รหัสโครงการ SUT3-305-53-12-33

รายงานการวิจัย

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากการหมักผลเชอร์รี่เปรี้ยว
(Biosurfactant from sour cherry (*Prunus cerasus* L.) conventional fermentation)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

รหัสโครงการ SUT3-305-53-12-33

รายงานการวิจัย

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากการหมักผลเชอร์รี่เปรี้ยว (Biosurfactant from sour cherry (*Prunus cerasus* L.) conventional fermentation)

คณะผู้วิจัย

หัวหน้าโครงการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปิยะวรรณ กาสลัก

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ผู้ร่วมวิจัย

ดร. รัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ปีงบประมาณ พ.ศ. 2553

ผลงานวิจัยเป็นความรับผิดชอบของหัวหน้าโครงการวิจัยแต่เพียงผู้เดียว

2553

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ผู้มอบทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีปีงบประมาณ พ.ศ. 2553 ที่ทำให้โครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี รวมทั้งขอบคุณหน่วยงานอาคารศูนย์เครื่องมือ 1 และอาคารศูนย์เครื่องมือ 3 ที่อนุเคราะห์สถานที่ในการวิจัยทดลอง ตลอดจนศูนย์บรรณสารและสื่อการศึกษามหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ซึ่งเป็นแหล่งให้ข้อมูลประกอบงานวิจัยและเอกสารอ้างอิงต่างๆ เพื่อจัดทำรายงานการวิจัยเล่มนี้ให้ลุล่วงสำเร็จไปได้ด้วยดี

ผศ.ดร.ปิยะวรรณ กาสลัก

29 เมษายน 2554

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อ

การหมักสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากผลเชอร์รี่เปรี้ยวทั้ง 4 อัตราส่วนเป็นเวลา 3 เดือน พบว่าค่าสี L a และ b มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ($p>0.05$) เมื่อทำการหมักผ่านไปในเดือนที่ 3 น้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:1 มีปริมาณ phenolic Flavonoids และ Antioxidant capacity เพิ่มขึ้นสูงที่สุด ($p<0.05$) เนื่องจากมีอัตราส่วนของเชอร์รี่สูงที่สุด รองลงมาคืออัตราส่วน 1:2 1:3 และ 1:4 ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักได้แก่ สารหนู แคดเมียม ปรอท และตะกั่ว พบว่าน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:3 มีปริมาณโลหะหนักน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหมักเชอร์รี่ในอัตราส่วนอื่นๆ เมื่อวิเคราะห์สารระเหยที่ให้กลิ่นโดยวิธี Gas chromatography - mass spectrometry พบว่าในระหว่างการหมักน้ำหมักเชอร์รี่ทุก 4 อัตราส่วน ให้สารประกอบในกลุ่ม Hydrocarbon, Alcohol, Acid and esters, Aldehyde และ Miscellaneous น้ำหมักเชอร์รี่ทุกชุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 3 ของการหมัก มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดและปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกเพิ่มขึ้นถึงช่วง 8 log cfu/ml จนกระทั่งการหมักเชอร์รี่ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 3 จนถึง 3 เดือน ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกเริ่มลดลง เมื่อพิจารณาจากปริมาณโลหะหนักพบว่าอัตราส่วน 1:3 มีปริมาณโลหะหนักน้อยที่สุด ดังนั้นจึงเลือกอัตราส่วน 1:3 ไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์โดยให้ผลการทดลองคือ มีค่า MIC (Minimal Inhibitory Concentration) ของเชื้อ *E. coli* *Salmonella* sp. *S. aureus* และ *B. cereus* เท่ากับ 25 25 6.25 และ 1.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และค่า MBC (Minimal Bactericidal Concentration) เท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร การวิเคราะห์ประเภทของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากน้ำหมักเชอร์รี่ พบว่ามีความเป็น Nonionic เท่ากับ 0.30 กรัมต่อ 100 กรัม ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่หมักโดยผลเชอร์รี่จัดเป็นพวกที่ไม่มีประจุไฟฟ้า ตรงที่เป็นโมเลกุลที่ไม่มีประจุ โดยมีพวก polyether หรือ polyhydroxyl เป็นกลุ่มที่แสดงคุณสมบัติในการชะล้าง เหมาะสำหรับใช้เป็นผงซักฟอก น้ำยาล้างถ้วยชาม ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดพื้นผิว

ABSTRACT

Four different ratios of flesh of sour cherry and water (1:1, 1:2, 1:3 and 1:4) were fermented for 3 months to observe the development of their biosurfactances. Increases in the L, a and b color values ($p>0.05$) were observed in all 4 samples. Highest flavonoids and antioxidant capacity was found in the sample of ratio 1:1 then decreasing orderly. These might depend directly on the proportion of the flesh of the cherry in the sample. As heavy metals: arsenic, cadmium, mercury and lead were least detected in the sample of ratio 1:3. Gas chromatography-mass spectrometry analysis on volatile aroma showed that hydrogen compound, such as alcohol, acid, esters, aldehyde etc. were detected in all samples on the 3rd week of fermentation. Number of viable cell and lactic acid bacteria were increased to the level of 8 Log cfu/ml. Least amount of heavy metals was found in the sample of ratio 1:3 decreasing. MBC (Minimal Bactericidal Concentration) was 50 mg/ml and MIC (Minimal Inhibitory Concentration) against *E.coli*, *Salmonella* sp., *S.aureus* and *B.cereus* were 25, 25, 6.25 and 1.56 mg/ml respectively. The result from analysis of surfactance type revealed the nonionic type of polyether or polyhydroxy out of 0.3 gm/100g, the type suitable to be used as detergents.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	1
วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	1
ขอบเขตของโครงการวิจัย	2
สมมติฐานและกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย	2
การทบทวนวรรณกรรม	2
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย	4
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย	5
การคัดเลือกอัตราส่วนน้ำหมักเชอร์รี่ที่เหมาะสมสำหรับการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้ง การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์	5
การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของน้ำหมักเชอร์รี่เปรี้ยว	10
บทที่ 3 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลและอภิปรายผล	12
บทที่ 4 บทสรุปและข้อเสนอแนะ	32
บรรณานุกรม	34
ภาคผนวก	37
ประวัติผู้วิจัย	51

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	สัดส่วนการทำน้ำหมักเชอร์รี่ต่อปริมาตรสุทธิ 6 ลิตร	5
2	ผลการวิเคราะห์โลหะหนักโดยวิธี ICP-MS	17
3	ชนิดของสารกลุ่ม Hydrocarbon ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:1	18
4	ชนิดของสารกลุ่ม Alcohol ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:1	19
5	ชนิดของสารกลุ่ม Acid และ esters ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:1	20
6	ชนิดของสารกลุ่ม Aldehyde ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:1	21
7	ชนิดของสารกลุ่ม Hydrocarbon ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:2	22
8	ชนิดของสารกลุ่ม Alcohol ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:2	22
9	ชนิดของสารกลุ่ม Acid และ esters ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:2	23
10	ชนิดของสารกลุ่ม Acids และ esters ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:2	23
11	ชนิดของสารกลุ่ม Miscellaneous ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:2	24
12	ชนิดของสารกลุ่ม Hydrocarbon ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:3	24
13	ชนิดของสารกลุ่ม Alcohol ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:3	25
14	ชนิดของสารกลุ่ม Acids และ esters ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:3	25
15	ชนิดของสารกลุ่ม Miscellaneous ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:3	26
16	ชนิดของสารกลุ่ม Hydrocarbon ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:4	26
17	ชนิดของสารกลุ่ม Alcohol ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:4	27
18	ชนิดของสารกลุ่ม Acids และ esters ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:4	28
19	ชนิดของสารกลุ่ม Miscellaneous ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:4	28
20	สรุปชนิดของสารระเหยที่ให้กลิ่นในน้ำหมักเชอร์รี่ที่พบในเดือนที่ 1 และ 3 ของการหมัก	29
21	ปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรค ยีสต์ และรา ในน้ำหมักเชอรี่เปรี้ยวที่หมักเป็นเวลา 3 เดือน	31

สารบัญภาพ

รูปที่		หน้า
1	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าสี L (Lightness) กับระยะเวลาการหมักสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากผลเชอร์รี่เปรี้ยว	12
2	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าสี a กับระยะเวลาการหมักสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากผลเชอร์รี่เปรี้ยว	13
3	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าสี b กับระยะเวลาการหมักสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากผลเชอร์รี่เปรี้ยว	13
4	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ Total Phenolics Content (TPC) กับระยะเวลาการหมักสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากผลเชอร์รี่เปรี้ยว	14
5	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ Total Flavonoids กับระยะเวลาการหมักสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากผลเชอร์รี่เปรี้ยว	15
6	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ Total antioxidant capacity กับระยะเวลาการหมักสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากผลเชอร์รี่เปรี้ยว	15
7	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ Total antioxidant capacity กับระยะเวลาการหมักสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากผลเชอร์รี่เปรี้ยวในเดือนที่ 1-3	16
8	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า pH กับระยะเวลาการหมักสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากผลเชอร์รี่เปรี้ยว	17
9	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดกับระยะเวลาการหมักสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากผลเชอร์รี่เปรี้ยว	30
10	กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแบคทีเรียแลคติกกับระยะเวลาการหมักสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากผลเชอร์รี่เปรี้ยว	30

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

จากปัญหาสิ่งแวดล้อมซึ่งกลายเป็นปัญหาของโลกปัจจุบัน ที่เกิดจากการใช้สารบางอย่างโดยมีผลกระทบต่อสภาพแวดล้อมและก่อให้เกิดอันตรายต่อมนุษย์ การผลิตน้ำสกัดชีวภาพ เพื่อใช้เป็นสารทำความสะอาดทดแทนการใช้สารทำความสะอาดที่ผลิตโดยการใช้สารเคมี ก็เป็นวิธีหนึ่งที่กำลังได้รับความสนใจ เนื่องจากปริมาณการใช้สารทำความสะอาดมีปริมาณสูง ทั้งในกระบวนต่างๆ ของโรงงานอุตสาหกรรมและในชีวิตประจำวันของทุกครัวเรือน ไม่ว่าจะอยู่ในรูปของ สบู่ ยาสระผม ผงซักฟอก น้ำยาทำความสะอาดพื้น น้ำยาล้างจาน โดยผลิตภัณฑ์เหล่านี้มีส่วนประกอบของสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ (synthetic surfactant) ล้วนมีความเป็นพิษต่อธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม กระบวนการทำน้ำสกัดชีวภาพ เป็นการนำวัสดุเหลือใช้ประเภทผักและผลไม้มาทำให้ย่อยสลายด้วยวิธีการหมัก พบว่าสารสกัดจากผลไม้ในตระกูลพลัม (Plums) เช่น เชอร์รี่ สตรอเบอรี่ มะเขือเทศ เป็นต้น มีองค์ประกอบของแทนนิน สารประกอบฟีโนลิค และกรดแทนนิคสูง จึงมีความเหมาะสมสำหรับนำมาผลิตเป็นสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ เมื่อผ่านกระบวนการหมักในสภาพที่มีออกซิเจนเล็กน้อย (anaerobic condition) จุลินทรีย์จะทำหน้าที่ย่อยสลายสารประกอบไฮโดรคาร์บอนเหล่านั้นให้กลายเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำ และสารอินทรีย์อื่นๆ ที่ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิต รวมถึงการใช้เอนไซม์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติหรือมีการเติมเอนไซม์ เพื่อเร่งการย่อยสลายได้อย่างรวดเร็วยิ่งขึ้น ซึ่งเรียกว่า สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (Biosurfactant) ที่มีคุณสมบัติในการละลายคราบไขมันและยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ โดยกลไกการลดแรงตึงผิว ซึ่งเป็นสารที่ผลิตโดยจุลินทรีย์ ดังนั้นคณะผู้วิจัยเห็นว่าการนำน้ำสกัดชีวภาพมาใช้ทดแทนสารทำความสะอาดที่มีใช้อยู่ทั่วไป น่าจะช่วยในการละลายคราบไขมันที่ติดตามผิวภาชนะ ลดปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์และลดกลิ่นเหม็นจากสิ่งปนเปื้อนได้ ซึ่งเป็นทางเลือกหนึ่งที่ช่วยลดมลพิษจากสิ่งแวดล้อม และมีความสอดคล้องกับแผนยุทธศาสตร์การเสริมสร้างและพัฒนาทุนทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม เกี่ยวกับการบริหารจัดการและการใช้ประโยชน์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมอย่างยั่งยืน เหมาะสมกับการใช้ชีวิตแบบเศรษฐกิจพอเพียง

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1) เพื่อทดสอบประเภทของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากน้ำหมักเชอร์รี่
2) เพื่อทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

ขอบเขตของโครงการวิจัย

การนำผลเชอร์รี่เปรี้ยวมาทำการหมักด้วยจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในธรรมชาติ โดยศึกษาองค์ประกอบของสารเมทตาโบไลท์ของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (biosurfactant) ในกลุ่มที่มีความสามารถในการละลายได้ทั้งในน้ำและน้ำมัน (Amphoteric compound) และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ รวมถึงการบำบัดกลิ่นเหม็นจากคราบสกปรก

สมมติฐานและกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

การศึกษาวิจัยครั้งนี้ มีเป้าหมายในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (Biosurfactant) ให้มีประสิทธิภาพเพื่อนำมาใช้เป็นสารทำความสะอาดชีวภาพ ให้เทียบเท่ากับผลิตภัณฑ์ที่ใช้สารเคมีในการทำความสะอาดทั่วไป เช่น น้ำยาล้างจาน น้ำยาทำความสะอาดพื้น เป็นต้น เนื่องจากผลิตภัณฑ์โดยทั่วไปมีองค์ประกอบสำคัญที่คล้ายคลึงกัน กล่าวคือต้องมีสารลดแรงตึงผิว (surfactant) ซึ่งสามารถจับกับสิ่งสกปรกได้ โมเลกุลของสารประเภทนี้ ปลายหนึ่งจะจับกับโมเลกุลของน้ำได้ดี อีกปลายหนึ่งจะจับกับโมเลกุลของคราบไขมัน ทำให้คราบไขมันหลุดออกมาละลายในน้ำ เมื่อปล่อยน้ำล้างออกสู่สิ่งแวดล้อม จึงไม่ทำให้เกิดการเพิ่มหรือสะสมมลพิษในสิ่งแวดล้อม สารลดแรงตึงผิวชีวภาพผลิตจากกระบวนการหมัก โดยการนำผลไม้ประเภทพลัม เช่น เชอร์รี่เปรี้ยว (sour cherry) มาทำการหมักด้วยจุลินทรีย์ประจำถิ่นที่อยู่ในผลเชอร์รี่ ซึ่งมีความสามารถในการเจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน จุลินทรีย์จะทำหน้าที่ย่อยสลายสารอาหารในเชอรี่เปรี้ยว เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน วิตามินและแร่ธาตุต่างๆ ให้เป็นสารชีวโมเลกุล ที่มีคุณสมบัติเป็นสารลดแรงตึงผิว (surface-active substance) ซึ่งผลิตโดยจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ สารลดแรงตึงผิวนี้จะมีโครงสร้างเป็นแอมฟิฟิลิค (amphiphilic structure) ซึ่งประกอบด้วยส่วนที่ละลายในไขมัน (hydrophobic portion) และส่วนที่ละลายน้ำ (hydrophilic portion) ข้อดีของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพคือความสามารถในการย่อยสลายทางชีวภาพโดยไม่ทำลายสิ่งแวดล้อม บางชนิดมีคุณสมบัติในการบำบัดสภาพแวดล้อมที่มีการปนเปื้อนสารประกอบไฮโดรคาร์บอน ซึ่งใช้คุณสมบัติการเป็น hydrophobic ของผิวเซลล์จุลินทรีย์ (cell surface) ที่สามารถผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพได้ (Nadarajah, Singh & Ward, 2002; Neu, 1996) รวมถึงความสามารถในการลดการปนเปื้อนและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่เกาะติดที่พื้นผิวด้วย

การทบทวนวรรณกรรม

ปัจจุบันโรงงานอุตสาหกรรมส่วนใหญ่มีการใช้สารลดแรงตึงผิวที่มาจากสารสังเคราะห์ทางเคมี เพื่อใช้สำหรับทำความสะอาด ซึ่งสารประกอบเหล่านี้ย่อยสลายได้ยาก ทำให้เกิดสารเคมีตกค้างและส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม จึงมีการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (Biosurfactants)ที่มีความเป็นพิษน้อยเพื่อช่วยย่อยสลายสารเคมีดังกล่าวได้ (Bord oloi & Konwar, 2008; Monterio et al., 2007)

โดยทั่วไปสารลดแรงตึงผิวมี 4 ประเภท ได้แก่ (1) Anionic surfactant เป็นสารลดแรงตึงผิวที่ให้ประจุลบ ส่วนมากแสดงอยู่ในรูป carboxylate, sulfate, sulfonate หรือ phosphate สารลดแรงตึงผิวประเภทนี้ใช้มากในอุตสาหกรรมประเภทผงซักฟอก ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด น้ำยาล้าง ชาม เป็นต้น (2) Cationic surfactant เป็นสารลดแรงตึงผิวที่ให้ประจุบวก ส่วนมากมักจะเป็นพวก quaternary ammonium นิยมใช้ในน้ำยาปรับผ้านุ่ม ครีมนวดผม และผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับการจัดแต่งทรงผม เป็นต้น (3) Nonionic surfactant สารลดแรงตึงผิวประเภทนี้จะต่างจากสารลดแรงตึงผิวประเภท anionic และ cationic ตรงที่เป็นโมเลกุลที่ไม่มีประจุ โดยมีพวก polyether หรือ polyhydroxyl เป็นกลุ่มที่แสดงคุณสมบัติคล้ายพวกที่มีประจุ ใช้มากในผงซักฟอก น้ำยาล้างถ้วยชาม ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดพื้นผิว เป็นต้น (4) Amphoteric surfactant หรือ Zwitterions เป็นสาร ลดแรงตึงผิวที่ให้ได้ทั้งประจุบวกและลบ สารลดแรงตึงผิวประเภทนี้นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับผิวหรือผม ในปัจจุบันยังใช้น้อยกว่าสารลดแรงตึงผิวประเภทอื่น (Madsen et al., 2001)

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (Biosurfactants) มีโครงสร้างเป็นแบบแอมฟิฟิลิก (amphiphilic) ซึ่งประกอบด้วยส่วนที่ไม่มีขั้วหรือส่วนที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) และส่วนที่มีขั้วหรือส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic) โดยส่วนที่ไม่ชอบน้ำอาจจะเป็น long-chain fatty acids, hydroxy fatty acids หรือ α-alkyl-β-hydroxy fatty acids สำหรับส่วนที่ชอบน้ำอาจจะเป็น carbohydrate, amino acid, cyclic peptide, phosphate, carboxylic acid หรือ alcohol มีจุลินทรีย์หลายชนิดสามารถผลิตสารประกอบเหล่านี้ได้ ซึ่งประสิทธิภาพของสารลดแรงตึงผิววัดโดยการใช้ค่า critical micelle concentration (CMC) โดยเฉลี่ยแล้วค่า CMCs ของ biosurfactants จะมีค่าอยู่ระหว่าง 1 ถึง 200 mg/L และมีมวลโมเลกุลระหว่าง 500 ถึง 1500 Da (Deleu & Paquot, 2004; Healy, Devine & Murphy, 1996; Mulligan, 2005)

จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ ได้แก่ แบคทีเรีย *Bacillus* sp., *Lactobacillus* sp., *Streptococcus* sp. นอกจากนี้ยังอาจพบเชื้อรา ได้แก่ *Aspergillus niger*, *Pennicillium*, *Rhizopus* และยีสต์ ได้แก่ *Candida* sp. (Al-Araji1 et al., 2007; Cassidy & Hudak, 2001; Venturini, Oria & Blanco, 2002) สารเมทตาโบไลท์ที่จุลินทรีย์เหล่านี้ผลิตประกอบด้วย glycolipids, lipoaminoacids, lipopeptides, lipoproteins, lipopolysaccharides, phospholipids, monoglycerides และ diglycerides (Edwards, Lepo & Lewis, 2003; Monterio et al., 2007; Rodrigues et al., 2006) ซึ่งมีความเป็นพิษต่ำ มีความสามารถในการย่อยสลายสูง เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม ช่วยให้เกิดโฟม มีความเฉพาะเจาะจงสูง ทนต่ออุณหภูมิและสภาวะความเป็นกรดและด่าง และที่สำคัญสามารถนำของเหลือใช้จากอุตสาหกรรมมาเป็นวัตถุดิบในการผลิต เนื่องจากมีต้นทุนการผลิตต่ำ (Abouseoud et al., 2008; Deleu & Paquot, 2004; Joshi, Bharucha & Desai, 2008) มีคุณสมบัติในการเป็น emulsifying และ demulsifying รวมถึงมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ (Nitschke & Costa, 2007) มีความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรีย เชื้อราและไวรัส (Rodrigues et al., 2006) คุณสมบัติดังกล่าว สามารถนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สารลดแรงตึงผิวตาม

วัตถุประสงค์ของการใช้งานได้ นอกจากการนำไปใช้ประโยชน์ในการลดคราบสกปรกแล้ว ยังมีคุณสมบัติการเป็น antimicrobial จากงานวิจัยพบว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพสามารถต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ เช่น *Bacillus pumilis*, *Micrococcus flavus*, *M.luteus* และ *Mycobacterium smegmatis* สำหรับต้านเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Proteus vulgaris*, *Citrobacter freundii*, *Proteus mirabilis*, *Alcaligenes faecalis*, *Acetobacter calcoaceticus*, *Bordetella bronchiseptica*, *Klebsiella aerogenes* และ *Enterobacter cloacae* (Benincasa et al., 2004; Das, Mukherjee & Sen, 2008)

วัตถุดิบเหลือใช้จากอุตสาหกรรมประเภทผลไม้ ที่เหมาะสมในการนำมาผลิตสารทำความสะอาด มักเป็นผลไม้ที่มีรสเปรี้ยว เช่น เปลือกสับปะรด มะม่วง มะขาม มะยม เป็นต้น รวมถึงเชอรี่เปรี้ยว (sour cherry) เพราะเป็นแหล่งของสารประกอบฟีนอลต่างๆ เช่น chlorogenic acid, ferulic acid, gallic acid, caffeic acid, p-coumaric acid, salicylic acid, Tannic acid และ *trans*-cinnamic acid ซึ่งมีความสามารถในการเป็น antimicrobial (Chen & Chung, 2000; Chrzanowski et al., 2007; Kim et al., 2005) แอนโธไซยานิน (anthocyanins) ที่พบในเชอรี่เปรี้ยวเป็นสารประกอบฟีนอลิคที่เรียกว่า flavonoids และมีประสิทธิภาพในการเป็น antioxidant ได้ดี flavonoids ยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวก เช่น *Staphylococcus aureus* และแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *E. coli*, *P. vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* และ *Klebsiella pneumoniae* (Blando, Gerardi & Nicoletti, 2004; Bylka, Matlawska & Pilewski, 2004; Piccolella et al., 2008; Rauna et al ., 2000; Tural & Koca, 2008)

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

เพื่อนำผลงานวิจัยที่ได้ไปพัฒนาให้เกิดผลิตภัณฑ์สารทำความสะอาดชีวภาพ ที่มีประสิทธิภาพและสามารถผลิตได้ในเชิงพาณิชย์ รวมถึงการถ่ายทอดอบรมให้ความรู้แก่ชุมชนท้องถิ่น ให้สามารถผลิตสารทำความสะอาดชีวภาพ เพื่อใช้ทำความสะอาดทดแทนสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ได้ เพราะไม่ทำให้เกิดสารเคมีตกค้างและไม่เป็นการทำลายสิ่งแวดล้อม ซึ่งเป็นการใช้ประโยชน์ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อมอย่างยั่งยืน

<u>หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์</u>

หน่วยงานของรัฐและเอกชน ที่เกี่ยวข้อง เช่น องค์การบริหารส่วนท้องถิ่น สหกรณ์ร้านค้าของชุมชน ตลาดสด สถาบันการศึกษา ฟาร์มพืชผักผลไม้ เป็นต้น

บทที่ 2

วิธีดำเนินการวิจัย

วิธีดำเนินการวิจัย

การคัดเลือกอัตราส่วนน้ำหมักเชอร์รี่ที่เหมาะสมสำหรับการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้ง การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

การเก็บตัวอย่างและการเตรียมตัวอย่าง

งานวิจัยนี้ได้เลือกผลไม้รสเปรี้ยว ซึ่งได้แก่ เชอร์รี่สุก ชื่อวิทยาศาสตร์ *Prunus cerasus L*.เป็นตัวแทนในการศึกษา แบ่งหมักเชอร์รี่กับน้ำเป็นสี่อัตราส่วนดังนี้คือ 1:1 1:2 1:3 และ 1:4 ตามลำดับ โดยทุกอัตราส่วนจะเติมน้ำตาลความเข้มข้น 2 % (w/v) ซึ่งการเตรียมน้ำหมักในแต่ละอัตราส่วนจะเตรียมในปริมาณ 6 ลิตร (ตารางที่ 1) แล้วหมักในสภาวะปิดและไม่มีการเขย่า (standing close system fermentation)

ตารางที่ 1 สัดส่วนการทำน้ำหมักเชอร์รี่ต่อปริมาตรสุทธิ 6 ลิตร

อัตราส่วน	น้ำหนักเชอร์รี่ (กิโลกรัม)	น้ำหนักน้ำ (ลิตร)
1:1	3.0	3.0
1:2	2.0	4.0
1:3	1.5	4.5
1:4	1.2	4.8

การเก็บตัวอย่างส่วนใสของน้ำหมักสำหรับการวิเคราะห์จะเก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมงเป็นเวลา 3 วัน (0, 12, 24, 36, 48, 60, 72) หลังจากนั้นจะเก็บตัวอย่างสัปดาห์ละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 3 สัปดาห์

การวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำหมักเชอร์รี่ทางกายภาพ มีดังนี้

1. การวิเคราะห์ค่าสี ด้วยวิธี Minolta Colorimeter

เก็บตัวอย่างส่วนใสของน้ำหมักแต่ละอัตราส่วนตามระยะเวลาที่กำหนดใส่ flask ขนาด 250 มิลลิลิตร 4 flask ตามแต่ละอัตราส่วน หลังจากนั้นนำไปวัดค่าสี ด้วยระบบ Hunter L , a , b โดยบรรจุน้ำหมักเชอร์รี่ตัวอย่างปริมาตร 3-5 มิลลิลิตรลงในถ้วย (Cup) แล้ววัดค่าสีด้วยระบบ Hunter L, a, b โดยค่า L (Lightness) เป็นค่าแสดงความสว่าง คือมีค่าตั้งแต่ 0 แสดงความเป็นสีดำ ถึง 100 แสดงความเป็นสีขาว ค่า a ที่มีค่าเป็นบวก (+)แสดงความเป็นสีเขียวหรือมีค่าเป็นลบ (-) แสดงความเป็นสีแดง และค่า b ที่มีค่าเป็นบวก (+) แสดงความเป็นสีเหลืองหรือมีค่าเป็นลบ (-) แสดงความเป็นสีน้ำเงิน

การวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำหมักเชอร์รี่ทางเคมี มีดังนี้

1. การวิเคราะห์หาปริมาณ Total Phenolics Content (TPC) ตามวิธีของ Folin and Ciocalteu (Howard, L. R et al., 2000)

เก็บตัวอย่างส่วนใสของน้ำหมักแต่ละอัตราส่วนตามระยะเวลาที่กำหนดใส่ flask ขนาด 250 มิลลิลิตร 4 flask ตามแต่ละอัตราส่วน แล้วทำการเจือจางตัวอย่างด้วยน้ำกลั่น 10 เท่าในหลอดทดลอง ดูดสารที่ได้จากการเจือจาง 20 µl ผสมกับน้ำกลั่น 1.58 ml และ Folin reagent 100 µl ผสมให้เข้ากันแล้วตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ป้องกันไม่ให้สัมผัสแสง) เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นเติม Na_2CO_3 300 µl ผสมให้เข้ากันแล้วตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยควบคุมไม่ให้สัมผัสแสง หลังจากนั้นนำไปวัดค่า absorbance ที่ 765 nm ปริมาณฟีนอลสามารถวัดเทียบได้กับสารมาตรฐาน โดยใช้ gallic acid เป็นสารมาตรฐาน มีหน่วยวัดเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อตัวอย่างหนึ่งกรัม (mg GAE/g sample; GAE = Gallic acid Equivalent)

1.1 วิธีการเตรียมกราฟสารมาตรฐาน gallic acid

ปิเปตสารละลายมาตรฐาน (Stock 5 mg/ml) gallic acid ปริมาตร 10 20 30 40 50 µl ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำ 990 980 970 960 950 µl ตามลำดับ ผสมให้เข้ากัน หลังจากนั้นปิเปตสารละลายที่เตรียมได้ในแต่ละความเข้มข้นใส่หลอดทดลอง 20 µl เติม folin reagent 100 µl ผสมให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ 1-8 นาที (ป้องกันไม่ให้สัมผัสแสง) เติม Na_2CO_3 300 µl ผสมให้เข้ากันแล้วตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมงโดยไม่ให้สัมผัสแสง จากนั้นนำไปวัดค่า absorbance ที่ 765 nm

2. การวิเคราะห์หาปริมาณ Total Flavonoids (TF) ตามวิธีของ Folin and Ciocalteu (Howard, L. R et al., 2000)

เก็บตัวอย่างส่วนใสของน้ำหมักแต่ละอัตราส่วนตามระยะเวลาที่กำหนดใส่ flask ขนาด 250 มิลลิลิตร ปิเปตตัวอย่าง 250 µl เติมน้ำกลั่น 1.25 ml และเติม 5% $NaNO_2$ 75 µl ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ป้องกันไม่ให้สัมผัสแสง) 5 นาที หลังจากนั้นเติม 10 % ($AlCl_3$) 150 µl 1 M NaOH 0.5 ml และเติมน้ำกลั่น 275 µl ผสมให้เค้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที แล้วนำไปวัดค่า absorbance ที่ 510 nm ปริมาณ Flavonoids สามารถวัดเทียบได้กับสารมาตรฐาน โดยใช้ Catechin เป็นสารมาตรฐาน มีหน่วยวัดเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อตัวอย่างหนึ่งกรัม (mg CTC/g sample; CTC = Catechin)

2.1 วิธีการเตรียมกราฟมาตรฐาน Flavonoids

ปิเปตสารละลายมาตรฐาน catechin (Stock 5 mg/ml) ปริมาตร 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1 ml ลงในหลอดทดลองแต่ละหลอด เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรเป็น 5 ml. ส่วนหลอดควบคุมใช้ น้ำกลั่น 5 ml แทนแล้วเติมสารละลาย 5% $NaNO_2$ ปริมาตร 0.3 ml. ลงไป เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 5 นาทีจากนั้นเติมสารละลาย 10% $AlCl_3$ 0.3 ml เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้อีก 6 นาที นำมาเติมสารละลาย 1 M NaOH 2 ml เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

3. การวิเคราะห์หาปริมาณ Total antioxidant capacity (TAC) ด้วยวิธี Free radical 2,2-dipheynl- 1- picrylhydrazyl (DPPH) (Burda, S., and Oleszek, W. 2001)

เก็บตัวอย่างส่วนใสของน้ำหมักแต่ละอัตราส่วนตามระยะเวลาที่กำหนดใส่ flask ปิเปตตัวอย่าง 0.1 ml ใส่หลอดทดลอง เติม DPPH 1.90 ml ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ป้องกันไม่ให้สัมผัสแสง) 15 นาที ใช้ methanol เป็น blank โดยเติม methanol 0.1 ml ผสมกับ DPPH 1.90 ml สำหรับ blank ของตัวอย่าง ใช้ตัวอย่าง 0.1 ml ผสมกับ methanol 1.90 ml นำไปวัดค่า absorbance ที่ 515 nm ปริมาณ Total antioxidant capacity สามารถวัดเทียบได้กับสารมาตรฐาน โดยใช้ gallic acid เป็นสารมาตรฐาน มีหน่วยวัดเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรต่อตัวอย่างหนึ่งกรัม (mg GAE/g sample; GAE= gallic acid) ตามข้อ 2.1

3.1 วิธีการเตรียมกราฟสารมาตรฐาน gallic acid ปิเปตสารละลายมาตรฐาน (Stock 5 mg/ml) gallic acid ปริมาตร 10 20 30 40 50 µl ตามลำดับ ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำ 990 980 970 960 950 µl ตามลำดับ ผสมให้เข้ากันหลังจากนั้น ปิเปตสารละลายที่เตรียมได้ในแต่ละความเข้มข้นใส่หลอดทดลอง 20 µl เติม folin reagent 100 µl ผสมให้เข้ากันแล้วตั้งทิ้งไว้ 1-8 นาที (ห้ามโดนแสง) เติม Na_2CO_3 300 µl ผสมให้เข้ากันแล้วตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (ห้ามโดนแสง) เป็นเวลา 2 ชั่วโมงหลังจากนั้นนำไปวัดค่า absorbance ที่ 765 nm

4. การวิเคราะห์ค่า pH และ $^{\circ}$Brix

เก็บตัวอย่างส่วนใสของน้ำหมักแต่ละอัตราส่วนตามระยะเวลาที่กำหนดใส่ flask จากนั้นนำไปวัดค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter และวัดค่า $^{\circ}$Brix ด้วยเครื่อง Hand refractometer 0-32 $^{\circ}$

5. การวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนัก (As, Cd, Hg, Pb) ในตัวอย่างส่วนใสของน้ำหมักในเดือนที่ 3 โดยวิธี inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) ดัดแปลงจาก Kuria Ndung u. et al, (2004) โดยใช้สภาวะดังนี้

RF Power (W)	1250
Plasma gas flow (1 min^{-1})	13
Auxiliary gas flow (1 min^{-1})	0.75
Nebulizer gas flow (1 min^{-1})	0.85-0.95
Sample flow rate (µl min^{-1})	60

6. การวิเคราะห์สารระเหยที่ให้กลิ่นโดยใช้ Gas chromatography - mass spectrometry

นำน้ำหมัก 5 มิลลิลิตร ใส่ใน Headspace vial ขนาด 20 มิลลิลิตร ให้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาทีเพื่อให้เกิดดุลยภาพของการระเหย แล้วทำการสกัดสารระเหยที่ให้กลิ่นด้วย

Solid Phase Micro Extraction (SPME) ไฟเบอร์ชนิด 100 µm Polydimethylsiloxane โดยใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที จากนั้นสารระเหยที่อยู่บนไฟเบอร์จะถูกฉีดเข้าเครื่อง GC-MS โดยมีสภาวะการทดลองดังนี้

Column	DB-wax
Injection Mode	GC SPME
Read Bar Codes	Never
Required syringe	SPME Fiber
Agitator Temperature	70 °C
Sample Pre-Incubation Time	20 min. 0 sec.
Pre-Incubation Agitator Speed	500 rpm
Pre-Incubation Agitation Cycle	2 sec On, 4 sec Off
Fiber Depth From Bottom	25 mm
Extraction Time	20 min. 0 sec.
Injector	Front
Desorb Time	3 min. 0 sec.
Use Bakeout Station	No
GC Cycle Time	1 hr. 10 min. 0 sec.

7. การวิเคราะห์ประเภทของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากน้ำหมักเชอร์รี่

นำหมักเชอรี่อัตราส่วนที่เหมาะสมมาวิเคราะห์ประเภทของสารลดแรงตึงผิวโดยวิธีตามมาตรฐานของ มอก. 414-2542 (อ้างใน มอก. 2201-2547)

การทดสอบหาปริมาณสารลดแรงตึงผิวประเภทนอนไอออนิกและ/หรือแอมโฟเทริก

ชั่งตัวอย่างประมาณ 10 กรัม ให้ทราบมวลแน่นอนถึง 0.1 มิลลิกรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มล. เติมน้ำบริสุทธิ์ 10 มล. และสารละลายโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ 5 มล. แล้วนำไประเหยจนแห้งบนเครื่องอังไอน้ำเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น และเติมเอทานอล (ร้อยละ 95 โดยปริมาตร) 25 มล. นำไปทำให้ร้อน เป็นเวลา 5 นาที กรองส่วนที่ละลายในเอทานอลผ่านกระดาษกรองวัตแมนเบอร์ 42 หรือเทียบเท่า ลงในคอลัมน์ที่บรรจุด้วยเรซินผสมระหว่างแอนไอออนิกและแคตไอออนิกในอัตราส่วน 1:1 ปริมาณ 15 กรัม ล้างกระดาษกรองด้วยเอทานอล (ร้อยละ 95 โดยปริมาตร) 25 มล. จากนั้นเปิดจุกด้านล่างของคอลัมน์ปล่อยให้เอทานอลไหลลงมา ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มล. ที่ทราบมวลแล้ว เติมเอทานอล (ร้อยละ 95 โดยปริมาตร) 25 มล. 100 มล. ลงในคอลัมน์และปล่อยให้ไหลออกจนหมด นำสารละลายเอทานอลที่ได้ไประเหยให้แห้งบนเครื่องอังไอน้ำ แล้วนำส่วนที่ไม่ระเหย

ไปอบให้แห้งในตู้อบที่ควบคุมอุณหภูมิได้ที่ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นในเดซิกเคเตอร์ ชั่งหามวลของส่วนที่เหลือจากการอบแห้ง อบซ้ำจนได้มวลคงที่

ปริมาณสารลดแรงตึงผิวประเภทนอนไอออนิกหรือแอมโฟเทริก (ร้อยละโดยน้ำหนัก)
= (มวลที่เหลือจากการอบแห้ง×100)/มวลของตัวอย่าง

การทดสอบหาปริมาณสารลดแรงตึงผิวประเภทแอนไอออนิก

ชั่งตัวอย่างประมาณ 1 กรัม ให้ทราบมวลแน่นอรถึง 0.1 มก. ใส่ลงในขวดแก้วรูปกรวยขนาด 250 มล. เติมน้ำบริสุทธิ์ 50 มล. และสารละลายโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ 5 มล. แล้วนำไปต้มให้เดือดเป็นเวลา 2 นาที ด้วยความระมัดระวัง ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น เติมไดคลอโรมีเทน 15 มล. และสารละลายอินดิเคเตอร์ผสม 10 มล. นำไปไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานเบนซีโทเนียมคลอไรด์ พร้อมเขย่าแรงๆ จนถึงจุดยุติเมื่อชั้นของไดคลอโรมีเทนมีสีฟ้าอ่อน บันทึกปริมาตรของสารสารละลายมาตรฐานเบนซีโทเนียมคลอไรด์ที่ใช้

ปริมาณสารลดแรงตึงผิวประเภทแอนไอออนิก (ร้อยละโดยน้ำหนัก) = $(c_3 \times V_5 \times M_r)/(m_4 \times 10)$

เมื่อ c_3 = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเบนซีโทเนียมคลอไรด์ เป็นโมลต่อลูกบาศก์เดซิเมตร

V_5 = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานเบนซีโทเนียมคลอไรด์ที่ใช้ไทเทรต เป็นมิลลิลิตร

M_r = น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของสารลดแรงตึงผิวประเภทแอนไอออนิกในรูปของเกลือโซเดียมที่มีกลุ่มแอลคิลระหว่าง C8 – C18 เช่น โซเดียมแอลคิลซัลเฟต M_r = 302, โซเดียมแอลคิลเบนซีนซัลโฟเนต M_r = 362, โซเดียมแอลคิลอีเทอร์ซัลเฟต M_r = 412

m_4 คือมวลของตัวอย่าง เป็นกรัม

การวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำหมักเชอร์รี่ทางจุลชีววิทยา มีดังนี้

1. วิธีการตรวจหาปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (BAM, 2001)

1.1 ใช้ Pour plate technique โดยการปิเปตตัวอย่างที่ระดับความเจือจางต่างๆ กับปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อที่อบฆ่าเชื้อแล้ว ค่อย ๆ รินอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar ลงไปให้มีปริมาตรประมาณ 18-20 มิลลิลิตร ค่อย ๆ เขย่าให้ตัวอย่างและอาหารเลี้ยงเชื้อผสมกัน ทำซ้ำระดับความเจือจางละ 2 ซ้ำ คว่ำจานเพาะเชื้อนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง

1.2 คัดเลือกจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี นับจำนวนโคโลนีที่ปรากฏ

1.3 หาค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีที่นับได้ในแต่ระดับความเจือจางคูณด้วยค่า dilution factor ของระดับความเจือจางที่นับได้ คำนวณเป็นจำนวนโคโลนีต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร (cfu/ml)

2. วิธีการตรวจหาปริมาณแบคทีเรียแล็กติก (BAM, 2001)

2.1 ใช้วิธี Pour plate technique โดยการปิเปตตัวอย่างที่ระดับความเจือจางต่างๆ กัน ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อแล้วค่อย ๆ รินอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar ทำการเจือจางระดับความเข้มข้นของแบคทีเรียครั้งละ 10 เท่า คว่ำจานเพาะเชื้อนำไปบ่มใน anaerobic jar ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง

2.2 นับจำนวนโคโลนีเฉพาะที่สามารถสร้างบริเวณใส (clear zone) และอาหารเลี้ยงเชื้อรอบโคโลนีเปลี่ยนเป็นสีเหลือง

2.3 หาค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีที่นับได้ในแต่ละระดับความเจือจางคูณด้วยค่า dilution factor ของระดับเจือจางที่นับได้ คำนวณเป็นจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียแล็กติกต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร (cfu/ml)

การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของน้ำหมักเชอร์รี่เปรี้ยว

วิธีการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำหมักเชอร์รี่ในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคโดย วิธี Broth Dilution Method

การเตรียมแบคทีเรีย 4 ชนิดที่ใช้ในการทดสอบ

1. เขี่ยเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ ได้แก่ *Bacillus cereus, Escherichia coli, Staphylococcus aureus* และ *Salmonella* sp. ขีดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton agar (MHA) บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 18 - 24 ชม.

2. เขี่ยโคโลนีของแบคทีเรียทั้ง 4 ชนิด ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Muller Hinton broth (MHB) โดยเลือก single colony บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เขย่าที่ 180 rpm เป็นเวลา 18 - 24 ชม.

3. นำมาตกตะกอนเซลล์ โดย centrifuge ที่อุณหภูมิ 4 °C ความเร็วรอบ 10,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที

4. ดูดส่วนใสทิ้ง แล้วทำ suspension ของเชื้อแบคทีเรียที่ทดสอบด้วย 0.85% NaCl เจือจางเทียบความขุ่นเท่ากับ McFarland No.4 (จำนวนเซลล์ประมาณ 3×10^8 cfu/ml) แล้วเจือจางต่อด้วย 0.85% NaCl จนได้จำนวนแบคทีเรียประมาณ 10^6-10^7 cfu/ml

5. นำ suspension ของเชื้อแบคทีเรียที่ได้จาก 3.4 มาตรวจนับจำนวนโคโลนี โดยเกลี่ยบนอาหาร Plate Count agar (PCA) บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 18 - 24 ชม. แล้วคำนวณจำนวนโคโลนีเป็น cfu/ml

การเตรียมน้ำหมักเชอรี่ อัตราส่วนที่เหมาะสมเพื่อใช้ทดสอบ

ดูดส่วนใสของน้ำหมักเชอรี่อัตราส่วนที่เหมาะสมมา Centrifuge ที่อุณหภูมิ 4 °C ความเร็วรอบ 10,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที เพื่อตกตะกอนและเก็บส่วนใสไว้ทดสอบ โดยนำส่วนใสมาผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Broth (MHB) แบ่งหลอดทดลองออกเป็น 12 หลอด โดย

หลอดที่ 1 เป็นอาหาร MHB (Positive Control) หลอดที่ 2 เป็นน้ำหมักเชอร์รี่ที่ความเข้มข้นร้อยละ 100 (Negative Control) ส่วนหลอดที่ 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11 และ 12 เป็นอาหาร MHB ผสมน้ำหมักเชอร์รี่ที่ความเข้มข้นร้อยละ 50, 25, 12.5, 6.25, 3.12, 1.56, 0.78, 0.39, 0.19 และ 0.08 ตามลำดับ

ปิเปตเชื้อจุลินทรีย์ 1 มิลลิลิตรแต่ละชนิดลงในชุดการทดลองที่ 1-12 บ่มเชื้อ 37°C เป็นเวลา 18-24 ชม. สังเกตความขุ่นที่เกิดขึ้น หากชุดการทดลองใดไม่พบความขุ่นแสดงว่า หลอดทดลองนั้นที่ไม่พบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ จะเป็นความเข้มข้นที่สารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากน้ำหมักเชอร์รี่ที่มีความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ (Minimal Inhibitory Concentration; MIC) จากนั้นนำหลอดทดลองที่ไม่พบความขุ่นไปนับปริมาณเชื้อจุลินทรีย์โดยวิธี spread plate บนอาหาร Mueller Hinton Agar (MHA) หากหลอดทดลองใดที่สามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้ จะพบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์บนอาหารเลี้ยงเชื้อไม่เกิน 20 โคโลนี จะเป็นความเข้มข้นของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากน้ำหมักเชอร์รี่ที่มีความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้ร้อยละ 99 (Minimal Bactericidal Concentration; MBC)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

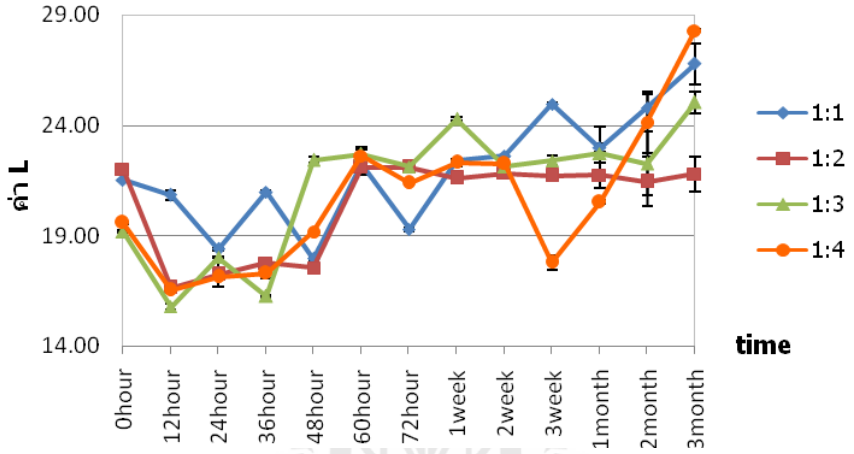
บทที่ 3
ผลการวิเคราะห์ข้อมูลและอภิปรายผล

การคัดเลือกอัตราส่วนน้ำหมักเชอร์รี่ที่เหมาะสมสำหรับการทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้ง การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

การเก็บตัวอย่างน้ำหมักเซอร์รี่เปรี้ยวสำหรับการวิเคราะห์จะเก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมงเป็นเวลา 3 วัน (0, 12, 24, 36, 48, 60, 72) หลังจากนั้นจะเก็บตัวอย่างสัปดาห์ละ 1 ครั้ง เป็นเวลา 3 สัปดาห์ และทุก 1 เดือนเป็นเวลา 3 เดือน ให้ผลการทดลองเป็นดังนี้

ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำหมักเซอร์รี่ทางกายภาพ

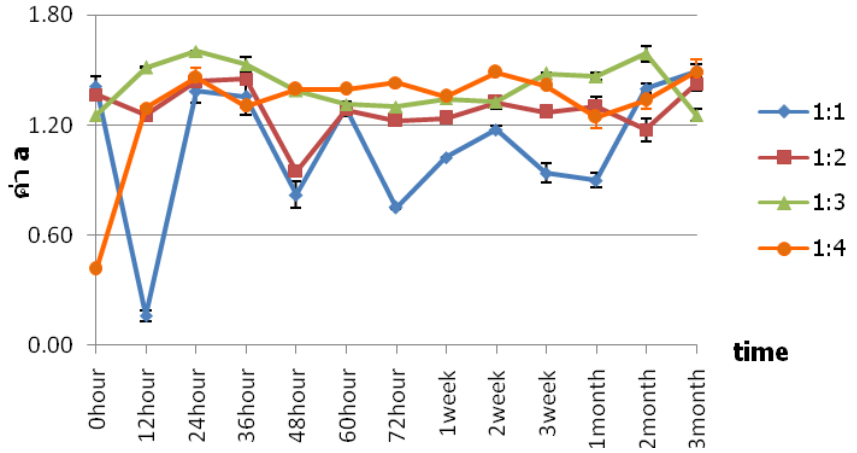
จากการวัดค่าสีค่าสี L a และ b ของน้ำหมักตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0 จนถึง 3 เดือน แสดงในรูปที่ 1 2 และ 3 พบว่าค่าสี L ในตัวอย่างน้ำหมักเซอร์รี่ทุกชุดการทดลองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)



รูปที่ 1 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าสี L (Lightness) กับระยะเวลาการหมักสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากผลเซอร์รี่เปรี้ยว

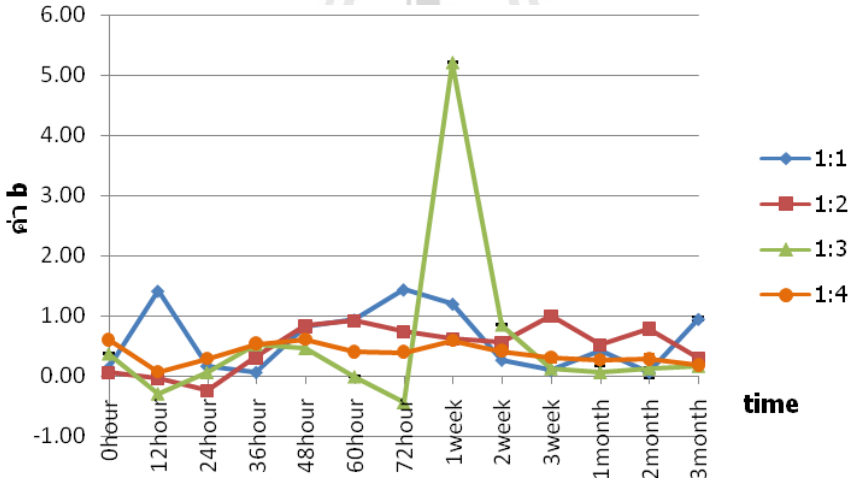
หมายเหตุ ค่า L (Lightness) เป็นค่าแสดงความสว่าง คือมีค่าตั้งแต่ 0 แสดงความเป็นสีดำ ถึง 100 แสดงความเป็นสีขาว

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี



รูปที่ 2 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าสี a กับระยะเวลาการหมักสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากผลเชอร์รี่เปรี้ยว

หมายเหตุ ค่า a ที่มีค่าเป็นบวก (+) แสดงความเป็นสีเขียวหรือมีค่าเป็นลบ (-) แสดงความเป็นสีแดง

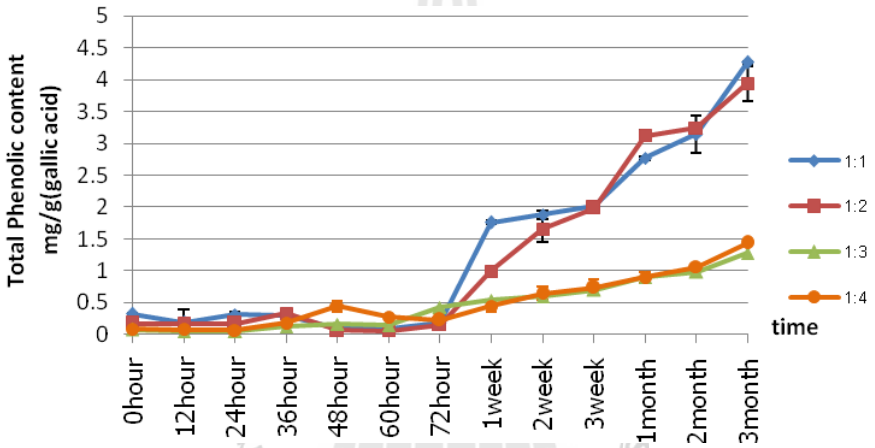


รูปที่ 3 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าสี b กับระยะเวลาการหมักสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากผลเชอร์รี่เปรี้ยว

หมายเหตุ ค่า b ที่มีค่าเป็นบวก (+) แสดงความเป็นสีเหลืองหรือมีค่าเป็นลบ (-) แสดงความเป็นสีน้ำเงิน

ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติของน้ำหมักเชอร์รี่ทางเคมี

การวิเคราะห์หาปริมาณ Total Phenolics Content (TPC) พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของสารฟีนอลลิคในชั่วโมงที่ 72 จนถึงเดือนที่ 3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (รูปที่ 4) เนื่องจากค่า pH ของสภาวะการหมักเริ่มลดลง ซึ่งอาจทำให้แบคทีเรียใช้เอนไซม์ใน deglycosylation path way ที่ทำงานได้ดีในสภาวะที่เป็นกรดและปริมาณแอลกอฮอล์ที่มากขึ้นในกระบวนการหมักเพื่อใช้ในการย่อยสับสเตรทที่เป็นสารกลุ่ม phenolic ในเชอร์รี่ได้มากขึ้นหรือแบคทีเรียบางชนิดในระบบสามารถสังเคราะห์สารกลุ่ม phenolic โดยใช้กรดอะซิติกหรือกรดมาโลนิคที่เป็นสารเมตาบอไลซ์ในระหว่างที่จุลินทรีย์มีการเจริญเป็นสับสเตรท ทำให้ได้ปริมาณสารฟีนอลลิคเพิ่มมากขึ้น (Luc J Martin and Chantal Matar, 2005) เมื่อเปรียบเทียบแต่ละชุดการทดลองพบว่าในช่วงหมักผ่านไป 3 เดือน อัตราส่วน 1:1 มีปริมาณ phenolic เพิ่มขึ้นสูงที่สุดเนื่องจากมีอัตราส่วนของเชอรี่สูงที่สุด รองลงมาคืออัตราส่วน 1:2 1:3 และ 1:4 ตามลำดับ

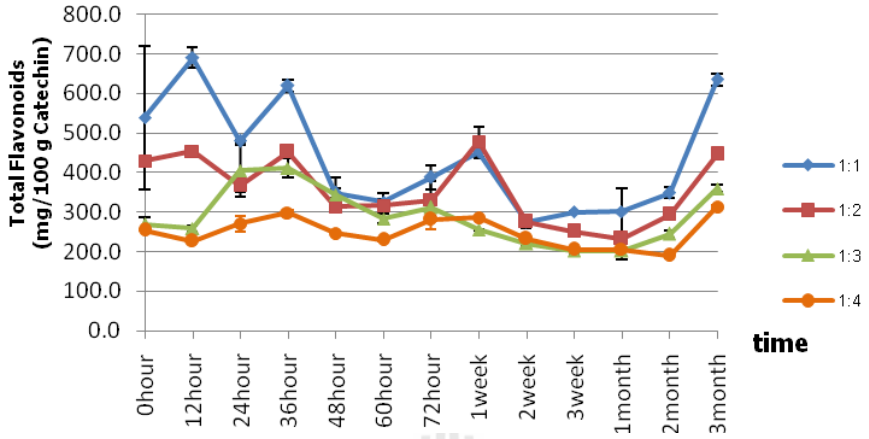


รูปที่ 4 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ Total Phenolics Content (TPC) กับระยะเวลาการหมัก

สารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากผลเชอร์รี่เปรี้ยว

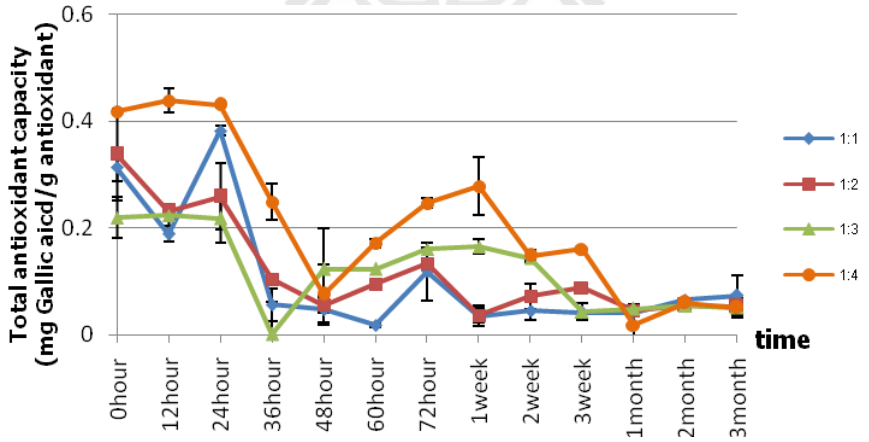
การวิเคราะห์หาปริมาณ Total Flavonoids (TF) โดยใช้ Catechin เป็นสารมาตรฐาน ดังแสดงในรูปที่ 5 พบว่าในการหมักในช่วงชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 72 มีปริมาณ Total Flavonoids ลดลงอย่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ทั้งนี้ในสภาวะของหมักในช่วงแรก ค่า pH ยังไม่ลดลงมาก เนื่องจากสารกลุ่ม Flavonoids จะไม่เสถียรภาพในสภาวะที่ค่า pH สูง (alkaline condition) แต่เมื่อการหมักผ่านไปตั้งแต่เดือนที่ 1 ถึงเดือนที่ 3 ทำให้ค่า pH ลดลงอย่างมาก ทำให้มีสภาวะเป็นกรดมากขึ้น (acid condition) สารกลุ่ม Flavonoids จึงมีความเสถียรมากขึ้น ส่งผลให้ปริมาณ Total Flavonoids เพิ่มขึ้น (R. Jayabalan et al, 2007) เมื่อเปรียบเทียบแต่ละชุดการทดลองพบว่าในช่วง

หมักผ่านไป 3 เดือน อัตราส่วน 1:1 มีปริมาณ Flavonoids เพิ่มขึ้นสูงที่สุดเนื่องจากมีอัตราส่วนของเชอรี่สูงที่สุด รองลงมาคืออัตราส่วน 1:2 1:3 และ 1:4 ตามลำดับ



รูปที่ 5 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ Total Flavonoids กับระยะเวลาการหมักสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากผลเชอร์รี่เปรี้ยว

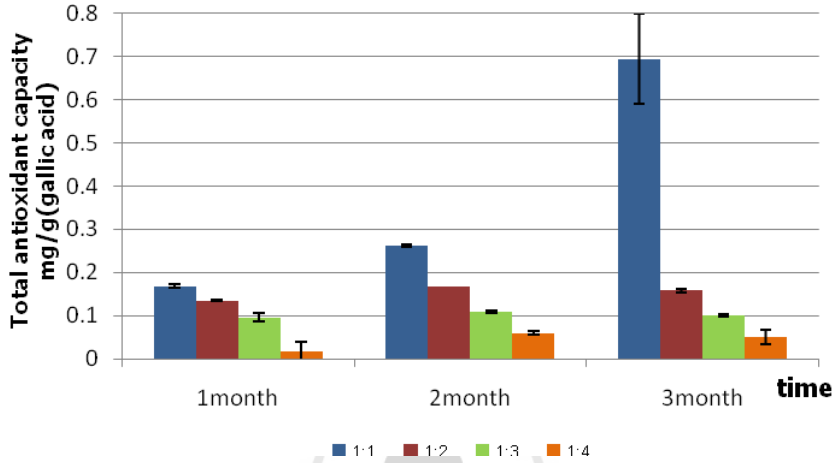
การวิเคราะห์หาปริมาณ Total antioxidant capacity พบว่าในน้ำหมักเชอรี่เปรี้ยวพบว่าทุกชุดการทดลองมีปริมาณ Total antioxidant capacity ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับชั่วโมงที่ 0 ดังแสดงในรูปที่ 6



รูปที่ 6 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ Total antioxidant capacity กับระยะเวลาการหมักสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากผลเชอร์รี่เปรี้ยว

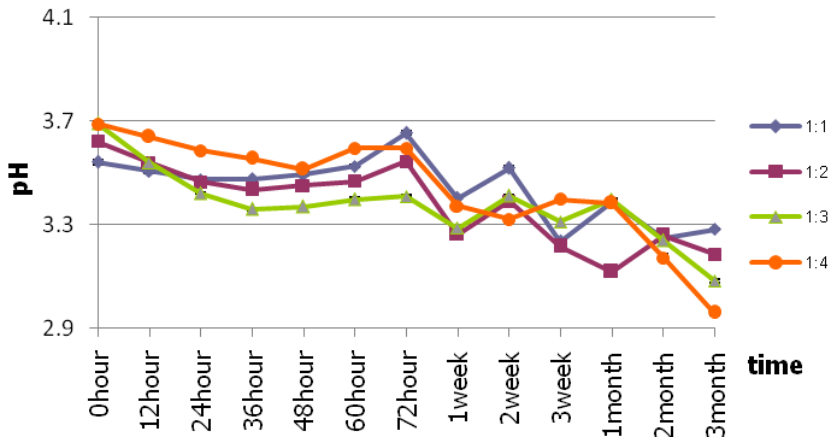
เมื่อพิจารณาปริมาณ Total antioxidant capacity จากการหมักเชอรี่เปรี้ยวในเดือนที่ 1 -3 พบว่ามีปริมาณ Total antioxidant capacity เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดัง

แสดงในรูปที่ 7 การที่ค่า Total antioxidant capacity เพิ่มขึ้นในช่วงเดือนที่ 1 – 3 ของ การหมักเป็นเพราะเนื่องจากสภาวะความเป็นกรด-ด่างที่ลดลงอย่างมาก ทำให้แบคทีเรียใช้เอนไซม์ขั้นตอนเมตาบอลิซึม deglycosylation path way ที่ทำงานได้ดีในสภาวะที่เป็นกรด ในการย่อยสับสเตรทที่เป็นสารกลุ่ม phenolic ได้มากขึ้น ทำให้ได้ปริมาณ antioxidant capacity เพิ่มมากขึ้น (Luc J Martin and Chantal Matar, 2005) เมื่อเปรียบเทียบชุดการทดลองพบว่า อัตราส่วน 1:1 มีปริมาณ antioxidant capacity เพิ่มขึ้นสูงที่สุดเนื่องจากมีอัตราส่วนของเชอรี่สูงที่สุด รองลงมาคืออัตราส่วน 1:2 1:3 และ 1:4 ตามลำดับ



รูปที่ 7 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณ Total antioxidant capacity กับระยะเวลาการหมัก สารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากผลเชอร์รี่เปรี้ยวในเดือนที่ 1-3

การวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) พบว่าในน้ำหมักเชอรี่เปรี้ยวพบว่าทุกชุดการทดลองมีค่า pH ลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับชั่วโมงที่ 0 ดังแสดงในรูปที่ 8 การที่น้ำหมักเชอรี่มีค่า pH ลดลง ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและแบคทีเรียแลคติกเพิ่มสูงขึ้นในระหว่างการหมัก ทั้งนี้เนื่องจากในกระบวนการหมักจะมีสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของ แบคทีเรียแลคติก (Lactic acid bacteria) ซึ่งจะมีปริมาณก๊าซออกซิเจนน้อยและมีสารอาหารที่แบคทีเรียแลคติกสามารถนำไป ใช้ได้โดยแบคทีเรียแลคติกจะใช้สารอาหารต่างๆ เช่น คาร์โบไฮเดรตโดยแหล่งคาร์โบไฮเดรต ได้แก่ น้ำตาล ในผลเชอรี่ แบคทีเรียแลคติกจะย่อยน้ำตาลกลูโคสในผลเชอรี่แล้วสร้างกรดแลคติกทำให้ปริมาณกรด แลคติกเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่า pH ลดลงในระหว่างการหมัก (สุมณฑา วัฒนสินธุ์, 2545)



รูปที่ 8 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่า pH กับระยะเวลาการหมักสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากผลเชอร์รี่เปรี้ยว

จากการวิเคราะห์ปริมาณโลหะหนักโดยวิธี ICP-MS (ตารางที่ 2) ซึ่งน้ำหมักเชอร์รี่ชีวภาพเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดชนิดเหลวสำหรับเครื่องใช้เด็กอ่อน (มอก. 2201-2547) ซึ่งรวมปริมาณโลหะหนักได้แก่ สารหนู แคดเมียม ปรอท และตะกั่ว ต้องไม่เกิน 5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ppm) ถ้าพิจารณาน้ำหมักเชอร์รี่ทั้ง 4 อัตราส่วนพบว่า ปริมาณโลหะหนักลดลงตามอัตราส่วนเชอร์รี่ แต่น้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:3 มีปริมาณโลหะหนักน้อยที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหมักเชอร์รี่ในอัตราส่วนอื่นๆ

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์โลหะหนักโดยวิธี ICP-MS

ตัวอย่างน้ำหมักเชอร์รี่	As (ppm)	Cd (ppm)	Hg (ppm)	Pb (ppm)
1:1	<0.0000	0.0089±0.009	0.8506±0.244	0.1271±0.016
1:2	<0.0000	0.0078±0.010	0.4619±0.115	0.0870±0.038
1:3	<0.0000	0.0030±0.021	0.4251±0.150	0.0398±0.019
1:4	<0.0000	0.0046±0.005	0.6669±0.086	0.1087±0.017

หมายเหตุ : As = สารหนู, Cd = แคดเมียม, Hg = ปรอท, Pb = ตะกั่ว

จากการวิเคราะห์สารระเหยที่ให้กลิ่นโดยวิธี Gas chromatography - mass spectrometry พบว่าในระหว่างการหมักน้ำหมักเชอร์รี่ทุก 4 ชุดการทดลองให้สารประกอบในกลุ่ม Hydrocarbon, Alcohol, Acid and esters, Aldehyde และ Miscellaneous ดังแสดงในตารางที่ 3-20 เนื่องจากแบคทีเรียแลคติกมีการใช้สารอาหารทำให้เกิดการหมักแบบ heterofermentative ทำให้ได้สารในกลุ่มต่างๆ มากมาย เช่น Hydrocarbon, Alcohol, Acid, esters, Aldehyde และ Miscellaneous

ตารางที่ 3 ชนิดของสารกลุ่ม Hydrocarbon ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:1

Aroma compound	Time												
	0 hr	12 hr	24 hr	36 hr	48 hr	60 hr	72 hr	1 week	2 week	3 week	1 month	2 month	3 month
Hydrocarbon													
3-Buten-2-one,4-(2,6,6, trimethyl Hexadecane)	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	+	+	+
Caryophyllene	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cyclohexasiloxane dodecamethyl	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Cyclooctene-3-(1 methyl ethenyl)	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cyclopentasiloxane decamethyl	-	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	-
Cyclophyllen	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Limonene	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Eicosane	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Hexadecane	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Limonene	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Megastigma -4,6-(z),8,(z) triene	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Nonadecane	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pentadecane	-	-	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-

หมายเหตุ : - หมายถึง ตรวจไม่พบกลิ่นในตัวอย่าง

+ หมายถึง ตรวจพบกลิ่นในตัวอย่าง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 4 ชนิดของสารกลุ่ม Alcohol ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:1

Aroma compound	Time												
	0 hr	12 hr	24 hr	36 hr	48 hr	60 hr	72 hr	1 week	2 week	3 week	1 month	2 month	3 month
Alcohol													
1-Hexanol	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1-Octanol-3-ol	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1-Octen-3-ol	+	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1-Pentanol	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	-
3-Octanol	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Octanol	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-
Ethanol	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Phenyl ethyl alcohol	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	-

หมายเหตุ : - หมายถึง ตรวจไม่พบกลิ่นในตัวอย่าง

+ หมายถึง ตรวจพบกลิ่นในตัวอย่าง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 5 ชนิดของสารกลุ่ม Acid และ esters ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:1

Aroma compound	Time												
	0 hr	12 hr	24 hr	36 hr	48 hr	60 hr	72 hr	1 week	2 week	3 week	1 month	2 month	3 month
Acids and esters													
1-Butanol-3-methyl acetate	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
4-Pentene-1-yl-acetate	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Acetic acid 2-phenyl ethyl ester	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Acetic acid hexyl ester	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+	+	+	+
Butanoic acid 4 pentenyl ester	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Butanoic acid-3-methyl-3-methyl-3-butenyl ester	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Decanoic acid ethyl ester	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Dodecanoic acid ethyl ester	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethyl aectate	+		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hexadecanoic acid ethyl ester	-	+	+	-	+	-	-	-	+	+	+	-	-
Hexadecanoic acid methyl ester	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hexadecanoic acid penteyl ester	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hexanoic acid 4 pentenyl ester	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
Hexanoic acid esthyl ester	-	-	+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Hexanoic aicd-3-methyl-2-butenyl ester	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Octanoic acid ethyl ester	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Octanoic acid ethyl ester	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : - หมายถึง ตรวจไม่พบกลิ่นในตัวอย่าง

+ หมายถึง ตรวจพบกลิ่นในตัวอย่าง

ตารางที่ 6 ชนิดของสารกลุ่ม Aldehyde ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:1

Aroma compound	Time												
	0 hr	12 hr	24 hr	36 hr	48 hr	60 hr	72 hr	1 week	2 week	3 week	1 month	2 month	3 month
Aldehyde													
Decanal	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hexanal,2,2,dimethyl	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Nonanal	-	-	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+
Miscellaneous													
Phenol 2,4 bis (1,1 dimethyl ethyl)	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-
Phenol 2,5 bis (1,1 dimethyl ethyl)	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	+	+

หมายเหตุ : - หมายถึง ตรวจไม่พบกลิ่นในตัวอย่าง

+ หมายถึง ตรวจพบกลิ่นในตัวอย่าง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 7 ชนิดของสารกลุ่ม Hydrocarbon ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:2

Aroma compound	Time												
	0	12	24	36	48	60	72	1	2	3	1	2	3

	hr	hr	hr	hr	hr	hr	hr	week	week	week	month	month	month
Hydrocarbon													
3-Buten-2-one,4-(2,6,6, trimethyl Hexadecane)	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-
Caryophyllene	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cyclohexasiloxane dodecamethyl	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Cyclopentasiloxane decamethyl	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Cyclophyllen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Limonene	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Eicosane	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+
Hexadecane	+	-	-	-	+	+		-	-	-	-	-	-
Limonene	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Megastigma -4,6-(E),8,(E) triene	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-
pentadecane	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Tetradecane	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
α-Farnesene	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : - หมายถึง ตรวจไม่พบกลิ่นในตัวอย่าง

+ หมายถึง ตรวจพบกลิ่นในตัวอย่าง

ตารางที่ 8 ชนิดของสารกลุ่ม Alcohol ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:2

Aroma compound	Time												
	0 hr	12 hr	24 hr	36 hr	48 hr	60 hr	72 hr	1 week	2 week	3 week	1 month	2 month	3 month
Alcohol													
1-Octen-3-ol	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1-Pentanol	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-Methyl oxrian-2-yl-methanol	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethanol	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Phenyl ethyl alcohol	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : - หมายถึง ตรวจไม่พบกลิ่นในตัวอย่าง

+ หมายถึง ตรวจพบกลิ่นในตัวอย่าง

ตารางที่ 9 ชนิดของสารกลุ่ม Acid และ esters ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:2

Aroma compound	Time												
	0	12	24	36	48	60	72	1	2	3	1	2	3

	hr	hr	hr	hr	hr	hr	hr	week	week	week	month	month	month
Acids and esters													
1-Butanol-3-methyl acetate	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Acetic acid 2-phenyl ethyl ester	-	-	-	+		-	-	-	-	-	-	-	-
Acetic acid dexyl ester	-	-	-		+	-	-	-	-	-	-	-	-
Butanoic acid-4-pentenyl ester	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Decanoic acid ethyl ester	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ethyl aectate	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hexadecanoic acid ethyl ester	+	-	+	-	+	+		+	-	+	+	-	-

หมายเหตุ : - หมายถึง ตรวจไม่พบกลิ่นในตัวอย่าง

+ หมายถึง ตรวจพบกลิ่นในตัวอย่าง

ตารางที่ 10 ชนิดของสารกลุ่ม Acids และ esters ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:2

Aroma compound	Time												
	0 hr	12 hr	24 hr	36 hr	48 hr	60 hr	72 hr	1 week	2 week	3 week	1 month	2 month	3 month
Acids and esters													
Hexanoic acid 4 pentenyl ester	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Isopentyl hexaoate		+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
n-Decanoic aicid	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
n-Hexanoic acid	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Octanoic acid ethyl ester	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Undecanoic acid ethyl ester	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : - หมายถึง ตรวจไม่พบกลิ่นในตัวอย่าง

+ หมายถึง ตรวจพบกลิ่นในตัวอย่าง

ตารางที่ 11 ชนิดของสารกลุ่ม Miscellaneous ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:2

Aroma compound	Time												
	0 hr	12 hr	24 hr	36 hr	48 hr	60 hr	72 hr	1 week	2 week	3 week	1 month	2 month	3 month

Miscellaneous													
Phenol 2,4 bis (1,1 dimethyl ethyl)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

หมายเหตุ : - หมายถึง ตรวจไม่พบกลิ่นในตัวอย่าง

+ หมายถึง ตรวจพบกลิ่นในตัวอย่าง

ตารางที่ 12 ชนิดของสารกลุ่ม Hydrocarbon ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:3

Aroma compound	Time												
	0 hr	12 hr	24 hr	36 hr	48 hr	60 hr	72 hr	1 week	2 week	3 week	1 month	2 month	3 month
Hydrocarbon													
3-Buten-2-one,4-(2,6,6, trimethyl Hexadecane)	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-
Caryophyllene	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cyclohexasiloxane dodecamethyl	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
Cyclopentasiloxane decamethyl	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
D-Limonene	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Eicosane	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	
Hexadecane	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-
Limonene	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Megastigma -4,6-(E),8,(E) triene	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-
pentadecane	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Tetradecane	-	+	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-
α-Farnesene	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : - หมายถึง ตรวจไม่พบกลิ่นในตัวอย่าง

+ หมายถึง ตรวจพบกลิ่นในตัวอย่าง

ตารางที่ 13 ชนิดของสารกลุ่ม Alcohol ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:3

Aroma compound	Time												
	0 hr	12 hr	24 hr	36 hr	48 hr	60 hr	72 hr	1 week	2 week	3 week	1 month	2 month	3 month
Alcohol													
1-Octen-3-ol	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1-Pentanol	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-Methyl oxrian-2-yl-methanol	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethanol	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Phenyl ethyl alcohol	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : - หมายถึง ตรวจไม่พบกลิ่นในตัวอย่าง

+ หมายถึง ตรวจพบกลิ่นในตัวอย่าง

ตารางที่ 14 ชนิดของสารกลุ่ม Acids และ esters ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:3

Aroma compound	Time												
	0 hr	12 hr	24 hr	36 hr	48 hr	60 hr	72 hr	1 week	2 week	3 week	1 month	2 month	3 month
Acids and esters													
1-Butanol-3-methyl acetate	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Acetic acid 2-phenyl ethyl ester	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acetic acid dexyl ester	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Butanoic acid-4-pentenyl ester	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Decanoic acid ethyl ester	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ethyl aectate	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hexadecanoic acid ethyl ester	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	-
Hexanoic acid 4 pentenyl ester	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
Isopentyl hexaoate	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
n-Decanoic aicid	-	-		+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
n-Hexanoic acid	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Octanoic acid ethyl ester	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Undecanoic acid ethyl ester	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : - หมายถึง ตรวจไม่พบกลิ่นในตัวอย่าง

+ หมายถึง ตรวจพบกลิ่นในตัวอย่าง

ตารางที่ 15 ชนิดของสารกลุ่ม Miscellaneous ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:3

Aroma compound	Time												
	0 hr	12 hr	24 hr	36 hr	48 hr	60 hr	72 hr	1 week	2 week	3 week	1 month	2 month	3 month
Miscellaneous													
Phenol 2,4 bis (1,1 dimethyl ethyl)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

หมายเหตุ : - หมายถึง ตรวจไม่พบกลิ่นในตัวอย่าง

+ หมายถึง ตรวจพบกลิ่นในตัวอย่าง

ตารางที่ 16 ชนิดของสารกลุ่ม Hydrocarbon ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:4

Aroma compound	Time												
	0 hr	12 hr	24 hr	36 hr	48 hr	60 hr	72 hr	1 week	2 week	3 week	1 month	2 month	3 month
Hydrocarbon													
3-Buten-2-one,4-(2,6,6, trimethyl Hexadecane)	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	-
Cyclohexasiloxane dodecamethyl	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cyclopentasiloxane decamethyl	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
D-Limonene	+	-	+	+	+	+	-	-	+		+	+	+
Eicosane	+	-		+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Megastigma -4,6- (E),8,(E) triene	+	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-
Tetradecane	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Undecane 4,7 dimethyl	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : - หมายถึง ตรวจไม่พบกลิ่นในตัวอย่าง

+ หมายถึง ตรวจพบกลิ่นในตัวอย่าง

ตารางที่ 17 ชนิดของสารกลุ่ม Alcohol ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:4

Aroma compound	Time												
	0 hr	12 hr	24 hr	36 hr	48 hr	60 hr	72 hr	1 week	2 week	3 week	1 month	2 month	3 month
Alcohol													
1-Hepane-3-ol	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1-Hexadecanol	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1-Octanol-3-ol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1-Pentanol	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3-Nonen-1-ol	-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethanol	-	-	-	+	+		+	-	+	-	-	-	-

หมายเหตุ : - หมายถึง ตรวจไม่พบกลิ่นในตัวอย่าง

+ หมายถึง ตรวจพบกลิ่นในตัวอย่าง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ตารางที่ 18 ชนิดของสารกลุ่ม Acids และ esters ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:4

Aroma compound	Time												
	0 hr	12 hr	24 hr	36 hr	48 hr	60 hr	72 hr	1 week	2 week	3 week	1 month	2 month	3 month
Acids and esters													
1-Butanol-3-methyl acetate	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-
Acetic acid 2-phenyl ethyl ester	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acetic acid dexyl ester	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Butanoic acid-4-pentenyl ester	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Decanoic acid ethyl ester	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ethyl aectate	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hexadecanoic acid ethyl ester	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	-
Hexanoic acid 4 pentenyl ester	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-
Isopentyl hexaoate	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-	-
n-Decanoic aicid	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-
n-Hexanoic acid	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Octanoic acid ethyl ester	-	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	-
Undecanoic acid ethyl ester	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : - หมายถึง ตรวจไม่พบกลิ่นในตัวอย่าง

+ หมายถึง ตรวจพบกลิ่นในตัวอย่าง

ตารางที่ 19 ชนิดของสารกลุ่ม Miscellaneous ที่พบในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:4

Aroma compound	Time												
	0 hr	12 hr	24 hr	36 hr	48 hr	60 hr	72 hr	1 week	2 week	3 week	1 month	2 month	3 month
Miscellaneous													
Phenol 2,4 bis (1,1 dimethyl ethyl)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Phenol 2,5 bis (1,1 dimethyl ethyl)	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ : - หมายถึง ตรวจไม่พบกลิ่นในตัวอย่าง

+ หมายถึง ตรวจพบกลิ่นในตัวอย่าง

ตารางที่ 20 สรุปชนิดของสารระเหยที่ให้กลิ่นในน้ำหมักเชอร์รี่ที่พบในเดือนที่ 1 และ 3 ของการหมัก

อัตราส่วน	Aroma compound									
	Hydrocarbon		Alcohol		Acid and Ester		Aldehyde		Miscellaneous	
	เดือนที่		เดือนที่		เดือนที่		เดือนที่		เดือนที่	
	1	3	1	3	1	3	1	3	1	3
1:1	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1:2	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
1:3	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
1:4	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+

หมายเหตุ : - หมายถึง ตรวจไม่พบกลิ่นในตัวอย่าง

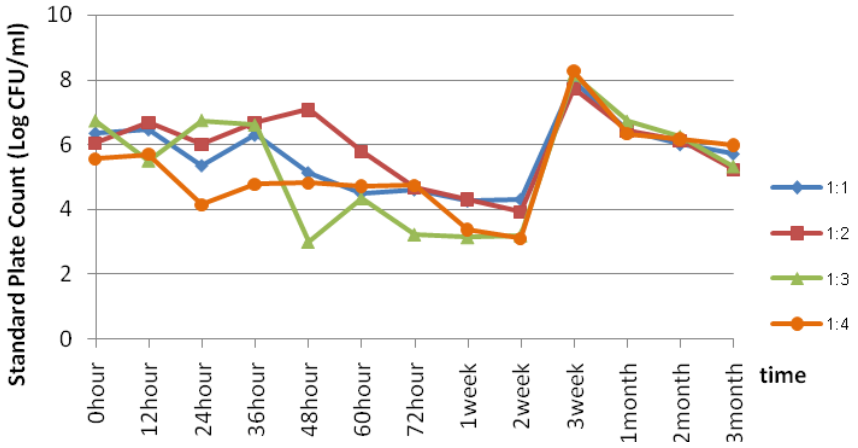
+ หมายถึง ตรวจพบกลิ่นในตัวอย่าง

การวิเคราะห์ประเภทของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากน้ำหมักเชอร์รี่

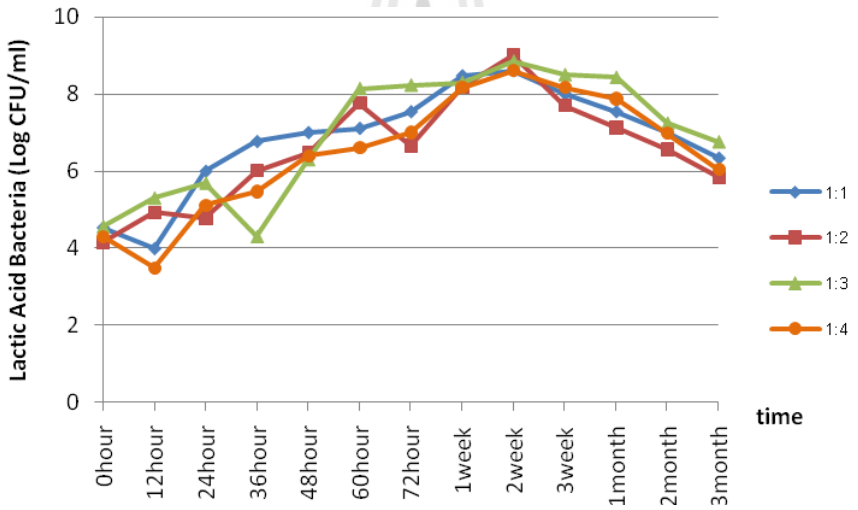
จากผลการวิเคราะห์ประเภทของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ทำการหมักโดยผลเชอร์รี่พบว่า มีความเป็น Nonionic เท่ากับ 0.30 กรัมต่อ 100 กรัม ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่หมักโดยผลเชอร์รี่จัดเป็นพวกที่ไม่มีประจุไฟฟ้า ตรงที่เป็นโมเลกุลที่ไม่มีประจุ โดยมีพวก polyether หรือ polyhydroxyl เป็นกลุ่มที่แสดงคุณสมบัติในการชะล้าง เหมาะสำหรับใช้เป็นผงซักฟอก น้ำยาล้างถ้วยชาม ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดพื้นผิว

ผลการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

จากการตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำหมักเชอร์รี่พบว่า น้ำหมักเชอร์รี่ทุก ชุดการทดลองในสัปดาห์ที่ 3 ของการหมักมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมดและปริมาณเชื้อแบคทีเรีย แลคติกเพิ่มขึ้นถึงช่วง 8 log cfu/ml ซึ่งเป็นช่วง Stationary phase ซึ่งเป็นระยะที่จุลินทรีย์จะมีจำนวนสูงสุดและคงที่ ไม่มีการเพิ่มจำนวนอีก อัตราการแบ่งเซลล์จะเท่ากับอัตราการตาย ทั้งนี้เนื่องจากสารอาหารถูกใช้ไปเกือบหมด และอาจมีการขับของเสียที่เป็นพิษออกมาจากกระบวนการ เมแทบอลิซึม หลังจากการหมักเชอร์รี่ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 3 จนถึง 3 เดือนพบว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกเริ่มลดลง ซึ่งเข้าสู่ช่วง Death phase ซึ่งเป็นระยะที่จุลินทรีย์ตายอย่างรวดเร็วและตายมากขึ้นจนสม่ำเสมอเป็น exponential หรือ logarithm สาเหตุการตายอาจเนื่องมาจากสารอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลล์หมดไป เกิดการสะสมของเสียและสารพิษที่เกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึม ดังแสดงในรูปที่ 9 และ 10



รูปที่ 9 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดกับระยะเวลาการหมักสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากผลเชอร์รี่เปรี้ยว



รูปที่ 10 กราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแบคทีเรียแลคติกกับระยะเวลาการหมักสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากผลเชอร์รี่เปรี้ยว

จากการวิเคราะห์คุณภาพของน้ำหมักเชอร์รี่ทุกอัตราส่วนพบว่า Total Phenolic, Total Flavonoids และ Total Antioxidant ในอัตราส่วน 1:1 และ 1:2 มีการเปลี่ยนแปลงที่สูงมากเมื่อเปรียบเทียบกับอัตราส่วน 1:3 และ 1:4 ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงไม่มากนัก เพราะเนื่องจากอัตราส่วน 1:1 และ 1:2 มีปริมาณเชอร์รี่มากเกินไป ทำให้จุลินทรีย์เข้าทำปฏิกิริยากับผิวของสับสเตรทเพื่อใช้เป็นแหล่งอาหารได้ยาก ส่งผลให้มีปริมาณส่วนใสน้อยและเข้มข้นมากเกินไป แต่อัตราส่วน 1:3 และ 1:4 เป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ซึ่งมีปริมาณน้ำและสับสเตรทที่เหมาะสม

ทำให้มีปริมาณส่วนใสที่มากพอที่จะนำไปใช้ต่อได้ เมื่อพิจารณาจากปริมาณโลหะหนักพบว่าอัตราส่วน 1:3 มีปริมาณโลหะหนักน้อยที่สุด ดังนั้นจึงเลือกอัตราส่วน 1:3 ไปทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในขั้นต่อไป

การทดสอบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ของน้ำหมักเชอร์รี่เปรี้ยว

การวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรคในน้ำหมักเชอรี่เปรี้ยวอัตราส่วน 1:3 ที่หมักเป็นเวลา 3 เดือน ไม่พบการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค ยีสต์ และรา ดังแสดงในตารางที่ 21

ตารางที่ 21 ปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรค ยีสต์ และรา ในน้ำหมักเชอรี่เปรี้ยวที่หมักเป็นเวลา 3 เดือน

ชุดการทดลอง	ชนิดของจุลินทรีย์				
	E. coli (MPN/ml.)	*Salmonella* sp. 25 ml.	*B. cereus*/ 25 ml.	*S. aureus* / 25 ml.	Yeast และ Mold/(cfu/ml.)
1:1	<3	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<30
1:2	<3	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<30
1:3	<3	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<30
1:4	<3	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	<30

จากการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำหมักเชอร์รี่ในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคโดยวิธี Broth Dilution Method พบว่าน้ำหมักเชอร์รี่มีค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli Salmonella* sp. *S. aureus* และ *B. cereus* เท่ากับ 25 25 6.25 และ 1.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ จากค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์พบว่า น้ำหมักเชอรี่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวก เนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบมีผนังเซลล์ที่ประกอบไปด้วยลิโพโพลีแซคคาไรด์ที่มีความบางกว่าแบคทีเรียแกรมบวกที่มีชั้นเปปติโดไกลแคนหนาถึง 20-80 นาโนเมตร จึงทำให้สารลดแรงตึงผิวสามารถเข้าทำลายผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวก ส่วนค่าความต่ำสุด (MBC) ที่สามารถทำลายเชื้อ *E. coli Salmonella* sp. *S. aureus* และ *B. cereus* คือ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

บทที่ 4
บทสรุป

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาวิจัยครั้งนี้มีเป้าหมายในการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพ (Biosurfactant) ให้มีประสิทธิภาพเพื่อนำมาใช้เป็นสารทำความสะอาดชีวภาพ ให้เทียบเท่ากับผลิตภัณฑ์ที่ใช้สารเคมีในการทำความสะอาดทั่วไป โดยการนำผลไม้เชอร์รี่เปรี้ยวมาทำการหมักด้วยจุลินทรีย์ประจำถิ่นที่อยู่ในผลเชอร์รี่ ซึ่งมีความสามารถในการเจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน จุลินทรีย์จะทำหน้าที่ย่อยสลายสารอาหารในเชอรี่เปรี้ยว เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน วิตามินและแร่ธาตุต่างๆ ให้เป็นสารชีวโมเลกุลที่มีคุณสมบัติเป็นสารลดแรงตึงผิว โดยแบ่งหมักเชอร์รี่กับน้ำเป็นสี่อัตราส่วนดังนี้คือ 1:1 1:2 1:3 และ 1:4 ตามลำดับ โดยทุกอัตราส่วนจะเติมน้ำตาลความเข้มข้น 2 % (w/v) ซึ่งการเตรียมน้ำหมักในแต่ละอัตราส่วนจะเตรียมในปริมาณ 6 ลิตร แล้วหมักในสภาวะปิดและไม่มีการเขย่า จากการศึกษาพบว่าอัตราส่วนน้ำหมักเชอร์รี่ที่เหมาะสมคืออัตราส่วน 1:3 คือ มีปริมาณเชอร์รี่ 1 ส่วน น้ำ 3 ส่วน ซึ่งมีความเหมาะสมสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ซึ่งมีปริมาณน้ำและสับสเตรทที่เหมาะสม ทำให้มีปริมาณส่วนใสที่มากพอที่จะนำไปใช้ต่อได้ และมีปริมาณโลหะหนักซึ่งได้แก่ สารหนู แคดเมียม ปรอท และตะกั่ว น้อยที่สุด เป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดชนิดเหลวสำหรับเครื่องใช้เด็กอ่อน (มอก. 2201-2547) จากการทดสอบประสิทธิภาพของน้ำหมักเชอร์รี่ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคโดยวิธี Broth Dilution Method พบว่าน้ำหมักเชอร์รี่มีค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MIC) ที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli salmonella* sp. *S. aureus* และ *B. cereus* เท่ากับ 25 25 6.25 และ 1.56 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และค่าความเข้มข้นต่ำสุด (MBC) ที่สามารถทำลายเชื้อ *E. coli salmonella* sp. *S. aureus* และ *B. cereus* เท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากการวิเคราะห์ประเภทของสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่ทำการหมักโดยผลเชอร์รี่พบว่ามีความเป็น Nonionic เท่ากับ 0.30 กรัมต่อ 100 กรัม ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารลดแรงตึงผิวชีวภาพที่หมักโดยผลเชอร์รี่จัดเป็นพวกที่ไม่มีประจุไฟฟ้า ตรงที่เป็นโมเลกุลที่ไม่มีประจุ โดยมีพวก polyether หรือ polyhydroxyl เป็นกลุ่มที่แสดงคุณสมบัติในการชะล้าง เหมาะสำหรับใช้เป็นผงซักฟอก น้ำยาล้างถ้วยชาม ผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดพื้นผิว

ข้อเสนอแนะ

จากผลงานวิจัย เป็นข้อเท็จจริงที่ทำให้ทราบว่าการผลิตสารลดแรงตึงผิวชีวภาพจากผลไม้เหลือใช้ทางการเกษตร สามารถใช้ทดแทนสารลดแรงตึงผิวสังเคราะห์ได้ และมีข้อที่น่าสนับสนุนในการพัฒนาให้มีการใช้มากขึ้น เนื่องจากเมื่อปล่อยสู่สิ่งแวดล้อมสามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ

และปริมาณโลหะหนักมีน้อยมากและไม่เกินมาตรฐานผลิตภัณฑ์ทำความสะอาด แต่อย่างไรก็ตามต้องศึกษาคุณภาพผลิตภัณฑ์ในเชิงปริมาณในทุกด้าน เพื่อควบคุมการผลิตให้ได้สูตรมาตรฐานที่มีประสิทธิภาพในการละลายไขมัน คราบสกปรกและทำลายจุลินทรีย์

บรรณานุกรม

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. (2545). จุลชีววิทยาทางอาหาร. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. กรุงเทพฯ. 454 หน้า.

Abouseoud, M., Maachi, R., Amrane, A., Boudergua, S., and Nabi, A. (2008). Evaluation of different carbon and nitrogen sources in production of biosurfactant by *Pseudomonas fluorescens*. **Desalination.** 223: 143-151.

Al-Arajil, L., Rahman , R.N.Z.R.A., Basri, M., and Salleh, A.B. (2007). Microbial Surfactant. **AsPac J. Mol. Biol. Biotechnol**. 15: 99-105.

Benincasa, M., Abalos, A., Oliveira, I., and Manresa, A. (2004). Chemical structure, surface properties and biological activities of the biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* LBI from soapstock. **Antonie van Leeuwenhoek.** 85: 1-8.

Bordoloi, N.K., and Konwar, B.K. (2008). Microbial surfactant-enhanced mineral oil recovery under laboratory conditions. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.** 63: 73-82.

Blando, F., Gerardi, C., and Nicoletti, I. (2004). Sour cherry (*Prunus cerasus* L.) anthocyanins as ingredients for functional foods. **Journal of Biomedicine and Biotechnology.** 5: 253-258.

Bylka, W., Matlawska, I., and Pilewski, N.A. (2004). Natural flavonoids as antimicrobial agent. **Journal of the American Naturaceutical Association.** 7: 24-31.

Cassidy, D.P., and Hudak, A. J. (2001). Microorganism selection and biosurfactant production in a continuously and periodically operated bioslurry reactor. **Journal of Hazardous Materials.** 84: 253-264.

Chen, S-C., and Chung, K-T. (2000). Mutagenicity and antimutagenicity studies of tannic acid and its related compounds. **Food and Chemical Toxicology.** 38: 1-5.

Chrzanowski, G., Sempruch, C., and Sprawka, L. (2007). **Investigation of phenolic acids in leaves of blackcurrant (*Ribes nigrum* L.) and sour cherry (*Prunus cerasus* L.)** [On-line].
Available: http://www.ejpau.media.pl/volume10/issue4/art-42.htm

Das, P., Mukherjee, S., and Sen, R. (2008). Antimicrobial potential of a lipopeptide biosurfactant derived from a marine Bacillus circulans. **Journal of Applied Microbiology.** 104: 1675-1684.

Deleu, M., and Paquot, M. (2004). From renewable vegetables resources to microorganisms : new trends in surfactants. **C. R. Chimie.** 7: 641-646.

Edwards, K.R., Lepo, J. E., and Lewis, M. A. (2003). Toxicity comparison of biosurfactants and synthetic surfactants used in oil spill remediation to two estuarine species. **Marine Pollution Bulletin.** 46: 1309-1316.

Healy, M.G., Devine, C.M., and Murphy, R. (1996). Microbial production of biosurfactants. **Resources,Conservation and Recycling.** 18: 41-57.

Hsien, Chung Liao., and Shiuh,Jen JiangU., (1999). Determination of cadmium, mercury and lead in coal fly ash by slurry sampling electrothermal vaporization inductively coupled plasma mass spectrometry. **Spectrochimica Acta Part B.** 54: 1233-1242.

Jayabalan, R., Marimuthu, S., and Swaminathan, K. (2007). Changes in content of organic acids and tea polyphenols during kombucha tea fermentation. **Food Chemistry.** 102: 392-398

Joshi, S., Bharucha, C., and Desai, A.J. (2008). Production of biosurfactant and antifungal compound by fermented food isolate *Bacillus subtilis* 20B. **Bioresource Technology.** 99: 4603-4608.

Kim, D-O., Heo, H.J., Kim, Y.J., Yang, H.S., and Lee, C.Y. (2005). Sweet and sour cherry phenolics and their protective effects on neuronal cells. **J. Agric. Food Chem.** 53: 9921-9927.

Luc, J, Martin., and Chantal, Matar. (2005). Increase of antioxidant capacity of the lowbush blueberry (Vaccinium angustifolium) during fermentation by a novel bacterium from the fruit microflora. **Journal of the Science of Food and Agriculture.** 85: 1477–1484.

Masen, T., et al. (2001). **Environmental and health assessment of substances in household detergents and cosmetic detergent product** [On-line]. Available:http://www.greengatemarket.com/ Danish_EPA_Project_615.pdf

Monteiro, S. A., et al. (2007). Molecular and structural characterization of the biosurfactant produced by *Pseudomonas aeruginosa* DAUPE 614. **Chemistry and Physics of Lipids.** 147: 1-13.

Mulligan, C.N. (2005). Environmental applications for biosurfactants. **Environmental Pollution.** 133: 183-198

Nadarajah, N., Singh, A., and Ward, O.P. (2002). Evaluation of a mixed bacterial culture for de-emulsification of water-in-petroleum oil emulsions. **World Journal of Microbiology & Biotechnology.** 18: 435-440.

Neu, T.R. (1996). Significance of bacterial surface-active compounds in interaction of bacteria with interfaces. **American Society for Microbiology.** 60: 151-166.

Nitschke, M. and Costa, S.G.V.A.O. (2007). Biosurfactants in food industry. **Trends in Food Science & Technology.** 18: 252-259.

Piccolella, S., Fiorentino, A., Pacifico, S., D'Abrosca, B., Uzzo, P., and Monaco, P. (2008). Antioxidant properties of sour cherries (*Prunus cerasus* L.) : role of colorless phytochemicals from the methanolic extract of ripe fruits. **J. Agric. Food Chem**. 56: 1928-1935.

Rauhaa, J-P., et al. (2000). Antimicrobial effects of Finnish plant extracts containing flavonoids and other phenolic compounds. **International Journal of Food Microbiology.** 56: 3-12.

Rodrigues, L., Moldes, A., Teixeira, J., and Oliveira, R. (2006). Kinetic study of fermentative biosurfactant production by *Lactobacillus* strains. **Biochemical Engineering Journal**. 28: 109-116.

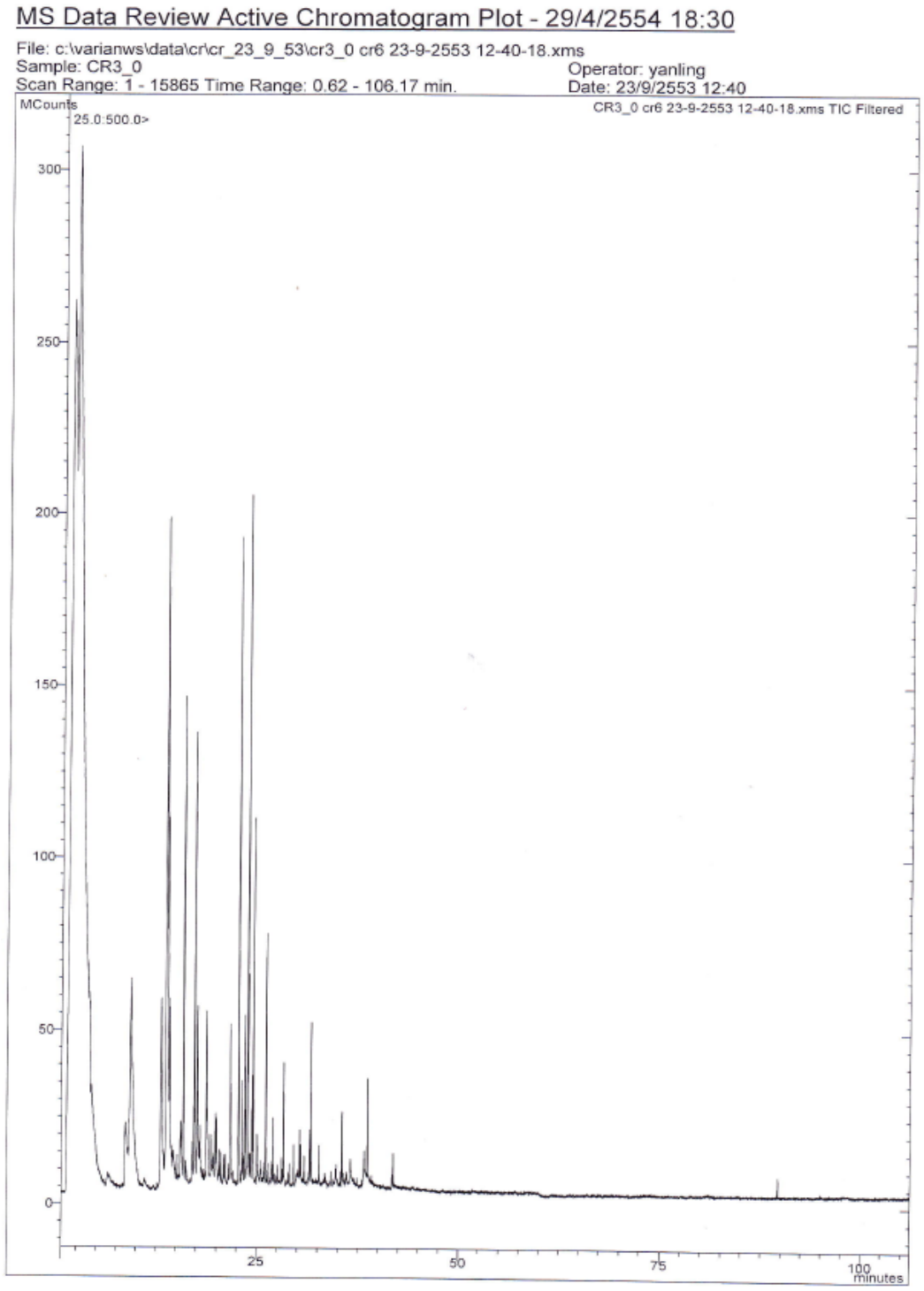
Rodrigues, L., Teixeira, J., van der Mei, H.C., and Oliveira, R. (2006). Isolation and partial characterization of a biosurfactant produce by *Streptococcus thermophiplus* A. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces.** 53: 105-112.

Sousa, A., et al. (2006). Phenolics and antimicrobial activity of traditional stoned table olives 'alcaparra'. **Bioorganic & Medicinal Chemistry.** 14: 8533-8538.

Tural, S., and Koca, I. (2008). Physico-chemical and antioxidant properties of cornelian cherry fruits (*Cornus mas* L.) grown in Turkey. **Scientia Horticulturae.** 116: 362-366.

Venturini, M.E., Oria, R., and Blanco, D. (2002). Microflora of two varieties of sweet cherries: Burlat and Sweetheart. **Food Microbiology.** 19: 15-21.

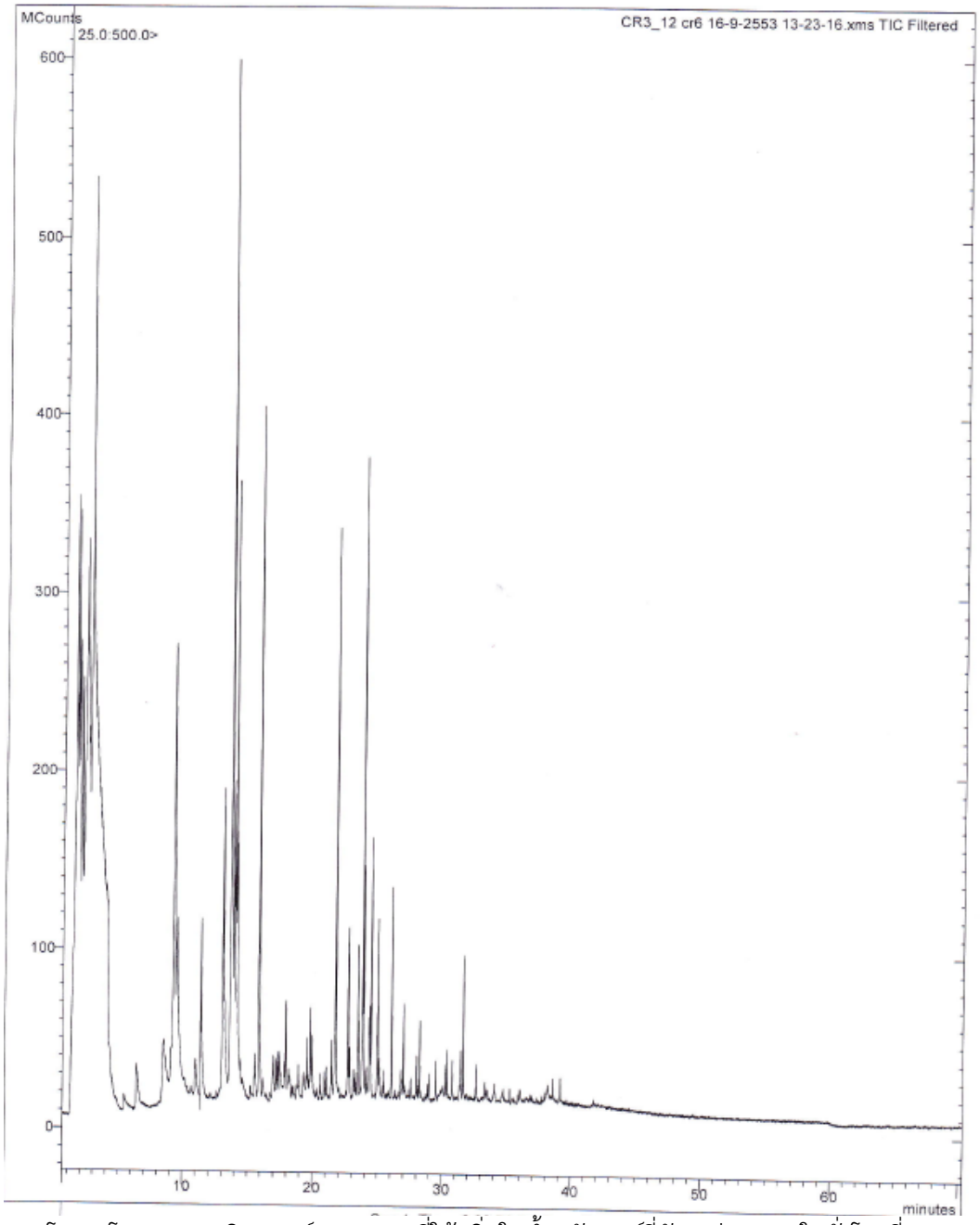
ภาคผนวก



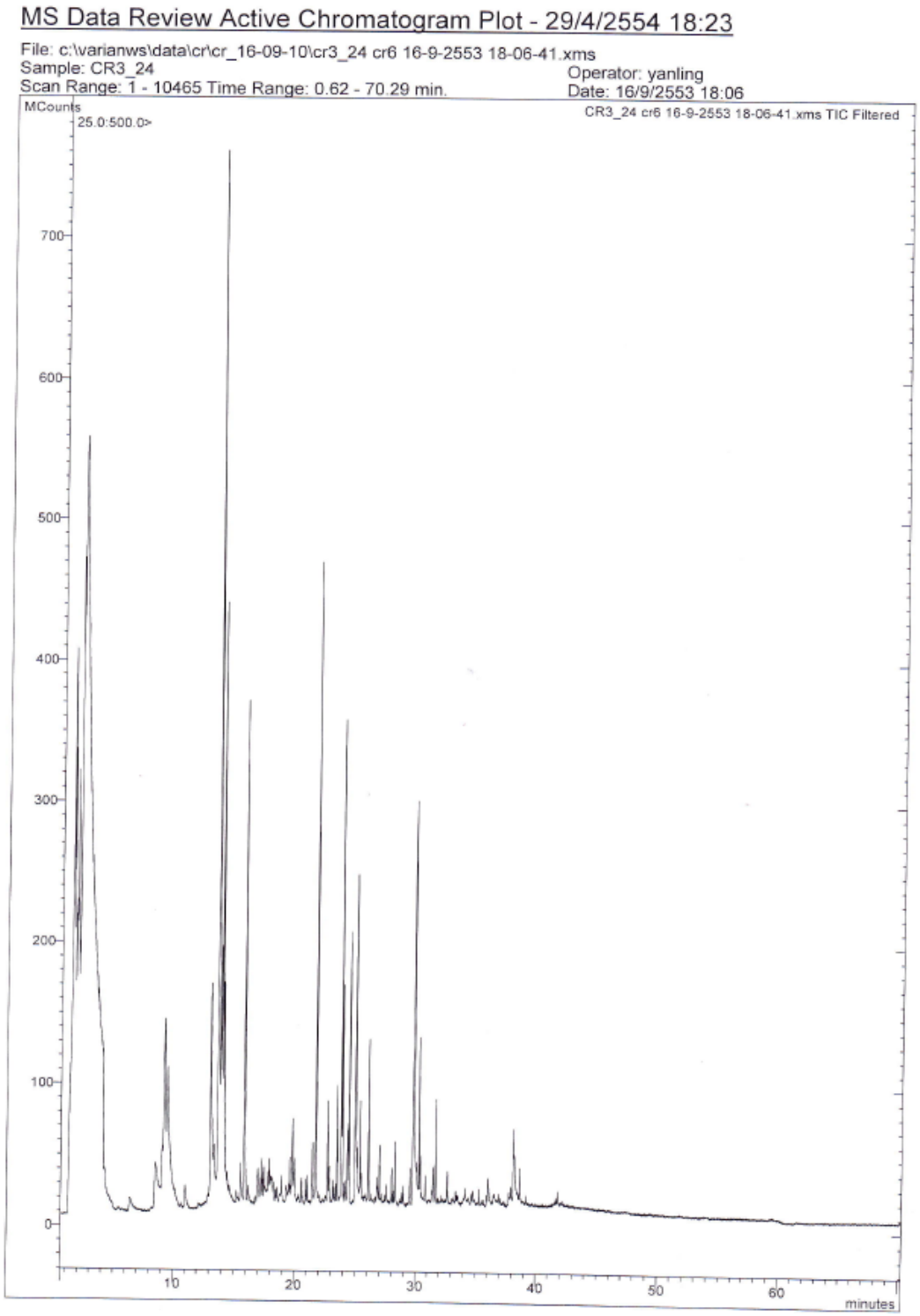
ภาพโครมาโตแกรมการวิเคราะห์สารระเหยที่ให้กลิ่นในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:3 ในชั่วโมงที่ 0

Chromatogram Plot

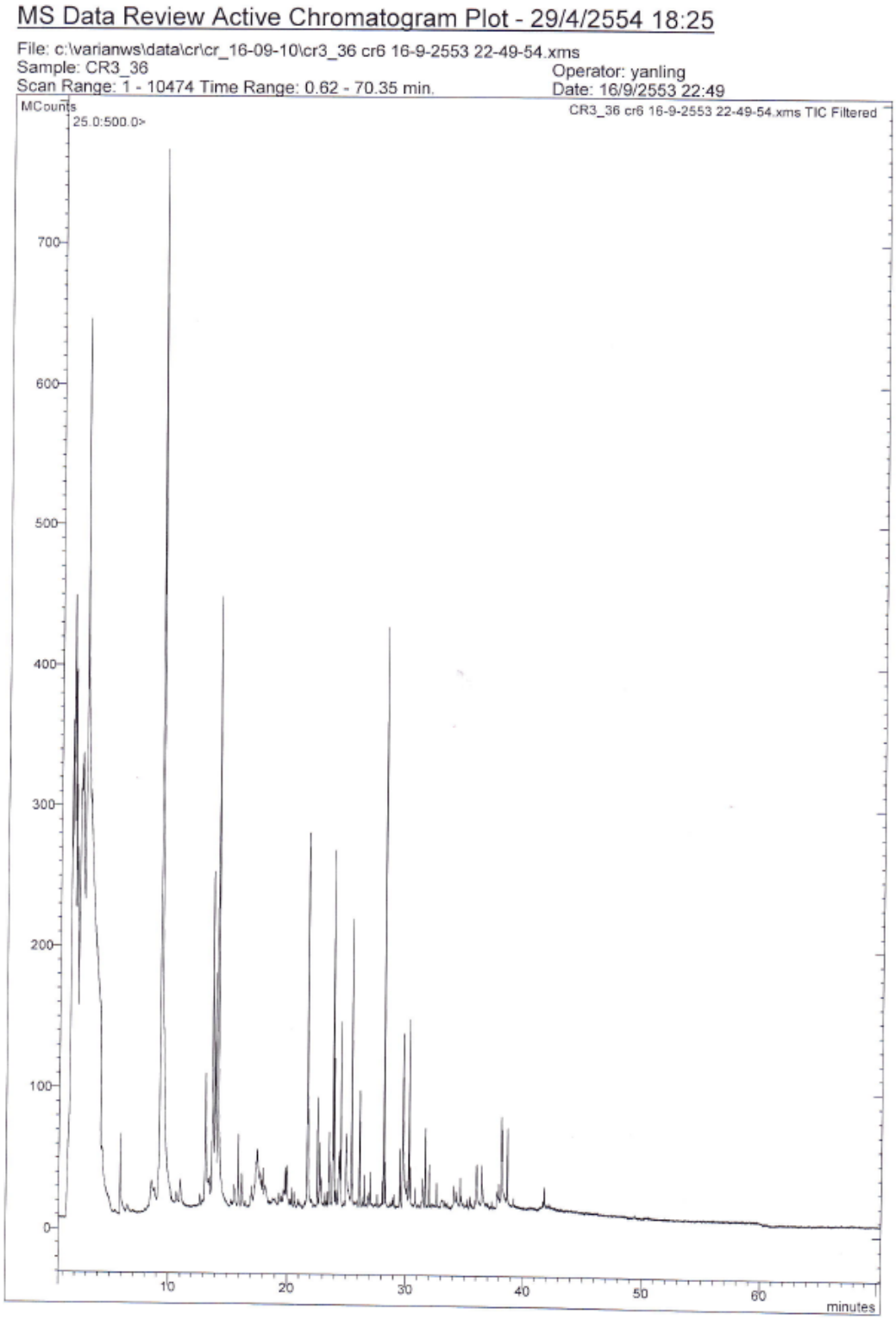
File: c:\varianws\data\cr\cr_16-09-10\cr3_12 cr6 16-9-2553 13-23-16.xms
Sample: CR3_12
Scan Range: 1 - 10478 Time Range: 0.62 - 70.35 min.
Operator: yanling
Date: 16/9/2553 13:23



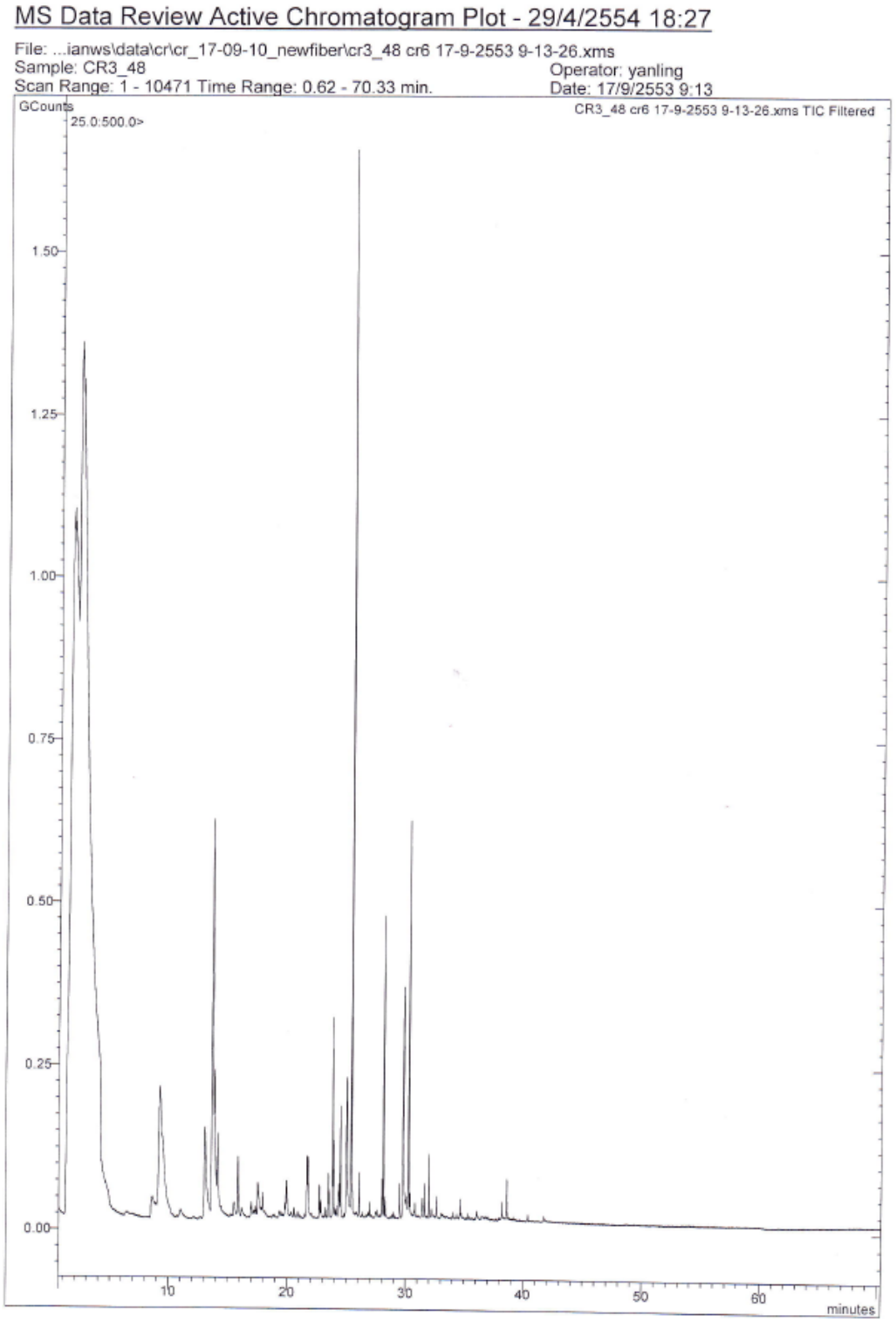
ภาพโครมาโตแกรมการวิเคราะห์สารระเหยที่ให้กลิ่นในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:3 ในชั่วโมงที่ 12



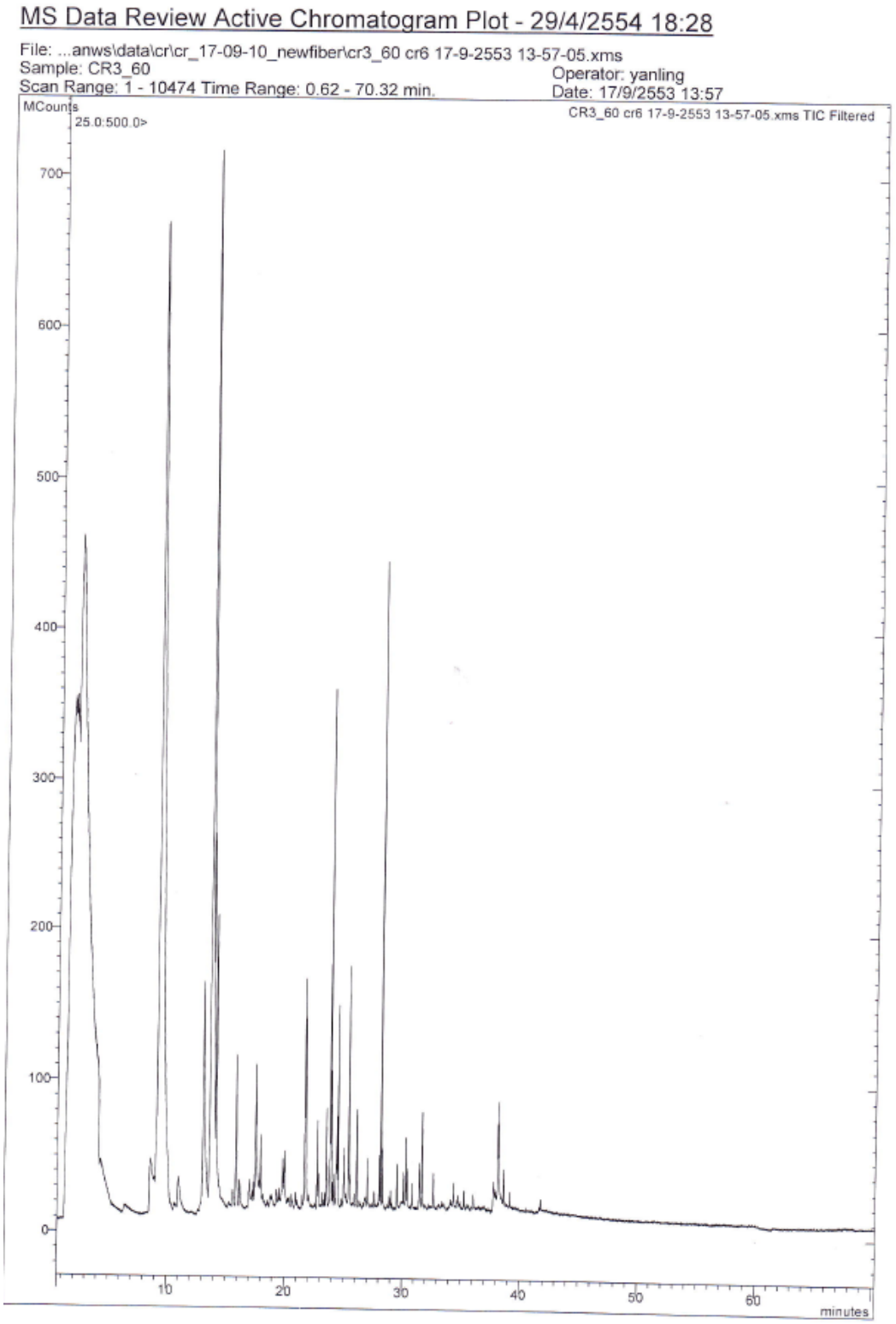
ภาพโครมาโตแกรมการวิเคราะห์สารระเหยที่ให้กลิ่นในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:3 ในชั่วโมงที่ 24



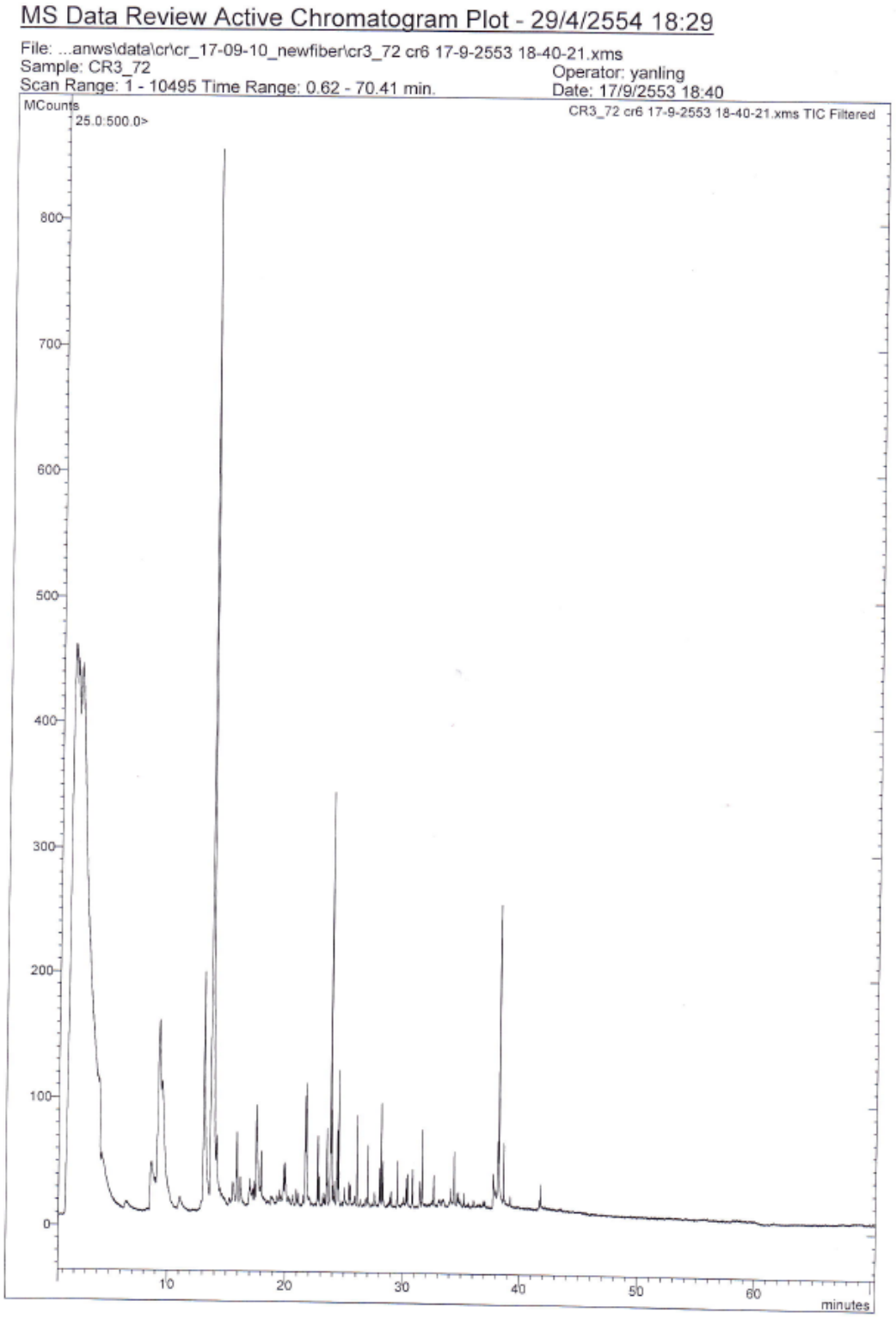
ภาพโครมาโตแกรมการวิเคราะห์สารระเหยที่ให้กลิ่นในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:3 ในชั่วโมงที่ 36



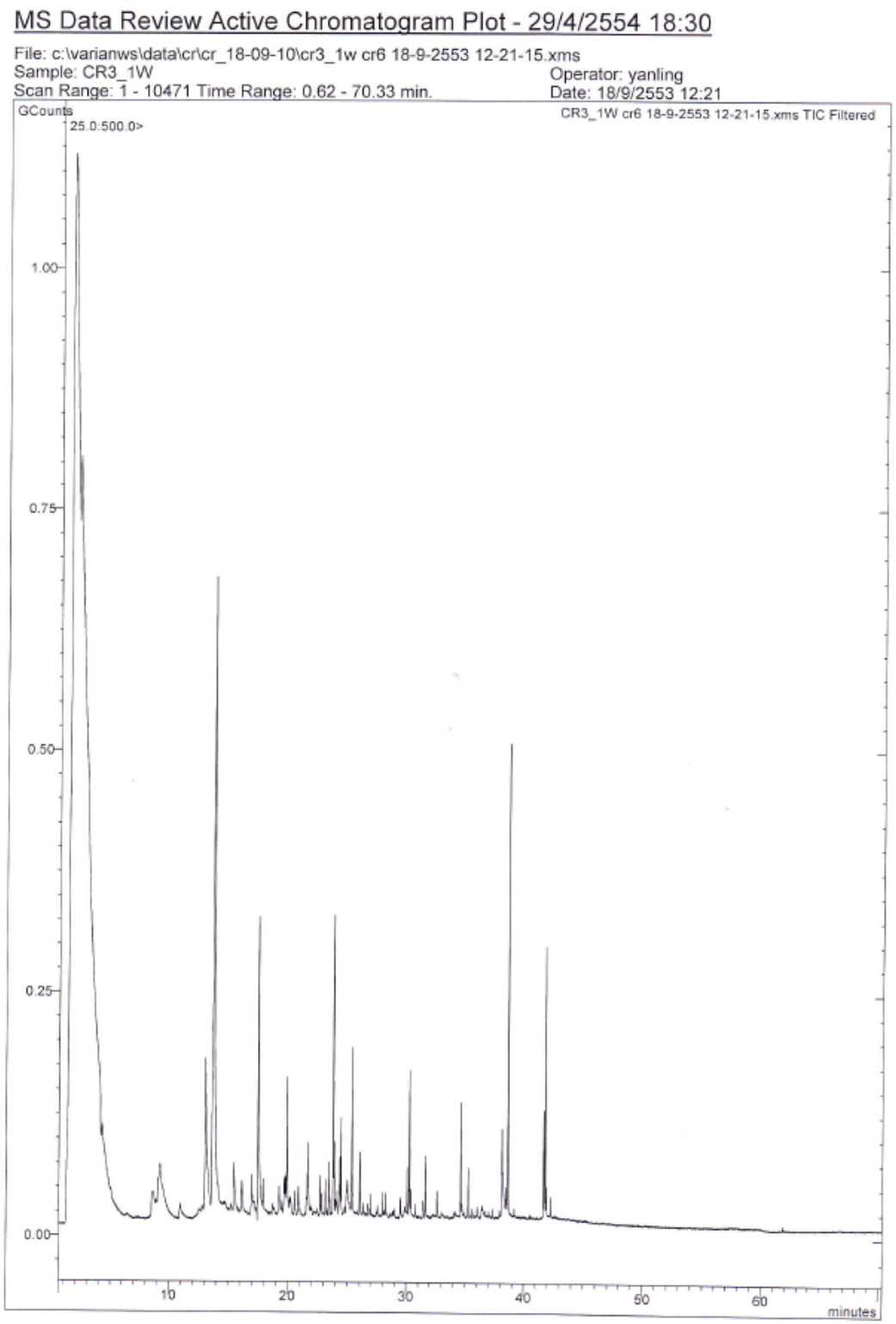
ภาพโครมาโตแกรมการวิเคราะห์สารระเหยที่ให้กลิ่นในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:3 ในชั่วโมงที่ 48



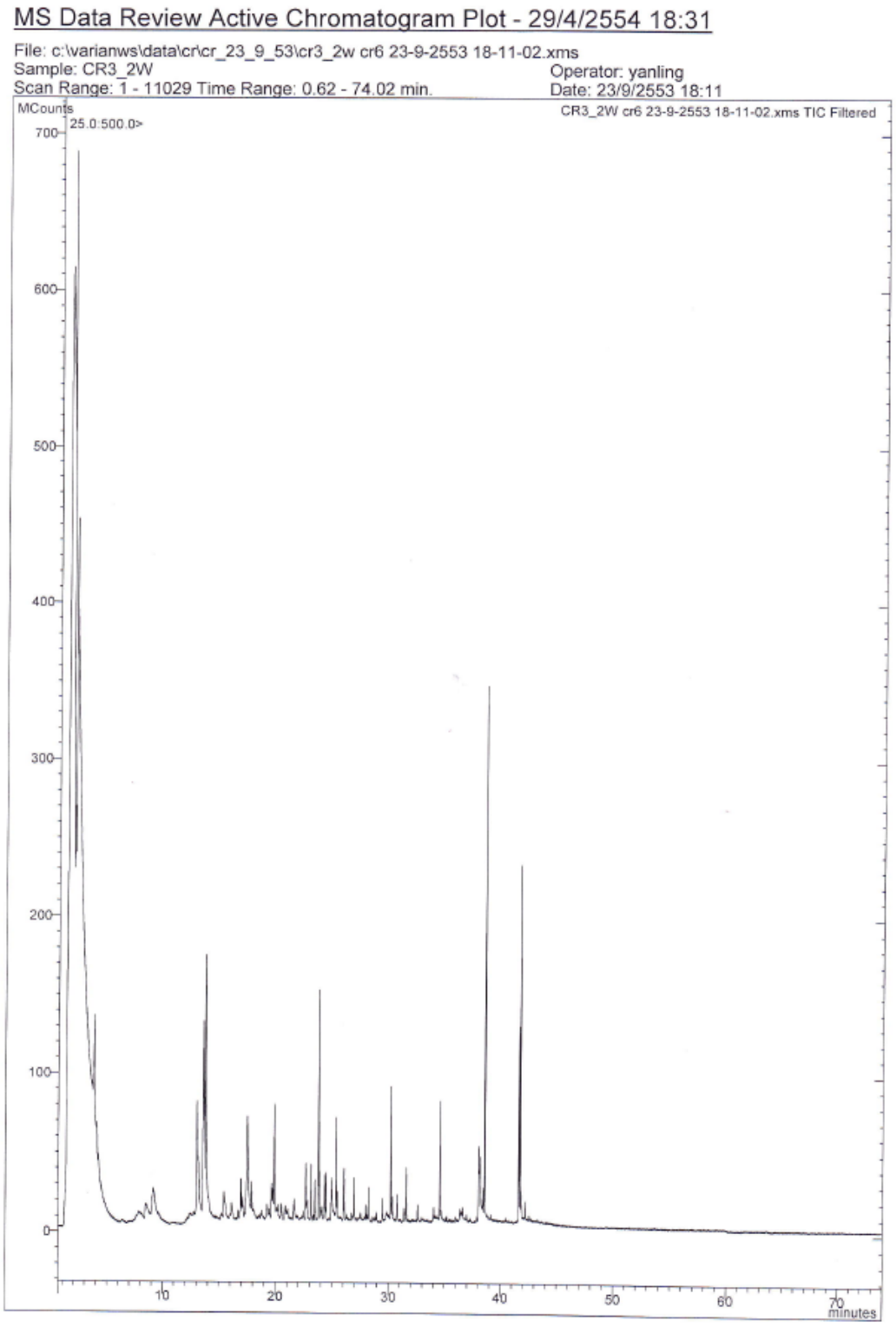
ภาพโครมาโตแกรมการวิเคราะห์สารระเหยที่ให้กลิ่นในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:3 ในชั่วโมงที่ 60



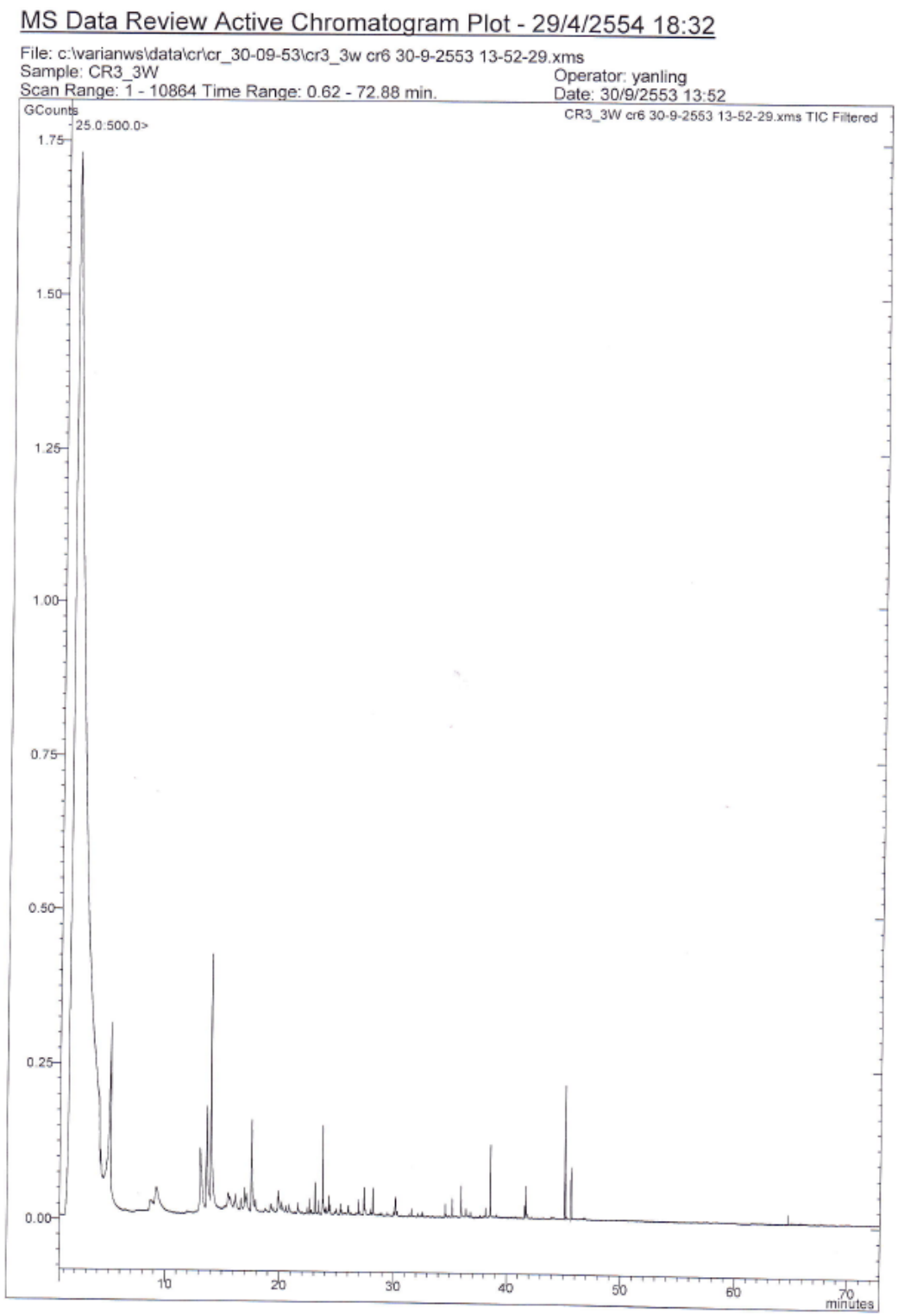
ภาพโครมาโตแกรมการวิเคราะห์สารระเหยที่ให้กลิ่นในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:3 ในชั่วโมงที่ 72



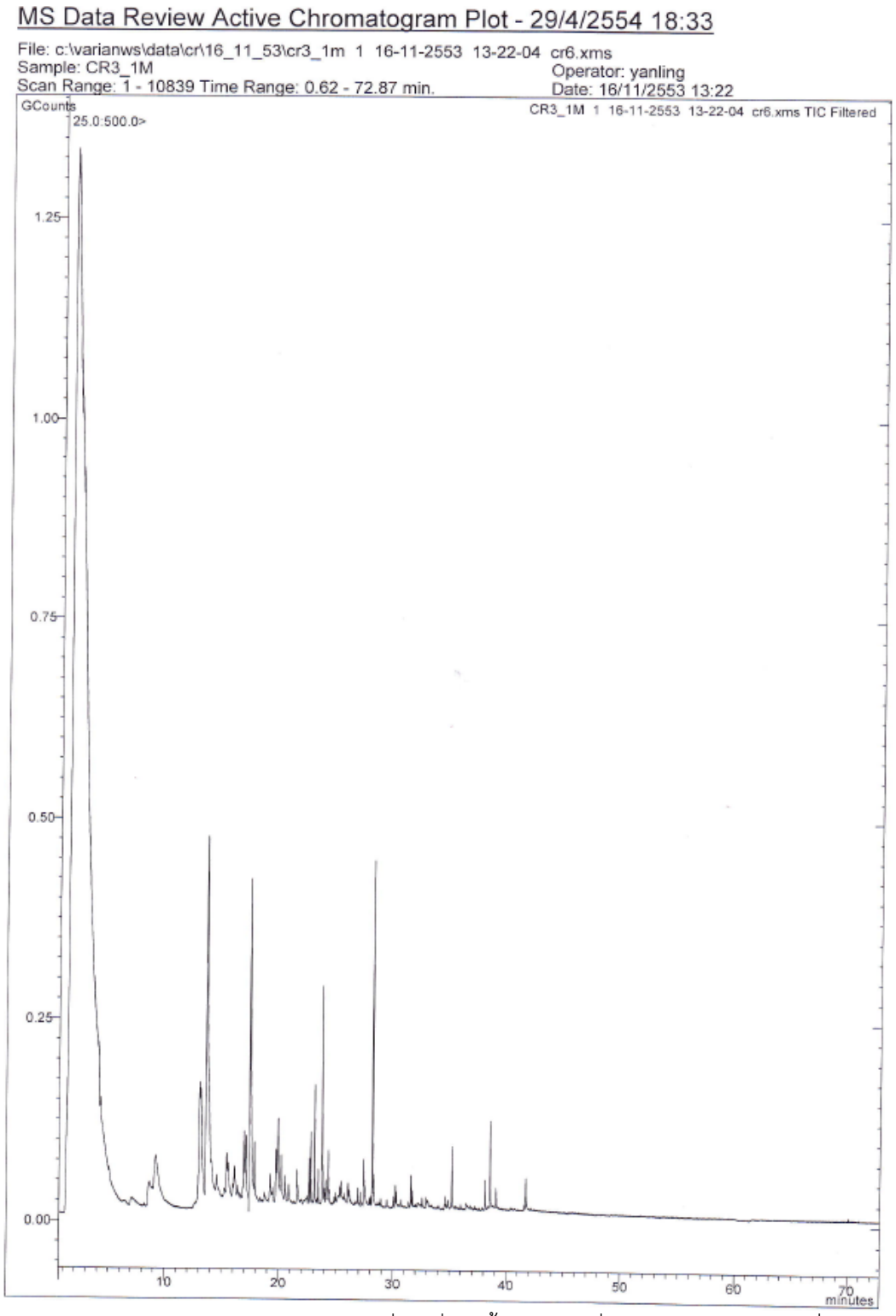
ภาพโครมาโตแกรมการวิเคราะห์สารระเหยที่ให้กลิ่นในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:3 ในสัปดาห์ที่ 1



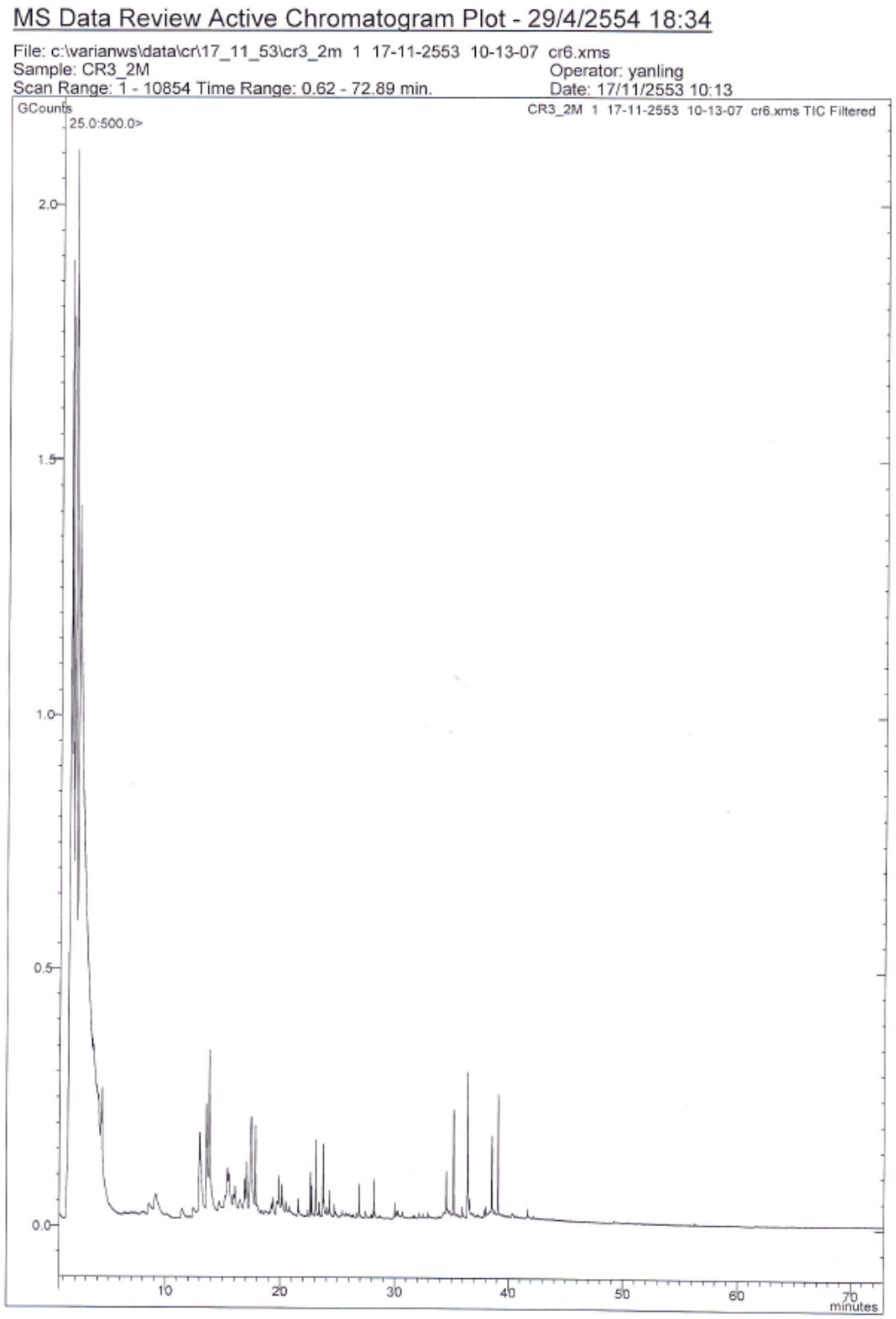
ภาพโครมาโตแกรมการวิเคราะห์สารระเหยที่ให้กลิ่นในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:3 ในสัปดาห์ที่ 2



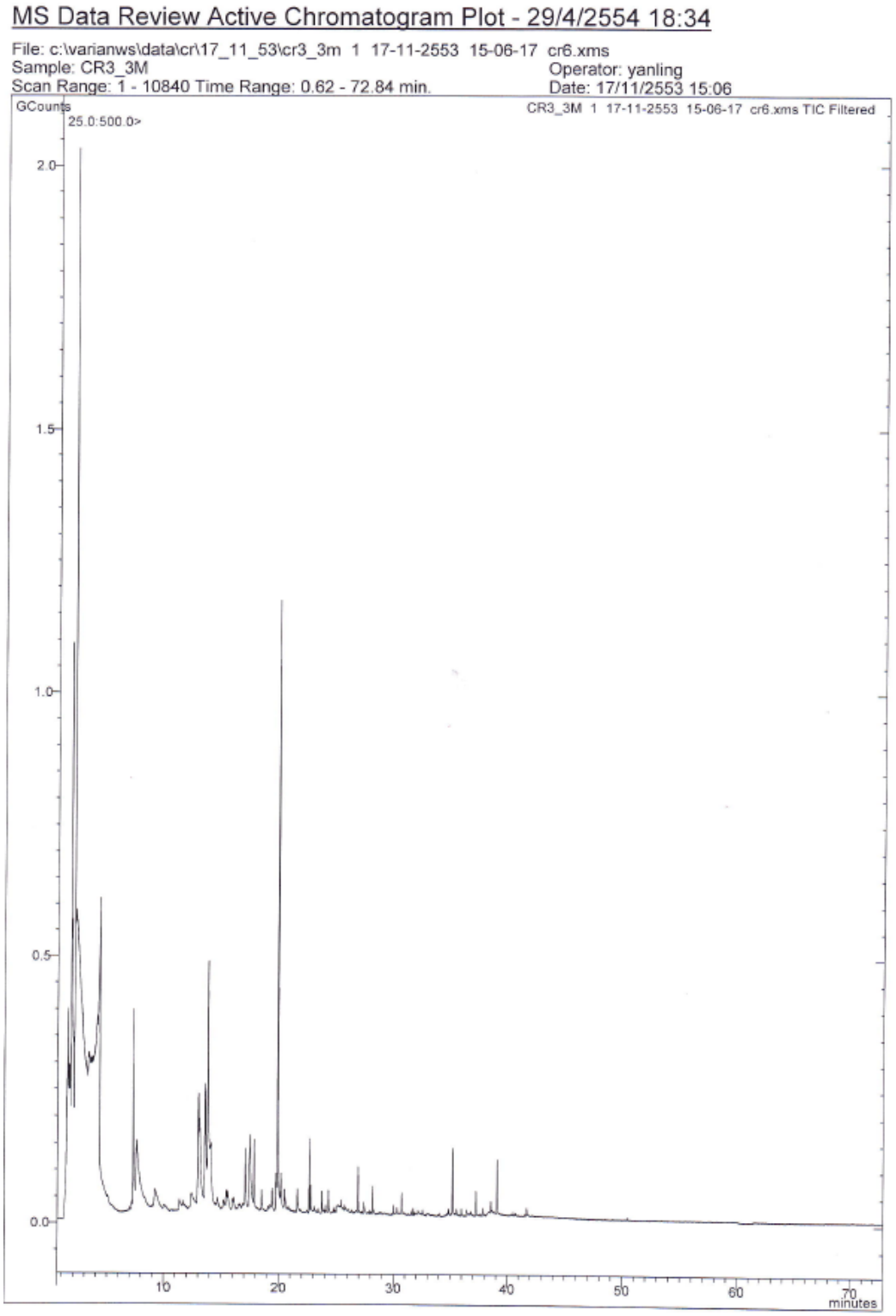
ภาพโครมาโตแกรมการวิเคราะห์สารระเหยที่ให้กลิ่นในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:3 ในสัปดาห์ที่ 3



ภาพโครมาโตแกรมการวิเคราะห์สารระเหยที่ให้กลิ่นในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:3 ในเดือนที่ 1



ภาพโครมาโตแกรมการวิเคราะห์สารระเหยที่ให้กลิ่นในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:3 ในเดือนที่ 2



ภาพโครมาโตแกรมการวิเคราะห์สารระเหยที่ให้กลิ่นในน้ำหมักเชอร์รี่อัตราส่วน 1:3 ในเดือนที่ 3

ประวัติผู้วิจัย

<u>หัวหน้าโครงการวิจัย</u>

นางปิยะวรรณ กาสลัก

นางปิยะวรรณ กาสลัก เกิดเมื่อวันที่ 12 เดือนมีนาคม พ.ศ.2502 ณ จังหวัดนครราชสีมา ปัจจุบันดำรงตำแหน่งผู้ช่วยศาสตราจารย์ สังกัดสาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จบการศึกษาระดับปริญญาตรี วท.บ. (ชีววิทยา) จากมหาวิทยาลัยขอนแก่น เมื่อปี พ.ศ. 2523 จบการศึกษาระดับปริญญาโท (Biotechnology and Biochemistry) จาก Mie University ประเทศญี่ปุ่น เมื่อปี พ.ศ. 2536 และจบการศึกษาระดับปริญญาเอก (Applied Sciences and Biotechnology) จาก Mie University ประเทศญี่ปุ่น เมื่อปี พ.ศ. 2539

นางปิยะวรรณ กาสลัก ได้มีผลงานางวิชาการดังต่อไปนี้

Petchkongkaew, A., Taillandier,P., Gasaluck, P., and Lebrihi, A.2008. Isolation of *Bacillus* spp. from Thai Fermented Soybean (Thua-nao): Screening for Aflatoxin B1 and Ochratoxin A detoxification. Journal of Applied Microbiology Vol.104 (No.5)1495-1502 (8)

Oonmetta-aree J., Suzuki T., Gasaluck, P., and Eumkeb, G. 2006. Antimicrobial Properties and Action of Galangal (Alpinia galanga Linn.) on *Staphylococcus aureus*. LWT Food Science and Technology (39) 1214-1220

Thongbai, B., Gasaluck, P., and Waites, W. M. 2006. Morphological changes of temperature- and pH-stressed *Salmonella* following exposure to cetylpyridinium chloride and nisin. .LWT - Food Science and Technology. (39) 1180-1188

Thongbai, B., Waites, W. M. and Gasaluck, P. The susceptibility of Bioluminescent *Salmonella typhimurium* Contaminating Chicken Carcases to Cetylpyridinium Cholide and Nisin. Kasetsart Journal: Natural Science October-December 2005. Vol. 39 No. 4 (622-632)

Gasaluck, P. 1999. The Development of the Curricula of Food Technology of Suranaree University of Technology (SUT). In Proceedings of the International Workshop on University Education, Research and in Asia-Pacific Region, Mie University Press, April 6 and 7.

Gasaluck, P., Yokoyama, K., Kimura, T. and Sugahara, I. 1996. The occurrence of *Bacillus cereus* in Local hai Traditional Foods. J. Antibact. Antifung. Agents Vol 24. No. 5 (349-356)

Gasaluck, P., Yokoyama, K, , Kimura, T. and Sugahara, I. 1996. Some Chemical and Microbiological Properties of Thai Fish Sauce and Paste. J. Antibact. Antifung. Agents Vol 24. No. 6, (385-390)

Gasaluck, P. 1994. "Thai Fermented Fish Sauce." In Proceedings of the International Seafood Research Meeting Of Mie University, Mie Academic Press, September 30.

Gasaluck, P., Midorigawa, Y., Imai, M. and Yoshimura, H. 1990. Enteropathogenic E.coli (ETEC) Isolation in Northeast Thailand and Their Resistance to Antibiotics. Mie Medical Journal Vol 40 (3):379-384.

งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

ผู้ร่วมวิจัย	โครงการศึกษาการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ในโรงฆ่าสุกร การขนส่งจากโรงฆ่าไป ยังจุดจำหน่าย และแหล่งจำหน่ายเนื้อสุกร ในเขตจังหวัดนครราชสีมา 2552
หัวหน้าโครงการวิจัย	โครงการการคัดแยกและบ่งชี้แบคทีเรีย กรดแลคติกจากผลิตภัณฑ์แหนมเพื่อใช้ในการผลิตเป็นกล้าเชื้อบริสุทธิ์ 2553
หัวหน้าโครงการวิจัย	โครงการการวิจัยและพัฒนานวัตกรรมผลิตภัณฑ์กุนเชียงไขมันต่ำ 2553
หัวหน้าโครงการวิจัย	การศึกษาผลการเติม "แคลเซียมเบนโทไนต์" ในอาหารสัตว์ต่อการดูดซับสารพิษจากเชื้อรา 2553
หัวหน้าโครงการวิจัย	การศึกษาอายุการเก็บของขนมถั่วอบเทียน 2552

ที่อยู่ สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัด นครราชสีมา 30000

โทรศัพท์ 0-4422 - 4270 โทรสาร 0-4422 – 4387

Email address: piyawan@sut.ac.th

ผู้ร่วมโครงการวิจัย

นางรัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์

นางรัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์ เกิดเมื่อวันที่ 7เดือน กันยายน พ.ศ. 2508 ปัจจุบันดำรงตำแหน่ง อาจารย์ ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จบการศึกษาระดับปริญญาตรี วท.บ. (พยาบาล)จากมหาวิทยาลัยขอนแก่น เมื่อปี พ.ศ. 2530 จบการศึกษาระดับปริญญาโท สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร จาก Dalhousie University ประเทศเคนาดา เมื่อปี พ.ศ. 2543 และจบการศึกษาระดับปริญญาเอก วท.ด. (เทคโนโลยีอาหาร) จากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุนารี เมื่อปี พ.ศ. 2549

นางรัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์ ได้มีผลงานางวิชาการดังต่อไปนี้

R. Oonsivilai, N. Chaijareonudomroung, Y. Huantanom., and A. Oonsivilai. 2010. Extraction condition of *Echinocactus grusonii*. ICCBEE 2010: International Conference on Chemical, Biological and Environmental Engineering, World Academy of Science, Engineering and Technology, Paris, France, 27-29 October, pp: 366: 369.

Oonsivilai, R. and Oonsivilai, A. 2010. Differential evolution application in temperature profile of fermenting. WSEAS TRANSACTION on SYSTEMS. Issue. ISSN: 1109-2777. Issue 6(9): 618-628.

Oonsivilai, R. and Oonsivilai, A. 2010. Temperature profiling during fermenting processing differential evolution. Proceeding of the 9th WSEAS International conference on energy and environment. February 23-25, Cambridge, London

** **Oonsivilai**, **R.** Euaungganond, S. Boonpakong, Y. (2010). Phaseolamin in white kidney beans. 4th Thailand Congress of Nutrition : TCN 2010, September 13-15, pp: 33. Poster presentation No. EXP-11.

Posridee, K. Sripa, B. Jitsomboon, B. and **Oonsivilai, R**. 2010. The acute oral toxicity determination (LD50) of Rang Chute extract. 3rd SUT Graduate Conference 2010, Nakhon Ratchasima, Thailand, November 21-23, pp: 224-225. Poster presentation No.ARG-18.

Oonsivilai, A. and **Oonsivilai, R. 2009. A genetic algorithm application in natural cheese products. WSEAS TRANSACTIONS on SYSTEMS. Issue 1, Vol 8, January, ISSN : 1109 – 2777, pp: 44 – 54.

**Oonsivilai, R and Oonsivilai, A. 2008. Apply a genetic algorithm to natural cheese product. Proceeding of the 8th WSEAS International conference on applied computer science (ACS'08). ISSN 1790 – 5109, pp: 269 – 274.

Oonsivilai, A. and **Oonsivilai, R. 2008 Parameter Estimation of Frequency Response Twin-Screw Food Extrusion Process using Genetic Algorithm. WSEAS TRANSACTIONS on SYSTEMS. Issue 7 Volume 7, July, ISSN: 1109 – 2777, pp: 44 – 54.

Oonsivilai, R. and Oonsivilai, A. 2008. Genetic Algorithm Approach to Twin-Screw Food Extrusion Process Frequency Domain Parameter Estimation. Proceeding of the 7th WSEAS International Conference on Applied Computer & Applied Computational Science (ACACOS' 08), Hangzhou, China, April 6-8. pp: 645 – 650.

Oonsivilai, R., Ferruzzi, M.G., and Ningsanond, S. 2007. Antioxidant activity and Cytotoxicity of Rang Chuet (*Thunbergia laurifolia* Lindl.) Extracts. As. J. Food Ag-Ind. 1(02): pp 116 – 128.

Oonsivilai, R. and Oonsivilai, A. 2007. Probabilistic neural network for β-glucan suspensions. Proceeding of the 7th WSEAS International Conference on Simulation, Modeling and Optimization, Beijing, China, September 15-17.

Oonsivilai, R., Ferruzzi, M.G., and Ningsanond, S. 2007. Antioxidant activity and Cytotoxicity of Rang Chuet (*Thunbergia laurifolia* Lindl.) Extracts. Presented at FoSTAT 2007. BITEC, June 14-15, Bangkok, Thailand.

Oonsivilai, R., Cheng, C., Bomser, J.A., Ferruzzi, M.G., and Ningsanond, S. 2007. Phytochemical profiling and detoxification properties of *Thunbergia Laurifolia* Lindl (Rang Chuet) extracts. Journal of Ethnopharmacology 114: 300–306.

Oonsivilai, R., Cheng, C., Ningsanond, S., Bomser, J.A. and Ferruzzi, M.G. 2006. Induction of quinone reductase activity in murine hepatoma cells by extracts of *Thunbergia Laurifolia* Lindl. *FASEB Journal*. Vol. 20, no. 4, Part 1: A154

Speers, R. A., Patelakis, S.J.J., A. T. Paulson, and **Oonsivilai, R**. 2004. Shear rate during brewing operations. MBAA TQ vol. 41, no. 3, pp. 241-247.

Oonsivilai, R., Speers, R.A. and Paulson, A.T. 2000. Effects of pH, maltose and ethanol on the physical properties of model beta-glucan suspensions. Presented at IOB 2000, Institute of Brewing, Asia-Pacific Section 26th Convention, Mar. 19-24, Singapore, SGP.

Oonsivilai, R. Patelakis, S.J.J., Speers, R.A., and Paulson, A.T. 1999. Rheological and filtration properties of beta-glucan polymers in the brewing process. CIFST Annual Meeting, Presentation #OR-12, June 6-9, Kelowna, BC. Canada.

งานวิจัยที่ทำเสร็จแล้ว

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์โครงการประยุกต์ใช้ neural network สำหรับหาค่าความเข้มข้นวิกฤตใน สารละลาย beta-glucan

แหล่งทุน มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ทุนวิจัยอาจารย์ใหม่ 2543:

หัวหน้าโครงการโครงการ IRPUS; การเตรียมสารสกัดอุดมด้วยวิตามินซีจากหัวไชเท้า ทุนวิจัย สกว. 2550: หัวหน้าโครงการ

โครงการ UBI; การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเจี่ยวกู้หลาน ทุนวิจัย SUT-UBI: หัวหน้าโครงการ

โครงการ iTAP; การพัฒนาผลิตภัณฑ์สาหร่ายเส้นแก้ว: หัวหน้าโครงการ

โครงการ UBI; การยืดอายุการเก็บผลิตภัณฑ์สาหร่ายเส้นแก้ว: หัวหน้าโครงการ

โครงการ iTAP ; โครงการการศึกษาประสิทธิภาพของน้ำยาล้างเครื่องซักผ้า : หัวหน้าโครงการ

โครงการการศึกษาการปรับแต่งกระบวนการหมักเบียร์ที่เหมาะสมโดยใช้profileของอุณหภูมิเป็น ตัวกำหนด: หัวหน้าโครงการ

ที่อยู่ สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี จังหวัด นครราชสีมา 30000

โทรศัพท์ 0-4422 - 4232 โทรสาร 0-4422 – 4387

Email address: roonsivi@sut.ac.th