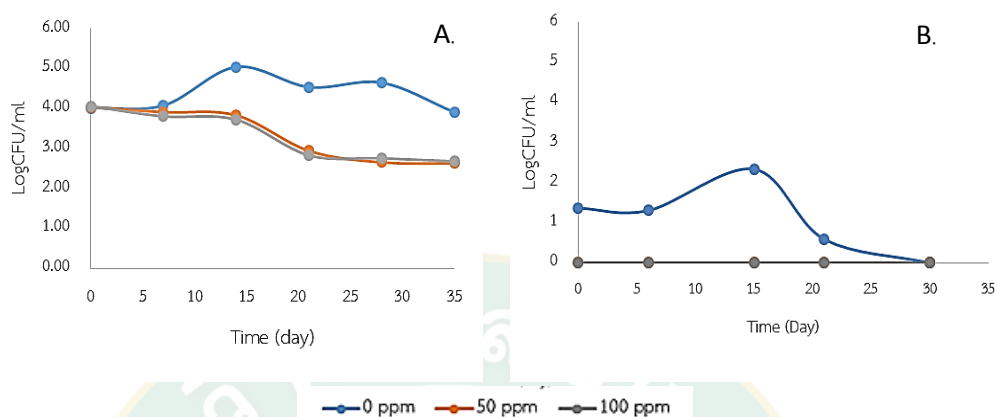
ภาพที่ 44 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างสารต้านอนุมูลอิสระกับเวลาการเก็บรักษา

ตารางที่ 20 ฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระของน้ำสกัดหอมแดงที่เสริมด้วยโพแทสเซียมซอร์เบทที่ความเข้มข้นต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษา

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	%scavenging activity		
	0 ppm	50 ppm	100 ppm
0	59.50	56.10	56.97
7	60.05	54.43	52.57
14	55.87	54.52	51.37
21	55.61	52.77	48.38
28	52.42	49.91	49.68
35	55.92	49.20	47.99

ผลการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ พบว่า เชื้อยีสต์ และแบคทีเรียในน้ำหอมแดงสกัดเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 1.37 ± 1.19 และ 0.16 ± 1.53 LogCFUต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จุลินทรีย์ทั้ง 3 กลุ่มเจริญได้สูงสุดที่เวลา 14 วันของการเก็บรักษา โดยผลไม่แตกต่างกัน ซึ่งเป็นไปตามระยะการเจริญของจุลินทรีย์ และเมื่อมีการเติมสาร โพแทสเซียมซอร์เบทที่ความเข้มข้น 50 และ 100 ppm พบว่า การเติม โพแทสเซียมซอร์เบทสามารถหยุดการเจริญของจุลินทรีย์ได้ และส่งผลให้เชื้อมีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญตลอดระยะเวลาการทดลอง ซึ่งพบว่า การเติม โพแทสเซียมซอร์เบทที่ความเข้มข้น 50 ppm เพียงพอ และสามารถควบคุมการเจริญของแบคทีเรีย และเชื้อยีสต์ได้ ในส่วน

ของ *Sal. Typhimurium* และ เชื้อ *E.coli* ตรวจไม่พบในน้ำสกั๊ดหอมแดงตั้งตั้งแต่เริ่มต้นและตลอดจนระยะเวลาการเก็บรักษาสิ้นสุดทุกชุดการทดลอง (แสดงดังภาพที่ 45 และตารางที่ 21-22)



ภาพที่ 45 ปริมาณของเชื้อแบคทีเรีย (A.) และเชื้อยีสต์ (B.) ในน้ำสกั๊ดหอมแดงเสริมด้วยโพแทสเซียมซอร์เบทระหว่างการเก็บรักษา

ตารางที่ 21 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียในน้ำสกั๊ดหอมแดงที่เสริมด้วยโพแทสเซียมซอร์เบทระหว่างการเก็บรักษา

เวลา (วัน)	Log CFU/ml		
	0 ppm	50 ppm	100 ppm
0	4.01±0.03	4.04±0.05	4.06±0.02
7	4.08±0.06	3.91±0.07	3.81±0.05
14	5.04±0.06	3.83±0.04	3.72±0.08
21	4.54±0.07	2.94±0.11	2.83±0.07
28	4.65±0.12	2.65±0.08	2.75±0.02
35	3.91±0.08	2.63±0.11	2.68±0.09

ตารางที่ 22 ปริมาณเชื้อแบคทีเรียในน้ำสกัดหอมแดงที่เสริมด้วยโพแทสเซียมซอร์เบทระหว่างการเก็บรักษา

เวลา (วัน)	Log CFU/ml		
	0 ppm	50 ppm	100 ppm
0	1.37±1.19	0.00±0.00	0.00±0.00
6	1.31±1.14	0.00±0.00	0.00±0.00
15	2.34±0.23	0.00±0.00	0.00±0.00
21	0.59±1.03	0.00±0.00	0.00±0.00
30	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00

6. การศึกษากระบวนการที่เหมาะสมในการผลิตน้ำหอมแดงสกัดเข้มข้น

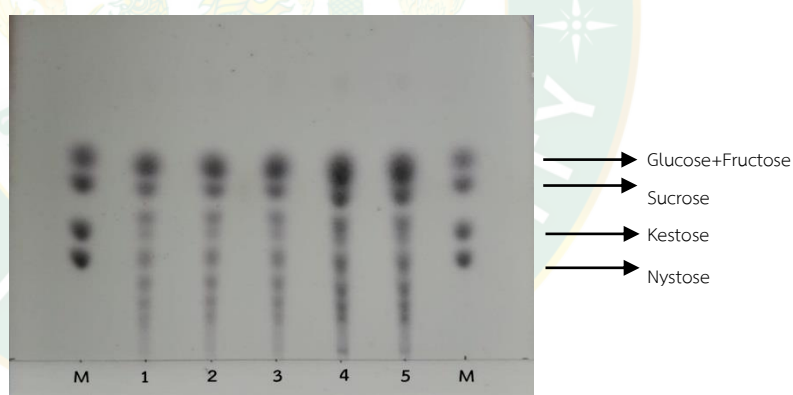
การศึกษาวิธีการที่ทำให้น้ำสกัดหอมแดงเข้มข้นทดลองทั้งหมด 3 วิธี คือ การแช่แข็ง การระเหยด้วยความร้อน และการระเหยในสภาวะสุญญากาศ พบว่าน้ำสกัดหอมแดงก่อนการนำไปทำให้เข้มข้นขึ้นด้วยวิธีต่างๆ มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 55.26 ± 0.07 และ 10.74 ± 0.00 กรัม ตามลำดับ เมื่อนำมาหาค่า DP พบว่า น้ำหอมแดงสกัด มีค่า DP เท่ากับ 5 (แสดงดังตารางที่ 21) และหลังจากได้นำน้ำหอมแดงสกัดไปทำให้เข้มข้นด้วยวิธีการต่างๆ พบว่า น้ำหอมแดงสกัดที่ทำให้เข้มข้นขึ้นด้วยการระเหยในสภาวะสุญญากาศมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 58.22 ± 0.08 และ 9.69 ± 0.04 กรัมของน้ำหอมแดงสกัดทั้งหมด ตามลำดับ และค่า DP สูงขึ้นเท่ากับ 6.01 รองลงมาคือการระเหยด้วยความร้อนปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 49.86 ± 0.07 และ 10.76 ± 0.02 กรัมของน้ำหอมแดงสกัดทั้งหมด ตามลำดับ และค่า DP เท่ากับ 4.63 โดยทั้ง 2 วิธีข้างต้น สังเกตว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้น ซึ่งคาดว่าความร้อนที่ใช้ส่งผลทำให้เกิดการสลายของพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic bond) และน้ำตาลสกัดที่ทำให้เข้มข้นขึ้นด้วยการแช่แข็งมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 42.64 ± 0.05 และ 7.51 ± 0.01 กรัมของน้ำหอมแดงสกัดทั้งหมด ตามลำดับ และค่า DP 5.68 วิธีนี้คงสภาพโครงสร้างของน้ำตาลที่ได้ไม่ทำให้โครงสร้างของน้ำตาลเปลี่ยนไป แต่เนื่องจากในเกล็ดน้ำแข็งที่แยกออกยังมีน้ำตาลบางส่วนปนอยู่กับจึงทำให้สูญเสียผลผลิตในส่วนนี้ไป ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าน้ำเชื่อม FOS ที่ได้ด้วยวิธีต่างๆนี้มีองค์ประกอบเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำตาลในน้ำตาลสกัด FOS ด้วยเทคนิค TLC ที่พบว่าน้ำตาลสกัด FOS มีองค์ประกอบของน้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส ซูโครส คีโตส นีสโตส และน้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์ชนิดอื่นๆ (แสดงดัง

ภาพที่ 46) ซึ่งแถบน้ำตาลที่ปรากฏได้น้ำตาลมาตรฐานนิสโตสเหล่านั้นคาดว่าเป็นน้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีขนาดใหญ่

ตารางที่ 23 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และค่า DP ของน้ำเชื่อม FOS จากหอมแดงที่ผ่านการทำให้เข้มข้นด้วยกระบวนการต่างๆ

ตัวอย่าง	ปริมาณ (g)		DP*	Yield (%)
	น้ำตาลทั้งหมด	น้ำตาลรีดิวซ์		
น้ำหอมแดงสกัด	55.26±0.07	10.74±0.00	5.15	
การแช่แข็ง	42.64±0.05	7.51±0.01	5.68	77.16
การระเหยด้วยความร้อน	49.86±0.07	10.76±0.02	4.63	90.23
การระเหยในสภาวะสุญญากาศ	58.22±0.08	9.69±0.04	6.01	105.36

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย± SD จาก 3 ซ้ำ และ “*” = Degree of polymerization



ภาพที่ 46 องค์ประกอบของน้ำตาลในน้ำหอมแดงสกัดเทียบกับน้ำตาลมาตรฐาน (Lane M) น้ำตาลสกัดหอมแดงเริ่มต้น (Lane 1) น้ำตาลสกัด FOS ที่ทำให้เข้มข้นด้วยวิธีการแช่แข็ง (Lane 2) และ 3) การระเหยความร้อน 80 °c (Lane 4) และการระเหยในสภาวะสุญญากาศ (Lane 5)

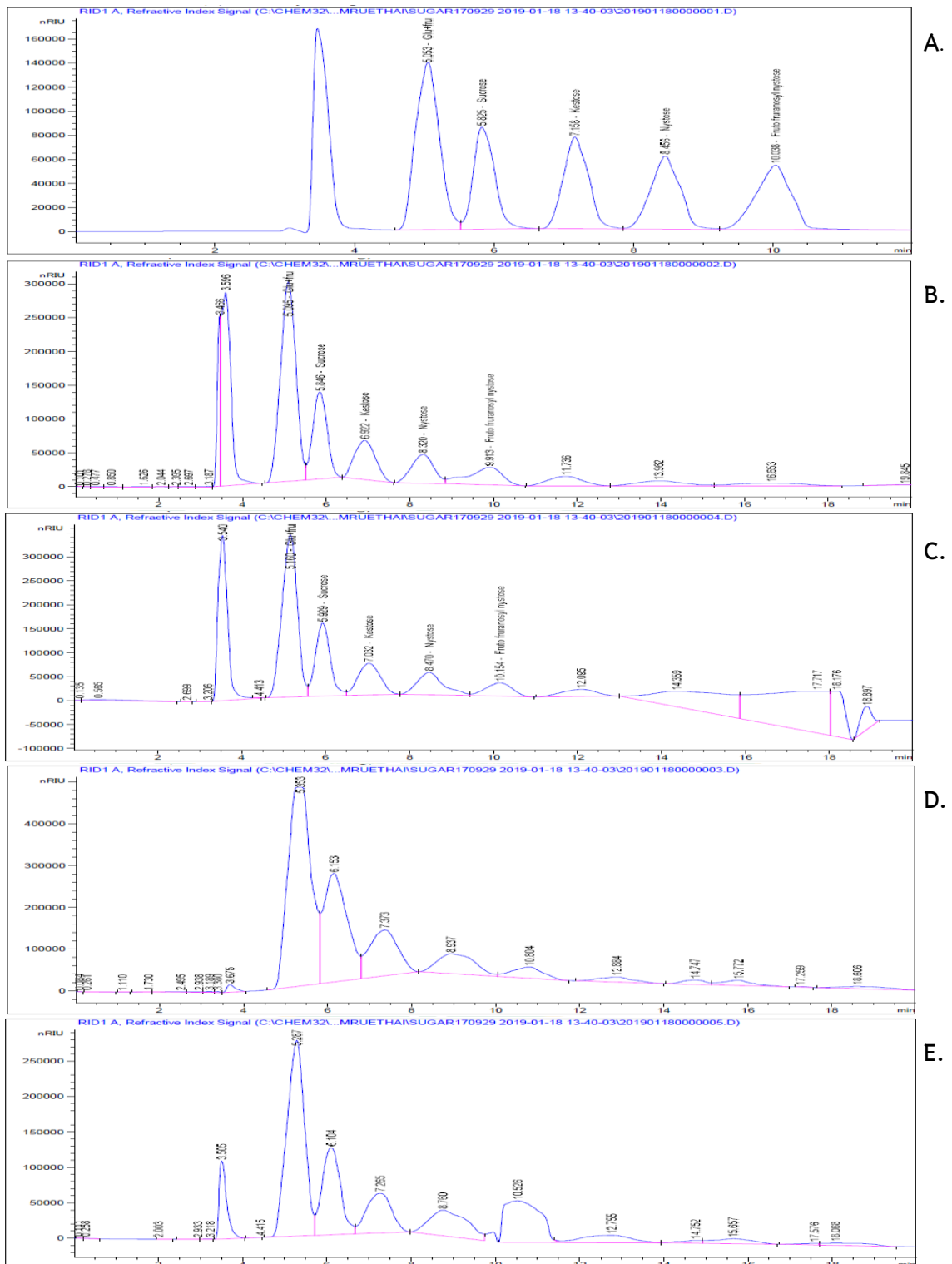
เมื่อนำน้ำเชื่อม FOS มาวิเคราะห์ชนิดและปริมาณน้ำตาลแต่ละชนิดด้วยเครื่อง HPLC พบว่า น้ำเชื่อม FOS ประกอบด้วยน้ำตาลหลายชนิด ได้แก่ กลูโคส ฟรุคโตส ซูโครส คีลโตส นิสโตส และ ฟรุคโตฟูราโนซิลนิสโตส (แสดงดังภาพที่ 47 และตารางที่ 24) โดยพบว่า วิธีการที่ดีที่สุดในการทดลองครั้งนี้ที่ให้น้ำสกัดหอมแดงเข้มข้นขึ้น คือ การระเหยในสภาวะสุญญากาศ โดยวิธีนี้มีสัดส่วนของน้ำตาลกลุ่ม FOS คิดเป็นร้อยละ 59.4 ของน้ำตาลทั้งหมด มีหลักการคือการระเหยน้ำหอมแดงที่

ความดันต่ำกว่าความดันบรรยากาศ ซึ่งน้ำที่ผสมในสารสกัดจะระเหยได้ในอุณหภูมิที่ต่ำลง ทำให้ห้องค้
 ปรอบของน้ำตาล FOS ในน้ำหอมแดงสกัดคงสภาพได้ดีกว่าการระเหยที่ความดันบรรยากาศปกติ
 เนื่องจากวิธีนี้ไม่ทำให้น้ำตาลสลายหรือเปลี่ยนโครงสร้างไป รองลงมาคือ การทำให้เข้มข้นด้วยการแ่
 แข็งมีสัดส่วนของน้ำตาลกลุ่ม FOS คิดเป็นร้อยละ 54.4 ของน้ำตาลทั้งหมด โดยมีหลักการคือ ใช้จุด
 เหยือกแข็งที่แตกต่างกันในองค์ประกอบของน้ำสกัดหอมแดงซึ่งประกอบด้วยส่วนที่เป็นน้ำและน้ำตาล
 การแ่แข็งสารสกัดแต่จะต้องมีการเพิ่มจำนวนรอบในการแ่แข็งเพื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำเชื่อม
 FOS และวิธีนี้มีปริมาณน้ำตาลที่สูญเสียไปเนื่องจากมีสารสกัดบางส่วนติดไปกับเกล็ดน้ำแข็งที่แยก
 ออก ในส่วนของการทำให้น้ำเชื่อม FOS เข้มข้นโดยใช้ความร้อน สัดส่วนของน้ำตาลกลูโคส ฟรุค
 โทส และซูโครสมีปริมาณสูงขึ้นมาก เนื่องด้วยความร้อนที่ใช้ในวิธีการนี้อาจไปเปลี่ยนโครงสร้างของ
 น้ำตาลหรืออาจทำให้น้ำตาลสลายไปได้

ตารางที่ 24 สัดส่วนของน้ำตาลฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์และน้ำตาลอื่นๆในน้ำตาลสกัด FOS ด้วย
 เทคนิค HPLC

ตัวอย่าง	ปริมาณสัดส่วนของน้ำตาล (%)				
	G+F	GF	GF2	GF3	GF4
น้ำหอมแดงสกัด	22.8	21.1	17.3	18.6	20.2
การแ่แข็ง	23.0	22.6	18.5	21.1	14.8
การระเหยด้วยความร้อน	27.1	33.5	22.2	17.2	ND
การระเหยในสภาวะ สูญญากาศ	19.8	20.8	16.2	22.2	21.0

หมายเหตุ: “ND” = ตรวจไม่พบ



ภาพที่ 47 โครมาโตแกรมของน้ำตาลมาตรฐาน (A) น้ำหอมแดงสกัดก่อนผ่านขั้นตอนการทำให้เข้มข้น (B) น้ำเชื่อม FOS ทำให้เข้มข้นด้วยการแช่แข็ง (C) การระเหยด้วยความร้อน (D) การระเหยในสภาวะสุญญากาศ (E) เมื่อทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

7. ผลของการทำให้น้ำสกัดหอมแดงบริสุทธิ์

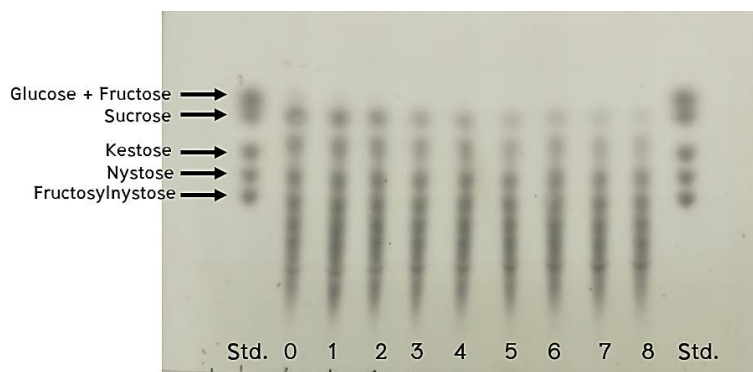
7.1. คอลัมน์ถ่านกัมมันต์

เมื่อนำน้ำสกัดหอมแดงชะผ่านถ่านกัมมันต์จำนวน 8 รอบ ผลการทดลองพบว่า น้ำสกัดหอมแดงมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดก่อนการทำให้บริสุทธิ์โดยการผ่านคอลัมน์ถ่านกัมมันต์เท่ากับ 167.54 ± 2.55 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 7.19 ± 0.04 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า DP เฉลี่ยเท่ากับ 23 และหลังการจากชะผ่านถ่านกัมมันต์แล้ว พบว่ามีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เฉลี่ยเท่ากับ 164.64 ± 10.36 0.58 ± 0.02 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และค่า DP เท่ากับ 284 ซึ่งบ่งบอกว่าน้ำตาลที่เก็บเกี่ยวได้มีขนาดโมเลกุลเฉลี่ยใหญ่ขึ้น (แสดงดังตารางที่ 25) สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำตาลในน้ำสกัดหอมแดงด้วยเทคนิค TLC ที่พบว่าน้ำสกัดหอมแดงมีองค์ประกอบของน้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส ซูโครส คีโตส นีสโตส และน้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์ชนิดอื่นๆ (แสดงดังภาพที่ 48) ซึ่งแถบน้ำตาลที่ปรากฏนั้นสามารถบ่งบอกได้ว่าปริมาณน้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส และซูโครสลดลงเมื่อน้ำตาลสกัดจากหัวหอมผ่านทำให้บริสุทธิ์ครบทั้ง 8 รอบ

ตารางที่ 25 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดและน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำหอมแดงเมื่อผ่านทำให้บริสุทธิ์

ตัวอย่าง	น้ำตาลทั้งหมด (mg/ml)	น้ำตาลรีดิวซ์ (mg/ml)*	DP*
เริ่มต้น	167.54 ± 2.55	7.19 ± 0.04	23.37 ± 0.49
1 รอบ	191.15 ± 0.70	3.59 ± 0.06	53.55 ± 0.87
2 รอบ	182.30 ± 6.03	2.27 ± 0.02	80.65 ± 1.66
3 รอบ	193.55 ± 2.95	1.50 ± 0.03	129.08 ± 3.61
4 รอบ	180.57 ± 4.29	1.13 ± 0.03	157.06 ± 5.66
5 รอบ	177.54 ± 9.03	0.94 ± 0.02	189.04 ± 13.15
6 รอบ	163.66 ± 13.46	0.83 ± 0.01	196.35 ± 15.04
7 รอบ	158.61 ± 11.94	0.71 ± 0.03	226.42 ± 7.91
8 รอบ	164.64 ± 10.36	0.58 ± 0.02	283.87 ± 14.77

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย \pm SD จาก 3 ซ้ำ และ “*” = Degree of polymerization



ภาพที่ 48 TLC ของน้ำตาลสกัด FOS เมื่อผ่านคอลัมน์ของถ่านกัมมันต์ในแต่ละรอบเทียบกับน้ำตาลมาตรฐาน (Std.) และน้ำตาลสกัดเริ่มต้น (Lane 0) น้ำตาลสกัดเมื่อผ่านทำให้บริสุทธิ์ 8 ขั้นตอน (Lane 1-8)

และจากการทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำตาลสกัดนั้น พบว่าน้ำตาลสกัดจากหอมแดงเริ่มต้นมีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระร้อยละ 50.66 ± 0.22 แต่เมื่อน้ำตาลสกัดผ่านการทำให้บริสุทธิ์ครบทั้ง 8 รอบ ฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระกลับลดลง เนื่องจากสารที่ออกฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระในหอมแดง เป็นสารที่สามารถถูกดูดซับได้โดยถ่านกัมมันต์ ซึ่งหลังจากผ่านกระบวนการฤทธิ์นี้ลดลงเหลือเพียงร้อยละ 12.46 ± 0.36 เท่านั้น (แสดงดังตารางที่ 24) สอดคล้องกับคุณสมบัติพื้นฐานของถ่านกัมมันต์ที่มีความสามารถในการดูดซับสารในกลุ่มแอมโมเนีย สารประกอบฟีนอลและอนุพันธ์ของฟีนอล ซึ่งรวมถึงฟลาโวนอยด์อีกด้วย (Tadda *et al.*, 2016)

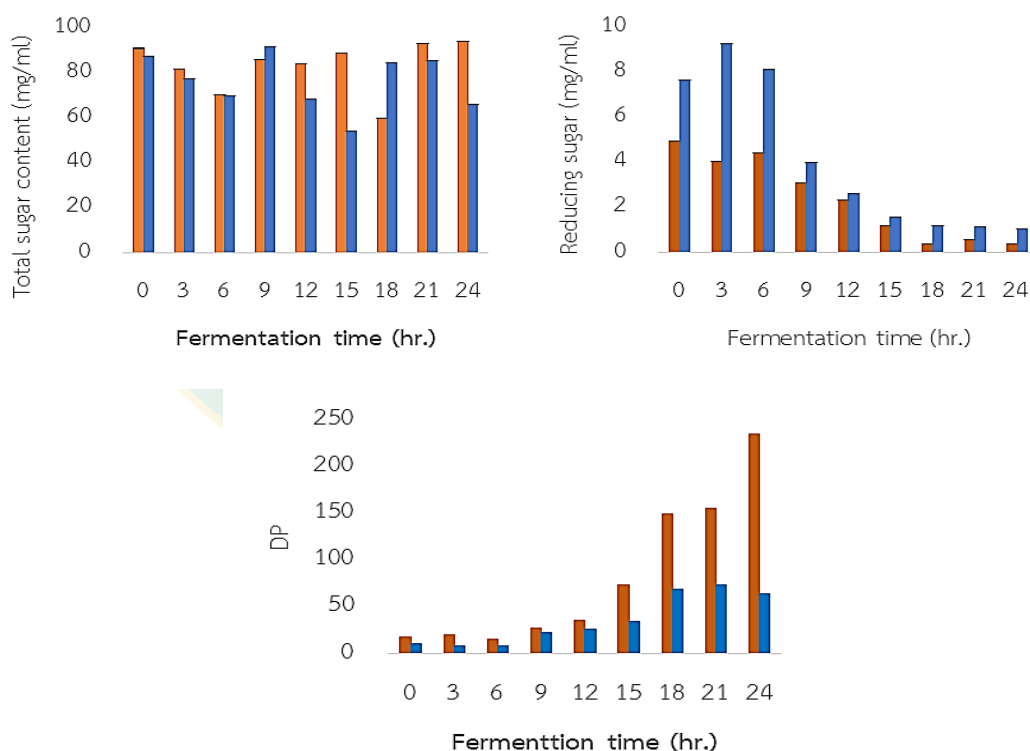
ตารางที่ 26 ฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระของน้ำหอมแดงเมื่อผ่านทำให้บริสุทธิ์ 8 รอบ

ตัวอย่าง	%scavenging activity
เริ่มต้น	50.66 ± 0.22^b
1 รอบ	54.51 ± 2.15^a
2 รอบ	43.90 ± 0.23^c
3 รอบ	31.42 ± 1.16^d
4 รอบ	23.14 ± 0.87^e
5 รอบ	19.27 ± 0.38^f
6 รอบ	16.53 ± 0.45^g
7 รอบ	14.66 ± 1.09^h
8 รอบ	12.46 ± 0.36^i

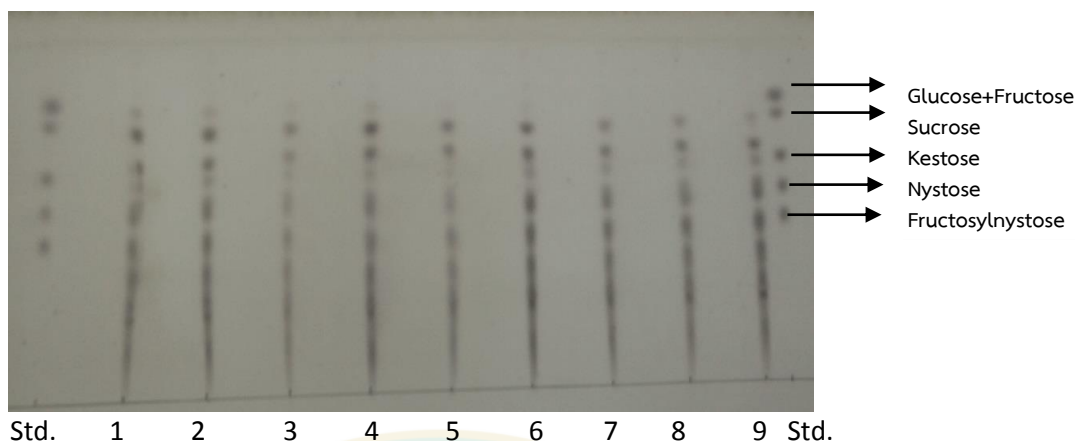
หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย \pm SD จาก 3 ซ้ำ

7.2. การหมักด้วยยีสต์

เมื่อนำน้ำหอมแดงสกัดผ่านการทำให้บริสุทธิ์โดยการหมักด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* IR1 และ IR5 ผลการทดลองพบว่า น้ำหอมแดงสกัดเริ่มต้นมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเท่ากับ 91.14 ± 0.02 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 4.95 ± 0.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า DP เฉลี่ยเท่ากับ 18.41 และหลังจากกระบวนการหมักด้วยยีสต์ไอโซเลท IR1 สิ้นสุด พบว่ามีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และค่า DP เฉลี่ยเท่ากับ 94.29 ± 0.00 0.4 ± 0.00 และ 235.71 ตามลำดับ (แสดงดังภาพที่ 47) สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำตาลในน้ำตาสกัดจากหัวหอม ด้วยเทคนิค TLC ซึ่งแถบน้ำตาลที่ปรากฏนั้นสามารถบ่งบอกได้ว่า น้ำหอมแดงสกัดมีองค์ประกอบของน้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส ซูโครส ลดน้อยลงหลังจากสิ้นสุดกระบวนการหมัก แต่ในกลุ่มของน้ำตาลคีโตส นีสโตส และน้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์ชนิดอื่น ๆ ยังคงมีปริมาณมากอยู่ (แสดงดังภาพที่ 48) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างยีสต์ทั้ง 2 ไอโซเลทจะเห็นได้ชัดว่า IR1 มีความสามารถในการใช้น้ำตาลรีดิวซ์ที่มากกว่า IR5 ส่งผลให้มีค่า DP ที่สูงกว่า และจากการจำแนกโดยวิธีทางชีวโมเลกุลพบว่า ยีสต์ IR1 คือ *Saccharomyces cerevisiae*



ภาพที่ 49 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และค่า DP ของน้ำสกัดหอมแดง ที่ทำให้บริสุทธิ์โดยการหมักด้วยยีสต์ IR1 (■) และ IR5 (■)



ภาพที่ 50 องค์ประกอบน้ำตาลในน้ำสกัดหอมแดงเทียบกับน้ำตาลมาตรฐาน (Std.) น้ำสกัดหอมแดงที่หมักด้วยยีสต์ที่เวลา 0 3 6 9 12 15 18 21 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ (Lane 1-9)

ตารางที่ 27ฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระของน้ำหอมแดงสกัดเมื่อผ่านทำให้บริสุทธิ์โดยการหมักด้วยยีสต์

Time (hr.)	%scavenging activity	
	IR1	IR5
0	36.11	34.42
3	32.07	32.42
6	42.30	39.26
9	40.25	44.89
12	44.11	46.24
15	54.53	57.75
18	52.95	45.21
21	42.48	40.48
24	37.68	42.92

7.3. เอนไซม์อินเวอร์เทส

การศึกษาการทำงานของเอนไซม์อินเวอร์เทส เพื่อย่อยสลายน้ำตาลซูโครส โดยน้ำหอมแดงสกัดที่ใช้ในการทดลองนี้เริ่มต้นมีปริมาณน้ำตาลรวม และน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 221.05 ± 1.02 และ 40.76 ± 0.69 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ โดยมีค่า DP เริ่มต้นเท่ากับ 5.51 จากการทดลองพบว่าเมื่อเอนไซม์อินเวอร์เทสทำปฏิกิริยากับน้ำหอมแดงสกัด จะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในปริมาณที่สูงขึ้นส่งผลให้มีค่า DP ที่ต่ำลง โดยเมื่อเพิ่มปริมาณเอนไซม์ปฏิกิริยาจะเร็วขึ้นในเวลาเท่าๆกัน จนน้ำตาลรีดิวซ์ที่ตรวจพบมีปริมาณที่คงที่ ซึ่งจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การใช้เอนไซม์ 0.314 Unit

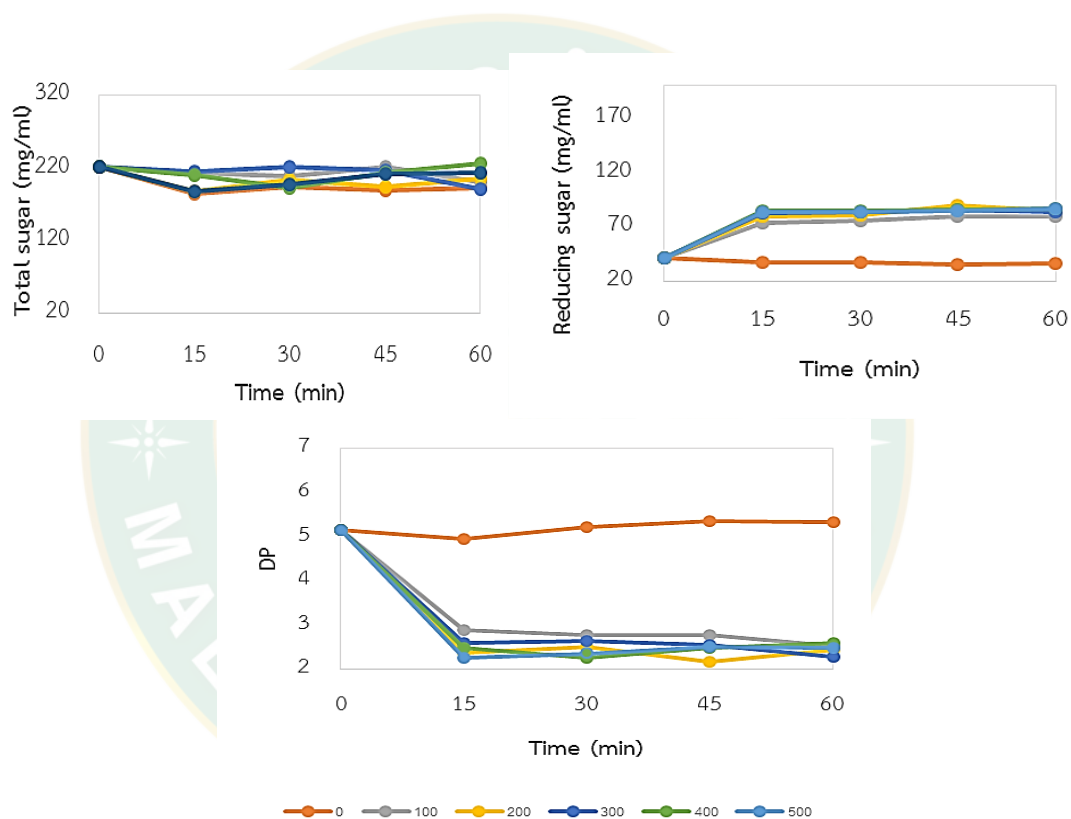
นาน 15 นาที ก็เพียงพอต่อการกำจัดโมเลกุลของน้ำตาลซูโครส แต่ในขณะที่เดียวกันเอนไซม์อินเวอร์เทสก็ย่อยสลายน้ำตาลในกลุ่ม FOS ด้วยเช่นกัน ดังผลที่ปรากฏจากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค TLC (ภาพที่ 52) ดังนั้น จึงสรุปได้ว่าเอนไซม์อินเวอร์เทสไม่เหมาะสมใช้ร่วมในกระบวนการนี้ เพราะส่งผลต่อปริมาณน้ำตาล FOS โดยรวมแม้จะกำจัดน้ำตาลซูโครสได้ก็ตาม

ตารางที่ 28 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และ DP ในน้ำหอมแดงสกัดที่ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์อินเวอร์เทส

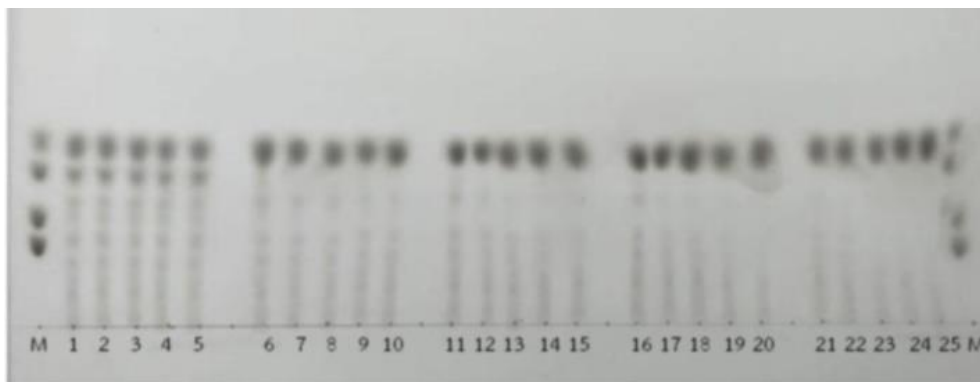
Invertase enzyme (Unit)	Time (min)	Total sugar* (mg/ml)	Reducing sugar* (mg/ml)	DP
0	0	221.05±1.02	40.76±0.69	5.15
	15	183.58±1.82	37.17±0.81	4.94
	30	193.36±4.75	37.00±0.19	5.23
	45	188.86±4.85	35.24±0.22	5.36
	60	192.71±1.82	36.10±0.30	5.34
0.157	15	212.27±2.02	73.64±0.63	2.88
	30	208.93±0.5	75.21±0.89	2.78
	45	220.71±4.65	79.71±1.25	2.77
	60	200.57±4.04	79.38±1.21	2.53
0.314	15	186.93±2.53	79.02±0.96	2.37
	30	202.67±3.23	80.64±0.70	2.51
	45	193.62±4.39	89.29±0.81	2.17
	60	204.43±0.61	84.14±0.40	2.43
0.471	15	214.64±1.52	83.00±1.32	2.59
	30	220.86±3.43	83.45±0.11	2.65
	45	217.00±4.65	85.14±0.20	2.55
	60	191.00±3.43	83.95±0.22	2.28
0.628	15	209.36±2.12	84.21±0.80	2.49
	30	191.90±0.36	84.74±0.65	2.26
	45	213.81±3.57	85.76±0.93	2.49
	60	225.29±0.20	86.57±1.38	2.60

Invertase enzyme (Unit)	Time (min)	Total sugar* (mg/ml)	Reducing sugar* (mg/ml)	DP
0.785	15	187.43±0.81	83.38±0.66	2.25
	30	196.64±2.12	83.71±0.10	2.35
	45	212.14±3.03	84.90±0.82	2.50
	60	212.76±3.15	86.05±1.50	2.47

หมายเหตุ: “*” = ค่าเฉลี่ย± SD จาก 3 ซ้ำ, “**” = Degree of polymerization



ภาพที่ 51 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และค่า DP ของน้ำสกัดหอมแดง ที่ทำให้บริสุทธิ์ด้วยเอนไซม์อินเวอร์เทส



ภาพที่ 52 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำตาลด้วยเทคนิค TLC น้ำตาลมาตรฐาน (Lane M) น้ำหอมแดงไม่เติมเอนไซม์อินเวอร์เทส (Lane 1-5) น้ำหอมแดงบ่มด้วยเอนไซม์อินเวอร์เทส 100 ul (Lane 6-10) เอนไซม์อินเวอร์เทส 200 ul (Lane 11-15) เอนไซม์อินเวอร์เทส 300 ul (Lane 16-20) และเอนไซม์อินเวอร์เทส 400 ul (Lane 21-25) ที่เวลา 0 15 30 45 และ 60 นาที ตามลำดับ

8. การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค

8.1. ผลการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สารสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (Minimal inhibitory concentration, MIC) และการหาค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่าเชื้อได้ (Minimal bactericidal concentration, MBC) ของน้ำหอมแดงสกัด

สำหรับการศึกษาค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดน้ำตาลหอมแดงในการยับยั้งการเจริญเชื้อแบคทีเรีย 3 ชนิด ได้แก่ *E. Coli*, *Sal. Typhimurium* และ *S. aureus* พบว่า ที่ความเข้มข้นของสารสกัดน้ำตาลหอมแดงที่ 344 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (อัตราส่วน 7:3) ขึ้นไป สามารถยับยั้งการเจริญของ *Sal. Typhimurium* ได้ สำหรับการทดสอบกับ *S. aureus* พบว่า ต้องใช้ความเข้มข้นของสารสกัดน้ำตาลหอมแดงที่ 491 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (อัตราส่วน 10:0) ซึ่งเป็นความเข้มข้นเริ่มต้นของสารสกัดจึงสามารถยับยั้งการเจริญได้ และสารสกัดไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า ค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ของสารสกัดน้ำตาลหอมแดงเริ่มต้นในการยับยั้งการเจริญของ *Sal. Typhimurium* และ *S. aureus* เท่ากับ 344 และ 491 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ (แสดงดังตารางที่ 29)

เมื่อนำหลอดที่ไม่มีความขุ่นของแบคทีเรียจากการหาค่า MIC ของสารสกัดน้ำตาลหอมแดงในการยับยั้งการเจริญของ *Sal. Typhimurium* และ *S. aureus* ไปทำการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยเทคนิคเกลี่ยเชื้อ บนอาหารแข็ง SS agar และ NA ตามลำดับ พบว่า ที่ความเข้มข้นต่ำตั้งแต่ 393 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (อัตราส่วน 8:2) ลงไปนั้น *Sal. Typhimurium* สามารถเจริญได้ แสดงว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถฆ่า *Sal. Typhimurium* ได้ คือที่ความเข้มข้นที่ 442 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (อัตราส่วน 9:1) และสารสกัดไม่สามารถฆ่า *S. aureus* ได้

ตารางที่ 29 ค่า MIC ของสารสกัดน้ำตาลหอมแดงเริ่มต้นในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli*, *Sal. Typhimurium* และ *S. aureus*

ความเข้มข้นของ น้ำหอมแดงสกัด (mg/ml)	growth of <i>E. coli</i>	growth of <i>Sal. Typhimurium</i>	growth of <i>S. aureus</i>
491	+	Clear solution	Clear solution
442	+	Clear solution	+
393	++	Clear solution	++
344	++	Clear solution	++
295	++	+	++
246	++	++	++
197	++	++	++
147	++	++	++
98	++	++	++
49	++	++	++
0	++	++	++

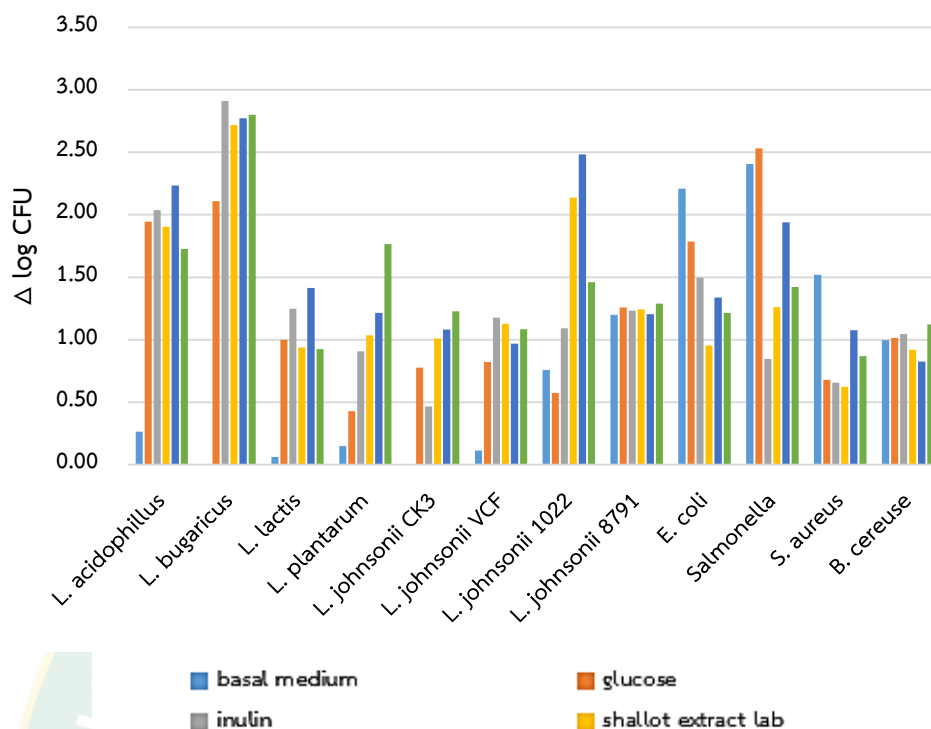
หมายเหตุ: “+” = เจริญปานกลาง, “++” = เจริญดีมาก

9. การทดสอบคุณสมบัติพรีไบโอติกส์ของน้ำเชื่อม FOS ในการกระตุ้นการเจริญของเชื้อเดี่ยว

การทดสอบคุณสมบัติพรีไบโอติกส์ของน้ำเชื่อม FOS ในการเพาะเลี้ยงเชื้อเดี่ยวในอาหารเหลวสูตร Basal medium ที่มีแหล่งคาร์บอนที่ต่างกัน ผลการทดลองพบว่าสารสกัดหอมแดงจากระดับปฏิบัติการ ระดับกึ่งอุตสาหกรรม และน้ำเชื่อม FOS สามารถกระตุ้นการเจริญของเชื้อโพรไบโอติกสายพันธุ์ *L. acidophilus*, *L. bugaricus*, *L. plantarum* และ *L. johnsonii* ได้ดี ในขณะที่ไม่เกิดการกระตุ้นในเชื้อก่อโรคเมื่อเทียบกับน้ำตาลกลูโคส ผลต่างของค่าการเจริญ แสดงดังตารางที่ 30 และภาพที่ 53 สรุปได้ว่า น้ำหอมแดงสกัดและน้ำเชื่อม FOS จากหอมแดง มีคุณสมบัติที่ดีในการกระตุ้นการเจริญของเชื้อโพรไบโอติกได้

ตารางที่ 30 ผลต่างของค่าการเจริญของเชื้อโพรไบโอติกและเชื้อก่อโรค

เชื้อจุลินทรีย์	$\Delta\log$ CFU/ml					
	basal medium	glucose	inulin	shallot extract lab	shallot extract semi-pilot	shallot syrup
<i>L. acidophilus</i>	0.27	1.94	2.04	1.90	2.23	1.73
<i>L. bugarius</i>	0.00	2.11	2.91	2.72	2.77	2.80
<i>L. lactis</i>	0.06	1.00	1.25	0.94	1.42	0.92
<i>L. plantarum</i>	0.15	0.43	0.91	1.04	1.21	1.77
<i>L. johnsonii</i> CK3	0.00	0.78	0.47	1.01	1.08	1.23
<i>L. johnsonii</i> VCF	0.11	0.82	1.18	1.13	0.97	1.08
<i>L. johnsonii</i> 1022	0.76	0.57	1.09	2.14	2.48	1.46
<i>L. johnsonii</i> 8791	1.20	1.26	1.23	1.24	1.20	1.29
<i>E. coli</i>	2.21	1.79	1.50	0.95	1.34	1.21
<i>Sal. Typhimurium</i>	2.41	2.53	0.84	1.26	1.94	1.42
<i>S. aureus</i>	1.52	0.68	0.66	0.62	1.08	0.87
<i>B. cereus</i>	1.00	1.01	1.05	0.92	0.83	1.12



ภาพที่ 53 ผลต่างของค่าการเจริญของเชื้อโพรไบโอติกและเชื้อก่อโรคในอาหาร basal medium ที่มี carbon source ต่างกัน

10. การวิเคราะห์ต้นทุนการผลิตน้ำเชื่อม FOS

ต้นทุนการผลิตของกระบวนการผลิตน้ำเชื่อมหอมแดงระดับปฏิบัติการและกระบวนการผลิตในระดับกึ่งอุตสาหกรรมที่พัฒนาขึ้นนี้ได้วิเคราะห์ทั้งในด้านต้นทุนคงที่ของอุปกรณ์ เครื่องมือ และเครื่องจักร ต้นทุนค่าใช้จ่าย และต้นทุนเวลา ที่ใช้ในกระบวนการผลิต (ตารางที่ 31-36) ซึ่งพบว่าในการผลิตน้ำเชื่อมหอมแดง 1 มิลลิลิตร ด้วยกระบวนการระดับปฏิบัติการต้องมีต้นทุนค่าใช้จ่าย 1.18 บาท และใช้เวลา 114.52 ชั่วโมง ในขณะที่กระบวนการผลิตในระดับกึ่งอุตสาหกรรมที่พัฒนาขึ้นใหม่นี้ มีต้นทุนค่าใช้จ่ายเพียง 0.75 บาท และใช้เวลา 53.35 ชั่วโมง

ตารางที่ 31 รายการแจกแจงต้นทุนคงที่ของอุปกรณ์ เครื่องมือ และเครื่องจักรสำหรับการเตรียม
ผลิตน้ำเชื่อมหอมแดงด้วยกระบวนการระดับปฏิบัติการ

รายการ	จำนวน (หน่วย)	ราคาต่อ หน่วย (บาท)	ต้นทุน รวม (บาท)	ระยะเวลา ที่คาดว่าจะ ใช้งาน	ค่าเสื่อม ราคา/ปี	ค่าเสื่อม ราคา/เดือน	ค่าเสื่อม ราคา/รอบใช้ งาน*	
หน่วยปกเปิด								
1.มีด	5 เล่ม	40	200	2	100	8.33	0.69	
2.ถาด	5 ใบ	120	600	2	300	25	2.08	
หน่วยล้างทำความสะอาด								
3.สะอาด	2 ใบ	70	140	2	70	5.83	0.49	
หน่วยคั้นสกัด								
4.เครื่องคั้นสกัด	1 เครื่อง	11,900	11,900	5	2,380	198.33	16.53	
5.เหยือก	5 อัน	100	500	2	250	20.83	1.74	
6.ผ้าขาวบาง	2 ผืน	40	80	2	40	3.33	0.28	
หน่วยกรอง								
6.ชุดกรวยกรอง	1 ชุด	3,552	3,552	2	1,776	148	12.33	
7.ปั๊มลม	1 เครื่อง	7,350	7,350	5	1,470	122.5	10.21	
รวม			24,322		6,396	532.15	<u>44.35</u>	
ค่าเช่าเครื่อง Rotary evaporator** (1 รอบการผลิตได้น้ำสกัด 22.0 ลิตร ใช้เวลาระเหย 67.10 ชั่วโมง)								2684.00
รวมต้นทุนคงที่ของอุปกรณ์ เครื่องมือ และเครื่องจักร								<u>2,728.35</u>

หมายเหตุ: ราคาของอุปกรณ์และเครื่องมือ เป็นราคาขายปลีกตามท้องตลาดทั่วไป

“*”: ระยะเวลา 1 เดือน ผลิตน้ำตาลสกัด 12 รอบ

“**”: ค่าเช่า Rotary evaporator ราคา 40 บาท/ชั่วโมง (อ้างอิงจากสถาบันบริการ
ตรวจสอบคุณภาพและมาตรฐานผลิตภัณฑ์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้)

ตารางที่ 32 รายการแจกแจงต้นทุนคงที่ของอุปกรณ์ เครื่องมือ และเครื่องจักรสำหรับการเตรียม
ผลิตน้ำเชื่อมหอมแดงด้วยกระบวนการระดับกึ่งอุตสาหกรรมที่พัฒนาขึ้น

รายการ	จำนวน (หน่วย)	ราคาต่อ หน่วย (บาท)	ต้นทุนรวม (บาท)	ระยะเวลา ที่คาดว่าจะ ใช้งาน	ค่าเสื่อม ราคา/ปี	ค่าเสื่อม ราคา/ เดือน	ค่าเสื่อม ราคา/รอบ ใช้งาน*
หน่วยปกเปิด							
1.มีด	5 เล่ม	40	200	2	100	8.33	0.69
2.ถาด	5 ใบ	120	600	2	300	25	2.08
หน่วยล้างทำความสะอาด							
สะอาด	1 เครื่อง	51,360	51,360	10	5,136	428	35.67
หน่วยคั้นสกัด							
3.เครื่องล้าง							
4.เครื่องคั้นสกัด	1 เครื่อง	77,575	77,575	10	7,757.50	646.46	53.87
5.กะละมัง	2 ใบ	70	140	2	70	5.83	0.49
หน่วยกรอง							
6.เครื่องกรอง	1 เครื่อง	41,195	41,195	10	4,119.50	343.29	28.61
สูญญากาศ							
7.ผ้าขาวบาง	2 ผืน	40	80	2	40	3.33	0.28
รวม			119,841.36		17,523	1,460.2 4	<u>121.69</u>
ค่าเช่าเครื่อง Rotary evaporator** (1 รอบการผลิตได้น้ำสกัด 32.4 ลิตร ใช้เวลาระเหย 8 ชั่วโมง)							600.00
รวมต้นทุนคงที่ของอุปกรณ์ เครื่องมือ และเครื่องจักร							<u>4,074.49</u>

หมายเหตุ: ราคาของอุปกรณ์และเครื่องมือ เป็นราคาขายปลีกตามท้องตลาดทั่วไป

“*”: ระยะเวลา 1 เดือน ผลิตน้ำตาลสกัด 12 รอบ

“**”: ค่าเช่า Rotary evaporator ราคา 600 บาท/วัน (อ้างอิงจาก โรงงานนาร่อง คณะ
วิศวกรรมอุตสาหการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้)

ตารางที่ 33 แสดงการแจกแจงต้นทุนวัตถุดิบการผลิตน้ำเชื่อมหอมแดงในกระบวนการระดับปฏิบัติการและกระบวนการผลิตในระดับกิ่งอุตสาหกรรมที่พัฒนาขึ้น

รายการ	จำนวน (กิโลกรัม/รอบ)	ราคาต่อหน่วย (บาท/กิโลกรัม)	รวมราคาวัตถุดิบ/รอบ(บาท)
หอมแดงสด	50	45	2,250

อ้างอิง : ราคาพืชอาหาร-ค้าส่ง, กระทรวงพาณิชย์

ตารางที่ 34 แสดงการแจกแจงต้นทุนเวลา สำหรับการเตรียมผลิตน้ำเชื่อมหอมแดงด้วยกระบวนการระดับปฏิบัติการและกระบวนการผลิตในระดับกิ่งอุตสาหกรรมที่พัฒนาขึ้น

หน่วยผลิต	ระดับปฏิบัติการ		ระดับกิ่งอุตสาหกรรม	
	จำนวน	เวลาที่ใช้ (ชั่วโมง)	จำนวน	เวลาที่ใช้ (ชั่วโมง)
หน่วยปอกเปลือก(กิโลกรัม/รอบ)	50	42.74	50	42.74
หน่วยล้างทำความสะอาด (กิโลกรัม/รอบ)	50	0.33	50	0.50
หน่วยคั้นสกัด(กิโลกรัม/รอบ)	50	3.25	50	1.30
หน่วยกรอง (ลิตร)	22.0	1.10	32.4	0.81
หน่วยระเหย (ลิตร)	22.0	67.10	32.4	8.00
รวมเวลา (ชั่วโมง)		<u>114.52</u>		<u>53.35</u>

ตารางที่ 35 แสดงการแจกแจงค่าแรงงาน สำหรับการเตรียมผลิตน้ำเชื่อมหอมแดงด้วยกระบวนการระดับปฏิบัติการและกระบวนการผลิตในระดับกิ่งอุตสาหกรรมที่พัฒนาขึ้น

ค่าแรงงานที่มีทักษะ	ชั่วโมงงาน (ชั่วโมง/รอบ)	จำนวน (คน)	ค่าแรงงาน (บาท/คน)	ค่าแรงงาน (รอบ/บาท)
กระบวนการระดับ ปฏิบัติการ	114.52	7	600	4,200
กระบวนการผลิตในระดับ กิ่งอุตสาหกรรมที่พัฒนาขึ้น	53.35	4	600	2,400

หมายเหตุ: 1 รอบการผลิตใช้หอมแดงสดตั้งต้น 50 กิโลกรัม

ตารางที่ 36 สรุป และเปรียบเทียบต้นทุนการผลิตน้ำเชื่อมหอมแดงด้วยกระบวนการระดับปฏิบัติการและกระบวนการผลิตในระดับกิ่งอุตสาหกรรมที่พัฒนาขึ้น

ต้นทุนการผลิต	กระบวนการผลิตน้ำเชื่อมหัวหอม	
	ระดับปฏิบัติการ	ระดับกิ่งอุตสาหกรรม
ต้นทุนคงที่ของอุปกรณ์ เครื่องมือ และ เครื่องจักร	2,728.35	4,074.49
ต้นทุนวัตถุดิบ	2,250.00	2,250.00
ค่าแรงงาน	4,200.00	2,400.00
รวมต้นทุนการผลิตต่อรอบ	9,178.35	8,724.49
รวมต้นทุนเวลา	114.52	53.35
ได้ผลผลิต (ลิตร)	7.75	11.65
ดังนั้นต้นทุนการผลิตน้ำเชื่อม FOS 1 มิลลิลิตร	<u>1.18 บาท</u>	<u>0.75 บาท</u>

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

กระบวนการผลิตน้ำเชื่อม FOS ในระดับกึ่งอุตสาหกรรมจากพืชตระกูลหอมที่พัฒนาขึ้นในงานวิจัยนี้ ซึ่งได้แก่ การออกแบบและพัฒนาเครื่องมือการผลิตในหน่วยการล้างทำความสะอาด การคั้นสกัด และการกรอง มีประสิทธิภาพของเครื่องมือที่พัฒนาขึ้นดังต่อไปนี้

1. เครื่องล้างเป็นระบบน้ำหมุนวน มีประสิทธิภาพในการล้างโดยล้างได้ครั้งละ 30 กิโลกรัม กำจัดตะกอนดินได้ร้อยละ 64.42 และกำจัดเชื้อปนเปื้อนได้ร้อยละ 84.25 และไม่พบการรอดชีวิตของเชื้อ ภายในเวลา 5 และ 6 นาทีตามลำดับ ทั้งนี้ใช้สารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรท์ที่ความเข้มข้น 50 ppm ร่วมด้วย
2. เครื่องคั้นสกัดน้ำหอมแดง สามารถทำงานได้ในอัตรา 38.46 กิโลกรัมต่อชั่วโมง โดยได้ผลผลิต เท่ากับ 466 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัม และกากของหัวหอมยังเหลือความชื้นเพียง 1.45 ± 1.17 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น
3. เครื่องกรองกากหัวหอม สามารถทำงานได้ในอัตรา 40 ลิตรต่อชั่วโมง โดยของเหลวที่ผ่านการกรองได้นี้ มีความใสขึ้นร้อยละ 80.46 เมื่อเทียบกับน้ำสกัดที่ยังไม่ผ่านกระบวนการกรอง น้ำสกัดหอมที่เตรียมได้นี้ ได้ถูกนำมาศึกษาคุณภาพเมื่อทำการเก็บรักษาที่สภาวะต่างๆ ผลการศึกษาพบว่าการเติมสารละลายโซเดียมซอเบตที่ความเข้มข้น 50 ppm ภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ช่วยรักษาคุณภาพทางเคมีและชีวภาพได้

สำหรับการศึกษาระบวนการทำให้น้ำสกัดหอมแดงที่ได้มีความบริสุทธิ์นั้น วิธีการที่เหมาะสมที่สุดในการทำให้อัตราการคั้นน้ำสกัดหอมแดงบริสุทธิ์คือการใช้เครื่องคั้นที่มีถังกักน้ำ ซึ่งเมื่อสิ้นสุดกระบวนการนี้พบว่าสามารถกำจัดน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวไปได้สูงถึงร้อยละ 91.93 ส่งผลให้น้ำสกัดหอมแดงมีค่า Degree of polymerization ถึง 284 อีกทั้งถังกักน้ำยังสามารถนำกลับมาใช้ซ้ำได้ และวิธีการทำให้น้ำหอมแดงสกัดเข้มข้นขึ้นเพื่อผลิตน้ำเชื่อม FOS คือ การใช้วิธีการระเหยในสภาวะสุญญากาศ เนื่องจากวิธีการนี้สามารถรักษาคุณสมบัติของน้ำเชื่อม FOS ได้ดี

ในส่วนของการศึกษาคุณสมบัติทางเคมี กายภาพ และชีวภาพบางประการของน้ำเชื่อม FOS ที่ผลิตได้จากกระบวนการที่พัฒนาขึ้นเปรียบเทียบกับน้ำเชื่อม FOS ที่ผลิตในระดับปฏิบัติการมีคุณสมบัติใกล้เคียงกันทั้งในเรื่องของ องค์ประกอบ และขนาดของน้ำตาล รวมถึงคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย โดยน้ำเชื่อมนี้มีความเข้มข้นของน้ำตาลเท่ากับ 307.20 ± 13.79 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ขนาดน้ำตาลในรูป DP เท่ากับ 35 มีฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระในรูปของค่า %inhibition ต่อ ABTS เท่ากับ ร้อยละ 78.59 และจากการวิเคราะห์เปรียบเทียบต้นทุนค่าใช้จ่ายยังพบว่า ในการผลิตน้ำเชื่อมหัว

หอม 1 มิลลิลิตร กระบวนการผลิตในระดับกึ่งอุตสาหกรรมที่พัฒนาขึ้นใหม่นี้ มีต้นทุนค่าใช้จ่ายเพียง 0.75 บาทต่อมิลลิลิตร และใช้เวลา 53.35 ชั่วโมง ในขณะที่การผลิตในกระบวนการระดับปฏิบัติการต้องมีต้นทุนค่าใช้จ่ายถึง 1.18 บาทต่อมิลลิลิตร และใช้เวลานานถึง 114.52 ชั่วโมง

จากผลการทดลองทั้งหมดนี้ชี้ให้เห็นว่า การพัฒนากระบวนการผลิตจากระดับปฏิบัติการสู่การผลิตในระดับกึ่งอุตสาหกรรมสามารถทำได้ อีกทั้งยังลดต้นทุนค่าใช้จ่าย ต้นทุนเวลาในการผลิตอีกด้วย รวมถึงได้รับน้ำเชื่อมหัวหอมที่อุดมไปด้วยน้ำตาล FOS ตามวัตถุประสงค์ เพื่อนำไปใช้ประโยชน์ในการเป็นพรีไบโอติก เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงขึ้นจากผลผลิตทางการเกษตรที่เป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศไทยได้



ข้อเสนอแนะ

ในงานวิจัยนี้ สามารถนำไปต่อยอดในการพัฒนาสู่ระดับอุตสาหกรรมที่มีกำลังการผลิตที่สูงขึ้น รวมถึงพัฒนาเครื่องมือในหน่วยระเหย เนื่องจากในงานวิจัยครั้งนี้ไม่มีงบประมาณเพียงพอสำหรับการสร้างเครื่องระเหย นอกจากนี้ยังสามารถนำไปศึกษาต่อยอดในเรื่องของการศึกษาการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารชนิดอื่นๆ ที่มีในสารสกัดหัวหอมเช่น ฤทธิ์ต้านมะเร็ง ฤทธิ์ต้านการอักเสบ เป็นต้น การกำจัดกลิ่นฉุนของหัวหอม และการพัฒนาผลิตภัณฑ์ให้อยู่ในรูปแบบอื่นๆ ที่แตกต่างกันออกไป เพื่อเพิ่มความหลากหลายให้กับผู้บริโภค



บรรณานุกรม

- กระทรวงสาธารณสุข. 2543. **เรื่อง วัตถุเจือปนอาหาร**. ประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 281, พ.ศ.2543. หน้า 32.
- กิติพงศ์ อัศตรกุล และ นฤมล หิมะสุทธิกระทรวงสาธารณสุข. 2543. **เรื่อง วัตถุเจือปนอาหาร**. ประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 281, พ.ศ.2543. หน้า 32.
- กิติพงศ์ อัศตรกุล และ นฤมล หิมะสุทธิเดช. 2560. **ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์การยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียของสารสกัดจากหัวหอมและการประยุกต์ใช้ในน้ำผักและผลไม้ผสม**. วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม. 1:71-83.
- ชื่นสุมน ยิ้มถิ่น. 2558. **การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากหอมแดง**. การประชุมวิชาการชมรมคณะปฏิบัติงานวิทยาการ อพ.สธ. ครั้งที่ 7 “ทรัพยากรไทย : หวนดูทรัพยากรสิ่งสินตน”. 389-393.
- ภาวิณี อินทร์มณี ปิยวรรณ วงศ์วสุ และ วราลี จ้อยมาก. 2563. **เทคนิคการยืดอายุอาหาร และ เครื่องดื่ม ให้เหมาะสม สอดคล้องกับสถานการณ์ปัจจุบันและแนวโน้มในอนาคต**. สาขาวิชามนุษยนิเวศศาสตร์. มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช.
- วรวิมล สมศักดิ์ สุกัญญา ซาซียา สมเดช ศรีชัยรัตน์กุล และชัยรัตน์ อุทัยพิบูลย์. 2558. **ฤทธิ์ของสารสกัดหอมแดงต่อความเสียหายของตับและไตจากการติดเชื้อมาลาเรีย Plasmodium berghei ในหนูทดลอง**. การประชุมมหาดใหญ่วิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 6. มหาวิทยาลัยมหาดใหญ่. 819-830.
- วรรณคล เชื้อมงคล. 2556. **ประโยชน์ของฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารทางการแพทย์**. วารสาร ไทยเภสัชศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ. 8(3), 122-128.
- วสันต์ คงโนขาว. 2560. **3 เรื่องที่ควรรู้ก่อนทำ Process scale up**. วารสารเพื่อการวิจัยและพัฒนาองค์การ เกษัชกรรม. 24(4), 4-7.
- วีระเชษฐ์ จิตตานิษฐ์ กฤติยา เชื้อนเพชร สาโรจน์ ศิริคันสนียกุล มลนพรรษ สงพิมพ์ และดารารัตน์ มงคลการ. 2558. **กรรมวิธีผลิตอินูลินน้ำตาลต่ำ**. ประเทศไทย. อนุสิทธิบัตรเลขที่ 9627
- ศิริษา ศรีนามเอี้ย สุพร นุชดำรงค์ สนั่น จากลอย อารันต์ พัฒโนทัย และศุภลักษณ์ ศรีจรรย์. 2558. **กรรมวิธีการผลิตผงอินูลินจากหัวแก่นตะวัน**. ประเทศไทย. อนุสิทธิบัตรเลขที่ 10919
- ศุภรา อัคระสารกุล บุญญวดี จิระวุฒิ เนตรา สมบูรณ์แก้ว และสุพิน ศิรากุล. 2561. **ผลของอุณหภูมิ ความชื้น และปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ต่อการเจริญของเชื้อรา *Aspergillus niger* และการสร้างสารโอคราทอกซินในผลิตผลเกษตร**. วารสารวิชาการ

เกษตร. 36(2), 116-129.

สาโรจน์ ศิริคั่นสนียกุล กชกร ปรารังค์วิเศษ และประภาส ช่างเหล็ก. 2558. **กรรมวิธีการผลิต ฟรักโทสและอินูโลโอลิโกแซ็กคาไรด์จากแก่นตะวัน (เยรูซาเลมอาร์ทิสซ์)**. ประเทศไทย. อนุสิทธิบัตรเลขที่ 9833

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. **ข้อมูลการผลิตสินค้าเกษตร**. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <http://www.oae.go.th/view/1//TH-TH>. (15 ธันวาคม 2563).

Abu El Ezz NM. 2005. Effect of *Nigella sativa* and *Allium cepa* oils on *Trichinella spiralis* in experimentally infected rats. **Journal of the Egyptian Society of Parasitology**. 35(2):511-23.

Baldry, J., Dougan, J. and Howard, G.E. 1972. Volatile flavoring constituents of Durian. **Phytochemistry**. 11(6), 2081-2084.

Brewer, M.S. 2011. Natural antioxidants: sources, compounds, mechanisms of action and potential applications. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**. 10: 221-247.

Campbell, J.M., Bauer, L.L., Fahey, G.C., Hogarth, A.J.C.L., Wolf, B.W. and Hunter, D.E. 1997. Selected Fructooligosaccharide (1-kestose, Nystose, and 1F-Fructofuranosylnystose) composition of foods and feeds. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 45, 3076-3082.

Der Agopian, R.G., Soares, C.A., Purgatto, E., Cordenunsi, B.R. and Lajolo, F.M. 2008. Identification of fructooligosaccharides in different banana cultivars. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 56, 3305-3310.

Fattorusso, E., Iorizzi, M., Lanzotti, V., & Tagliatalata-Scafati, O. 2002. Chemical composition of shallot (*Allium ascalonicum* Hort.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 50(20), 5686-5690.

Fehrestani Sani, M., Montasser, K.S. and Moradabadi, L. 2012. Effects of Three Medicinal Plants Extracts in Experimental Diabetes: Antioxidant Enzymes Activities and Plasma Lipids Profiles in Comparison with Metformin. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**. 11(3), 897-903.

Fernandez, R.C., Ottoni, C.A., Silva, E.S.D, Matsubara, R.M.S., Carter, J.M., Magossi, L.R., Wada, M.A.A., Rodrigues, M.F.D.A, Marresma, B.G. and Maiorano, A.E. 2007. Screening of Fructofuranosidase producing microorganisms and effect of pH

- and temperature on enzymatic rate. **Applied Microbiology and Biotechnology**. 75, 87-93.
- Galani, J.H.Y., J.S. Patel, N.J. Patel, and J.G.Talati. 2017. Storage of fruits and vegetables in refrigerator increases their phenolic acids but decreases the total phenolics, anthocyanins and vitamin C with subsequent loss of their antioxidant capacity. **Multidisciplinary Digital Publishing Institute Journals**. 6: 1-19.
- Günther, L. and Friedrich M. 2015. **Method for obtaining inulin from plant**. สหรัฐอเมริกา. สิทธิบัตรเลขที่ 9,096,693 B2
- Hiroshi, Y. and Kouchi, M. 1986. **Production of fructose syrup**. สหรัฐอเมริกา. สิทธิบัตรเลขที่ 4,613,377
- Jaime, L., M. A. Martin, E. Molla, F. J. Lopez-Andreu, and R.M. Esteban. 2001. Effect of storage on fructan and fructooligosaccharide of onion (*Allium cepa* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 49, 982-988.
- Jaisinghani, R. N. 2017. Antibacterial properties of quercetin. **Microbiology research**. 8, 68-77.
- Jan Mei, S., Mohd, N.M.S. and Norrakiah, A.S. 2010. Fructooligosaccharides in honey and effects of honey on growth of *Bifidobacterium longum* BB536. **International Food Research Journal**. 17, 557-561.
- Judprasong, K., Tanjor, S., Sungpuag, P. and Puwastien, P. 2011. Investigation of Thai plants for potential sources of inulin-type fructans. **Journal of Food Composition and Analysis**. 24, 642-649.
- Kim, B.W., Choi, J.W. and Yun, J.W. 1998. Selective production fructooligosaccharide from sucrose by a new transfructosylating enzyme. **Biotechnology Letters**. 20, 1031-1034.
- Maiorano, A.E., Piccoli, R.M., Silva, E.S. and Rodrigues, M.F.D.A. 2008. Microbial production of fructosyltransferases for synthesis of prebiotics. **Biotechnology Letters**. 30, 1867-77.
- Mensinka, M.A., Henderik W.F., Kees V.D.V.M. and Wouter L.J.H. 2015. Inulin, a flexible oligosaccharide. II: Review of its pharmaceutical applications. **Carbohydrate Polymers**. 134, 418-428.
- Mirelman, D., Monheit, D. and Varon, S. 1987. Inhibition of growth of

- Entamoebahistolytica by allicin, the active principle of garlic extract (*Allium sativum*). *The Journal of Infectious Diseases*. 156(1), 243-4.
- Mnayer, D., Febiano-Tixier, A.S., Petitcolas, E., Hamieh, T., Nehme, N., Ferrant, C., Ferract, X. and Ehemat, F. 2014. Chemical composition, antibacterial and antioxidant activities of six essential oils from the Alliaceae family. *Molecules*. 19, 20034-20053.
- Mohammadi-Motlagh, H. R., Mostafaie, A. and Mansouri, K. 2011. Anticancer and anti-inflammatory activities of shallot (*Allium ascalonicum*) extract. *Archives of Medical Science*. 7(1), 38-44.
- Morioka, N., Sze, L.L., Morton, D.L. and Irie, R.F. 1993. A protein fraction from aged garlic extract enhances cytotoxicity and proliferation of human lymphocytes mediated by interleukin-2 and concanavalin. *Cancer Immunology, Immunotherapy*. 37(5), 316-22
- Parivash, S., Ali, M., Kamran, M., Delnia, A., Hamid-Reza, M. and Amir, K. 2010. In vitro and in vivo anti-angiogenesis effect of shallot (*Allium ascalonicum*): A heat-stable and flavonoid-rich fraction of shallot extract potently inhibits angiogenesis. *Toxicology in Vitro*. 24, 1655–1661.
- Patya, M., Zahalka, M.A., Vanichkin, A., Rabinkov, A., Miron, T. and Mirelman, D. 2004. Allicin stimulates lymphocytes and elicits an antitumor effect: a possible role of p21 ras. *International Immunology*. 16(2), 275-81.
- Puay, Y.Y. and Dieter, T. 2019. Direct Yeast Cell Count at OD600. Tip Biosystems Pte Ltd, Singapore.
- Parvu, A.E., Parvu, M., Vlase, L., Miclea, P., Mot, A.C. and Silaghi-dumitrescu, R. 2014. Anti-inflammatory effects of *Allium schoenoprasum* L. leaves. *Journal of Physiology and Pharmacology*. 65, 309-315.
- Putnika, P., Gabrića, D., Roohinejad, S., Barbad, F. J., Granatov, D., Mallikarjunan, K., Lorenzof, J. M. and Danijela, B. K. 2019. An overview of organosulfur compounds from *Allium* spp.: From processing and preservation to evaluation of their bioavailability, antimicrobial, and anti-inflammatory properties. *Food Chemistry*. 276, 680–691.
- Sakaewan, O., Sukanya, C., Kanokwan, K., Kongsak, B., Somdet, S. and Kittipan, R. 2019.

- Antioxidant and anti-inflammatory protective properties of thai shallot (*Allium ascalonicum* cv. Chiangmai) juice on human vascular endothelial cell lines (EA.hy926). **Walailak Journal of Science and Technology**. 16(3), 175-184.
- Sharifi-Red, J., Mnayer, D., Tabanelli, G., Stojanovic-Radic, Z. Z., Sharifi-Rad, M., Yousaf, Z., Vallone, L., Setzer, W. N. and Iriti, M. 2016. Plant of the genus *Allium* as antibacterial agents: From tradition to pharmacy. **Cellular and Molecular Biology**. 62(9), 57-63.
- Shoib, M., Shehzad, A., Omar, M., Rakha, A., Raza, H. and Rizwan, H. 2016. Inulin: Properties, health benefits and food applications. **Carbohydrate Polymers**. 147, 444-454.
- Singleton, V.L. and Rossi, J.A. Jr. 1965. Colorimetric of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**. 16, 144-158.
- Tadda, M.A., Ahsan, A., Shitu, A., ElSergany, M., Arunkumar, T., Jose, B., Abdur, V. and Nik., N.N. 2016. A review on activated carbon: process, application and prospects. *Journal of Advanced Civil Engineering Practice and Research*. 2(1), 7-13.
- Tathiana, S. M. M., Angelo, s. M. M., Daniel, E. R. F. and Gisela, M. D. O. 2015. Biotechnological production of oligosaccharide. **Application in Food Industry**. 25-78.
- USDA Nutrient database. Shallot. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา <https://fdc.nal.usda.gov/fdc>
- Werawattanachai, N., Kaewamatawong, R., Junlatat, J. and Sripanidkulchai B. 2015. Anti-Inflammatory potential of ethanolic bulb extract of *Allium ascalonicum*. **Journal of Science & Technology**, Ubon ratchathani University., 17(2), 63-68.
- Wipawan, N., Bussaba, P., Wancheng, S. 2019. Extraction of active compounds from Thai herbs: Powder and extract. **The Journal of KMUTNB**. 29(1), 157-166.
- Wongputtisin, P. 2003. **Selection of oligosaccharides from some local plant utilizing as prebiotic**. M.S. Thesis. Chiang Mai University, Chiang Mai.
- Wongputtisin, P., Khanongnuch, C., Pongpiachan, P. and Lumyong, S. 2007. Antioxidant activity improvement of soybeanmeal by microbial fermentation.

Research Journal of Microbiology. 2, 577-583.

Wongputtisin, P., Ramaraj, R., Unpaprom, Y., Kawaree, R. and Pongtrakul, N. 2015. Raffinose family oligosaccharides in seed of Glycine max cv. Chiang Mai60 and potential source of prebiotic substances. **International Journal of Food Science and Technology.** 5, 1750-1756.

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





ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อ

1) Eosin Methylene Blue agar (EMB agar)

Peptone	10.0	กรัม
Lactose	5.0	กรัม
Sucrose	5.0	กรัม
K ₂ HPO ₄	2.0	กรัม
Eosin	0.4	กรัม
Methylene Blue	0.065	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

2) Mennitol-egg yolk-phenal red polymyxin agar

HM infusion powder	12.5	กรัม
BHI powder	5.0	กรัม
Peptone	10.0	กรัม
Dextrose	2.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
Disodium phosphate	2.5	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

3) Yeast extract peptone dextrose (YPD)

Yeast extract	10.0	กรัม
Peptone	20.0	กรัม
Dextrose	20.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

4) De Man, Rogoa, and Sharpe agar (MRS agar)

Peptone	10.0	กรัม
Beef extract	10.0	กรัม
Yeast extract	5.0	กรัม
Glucose	20.0	กรัม
Tween 80	1.0	กรัม
K ₂ HPO ₄	2.0	กรัม
Triammonium citrate	2.0	กรัม
MgSO ₄ .12H ₂ O	0.2	กรัม
MnSO ₄	0.2	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

5) Nutrient agar (NA)

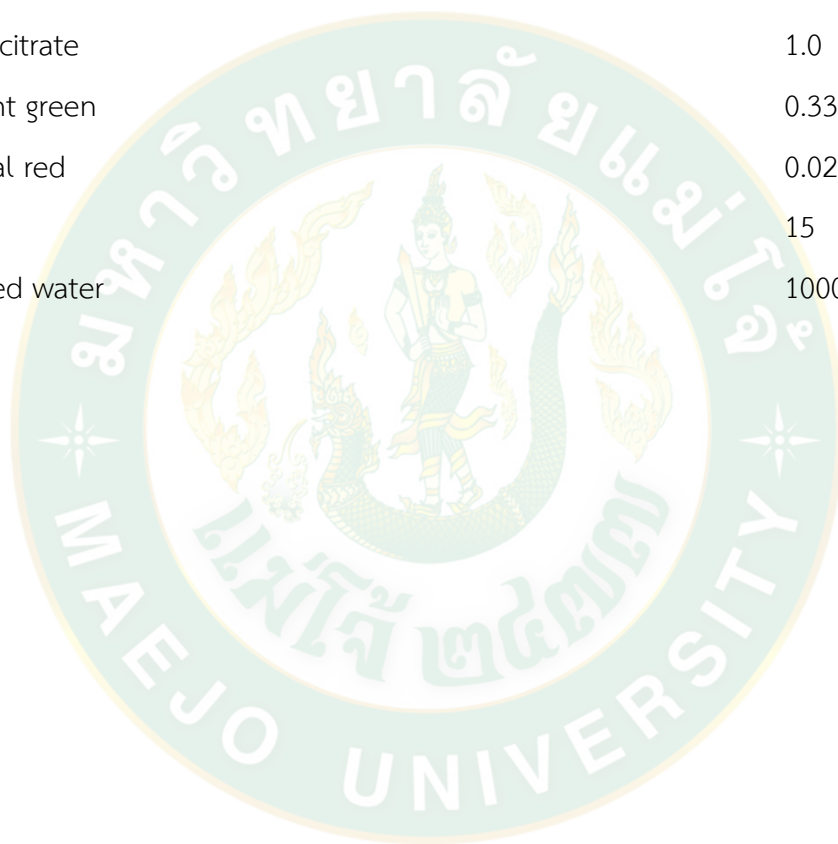
Peptic digest of animal tissue	5.0	กรัม
Sodium chloride	5.0	กรัม
Beef extract	1.5	กรัม
Yeast extract	1.5	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

6) Potato dextrose agar (PDA)

Potato infusion	200	กรัม
Dextrose	20	กรัม
Agar	15	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร

7) Samonella-Shigella agar (SS agar)

Peptone	5.0	กรัม
Beef extract	5.0	กรัม
Lactose	10.0	กรัม
Bacto-bile salts	8.0	กรัม
Sodium citrate	8.5	กรัม
Sodium thiosulfate	8.5	กรัม
Ferric citrate	1.0	กรัม
Brilliant green	0.33	กรัม
Neutral red	0.025	กรัม
Agar	15	กรัม
Distilled water	1000	มิลลิลิตร



ภาคผนวก ข

การเตรียมและวิธีการวิเคราะห์ทางเคมี

1. วิเคราะห์คุณภาพและปริมาณน้ำตาล

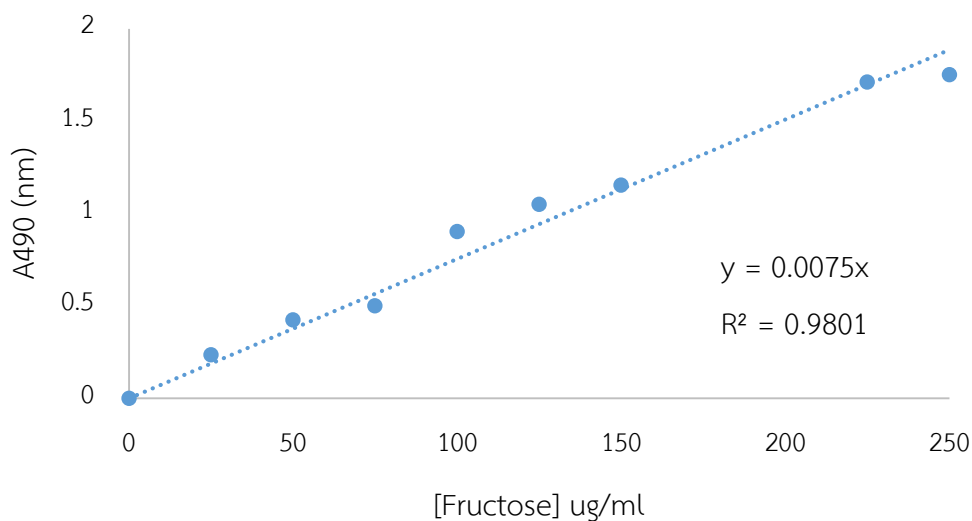
1.1. วิธีฟีนอล-กรดซัลฟูริก (Phenol-Sulfuric acid method)

สารเคมี

- 1) กรดซัลฟูริก
- 2) สารละลายฟีนอลเข้มข้นร้อยละ 5
- 3) สารละลายมาตรฐานน้ำตาลฟรุคโตสความเข้มข้น 0-250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

วิธีการ

- 1) เจือจางน้ำหอมแดงสกัดให้เหมาะสม
- 2) ปิเปตสารละลายตัวอย่างมา 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองเติมสารละลายฟีนอลเข้มข้นร้อยละ 5 แล้วผสมให้เข้ากันด้วย vortex
- 3) เติมกรดซัลฟูริกปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากันด้วย vortex จับเวลา 10 นาที
- 4) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณปริมาณน้ำตาลทั้งหมดจากกราฟมาตรฐานฟรุคโตส
- 5) สร้างกราฟมาตรฐานของน้ำตาลฟรุคโตสที่ความเข้มข้น 0-250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ 54 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลฟรุคโตสที่ความเข้มข้น 0-250 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

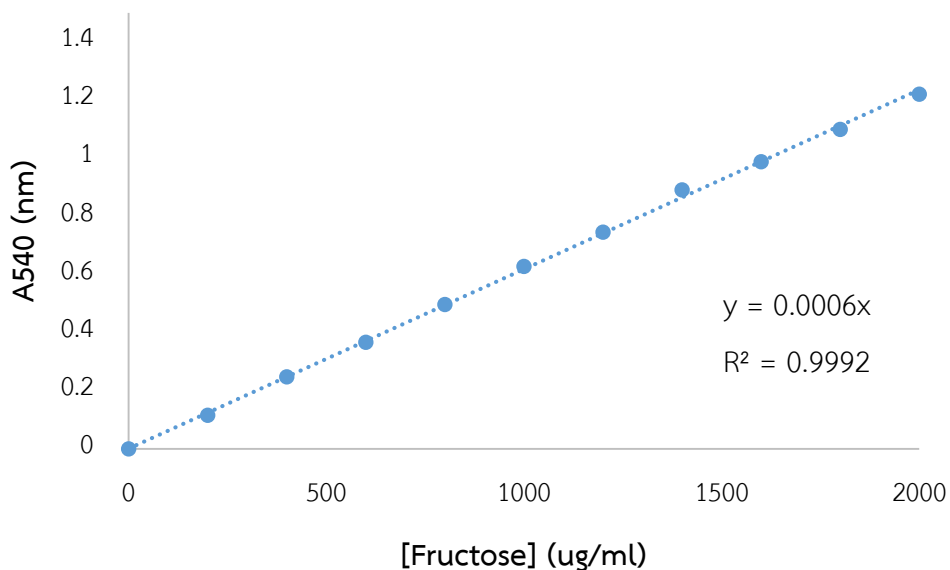
1.2. วิธี 3,5- ไดไนโตรซาลิไซลิก (Dinitrosalicylic colorimetric; DNS)

สารเคมี

- 1) สารละลาย DNS
- 2) สารละลายมาตรฐานน้ำตาลฟรุคโตสความเข้มข้น 0-2000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

วิธีการ

- 1) เจือจางน้ำหอมแดงสกัดให้เหมาะสม
- 2) ปิเปตสารละลายตัวอย่างมา 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองเติมสารละลาย DNS 0.5 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากันด้วย vortex
- 2) นำไปต้มในน้ำเดือด จับเวลา 15 นาที พักให้สารละลายเย็น เติมน้ำกลั่นปริมาตร 4.0 มิลลิลิตร ผสม ให้เข้ากันด้วย vortex
- 3) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณ ปริมาณน้ำตาล ทั้งหมดจากกราฟมาตรฐานฟรุคโตส
- 4) สร้างกราฟมาตรฐานของน้ำตาลฟรุคโตสที่ความเข้มข้น 0-2000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ 55 กราฟมาตรฐานของน้ำตาลฟรุกโตสที่ความเข้มข้น 0-2000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

1.3. เทคนิคโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography; HPLC) สารเคมี

- 1) Acetonitrile
- 2) HPLC water
- 3) Glucose, Fructose, Sucrose, Kestose, Nystose และ Fructofuranosyl nystose standard

วิธีการ

- 1) เตรียม mobile phase และ น้ำตาลมาตรฐาน
- 2) สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์
 - เครื่อง HPLC ยี่ห้อ Agilent Techies รุ่น 1260 Infinity II
 - เครื่องตรวจวัด: RID ; อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส
 - ปริมาณสาร: 20 ไมโครลิตร
 - Mobile phase: Acetonitrile: Water อัตราส่วน 75:25
 - Flow rate: 1 มิลลิลิตร/นาที
 - Column: amino ; อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

1.4. เทคนิคโครมาโตกราฟีแบบเยื่อบาง (Thin Layer Chromatography; TLC)

สารเคมี

- 1) Butanol
- 2) Ethanol
- 3) Methanol
- 4) Sulfuric acid
- 5) Distilled water
- 6) Mix standard (Glucose, Fructose, Sucrose, Kestose, Nystose และ Fructofuranosylnystose)
- 7) TLC plate

วิธีการ

- 1) เจือจางตัวอย่างด้วยความเข้มข้นที่เหมาะสม หยดตัวอย่างและ น้ำตาลมาตรฐานลงบน TLC plate ในระยะห่างที่เท่าๆกัน
- 2) จุ่ม TLC plate ใน chamber ที่บรรจุ mobile phase (Butanol:ethanol:water ในอัตราส่วน 5:3:2) ปิดฝาและทิ้งไว้จนกว่า mobile phase จะเคลื่อนเต็ม TLC plate
- 3) นำออกมาผึ่งให้แห้งสนิท จุ่มลงในสารละลาย 5% Sulfuric acid ในเมทานอล
- 4) อบที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที
- 4) บันทึกผลการทดลองจากแถบสีด่างที่เกิดขึ้น เทียบกับน้ำตาลมาตรฐาน

2. วิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS (2, 2'-azono-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid diammonium salt)

สารเคมี

- 1) ABTS
- 2) Potassium persulfate
- 3) Ascorbic acid
- 4) Tocopherol
- 5) Beta hydroxyl acid (BHA)

วิธีการ

- 1) เตรียมสารละลาย ABTS ความเข้มข้น 14 มิลลิโมลาร์ และสารละลาย Potassium persulfate 1.32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
- 2) ผสมสารละลาย ABTS และสารละลาย Potassium persulfate ในอัตราส่วน 1:1 ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 12 ชั่วโมง ก่อนนำไปใช้
- 3) เจือจางสารละลาย ABTS⁺ ด้วยน้ำกลั่นให้มีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.700 ± 0.005 ที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร
- 4) เตรียมตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร ลงในคววาทที่มีสารละลาย ABTS⁺ 990 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 1 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร
- 5) คำนวณค่าร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระ (%scavenging activity) หรือหรือเปรียบเทียบกับค่าได้กับกราฟมาตรฐานของ Ascorbic acid Tocopherol และ Beta hydroxyl acid (BHA)

$$\% \text{scavenging activity} = \frac{(A_0 - A_1)}{A_0} \times 100$$

3. วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม โดยใช้ Folin-Ciocalteu reagent

สารเคมี

- 1) 2% Sodium carbonate
- 2) Folin reagent 10x

วิธีการ

- 1) เตรียมตัวอย่างน้ำหอมแดงสกัด 0.1 มิลลิลิตร เติมสารละลาย Folin reagent 10x ปริมาตร 0.75 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
- 2) เติม 2% Sodium carbonate ปริมาตร 0.75 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 45 นาที ในที่มืด นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร
- 3) คำนวณค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมทั้งหมด (Total phenolic compound) โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ gallic acid

4. วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนที่ละลายได้โดยวิธี Bradford

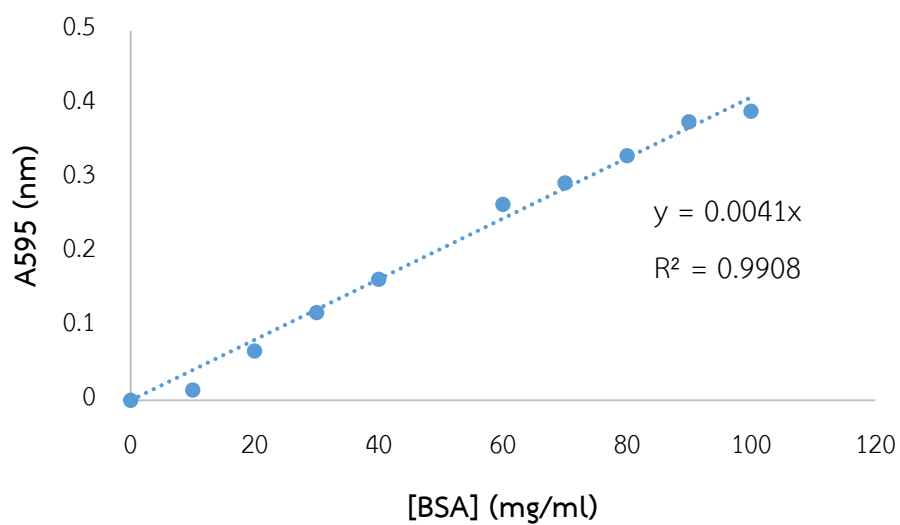
สารเคมี

- 1) สารละลาย Tis-HCl ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.5 สารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.9
- 2) สารละลายมาตรฐานของ Bovine serum albumin (BSA)
- 3) สารละลายแบรตฟอร์ด (Bradford reagent) เตรียมโดยชั่ง Brilliant Blue G-250 300 มิลลิกรัม

นำไปละลายในเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 150 มิลลิลิตร เติมกรดฟอสฟอริกเข้มข้นร้อยละ 85 ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่นแล้วกรองด้วยกระดาษเบอร์ 1

วิธีการ

- 1) เจือจางน้ำหอมแดงสกัดให้เหมาะสม ปิเปิดตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร ลงในบิวเรต
- 2) เติมสารละลายแบรตฟอร์ด (Bradford reagent) 0.9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จับเวลา 15 นาที
- 3) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณปริมาณโปรตีนที่ละลายได้จากกราฟของสารละลายมาตรฐานของ Bovine serum albumin (BSA)
- 4) สร้างกราฟมาตรฐานของสารละลาย Bovine serum albumin (BSA) ที่ความเข้มข้น 0-100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาพที่ 56 กราฟมาตรฐานของสารละลาย Bovine serum albumin (BSA) ที่ความเข้มข้น 0-100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



ภาคผนวก ค

การเตรียมและวิธีวิเคราะห์เอนไซม์อินเวอร์เทส

สารเคมี

- 1) Sodium citrate
- 2) Citric acid
- 3) Sucrose standard
- 4) Invertase enzyme

วิธีการ

- 1) เตรียมสารละลาย sodium citrate buffer pH 4.5
สารละลาย A : 0.05 M citric acid
สารละลาย B : 0.05 M sodium citrate
- 2) ตัวอย่างที่เจือจางเหมาะสม ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เติมเอนไซม์ 1%invertase ป่มใน water bath ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที
- 3) หยุดปฏิกิริยาโดยการต้มหรือแช่น้ำแข็งทันที
- 4) วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยใช้ DNS method

กำหนดให้ เอนไซม์อินเวอร์เทส 1 ยูนิต คือ เอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายน้ำตาลซูโครสได้ 1 μ M ในเวลา 1 นาที ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	เปรมฤทัย ผ่านสอาด
เกิดเมื่อ	11 สิงหาคม 2538
ประวัติการศึกษา	พ.ศ.2554-2556 มัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนกุศดัมภ์วิทยา จังหวัดชัยภูมิ พ.ศ.2557-2560 วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่

