

การประเมินคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและการรอดชีวิตของโพรไบโอติกที่  
ผ่านการตรึงเซลล์ด้วยวิธีการทำแห้งแบบโฟมแมทของน้ำผักผลไม้อัดเม็ด

EVALUATION OF PHYSICOCHEMICAL PROPERTIES AND SURVIVAL  
OF ENCAPSULATED PROBIOTIC USING FOAM-MAT DRYING  
METHOD OF VEGETABLE AND FRUIT JUICE TABLETS



ชาญัญกร พระคุ้มครอง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีอาหาร

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

ปีการศึกษา 2562

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

การประเมินคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและการรอดชีวิตของโพรไบโอติกที่  
ผ่านการตรึงเซลล์ด้วยวิธีการทำแห้งแบบโพนัมเมทของน้ำผักผลไม้อัดเม็ด



ชาญญกร พระคุ้มครอง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีอาหาร

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

ปีการศึกษา 2562

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

การประเมินคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและการรอดชีวิตของโพรไบโอติก  
ที่ผ่านการตรึงเซลล์ด้วยวิธีการทำแห้งแบบโฟมเมทของน้ำผักผลไม้อัดเม็ด



ชาญญกร พระคุ้มครอง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีอาหาร

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

ปีการศึกษา 2561

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี

หัวข้อวิทยานิพนธ์

การประเมินคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและการรอดชีวิตของโพรไบโอติก  
ที่ผ่านการตรึงเซลล์ด้วยวิธีการทำแห้งแบบโฟมแมทของน้ำผักผลไม้อัดเม็ด  
Evaluation of Physicochemical Properties and Survival of  
Encapsulated Probiotic Using Foam-Mat Drying Method of  
Vegetable and Fruit Juice Tablets

ชื่อ - นามสกุล

นายชาญฤกร พระคัมครอง

สาขาวิชา

เทคโนโลยีอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปาลิดา ตั้งอนุรัตน์, ปร.ด.

ปีการศึกษา

2562

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์



..... ประธานกรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ มัสลิน นาคไพจิตร, ปร.ด.)



..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ เจริญ เจริญชัย, Ph.D.)



..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ อินทรา ลิจันทรพร, ปร.ด.)



..... กรรมการ  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ปาลิดา ตั้งอนุรัตน์, ปร.ด.)

คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี อนุมัติวิทยานิพนธ์ฉบับนี้  
เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต



..... คณบดีคณะเทคโนโลยีการเกษตร  
(ดร.ลลิตา ศิริวัฒนานนท์, Ph.D)

วันที่ 21 เดือน กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2563

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การประเมินคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและการรอดชีวิตของโพรไบโอติกที่ผ่านการตรึงเซลล์ด้วยวิธีการทำแห้งแบบโพรหมเมทของน้ำผักผลไม้อัดเม็ด
ชื่อ - นามสกุล	นายชาธิกร พระคุ้มครอง
สาขาวิชา	เทคโนโลยีอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ปาลิดา ตั้งอนุรัตน์, ปร.ด.
ปีการศึกษา	2562

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) เพื่อศึกษาการรอดชีวิตของเซลล์โพรไบโอติกที่ผ่านการตรึงเซลล์ด้วยไฮเดียมอัลจินเตภายใต้สภาวะระบบทางเดินอาหารจำลอง 2) เพื่อศึกษาคุณลักษณะของโพรหมเมทน้ำผลไม้เสริมโพรไบโอติกระหว่างการทำแห้งแบบโพรหมเมท 3) เพื่อศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการรอดชีวิตของเซลล์โพรไบโอติกในการทำแห้งแบบโพรหมเมท และ 4) เพื่อศึกษาความเข้มข้นของมอลโตเด็กซ์ทรินต่อคุณภาพระหว่างการเก็บรักษา และการยอมรับของผู้บริโภคน้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก

ศึกษาความสามารถในการทนต่อสภาวะที่มีกรดสูง และเกลือแร่ของแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ผ่านและไม่ผ่านการถูกห่อหุ้มเซลล์ จากนั้นศึกษาคุณสมบัติของโพรหมเมทน้ำผักผลไม้โดยใช้สารก่อโพรหมเมทต่างกัน และอุณหภูมิการอบแห้งที่เหมาะสม (55, 60, 65, และ 70 องศาเซลเซียส) ต่อการรอดชีวิตของเซลล์โพรไบโอติกในการทำแห้งแบบโพรหมเมท ในการผลิตน้ำผักผลไม้อัดเม็ด ทำการศึกษาความเข้มข้นของมอลโตเด็กซ์ทรินที่แตกต่างกัน (2, 4, และ 6% โดยน้ำหนัก) และระยะเวลาการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อัดเม็ดที่อุณหภูมิห้อง (35 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิตู้เย็น (4 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 90 วัน นำข้อมูลที่ได้ ไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าไม่พบการรอดชีวิตของเซลล์ที่ไม่ผ่านการตรึงเซลล์หลังผ่านสภาวะเกลือแร่ ในขณะที่เชื้อที่ผ่านตรึงเซลล์ยังรอดชีวิตอยู่ จากนั้นโพรหมเมทน้ำผักผลไม้ผสมที่เติมเมทิลเซลลูโลส 1.5% โดยน้ำหนัก และผงไข่ขาว 3% โดยน้ำหนัก พบว่ามีความหนาแน่นโพรหมเมทดีที่สุด และอัตราการไหลต่ำที่สุด ในระหว่างกระบวนการทำแห้งแบบโพรหมเมท พบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการอบ ทำให้เวลาในการอบลดลง โดยผงน้ำผักและผลไม้เสริมโพรไบโอติกมีค่า water activity (Aw) อยู่ระหว่าง 0.26-0.28 ซึ่งจำนวนเซลล์โพรไบโอติกแบบไม่ห่อหุ้มและห่อหุ้ม มีจำนวนเซลล์ก่อนอบ เท่ากับ  $8.95 \log \text{CFU/g}$  และมีจำนวนเซลล์โพรไบโอติกรอดชีวิตหลังอบ ( $8.43 \log \text{CFU/g}$ ) ที่ 55 องศาเซลเซียส โดยสูตรที่ใช้ปริมาณมอลโตเด็กซ์ทริน 4% ได้รับการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านความชอบโดยรวมมากที่สุด ( $p \leq 0.05$ ) คุณลักษณะทางเคมีของน้ำผักผลไม้อัดเม็ด พบว่า กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ DPPH ( $24.43 \mu\text{g/ml}$ ), ค่า pH (4.42), ความเป็นกรดจากการไทเทรต (0.24%) และพลังงานสะสมในอาหาร (4.06 Kcal/g) การรอดชีวิตของเซลล์โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์น้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องต่ำกว่าการเก็บที่อุณหภูมิตู้เย็น เมื่อเก็บเป็นระยะเวลา 90 วัน ( $p \leq 0.05$ )

คำสำคัญ : น้ำผักผลไม้อัดเม็ด โพรไบโอติก โพรหมเมท

<b>Thesis Title</b>	Evaluation of Physicochemical Properties and Survival of Encapsulated Probiotic Using the Foam-Mat Drying Method of Vegetable and Fruit Juice Tablets
<b>Name – Surname</b>	Mr. Charankorn Parkumkrong
<b>Program</b>	Food Technology
<b>Thesis Advisor</b>	Assistant Professor Palida Tanganurat, Ph.D.
<b>Academic Year</b>	2019

## ABSTRACT

The objectives of this research were to: 1) study the survival of probiotic cells immobilized with sodium alginate during stimulated gastrointestinal conditions, 2) study the foam properties of juice foam with probiotic cells during foam-mat drying, 3) examine the optimum temperature on survival of probiotic cells during foam-mat drying, and 4) investigate the concentrations of maltodextrin on quality during storage time and consumer acceptance of vegetable and fruit juice tablets supplemented with probiotics.

The cell viability at the highly acidic conditions and the bile salts of the encapsulation and free probiotic cells were investigated. Then, the juice foam properties with different foam forming agents, and the optimum drying temperature (55, 60, 65, and 70 °C) on the survival of probiotic cells during the foam-mat drying were analyzed. In the production of vegetable and fruit juice tablets, the different concentrations of maltodextrin (2, 4, and 6% w/w) on quality and the storage time of tablets at room temperature (35 °C), and the refrigerator (4 °C) for 90 days were investigated. The statistics used to analyze the data were ANOVA test and significant differences were evaluated by Duncan's New Multiple Range Test at  $p \leq 0.05$ .

The experimental results showed that the free cells had no viable cell count after subjected to bile salts condition, while the survival of encapsulation cells was found. Then, the blended vegetables and fruits juice foam with the addition of methylcellulose 1.5% (w/w) and egg white powder 3% (w/w) showed the best density and the lowest drainage volume. The results showed that increasing the drying temperature, the drying time reduced during foam mat drying. The vegetable and fruit juice powder supplemented with probiotic revealed water activity ( $A_w$ ) between 0.26-0.28. Un-encapsulated and encapsulated probiotic cells before drying indicated a viable cell count of 8.95 log CFU/g and the survival cells after drying were exhibited (8.43 log CFU/g) at 55 °C. The sensory evaluation of juice tablets by a 9-point hedonic scale exhibited that 4% maltodextrin had the highest liking score ( $p \leq 0.05$ ). The chemical characteristics of juice tablets revealed that the antioxidant of DPPH radical scavenging activities (24.43 µg/ml), pH (4.42), titratable acidity (0.24%), and accumulated energy in food (4.06 Kcal/g). The survival of probiotic cells in juice tablets supplemented with the probiotic products that were stored at room temperature was lower than storage in the refrigerator for 90 days ( $p \leq 0.05$ ).

**Keywords:** vegetable and fruit tablets, probiotic, foam-mat

## กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้ประสบความสำเร็จลุล่วงอย่างสมบูรณ์ได้ด้วยความกรุณาและอนุเคราะห์ของผู้ช่วยศาสตราจารย์ดร.ปาลิตา ตั้งอนุรัตน์ และคณะกรรมการสอบ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.เจริญ เจริญชัย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ดร.อินทิรา ลิจันทรพร และผู้ช่วยศาสตราจารย์ มัสลิน นาคไพจิตร ที่คอยให้คำชี้แนะและแนวทางในการปฏิบัติต่างๆ ทั้งในทางทฤษฎี การปฏิบัติงาน ขั้นตอนการทดลอง การจัดทำรูปเล่มและให้ข้อเสนอแนะในการปรับปรุงข้อบกพร่องต่างๆ เพื่อให้เกิดความสมบูรณ์จนสำเร็จได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ คณาจารย์และเจ้าหน้าที่สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารทุกท่านที่คอยอำนวยความสะดวกแก่ผู้จัดทำในทุกๆด้าน ตลอดจนให้คำปรึกษา คำแนะนำ และกำลังใจในการศึกษาวิจัย

ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา และครอบครัว ผู้เลี้ยงดู ให้กำลังใจ ให้โอกาส และทุนในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่าวิทยานิพนธ์เล่มนี้จะเป็นประโยชน์สำหรับผู้สนใจในงานหากวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้อาจตกบกพร่อง หรือมีข้อผิดพลาดประการใด ทางผู้วิจัยกราบขออภัยมา ณ โอกาสนี้ด้วย



ชาříญกร พระคัมครอง

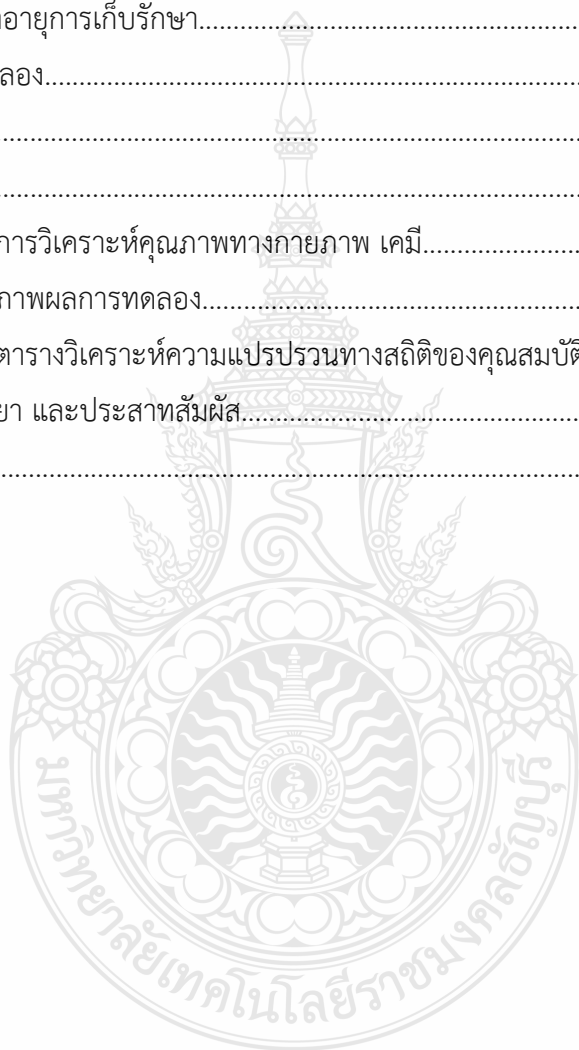
## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	(3)
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	(4)
กิตติกรรมประกาศ.....	(5)
สารบัญ.....	8
สารบัญตาราง.....	10
สารบัญภาพ.....	12
บทที่ 1 บทนำ.....	13
1.1 ที่มาและความสำคัญ.....	11
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	12
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	12
1.4 กรอบแนวคิดในการวิจัย.....	12
บทที่ 2 ตรวจสอบเอกสาร.....	13
2.1 น้ำผลไม้.....	13
2.2 แบคทีเรียกรดแลคติก (lactic acid bacteria : LAB).....	15
2.3 เทคโนโลยีเอนแคปซูเลชัน (encapsulation technology) .....	24
2.4 การทำแห้ง (drying) .....	26
2.5 คุณสมบัติของอาหารผงที่มีต่อการคืนรูป.....	30
2.6 ยาเม็ด.....	32
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....	34
3.1 วัตถุประสงค์ อุปกรณ์และสารเคมี.....	34
3.2 วิธีการทดลอง.....	35
3.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....	38
3.4 สถานที่ทำการวิจัย.....	38
บทที่ 4 ผลและอภิปรายผลการวิจัย.....	39
4.1 ศึกษาคุณลักษณะของโฟม.....	39
4.2 ศึกษาการรอดชีวิตของเซลล์โพรไบโอติกที่ได้รับการตรึงเซลล์.....	40



## สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
4.3 ศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมต่อการรอดชีวิตของเซลล์โพรไบโอติกใน การทำแห้งแบบโฟมแมท.....	42
4.4 ผลการการศึกษาการผลิตน้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก.....	46
4.5 การศึกษาอายุการเก็บรักษา.....	49
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....	49
บรรณานุกรม.....	51
ภาคผนวก.....	56
ภาคผนวก ก การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมี.....	57
ภาคผนวก ข ภาพผลการทดลอง.....	65
ภาคผนวก ค ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี จุลชีววิทยา และประสาทสัมผัส.....	69
ประวัติผู้เขียน.....	76



## สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ค่าวิเคราะห์คุณสมบัติของโพนน้ำผักผลไม้.....	41
ตารางที่ 2 ค่าวิเคราะห์การวัดค่าสีของเซลล์โพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มและไม่ถูกห่อหุ้มที่อุณหภูมิ ทำแห้งแตกต่างกัน.....	43
ตารางที่ 3 ค่าวิเคราะห์การวัดค่า Aw.....	44
ตารางที่ 4 จำนวนเซลล์โพรไบโอติกก่อนและหลังอบแห้งด้วยวิธีโพน-แมทที่อุณหภูมิต่างๆ.....	45
ตารางที่ 5 ผลคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์น้ำผักผลไม้อัดเม็ด เสริมโพรไบโอติก.....	46
ตารางที่ 6 การรอดชีวิตของเซลล์โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์น้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก.....	47
ตารางที่ ค.7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของคุณสมบัติของโพนน้ำผักผลไม้.....	70
ตารางที่ ค.8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการ ทำแห้งแบบโพนแมท.....	70
ตารางที่ ค.9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของการวัดค่าสีของเซลล์โพรไบโอติกที่ ถูกห่อหุ้มและไม่ถูกห่อหุ้มที่อุณหภูมิทำแห้งแตกต่างกัน.....	71
ตารางที่ ค.10 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของการวัดค่า Aw.....	71
ตารางที่ ค.11 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของจำนวนเซลล์โพรไบโอติกก่อน และหลังอบแห้งด้วยวิธีโพน-แมทที่อุณหภูมิต่างๆ.....	72
ตารางที่ ค.12 จำนวนเซลล์โพรไบโอติกก่อนแห้งด้วยวิธีโพน-แมทที่อุณหภูมิต่างๆ.....	72
ตารางที่ ค.13 จำนวนเซลล์โพรไบโอติกหลังอบแห้งด้วยวิธีโพน-แมทที่อุณหภูมิต่างๆ.....	73
ตารางที่ ค.14 ผลการวิเคราะห์ความแข็งจากเครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส.....	73
ตารางที่ ค.15 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของผลคะแนนการยอมรับทางประสาท สัมผัสด้านสีของผลิตภัณฑ์น้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก.....	73
ตารางที่ ค.16 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของผลคะแนนการยอมรับทางประสาท สัมผัสด้านกลิ่นของผลิตภัณฑ์น้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก.....	74
ตารางที่ ค.17 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของผลคะแนนการยอมรับทางประสาท สัมผัสด้านรสชาติของผลิตภัณฑ์น้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก.....	74

## สารบัญตาราง(ต่อ)

หน้า

ตารางที่ ค.18 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของผลคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์น้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก.....	74
ตารางที่ ค.19 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของผลคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านความชอบโดยรวมของผลิตภัณฑ์น้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก.....	75
ตารางที่ ค.20 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของการรอดชีวิตของเซลล์โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์น้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก.....	75



## สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 แผนภาพกระบวนการทำแห้งแบบโฟม-แมท.....	27
ภาพที่ 2 จำนวนเซลล์รอดชีวิตของ <i>Ped. pentosaceus</i> ที่ไม่ผ่านการตรึงเซลล์ (free cells PP) และผ่านการตรึงเซลล์ (immobilized cells PP) และ <i>Lb. plantarum</i> ที่ไม่ผ่านการตรึงเซลล์ (free cells LB) และผ่านการตรึงเซลล์ (immobilized cells LB) ในสภาวะที่มีกรด และเกลือแร่แบบต่อเนื่อง.....	39
ภาพที่ 3 ผลของอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการทำแห้งแบบโฟมแมท.....	42
ภาพที่ ข.4 ลักษณะโฟม.....	66
ภาพที่ ข.5 ลักษณะโฟมหลังอบ.....	66
ภาพที่ ข.6 ลักษณะผงน้ำผักผลไม้.....	66
ภาพที่ ข.7 การอัดเม็ดน้ำผักผลไม้.....	67
ภาพที่ ข.8 ลักษณะเม็ดน้ำผักผลไม้.....	67
ภาพที่ ข.9 ลักษณะบรรจุภัณฑ์.....	67
ภาพที่ ข.10 แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์น้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโปรไบโอติก.....	68



## บทที่ 1

### บทนำ

#### 1.1 ที่มาและความสำคัญ

ปัจจุบันคนส่วนใหญ่ใส่ใจดูแลสุขภาพตัวเองกันมากขึ้น ดังนั้นอาหารสุขภาพจึงเป็นที่นิยม เนื่องจากมีสรรพคุณที่ให้ประโยชน์ต่างๆ เช่น ลดความอ้วน บำรุงผิวพรรณ ช่วยในการขับถ่าย โดยส่วนมากเน้นอาหารที่ทำมาจากผักหรือผลไม้เนื่องจากมีวิตามิน เกลือแร่ และเส้นใย โดยงานวิจัยนี้จะมุ่งเน้นไปทางด้านน้ำผลไม้ เนื่องจากประเทศไทยมีทรัพยากรธรรมชาติที่อุดมสมบูรณ์ เป็นดินแดนที่เหมาะสมแก่การเพาะปลูกและทำเกษตรกรรม มีสภาพภูมิอากาศที่แตกต่างกันทำให้เกิดความหลากหลายในการกระจายของผลผลิตไม้เมืองร้อนออกสู่ตลาดอย่างต่อเนื่องตลอดทั้งปี พื้นที่ปลูกไม้ผลตามภาคต่างๆ ของประเทศไทยมีกว่า 9.68 ล้านไร่ อีกทั้งน้ำผลไม้ยังเป็นที่ยอดนิยมในกลุ่มคนที่รักสุขภาพ โพรไบโอติกนี้เป็นแบคทีเรียในสภาพที่ยังมีชีวิตอยู่ เมื่อรับประทานในปริมาณที่พอเหมาะช่วยส่งเสริมสุขภาพของผู้บริโภคในด้านต่างๆ เช่น ช่วยในการทำงานของลำไส้ ลดอาการท้องผูกได้ ช่วยเพิ่มการดูดซึมแคลเซียมในระบบย่อยอาหาร ช่วยลดระดับของคอเลสเตอรอล ฟอสฟอลิพิดและไตรกลีเซอไรด์ในเลือด เป็นต้น [1] ซึ่งวิธีการทำน้ำผักผลไม้ (แครอท ส้ม และสับปะรด) ของงานวิจัยนี้นั้นจะทำเป็นผลิตภัณฑ์น้ำผักผลไม้แบบผงที่มีการเสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ห่อหุ้มด้วยเทคนิคเอนแคปซูเลชันเพื่อปกป้องเซลล์ก่อนนำมาอบแห้งแบบโพรแมท ซึ่งการอบแห้งแบบโพรแมทนั้นเป็นวิธีการอบอาหารที่มีลักษณะเหลว โดยนำไปตีให้เป็นฟองที่คงตัวก่อนแล้วนำไปอบด้วยเตาอบแบบลมร้อน เมื่ออาหารแห้งแล้วจะสามารถแกะห่อออกมาเป็นผงได้ [2] เป็นวิธีที่ใช้ต้นทุนต่ำในการทำแห้งผลิตภัณฑ์ จากนั้นจึงนำไปตอกเม็ดเพื่อให้ได้เป็นเม็ดอมเพื่อให้สะดวกต่อการรับประทาน

งานวิจัยนี้จึงสนใจนำน้ำผักผลไม้มาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ โดยการทำแห้งแบบโพรแมทและนำมาทำให้อยู่ในรูปของน้ำผักผลไม้อัดเม็ดซึ่งมีการเสริมจุลินทรีย์กลุ่มโพรไบโอติกโดยอาศัยเทคโนโลยีการห่อหุ้มเซลล์โพรไบโอติกด้วยเทคนิคเอนแคปซูเลชันเพื่อปกป้องเซลล์ระหว่างการทำแห้งแบบโพรแมทและเป็นแนวทางในการเพิ่มมูลค่าและคุณประโยชน์ของผลิตภัณฑ์น้ำผักผลไม้อัดเม็ด

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาการรอดชีวิตของเซลล์โพรไบโอติกที่ผ่านการตรึงเซลล์ด้วยโซเดียมอัลจิเนตในระบบทางเดินอาหารจำลอง

1.2.2 เพื่อศึกษาคุณลักษณะของโพนที่เหมาะสมต่อการทำแห้งแบบโพนแมท

1.2.3 เพื่อศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมต่อการรอดชีวิตของเซลล์โพรไบโอติกในการทำแห้งแบบโพนแมท

1.2.4 เพื่อศึกษาความเข้มข้นของมอลโตเด็กซ์ทรินต่อคุณภาพระหว่างการเก็บรักษาและการยอมรับของผู้บริโภคน้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก

## 1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1.3.1 ศึกษาคุณลักษณะโพนของน้ำผักผลไม้รวม (แครอท ส้ม และสับปะรด) โดยเติมสารก่อโพน เมทิล-เซลลูโลส (1, 1.5 และ 2 w/v) และไซขาว (1, 2 และ 3 w/v) ที่เหมาะสมต่อการทำแห้งแบบโพนแมท ได้แก่ อัตราการไหลและความคงตัวของโพน

1.3.2 ศึกษาการรอดชีวิตของเซลล์โพรไบโอติกหลังจากการตรึงเซลล์ต่อสภาวะที่มีกรดสูงและเกลือแร่แบบต่อเนื่อง

1.3.3 ศึกษาอุณหภูมิ (55, 60, 65, และ 70 องศาเซลเซียส) และเวลาที่เหมาะสมต่อการรอดชีวิตของโพรไบโอติกที่ผ่านและไม่ผ่านการตรึงเซลล์ในการทำแห้งแบบโพนแมท

1.3.4 ศึกษาลักษณะความพึงพอใจของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์น้ำผักผลไม้เสริมโพรไบโอติกอัดเม็ด

## 1.4 กรอบแนวคิดในการวิจัย

โพรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายช่วยในการขับถ่ายและปรับสมดุลภายในมักพบในผลิตภัณฑ์นม ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกที่จะนำโพรไบโอติกมาใช้สร้างผลิตภัณฑ์ที่ตอบโจทย์กับคนรุ่นใหม่ใส่ใจสุขภาพ กลุ่มผู้บริโภคมังสวิรัติโดยการนำโพรไบโอติกที่มีมาผ่านการตรึงเซลล์ด้วยโซเดียมอัลจิเนตแล้วนำไปผสมน้ำผักผลไม้เพื่อทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบโพนแมทแล้วจึงนำไปอัดเม็ดเพื่อให้ง่ายต่อการรับประทานไม่ส่งผลต่อผู้บริโภคที่แพ้น้ำตาลแลคโตสเพิ่มความหลากหลายและมูลค่าให้กับผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร

## บทที่ 2

### ตรวจเอกสาร

#### 2.1 น้ำผลไม้

น้ำผลไม้ หมายถึง ของเหลวที่สกัดมาจากเซลล์หรือเนื้อเยื่อของผลไม้โดยกรรมวิธีเชิงกล อยู่ในลักษณะพร้อมบริโภคได้ มีลักษณะใสหรือขุ่นมีเนื้อผลไม้ผสมอยู่ด้วย น้ำผลไม้ที่อยู่ในภาชนะบรรจุต้องผ่านกรรมวิธีการถนอมอาหาร คุณลักษณะของน้ำผลไม้จะต้องมีสี กลิ่น และรสตามปกติธรรมชาติของผลไม้ นั้น และไม่มีสารปนเปื้อนและวัตถุเจือปนอาหาร ยกเว้นตามความจำเป็นของกรรมวิธีการผลิต น้ำผลไม้สามารถแบ่งเป็น 5 ประเภทใหญ่ๆ ได้แก่ น้ำผลไม้แท้ (fruit juice) น้ำผลไม้ตัดแปรงหรือน้ำผลไม้กึ่งแท้ (modified fruit juice) น้ำผลไม้ผสมเนื้อผลไม้ (fruit puree) น้ำผลไม้ผงสำเร็จรูปและน้ำผลไม้เทียม [3]

##### 2.1.1 กรรมวิธีการผลิตน้ำผลไม้พร้อมดื่ม

หลักในการผลิตน้ำผลไม้ คือ การแยกส่วนของของเหลวในผลไม้ พร้อมกับสารประกอบที่ให้กลิ่น รส รวมทั้งสารอาหารที่ละลายได้ในของเหลวนั้นออกมาเช่น น้ำตาล กรดเกลือแร่ วิตามินต่างๆ เป็นต้น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของผลไม้และกรรมวิธีการผลิตที่เหมาะสมซึ่งประกอบด้วยขั้นตอนสำคัญ ดังนี้

##### 2.1.1.1 การสกัดน้ำผลไม้ (juice extraction) วิธีการสกัดน้ำผลไม้มี 2 วิธีคือ

- การสกัดโดยวิธีทางกล mechanical extraction หมายถึง การใช้แรงไปทำให้เซลล์เนื้อเยื่อผลไม้ฉีกขาด แล้วทำให้ส่วนของน้ำผลไม้ไหลออกมา ได้แก่ การบีบ ทีบ อัด ตัด ตีปั่น และสับ การสกัดน้ำผลไม้โดยวิธีนี้เหมาะสมกับผลไม้ที่มีน้ำปริมาณมากมีสารละลายได้ในของเหลวเช่น ฝรั่ง แดงโม ส้ม สับปะรด และอ้อย เป็นต้น

- การสกัดโดยวิธีทางชีวภาพ biological extraction หมายถึง การใช้สารชีวภาพ คือ เอนไซม์ไปย่อยสลายเนื้อเยื่อผลไม้ให้มีโมเลกุลขนาดเล็กเพียงพอที่จะปลดปล่อยของเหลวหรือน้ำผลไม้ ซึ่งมีส่วนของสารอาหาร สารให้กลิ่นรส สี ละลายอยู่ โดยไม่ต้องใส่แรงกดเนื้อเยื่อ โดยทั่วไปเอนไซม์ที่ใช้จะเป็นเอนไซม์เพคติเนส ซึ่งพบทั่วไปในพืชชั้นสูงทำหน้าที่ย่อยสลายเนื้อเยื่อผลไม้ ทำให้ลักษณะความคงตัวของเนื้อสัมผัสของผลไม้เสียไป ผลไม้จะนิ่มลงทำให้มีปริมาณน้ำมากขึ้น ปัจจุบันมีการผลิตเอนไซม์เพคติเนสทางการค้าจากการสกัดจากจุลินทรีย์

### 2.1.1.2 การทำน้ำผลไม้ให้ใส (clarification) มีวิธีการต่างๆดังนี้

- การใช้ความร้อน ความร้อนทำให้สารแขวนลอยเกิดการตกตะกอนมีผลให้การกรองทำได้ง่ายขึ้น นอกจากนี้ความร้อนจากการพาสเจอร์ไรส์ (pasteurization) ยังมีผลให้น้ำผลไม้ใสขึ้นเช่นกัน

- การใช้สารช่วยตกตะกอน (fining agent) น้ำผลไม้บางชนิดทำการกรองได้ยากเนื่องจากเนื้อผลไม้แขวนลอยและไม่ตกตะกอน สามารถทำให้ใสได้โดยการเติมสารช่วยตกตะกอน ได้แก่ ไข่ขาว เบนโทไนท์ และเจลาติน เป็นต้นโดยสารช่วยตกตะกอนจะไปดูดซับสารประกอบต่างๆที่แขวนลอยอยู่ในน้ำผลไม้ เช่น สารประกอบเพคติน รงควัตถุ และโปรตีน แล้วตกตะกอนทำให้ได้น้ำผลไม้ที่ใส

- การใช้เอนไซม์ การเติมเอนไซม์เพคตินเนสในน้ำผลไม้ในขั้นตอนการทำให้ใสเพื่อย่อยเพคตินในน้ำผลไม้ทำให้ปริมาณเนื้อผลไม้ที่แขวนลอยอยู่ในน้ำผลไม้มีปริมาณลดลง เป็นผลให้ความหนืดของน้ำผลไม้ลดลงและช่วยทำให้การกรองง่ายขึ้น

- การใช้เครื่องเหวี่ยง อาจใช้ร่วมกับการใช้สารช่วยตกตะกอนหรือใช้เครื่องเหวี่ยง เพียงอย่างเดียว วิธีนี้จะแยกได้เฉพาะตะกอนที่มีขนาดค่อนข้างใหญ่

- การกรอง เป็นวิธีที่ทำให้น้ำผลไม้มีความใส อาจลองหลังผ่านการใช้สารช่วยตกตะกอนหรือไม่ก็ได้ ซึ่งการใช้ผ้าขาวบางกรองเป็นวิธีการกรองที่นิยมใช้มากที่สุด

### 2.1.1.3 การถนอมรักษาน้ำผลไม้ (preservation)

เนื่องจากน้ำผลไม้อยู่ในกลุ่มอาหารประเภทกรด acid food อาหารประเภทนี้จะมีค่า pH อยู่ระหว่าง 3.7 ถึง 4.5 สามารถฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ได้โดยใช้ความร้อนระดับพาสเจอร์ไรส์ การพาสเจอร์ไรส์ เป็นกระบวนการให้ความร้อนที่อุณหภูมิไม่สูงมากนัก (100 องศาเซลเซียสหรือต่ำกว่า) โดยมีวัตถุประสงค์ในการทำลายจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุการเสื่อมเสียส่วนใหญ่ในอาหาร ได้แก่ vegetative cell ของจุลินทรีย์พวกยีสต์ รา และแบคทีเรียแลคติก ทำลายพวกจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogens) ได้หมด เช่น *Escherichia coli* เป็นต้น และทำลายเอนไซม์ที่ไม่ต้องการ ได้แก่ เพคตินเอสเทอเรส พอลิกลาแลคทูโรเนส เป็นต้น การพาสเจอร์ไรส์สามารถแบ่งเป็น 2 ระบบ คือ ระบบช้า อุณหภูมิต่ำเวลานาน (low-temperature-long-time, LTLT) เช่น ที่อุณหภูมิ 79 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที และระบบเร็วอุณหภูมิสูงเวลาสั้น (high-temperature-short-time, HTST) เช่น ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส นาน 15 วินาที หรือ 88 องศาเซลเซียส นาน 1 วินาที [3]



## 2.2 แบคทีเรียกรดแลคติก (lactic acid bacteria : LAB)

แบคทีเรียกรดแลคติกเป็นแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับอาหารหมัก พบทั่วไปในธรรมชาติและพบมากในน้ำนม เนื้อสัตว์ ส่วนในผักและพืชพบบ้างเล็กน้อย นอกจากนี้ยังสามารถยับยั้งการเจริญและทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสียรวมทั้งจุลินทรีย์ก่อโรคอีกด้วย แบคทีเรียกรดแลคติกส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียที่ปนเปื้อนมาจากผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรและเครื่องมือที่เกี่ยวข้องกับการเกษตร ปัจจุบันมีการใช้ประโยชน์จากแบคทีเรียกลุ่มนี้เพื่อเป็นกล้าเชื้อในกระบวนการผลิตอาหารหมักหลายชนิด เช่น ใส้กรอกหมัก แหนม ผลิตภัณฑ์นมหมัก (dairy product) ผักดองและผลไม้ดอง (pickled fruit and vegetables) และหญ้าหมัก (silage) เป็นต้น และในอุตสาหกรรมอาหารชนิดอื่นๆอีกมากมาย กล้าเชื้อตั้งต้นจึงมีผลทำให้เกิดการพัฒนากระบวนการหมักและผลิตภัณฑ์หมักชนิดต่างๆให้มีคุณลักษณะที่ดี [4]

### 2.2.1 ลักษณะของแบคทีเรียกรดแลคติก

แบคทีเรียกรดแลคติกเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่เคลื่อนที่ ลักษณะสัณฐานวิทยาพบว่ามีทั้งรูปร่างแท่ง (rod) และกลม (cocci) ซึ่งสามารถสังเคราะห์กรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์หลักระหว่างกระบวนการหมักคาร์โบไฮเดรต [5] การจัดเรียงกลุ่มของแบคทีเรียกรดแลคติกในสกุลต่างๆ ขึ้นอยู่กับรูปร่าง ลักษณะ รูปแบบของการหมักน้ำตาลชนิดต่างๆ ความสามารถในการทนเกลือ การทนต่อกรดหรือด่าง และการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ [6] จากความสามารถในกระบวนการเมตาบอลิซึมจึงจัดแบคทีเรียกรดแลคติกเป็นแบคทีเรียกลุ่ม heterogeneous ซึ่งมีความสามารถปรับตัวต่อสภาพแวดล้อมในกระบวนการหมักได้อย่างกว้างขวาง และสามารถนำมาใช้ได้อย่างปลอดภัย โดยได้ยอมรับว่าเป็นจุลินทรีย์ที่ปลอดภัย (generally recognized as safe : GRAS) [7] นอกจากนี้แบคทีเรียกรดแลคติกมีบทบาทต่อกระบวนการย่อยโปรตีน เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในการดูแลสุขภาพร่างกายหรือเพื่อนำมาพัฒนาเป็นวัคซีนชนิดใหม่ อีกทั้งยังมีคุณสมบัติในการใช้คาร์โบไฮเดรตที่ซับซ้อน หรือกลุ่มพรีไบโอติก เช่น ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ซึ่งไม่สามารถย่อยสลายได้โดยมนุษย์และจุลินทรีย์อื่นๆ

จากการใช้ประโยชน์ของกล้าเชื้อจุลินทรีย์ในหลายด้าน ทำให้มีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมการหมักมากขึ้น ได้กำหนดกล้าเชื้อที่ต้องเป็นกล้าเชื้อที่บริสุทธิ์ไม่เป็นพิษและไม่ทำให้เกิดโรค หรือปนเปื้อนสารเคมีที่อาจทำให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพ กล้าเชื้อที่ดีต้องมีกิจกรรมการหมักที่ดี เช่น การสร้างกรดซึ่งมีผลต่อกลิ่นรส มีผลต่อสีต่างๆที่ต้องการ มีความคงตัวของผลิตภัณฑ์สูง กล้าเชื้อที่ดีไม่ควรสร้างสารที่มีผลในการยับยั้งกิจกรรมการหมัก [8]

### 2.2.2 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับอาหารหมักดอง

จุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารหมัก มีทั้งแบคทีเรีย ยีสต์และรา แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับอาหารหมักมากที่สุด คือ แบคทีเรียแลคติก ซึ่งมีบทบาทสำคัญในอาหารหมักมากมายหลายประเภท เช่น ผลิตภัณฑ์นมหมัก เนย ผักดอง ใส้กรอก อาหารหมักพื้นเมือง เช่น น้ำปลา

บูดู ปลาจ๋า แหนม เป็นต้น แบคทีเรียที่จัดในกลุ่มนี้ได้แก่ *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* และ *Streptococcus*

แบคทีเรียแลคติก ถูกใช้ในการเตรียมและถนอมอาหารประเภทเนื้อนุ่มและผักมาเป็นเวลานาน ซึ่งแบคทีเรียแลคติกจะผลิตสารต่างๆเช่น กรดอินทรีย์ โปรตีนเอส สารให้กลิ่นรส และสารที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียอื่นโดยเฉพาะแบคทีเรียที่มีความสัมพันธ์ใกล้ชิด ที่รู้จักดีคือ แบคเทอริโอซิน (bacteriocin) ซึ่งเป็น bactericidal protein นอกจากนี้ยังมีรายงานของ Yang *et al.* (1997) [9] พบว่า *Lactobacillus* 13 สายพันธุ์ และ *Pediococcus* 5 สายพันธุ์ สามารถสร้างสารยับยั้ง เป็น 2-pyrrodone-5-carboxylic acid (PCA) ซึ่ง PCA จะสามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้หลายชนิดเช่น *Enterobacter cloacae* 1575, *Pseudomonas fluorescens* KJLG. และ *P. putida* 1560-2 ผลการยับยั้งของ PCA ไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อได้รับอุณหภูมิขึ้น แต่จะถูกทำลายเมื่อเติม ammonium hydroxide และ PCA จะมีผลการยับยั้งน้อยกว่ากรดแลคติกเล็กน้อย

แบคทีเรียแลคติกมีบทบาทสำคัญในการถนอมอาหาร และผลิตอาหารที่ดีต่อสุขภาพอนามัย ซึ่งพบได้ทั้งในอาหารหมักดองของพืช เช่น กระหล่ำปลีดอง แตงกวาดอง และประเภทสัตว์ เช่น ปลา กุ้ง เนื้อ การหมักด้วยแบคทีเรียแลคติกเป็นวิธีที่เสียค่าใช้จ่ายน้อย ในการเตรียมอาหารเหล่านี้เพื่อบริโภคอาจผ่านความร้อนเล็กน้อยหรือไม่ก็ได้ถือเป็นการประหยัดพลังงาน และมีข้อดี สามารถยับยั้งเชื้อที่ทำให้อาหารเน่าเสีย หรือสร้างสารพิษได้ การสร้างกรดยังทำให้อาหารรสชาติที่จำเพาะและเพิ่มคุณค่าทางอาหารอีกด้วย อาหารหมักที่มีแบคทีเรียแลคติกเกี่ยวข้องจึงเป็นอาหารของประชากรโลกที่พบในทุกๆทวีป

แบคทีเรียแลคติก เป็นแบคทีเรียชนิดที่เติบโตในอาหารสังเคราะห์ที่มีสารอาหารมาก แต่ก็สามารถเติบโตได้ในแหล่งอาหารต่างๆไป และจะทำให้ pH ของอาหารต่ำลงอย่างรวดเร็วจนถึงจุดที่ทำให้จุลินทรีย์ชนิดอื่นไม่สามารถเติบโตได้ พบว่า *Leuconostoc* และ *Streptococcus* ที่สร้างกรดแลคติกจะทำให้ pH ต่ำสุดที่ 4-4.5 ส่วน *Lactobacillus* และ *Pediococcus* บางสายพันธุ์ จะทำให้ pH ต่ำประมาณ 3.5 ก่อนจะมีการยับยั้งการเติบโตของตัวเอง [10]

Steinkrus (1992) [11] ได้ทำการแยกเชื้อแบคทีเรียแลคติกจากกะหล่ำปลีและผักกาดดองแล้วคัดเลือกเชื้อจำนวนทั้งสิ้น 6 สายพันธุ์ ตามลักษณะการหมักแบบ homo fermentative และ hetero fermentative การทนเกลือ อัตราการสร้างกรดและใช้เชื้อทั้ง 6 สายพันธุ์เป็นเชื้อตั้งต้นในการดองผักต่างๆ พบว่า น้ำดองผักมีความเป็นกรดสูงร้อยละ 0.6-0.7 เมื่อดองผักได้ 4 วัน ที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียสและเมื่อดองผักด้วยแบคทีเรียแลคติกดังกล่าว โดยใส่เกลือร้อยละ 4, CaCl<sub>2</sub> ร้อยละ 0.1 และกรดซอร์บิกร้อยละ 0.1 พบว่าหลังดองผักไว้ 2 เดือน ที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส ผักที่ดองก็ไม่มีกลิ่นเน่าเสียยังคงสีสดเหมือนธรรมชาติและมีรสชาติเป็นที่ดีอีกด้วย

2.2.3 แแบคทีเรียแลคติกสามารถแบ่งตามการใช้อาหารและการสร้างอาหารได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่

2.2.3.1 โฮโมเฟอร์เมนเตทีฟแบคทีเรีย เป็นแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกได้ในปริมาณ ร้อยละ 85 หรือมากกว่าจากการหมักคาร์โบไฮเดรตโดยไม่ต้องการไธมินในการเจริญเติบโต เจริญได้ที่ 45 องศาเซลเซียส หรือ 15 องศาเซลเซียส สร้างเอนไซม์อัลโดเลส แต่ไม่สร้างเอนไซม์ฟอสโฟคีโตเลส ได้แก่ *Lactobacillus sake*, *L. acidilactici*, *L. casei* เป็นต้น

2.2.3.2 เฮเทอโรเฟอร์เมนเตทีฟ เป็นแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก กรดอะซิติก แอลกอฮอล์จากการหมักคาร์โบไฮเดรต ต้องการใช้ไธมินในการเจริญเติบโต เจริญและสร้างเอนไซม์ฟอสโฟคีโตเลส แต่ไม่สร้างเอนไซม์อัลโดเลส ได้แก่ *Lactobacillus plantarum*, *L. fermentum*, *L. brevis* เป็นต้น [5]

2.2.4 ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในแบคทีเรียแลคติก

แบคทีเรียแลคติกถูกนำไปใช้ในการผลิตอาหารหมักจากผลิตผลทางการเกษตรหลาย ชนิด ได้แก่ ผลิตภัณฑ์นม เช่น นมเปรี้ยว โยเกิร์ต ผลิตภัณฑ์ผักและผลิตภัณฑ์ผลไม้ดอง เช่น ผักกาดดอง และใช้ในผลิตภัณฑ์ปลา เช่น ปลาร้า ปลาสาม และยังใช้ในผลิตภัณฑ์สัตว์ด้วย เช่น แหนม ไส้กรอกเปรี้ยว นอกจากนี้มีการทำยาลูกอม เพื่อให้ได้คุณภาพดีมีคุณค่าสูง เหมาะกับการเลี้ยงสัตว์ ในการทำอาหารหมักดองโดยใช้แบคทีเรียแลคติกมีรายละเอียดดังนี้ [12]

2.2.4.1 ผลิตภัณฑ์ทำนม (dairy products)

ผลิตภัณฑ์นมมักเตรียมได้จากนมหลายชนิดอาจเป็นนมสด นมขาดมันเนย นมผงหรือนมข้นก็ได้ นำมาผ่านการโฮมจิโนซ์เพื่อให้อนุภาคของไขมันเล็กลง แล้วนำมาฆ่าเชื้อด้วยการสเตอริไลซ์แล้วหมักต่อด้วยจุลินทรีย์ที่ผ่านการคัดเลือกแล้ว ซึ่งอาจจะเป็นแบคทีเรียหรือยีสต์หรือทั้งสองชนิดมารวมกัน ในการหมักนมเกิดได้ 2 แบบ คือ เป็นการหมักที่ให้กรดเพียงอย่างเดียวกับ kefir type เป็นการหมักที่ให้กรดก๊าซและแอลกอฮอล์ให้เกิดขึ้นเล็กน้อย หลักการหมักด้วยแบคทีเรียกรดแลคติก คือ การสร้างกรดแลคติกของกล้ำเชื้อในการหมักให้มีพีเอชลดลงและทำให้เกิดการจับตัวของโปรตีนในนม เกิดเป็น curd คือ ทำให้รสชาติของผลิตภัณฑ์มีรสเปรี้ยวเกิดขึ้นอย่าง เช่น นมเปรี้ยว โยเกิร์ต เชื้อแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการผลิตโยเกิร์ต ได้แก่ *Streptococcus salivarius subsp. Thermophilus* และ *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* การผลิตโยเกิร์ตจะมีการหมักเกิดขึ้นภายในเวลา 4 ชั่วโมง และจะเจริญอย่างรวดเร็ว เมื่อค่าพีเอชลดลงจาก 6.3-6.5 เป็น 5.5 ของการเจริญ *Streptococci* จะลดลงและ *Lactobacilli* จะเจริญขึ้นเมื่อสิ้นสุดการหมักความเป็นกรดของผลิตภัณฑ์ และจำนวนเชื้อของแบคทีเรียแลคติกทั้งสองชนิดนี้มีประมาณ 0.90-0.95 เพอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังมีการหมักที่ทำให้มีรสเปรี้ยวเล็กน้อย คือ นมหมักที่เรียกว่า คีเฟอร์ ซึ่งเกิดจากการหมักนมกับหัวเชื้อจุลินทรีย์ ในการหมักครั้งนี้จะประกอบด้วย แบคทีเรียกรดแลคติกและยีสต์ที่ยึดเกาะกันเป็นสารที่มี

ลักษณะเป็นเมือกเหนียว การอยู่ร่วมกันของกล้าเชื้อคีเฟอร์เป็นแบบ symbiotic ถ้าหากเชื้อคีเฟอร์อยู่ในน้ำนมสามารถที่จะเพิ่มจำนวนได้ การหมักคีเฟอร์ที่เกิดจากยีสต์และแบคทีเรียแลคติกจะทำหน้าที่ในการหมักนมให้เป็นสารประกอบหลายอย่าง ได้แก่ กรดแลคติก คาร์บอนไดออกไซด์และเอทานอลเล็กน้อย และนอกจากนี้ยังจะได้สารที่มีกลิ่นหอม กลิ่นรสจากคีเฟอร์จากนมหลายชนิดจะมีกลิ่นที่แตกต่างกัน ซึ่งจะขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น ชนิดของนมที่จะใช้ในการหมักองค์ประกอบของไขมันในนม องค์ประกอบของกล้าเชื้อในคีเฟอร์ตลอดจนการใช้เทคโนโลยีในการผลิตในแต่ละครั้ง ซึ่งจะเกิดประโยชน์ที่ได้จากการหมักนมที่เป็นเครื่องดื่มต่อสุขภาพและยังรักษาความผิดปกติของเมแทบอลิซึม และรักษาโรคมะเร็งได้ และยังมีประโยชน์ในการลดการเจริญเติบโตของมะเร็ง ใช้เป็นอาหารของทารกได้และยังมีผลกระตุ้นภูมิคุ้มกันให้แก่ร่างกาย [13]

#### 2.2.4.2 ผลิตภัณฑ์ผักดองเปรี้ยว (fermented vegetable products)

การทำผักดอง เป็นการทำให้ผักสามารถเก็บไว้ให้บริโภคได้นาน โดยการนำมาแปรรูปและยังร่วมไปถึงการนำผลไม้มาดองด้วย ซึ่งในการดองส่วนใหญ่เกิดจากกิจกรรมของแบคทีเรียแลคติกผักที่นิยมมาดองส่วนมากจะเป็นกะหล่ำปลี หอม แดงกวา หน่อไม้ เป็นต้น ส่วนผลไม้ที่นิยมใช้ในการดอง ได้แก่ มะขาม มะม่วง เป็นต้น ปัจจุบันการดองเป็นอุตสาหกรรมการค้าในประเทศไทยที่เป็นที่รู้จักของคนทั่วไป [14]

#### 2.2.4.3 ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ (meat products)

เป็นการหมักเนื้อที่ใช้แบคทีเรียแลคติก เช่น แหนม ไส้กรอก ซึ่งแหนมเป็นการหมักที่แตกต่างจากผลิตภัณฑ์อื่น เนื่องจากเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณไขมันต่ำ ใช้ระยะเวลาในการทำสั้น ไม่มีการทำให้แห้ง ผลิตจากเนื้อหมู หนังหมู ข้าวสุก กระเทียม และส่วนผสมอื่นๆ มาคลุกเคล้าให้เข้ากันแล้วใส่ถุงพลาสติก ในปัจจุบันนิยมบรรจุลงในหลอดพลาสติกเพื่อป้องกันการระเหยของน้ำในระหว่างการหมักมีกรดแลคติกเกิดขึ้นทำให้ค่าพีเอชลดลง [15] นอกจากนี้ยังทำให้การเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนร่วมถึงจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคลดลงด้วย ซึ่งผลการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่เกิดจากสารที่ผลิตของต้นกล้าเชื้อหรือแบคทีเรียที่พบในแหนม เช่นในกลุ่มแบคทีเรียโอซินโดยจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นหัวเชื้อนี้จะทำให้มีความปลอดภัยต่อการบริโภคและเก็บไว้ได้นานขึ้น แบคทีเรีย แลคติกที่เกี่ยวข้องกับการหมักแหนมที่พบ *Lactobacillus* sp. และ *Pediococcus* sp. เป็นเชื้อที่ใช้ในทางการค้าของผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก นอกจากนี้บางผลิตภัณฑ์ยังใช้ *micrococcus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่อุกรีดิวซ์ในเทอร์ตซึ่งมีผลทำให้สีของผลิตภัณฑ์มีความคงทนยิ่งขึ้น [16]

#### 2.2.4.4 ผลิตภัณฑ์ปลาหมัก (fermented fish products)

การหมักปลาเป็นการหมักที่เกี่ยวข้องกับแบคทีเรียแลคติก ได้แก่ ปลาร้า ปลาสาม หลักในการหมักจะประกอบด้วย ปลา เกลือ เช่นในการผลิตน้ำปลาจะประกอบด้วยปลาและเกลือ

เท่ากับ 3:1 ผสมให้เข้ากันแล้วบรรจุใส่ในโองแล้วปล่อยให้เกิดการหมัก 18 เดือนหรือมากกว่าก็ได้ ในระหว่างที่มีการหมักปลา ปลาจะมีการสลายตัวเอง โดยกิจกรรมของเอนไซม์ในตัวปลาได้ผลผลิตเป็นของเหลวสีน้ำตาลออกมา ซึ่งของเหลวที่ออกมานี้จะประกอบไปด้วยกรดอะมิโน โปรตีน และนิวคลีโอไทด์ที่จะทำให้ น้ำปลามีคุณค่าและคุณภาพทางโภชนาการมากขึ้นและยังนิยมใช้เป็นเครื่องปรุง ในการประกอบและถนอมอาหารหลายประเภท แบคทีเรียที่พบในอาหารหมักของปลา *Lactobacillus farcimnis.*, *L. pentosus*, *L. plantarum.* และ *Leuconostcs* sp. จุลินทรีย์ที่ดีต้องเป็นจุลินทรีย์ที่ทนต่อเกลือได้ดีและเจริญได้เล็กน้อยในระหว่างการหมัก จึงมีการช่วยเสริมรสชาติของการหมักได้เป็นอย่างดี [17]

#### 2.2.4.5 การหมักผลิตภัณฑ์จากธัญพืช (cereal products)

เป็นการหมักที่นอกเหนือจากผักและผลไม้ แต่เป็นการหมักธัญพืชซึ่งเป็นอาหารอีกกลุ่มหนึ่งที่ได้ศึกษาการหมัก เชื้อจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักธัญพืชมีหลายกลุ่มด้วยกัน ได้แก่ ยีสต์ รา และแบคทีเรีย ได้แก่ซีอิ้ว ซึ่งในการหมักส่วนใหญ่จะประกอบไปด้วยถั่วเหลืองและข้าวสาลี เชื้อจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักได้แก่ *Aspergillus oryzae* , *P. halophilus* และ *L. delbrueckii* อาหารหมักชนิดนี้ใช้เป็นเครื่องปรุงรสในกลุ่มของการหมักถั่วเป็นอาหารการหมักของคนญี่ปุ่นที่ใช้ถั่วเหลืองทั้งเมล็ดและใช้แป้งข้าวสาลี เชื้อจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ *Aspergillus*, *Streptococcus* และ *Pediococcus* เป็นต้น

เต้าเจี้ยวเป็นอีกหนึ่งตัวอย่างที่เกี่ยวข้องกับการหมักที่ได้จากถั่วซึ่งเป็นอาหารประเภท semi-solid ที่นิยมบริโภค และเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงเช่นเดียวกัน

#### 2.2.5 ประโยชน์ของแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีต่ออาหารหมัก

ช่วยเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ ในกลุ่มของธัญพืชและพบคุณค่าทางอาหารของผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มขึ้นมาจากกิจกรรมมากขึ้นที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการผลิตโดยเฉพาะการเพิ่มองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่จำเป็น นอกจากนั้นคุณค่าทางด้านโปรตีนในอาหารที่มีส่วนของธัญพืชและถั่วยังเพิ่มขึ้นอีกด้วย องค์ประกอบของวิตามินในอาหารบางชนิดยังพบได้ในระหว่างการหมัก เพราะจุลินทรีย์บางชนิดสังเคราะห์วิตามินที่จำเป็นต่อการเจริญ จึงทำให้องค์ประกอบของวิตามินในอาหารที่ผ่านกระบวนการหมักสูงกว่าอาหารที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก เช่น ในนมแปรรูปจากข้าวสาลีพบว่าปริมาณของไนอะซิน ไบโอฟลาวิน และไทอะมินก่อนการหมักเท่ากับ 46.0, 3.2 และ 3.2 ไมโครกรัม/กรัม เพิ่มขึ้นเป็น 135, 3.2, และ 3.2 ไมโครกรัม ภายหลังการหมัก โดยส่วนใหญ่จะมีปริมาณของวิตามินเพิ่มขึ้น [18]

บทบาทของแบคทีเรียแลคติกและการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ในอาหารหมักที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้ก่อโรค ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยสูงขึ้น ตลอดจนมี

การเก็บรักษาให้ได้นานที่สูง โดยปัจจัยหลักที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้ง คือ การสร้างกรดและการลดลงของค่าพีเอช กรดอินทรีย์ที่เกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของแบคทีเรียแลคติกและกรดแอซิติก นอกจากนี้ยังมีสารประกอบอื่นๆ ที่เกิดขึ้นและมีการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ที่เกิดขึ้นและยังมีผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ แบคทีเรียโอซิ ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ประเภทพอลิเปปไทด์ โครงสร้างทางเคมีเกิดจากการเรียงตัวของกรดอะมิโนเป็นสายยาว และยังมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกลุ่มนี้ที่ใกล้เคียงกัน โดยที่แบคทีเรียแลคติกแต่ละสายพันธุ์จะให้คุณสมบัติของแบคทีเรียโอซิที่แตกต่างกันไป ทั้งคุณสมบัติในการยับยั้งของแบคทีเรียชนิดอื่น โครงสร้างโมเลกุลสมบัติทางพันธุกรรมและสมบัติทางชีวเคมี [19]

แบคทีเรียกรดแลคติกมีกิจกรรมในการลดปริมาณคอเลสเตอรอลในกระแสเลือด การบริโภคผลิตภัณฑ์นมหมักจะช่วยในการยับยั้งการเกิดคอเลสเตอรอลในร่างกายได้ นอกจากนี้อาจมีผลในการลดน้ำหนักได้ ภายในลำไส้จะต้องบริโภคผลิตภัณฑ์พร้อมกับการออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอ นอกจากนี้ในการทำโยเกิร์ตยังมีองค์ประกอบของสารในการยับยั้งการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล ดังนั้นการบริโภคผลิตภัณฑ์นมหมักที่มีเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ซึ่งจะช่วยให้ออกฤทธิ์ลดคอเลสเตอรอลในเลือดลดลง ในการที่จะบริโภคคือเฟอร์ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์นมหมักประเภทหนึ่งที่มีผลดีต่อสุขภาพหลายประการ เพราะมีคุณค่าทางโภชนาการหลายอย่างและยังส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย ทำให้ระบบการอาหารดีขึ้นโดยเฉพาะการย่อยแลคโตส [20]

ช่วยในการป้องกันการเกิดมะเร็ง โดยเฉพาะ *L. acidophilus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งในลำไส้ใหญ่ ในการศึกษาการบริโภคอาหารประเภทเนื้อแดง พบว่าระดับของเอ็นไซม์  $\beta$ -glucuronidase, azoreductase และเอ็นไซม์ nitroreductase เพิ่มสูงกว่าการบริโภคอาหารประเภทผักและเอ็นไซม์เหล่านี้ยังมีความเกี่ยวข้องกับการเพิ่มการเปลี่ยนแปลงของ procarcinogen ไปเป็น carcinogen ในส่วนปลายของลำไส้ ทำให้มีโอกาสในการเกิดโรคมะเร็งของผู้บริโภคลดลง [15]

ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน มีการศึกษาพบว่าแบคทีเรียกรดแลคติกเป็นตัวกระตุ้นภูมิคุ้มกันโดยมีความไวต่อ microphage lymphocyte ทำให้เพิ่มระดับของ Immunoglobulin (IgA) และผลิต gamma interferon ซึ่งผลดังกล่าวทำให้มีความต้านทานต่อความทำให้เกิดโรค (Pathogens) และยังมีคุณสมบัติเป็น antitumor โดยเฉพาะ *L. acidophilus* [15]

## 2.2.6 การใช้แบคทีเรียกรดแลคติกเป็นโพรไบโอติกในอาหาร

ปัจจุบันผู้บริโภคได้หันมาดูแลสุขภาพของตนเองมากขึ้น ดังนั้น จึงให้ความสนใจเกี่ยวกับความปลอดภัยในการบริโภคอาหาร ทั้งความปลอดภัยจากสารปฏิชีวนะที่ตกค้างในอาหารจำพวกเนื้อสัตว์ หรือผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ สารเคมีที่ใช้เป็นสารกันเสียในอาหาร รวมทั้งเชื้อก่อโรคที่มี

ในอาหาร แนวทางหนึ่งที่ได้รับความสะดวกและมีการศึกษากัน คือ การนำจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์เป็น โพรไบโอติกมาใช้เพื่อเพิ่มความปลอดภัยและสุขภาพที่ดีของผู้บริโภค

### 2.2.7 นิยามของโพรไบโอติก

โพรไบโอติก (probiotics) หรือสารเสริมชีวนะ หมายถึง กลุ่มของจุลินทรีย์ที่มี ประโยชน์กับสุขภาพของผู้บริโภคในการคงไว้หรือช่วยปรับความสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดิน อาหารกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน ลดเอนไซม์ที่เป็นสาเหตุให้เกิดมะเร็ง ลดระดับคลอเรสเตอรอลในเลือด ป้องกันและรักษาโรคท้องร่วงทั้งที่เกิดจากแบคทีเรียและไวรัส เป็นต้น โพรไบโอติก มีรากศัพท์มาจาก ภาษากรีก มีความหมายว่า “เพื่อชีวิต” (forlife) ถูกนำมาใช้ครั้งแรก ในรายงานวิจัยของ Lilly และ Stillwell ในปี 1965 เพื่ออธิบายสารที่จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งขับออกมา และช่วยกระตุ้นการเจริญของ จุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นการทำงานที่ตรงกันข้ามกับการทำงานของสารปฏิชีวนะ (antibiotics) ที่จะ ทำลายจุลินทรีย์เกือบทุกชนิด และมีรายงานวิจัยอีกหลายงานที่ได้ให้คำจำกัดความของโพรไบโอติกไว้ว่า เป็นสิ่งมีชีวิตและสารเคมีที่มีผลต่อสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ ซึ่งได้นำไปใช้ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโต ของสัตว์ในฟาร์ม จนในปี 1989 Fuller [21] ได้ให้คำจำกัดความล่าสุดของโพรไบโอติก คือ อาหารเสริม ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตซึ่งมีประโยชน์ต่อร่างกายของสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่โดยการปรับสมดุลของ จุลินทรีย์ในร่างกาย

### 2.2.8 หลักเกณฑ์ในการคัดเลือกแบคทีเรียกรดแลคติกมาใช้เป็นโพรไบโอติก [22][23][24]

#### 2.2.8.1 การพิจารณาด้านความปลอดภัย (safety)

เป็นจุลินทรีย์ที่ผ่านการคัดเลือกกว่ามีความปลอดภัย (GRAS) ต่อเซลล์เจ้าบ้าน ไม่มีประวัติการก่อโรค ไม่ทำให้เกิดโรคและไม่เป็นพิษ และไม่ทำให้เกิดเกลือน้ำดีแตกตัว (bile salt deconjugate หรือ bile salt dehydroxylation) ซึ่งเป็นพิษในลำไส้เล็ก

การศึกษาความไวต่อสารปฏิชีวนะเนื่องจากการใช้สารปฏิชีวนะในทาง การแพทย์และ การใช้ในสัตว์ ส่งผลให้แบคทีเรียกรดแลคติกสายพันธุ์ที่รอดชีวิตมีความทนทานและดื้อ ยามากยิ่งขึ้น มีผลย้อนกลับให้มีการใช้สารปฏิชีวนะเพิ่มมากขึ้น ดังนั้น จึงต้องมีการทดสอบความไวต่อ สารปฏิชีวนะ เพื่อให้แน่ใจว่า ไม่มีความต้านทานของสารปฏิชีวนะที่ไม่ต้องการเกิดขึ้น เช่น ความ ต้านทานต่อ vancomycin และไม่มีการถ่ายถอดยีนส์ต้านทานสารปฏิชีวนะไปยังจุลินทรีย์อื่นๆ รวมทั้ง เป็นแนวทางสำหรับการใช้สารปฏิชีวนะในการรักษาโรค เช่น โรคท้องร่วง โรคติดเชื้อในระบบสืบพันธุ์ เพศหญิง และโรคเยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ

สารปฏิชีวนะ (antibiotic) หมายถึง สารประกอบเคมีที่ได้จากจุลินทรีย์บาง ชนิดและมีผลยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ เมื่อใช้ในขนาดความเข้มข้นต่ำ [25] ในปัจจุบัน สารปฏิชีวนะรวมถึงสารสังเคราะห์ด้วย สารปฏิชีวนะไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียทั้งหมดได้ บางชนิดมี

ความจำเพาะต่อสปีชีส์ของแบคทีเรียบางตัว บางชนิดสามารถยับยั้งแบคทีเรียได้ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ คุณสมบัติของสารปฏิชีวนะเป็นทั้งแบบทำลายแบคทีเรีย (bacteriocidal) หรือยับยั้งแบคทีเรีย (bacteriostatic) หรือสารปฏิชีวนะบางชนิดมีคุณสมบัติทั้งสองประการ แต่ใช้ในความเข้มข้นที่ต่างกัน กลไกการออกฤทธิ์ของสารปฏิชีวนะแบ่งออกได้เป็น 5 กลุ่ม คือ

- 1) ขัดขวางการสร้างผนังเซลล์ของแบคทีเรีย ได้แก่ สารกลุ่ม penicillins, cephalosporins, vancomycin และ bacitracin เป็นต้น
- 2) ออกฤทธิ์ต่อเซลล์เมมเบรน ได้แก่ สารกลุ่ม polyenes, polymycin B และ colistin เป็นต้น
- 3) ขัดขวางหรือยับยั้งการสร้างกรดนิวคลีอิก ได้แก่ rifampin, nitrofurantoin สารกลุ่ม quinolone และ novobiocin
- 4) ขัดขวางหรือยับยั้งการสร้างโปรตีน ได้แก่ สารกลุ่ม tetracycline, chloramphenicol, ยา กลุ่ม macrolides, ยา กลุ่ม lincosamides และยา กลุ่ม aminoglycoside เป็นต้น
- 5) ออกฤทธิ์แบบแข่งขัน (competitive antagonism) หรือขัดขวางการสร้างเมแทบอลิต์ที่จำเป็นต่อเซลล์แบคทีเรีย ได้แก่ ยาซัลฟา และ trimethoprim เป็นต้น

#### 2.2.8.2. การพิจารณาด้านกิจกรรมของจุลินทรีย์ (functional)

การทนต่อสภาวะกรด กรดของน้ำย่อยและน้ำดีในลำไส้แบคทีเรียกรดแลคติกต้องมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่มีกรดสูง (pH  $\approx$  2-4) และทนต่อน้ำย่อยในกระเพาะระหว่างการส่งผ่านจากกระเพาะไปยังลำไส้เล็กส่วนต้น ทนต่อเกลือน้ำดี และน้ำย่อยจากตับอ่อน เช่น แพนครีเอติน ซึ่งหลังจากตับอ่อนในระหว่างการส่งผ่านในลำไส้เล็กส่วนต้น (pH $\approx$ 8) รวมทั้งไม่มีการรวมตัวกับเกลือน้ำดี เนื่องจากการไฮโดรไลซ์เกลือน้ำดี (bile salt hydrolyse) ทำให้เกิดลักษณะที่เป็นพิษในลำไส้ จากการเปลี่ยนแปลงรูปของเกลือน้ำดีจากรูปปฐมภูมิ (cholic acid และ chenodeoxycholic acid) เป็นรูปทุติยภูมิ (lithocholic acid และ deoxycholic acid)

ความสามารถในการยึดเกาะในลำไส้โพรไบโอติกที่ดีต้องเป็นแบคทีเรียที่สามารถแข่งขัน และขัดขวางการเกาะติดของจุลินทรีย์ที่ก่อโรค เช่น *E. coli*, *Salmonella sp.* และ *Helicobacter pylori* ที่ผนังของทางเดินอาหาร และดำรงชีวิตอยู่ในทางเดินอาหารได้ [24] กลไกการยึดเกาะเริ่มตั้งแต่แบคทีเรียกรดแลคติกเจริญยึดติดกับผนังลำไส้ แล้วสามารถเพิ่มจำนวนเพาะตัว De Ambrosini *et al.* (1999) [26] ได้ศึกษาพบว่า *Lb. casei* CRI 431 ที่แยกจากลำไส้มนุษย์สร้างสารที่มีโครงสร้างคล้าย lectin ที่ผิวเซลล์ โมเลกุลสารที่สร้างขึ้นนี้มีสมบัติจำเพาะในการจับยึดกับสารไฮโดรคาร์บอนที่อาจพบในเมือกลำไส้หรือเซลล์เยื่อบุผิว นอกจากนี้โมเลกุลนี้ยังมีส่วนช่วยกระตุ้นให้เกิด



ภูมิคุ้มกันแก่หนูได้ สำหรับสภาวะที่เหมาะสมต่อการยึดเกาะ คืออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในช่วงค่า pH 6.0-7.5 และใช้เวลาในการเกาะนานที่สุด 30 นาที จึงกล่าวได้ว่าสารที่มีโครงสร้างคล้าย lectin นี้ มีความสำคัญต่อการยึดเกาะของ *Lb. casei* CRI 431 ในผนังลำไส้เล็ก

การเจริญอยู่ได้ในร่างกายมนุษย์เป็นเซลล์ที่มีชีวิต และมีจำนวนมากพอที่จะเดินทางไปจนถึงทางเดินอาหารส่วนท้ายได้ สามารถมีชีวิตเพิ่มจำนวน และมีกิจกรรมของเซลล์ในระบบทางเดินอาหารได้

การผลิตสารยับยั้งจุลินทรีย์และควบคุมจุลินทรีย์ก่อให้เกิดโรคสารเมแทบอไลต์ที่แบคทีเรียกรดแลคติกผลิตออกมาสะสม เช่น กรดอินทรีย์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และแบคทีริโอซิน สารเหล่านี้มีสมบัติยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่บูกรุก หรือก่อให้เกิดโทษ เช่น *Helicobacter pylori*, *Salmonella sp.*, *Listeria monocytogenes* และ *Clostridium difficile* ทั้งในอาหารและลำไส้ นอกจากนี้ สารที่สร้างขึ้นสามารถเพิ่มความต้านทานต่อสภาวะการติดเชื้อในลำไส้ได้ กรดแลคติกซึ่งเป็นสารหลักที่แบคทีเรียกรดแลคติกผลิตขึ้นมีผลทำลายหรือยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียแล้วยังมีสารอื่นอีกหลายชนิดเกิดขึ้นอีกด้วย เช่น กรดแอสซิติค กรดฟอร์มิก กรดเบนโซอิก กรดซิทริก กรดอิพฟูริก กรดแอรติก และกรดยูริก แม้ว่าจะเกิดขึ้นน้อยก็ตาม แต่ในสภาวะที่เป็นกรดกรดเหล่านี้จะว่องไวและยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้หลายชนิด โดยเฉพาะแบคทีเรียแกรมลบที่ก่อให้เกิดโรคต้องเป็นจุลินทรีย์ที่มีลักษณะทางพันธุกรรมคงที่ไม่มีกรกลายพันธุ์และไม่ก่อมะเร็ง ผลิตเอนไซม์  $\beta$ -galactosidase ซึ่งเกี่ยวกับการย่อยน้ำตาลแลคโทสได้ปริมาณสูง และสามารถหมัก fructooligosaccharide (FOS) ซึ่งอาจใช้ในผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพ

#### 2.2.8.3 การพิจารณาด้านการใช้โพรไบโอติกร่วมกับเทคโนโลยี (technology aspect)

โพรไบโอติกที่นำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม จะต้องมีกิจกรรมที่เหมาะสมเมื่อใช้ร่วมกับเทคโนโลยี สามารถใส่รวมไปกับผลิตภัณฑ์ โดยโพรไบโอติกยังคงสายพันธุ์ที่เฉพาะมีชีวิตรอดจากสภาวะต่าง ๆ ในระหว่างกระบวนการผลิต มีกิจกรรม และคงทนในการวางจำหน่ายในท้องตลาด โดยไม่ทำให้เกิดกลิ่นรสหรือลักษณะเนื้อสัมผัสที่ไม่ต้องการ

#### 2.2.9 ประโยชน์ของจุลินทรีย์โพรไบโอติกเมื่อบริโภค

- ยับยั้งสารก่อมะเร็งทั้งทางตรงและทางอ้อม โดยการกระตุ้นให้เกิดระบบภูมิคุ้มกัน
- สามารถใช้น้ำตาลแลคโทสได้ ทำให้การดูดซึมแคลเซียมและวิตามินดี
- กรดแลคติกที่แบคทีเรียผลิตออกมา จะทำให้สภาวะภายในลำไส้มีความเป็นกรดมากพอที่จะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค
- ทำให้ระบบการหมักดี ไม่เกิดการหมักหมมของของเสียในร่างกาย เป็นการลดอัตราการเกิดมะเร็ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งมะเร็งในลำไส้ใหญ่และมะเร็งในตับ

- วิตามินบีที่ได้อาจทำให้เซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันทำงานอย่างมีประสิทธิภาพ และมีการผลิตเม็ดเลือดแดงดีขึ้นด้วย

- ช่วยลดระดับน้ำตาลและคอเลสเตอรอลในเลือด

- ผลิตเอนไซม์แลคเตส (lactase) ซึ่งช่วยย่อยน้ำตาลในนมทำให้ไม่เกิดอาการท้องอืด

### 2.3 เทคโนโลยีเอนแคปซูเลชัน (encapsulation technology)

เทคโนโลยีเอนแคปซูเลชัน เป็นกระบวนการที่ของเหลวหรืออนุภาคถูกห่อหุ้มอยู่ในรูปของแคปซูลด้วยพอลิเมอร์เป็นชั้นบาง ๆ เกิดเป็นไมโครแคปซูลซึ่งมีขนาดประมาณ 1-1,000 ไมครอน ชั้นพอลิเมอร์บาง ๆ นี้เองที่จะเป็นตัวป้องกันหรือปลดปล่อยสารสำคัญภายในออกมาเมื่อเราต้องการ โดยทำให้เกิดฟิล์มบาง ๆ รอบอนุภาค หรือทำให้เกิดเป็นอิมัลชัน และทำให้แห้ง ซึ่งสารสำคัญที่ต้องป้องกันในไมโครแคปซูลจะถูกเรียกว่า คอร์ (core) และผนังบาง ๆ ที่ห่อหุ้มสารสำคัญจะถูกเรียกว่าวอลล์ (wall) ลักษณะของวอลล์ที่ดีควรจะต้องมีความสามารถแผ่เป็นแผ่นฟิล์มบาง ๆ ได้ มีความยืดหยุ่น และแข็งแรงเพียงพอ มีความสามารถทำให้เกิดอิมัลชันมีความสามารถในการยึดติดกับคอร์ได้ดี โดยไม่ทำปฏิกิริยากัน มีความหนืดต่ำ เมื่ออยู่ในสถานะของแข็งต้องไม่ขึ้นง่าย นอกจากนี้ยังต้องมีความคงตัวสูง เพื่อจะป้องกันคอร์จากสภาพแวดล้อมต่างๆ และปลดปล่อยคอร์ได้ตามวัตถุประสงค์ของการใช้งานจะเห็นได้ว่าวอลล์เป็นตัวการที่สำคัญของเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชัน ดังนั้นการเลือกใช้สารที่จะนำมาทำเป็นวอลล์จึงจำเป็นที่จะต้องเลือกใช้ให้เหมาะสมทั้งต่อสารสำคัญ และต่อสภาวะที่ต้องการใช้ ในบางครั้งอาจจะต้องทำวอลล์ 2 ชั้น ชั้นในเพื่อปกป้องคอร์และชั้นนอกเพื่อวัตถุประสงค์ของการใช้งานในการกักเก็บกลิ่น สี เป็นต้น สารที่สามารถนำมาทำเป็นวอลล์ได้มีมากมายหลายชนิด ที่นิยมใช้และมีราคาไม่แพง คือ สารในกลุ่มของแป้ง เช่น มอลโทเด็กซ์ตริน (maltodextrin) [27]

#### ตัวอย่างสารที่ใช้ผลิตเซลล์

กัมอารบิก (gum arabic) เป็นสารธรรมชาติชนิดหนึ่งซึ่งอยู่ในกลุ่มไฮโดรคอลลอยด์ (hydrocolloids) นิยมใช้กัน อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหาร ได้มาจากน้ำยางธรรมชาติ ที่ไหลออกมาจากเปลือกของลำต้นพืชกลุ่มอากาเซีย (acacia) มีชื่อเรียกเชิงพาณิชย์ที่หลากหลาย ได้แก่ กัมอารบิก (gum arabic) กัมอากาเซีย (acacia gum) หรือกัมซูดาน (sudan gum) มีคุณสมบัติเป็นสารอิมัลซิฟายเออร์ (emulsifiers) ที่ดี โดยเฉพาะในอิมัลชันประเภทน้ำมันในน้ำ (oil in water emulsion) จึงเหมาะในการผลิตแคปซูลเคลือบสารให้กลิ่น ช่วยลดการระเหย ของสารให้กลิ่นรส ไม่มีผลกระทบต่อความหนืดและกลิ่นรส รวมทั้งสีกลิ่นของผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้เมื่ออยู่ในรูปผงแห้งจะมีการกระจายตัวได้ดี ไม่จับตัวกันได้ง่าย จึงเหมาะในการใช้ห่อหุ้มคอร์ที่ขึ้นง่ายอีกด้วย

OSAN (N-Octenyl Succinic Anhydride-Substituted Starches) เป็น แป้ง ตัด แปร (modified starch) ชนิดหนึ่ง มีคุณสมบัติเป็นอิมัลซิไฟเออร์ที่ดี ไม่มีกลิ่นรส ยากต่อการทำปฏิกิริยากับ สารชนิดอื่น ละลายน้ำได้ดีและมีราคาไม่แพง โดยเฉพาะใน อิมัลชันประเภทน้ำมันในน้ำ (oil in water emulsion) แต่มีข้อเสีย คือ เมื่อทำให้เป็นสารละลายจะมีความเป็นกรด จึงไม่เหมาะที่จะใช้กับคอร์ทิว ต่อกรด

มอลโทเด็กซ์ทริน (maltodextrin) เป็นสารประกอบ พอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสที่เชื่อมต่อกัน ด้วยพันธะ  $\alpha$ -1,4 และมี ค่าสมมูลเด็กซ์โทรส (dextrose equivalent, DE) น้อยกว่า 20 ผลิตโดยการ ย่อยแป้งข้าวโพด แป้งมันฝรั่งหรือ แป้งชนิดอื่นบางชนิดด้วยกรดหรือเอนไซม์ อาจอยู่ในรูปผงสีขาวหรือ ของเหลวข้น ไม่มีกลิ่นรส ละลายน้ำได้ดี มีความหนืดต่ำ แต่ไม่มีคุณสมบัติ เป็นอิมัลซิไฟเออร์จึงนิยมใช้ ร่วมกับ OSAN หรือ gum Arabic เพื่อลดต้นทุนการผลิต

โซเดียมอัลจิเนต (sodium alginate) เป็นสารสกัด ได้จากสาหร่ายทะเลสีน้ำตาล (phaeophyceae) ละลายน้ำได้ดี ให้ความหนืดต่ำ ราคาไม่แพงและใช้ปริมาณน้อย แต่ฟิล์มที่ได้ มักจะ ไม่ค่อยแข็งแรงจะต้องเสริมความแข็งแรงด้วยเกลือแคลเซียม และทำให้เกิดเจลได้ที่อุณหภูมิต่ำ

กานต์ และรุ่งนภา (2557) [28] ศึกษาการประยุกต์ใช้การตรึงเซลล์โพรไบโอติกด้วยเทคนิค ไมโครเอนแคปซูลชัน โดยศึกษาการตรึง *Lactobacillus casei* TISTR 1463 ผ่านเยื่อหุ้มแบบกึ่งเลือก ผ่านที่สร้างจากโซเดียมอัลจิเนต-อินนูลิน-แซนแทนกัม เปรียบเทียบกับ *L.casei* TISTR 1463 ที่ไม่ผ่านการตรึงเซลล์ในอาหารเหลว MRS และผลิตภัณฑ์น้ำเสาวรสที่เก็บรักษาด้วยอุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 30 วัน โดยทำการเติมเซลล์แขวนลอยปริมาณตั้งต้นที่ 9.91 CFU/ml พบว่าปริมาณของ *L.casei* TISTR 1463 ที่ผ่านการตรึงเซลล์มีปริมาณเซลล์เหลือรอดมากที่สุดอยู่ที่ 10.76 CFU/ml ในวันที่ 30 รองลงมา คือ เซลล์ที่ผ่านการตรึงในผลิตภัณฑ์น้ำเสาวรส เซลล์อิสระในอาหาร MRS และเซลล์อิสระในผลิตภัณฑ์ น้ำเสาวรส มีปริมาณ 9.80, 9.52 และ 8.79 CFU/ml ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเซลล์พบว่า เซลล์ที่ถูกตรึงจะมีปริมาณมากกว่าเซลล์อิสระประมาณ 1 CFU/ml ทั้งในอาหาร MRS และผลิตภัณฑ์ น้ำเสาวรส

เอกชัย และคณะ (2558) [29] ศึกษาวิจัยเกี่ยวกับความเป็นไปได้ในการพัฒนาเครื่องต้มชาใบ หม่อนพร้อมดื่มที่มีการเติมไมโครแคปซูลสารสกัดฟลาโวนอยด์ลงไปในการพัฒนาเครื่องต้มชาใบ หม่อน พบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของไมโครแคปซูลที่วัดด้วยวิธี DPPH มีฤทธิ์การต่อต้านอนุมูลอิสระ 18.11 มิลลิโมลโทรลอกซ์ต่อ กรัมของไมโครแคปซูลและการ วัดด้วยวิธี FRAP พบว่าไมโครแคปซูล มีฤทธิ์การต่อต้านอนุมูลอิสระ 30.79 มิลลิโมลโทรลอกซ์ต่อกรัม ของไมโครแคปซูลมีค่าการละลายที่ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส สามารถละลายได้ถึง 97.68% เมื่อทำการศึกษาเปรียบเทียบค่าฤทธิ์การต่อต้านอนุมูลอิสระ ของชาใบหม่อนทั่วไป ชาใบหม่อนที่มีการเติมไมโครแคปซูลสารสกัดจากใบหม่อนและชาเขียวทั่วไป

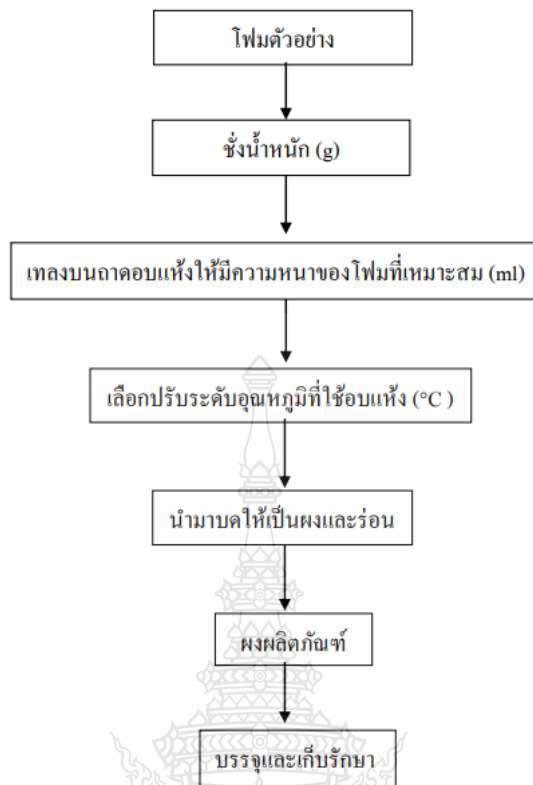
พบว่าซาไบหม่อนที่มีการเติมไมโครแคปซูลสารสกัดจากไบหม่อนเพิ่มลงไปมีฤทธิ์การต่อต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด

เทพอนันต์ และคณะ (2559) [30] ได้ศึกษาผลของการห่อหุ้มเซลล์ด้วยวิธีไมโครเอนแคปซูลชั้นต่อการรอดชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติก จำนวน 3 สายพันธุ์ คือ *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1043, *L. casei* TISTR 1463 และ *L. rhamnosus* TISTR 047 ในโยเกิร์ตนมข้าวโพด โยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลือง เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน เมื่อตรวจสอบปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ตทั้ง 3 ชนิด ที่เติมเซลล์แบคทีเรียโพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจินेट พบว่ามีปริมาณกรดทั้งหมดที่ได้จากการไทเทรตเพิ่มขึ้นระหว่างทำการเก็บรักษา ซึ่งสัมพันธ์กับค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลง การรอดชีวิตของเซลล์แบคทีเรียโพรไบโอติกทั้ง 3 สายพันธุ์ ในโยเกิร์ตมีปริมาณเพิ่มขึ้นเล็กน้อยตลอดอายุการเก็บรักษา และมีปริมาณเชื้อรอดชีวิตสูงกว่า  $10^7$  CFU/g การเติมเซลล์แบคทีเรียโพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มด้วยแคลเซียมอัลจินेटไม่มีผลต่อเนื้อสัมผัส สี กลิ่น และรสชาติของโยเกิร์ตในระหว่างทำการเก็บรักษาในตู้เย็น

## 2.4 การทำแห้ง (drying)

### 2.4.1 การทำแห้งแบบโฟม-แมท (foam-mat drying)

การทำแห้งแบบโฟม-แมทเริ่มจากการนำอาหารเหลวมาทำให้เข้มข้นเพื่อลดปริมาณน้ำส่วนหนึ่ง ทำให้โฟมที่เกิดขึ้นมีความคงตัวยิ่งขึ้นโดยการเติมสารที่ก่อให้เกิดโฟมเพื่อวัตถุประสงค์ 2 ประการ คือ ทำให้เกิดโฟมและทำให้โฟมมีความแข็งแรง อาหารที่ผ่านการทำให้เกิดโฟมแล้วจะถูกนำมาแผ่กระจายลงบนถาดและทำให้แห้งโดยใช้ลมร้อน จากนั้นบิดเพื่อให้แผ่นโฟมแห้งเป็นผง โดยวิธีการนี้ใช้อุณหภูมิในการอบแห้งไม่สูงจึงสามารถช่วยรักษาสารให้กลิ่นในผลิตภัณฑ์ไว้ได้ [31]



ภาพที่ 1 แผนภาพกระบวนการทำแห้งแบบโพลีเมอร์-เมท  
ที่มา : ดัดแปลงจาก Elnaz and Mehran, 2016 [32]

#### ข้อดีของกระบวนการทำแห้งแบบโพลีเมอร์ [33]

1. ใช้ได้ดีกับอาหารเหลวหรืออาหารกึ่งเหลวที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบอยู่สูงโดยยังสามารถรักษาสีและกลิ่นไว้ได้ขณะที่กระบวนการทำแห้งอื่นๆ เช่น การทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying) การทำแห้งแบบลูกกลิ้ง (drum drying) ไม่สามารถทำได้
2. เป็นการทำแห้งที่ใช้ระยะเวลาในการทำแห้งน้อยมากน้อยกว่า กระบวนการทำแห้งอื่นๆ ส่งผลให้ค่าใช้จ่ายในการผลิตต่ำกว่า
3. คุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารแห้งที่ได้สามารถรักษาสีกลิ่นและความสามารถในการคืนรูปไว้ได้ดีกว่าการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนแบบอื่นๆและมีคุณภาพที่ใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์แช่เยือกแข็ง (freeze drying)
4. ผลิตภัณฑ์อาหารแห้งได้มีลักษณะเป็นผง มีน้ำหนักเบา และสามารถเก็บรักษาที่ อุณหภูมิห้องได้ทำให้ค่าใช้จ่ายในการขนส่งต่ำ

#### 2.4.2 การอบแห้งด้วยลมร้อน

การทำผลิตผลทางการเกษตรให้แห้งนั้น เกษตรกรจะใช้วิธีตากแดด และผึ่งลม แต่บางครั้งสภาพอากาศมีความชื้นสูง หรือในฤดูฝน การตากแดด และผึ่งลม จะทำไม่ได้ นอกจากนี้ยังมีปัญหาเกี่ยวกับความไม่สะอาดเนื่องจากฝุ่นละอองในขณะทำการตากแห้ง และการรบกวนจากสัตว์อื่น ก่อให้เกิดการปนเปื้อนได้ ดังนั้น จึงมีความจำเป็นที่จะต้องอาศัยเทคโนโลยีในการทำให้แห้ง โดยสร้างเครื่องมือขึ้นใช้สำหรับอบผลิตผลทางการเกษตรให้แห้ง จึงเรียกรูปแบบนี้ว่า “การอบแห้ง” และเรียกผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้โดยวิธีนี้ว่า “ผลิตภัณฑ์อาหารอบแห้ง” หลักในการทำอาหารให้แห้ง คือ จะต้องไล่ไอน้ำหรือความชื้นที่มีอยู่ในผลิตผลทางการเกษตรออกไป แต่จะยังมีความชื้นเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์ อยู่น้อยแล้วแต่ชนิดของอาหาร การทำให้อาหารแห้งมีกรรมวิธีการทำได้หลายวิธีการ ตัวอย่างเช่น

1. ใช้กระแสลมร้อนสัมผัสกับอาหาร เช่น ตู้อบแสงอาทิตย์ ตู้อบลมร้อน
2. พ่นอาหารที่เป็นของเหลวไปในลมร้อน เครื่องมือที่ใช้ คือ เครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอย
3. ให้อาหารชั้นสัมผัสผิวหน้าของลูกกลิ้งร้อน เครื่องมือที่ใช้ คือ เครื่องอบแห้งแบบลูกกลิ้ง
4. กำจัดความชื้นในอาหารในสภาพที่ทำน้ำให้เป็นน้ำแข็ง แล้วกลายเป็นไอในห้องสุญญากาศ ซึ่งเป็นการทำให้อาหารแห้งแบบเยือกแข็ง เครื่องมือ คือ เครื่องอบแห้งแบบเยือกแข็ง
5. ลดความชื้นในอาหารโดยใช้ไมโครเวฟ

#### 2.4.3 เครื่องมือที่ใช้ในการอบแห้ง

เครื่องมือที่ใช้ในการอบอาหารจำนวนมากในคราวเดียวกันให้แห้งนั้น มีหลายแบบ และแต่ละแบบก็มีหลายขนาด จึงต้องเลือกใช้ให้เหมาะสมกับสภาพของอาหารที่จะทำการอบ และคุณสมบัติที่ต้องการของผลิตภัณฑ์อบแห้ง ซึ่งพอจะยกตัวอย่างเครื่องมือที่มีการใช้อย่างแพร่หลาย คือ

##### 2.4.3.1 ตู้อบหรือโรงอบที่ใช้แสงอาทิตย์

การทำอาหารให้แห้งในสมัยโบราณ มักจะตากแดด ซึ่งไม่สามารถควบคุมความร้อน และคุณภาพของผลิตภัณฑ์ได้ ดังนั้น จึงได้มีการคิดค้นสร้างตู้อบ หรือโรงอบ ที่ใช้ความร้อนจากแสงอาทิตย์ เพื่อทำอาหารให้แห้ง ข้อดีสำหรับการใช้ตู้อบที่ใช้ความร้อนจากแสงอาทิตย์นี้คือ ได้ผลิตภัณฑ์ที่สวยงาม และสม่ำเสมอ สะอาดเพราะสามารถควบคุมไม่ให้ฝุ่นละอองหรือแมลงเข้าไปได้ ใช้เวลาน้อยกว่าการตากแดดตามธรรมชาติ ทำให้ประหยัดเวลาในการตากได้ ประหยัดพื้นที่ในการตาก เพราะในตู้อบสามารถวางถาดที่ได้หลายถาดหรือหลายชั้น และประหยัดแรงงานในการที่ไม่ต้องเก็บอาหารที่กำลังตากเข้าที่ร่มในตอนเย็น และเอาออกตากในตอนเช้าเหมือนสมัยก่อน ซึ่งมีผลทำให้ต้นทุนในการผลิตอาหารแห้งลดลง

#### 2.4.3.2 เครื่องอบแห้งที่ใช้ความร้อนจากแหล่งอื่น

ความร้อนที่ใช้กับเครื่องอบประเภทนี้ ส่วนมากจะได้จากกระแสไฟฟ้า หรือก๊าซ ซึ่งสร้างขึ้น เพื่อใช้อบอาหารให้แห้งในระบบอุตสาหกรรม มีหลายแบบหลายขนาด โดยใช้หลักการที่แตกต่างกัน เช่น

เครื่องอบแห้งด้วยลมร้อนแบบตู้หรือถาด มีลักษณะเป็นตู้ที่บุด้วยวัสดุที่เป็นฉนวน มีถาดสำหรับวางอาหารที่จะอบ ความร้อนกระจายภายในตู้ โดยแผงที่ช่วยการไหลเวียนของลมร้อน หรือโดยพัดลม เครื่องมือชนิดนี้จะใช้อบอาหารที่มีปริมาณน้อย หรือสำหรับงานทดลอง

เครื่องอบแห้งด้วยลมร้อนแบบต่อเนื่อง มีลักษณะคล้ายอุโมงค์ นำอาหารที่ต้องการ อบแห้งวางบนสายพานที่เคลื่อนผ่านลมร้อนในอุโมงค์ เมื่ออาหารเคลื่อนออกจากอุโมงค์ ก็จะมีแห้งพอดี ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับการปรับอุณหภูมิของลมร้อน และความเร็วของสายพาน ที่เคลื่อนผ่านลมร้อนในอุโมงค์ ตัวอย่างอาหารเช่น ผักหรือผลไม้อบแห้ง

เครื่องอบแห้งแบบพ่นฝอย การทำงานของเครื่องอบแบบนี้ คือ ของเหลวที่ต้องการทำให้แห้งต้องฉีดพ่นเป็นละอองเข้าไปในตู้ที่มีลมร้อนผ่านเข้ามา เมื่อละอองของอาหาร และลมร้อนสัมผัสกัน จะทำให้น้ำระเหยออกไป แล้วอนุภาคที่แห้งจะลอยกระจายในกระแสลม เข้าสู่เครื่องแยกเป็นผงละเอียด แล้วนำอาหารผงนั้น บรรจุในภาชนะต่อไป เช่น กาแฟผงสำเร็จรูป ไข่ผง น้ำผลไม้ผง ชุปผง เป็นต้น

เครื่องอบแห้งแบบลูกกลิ้ง ประกอบด้วยลูกกลิ้งทำด้วยเหล็กไร้สนิม อาจเป็นแบบลูกกลิ้งคู่ หรือลูกกลิ้งเดี่ยวก็ได้ ภายในมีลักษณะกลวง และทำให้ร้อน ด้วยไอน้ำ หรือไฟฟ้า อาหารที่จะทำแห้ง ต้องมีลักษณะละเอียด ป้อนเข้าเครื่องตรงผิวหน้าของลูกกลิ้งเป็นแผ่นฟิล์มบางๆ แผ่นฟิล์มของอาหารที่แห้งติดบนผิวหน้าของลูกกลิ้ง แซะออก โดยใบมีด ที่ติดให้ขนานกับผิวหน้าของลูกกลิ้ง จะได้ผลิตภัณฑ์อบแห้งที่เป็นแผ่นบางๆ และกรอบเป็นเกล็ด หรือเป็นผง

เครื่องอบแห้งแบบเยือกแข็ง ประกอบด้วย เครื่องที่ทำให้อาหารเย็นจัด แผ่นให้ความร้อน และตู้สุญญากาศ หลักการในการทำแห้งแบบนี้ คือ การไล่น้ำจากอาหารออกไป ในสภาพที่น้ำเป็นน้ำแข็ง แล้วกลายเป็นไอ หรือที่เรียกว่า เกิดการระเหยขึ้น ภายในตู้สุญญากาศ ผลิตภัณฑ์เยือกแข็งจะวางอยู่ในถาด และถาดวางอยู่บนแผ่นให้ความร้อน ถ้าใช้ไมโครเวฟในกระบวนการอบแห้งร่วมกับการทำแห้งแบบเยือกแข็ง จะช่วยลดเวลาของการทำแห้งลงไปจนถึงหนึ่งในสิบ ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ประสบความสำเร็จมากที่สุด คือ กาแฟผงสำเร็จรูป

## 2.5 คุณสมบัติของอาหารผงที่มีต่อการคั้นรูป [33]

2.5.1 ความสามารถในการดูดซึมของผิวอาหาร ถ้ามีพื้นที่ผิวมากและขนาดของอนุภาคที่เพิ่มมากขึ้นจากการเกาะกัน เป็นก้อนเล็ก (agglomerate) จะช่วยในการดูดซึมของเหลวได้

2.5.2 การจมน้ำ ขนาดอนุภาคที่ใหญ่และความหนาแน่นที่สูงจะทำให้จมน้ำ ได้เร็ว

2.5.3 การกระจายตัว อาหารผงที่มีการกระจายตัวดี จะมีความสามารถในการดูดซึมของผิวอาหาร และคุณสมบัติการจมน้ำได้ดี

2.5.4 ความสามารถในการละลาย ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบทางเคมีและลักษณะทางกายภาพของอาหารแต่ละชนิด ซึ่งเป็นผลโดยตรงจากสภาวะในการทำแห้ง

Krasaekoopt and Bhatia (2012) [34] ได้ทำการศึกษากระบวนการผลิตโยเกิร์ตผงด้วยวิธีการทำแห้งแบบโฟมเมท พบว่าการทำแห้งด้วยวิธีนี้ส่งผลกระทบน้อยต่อการรอดชีวิตของแบคทีเรียกรดแลคติกในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีทำแห้งแบบพ่นฝอย

ศุภกิจ และคณะ (2547) [35] กล่าวว่า การทำแห้งอาหารและผลิตภัณฑ์อาหารโดยทั่วไปมักทำแห้งด้วยวิธีการใช้ลมร้อน เพื่อให้ น้ำที่มีอยู่ในอาหารระเหยออกไป จึงช่วยยืดอายุการเก็บรักษาอาหารและผลิตภัณฑ์ แต่ปัญหาของการทำแห้งโดยใช้ลมร้อน คือ ผลิตภัณฑ์อาหารแห้งที่ได้มีคุณภาพที่ลดลง เช่น มีสีคล้ำมากขึ้น เนื้อสัมผัสแข็งมากขึ้น กลิ่นรสไม่เหมือนเดิม และคุณค่าทางโภชนาการลดลงจึงได้มีการศึกษาการทำแห้งแบบต่างๆ เพื่อลดปัญหาดังกล่าวและพบว่าการทำแห้งด้วยวิธีการทำให้เกิดโฟม (foam-mat drying method) ของน้ำผลไม้เข้มข้น โดยใช้ไข่ขาวผงเป็นสารช่วยทำให้เกิดฟอง พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้มีลักษณะกรอบ มีรูพรุน ละลายน้ำได้ง่าย มีกลิ่นรสที่ดี ใช้อุณหภูมิและระยะเวลาในการทำแห้งน้อยกว่าการทำแห้งแบบลูกกลิ้ง แต่ปัญหา คือ ฟองที่เกิดขึ้นมักจะไม่คงตัวอย่างคงที่ตลอดเวลาการอบแห้ง เนื่องจากชนิดของน้ำผลไม้และสารช่วยทำให้เกิดฟองมีผลต่อสมบัติของฟองที่ได้แตกต่างกันไป

ชุตินา และคณะ (2553) [31] ได้ทำการศึกษาความว่าวัตถุดิบประสมของการศึกษานี้คือหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตและประเมินคุณภาพของผงสำเร็จรูปจากตะไคร้ (*Cymbopogon citratus Stapf.*) ที่ได้จากการทำแห้งแบบโฟม-เมท ใช้มอลโทเด็คซ์ทรินความเข้มข้นร้อยละ 25 (โดยน้ำหนัก) และสารที่ก่อให้เกิดโฟม 3 ชนิด คือ เมโทเซล เมโทเซลร่วมกับคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (1:1) และเมโทเซลร่วมกับฮอยโปรตีนไอโซเลท (1:1) ปริมาณ ร้อยละ 50 (โดยน้ำหนัก) ผสมลงในส่วนสกัดจากใบตะไคร้ ความเข้มข้นของสารที่ก่อให้เกิดโฟม 3 ระดับ คือ ร้อยละ 0.5, 1.0, และ 1.5 (โดยน้ำหนัก) ตีให้เป็นโฟม และอบแห้งที่อุณหภูมิ 2 ระดับ คือ 60 และ 70 องศาเซลเซียส นาน 90 นาที พบว่าการใช้เมโทเซลร่วมกับคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสความเข้มข้นร้อยละ 1.0 และอุณหภูมิอบแห้ง 60 องศาเซลเซียส เป็นภาวะที่เหมาะสมในการผลิต ผลิตภัณฑ์ผงสำเร็จรูปจากตะไคร้ที่ได้มีคุณภาพดังนี้



ความชื้นร้อยละ 4.50 ปริมาณน้ำอิสระ 0.49 ค่าสี  $L^*$ ,  $a^*$ , และ  $b^*$  เท่ากับ 78.41, -1.82, และ 20.89 ตามลำดับ จุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 26.6 CFU/g

รัชชัย (2554) [36] ได้ทำการศึกษาผลของสารก่อโพลีที่มีต่อสมบัติของไส้กรอกขี้หมูสำเร็จรูปที่ผลิตด้วยวิธีโพลี-เมท ทำการศึกษาโดยแปรผันชนิดและปริมาณสารก่อโพลี คือ methocel, glyceryl monostearate (GMS) และ methocel ร่วมกับ GMS (อัตราส่วน 1 : 1 โดยน้ำหนัก) ในปริมาณร้อยละ 0.5, 1.0, และ 1.5 โดยน้ำหนัก พบว่าโพลีของไส้กรอกขี้หมูที่ใช้ methocel หรือ GMS หรือ methocel ร่วมกับ GMS ร้อยละ 1.0, 0.5, และ 1.0 ตามลำดับ มีค่าความหนาแน่นต่ำ ความคงตัวและ overrun สูง ไส้กรอกขี้หมูที่ใช้ GMS ร้อยละ 0.5 มีสีเหลืองอ่อน มีระยะเวลาการคืนตัวสั้นและได้รับคะแนนความชอบด้านสีลักษณะเนื้อสัมผัสและความชอบรวมสูงที่สุด นอกจากนี้ยังประกอบด้วย GABA  $60.70 \pm 0.05$  มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

Sharada (2013) [37] ได้ทำการศึกษาการอบแห้งแบบโพลี-เมทเป็นวิธีที่ดีของการทำแห้งในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้ระยะเวลาอันสั้น เนื่องจากโครงสร้างของวัสดุโพลีที่มีรูพรุนมีการถ่ายเทมวลเพิ่มขึ้นทำให้การคายน้ำมีระยะเวลาสั้นลง เทคนิคนี้สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพในการอบแห้งที่มีความเข้มข้นน้ำผลไม้และเนื้อของผลไม้ โดยมีลักษณะการทำละลายที่ดี โดยเฉพาะสำหรับการอบแห้งของผักและผลไม้อบแห้ง เช่น ถั่วฝักยาว มะเขือเทศและอื่นๆ สารการเกิดฟองที่นิยมใช้กันทั่วไป เช่น ผงไข่ขาว และซอโยโปรตีน

Wunwisa (2012) [38] ได้ทำการศึกษาผองโยเกิร์ตทำขึ้นโดยใช้การอบแห้งแบบโพลี-เมท สารก่อโพลีทั้งสองชนิด คือ เมธิลเซลลูโลสและผงไข่ขาวนำมาใช้ในอัตราส่วนความเข้มข้นที่แตกต่างกันเป็น 0.5, 1.0, 1.5, และ 2.0% สำหรับเมธิลเซลลูโลสและ 1, 2, 3, และ 4% สำหรับผงไข่ขาว ตามลำดับ ส่วนผสมของโยเกิร์ตและสารก่อโพลีถูกผสมโดยใช้เครื่องผสมความเร็วสูง (900 W) เป็นเวลา 5, 7, 9, และ 12 นาที ลักษณะของโพลีโยเกิร์ตที่เกิดขึ้นจะพิจารณาความหนาแน่น ความคงตัว และการขยายตัวของโพลี การใส่ผงไข่ขาว 3% ตีผสมเป็นเวลานาน 12 นาทีให้ลักษณะโพลีที่ดี โพลีโยเกิร์ตได้รับการอบแห้งแล้วที่ 50, 60, และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมงโยเกิร์ตได้รับการผสมแห้ง และเก็บไว้ในภาชนะแน่นปราศจากอากาศ ลักษณะของผองโยเกิร์ตมีการวิเคราะห์ปริมาณน้ำอิสระ ( $A_w$ ) และสภาพกลาสทรานซิชัน ( $T_g$ ) ในขณะเดียวกันมีการประยุกต์โยเกิร์ตผงมาศึกษาเป็นเครื่องต้ม ผองโยเกิร์ต 15% ละลายในน้ำเย็น 85 มิลลิลิตร มีการเติม รสส้ม (0.1 กรัม) และสี (0.1 กรัม) ลงในผลิตภัณฑ์ ลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ถูกทดสอบสองอย่าง คือ ความหนืดและความเหนียว การทดสอบด้านประสาทสัมผัสโดยใช้การให้คะแนนแบบฮาโดนิค (9-point) ผู้ทดสอบจำนวน 30 คน ผลิตภัณฑ์มีความหนืดสูงที่เมื่อได้รับอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส คุณภาพด้านประสาทสัมผัสของเครื่องต้มโยเกิร์ตไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) โยเกิร์ตผงที่อบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศา

เซลเซียสมีค่าปริมาณน้ำอิสระ 0.348 ปริมาณความชื้น 8.5% อุณหภูมิกลาสทรานซิชั่น 25.51 องศาเซลเซียส ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด  $5.6 \times 10^7$  cfu g<sup>-1</sup> คะแนนความพึงพอใจของเครื่องต้มโยเกิร์ตที่ผลิตจากผงโยเกิร์ต ในด้านลักษณะปรากฏ กลิ่น เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมเป็น 6.7, 6.8, 6.6, และ 6.7 ตามลำดับ

## 2.6 ยาเม็ด [39]

ยาเม็ด (tablets) เป็นรูปแบบยาชนิดของแข็ง ซึ่งแต่ละเม็ดประกอบด้วยตัวยาหนึ่งหรือหลายชนิดและเตรียมขึ้นจากการนำอนุภาคผงยามาตอกอัด กล่าวได้ว่ายาเม็ดเป็นรูปแบบยาที่มีปริมาณการใช้สูงสุดเมื่อเทียบกับรูปแบบยาชนิดอื่นๆ โดยลักษณะทั่วไปจะต้องมีความสวยงาม เรียบสม่ำเสมอ ไม่มีการแตกบิ่น สีควรมีสม่ำเสมอไม่ต่างลาย ไม่มีกลิ่นเหม็น โดยปกติขนาดของเม็ดยาจะขึ้นอยู่กับขนาดรูปร่างของปากและเบ้าที่ใช้ในการตอก สิ่งที่แปรผันได้ระหว่างเม็ด คือ ความหนาของเม็ดยา เนื่องจากความหนาของเม็ดยาสัมพันธ์กับแรงตอกที่ใช้อัดผงยาและน้ำหนักของเม็ดยา หากมีการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักหรือแรงตอกจะทำให้ความหนาของเม็ดยาเปลี่ยนไปด้วย

### ข้อดีของยาเม็ด

1. เป็นรูปแบบยาที่ให้ขนาดรับประทานถูกต้องและแม่นยำ เนื่องจากในแต่ละเม็ดมีตัวยาที่แน่นอน
2. สามารถปลอมแปลงได้ยาก เนื่องจากเห็นลักษณะเม็ดยาอย่างชัดเจนหากเกิดสิ่งผิดปกติจะสามารถเห็นได้ทันที แตกต่างกับยาบางชนิดเช่นแคปซูล
3. ต้นทุนการผลิตต่ำสุดเมื่อเทียบกับยารูปแบบอื่นๆ
4. สะดวกต่อการพกพา
5. มีน้ำหนักเบาเมื่อเทียบกับยาน้ำ ทำให้ค่าขนส่งถูกกว่า ปัญหาการแตกหักน้อยกว่า

### ข้อเสียของยาเม็ด

1. การผลิตยาเม็ดไม่สามารถทำได้ทุกกรณี เนื่องจากผงยาบางชนิดไม่สามารถนำมาตอกเม็ดได้
2. ตัวยาที่เปียกน้ำยาก การละลายต่ำ ดูดซึมน้ำไม่ดี ไม่ควรนำมาทำยาเม็ด
3. ตัวยาที่ขมมากหรือมีกลิ่นที่ไม่ดีหรือไวต่อความชื้นอาจจะต้องเพิ่มขั้นตอนการผลิต เช่น การเคลือบเม็ดยาหรือห่อหุ้มผงยาก่อนนำมาตอกเม็ด

## กระบวนการผลิตยาเม็ด

### 1. วิธีการแกรนูลเปียก (wet granulation)

เป็นการผสมผงยาและสารช่วยกับสารละลาย สารยึดเกาะให้ได้ wet mass ที่เหมาะสมโดยลักษณะภายนอกต้องไม่เปียกและ เมื่อบีบผงยาในกำมือจะได้เป็นก้อนโดยที่ไม่กลับเป็นผงอีก เมื่อเอาผงยาถูระหว่างนิ้วชี้กับหัวแม่มือและไม่เกิดการลื่นไปมาหรือไม่สากเกินไป ถ้าใส่สารยึดเกาะน้อยเกินไปผงยาจะไม่จับตัวเป็นแกรนูล ถ้าเป็นแกรนูล แกรนูลที่ได้จะร่วน แตกหักง่าย เม็ดยาอ่อน ถ้าใส่สารยึดเกาะมากเกินไปจะได้สารผสมที่มีลักษณะเหนียวอะหนะ อุดตันร่องระหว่างการลดขนาด แกรนูลที่ได้จะแข็งมาก ต้องใช้แรงตอกอัดเป็นเม็ดยาสูง เม็ดยาผิวไม่เรียบ แข็งมากและแตกตัวช้า สารยึดเกาะที่นิยมใช้ในตัวกลางที่เป็นน้ำ คือ แป้งเปียกและในตัวกลางที่เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ คือ PVP (polyvinylpyrrolidone) ทำให้แห้งโดยใช้ tray dryer ที่อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส หรือ fluid-bed dryer โดยแกรนูลหลังทำให้แห้งควรมีระดับความชื้น (loss on drying) 1-3% โดยข้อดีของการทำแกรนูลเปียกมีดังนี้ ไม่มีข้อจำกัดระหว่างตัวยากับสารช่วย เหมาะกับตัวยาที่โดสสูง และมีความสม่ำเสมอและความแข็งสูง แต่มีข้อเสียเนื่องจากทำให้แตกตัวช้า เสียยาระหว่างผลิต ผลิตหลายขั้นตอนและไม่เหมาะกับยาที่ไม่ทนร้อน และชื้น

### 2. วิธีทำแกรนูลแห้ง (dry granulation)

เป็นการผสมตัวยากับสารช่วยแล้วนำไปเตรียมเป็นเม็ดยาขนาดใหญ่ (slug) หรืออัดแน่นเป็นแผ่นด้วยเครื่อง pressure role แล้วนำไปลดขนาด แกรนูลที่ได้จะมีความหนาแน่นเพิ่มขึ้น ขนาดอนุภาคใหญ่ขึ้น การไหลที่ดีขึ้น โดยข้อดีของการทำแกรนูลแห้งมีดังนี้ ใช้เครื่องมือพื้นที่น้อย ไม่ต้องใช้ blinder เหมาะกับยาที่ไม่ทนความร้อน ชื้น และเวลาในการแตกตัวน้อย ส่วนข้อเสีย คือ ต้องใช้วิธีพิเศษในการทำเม็ดยาขนาดใหญ่ เม็ดสีกระจายไม่ดี และไม่เหมาะกับยาที่ละลายน้ำไม่ดี

### 3. วิธีตอกอัดโดยตรง (direct compression)

เป็นการผสมผงยากับสารช่วยแล้วนำไปตอกเป็นเม็ดยาเลย ตัวยาและสารช่วยต้องตอกได้ ไหลดี สารช่วยสำหรับช่วยตอกอัดโดยตรงมีราคาแพง โดยข้อดีของการตอกอัดโดยตรงมีดังนี้ ประหยัดเวลาพื้นที่และเครื่องมือ เหมาะกับยาที่ไวต่อความร้อนและความชื้น เม็ดยาแตกตัวเร็ว และความสามารถในการละลายดีแต่มีข้อเสีย คือ ความกร่อนสูง ความแข็งต่ำ ความสม่ำเสมอไม่ค่อยดี และไม่เหมาะกับยาที่มีความหนาแน่นต่ำ

## บทที่ 3

### อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

#### 3.1 วัตถุดิบ อุปกรณ์และสารเคมี

##### 3.1.1 วัตถุดิบ

1. แครอทจากตลาดสี่มุมเมือง
2. ส้มเขียวหวานจากตลาดสี่มุมเมือง
3. สับปะรดจากตลาดสี่มุมเมือง
4. น้ำตาลทรายบดละเอียด (ลิน)
5. น้ำมันมะพร้าว (สำหรับไทย)

##### 3.1.2 อุปกรณ์

1. เครื่องครัว
2. incubator shaker (new brunswick scientific)
3. autoclave (ALP, Japan)
4. mixer uzusio VTX-3000L (LMS co., ltd)
5. hot air oven (scientific series 2000)
6. เครื่องแก้วพื้นฐานในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา
7. ถาดอลูมิเนียม
8. เครื่องปั่นน้ำผลไม้ (otto)
9. pH meter (ohaus starter 3100)
10. เครื่องชั่งน้ำหนักแบบทศนิยม 3 ตำแหน่ง (A&D company limited FX-2000i)
11. digital laboratory centrifuge (hanyang scientific quipment co., ltd)
12. เครื่องตีแป้ง EHM3407 (electrolux)
13. เครื่องวัดค่า water activity 4TE (AQUA LAB)
14. เครื่อง bomb calorimeter C1 (IKA)
15. เครื่อง absorption spectrophotometer (mapada V-12000)
16. เครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (TA.XT plusC texture analyser)
17. ตู้เย็น (snowland)
18. laminar flow (heal force)
19. พิมพ์กดเม็ดद्या (ร้านวิทวัส)

### 3.1.3 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. น้ำกลั่น
2. MRS agar (himedia)
3. MRS broth (himedia)
4. DPPH assay (sigma-aldrich co.,ltd)
5. methanol (ajax finechem ply ltd)
6. sodium alginate (union chemical 1989 co.,ltd)
7. calcium chloride (Univar Solution)
8. sodium chloride (Univar Solution)
9. maltodextrin

### 3.1.4 เชื้อจุลินทรีย์

1. *Pediococcus pentosaceus* ARG-MG12 แยกได้จากผักดอง [52]
2. *Lactobacillus plantarum* M29 แยกได้จาก มะม่วงดอง [52]

## 3.2 วิธีการทดลอง

### 3.2.1 ศึกษาการรอดชีวิตของเซลล์โพรไบโอติกที่ได้รับการตรึงเซลล์

#### 3.2.1.1 การเตรียมกล้าเชื้อโพรไบโอติก

การเตรียมกล้าเชื้อโพรไบโอติกโดย streak เชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก จำนวน 2 สายพันธุ์ คือ *Lactobacillus plantarum* และ *Pediococcus pentosaceus* ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง เชื้อโคโลนีเดี่ยว ลงในหลอดเซนต์-ปีวีสที่มี MRS broth 10 ml บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ถ่ายเชื้อจาก MRS broth 1 ml ลงในหลอดเซนต์ปีวีสที่มี MRS broth 10 ml บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ปั่นเหวี่ยงเซลล์ด้วยความเร็ว 5,000 รอบ/นาที นาน 5 นาที เทส่วนใสทิ้ง ทำการล้างเซลล์ด้วย saline solution (0.9 g ของ NaCl ต่อน้ำ 100 ml) ที่ฆ่าเชื้อแล้ว 2 ครั้ง จะได้ cell suspension เพื่อนำไปใช้เป็นกล้าเชื้อ

3.2.1.2 การตรึงเซลล์โดยประยุกต์จากวิธีของ Corton *et al.* (2000) [40] และ De Giulio *et al.* (2005) [41]

เตรียมสารละลาย sodium alginate ร้อยละ 1.0 (w/w) แล้วทำให้ปราศจากเชื้อ ทำการเติมเซลล์ cell suspension แบคทีเรียโพรไบโอติกความเข้มข้น 10% จำนวน 2 สายพันธุ์

คือ *Lactobacillus plantarum* และ *Pediococcus pentosaceus* แล้วจึงถ่ายลงในหลอดฉีดยาหยดลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ 1.0% (w/w) ที่มีการกวนผสมตลอดเวลา บ่มเม็ด ปิดส์ที่ได้ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์นานครึ่งชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง กรองเม็ดปิดส์และล้างด้วยน้ำเปล่า 2 ครั้ง

3.2.1.3 วิเคราะห์ความสามารถในการทนต่อสภาวะที่มีกรดสูงและเกลือน้ำดีแบบต่อเนื่องทำโดยซังเม็ดเจล 1 กรัม แช่ในสารละลายฟอสเฟสบัฟเฟอร์ pH 2.0 ที่มีเปปซิน 0.3% บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง หมุนเหวี่ยงแยกเม็ดเจลที่ความเร็ว 5,000 รอบ/นาที เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นแบ่งการทดลองเป็นสองส่วน ส่วนแรกคือ ส่วนที่ไม่ผ่านสภาวะที่มีเกลือน้ำดีนำมานับจำนวนเซลล์ที่เหลืรอด และส่วนที่สองนำเม็ดเจลมาเติมฟอสเฟสบัฟเฟอร์ที่มีโซเดียมคลอไรด์ 0.85% น้ำหนักต่อปริมาตร ปรับพีเอชเป็น 8.0 และมีเกลือน้ำดีความเข้มข้น 0.3% ปริมาตร 9 มิลลิลิตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง นับจำนวนเซลล์ที่เหลืรอดชีวิตตามวิธีวิเคราะห์ โดยซังเม็ดเจล 1 กรัมเติมฟอสเฟสบัฟเฟอร์ pH 7.5 ปริมาตร 9 ml นำไปเขย่าบนเครื่อง vortex ที่ความเร็วสูงสุดเป็นเวลา 10 นาที เจือจาง suspension ของเซลล์ที่ได้ต่อแบบ serial ten fold dilutions ด้วยโซเดียมคลอไรด์ 0.85% น้ำหนักต่อปริมาตร จนได้ความเข้มข้นที่เหมาะสม นับจำนวนเซลล์ในเม็ดเจลด้วยการ pour plate บนอาหาร MRS Agar ที่มี bromocresol purple 0.004% (นับโคโลนีที่เปลี่ยนสีอาหารแข็ง MRS จากสีม่วงเป็นสีเหลือง) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง รายงานผลเป็น log CFU/ml โดยเม็ดเจล 1 กรัม สามารถคำนวณเป็นค่า log CFU/ml ได้ดังนี้ ปริมาณแบคทีเรียกรดที่ใช้ในการห่อหุ้มเซลล์ 40 ml ได้เม็ดเจล 22 กรัม ดังนั้นเม็ดเจล 1 กรัม จะเท่ากับแบคทีเรีย 1.82 ml ถ้าในเม็ดเจลมีแบคทีเรีย  $10^9$  CFU/g ก็จะเท่ากับแบคทีเรีย  $0.55 \times 10^9$  CFU/ml ซึ่งเท่ากับ 8.74 log CFU/ml

### 3.2.2 ศึกษาคุณลักษณะของโพน

#### 3.2.2.1 การเตรียมน้ำผักและน้ำผลไม้

- การเตรียมน้ำแครอท นำแครอทล้างด้วยน้ำสะอาด ปอกเปลือก นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้ กรองด้วยผ้าขาวบาง ได้น้ำแครอท

- การเตรียมน้ำส้ม นำส้มล้างด้วยน้ำสะอาด ปอกเปลือก นำเนื้อไปปั่นด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้ กรองด้วยผ้าขาวบาง ได้น้ำส้ม

- การเตรียมน้ำสัปปะรด นำสัปปะรดล้างด้วยน้ำสะอาด ปอกเปลือกเฉือนตาออก หั่นเป็นชิ้นเล็ก นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้ กรองด้วยผ้าขาวบาง ได้น้ำสัปปะรด

นำน้ำผักผลไม้ที่เตรียมไว้มาผสมที่อัตราส่วน 50 : 30 : 20 (แครอท : ส้ม : สับปะรด) เติมเมทิลเซลลูโลส (1, 1.5 และ 2 w/v) และผงไข่ขาว (1, 2 และ 3 w/v) นำไปตีให้เกิดโฟมเป็นเวลา 15-20 นาที ด้วยเครื่องตีแป้ง จากนั้นนำมาวิเคราะห์คุณสมบัติของโฟมดังนี้

- ความหนาแน่นของโฟม โดยการนำโฟมไปใส่กระบอกตวงแล้วนำไปชั่ง (แสดงดั่งภาคผนวก)
- อัตราการไหล โดยการนำโฟมไปใส่ในกรวยกรองบูชเนอร์วัดปริมาณน้ำที่ไหลออกมา (แสดงดั่งภาคผนวก)

### 3.2.3 ศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมต่อการรอดชีวิตของเซลล์โพรไบโอติกในการทำแห้งแบบโฟมเมท

นำโฟมสูตรที่มีคุณลักษณะที่ดีที่สุดข้อ 3.2.1 มาอบแห้งในอุณหภูมิ 55, 60, 65, และ 70 องศาเซลเซียส วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 3 ซ้ำ จากนั้นวิเคราะห์ทางกายภาพและเคมี ดังนี้

- วัดค่าสีโดยใช้เครื่อง colorimeter ในหน่วย hunter LAB (แสดงดั่งภาคผนวก)
- วัดค่า Aw โดยใช้เครื่องวัดค่า water activity (แสดงดั่งภาคผนวก)
- สุ่มตรวจจำนวนเซลล์โพรไบโอติกก่อนและหลังอบแห้ง (แสดงดั่งภาคผนวก)

### 3.2.4 การศึกษาการผลิตน้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก

โดยศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของน้ำผักผลไม้ต่อปริมาณมอลโตเด็กซ์ทริน 3 ระดับ คือ 2, 4, และ 6% (w/w) วางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 3 ซ้ำ น้ำตาลทรายขาวบดละเอียด 32% น้ำมันมะพร้าว 2% มาผสมกับผงน้ำผักผลไม้และทำการเติมเซลล์ cell suspension แบคทีเรียโพรไบโอติกความเข้มข้น 10% จำนวน 2 สายพันธุ์ คือ *Lactobacillus plantarum* และ *Pediococcus pentosaceus* ในอัตราส่วน 1:1 ปั่นผสมด้วยความเร็วสูงสุดแล้วจึงนำมาร้อนในตะแกรงร้อนแห้งจากนั้นนำไปอบไล่ความชื้นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีแล้วจึงนำไปเข้าเครื่องตอกเม็ด จากนั้นนำผลิตภัณฑ์มาวิเคราะห์ความแข็งโดยใช้เครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (แสดงดั่งภาคผนวก) และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี 9 point hedonic scale โดยจำนวนผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝน 100 คน จากนั้นนำสูตรที่ได้รับการยอมรับมากที่สุดมาวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและเคมี ดังนี้

- การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ดัดแปลงจาก Leong and Shui (2002) [42] (แสดงดั่งภาคผนวก)
- การตรวจวัดค่า pH โดยใช้เครื่องวัดค่าพีเอช (แสดงดั่งภาคผนวก)

- การวิเคราะห์ความเป็นกรดทั้งหมดด้วยการไทเทรต [43] (แสดงดังภาคผนวก)
- การวิเคราะห์พลังงานสะสมในอาหารโดยใช้เครื่อง bomb calorimeter (แสดงดังภาคผนวก)

### 3.2.5 การศึกษาอายุการเก็บรักษา

นำผลิตภัณฑ์ที่ได้รับการยอมรับมากที่สุด เก็บในตู้เย็น (อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส) จากนั้นนำมาตรวจการรอดชีวิตของเซลล์โพรไบโอติกด้วยการ pour plate บนอาหาร MRS agar ในวันที่ 0, 30, 60, และ 90

### 3.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design, CRD) นำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 สำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัสวางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete block design : RCBD) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

### 3.4 สถานที่ทำการวิจัย

ทำการวิจัย ณ ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีอาหาร สาขาเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี วิทยาเขตรังสิต

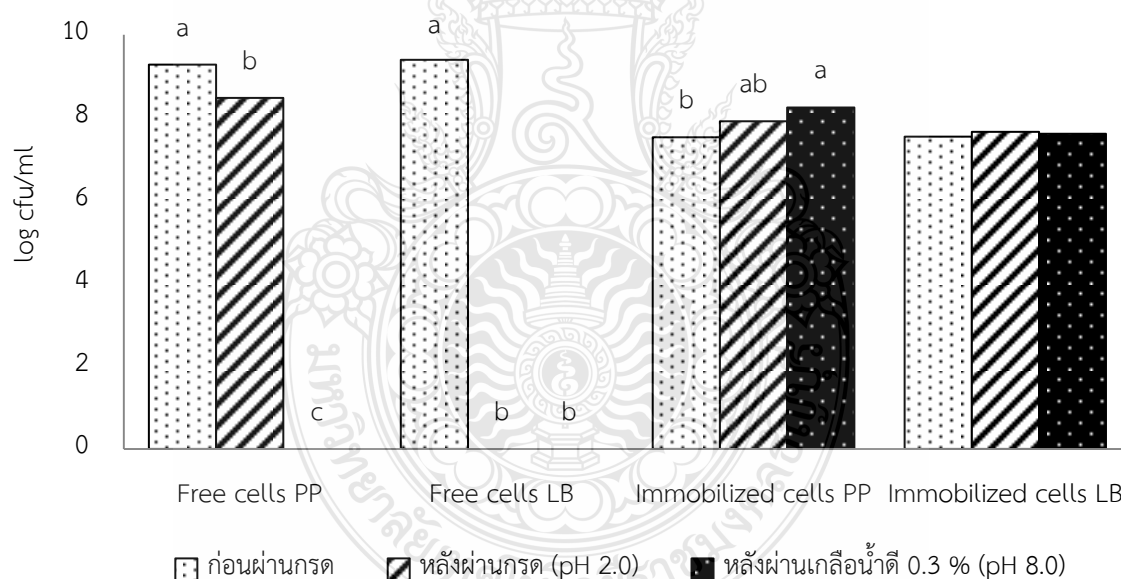


## บทที่ 4

### ผลและอภิปรายผลการวิจัย

#### 4.1 ศึกษาการรอดชีวิตของเซลล์โพรไบโอติกที่ได้รับการตรึงเซลล์

โดยแบคทีเรียกรดแลคติกที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ได้แก่ *Ped. pentosaceus* และ *Lb. plantarum* ซึ่งผ่านการทดสอบคุณสมบัติการเป็นโพรไบโอติกในระดับห้องปฏิบัติการได้แก่ การทนในสภาวะอาหารจำลอง ทนเกลือ น้ำดี ทนในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน ทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียอื่นดีเคเตอร์ ทดสอบการต้านยาปฏิชีวนะ ทดสอบการย่อยสลายเม็ดเลือดแดง และทดสอบการสร้างไบโอฟิล์มพบว่าแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดนี้ไม่ย่อยสลายเม็ดเลือดแดงและไม่มีกิจกรรมการสร้างไบโอฟิล์ม แสดงให้เห็นถึงความสามารถในการนำไปใช้เป็นกล้าเชื้อ [52] เมื่อนำไปทดสอบความสามารถของเซลล์โพรไบโอติก *Ped. pentosaceus* และ *Lb. plantarum* ที่ไม่ผ่านการตรึงเซลล์ และผ่านการตรึงเซลล์ต่อสภาวะที่มีกรดสูง และเกลือ น้ำดี ผลแสดงดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 จำนวนเซลล์รอดชีวิตของ *Ped. pentosaceus* ที่ไม่ผ่านการตรึงเซลล์ (free cells PP) และผ่านการตรึงเซลล์ (immobilized cells PP) และ *Lb. plantarum* ที่ไม่ผ่านการตรึงเซลล์ (free cells LB) และผ่านการตรึงเซลล์ (immobilized cells LB) ในสภาวะที่มีกรดและเกลือ น้ำดีแบบต่อเนื่อง หมายเหตุ ตัวอักษร a,b,c หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

จากผลการศึกษาการทดสอบความสามารถในการทนต่อสภาวะที่มีกรดสูง และเกลือแร่ของแบคทีเรียที่ผ่านและไม่ผ่านการถูกห่อหุ้ม พบว่าเซลล์ *Ped. pentosaceus* ที่ไม่ผ่านการตรึงเซลล์หลังผ่านขั้นตอนเกลือแร่ไม่พบการรอดชีวิตของเชื้อ แต่เซลล์ที่ผ่านการตรึงเซลล์พบการรอดชีวิตของเชื้อในทุก ๆ สภาวะ และมีการรอดชีวิตของเชื้อเพิ่มขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ ) ส่วนเซลล์ *Lb. plantarum* ที่ไม่ผ่านการตรึงเซลล์หลังผ่านสภาวะที่มีกรดและเกลือแร่ไม่พบการรอดชีวิตของเชื้อ แต่เซลล์ที่ผ่านการตรึงเซลล์พบการรอดชีวิตของเชื้อในทุกๆสภาวะ และมีการรอดชีวิตของเชื้อไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) จากการทดลองจะเห็นได้ว่าการรอดชีวิตของเชื้อที่ตรึงเซลล์ด้วยโซเดียมอัลจิเนตสูง อาจเป็นผลมาจากขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างก่อนการเจือจางเป็นลำดับส่วนเพราะมีโซเดียมอัลจิเนตช่วยปกป้องเซลล์ทำให้เชื้อติดอยู่ในสารห่อหุ้ม ซึ่งจุฬาลักษณ์ (2553) [45] กล่าวว่า ขนาดของเม็ดเจลมีส่วนต่อการรอดชีวิตซึ่งเม็ดเจลที่มีขนาดใหญ่จะมีพื้นที่ในการสัมผัสกับกรดน้อยกว่าเม็ดเจลขนาดเล็ก ทำให้มีค่าการรอดชีวิตสูง ซึ่งขนาดเบอร์หัวเข็มที่ใช้มีผลต่อขนาดของเม็ดเจล และยังมีภาวะบู๊กว่าความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนตมีผลต่อการรอดชีวิต โซเดียมอัลจิเนตที่มีเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นสูงมีผลต่อการรอดชีวิตสูงกว่าโซเดียมอัลจิเนตที่มีเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นต่ำ

#### 4.2 ศึกษาคุณลักษณะของโฟม

นำโฟมที่ได้โดยการนำน้ำผักผลไม้ที่เตรียมไว้มาผสมที่อัตราส่วน 50 : 30 : 20 (แครอท ส้ม และสับปะรด) เติมเมทิลเซลลูโลส (1, 1.5, และ 2 w/v) และผงไข่ขาว (1, 2, และ 3 w/v) นำไปตีให้เกิดโฟมเป็นเวลา 15-20 นาที ด้วยเครื่องตี นำมาวิเคราะห์ความหนาแน่น และอัตราการไหลของโฟม แสดงผลดังตารางที่ 1

**ตารางที่ 1** ค่าวิเคราะห์คุณสมบัติของโฟมน้ำผักผลไม้

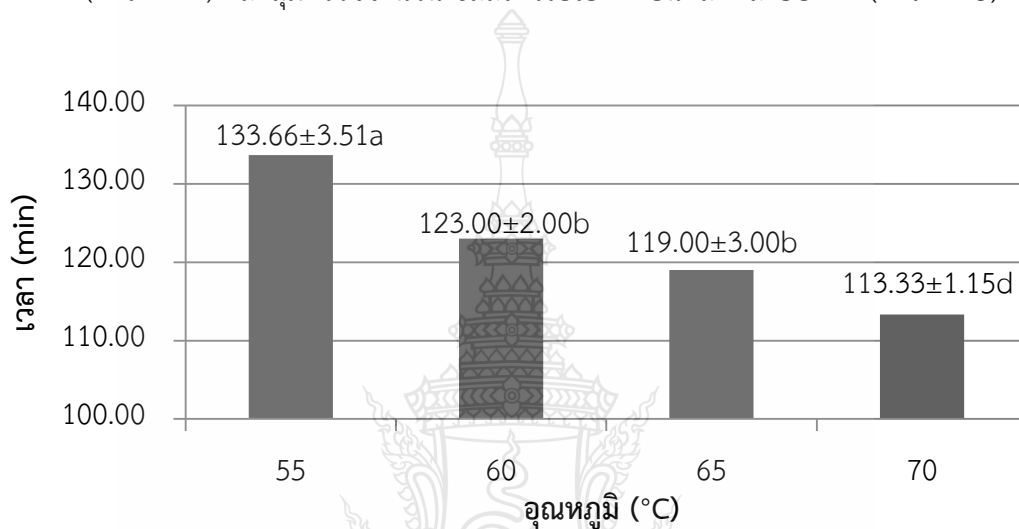
เมทิลเซลลูโลส (%) (w/w)	ผงไข่ขาว (%) (w/w)	ความหนาแน่น (g/cm <sup>3</sup> )	อัตราการไหล (ml)
1	1	0.46 ± 0.01 <sup>b</sup>	7.00 ± 1.00 <sup>cd</sup>
	2	0.45 ± 0.01 <sup>b</sup>	15.00 ± 1.00 <sup>b</sup>
	3	0.59 ± 0.01 <sup>a</sup>	17.00 ± 1.00 <sup>a</sup>
1.5	1	0.36 ± 0.01 <sup>f</sup>	5.33 ± 0.58 <sup>d</sup>
	2	0.38 ± 0.01 <sup>e</sup>	8.00 ± 1.00 <sup>c</sup>
	3	0.32 ± 0.01 <sup>g</sup>	8.00 ± 1.00 <sup>c</sup>
2	1	0.41 ± 0.01 <sup>d</sup>	5.00 ± 1.00 <sup>d</sup>
	2	0.43 ± 0.01 <sup>c</sup>	5.66 ± 1.53 <sup>d</sup>
	3	0.46 ± 0.01 <sup>b</sup>	5.33 ± 1.53 <sup>d</sup>

**หมายเหตุ** ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ย ( $p \leq 0.05$ )

จากตารางที่ 1 นำโฟมที่ได้โดยการนำน้ำผักผลไม้ เติมเมทิลเซลลูโลส และผงไข่ขาวในอัตราส่วน 1:1, 1:2, 1:3, 1.5:1, 1.5:2, 1.5:3, 2:1, 2:2, และ 2:3 มีค่าความหนาแน่น เท่ากับ 0.46, 0.45, 0.59, 0.36, 0.38, 0.32, 0.46, 0.43, และ 0.41 g/cm<sup>3</sup> ตามลำดับ และมีอัตราการไหล เท่ากับ 7.00, 15.00, 17.00, 5.33, 8.00, 8.00, 5.00, 5.66, และ 5.33 ml ตามลำดับ พบว่า ความหนาแน่นและอัตราการไหลของโฟมที่ดีที่สุดเมื่อเติมเมทิลเซลลูโลส 1.5% (w/w) และผงไข่ขาว 3% (w/w) ซึ่งเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของไข่ขาวจะทำให้ความหนาแน่นของโฟมลดลง การเพิ่มความเข้มข้นของไข่ขาวจะลดแรงตึงผิว เนื่องจากการเคลื่อนที่ของสารก่อโฟมจากเฟสที่เป็นของเหลวไปประสานส่วนของอากาศและของเหลว กลไกนี้นำไปสู่การเพิ่มความสามารถในการเกิดโฟมและลดความหนาแน่น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Falade *et al.* (2003) [44] และงานวิจัยของ Krasaekoopt and Bhatia (2012) [34] สำหรับผงโยเกิร์ตที่ผลิตโดยวิธีการอบแห้งแบบโฟม-เมท และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของเมทิลเซลลูโลสเพิ่มขึ้นจะทำให้มีอัตราการไหลที่ลดลง เนื่องจากความหนืดที่เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ความหนืดที่เพิ่มขึ้นยังช่วยป้องกันการฉีกขาดของชั้นฟิล์มบางๆของฟองอากาศที่เกิดขึ้นภายในโฟม ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Elnaz and Mehran (2016) [32]

### 4.3 ศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมต่อการรอดชีวิตของเซลล์โพรไบโอติกในการทำแห้งแบบโฟมแมท

ผงน้ำผักผลไม้จากโพลีเมอร์ที่มีคุณลักษณะที่ดีที่สุด เมื่อเติมเมทิลเซลลูโลส 1.5% (w/w) และผงไข่ขาว 3% (w/w) มาอบแห้งในอุณหภูมิ 55, 60, 65, และ 70 องศาเซลเซียส โดยผลของเวลาที่ใช้ในการทำแห้งแบบโฟมแมท ดังภาพที่ 3 จากนั้นวิเคราะห์ทางกายภาพและเคมี ได้แก่ วัตถุประสงค์ (ตารางที่ 3) วัตถุประสงค์ Aw (ตารางที่ 4) และสุ่มตรวจจำนวนเซลล์โพรไบโอติกก่อนและหลังอบแห้ง (ตารางที่ 5)



ภาพที่ 3 ผลของอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการทำแห้งแบบโฟมแมท

หมายเหตุ ตัวอักษร a,b,c หมายถึง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $p \leq 0.05$ )

ดังภาพที่ 3 นำโพลีเมอร์ที่มีคุณลักษณะที่ดีที่สุด เมื่อเติมเมทิลเซลลูโลส 1.5% (w/w) และผงไข่ขาว 3% (w/w) มาอบแห้งในอุณหภูมิ 55, 60, 65, และ 70 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาในการอบ 133.66, 123.00, 119.00, และ 113.33 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการอบเวลาในการอบจะลดลงตามลำดับ

**ตารางที่ 2** ค่าวิเคราะห์การวัดค่าสีของเซลล์โพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มและไม่ถูกห่อหุ้มที่อุณหภูมิทำแห้งแตกต่างกัน

ค่าสี/ อุณหภูมิ (°c)	เซลล์อิสระ				เซลล์ที่ผ่านการตรึง			
	55	60	65	70	55	60	65	70
L*	76.64 <sup>a</sup>	76.93 <sup>b</sup>	78.45 <sup>d</sup>	77.03 <sup>bc</sup>	77.09 <sup>c</sup>	76.95 <sup>b</sup>	78.43 <sup>d</sup>	76.90 <sup>b</sup>
a*	15.29 <sup>c</sup>	11.39 <sup>a</sup>	12.21 <sup>b</sup>	11.37 <sup>a</sup>	14.71 <sup>c</sup>	11.46 <sup>a</sup>	12.25 <sup>b</sup>	11.47 <sup>a</sup>
b*	37.81 <sup>c</sup>	33.96 <sup>a</sup>	35.97 <sup>b</sup>	33.32 <sup>a</sup>	38.30 <sup>c</sup>	34.01 <sup>a</sup>	36.03 <sup>b</sup>	32.84 <sup>a</sup>

**หมายเหตุ** ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ย ( $p \leq 0.05$ )

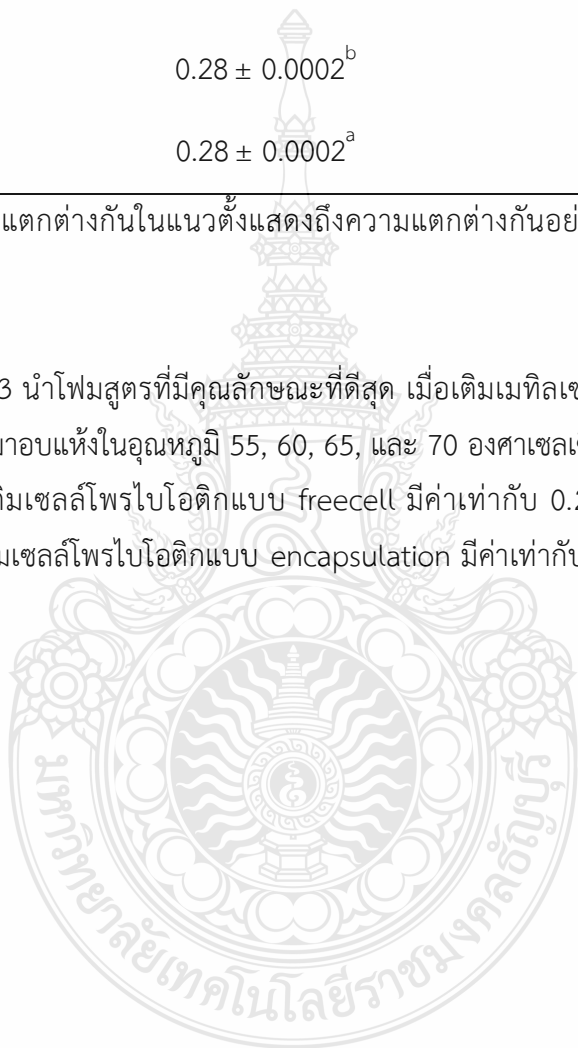
จากตารางที่ 2 ผงน้ำผักผลไม้อบแห้งในอุณหภูมิ 55, 60, 65, และ 70 องศาเซลเซียส ซึ่งมีการเติมเซลล์โพรไบโอติกแบบ freecell มีค่าสี L\* เท่ากับ 76.64, 76.93, 78.45, และ 77.03 ตามลำดับ มีค่าสี a\* เท่ากับ 15.29, 11.39, 12.21, และ 11.37 ตามลำดับ มีค่าสี b\* เท่ากับ 37.81, 33.96, 35.97, และ 33.32 ตามลำดับ และการเติมเซลล์โพรไบโอติกแบบ encapsulation มีค่าสี L\* เท่ากับ 77.09, 76.95, 78.43, และ 76.90 ตามลำดับ มีค่าสี a\* เท่ากับ 14.71, 11.46, 12.25, และ 11.47 ตามลำดับ มีค่าสี b\* เท่ากับ 38.30, 34.016, 36.03, และ 32.84 ตามลำดับ โดยค่าสีของ L\* จะมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิทั้งสองแบบ และค่าสีของ a\* และ b\* มีค่าลดลงเมื่อเพิ่มอุณหภูมิทั้งสองแบบเช่นกัน

ตารางที่ 3 ค่าวิเคราะห์การวัดค่าปริมาณน้ำอิสระ (water activity) ของน้ำผักผลไม้ผงที่อุณหภูมิทำแห้งแตกต่างกัน

อุณหภูมิ (°C)	เซลล์อิสระ	เซลล์ที่ผ่านการตรึง
55	0.27 ± 0.0001 <sup>c</sup>	0.27 ± 0.0002 <sup>c</sup>
60	0.26 ± 0.0002 <sup>d</sup>	0.26 ± 0.0002 <sup>d</sup>
65	0.28 ± 0.0002 <sup>b</sup>	0.28 ± 0.0001 <sup>a</sup>
70	0.28 ± 0.0002 <sup>a</sup>	0.28 ± 0.0001 <sup>a</sup>

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ย ( $p \leq 0.05$ )

จากตารางที่ 3 นำโพลีเมอร์ที่มีคุณลักษณะที่ดีที่สุด เมื่อเติมเมทิลเซลลูโลส 1.5% (w/w) และผงไข่ขาว 3% (w/w) มาอบแห้งในอุณหภูมิ 55, 60, 65, และ 70 องศาเซลเซียส จากนั้นนำมาวิเคราะห์ค่า  $A_w$  ซึ่งมีการเติมเซลล์โพรไบโอติกแบบ freecell มีค่าเท่ากับ 0.27, 0.26, 0.28, และ 0.28 ตามลำดับ และการเติมเซลล์โพรไบโอติกแบบ encapsulation มีค่าเท่ากับ 0.27, 0.26, 0.28, และ 0.28 ตามลำดับ



**ตารางที่ 4** จำนวนเซลล์โพรไบโอติกก่อนและหลังอบแห้งด้วยวิธีโฟม-แมทที่อุณหภูมิต่างๆ

	อุณหภูมิ (°C)	เซลล์อิสระ	เซลล์ที่ผ่านการตรึง
ก่อน <sup>ns</sup>	55	8.95±0.01	8.96±0.02
	60	8.95±0.02	8.96±0.03
	65	8.95±0.03	8.96±0.003
	70	8.95±0.03	8.96±0.01
หลัง	55	8.43±0.04 <sup>b</sup>	8.51±0.01 <sup>a</sup>
	60	8.38±0.05 <sup>b</sup>	8.40±0.07 <sup>b</sup>
	65	8.25±0.07 <sup>d</sup>	8.29±0.03 <sup>c</sup>
	70	8.13±0.05 <sup>f</sup>	8.15±0.07 <sup>e</sup>

**หมายเหตุ** ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ย ( $p < 0.05$ )

<sup>ns</sup> หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

จากตารางที่ 4 นำโฟมสูตรที่มีคุณลักษณะที่ดีที่สุด เมื่อเติมเมทิลเซลลูโลส 1.5% (w/w) และผงไข่ขาว 3% (w/w) มาอบแห้งในอุณหภูมิ 55, 60, 65, และ 70 องศาเซลเซียส ซึ่งการเติมเซลล์โพรไบโอติกแบบ freecell มีจำนวนเซลล์โพรไบโอติกก่อนอบ เท่ากับ 8.95 log CFU/g ในทุกอุณหภูมิ เนื่องจากการเติมเซลล์โพรไบโอติกในอัตราส่วนที่เท่ากัน มีจำนวนเซลล์โพรไบโอติกหลังอบ เท่ากับ 8.43, 8.38, 8.25, และ 8.13 log CFU/g ตามลำดับ และการเติมเซลล์โพรไบโอติกแบบ encapsulation มีจำนวนเซลล์โพรไบโอติกก่อนอบ เท่ากับ 8.96 log CFU/g ในทุกอุณหภูมิ มีจำนวนเซลล์โพรไบโอติกหลังอบ เท่ากับ 8.51, 8.40, 8.29, และ 8.15 log CFU/g ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าในการห่อหุ้มเซลล์ด้วยอัลจินตด้วยวิธี encapsulation สามารถเพิ่มอัตราการเหลือรอดของโพรไบโอติกได้ และการเพิ่มอุณหภูมิมีผลทำให้จำนวนเซลล์โพรไบโอติกลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของธิดารัตน์ และคณะ (2560) [46] สำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์ลองกองแผ่นอบแห้งเสริมโพรไบโอติก พบว่าการอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ทำให้มีอัตราเซลล์โพรไบโอติกเหลือรอดสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส ในการห่อหุ้มเซลล์ด้วยอัลจินตด้วยวิธี encapsulation โดยใช้เทคนิคอิมัลชันสามารถเพิ่มอัตราการเหลือรอดของโพรไบโอติกได้

#### 4.4 ผลการการศึกษาการผลิตน้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก

น้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติกซึ่งมีอัตราส่วนของน้ำผักผลไม้ต่อปริมาณมอลโตเด็กซ์ตริน 3 ระดับ คือ 2, 4, และ 6% น้ำตาลทรายขาวบดละเอียด 32% น้ำมันมะพร้าว 2% มาผสมกับผงน้ำผักผลไม้และทำการเติมเซลล์ cell suspension แบคทีเรียโพรไบโอติกความเข้มข้น 10% จำนวน 2 สายพันธุ์ คือ *Lactobacillus plantarum* และ *Pediococcus pentosaceus* ในอัตราส่วน 1:1 มาวิเคราะห์ความแข็งโดยใช้เครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส พบว่ามีความแข็ง 51.20, 54.32 และ 58.95 kilopound ตามลำดับ และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี 9 point hedonic scale โดยจำนวนผู้ทดสอบที่ไม่ผ่านการฝึกฝน 100 คน แสดงดังตารางที่ 6

ตารางที่ 5 ผลคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์น้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก

ปริมาณ มอลโตเด็กซ์ตริน (%)	คุณลักษณะทางประสาทสัมผัส				
	สี <sup>ns</sup>	กลิ่น <sup>ns</sup>	รสชาติ <sup>ns</sup>	เนื้อสัมผัส	ความชอบโดยรวม
2	6.37±0.64	4.48±0.50	4.60±0.68	5.63±0.69 <sup>b</sup>	5.54±0.52 <sup>b</sup>
4	6.42±0.66	4.47±0.50	4.61±0.66	5.72±0.63 <sup>b</sup>	5.56±0.49 <sup>a</sup>
6	6.41±0.65	4.47±0.50	4.61±0.64	5.96±0.65 <sup>a</sup>	5.54±0.52 <sup>b</sup>

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ย ( $p < 0.05$ )

<sup>ns</sup> หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

จากตารางที่ 5 พบว่าน้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติกซึ่งมีอัตราส่วนของน้ำผักผลไม้ต่อปริมาณมอลโตเด็กซ์ตริน 3 ระดับ คือ 2, 4, และ 6% น้ำตาลทรายขาวบดละเอียด 32% น้ำมันมะพร้าว 2% คุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่น และรสชาติ ได้รับคะแนนความชอบไม่แตกต่างกันในทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) คุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านเนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม ได้รับคะแนนความชอบแตกต่างกันในทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เนื่องจากทั้ง 3 สูตรมีแตกต่างกันเพียงปริมาณมอลโตเด็กซ์ตริน ซึ่งมอลโตเด็กซ์ตรินเป็นสารเพิ่มความแข็ง จึงมีผลต่อเนื้อสัมผัส ดังนั้นจึงเลือกสูตรที่ใช้ปริมาณมอลโตเด็กซ์ตริน 4% มาวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและเคมี โดยพิจารณาจากคะแนนความชอบโดยรวม ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ชมภูงูช (2554) [47] สำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้อัดเม็ด พบว่าสูตรที่มีการใช้มอลโตเด็กซ์ตรินที่ระดับ 4% ให้ผลิตภัณฑ์



อัดเม็ดที่มีความแน่นเนื้อ ไม่เปราะและไม่แข็งจนเกินไป และเมื่อนำมาวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ และเคมี พบว่าการวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่ากับปริมาณ ascorbic acid จาก DPPH เท่ากับ 24.43 µg/ml การตรวจวัดค่า pH เท่ากับ 4.42 การวิเคราะห์ความเป็นกรด เท่ากับ 0.24% การวิเคราะห์พลังงานสะสมในอาหารโดยใช้เครื่อง bomb calorimeter เท่ากับ 4.06 Kcal/g จากนั้นนำมาศึกษาอายุการเก็บรักษาในน้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก

#### 4.5 การศึกษาอายุการเก็บรักษา

ผลิตภัณฑ์น้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติกที่ได้รับการยอมรับมากที่สุด เก็บในตู้เย็น (อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส) จากนั้นนำมาตรวจสอบการรอดชีวิตของเซลล์โพรไบโอติก ด้วยการ pour plate บนอาหาร MRS agar ในวันที่ 0, 30, 60, และ 90 แสดงผลดังตารางที่ 7

ตารางที่ 6 การรอดชีวิตของเซลล์โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์น้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก

ระยะเวลาเก็บรักษา (วัน)	การรอดชีวิตของเซลล์โพรไบโอติก (log CFU/g)	
	อุณหภูมิห้อง (35 °C)	ตู้เย็น (4 °C)
0	10.01±0.0010 <sup>a</sup>	10.00±0.0010 <sup>a</sup>
30	9.69±0.0015 <sup>b</sup>	9.81±0.1548 <sup>b</sup>
60	8.29±0.0305 <sup>c</sup>	8.69±0.0208 <sup>c</sup>
90	7.53±0.0208 <sup>d</sup>	7.59±0.0832 <sup>d</sup>

หมายเหตุ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของค่าเฉลี่ย ( $p \leq 0.05$ )

จากตารางที่ 6 พบว่า การรอดชีวิตของเซลล์โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์น้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส) ในวันที่ 0, 30, 60, และ 90 มีปริมาณ 10.01, 9.69, 8.29, และ 7.53 log CFU/g ตามลำดับ และการรอดชีวิตของเซลล์โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์น้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก ที่เก็บรักษาในตู้เย็น (อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส) ในวันที่ 0, 30, 60, และ 90 มีปริมาณ 10.00, 9.81, 8.69, และ 7.59 log CFU/g ตามลำดับ จะเห็นได้

ว่าการรอดชีวิตของเซลล์โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์น้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก ที่เก็บรักษาในอุณหภูมิห้อง มีปริมาณน้อยกว่าเก็บในตู้เย็น [48] และหากมีระยะเวลาเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ปริมาณการรอดชีวิตของเซลล์โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์น้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติกลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ริวิชา (2557) [49] สำหรับการผลิตสารไบโอแอคทีฟชนิดผงโดยวิธีอิมัลชันเชิงซ้อน การรอดชีวิตของเชื้อหลังผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 3 เดือน โดยเก็บที่อุณหภูมิ 0, 4, และ 30 องศาเซลเซียส พบว่าหลังผ่านเก็บรักษาแล้วจำนวนเชื้อที่รอดชีวิตจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) เนื่องจากหลังผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยแล้ว ซึ่งเป็นกระบวนการที่ใช้อุณหภูมิสูง ทำให้เชื้อเกิดการบาดเจ็บและอ่อนแอลง และปริมาณอาหารของจุลินทรีย์ลดลง ทำให้เมื่อผ่านการเก็บรักษาแล้วจำนวนเชื้อลดลง



## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาคุณลักษณะของโพนที่ได้โดยการนำน้ำผักผลไม้ เติมนเมทิลเซลลูโลส และผงไข่ขาว ในอัตราส่วนต่างๆกัน พบว่า ความหนาแน่นและอัตราการไหลของโพนที่ดีที่สุดเมื่อเติมนเมทิลเซลลูโลส 1.5% (w/w) และผงไข่ขาว 3% (w/w)

จากผลการศึกษาการทดสอบความสามารถในการทนต่อสภาวะที่มีกรดสูง และเกลือแร่ของแบคทีเรียที่ผ่านและไม่ผ่านการถูกห่อหุ้ม พบว่า เซลล์ *Pediococcus pentosaceus* ที่ไม่ผ่านการตรึงเซลล์หลังผ่านขั้นตอนเกลือแร่ไม่พบการรอดชีวิตของเชื้อ แต่เซลล์ที่ผ่านการตรึงเซลล์พบการรอดชีวิตของเชื้อในทุกๆสภาวะ และมีการรอดชีวิตของเชื้อเพิ่มขึ้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ส่วนเซลล์ *Lactobacillus plantarum* ที่ไม่ผ่านการตรึงเซลล์หลังผ่านสภาวะที่มีกรดและเกลือแร่ไม่พบการรอดชีวิตของเชื้อ แต่เซลล์ที่ผ่านการตรึงเซลล์พบการรอดชีวิตของเชื้อในทุกๆสภาวะ และมีการรอดชีวิตของเชื้อไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ )

จากศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมต่อการรอดชีวิตของเซลล์โพรไบโอติกในการทำแห้งแบบโพนแมท โดยนำโพนสูตรที่มีคุณลักษณะที่ดีที่สุด เมื่อเติมนเมทิลเซลลูโลส 1.5% (w/w) และผงไข่ขาว 3% (w/w) มาอบแห้งในอุณหภูมิที่ดีที่สุดคือ 55 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาในการอบ 133.66 ซึ่งการเติมเซลล์โพรไบโอติกแบบ free cell มีค่า Aw อยู่ระหว่าง 0.26-0.28 เมื่ออบแห้งที่อุณหภูมิ 60 และ 70 องศาเซลเซียส มีจำนวนเซลล์โพรไบโอติกก่อนอบ เท่ากับ 8.95 log CFU/g และมีจำนวนเซลล์โพรไบโอติกหลังอบมากที่สุดที่อุณหภูมิอบแห้ง 55 องศาเซลเซียส เท่ากับ 8.43 log CFU/g ส่วนการเติมเซลล์โพรไบโอติกแบบ encapsulation มีค่า Aw อยู่ระหว่าง 0.26-0.28 เมื่ออบแห้งที่อุณหภูมิ 60 และ 70 องศาเซลเซียส ค่าสีไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p > 0.05$ ) มีจำนวนเซลล์โพรไบโอติกก่อนอบ เท่ากับ 8.96 log CFU/g มีจำนวนเซลล์โพรไบโอติกหลังอบมากที่สุดที่อุณหภูมิอบแห้ง 55 องศาเซลเซียส เท่ากับ 8.51 log CFU/g

จากการศึกษาการผลิตน้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก พบว่าน้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติกซึ่งมีอัตราส่วนของน้ำผักผลไม้ต่อปริมาณมอลโตเด็คซ์ตริน 3 ระดับ คือ 2, 4, และ 6% ซึ่งผลิตน้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติกที่มีปริมาณมอลโตเด็คซ์ตริน 6% มีความแข็งมากที่สุด คุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่น และรสชาติ ได้รับคะแนนความชอบไม่แตกต่างกันในทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) คุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านเนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม ได้รับคะแนนความชอบแตกต่างกันในทางสถิติที่ระดับนัยสำคัญ ( $p \leq 0.05$ ) ดังนั้นจึงเลือกสูตรที่ใช้ปริมาณ

มอลโตเด็กซ์ตริน 4% มาวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและเคมี โดยพิจารณาจากคะแนนความชอบโดยรวม พบว่าการวิเคราะห์ กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่ากับปริมาณ ascorbic acid จาก DPPH เท่ากับ 24.43  $\mu\text{g}/\text{ml}$  การตรวจวัดค่า pH เท่ากับ 4.42 การวิเคราะห์ความเป็นกรด เท่ากับ 0.24% การวิเคราะห์พลังงานสะสมในอาหารโดยใช้เครื่อง bomb calorimeter เท่ากับ 4.06 Kcal/g

จากการศึกษาอายุการเก็บรักษา เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส) ระยะเวลา 90 วัน มีปริมาณการรอดชีวิตของเซลล์โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์น้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก 7.53 log CFU/g และ เก็บรักษาในตู้เย็น (อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส) ระยะเวลา 90 วัน มีปริมาณการรอดชีวิตของเซลล์โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์น้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก 7.59 log CFU/g โดยมีปริมาณมากกว่า  $10^6$  cfu/ml ซึ่งเป็นระดับที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย และคุณภาพทางจุลินทรีย์เป็นไปตามมาตรฐานของกระทรวงสาธารณสุข



## บรรณานุกรม

- [1] นิธิยา รัตนูปนนท์. (2545). เคมีอาหาร. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.
- [2] ชนนท์ ราชภูร์นิยม. (2553). การผลิตน้ำผลไม้ผงโดยวิธีการอบแห้งแบบโฟมเมท. รายงานผลโครงการตามแผนยุทธศาสตร์. มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- [3] วรณรงค์ ทองสมบัติ. (2549). การผลิตโยเกิร์ตและน้ำฝรั่งพร้อมดื่มเติมโยเกิร์ตจากผลฝรั่ง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- [4] Gardner, R. G. (2001). An oxysterol-derived positive signal for 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase degradation in yeast. *J Biol Chem* 276(12):8681-94.
- [5] Axelsson, L. (1998). Lactic Acid Bacteria: Classification and Physiology. In: *Lactic Acid Bacteria*. Salminen, S., and Wright, A. V., Editors. New York. Marcel Dekker. p. 1-72
- [6] Wood, B.J.B. and Holzapfel, W.H. (1997). *The Lactic bacteria: The Genera of lactic acid bacteria*. Blackie Academic & Professional, New York. pp.7-15.
- [7] Sybesma, W., Hugenholtz, J., De Vos, W. M. and Smid, E.J. (2006). Safe use of genetically modified lactic acid bacteria in food. Bridging the gap between consumers, green groups, and industry. *Electronic J. Biotechnol.* 9(4): 424-448.
- [8] Hammers, W.P. (1987). *Proceeding from Food Ingredients*. Wiesbaden : European Conference on Ingredients and Additive.
- [9] Yang Y. (1997). Nuclear magnetic resonance assignment and secondary structure of an ankyrin-like repeat-bearing protein: myotrophin. *Protein Sci* 6(6): 1347-51.
- [10] Desai, P. and Sheth, T. (1997). Controlled Fermentation of Vegetables Using Mixed Inoculum of Lactic. *Cultures.J.Food. Sci.Technol.*, 34:155-158.
- [11] Steinkrus, H.K. (1992). Lactic Acid Fermentation. In *Applications of Biotechnology to Traditional Fermented Food*. (ed. Gaden, E.L., Bokanga, M., Harlander, S. and Hesseltine, G.W.). pp.43-51. Washington, D.C. :National Academy Press.

- [12] Guzel-seydim, Z., Seydim, A., Greene, A., and Tas, T. (2006). Determination of antimutagenic properties of acetone extracted fermented milks and changes in their total fatty acid profiles including conjugated linoleic acids. *Int. J. Dairy Technol.* 59 209–215.
- [13] Beshkova, D. M. E. D. Simova, Z. I. Simov, G. I. Frengova and Spasov, Z.N. (2002). Pure culture for making kefir. *Food Microbiology.* 19: 537-544.
- [14] Steinkrus, K. (1995). *Handbook of Indigenous Fermented Foods*. 2<sup>ed</sup>. Marcel Dekker, Inc. USA. p.135.
- [15] Adam, M.R. and M.O.Moss. (1995). *Food Microbiology*. The Royal Society of Chemistry. Cambridge: pp. 232-248.
- [16] Swetwivathana, A., Zendo, T., Lotong, N., Nakayama, J. and Sonomoto, K. (2003). Screening of Bacteriocin-producing Bacteria Associated in Nham (Traditional Thai Fermented Meat). *The 49th International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST) Proceedings, Brazil.* pp. 322 - 324.
- [17] Pongpech, P., Sereekul, C., Tanasupawat, S. and Dhiraputra, C. (2003). Characterization and identification of *Acinetobacter* strains from clinical specimens in Thailand. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 49: 257-262.
- [18] Wang, H.L. and Hesseltin, C.W. (1981). Use of microbial culture: Legume and cereal products. *Food Technol.* 35(1):79-83.
- [19] Klaenhammer, T.R. (1988). Bacteriocin of lactic acid bacteria. *Biochimic.*70:337-349.
- [20] Hertzler, S.R. and Clancy, S.M. (2003). Kefir improves lactose digestion and tolerance in adults with lactose maldigestion. *Research.* 103(5):582-586.
- [21] Fuller, R. (1989). Probiotics in man and animals. *J Food Microbiol*, 66: 365-78.
- [22] Ouwehand, A.C., Kirjavainen, P.V., Shortt, C. And Salminen, S. (1999). Probiotics: Mechanisms and Established Effects. *Curr Opin Biotechnol.* 13: 517-521.
- [23] Saarela, M., Mogensen, G., Fondé n, R., Mättö, J., and Mattila-Sandholm, T. (2000). Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. *Journal of Biotechnology* 84: 197-215.

- [24] Mattila-Sandholm, T., Myllärinen, P., Crittenden, R., Mogensen, G., Fondén, R., and Saarela, M. (2002). Technological challenges for future probiotic foods. *International Dairy Journal*, 12(2), 173-182.
- [25] กมลชัย ตรงวานิชนาม. (2521). ยากลุ่มไนโตรฟูแรน. ยาด้านจุลชีพในสัตว์. กรุงเทพฯ: ชอนนทรีการพิมพ์.
- [26] De Ambrosini, M., Gonzalez, V.I.S.N. and Oliver, G. (1999). Study of adhesion of *Lactobacillus casei* CRL431 to ileal intestinal cell to mice. *J. Food Prot.* 62 : 1430-1434.
- [27] Chaovanalikit, A., and Itthisoponkul, T. (2011). Natural colorants from mangosteen rinds. Bangkok: Srinakharinwirot University.
- [28] กานต์ แยมพงษ์ และรุ่งนภา สนุ่นดี. (2558). การประยุกต์ใช้การตรึงเซลล์โพรไบโอติกด้วยเทคนิคไมโครเอนแคปซูลชั้นในผลิตภัณฑ์น้ำเสาวรส. (งานวิจัยเพื่อพัฒนาท้องถิ่น, มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์).
- [29] เอกชัย เดชเรืองศรี ซาลีดา บรมพิชัยชาติกุล และอัจฉรา จันทร์ฉาย. (2558). การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มชาใบหม่อนพร้อมดื่มที่มีสารต่อต้านอนุมูลอิสระสูงโดยใช้นวัตกรรมไมโครเอนแคปซูลชั้น. *วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. ภาครุรกิจเทคโนโลยีและการจัดการนวัตกรรม. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.*
- [30] เทพอนันต์ สมานวงศ์ และสุรีย์พร เอี่ยมศรี. (2559). การรอดชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ห่อหุ้มด้วยวิธีเอนแคปซูลชั้นในโยเกิร์ตนมข้าวโพดโยเกิร์ตนมวัว และโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ. ปีที่ 2 (ฉบับที่ 1) : 24-35.*
- [31] ชูติมา อนุเทศ, วิไล สนธิเพิ่มพูน, จีรพร กงบังเกิด และพันธ์ณรงค์ จันทร์แสงศรี. (2553). สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตผงสำเร็จรูปจากตะไคร้ด้วยการทำแห้งแบบโฟมเมท. *วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ. 20(3), 524-533.*
- [32] Elnaz, A. and Mehran, A. (2016). Evaluation of physicochemical properties of foam mat dried sour cherry powder. *LWT - Food Science and Technology* 68 :105-110.
- [33] สุภาวิณี แสันทวีสุข. (2555). น้ำมะขามป้อมผงกึ่งสำเร็จรูปโดยการทำแห้งแบบโฟม-เมท. *สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. มหาวิทยาลัยราชภัฏพระนครศรีอยุธยา.*

- [34] Krasaekoopt, W. and Bhatia, W. (2012). Production of Yogurt Powder Using Foam-Mat Drying. AU Journal of Technology. 15(3): 166-171.
- [35] ศุภกิจ อินพุ่ม เต็มศักดิ์ ส่งวัฒนา และอภัสรา แสงนาค. (2547). การผลิตแครอทผงโดยการทำให้แห้งด้วยวิธีทำให้เกิดฟอง. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร มหาวิทยาลัยบูรพา. ปีที่ 9. ฉบับที่ 1-2 : 65-72.
- [36] ธวัชชัย ศุภวิทิตพัฒนา. (2554). ผลของสารก่อโฟมที่มีต่อสมบัติของโจ๊กข้าวกล้องงอกกึ่งสำเร็จรูปที่ผลิตด้วยวิธีโฟม-แมท. วารสารการวิจัยคณะเทคโนโลยีการเกษตรและอาหาร มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม. ปีที่ 17 (ฉบับที่ 1) : 1-12
- [37] Sharada, S. (2013). Studies on effect of various operating parameters & foaming agents-drying of fruits and vegetables international Journal of Modern Engineering Research 3:1512-19.
- [38] Krasaekoopt, W. And Bhatia, W. (2012). Production of Yogurt Powder Using Foam-Mat Drying. AU J.T. 15(3): 166-171.
- [39] สถาพร นิมกุลรัตน์. (2548). ยาเม็ด. สาขาวิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม. คณะเภสัชศาสตร์. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.
- [40] Corton, E., Piuri, M., Battaglini, F. and Ruzal, S.M. (2000). Characterization of *Lactobacillus*
- [41] De Giulio, B., Orlando, P., Barba, G., Coppola, R., De Rosa, M., Sada, A., De Prisco, P.P. and Nazzaro, F. (2005). Use of alginate and cryo-protective sugars to improve the viability of lactic acid bacteria after freezing and freeze-drying. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 21, 739-746.
- [42] Leong, L.P., Shui, G. (2002). An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singaporemarkets. Food Chemistry 76 (1): 69-75.
- [43] AOAC. (2000). Official Methods of Analysis of AOAC International. 17th ed., Maryland, USA.
- [44] Falade, K.O., Adeyanju, K.I. and Uzo-Peters, P.I. (2003). Foam-mat drying of cowpea (*Vigna unguiculata*) using glyceryl monostearate and egg albumin as foaming agents. European Food Research and Technology Journal. 217: 486-491.



- [45] จุฬาลักษณ์ ชูพรหม. (2553). การทอหุ้มเซลล์โพรไบโอติกร่วมกับพรีไบโอติกและศึกษาการรอดชีวิตในสภาวะที่เป็นกรดและเกลือแร่ในหลอดทดลอง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.
- [46] ธิดารัตน์ จุทอง รัทธดา สมพงษ์ และอุราภรณ์ เรืองวัชรินทร์. (2560). การพัฒนาผลิตภัณฑ์ลองกองแผ่นอบแห้งเสริม *Lactobacillus casei* TISTR 1463 ที่ห่อหุ้มด้วยอัลจิเนตด้วยวิธีเอนแคปซูเลชัน. วารสารวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์. ปีที่ 9 (ฉบับที่ 9) : 63-72
- [47] ชมภูษุช เผื่อนพิภพ. (2554). รายงานการวิจัยเรื่องเครื่องตีม้น้ำมันมะนาวผสมโยอาอาหารแบบพาสเจอร์ไรส์. คณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร.
- [48] Gardiner, B., Peltola, H. and Kellomäki, S. (2000). Comparison of two models for predicting the critical wind speeds required to damage coniferous trees . Ecol. Model. 129, 1 – 23 .
- [49] รวิชา ชัยพจนนา. (2557). การคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกจากข้าวหมักเพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อขนมจีนแป้งหมัก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร. มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- [50] Akintoye O.A. and oguntunde A.O. (1999). preliminary investigation on the effect of foam stabilizers on the physical characteristics and reconstitution properties of foam-mat dried soymilk. Drying Technology, 9 (1), 245-262.
- [51] Graham d.e. and Philips, M. C. (1979). Proteins at liquid interfaces I. kinetics of adsorption and surface denaturation. J. colloid interface sci., 70 (3), 403-414.
- [52] ปาณจิรา สมอารมณ์, ณัฐกิตติ์ หาญชน และพิมพ์ไล ชัยชนะ. (2557). การคัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติกจากผักและผลไม้ดองที่มีคุณสมบัติการทนต่อสภาวะในระบบทางเดินอาหาร. (ปัญหาพิเศษ, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี).



ภาคผนวก



ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมี

## 1. ความหนาแน่นของโพลีเมอร์

### เครื่องมือ และอุปกรณ์

- กระจกบอกรวด ขนาด 50 มิลลิลิตร
- เครื่องชั่งน้ำหนักแบบทศนิยม 3 ตำแหน่ง

### วิธีการ

- นำโพลีเมอร์ที่ต้องการวัดความหนาแน่น บรรจุลงในกระจกบอกรวด ขนาด 50 มิลลิลิตร
- บรรจุให้ถึงปริมาตร 50 มิลลิลิตร ไม่ให้มีโพรงอากาศภายในกระจกบอกรวด
- ชั่งน้ำหนักโดยลบน้ำหนักกระจกบอกรวดเปล่า
- คำนวณหาความหนาแน่นของโพลีเมอร์ [50][51] ดังสูตร

$$\text{ความหนาแน่นของโพลีเมอร์ (กรัมต่อมิลลิลิตร)} = \frac{\text{น้ำหนักโพลีเมอร์}}{\text{ปริมาตรกระจกบอกรวด}}$$

## 2. อัตราการไหล

### เครื่องมือ และอุปกรณ์

- กระจกบอกรวด ขนาด 50 มิลลิลิตร
- กรวยกรองบูชเนอร์ ขนาด 80 มิลลิเมตร
- เครื่องชั่งน้ำหนักแบบทศนิยม 3 ตำแหน่ง

### วิธีการ

- ชั่งโพลีเมอร์ที่ต้องวัดอัตราการไหล 50 กรัม
- บรรจุลงในกรวยกรองบูชเนอร์
- วางกรวยกรองบูชเนอร์บนกระจกบอกรวด เป็นเวลา 60 นาที
- บันทึกปริมาณโพลีเมอร์ที่ไหลลงในกระจกบอกรวด

## 3. วัดค่าสีโดยใช้เครื่อง colorimeter ในหน่วย hunter LAB

### เครื่องมือ และอุปกรณ์

- เครื่องวัดค่าสี (colorimeter)
- เครื่องแก้วสำหรับทดลองวิทยาศาสตร์

### วิธีการ

- ทำการสอบเทียบเครื่องวัดสีตามคู่มือแนะนำก่อนการใช้งานทุกครั้ง
- ตั้งโหมดการวัดสีเป็นระบบ hunter LAB; L\* a\* b\*

- ทำการวัดค่าสีแผ่นสีมาตรฐานทั้งสีดำ และสีขาว
- นำตัวอย่างใส่ลงในช่องวัดสี และปิดฝาครอบเพื่อป้องกันแสงจากภายนอก
- กด Read เพื่อทำการวัดค่าสีและบันทึกผล

#### 4. วัดค่า Aw โดยใช้เครื่องวัดค่า water activity

##### เครื่องมือ และอุปกรณ์

- เครื่องวัด water activity
- เครื่องชั่งน้ำหนักแบบทศนิยม 3 ตำแหน่ง

##### วิธีการ

- ชั่งตัวอย่างประมาณ 3 กรัม โดยจะต้องให้ตัวอย่างปิดภาชนะใส่ตัวอย่างและให้ปริมาณตัวอย่างอยู่สูงระดับครึ่งของภาชนะใส่ตัวอย่าง
- เสียบปลั๊กและเปิดฝาครอบเครื่องวัด water activity โดยเลื่อนไปทางซ้ายมือ
- นำตัวอย่างมาวางในเครื่องวัด water activity
- ปิดฝาเครื่องวัด water activity แล้วเลื่อนล้อคไปทางขวามือ
- เครื่องจะทำการวิเคราะห์ค่าให้อัตโนมัติ
- แถบสีน้ำเงินจะเลื่อนจากซ้ายไปขวาจนเต็มช่อง และเครื่องจะส่งสัญญาณเสียงดังขึ้นมา แสดงว่าเครื่องวิเคราะห์ค่าเสร็จสมบูรณ์
- จดบันทึกข้อมูล

#### 5. สุ่มตรวจจำนวนเซลล์โพรไบโอติกก่อนและหลังอบแห้ง

##### เครื่องมือ และอุปกรณ์

- เครื่องแก้วและอุปกรณ์พื้นฐานในห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา
- เครื่องชั่งน้ำหนักแบบทศนิยม 3 ตำแหน่ง
- autoclave

##### สารเคมี

- น้ำกลั่น
- MRS agar

##### วิธีการ

- ชั่งตัวอย่าง 1 กรัม ลงหลอดแก้วที่มีน้ำกลั่นผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 9 มิลลิลิตร
- ทำการเจือจางตัวอย่างลงครึ่งละ 10 เท่า จนถึง  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ , และ  $10^{-8}$

- ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ลงในงานเพาะเชื้อ
- เท MRS agar ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วและมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ลงในงานเพาะเชื้อ
- ทำการรวนงานเพาะเชื้อเพื่อให้สารละลายตัวอย่างและ MRS agar ผสมจนเข้ากัน
- ทิ้งไว้ให้เซตตัวจากนั้นนำบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง
- นับจำนวนโคโลนีและบันทึกผล

## 6. การวิเคราะห์ความแข็งโดยใช้เครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส

### เครื่องมือ และอุปกรณ์

- เครื่องคอมพิวเตอร์
- เครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส

### วิธีการ

- เปิดเครื่องสำรองไฟ และคอมพิวเตอร์
- เปิดเครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส ปุ่มสวิทช์ ด้านหลังของเครื่อง
- คลิกเข้าโปรแกรม Texture
- ใส่รหัสเพื่อเข้าสู่โปรแกรม
- คลิกปิดย่อหน้า Contents เพื่อเข้าสู่หน้ากราฟ
- คลิกเลือก Sample Project
- ดับเบิลคลิกที่ TPA.PRJ
- คลิก Yes > เครื่องหมาย x > Yes > เครื่องหมาย x
- เลือกเมนู T.A. > Calibrate > Calibrate Force แล้วคลิก Next
- พิมพ์น้ำหนักของตุ้มมาตรฐาน 1000 กรัม ในช่อง Calibrate Weight จากนั้นทำการวางตุ้มน้ำหนักมาตรฐานบน Calibrate Platform แล้วคลิก Next
- คลิก Finish แล้วจึงนำตุ้มออกจาก Platform
- ติดตั้งหัววัดเข้ากับเครื่อง เลือกเมนู T.A. > Calibrate > Calibrate Height
- ตรวจสอบให้แน่ใจว่าไม่มีสิ่งของใดๆวางอยู่ และเลื่อนหัววัดให้ใกล้ฐานมากที่สุด
- คลิก OK หัววัดจะลงไปแตะกับฐาน และคลิก OK เพื่อเสร็จสิ้นการ Calibrate
- เลือกที่ T.A. > T.A. Settings และตั้งค่าต่างๆให้เรียบร้อย คลิก OK
- เลือกที่ T.A. > Run a Test และเลือกชนิดหัววัดในหน้าต่าง Probe Selection
- ใส่ชื่อตัวอย่างในช่อง File ID และใส่จำนวนซ้ำที่ช่อง File Number

- เลือก Browse ในช่อง Path เพื่อเลือกไดร์ที่จะเก็บผลการทดลอง
- นำตัวอย่างมาวางบนฐานของเครื่องวัด และกด Start Test เครื่องจะทำการวัดตัวอย่าง
- คลิกดูตารางผลการทดลองที่ Results จะเจอตารางผลการทดลอง
- ทำการ Save ไฟล์ และปิดโปรแกรม เครื่องคอมพิวเตอร์และเครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัสของตัวอย่าง
- ทำความสะอาดอุปกรณ์และเช็ดให้แห้ง เก็บใส่กล่องให้เป็นระเบียบ

## 7. การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ตัดแปลงจาก Leong and Shui (2002) [48]

### เครื่องมือ และอุปกรณ์

- เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (absorption spectrophotometer)
- เครื่องแก้วทดลองวิทยาศาสตร์

### สารเคมี

- absolute ethanol
- ascorbic acid
- DPPH

### วิธีการ

#### 1. การเตรียมสารละลายของ DPPH ใน ethanol

เตรียมสารละลาย DPPH เข้มข้น 0.1 mM โดยชั่งสาร DPPH 0.0147 g ละลายด้วย ethanol และปรับปริมาตรให้ครบ 250 ml

#### 2. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

เตรียมสารละลายมาตรฐาน ascorbic acid เข้มข้น 100 µg/ml โดยชั่งสาร ascorbic acid 0.01 g ละลายด้วย ethanol และปรับปริมาตรให้ครบ 100 ml เจือจางให้ได้ความเข้มข้น 20 µg/ml โดยปิเปตสารละลายมาตรฐาน ascorbic acid เข้มข้น 100 µg/ml มา 20 ml ผสมกับ ethanol 80 ml จากนั้นนำมาเตรียมให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายคือ 0, 2, 4, 6, 8, และ 10 µg/ml ปริมาตร 10 ml

#### 3. การเตรียมสารตัวอย่าง

เตรียมสารละลายตัวอย่างโดยการนำมารองด้วยกระดาษกรอง จากนั้นทำการเจือจางโดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

#### 4. วิธีการทดสอบ

1. ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง
2. เติมสารละลายของ DPPH ใน absolute ethanol 1 มิลลิลิตร
3. นำไปเขย่าให้สารผสมเข้ากันดี ตั้งทิ้งไว้ 10 นาทีแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้สารละลายตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ผสมกับ absolute ethanol 1 มิลลิลิตร เป็น blank ของสารละลายตัวอย่าง
4. วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน ascorbic acid และ control ที่ 517 นาโนเมตร โดยที่ control ประกอบด้วยน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร และ DPPH 1 มิลลิลิตร และใช้น้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร ผสมกับ absolute ethanol 1 มิลลิลิตร เป็น blank ของ control ในแต่ละความเข้มข้นจะทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง (triplicate)

#### 5. การคำนวณหา % inhibition

$$\% \text{ inhibition} = \frac{(\text{OD.control} - \text{OD.sample})}{\text{OD.control}} \times 100$$

#### 8. การตรวจวัดค่า pH โดยใช้เครื่องวัดค่าพีเอช

##### เครื่องมือ และอุปกรณ์

- เครื่องตรวจวัดค่าพีเอช (pH meter)
- เครื่องแก้วสำหรับทดลองวิทยาศาสตร์

##### สารเคมี

- สารละลายบัฟเฟอร์
- น้ำกลั่น

##### วิธีการ

- เปิดเครื่อง pH meter เพื่ออุ่นเครื่องก่อนวัดประมาณ 5-10 นาที
- calibrate เครื่องด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีค่า pH อยู่ในช่วงที่คาดว่าใกล้เคียงกับตัวอย่างที่จะวัด
- เทน้ำตัวอย่างหรือตัวอย่างอาหารที่ต้องการวัดลงในบีกเกอร์
- ทำการวัดค่า pH โดยแกว่งหัววัดเบาๆ หรือใช้ magnetic stirrer
- เมื่อค่า pH หยุดนิ่งประมาณ 10 วินาที จดบันทึกค่าที่วัดได้



- หลังจากใช้งานเสร็จแล้ว ใช้น้ำกลั่นฉีดล้างทำความสะอาด electrode เช็ดให้แห้ง แล้วแช่ไว้ใน สารละลาย 3 M KCl

## 9. การวิเคราะห์ความเป็นกรด (AOAC, 2000) [49]

### เครื่องมือ และอุปกรณ์

- อุปกรณ์สำหรับไทเทรต
- เครื่องแก้วสำหรับใช้ทดลองวิทยาศาสตร์
- เครื่องชั่งน้ำหนักแบบทศนิยม

### สารเคมี

- phenolphthalein
- sodium hydroxide
- น้ำกลั่น

### วิธีการ

#### การเตรียมตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่างมา 1 กรัมละลายน้ำ 9 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ เขย่าจนเข้ากันดี

#### วิธีการวิเคราะห์ปริมาณกรด

- ดูดตัวอย่างมาจำนวน 10 มิลลิลิตรหรือสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการเตรียมตัวอย่างที่ทราบค่าแน่นอนถ้าอาหารมีสีเข้มในเติมน้ำที่เป็นกลางลงไป (สารละลายจะมีสีอ่อนลง มีผลทำให้เห็นการเปลี่ยนสีของฟีนอล์ฟทาลีนที่จุดยุติได้ง่ายขึ้น)
- หยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 2-3 หยด
- ไทเทรตสารละลายมาตรฐาน NaOH 0.1 N จนถึงจุดยุติของสารละลายสีชมพู นาน 30 วินาที
- บันทึกปริมาตรของ NaOH
- คำนวณปริมาณกรดทั้งหมดเป็นเปอร์เซ็นต์ โดยบอกเป็นกรัมของกรดต่อตัวอย่าง 100 กรัม หรือ 1000 มิลลิลิตรซึ่งเทียบในรูปของกรดที่มีอยู่มากในตัวอย่าง

#### การคำนวณ

$$\text{ปริมาณกรดในตัวอย่าง (\%)} = \frac{V \times N \times \text{น้ำหนักสมมูลของกรด} \times 100}{W \times 1000}$$

เมื่อ V = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน NaOH ที่ใช้ในการไทเทรต (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน NaOH

W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัมต่อมิลลิลิตร)

## 10. การวิเคราะห์พลังงานสะสมในอาหารโดยใช้เครื่อง bomb calorimeter เครื่องมือ และอุปกรณ์

- bomb calorimeter
- เครื่องแก้วสำหรับใช้ทดลองวิทยาศาสตร์

### วิธีการ

- เตรียมตัวอย่างโดยการอบไล่ความชื้นไม่เกิน 60%
- นำตัวอย่างมาบดชั่งน้ำหนักไม่เกิน 1 กรัม
- นำไปอัดเป็นเม็ด แล้วชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
- ทำการเซตเครื่อง bomb calorimeter และระบุน้ำหนักที่แน่นอน
- บรรจุตัวอย่างลงเครื่อง bomb calorimeter





ภาคผนวก ข

ภาพผลการทดลอง





ผลิตภัณฑ์น้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก

ชื่อ..... วันที่..... ชุดที่.....

คำแนะนำ : กรุณาชิมตัวอย่างพร้อมทั้งประเมินคุณภาพของผลิตภัณฑ์ โดยให้คะแนนความชอบตามคำอธิบายข้างล่างนี้

และกรุณาจิบน้ำก่อนชิมตัวอย่างทุกครั้ง

1 = ไม่ชอบมากที่สุด

2 = ไม่ชอบมาก

3 = ไม่ชอบปานกลาง

4 = ไม่ชอบเล็กน้อย

5 = เฉยๆ

6 = ชอบเล็กน้อย

7 = ชอบปานกลาง

8 = ชอบมาก

9 = ชอบมากที่สุด

ลักษณะคุณภาพทางประสาทสัมผัส	รหัสตัวอย่างผลิตภัณฑ์		
สี			
กลิ่น			
รสชาติ			
เนื้อสัมผัส			
ความชอบโดยรวม			

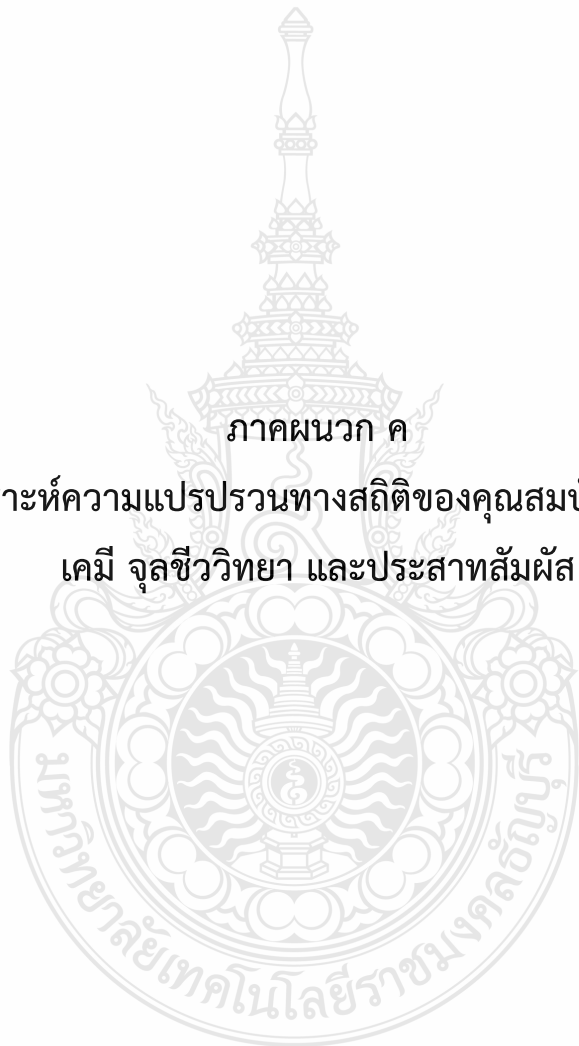
ข้อเสนอแนะ.....  
.....  
.....

ภาพที่ ข.10 แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์น้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก

ภาคผนวก ค

ตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของคุณสมบัติทางกายภาพ

เคมี จุฬชีวะวิทยา และประสาทสัมผัส



**ตารางที่ ค.7** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของคุณสมบัติของโพน้ำผักผลไม้

	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F
ความหนาแน่น	Between Groups	0.143	8	0.018	178.833*
	Within Groups	0.002	18	0	
	Total	0.145	26		
อัตราการไหล	Between Groups	472.741	8	59.093	48.348*
	Within Groups	22.000	18	1.222	
	Total	494.741	26		

หมายเหตุ\* = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ )

**ตารางที่ ค.8** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการทำแห้งแบบโพน้แมท

	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F
	Between Groups	662.917	3	220.972	33.146*
	Within Groups	53.333	8	6.667	
	Total	716.25	11		

หมายเหตุ\* = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ )



**ตารางที่ ค.9** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของการวัดค่าสีของเซลล์โพรไปโอติกที่ถูกห่อหุ้มและไม่ถูกห่อหุ้มที่อุณหภูมิทำแห้งแตกต่างกัน

	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F
L*	Between Groups	10.73	7	1.533	254.247*
	Within Groups	0.096	16	0.006	
	Total	10.827	23		
a*	Between Groups	52.45	7	7.493	53.316*
	Within Groups	2.249	16	0.141	
	Total	54.699	23		
b*	Between Groups	89.014	7	12.716	25.148*
	Within Groups	8.091	16	0.506	
	Total	97.104	23		

หมายเหตุ\* = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ )

**ตารางที่ ค.10** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของการวัดค่า Aw

	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F
	Between Groups	0.001	3	0	10441.46*
	Within Groups	0.000	8	0	
	Total	0.001	11		

หมายเหตุ\* = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ )

**ตารางที่ ค.11** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของจำนวนเซลล์โพรไปโอติกก่อนและหลัง  
อบแห้งด้วยวิธีโฟม-แมทที่อุณหภูมิต่างๆ

	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F
Free cell	Between Groups	0.001	3	7.493	14714.92*
	Within Groups	0.000	8	0.141	
	Total	0.001	11		
Encapsulation	Between Groups	0.001	3	0	10441.46*
	Within Groups	0.000	8	0	
	Total	0.001	11		

หมายเหตุ\* = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ )

**ตารางที่ ค.12** จำนวนเซลล์โพรไปโอติกก่อนแห้งด้วยวิธีโฟม-แมทที่อุณหภูมิต่างๆ

	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F
Free cell	Between Groups	0.000	3	0.000	0.997 <sup>ns</sup>
	Within Groups	0.006	8	0.001	
	Total	0.006	11		
Encapsulation	Between Groups	0.003	3	0.001	2.276 <sup>ns</sup>
	Within Groups	0.003	8	0.000	
	Total	0.006	11		

หมายเหตุ<sup>ns</sup> = ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ )

**ตารางที่ ค.13** จำนวนเซลล์โพรบิโอติกหลังอบแห้งด้วยวิธีโฟม-แมทที่อุณหภูมิต่างๆ

	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F
Free cell	Between Groups	0.163	3	0.054	17.518 <sup>ns</sup>
	Within Groups	0.025	8	0.003	
	Total	0.188	11		
Encapsulation	Between Groups	0.213	3	0.071	23.240 <sup>ns</sup>
	Within Groups	0.024	8	0.003	
	Total	0.238	11		

หมายเหตุ<sup>ns</sup> = ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

**ตารางที่ ค.14** ผลการวิเคราะห์ความแข็งแรงจากเครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส

	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F
Treatment		91.161	2	45.581	0.000 <sup>*</sup>
Block		0.323	2	0.161	0.383
Error		0.525	4	0.131	
Total		27140.197	9		

หมายเหตุ<sup>\*</sup> = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

**ตารางที่ ค.15** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของผลคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านสีของผลิตภัณฑ์น้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรบิโอติก

	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F
Treatment		0.14	2	0.070	0.150 <sup>ns</sup>
Block		35.333	99	0.357	0.764
Error		92.527	198	0.467	
Total		12416	300		

หมายเหตุ<sup>ns</sup> = ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

**ตารางที่ ค.16** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของผลคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัส ด้านกลิ่นของผลิตภัณฑ์น้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F
Treatment	0.007	2	0.003	0.986 <sup>ns</sup>
Block	27.453	99	0.277	0.19
Error	47.327	198	0.239	
Total	6078	300		

หมายเหตุ <sup>ns</sup> = ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

**ตารางที่ ค.17** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของผลคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัส ด้านรสชาติของผลิตภัณฑ์น้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F
Treatment	0.007	2	0.003	0.008 <sup>ns</sup>
Block	44.920	99	0.454	1.037
Error	86.66	198	0.438	
Total	6498	300		

หมายเหตุ <sup>ns</sup> = ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

**ตารางที่ ค.18** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของผลคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัส ด้านเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์น้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F
Treatment	5.82	2	2.910	6.251*
Block	37.130	99	0.375	0.806
Error	92.18	198	0.466	
Total	10123	300		

หมายเหตุ\* = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

**ตารางที่ ค.19** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของผลคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัส ด้านความชอบโดยรวมของผลิตภัณฑ์น้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F
Treatment	0.027	2	0.013	0.054*
Block	27.013	99	0.273	1.096
Error	49.307	198	0.249	
Total	9306	300		

หมายเหตุ\* = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ )

**ตารางที่ ค.20** ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของการรอดชีวิตของเซลล์โพรไบโอติกใน ผลิตภัณฑ์น้ำผักผลไม้อัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก

	Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F
อุณหภูมิห้อง (35 °C)	Treatment	11.101	3	3.700	5482.185*
	Block	0.099	2	0.05	73.593
	Error	0.004	6	0.001	
	Total	938.901	12		
ตู้เย็น (4 °C)	Treatment	12.363	3	4.121	258.82*
	Block	0.155	2	0.078	4.867
	Error	0.096	6	0.016	
	Total	968.481	12		

หมายเหตุ\* = มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ )

## ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นายชาญกร พระคุ้มครอง
วัน เดือน ปีเกิด	9 กันยายน 2536
สถานที่สามารถติดต่อได้	118/104 หมู่ 1 ต.บ้านกลาง อ.เมือง จ.ปทุมธานี 12000
การศึกษา	สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร) คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
เบอร์โทรศัพท์	061-158-8899
อีเมลล์	charankorn_p@mail.rmutt.ac.th

