21093

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

อัตราการรอดชีวิตของกล้าเชื้อโพรไบโอติกที่ผ่านการเคลือบเซลล์ด้วยบุกโดยวิธีเอกซ์ทรูชั่น

(Survival rate of probiotic starter culture encapsulated in konjac gel beads using extrusion method.)

T096792

จัดทำโดย

นายวัชพล ปาระแม รหัสนักศึกษา 45040812

น.ส.วันวิสา พรรค์พิทักษ์ รหัสนักศึกษา 45040813

อาจารย์ที่ปรึกษา

ดร. ศศิวิมล ชื่นอิ่ม อาเหมีด

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมัก โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2548

ปพ.
ว378อ
25 A6

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....96792
วัน.เดือน.ปี.....- 4 JUN 2009

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หองสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

อัตราการรอดชีวิตของกล้าเชื้อโพรไบโอติกที่ผ่านการเคลือบเซลล์ด้วยบุกโดยวิธีเอกซ์ทรูชั่น

(Survival rate of probiotic starter culture encapsulated in konjac gel beads using extrusion method.)

จัดทำโดย

นายวัชพล ปาระแม รหัสนักศึกษา 45040812

น.ส.วันวิสา พรรค์พิทักษ์ รหัสนักศึกษา 45040813

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

..... 29/3/49

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

(ดร. ศศิวิมล ชื่นอิ่ม อาเหม็ด)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นายวัชพล ปาระแม และนางสาววันวิสา พรรค์พิทักษ์. 2548 อัตราการรอดชีวิตของกล้าเชื้อโพรไบโอติกที่ผ่านการเคลือบเซลล์ด้วยบุกโดยวิธีเอกซ์ทรูชั่น (Survival rate of probiotic starter culture encapsulated in konjac gel beads using extrusion method.) สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมัก โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
อาจารย์ที่ปรึกษา : ดร. ศศิวิมล ชื่นอิ่ม อาเหม็ด

บทคัดย่อ

การเคลือบเซลล์จุลินทรีย์ด้วยสารชีวโมเลกุลขนาดใหญ่ เป็นแนวทางหนึ่งในการปกป้องเซลล์จากสภาวะแวดล้อมที่รุนแรง ปัจจุบันได้มีการศึกษาการเคลือบเซลล์จุลินทรีย์โพรไบโอติก ด้วยสารชีวโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น แคลเซียมอัลจิเนต คอนยัคกลูโคแมนแนน คาราจีแนน แป้ง และเจลแลนกัม เป็นต้น เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ซึ่งสามารถช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของเชื้อโพรไบโอติกจากความร้อน ความเป็นกรด และสภาวะพีเอชต่ำได้ ในการทดลองนี้ได้ศึกษาการเคลือบเซลล์จุลินทรีย์โพรไบโอติกด้วยบุกผสมคาราจีแนน และบุกผสมโซเดียมอัลจิเนต โดยใช้วิธีเอกซ์ทรูชั่น (extrusion method) พบว่าการใช้โซเดียมอัลจิเนต 2% ผสมกับบุก 1.5% เป็นส่วนผสมของสารเคลือบ มีผลทำให้เชื้อมีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่าการใช้บุกผสมคาราจีแนน (2%) จากการทดลองพบว่าเชื้อที่ถูกเคลือบด้วย โซเดียมอัลจิเนต 2% ผสมกับบุก1.5% ทำให้อัตราการรอดชีวิตเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบที่อุณหภูมิเดียวกันคือที่อุณหภูมิห้อง เชื้อมีอัตรารอดชีวิตได้ถึง 6 ชั่วโมง เมื่อใช้บุกผสมคาราจีแนน (2%) แต่เชื้อที่ถูกเคลือบด้วยบุกผสมโซเดียมอัลจิเนต มีอัตราการรอดชีวิตได้ถึง 12 ชั่วโมง แสดงว่าการใช้สารเคลือบที่ต่างชนิดกัน มีผลทำให้อัตราการรอดชีวิตของเซลล์แบคทีเรียต่างกัน เมื่อทำการเก็บรักษาเชื้อที่ถูกเคลือบแล้วไว้ที่อุณหภูมิห้องและตู้เย็น พบว่าการเก็บรักษาเชื้อไว้ที่อุณหภูมิตู้เย็น ส่งผลทำให้อัตราการรอดชีวิตของเชื้อเพิ่มขึ้น และเมื่อทำการศึกษาผลของการเติมพรีไบโอติก (prebiotic) ลงในสารที่ใช้เคลือบเซลล์ พบว่าสารเคลือบที่ไม่ได้ผสมพรีไบโอติก (prebiotic) กับสารเคลือบที่มีการผสมพรีไบโอติก (prebiotic) ทำให้อัตราการรอดชีวิตของเชื้อไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และวัตถุดิบที่ใช้เคลือบเซลล์สามารถใช้เคลือบเซลล์ได้ทั้งจุลินทรีย์ที่มีรูปร่างกลมและท่อนได้

วัชพล ปาระแม วันวิสา พรรค์พิทักษ์		27/3/49
ลายมือชื่อนักศึกษา	(ดร. ศศิวิมล ชื่นอิ่ม อาเหม็ด) ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา	วัน/เดือน/ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การจัดทำปัญหาพิเศษในหัวข้อเรื่อง อัตราการรอดชีวิตของกล้าเชื้อโพรไบโอติกที่ผ่านการเคลือบเซลล์ด้วยบุกโดยวิธีเอกซ์ทรูชั่นนี้ สำเร็จลงได้ด้วยดี ผู้จัดทำขอขอบพระคุณ ดร. ศศิวิมล ชื่นอิ่ม อาเหม็ด ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ ที่กรุณาสละเวลาอันมีค่าคอยให้คำแนะนำและดูแลเอาใจใส่เป็นอย่างดี ตลอดจนช่วยแก้ไขรายงานฉบับนี้ให้มีความถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอบพระคุณพ่อและแม่ ที่คอยให้กำลังใจและทุนทรัพย์สนับสนุนตลอดการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้

คณะผู้จัดทำ

14 มีนาคม 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
สารบัญ	ค-ง
สารบัญรูปภาพ	จ
สารบัญตาราง	ฉ-ช
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 วารสารปริทรรศน์	
2.1 โพรไบโอติก	2
2.2 ไมโครเอนแคปซูลเลชั่น	3
2.3 บุก	4
2.4 คาราจีแนน	6
2.5 อัลจิเนต	7
2.6 *Lactobacillus acidophilus*	8
2.7 *Pediococcus acidilactici*	9
บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง	10
3.1 วัตถุดิบ	10
3.2 จุลินทรีย์	10
3.3 สารเคมี	10
3.4 เครื่องมือและอุปกรณ์	10
3.5 วิธีการทดลอง	11
บทที่ 4 ผลการทดลองและการวิจารณ์	13
4.1 การศึกษาชนิดและสัดส่วนของวัตถุดิบต่อความแข็งแรงของเจลที่ใช้เป็นสารเคลือบเซลล์	13
4.2 ศึกษาการห่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์โพรไบโอติกด้วยวิธีเอกทรูซ์ชั่น	15
4.3 ศึกษาอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์โพรไบโอติก ที่ผ่านการเคลือบเซลล์	15
4.4 ผลของการเติมพรีไบโอติกลงในสารเคลือบต่ออัตราการรอดชีวิตของโพรไบโอติก	17
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	20
5.1 สรุปผลการทดลอง	20
5.2 ข้อเสนอแนะ	20
เอกสารอ้างอิง	21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

ภาคผนวก
ภาคผนวก ก. อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมีที่ใช้ 26
ภาคผนวก ข. การคำนวณค่าความแข็งแรงของเจลวัตถุดิบ การเจริญ และอัตราการรอดชีวิตของเชื้อโพรไบโอติคที่ผ่านการเคลือบเซลล์และที่ไม่ผ่านการเคลือบเซลล์ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิตู้เย็น 27
ภาคผนวก ค. รูปภาพวัตถุดิบที่ใช้ ผลิตภัณฑ์ และเชื้อจุลินทรีย์ 34
ประวัติผู้เขียน 37

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

รูปที่	หน้า
2.1 โครงสร้างทางเคมีของบุก	4
2.2 โครงสร้างทางเคมีของคาราจีแนน	6
2.3 โครงสร้างทางเคมีของอัลจิเนต	7
2.4 *Lactobacillus acidophilus*	8
2.5 *Pediococcus acidilactici*	9

รูปภาคผนวก

ค. 1 ผงบุก NUTRICOL GP 312 konjac (FMC BIOPOLYMER)	34
ค. 2 ผงบุกผสมคาราจีแนน NUTRICOL GP 751 konjac flour (FMC BIOPOLYMER)	34
ค. 3 แป้งข้าวโพดดัดแปลง ALCO-CAP™ 300	35
ค. 4 ลักษณะเม็ดบีดส์ก่อนอบที่อุณหภูมิ 40°c นาน 1 ชั่วโมง	35
ค. 5 ลักษณะเม็ดบีดส์หลังอบที่อุณหภูมิ 40°c นาน 1 ชั่วโมง	35
ค. 6 ลักษณะของแบคทีเรีย *L. acidophilus* ที่ถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ 1,000 เท่า	36
ค. 7 ลักษณะของแบคทีเรีย *P. acidilactici* ที่ถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ 1,000 เท่า	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

ตารางที่ 4.1 ความแข็งแรงของเจล 14
ตารางที่ 4.2 ลักษณะของเจลบีดส์ที่ได้จากสภาวะต่างๆ 15
ที่ใช้ในการเคลือบเซลล์ ด้วยวิธีเอกซ์ทรูชั่น
ตารางที่4.3 อัตราการรอดชีวิตของ *L. acidophilus* 16
โดยการใช้บุก 1.5% ผสมโซเดียมอัลจิเนต 2% เป็นสารเคลือบ
ตารางที่4.4 อัตราการรอดชีวิตของ *L. acidophilus* 16
โดยการใช้บุกผสมคาราจีแนน 2% เป็นสารเคลือบ
ตารางที่4.5 อัตราการรอดชีวิตของ *P. acidilactici* 18
โดยการใช้บุก 1.5%ผสมโซเดียมอัลจิเนต 2% เป็นสารเคลือบ
ตารางที่4.6 อัตราการรอดชีวิตของ *P. acidilactici* 18
โดยการใช้บุกผสมคาราจีแนน 2% เป็นสารเคลือบ
ตารางที่4.7 อัตราการรอดชีวิตของ *L. acidophilus* 19
โดยใช้บุกผสมคาราจีแนน 2% เป็นสารเคลือบเสริมด้วยพรีไบโอติก 2%
ตารางที่4.8 อัตราการรอดชีวิตของ *P. acidilactici* 19
โดยใช้บุกผสมคาราจีแนน 2% เป็นสารเคลือบและเสริมด้วยพรีไบโอติก 2%

ตารางภาคผนวก
ข.1 ผลจากการวัดค่าความแข็งแรงของเจลบุกผสมโซเดียมอัลจิเนต 27
ข.2 ผลจากการวัดค่าความแข็งแรงของเจลบุกผสมคาราจีแนน 27
ข.3 อัตราการรอดชีวิต *L. acidophilus* 28
โดยใช้บุก1.5%ผสมโซเดียมอัลจิเนต 2% เป็นสารเคลือบ
ข.4 อัตราการรอดชีวิต *L. acidophilus* 28
โดยใช้บุกผสมคาราจีแนน 2%เป็นสารเคลือบ
ข.5 อัตราการรอดชีวิต *L. acidophilus* 29
โดยใช้บุกผสมคาราจีแนน 2% เป็นสารเคลือบและเสริมด้วยพรีไบโอติก 2%
ข.6 อัตราการรอดชีวิต *P. acidilactici* 29
โดยใช้บุก 1.5% ผสมโซเดียมอัลจิเนต 2% เป็นสารเคลือบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

ข.7 อัตราการรอดชีวิต *P. acidilactici* 30
โดยใช้บุกผสมคาราจีแนน 2% เป็นสารเคลือบ

ข.8 อัตราการรอดชีวิต *P. acidilactici* 30
โดยใช้บุกผสมคาราจีแนน 2% เป็นสารเคลือบและเสริมด้วยพรีไบโอติก 2%

ข.9 การสูญเสียความชื้น ระหว่างการอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง 31

ข.10 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปรียบเทียบค่าความแข็งแรงของเจลเมื่อความเข้มข้น 31
ของบุกผสมคาราจีแนนเป็น 1%, 2% และ 3% และใช้แคลเซียมคลอไรด์ 0.1 M

ข.11 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปรียบเทียบค่าความแข็งแรงของเจลเมื่อความเข้มข้น 32
ของบุกผสมคาราจีแนนเป็น 1%, 2% และ 3% และใช้แคลเซียมคลอไรด์ 1.0 M

ข.12 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปรียบเทียบค่าความแข็งแรงของเจลเมื่อความเข้มข้น 32
ของบุกผสมคาราจีแนนเป็น 1%, 2% และ 3% และใช้แคลเซียมคลอไรด์ 1.5 M

ข.13 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปรียบเทียบค่าความแข็งแรงของเจลเมื่อความเข้มข้น 32
ของบุกผสมคาราจีแนนเป็น 1% และใช้แคลเซียมคลอไรด์ 0.1,1.0 และ1.5 M

ข.14 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปรียบเทียบค่าความแข็งแรงของเจลเมื่อความเข้มข้น 33
ของบุกผสมคาราจีแนนเป็น2% และใช้แคลเซียมคลอไรด์ 0.1,1.0 และ1.5 M

ข.15 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปรียบเทียบค่าความแข็งแรงของเจลเมื่อความเข้มข้น 33
ของบุกผสมคาราจีแนนเป็น3% และใช้แคลเซียมคลอไรด์ 0.1,1.0 และ1.5 M

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

ปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพ ซึ่งมีจุลินทรีย์โพรไบโอติกเป็นส่วนประกอบออกมาจำหน่าย (ปัจจุบันได้มีการใช้โพรไบโอติกลงในอาหารสัตว์เพื่อทดแทนหรือลดการใช้สารปฏิชีวนะและสารเคมีอื่นๆในสัตว์อีกด้วย) แต่มีรายงานบ่งชี้ว่าอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์ยังมีปริมาณค่อนข้างต่ำ (www.elixa.com/nutrient/mblend) รวมถึงการรอดชีวิตของโพรไบโอติกในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์ก็ยังเป็นปัญหาสำคัญที่ทำให้ผู้บริโภคอาจไม่ได้รับประโยชน์จากจุลินทรีย์ดังกล่าวอย่างแท้จริง ดังนั้นการทำให้จุลินทรีย์โพรไบโอติกมีชีวิตอยู่ได้โดยสามารถต้านทานต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม จึงกำลังได้รับความสนใจอย่างมาก เทคโนโลยีเอนแคปซูเลชั่น (encapsulation technology) เพื่อใช้เคลือบเซลล์โพรไบโอติกได้ถูกพัฒนาขึ้นจากเทคโนโลยีการตรึงเซลล์ (immobilized cell culture technology) ซึ่งนิยมใช้ในอุตสาหกรรมเทคโนโลยีชีวภาพ (www.ncbi.nlm.nih.gov) เพื่อเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์โพรไบโอติกได้ การทำเอนแคปซูเลชั่น (encapsulation) โดยทั่วไปสามารถทำได้ 2 วิธี (www.ncbi.nlm.nih.gov) คือ วิธีเอกซ์ทรูชั่น (extrusion) และวิธีอิมัลชั่น (emulsion) สำหรับวัตถุดิบที่นิยมนำมาใช้เคลือบเซลล์ ได้แก่ อัลจิเนต (Alginate) คาราจีแนน (Carageenan) เจลแลน กัม (Gellan gum) และแป้ง (starch) ซึ่งเมื่อไม่นานมานี้ได้มีรายงานการใช้บุกเป็นสารเคลือบจุลินทรีย์โพรไบโอติกด้วย (โศภินาภูและสิตานัน, 2547) ในการทดลองนี้จึงได้ศึกษาอัตราการรอดชีวิตของกล้าเชื้อโพรไบโอติกที่ผ่านการเคลือบเซลล์ด้วยบุก โดยทำการศึกษาชนิดและสัดส่วนของบุกต่ออัลจิเนตและบุกผสมคาราจีแนนที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการเคลือบเซลล์โดยวิธีเอกซ์ทรูชั่น(Extrusion method) ซึ่งเป็นวิธีที่ไม่ยุ่งยากและก่อให้เกิดแรงเฉือนต่อเซลล์น้อยกว่าวิธีอิมัลชั่น การใช้อัลจิเนตหรือ คาราจีแนนผสมกับบุก สามารถเสริมความแข็งแรงให้กับเจลบุกได้ รวมทั้งศึกษาผลของการเติมพรีไบโอติกลงในสารเคลือบ ซึ่งอาจส่งผลให้อัตราการรอดชีวิตของเซลล์ที่ถูกเคลือบเพิ่มขึ้นได้ นอกจากนี้ส่วนประกอบที่เป็นเส้นใยธรรมชาติของบุก ยังเป็นประโยชน์ต่อระบบทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์ด้วย

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาชนิดและสัดส่วนของวัตถุดิบที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการเคลือบเซลล์โพรไบโอติกด้วยวิธีเอกซ์ทรูชั่น
2. เพื่อศึกษาอัตราการรอดชีวิตของโพรไบโอติกที่ผ่านการเคลือบเซลล์ซึ่งผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสและในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
วารสารปริทรรศน์

2.1 โพรไบโอติก (probiotic)

โพรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิต ซึ่งก่อให้เกิดประโยชน์แก่ผู้ให้อาศัย โดยช่วยปรับปรุงสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ (Fuller, 1992) สามารถรวมตัวเป็นกลุ่มโคโลนีเพื่อยึดติดกับผนังลำไส้ และผลิตกรดอ่อนๆ ออกมาบริเวณโดยรอบ โดยเฉพาะกรดแลคติก ซึ่งสามารถควบคุมหรือยับยั้งแบคทีเรียชนิดที่ก่อให้เกิดโรคได้ จุลินทรีย์โพรไบโอติกช่วยในการย่อยและการดูดซึมอาหาร เพราะสามารถผลิตเอนไซม์ที่สำคัญหลายชนิด มีประโยชน์ในการดูดซับวิตามินได้เพิ่มขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งวิตามินบีต่างๆ วิตามินเค กรดไขมัน น้ำตาลแลกโทส และแคลเซียม เสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกัน ทำให้สารพิษมีสภาพเป็นกลาง ลดอาการท้องเสีย ช่วยควบคุมคอเลสเตอรอล ลดอาการภูมิแพ้ ปัญหาผิวหนัง ป้องกันการติดเชื้อของยีสต์และรา และยังมีการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในการรักษาโรคอ่อนเพลียเรื้อรังได้อีกด้วย (www.elixa.com/nutrient/mblend)

โพรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์สายพันธุ์พิเศษซึ่งถูกใช้เป็นอาหารเสริมตั้งแต่ปี 1970 ถูกใช้ในอาหารและยารักษาโรคมากว่า 20 ปี คำจำกัดความของ "Probioticum" ถูกตั้งขึ้นในปี 1974 ในขณะเดียวกันที่มีการใช้จุลินทรีย์มีชีวิตในสัตว์ เพื่อทดแทนการใช้อาหารที่ปะปนยาปฏิชีวนะ หรือสารเคมีเพื่อการบำบัด ในระหว่างนั้นโพรไบโอติก ไม่เพียงถูกใช้เป็นอาหารเสริมหรือยารักษาโรคเท่านั้น แต่ยังมีการใช้ในอาหาร เช่น ผลิตภัณฑ์นม น้ำผลไม้ ช็อกโกแลต และแม้กระทั่งในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ อย่างไรก็ตามการคัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสม เป็นสิ่งที่ควรคำนึงถึงเป็นอันดับแรก จุลินทรีย์โพรไบโอติกสามารถมีชีวิตรอดอยู่ในช่องท้องตั้งแต่ส่วนของดูโอดีนัม(duodenum) ไปจนถึงบริเวณปลายสุดของลำไส้ได้ นอกจากนี้ยังสามารถสร้างสารเมทาบอไลท์ (metabolites) เพื่อต่อต้านจุลินทรีย์พวกแซโรไฟท์หรือสิ่งมีชีวิตที่อาศัยอยู่ในของเน่าเปื่อย เช่น เชื้อราหรือแบคทีเรีย (saprophytic microorganism) ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการแข่งขันการเจริญเติบโต จุลินทรีย์โพรไบโอติกที่รู้จักดี ได้แก่ แลคติกแอซิดแบคทีเรีย (Lactic acid bacteria or LAB) เช่น Lactobacilli และ bifidobacteria

การใช้โพรไบโอติกในอาหารสัตว์ต้องอยู่ภายใต้ข้อกำหนด ถ้าใช้กับผลิตภัณฑ์ยาต้องถูกต้องตามกฎหมาย และในอาหารต้องสอดคล้องกับกฎหมายอาหาร เรื่องของความปลอดภัยต้องได้รับการพิจารณาอย่างเคร่งครัด เพื่อให้สอดคล้องกับจุดประสงค์ "fulfilling health claims" การใช้โพรไบโอติกทดแทนในปัจจุบันก็เพื่อลดหรือป้องกันการใช้ยาปฏิชีวนะหรือเคมีบำบัดในสัตว์ ทั้งนี้เพื่อลดการปนเปื้อนสารเคมีต่อผู้บริโภคเนื้อสัตว์ และใช้เพื่อส่งเสริมสุขภาพของมนุษย์และสัตว์(www.ncbi.nlm.nih.gov)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 ไมโครเอนแคปซูเลชั่น (Microencapsulation)

การปกป้องจุลินทรีย์โพรไบโอติกด้วยเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชั่นในไฮโดรคอลลอยด์บีดส์ (Hydrocolloid beads) ก็เพื่อปรับปรุงอัตราการรอดชีวิตในผลิตภัณฑ์อาหารและในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์(Rao *et al.*,1989) จุดประสงค์ของการเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์เพื่อนำไปใช้ในอาหารหมักหลายชนิด (Champagne *et al.*, 1992a; Champagne, 1992b; Champagne *et al.*, 1993; Champagne *et al.*, 1994) เช่น ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากหางนม (Audet *et al.*, 1989) ประโยชน์ของการห่อหุ้มเซลล์ คือ ปกป้องเซลล์จุลินทรีย์ให้อยู่ภายในเม็ดบีดส์จากการทำลายของแบคทริโอฟาจ (Bacteriophages) (Steenson et al., 1987) เพื่อเพิ่มอัตราการรอดชีวิตในระหว่าง freeze drying และ freezing (Kearey *et al.*, 1990; Sheu and Marshall, 1993; Sung, 1997; Kim and Yoon, 1995) และทำให้เกิดความคงตัวในระหว่างการเก็บรักษา (Kim *et al.*, 1988; Kebary *et al.*, 1998)

เทคนิคการเคลือบเซลล์ถูกนำมาใช้กับจุลินทรีย์โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์อาหารหมัก หรือการผลิตมวลเซลล์ (Biomass production) ซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ วิธีเอ็กซ์ทรูชั่น (Extrusion method) และวิธีอิมัลชั่น(Emulsion method) ทั้งวิธี Extrusion และ Emulsion สามารถช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติคได้ถึง 80-95% (Audet, 1988;Rao, 1989;Sheu and Marshall, 1991;Sheu and Marshall, 1993;Sheu *et al.*, 1993;Jankowski *et al.*, 1997; Kebary, 1998)

วิธีเอ็กซ์ทรูชั่น(Extrusion method) เป็นวิธีที่เก่าแก่ที่สุดที่ใช้เคลือบเซลล์จุลินทรีย์โดยผสมไฮโดรคอลลอยด์ (King, 1995) กับซัสเพนชั่นของเชื้อ มาบรรจุลงในกระบอกฉีดยา จากนั้นทำการฉีดลงในสารละลายที่มีความกระด้าง (แคลเซียมคลอไรด์) โดยรูปร่างและขนาดของเม็ดบีดส์ที่ได้จะขึ้นอยู่กับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเข็มฉีดยา ระยะการตกของส่วนผสมที่หยดลงสารละลายและความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (Smidsrod and Skjak-Braek,1990)

วัตถุที่นิยมใช้สำหรับตรึงหรือเคลือบเซลล์โดยวิธีเอกซ์ทรูชั่น คือ อัลจิเนต ซึ่งเป็น linear heteropolysaccharide ของกรดดี-แมนนูโรนิก (D-mannuronic acid) และกรดแอล-กูลูโรนิก (L-guluronic acid) ที่สกัดจากสาหร่ายหลายๆสปีชีร์ (Smidsrod *et al.*, 1972) อัลจิเนตสามารถเกิดเจลที่แข็งแรง โดยไดวาเลนท์อิเล็กตรอน เช่น Ca^{2+} จะเชื่อมกับโพลิเมอร์ของกรดแอล-กูลูโรนิก (L-guluronic acid) ทำให้เป็นโพลิเมอร์สายยาวของกรดดี-แมนนูโรนิก (D-mannuronic acid) ดังนั้นจึงทำให้เกิดโครงสร้างที่มีลักษณะเฉพาะ สนับสนุนให้เกิดการฟอร์มเจล (Smidsrod, 1972; Skjak-Braek *et al.*, 1986) การห่อหุ้มเซลล์จะเป็นในลักษณะโครงร่าง 3 มิติของการเชื่อมระหว่างไอออนบวกกับอัลจิเนต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เทคนิคการห่อหุ้มเซลล์ด้วยอัลจิเนตเจล เหมาะที่นำไปใช้กับสภาวะแวดล้อมที่ไม่รุนแรง วิธีนี้เป็นที่นิยมมากที่สุดเพราะทำง่ายไม่สลับซับซ้อน สะดวก ราคาถูก และช่วยรักษาการรอดชีวิตของเซลล์ได้ดี (Klein and Vorlop, 1983; Tanaka *et al.*, 1984; Martinsen *et al.*, 1989)

2.3 บุก (Konjac glucomannan)

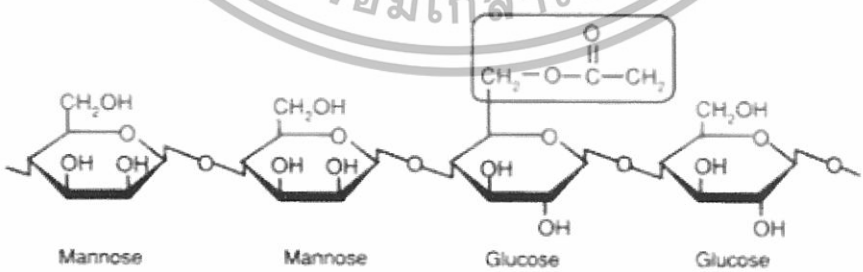
บุก เป็นพืชที่เจริญเติบโตในพื้นที่แถบภูเขา ที่ห่างไกลจากสภาวะมลพิษทางอากาศและทางน้ำในเมือง อย่างเช่น ยาฆ่าแมลง และปุ๋ยเคมี องค์ประกอบหลักของบุก คือ เส้นใยธรรมชาติที่สามารถละลายน้ำได้ (soluble dietary fiber) (www.acroyali.com/konjac%20powder.htm)

ในญี่ปุ่น บุกถูกเรียกว่า Konnyaku ชาวญี่ปุ่นนำรากของ Konnyaku มาทำเป็นแป้งใช้ประกอบอาหารญี่ปุ่นมานานกว่า 2,000 ปีแล้ว จนกระทั่งปัจจุบันวิทยาศาสตร์ได้เปิดเผยว่าบุกมีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีไขมันและปริมาณแคลอรีต่ำ ช่วยลดระดับน้ำตาล คอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในเลือด อีกทั้งยังช่วยทำความสะอาดลำไส้ โดยสามารถขจัดของเสียออกไปจากระบบทางเดินอาหาร บรรเทาอาการท้องผูกและช่วยควบคุมน้ำหนัก ในอุตสาหกรรมอาหารให้ความสนใจกับบุกโดยใช้แทนแป้ง ด้วยเหตุเพราะบุกมีแคลอรีต่ำ ช่วยพัฒนาเนื้อสัมผัสและรสชาติของผลิตภัณฑ์ ในอาหารบางอย่างบุกช่วยรักษาความชุ่มชื้นผลิตภัณฑ์ได้เป็นอย่างดี (www.Konjac-glucomannan.com/konjac.html)

2.3.1 องค์ประกอบทางเคมีของบุก (www.acroyali.com/konjac%20powder.htm)

บุกประกอบด้วยกลูโคแมนแนน (glucomannan) 50-60% แป้ง (starch) 20-30% เส้นใย (fiber) 2-5% โปรตีน (crude protein) 5-10% น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและโอลิโกแซคคาไรด์ (monosaccharide and oligosaccharide) และเถ้า(จำพวกแร่ธาตุ) 3-5%

2.3.2 โครงสร้างทางเคมีของบุก (www.acroyali.com/konjac%20powder.htm)



รูปที่ 2.1 โครงสร้างทางเคมีของบุก

ที่มา : www.acroyali.com

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Konjac glucomannan (KGM) เกิดจากกระบวนการโพลีเมอไรเซชัน (polymerization) ของส่วนที่เป็นกลูโคสและแมนโนส ทำให้มีโครงสร้างโมเลกุลเป็นโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) ที่ประกอบด้วยหน่วยย่อยซ้ำๆของ ß-D-glucose และ ß-D-mannose เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ 1,4 linkage (รูปที่ 2.1) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ของกลูโคสบางหน่วยมีโครงสร้างเป็นโซ่กิ่ง (side chain) ที่เชื่อมต่อด้วยพันธะ 1,3 linkage ในโครงสร้างสายหลักหนึ่งสายประกอบด้วยกลูโคส 3,280 หน่วย และในโซ่กิ่งแต่ละสายประกอบด้วยกลูโคสประมาณ 12 หน่วย โดยเฉลี่ยทุกๆ 19 หน่วยของกลูโคสในโซ่กิ่ง จะมีหมู่อะซิทิล (acetyl) 1 หมู่ เชื่อมต่อด้วยพันธะเอสเทอร์ (ester linkage) KGM มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ระหว่าง 1,000,000-2,000,000 ดาลตัน ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดหรือประเภทของบุก วิธีการกรรมวิธีและระยะเวลาในการเก็บรักษาวัตถุดิบ

2.3.3 คุณสมบัติของบุก (www.glucomannan.com)

1.) ความสามารถในการละลายน้ำ (Water solubility)

Konjac glucomannan (KGM) สามารถละลายน้ำได้อย่างรวดเร็ว และสามารถดูดซับน้ำได้ประมาณ 100-200 เท่าของปริมาตรเดิม สารละลายบุกเป็นสารละลายประเภท pseudo–plastic liquid ซึ่งมีลักษณะเฉพาะคือ ถูกแยกเป็นแผ่นบางๆ ส่วนหนึ่งของบุกประกอบด้วยเส้นใยของ macromolecules ที่พันกันเป็นสายยาวและเมื่อสัมผัสกับน้ำ โมเลกุลของน้ำจะถูกดูดซับเข้าไปในสายเส้นใยของ macromoleculesอย่างช้าๆ เป็นผลให้อนุภาคของ macromoleculesขยายได้ถึง 200 เท่าจากปริมาตรเดิม และกลายเป็นของเหลวที่มีลักษณะข้นหนืด

2.) สารให้ความข้นหนืด (Thickener)

บุกเป็นสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง และมีความเหนียวหนืดและแข็งแรงที่สุดในบรรดา dietary fiber อื่นๆ มีความหนาแน่นสูง โดยธรรมชาติแล้วสารในกลุ่ม acetyl groups ในผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วย konjac glucomannan จะเป็นสารละลายที่มีความหนืดสูง ตัวอย่างเช่น 1% ของผงบุกในน้ำจะมีความข้นหนืดน้อยที่สุด 20,000 cP ถึงมากที่สุดกว่า 40,000 cP ที่อุณหภูมิ 30°c และให้ความหนืดสูงกว่าสารให้ความหนืดตามธรรมชาติชนิดอื่นๆ บุกสามารถทำงานร่วมกับสารพวกคาราจีแนน แซนแทนกัม โลคอสบีนกัม(LBG) และแป้งได้ ตัวอย่างเช่น การเติมบุก 0.02-0.03% กับแซนแทนกัม 1% จะทำให้ความหนืดเพิ่มขึ้นเมื่อมีการให้ความร้อนร่วมด้วย คอนยัค-แซนแทนเจล (kanjac-xanthan gels) เป็นโมเลกุลที่ยึดติดกันและมีความยืดหยุ่นได้ดี

3.) สารให้ความคงตัว (Stabilizer)

konjac gum แตกต่างจากแซนแทน กัม กัวกัม หรือโลคอสบีน กัม เพราะ konjac gum เป็นชนิดไม่มีประจุ (non-ionic) ดังนั้นเกลือจึงมีอิทธิพลต่อบุกน้อยมาก บุกสามารถคงตัวอยู่ได้โดยปราศจากการตกตะกอน ถึงแม้ว่าค่า pH จะลดลงถึงระดับที่ต่ำกว่า 3.3 บุกยังถูกใช้แทนโลคอสบีนกัมเพื่อเป็นสารให้ความคงตัวในไอศครีม เนย และผลิตภัณฑ์นมอื่นๆ เพราะบุกสามารถปกป้องการเปลี่ยนแปลงของเม็ดน้ำแข็งเล็กๆได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.) สารทำให้เกิดเจล (Gelling agent)

บุก มีคุณสมบัติเป็นได้ทั้งเจลที่ผันกลับได้ด้วยความร้อน (Thermo reversible gel) และเจลที่ไม่สามารถผันกลับได้ด้วยความร้อน (Thermo irreversible gel) ภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน การเกิดเจลที่ผันกลับได้ด้วยความร้อนเกิดขึ้น โดยการให้ความร้อนกับสารประกอบระหว่างกลูโคแมนแนนกับสารประกอบไฮโดรฟิลิคคอลลอยด์ (Hydrophilic colloid) เช่น คาราจีแนน (carageenan) เพคติน (pectin) เจลาติน (gelatin) และโซเดียมอัลจิเนต (sodium alginate) ทำให้เกิดสารประกอบที่เป็นของแข็งภายใต้อุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิไม่เกิน 40°c) แต่ถ้าเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นคือ 50°c หรือมากกว่า จะทำให้กลายสถานะเป็นของเหลวหรือของแข็งกึ่งเหลว เนื่องจาก konjac glucomannan เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยหน่วยย่อยซ้ำๆกัน เมื่อมีการเติมด่างอ่อนๆ เช่น แคลเซียมไฮดรอกไซด์ ($CaOH_2$) จะทำให้เกิดเจลที่มีความแข็งแรง ยืดหยุ่นและไม่ละลายเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น

โดยปกติแล้วสารละลาย konjac glucomannan จะไม่เกิดเจลเนื่องจากมีหมู่ acetyl อยู่ในโครงสร้าง ซึ่งป้องกันการเข้าใกล้ของโมเลกุลอื่นๆ แต่เมื่อให้ความร้อนในสภาวะที่ pH 9-10 จะทำให้เกิดโครงสร้างเป็นเจลขึ้น โดยเจลนี้จะมีความคงตัว แม้ว่าจะอยู่ในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูงถึง 100-200°c ก็ตาม (เป็นเจลที่ไม่สามารถผันกลับได้ด้วยความร้อน) ทั้งนี้เนื่องจากการให้ความร้อนในสภาวะด่างอ่อนๆ จะไปกำจัดหมู่ acetyl ในโครงสร้างของ konjac glucomannan

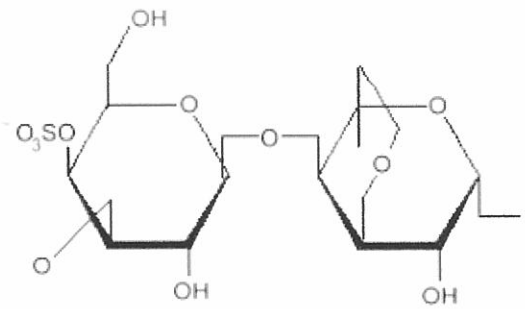
5.) สารทำให้เกิดฟิล์ม (Film former)

konjac glucomannan สามารถทำให้เกิดฟิล์มได้ด้วยตัวของมันเองหรือการผสมอยู่ร่วมกับ gum อื่นๆ เช่น คาราจีแนน

6.) เป็นแหล่งของ Dietary fiber ที่ละลายน้ำ

หัวบุกสดประกอบด้วย Dry matter 13% ซึ่งใน 70% เป็นกลูโคแมนแนน และอีก 30% เป็นแป้ง (starch)

2.4 คาราจีแนน



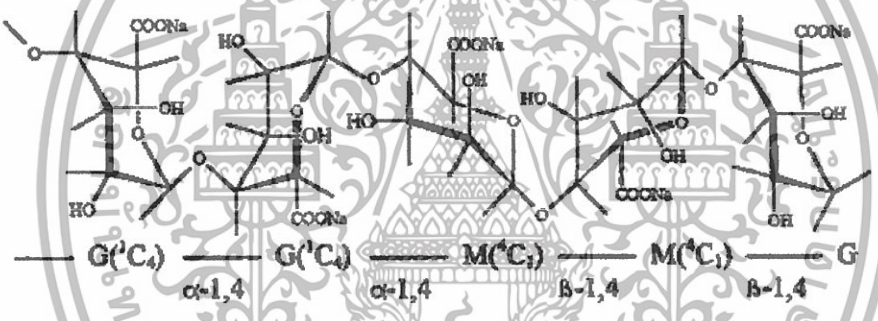
รูปที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของคาราจีแนน

ที่มา : sci-toys.com/ingredients/carageenan.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คาราจีแนนเป็นโพลีแซคไรด์ได้มาจากสาหร่ายสีแดง คาราจีแนนเป็นซัลเฟตสายยาว และโซ่ตรงของน้ำตาลกาแลคโตส (Galactose) ประกอบไปด้วย D-galactose และ 3,6-anhydro-D-galactose ใช้กันอย่างแพร่หลายทางด้านผลิตภัณฑ์นม เพราะว่าคาราจีแนนสามารถฟอร์มตัวกันระหว่างแคลเซียมและโปรตีนในนมได้ คาราจีแนนยังทำให้ผลิตภัณฑ์มีความข้นหนืดมากขึ้นและยังช่วยทำให้ผงโกโก้ในนมช็อกโกแล็ตแขวนลอยอยู่ได้ คาราจีแนนมีประโยชน์ในด้านอุตสาหกรรมไอศกรีมโดยสามารถป้องกันไม่ให้ละลายได้ง่ายและทำให้แข็งตัวได้ดีขึ้น คาราจีแนนชนิดที่สำคัญได้แก่ kappa-carageenan, lambda-carageenan, และ iota-carageenan คาราจีแนนสามารถต่อต้านเอนไซม์ย่อยอาหารได้ คุณสมบัติของคาราจีแนน คือ มีความหนืดต่ำ สามารถฟอร์มเจลได้ดีกับโพแทสเซียมไอออน ในด้านการละลาย สามารถละลายได้ดีในน้ำร้อน ละลายได้ในสารละลายเกลือโซเดียมในน้ำเย็น เกลือของโพแทสเซียม เกลือของแคลเซียม และแอมโมเนียม (sci-toys.com/ingredients/carageenan.html)

2.5 อัลจิเนต



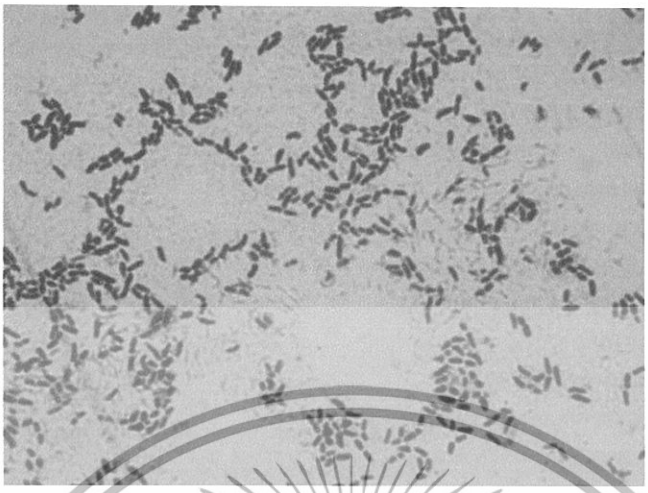
รูปที่ 2.3 โครงสร้างทางเคมีของอัลจิเนต

ที่มา : www.fao.org/docrep/W6355E/w6355e0x.htm

โซเดียมอัลจิเนต ได้มาจากการเผาสาหร่ายบริสุทธิ์ ใช้เป็นสารให้ความหนืดแก่อาหาร สามารถทำงานได้ดีในของเหลว มีอยู่ 2 ชนิดได้แก่ ชนิดที่มีความหนืดสูง มีความเป็นของแข็งต่ำ และชนิดที่มีความหนืดต่ำ มีความเป็นของแข็งสูง มีการศึกษาพบว่าโซเดียมอัลจิเนตสามารถช่วยลดระดับน้ำตาลกลูโคสและคลอเรสเตอรอลในสัตว์ได้ นอกจากนี้ยังช่วยขจัดสารพิษและช่วยอาการหลอดอาหารอักเสบได้อีกด้วย (www.dharmatrading.com/html/eng/2008-AA.shtml)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 *Lactobacillus acidophilus*

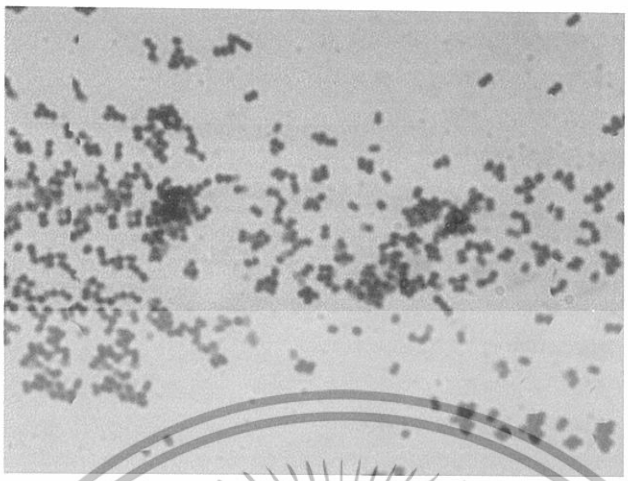


ที่มา : ลักษณะของแบคทีเรีย *Lactobacillus acidophilus* ที่ถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ 1,000 เท่า

เชื้อแบคทีเรีย *L. acidophilus* ถูกใช้เป็นกล้าเชื้อเริ่มต้นในการผลิตโยเกิร์ต โดยคำว่า *lacto* หมายถึงนม *bacillus* หมายถึงรูปร่างที่เป็นแท่ง และ *acidophilus* หมายถึง ความชอบกรด จัดเป็น Homofermentative lactic acid bacteria กล่าวคือ เชื้อในกลุ่มนี้สามารถหมักน้ำตาลกลูโคส 1 โมเลกุล ไปเป็นกรดแลคติกในปริมาณมากกว่าร้อยละ 95 มีรูปร่างเป็นท่อน ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ ไม่สร้างสปอร์ ไม่สร้างเอนไซม์คะตะเลส สามารถเจริญได้ดีที่ pH ต่ำกว่าหรือเท่ากับ 5 และเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส *L. acidophilus* เป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติก ชนิดหนึ่งที่รู้จักกันดีในด้านของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ และยังเป็นจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติในการลดอันตรายที่มาจากเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ตัวอื่นที่รอดมายังบริเวณลำไส้เล็กได้ และสามารถผลิตเอนไซม์แลคเตส ซึ่งมีความสำคัญในการย่อยสลายน้ำตาลแลคโตสในนมได้ และช่วยผู้ป่วยที่เป็นโรคขาดแคลนแลคโตส (lactose intolerance) ให้มีความสามารถในการย่อยแลคโตสในนมได้ เนื่องจากเชื้อนี้สร้างเอนไซม์แลคเตสได้และมีความเกี่ยวพันในกระบวนการผลิตวิตามินบี (http://en.wikipedia.org/wiki/Lactobacillus_acidophilus)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 *Pediococcus acidilactici*



ที่มา : ลักษณะของแบคทีเรีย *Pediococcus acidilactici* ที่ถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ 1,000 เท่า

เป็นจุลินทรีย์ที่จัดอยู่ในกลุ่มแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (lactic acid bacteria or LAB) รูปร่างเป็นทรงกลม จัดเป็น Homofermentative lactic acid bacteria กล่าวคือ เชื้อในกลุ่มนี้สามารถหมักน้ำตาลกลูโคส 1 โมเลกุล ไปเป็นกรดแลคติกในปริมาณมากกว่าร้อยละ 95 ถูกใช้เป็นกล้าเชื้อเริ่มต้น (starter cultures) ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักและผักดอง สามารถช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์และช่วยพัฒนาคุณสมบัติด้านรสชาติและเนื้อสัมผัส นอกจากนี้ยังสามารถผลิตสารยับยั้งแบคเทอริโอซิน ชื่อว่า AcH/PA-1 ซึ่งสามารถทำลายแบคทีเรียแกรมบวกได้หลายชนิด เช่น *Listeria monocytogenes, Staphylococcus aureus, Clostridium perfingenes* และ *Clostridium butolinum* เป็นต้น (http://mic.sgmjournals.org/cgi/reprint/2000) สารยับยั้งดังกล่าวเป็นสารประกอบพวกโปรตีน สามารถถูกย่อยสลายคุณสมบัติในการยับยั้งด้วยเอนไซม์โปรติเอสหลายชนิดที่พบได้ในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์ เช่น เอนไซม์ทริปซิน แอลฟาไคโมทริปซิน โปรติเอส-เค เป็นต้น สารดังกล่าวสามารถยับยั้งเชื้อโรคอาหารเป็นพิษได้หลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *Listeria monocytogenes* ซึ่งพบเป็นปัญหาในการปนเปื้อนผลิตภัณฑ์นม เนยแข็ง ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำเนื่องจากเชื้อนี้สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิตู้เย็น และเป็นปัญหาในการเกิดโรคไข้สมองอักเสบของผู้บริโภค รวมถึงการแท้งลูกของสตรีมีครรภ์ ดังนั้นการเติมแบคเทอริโอซินบริสุทธิ์หรือใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่สามารถผลิตสารยับยั้งดังกล่าวได้ในระหว่างการหมัก จะมีโอกาสควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์นมหมักต่างๆ ให้มีความปลอดภัยจากเชื้อโรคชนิดนี้ได้มากยิ่งขึ้น (อดิศร เสวตวิวัฒน์., 2548)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1) ผงบุก NUTRICOL GP 312 konjac (ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท FMC BIOPOLYMER Co.,Ltd., America.)

3.1.2) ผงบุกผสมคาราจีแนน NUTRICOL GP 751 konjac flour (ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท FMC BIOPOLYMER Co.,Ltd., America.)

3.1.3) แป้งข้าวโพดดัดแปลง (High amylase corn starch) ยี่ห้อ ALCO-CAP™ 300 (ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท ALCO Chemical A National Starch & Chemical Company.)

3.2 จุลินทรีย์โพรไบโอติก

3.2.1) *Lactobacillus acidophilus*

3.2.2) *Pediococcus acidilactici*

3.3 สารเคมี

3.3.1) โซเดียม อัลจิเนต (Sodium alginate)

3.3.2) โซเดียมคลอไรด์ (Sodium cloride)

3.4 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.4.1) เครื่องแก้วสำหรับตรวจวิเคราะห์

3.4.2) เครื่องฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำอัตโนมัติ (autoclave) ยี่ห้อ SS-325 Tomy,Japan

3.4.3) ตู้อบลมร้อน ยี่ห้อ Tomy,Japan

3.4.4) เครื่องกวนผสม (hot stir plate) ยี่ห้อ Barnstead thermolyne

3.4.5) เครื่องผสม (vortex mixer) ยี่ห้อ G-560E,USA

3.4.6) เครื่องวัดเนื้อสัมผัส (texture)ยี่ห้อ Stable Microsystems,รุ่น TA-XT2 ,England

3.4.7) กล้องจุลทรรศน์ ยี่ห้อ Nikon ECLIPSE E200, China

3.4.8) กล้องถ่ายรูป ยี่ห้อ Nikon Coolpix 5600, Japan

3.4.9) ตู้บ่มเชื้อจุลินทรีย์ ยี่ห้อ Kendo Laboratory Products,Germany

3.4.10) เครื่องตีป่นอาหาร ยี่ห้อ AES Laboratory,France

3.4.11) เครื่องหมุนเหวี่ยง ยี่ห้อ Jouan, France

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5 วิธีการทดลอง

3.5.1 การศึกษาชนิดและสัดส่วนของวัตถุดิบต่อความแข็งแรงของเจลที่ใช้เป็นสารเคลือบเซลล์

นำบุก 1.5% ละลายน้ำที่อุณหภูมิ 60-65 องศาเซลเซียส และโซเดียมอัลจิเนต 2% ละลายน้ำที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสหรือบุกผสมกับคาราจีแนน (1, 2, 3%) ละลายน้ำที่อุณหภูมิประมาณ 85-90องศาเซลเซียส ผสมกับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) ความเข้มข้น 0.1, 1.0 และ 1.5 M ละลายน้ำที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำไปวัดค่าความแข็งแรงของเจล (Gel strength) ด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัส รุ่น TA-XT2

3.5.2 ศึกษาการห่อหุ้มจุลินทรีย์โพรไบโอติกโดยวิธีเอกซ์ทรูชั่น

เลือกใช้สัดส่วนของบุกผสมโซเดียมอัลจิเนตหรือบุกผสมคาราจีแนน ที่เหมาะสมจากข้อ3.5.1 ผสมกับ *L. acidophilus* และ *P. acidilactici* ประมาณ 10^7 -10^8 cfu/ml ตามลำดับ และบรรจุลงในกระบอกฉีดยา หยดลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นที่เหมาะสมจากข้อ3.5.1(1M) และตั้งทิ้งไว้นาน 30 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นสเตอไรส์ นำเม็ดบีดส์ (encapsulation cell) ที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำเม็ดบีดส์ที่ได้มาเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิตู้เย็น (4 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเปรียบเทียบขนาดและลักษณะของเม็ดบีดส์ที่มาจากวัตถุเคลือบต่างชนิดกัน

3.5.3 ศึกษาอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์โพรไบโอติก จากการเติมพรีไบโอติก (prebiotic) ในการห่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ด้วยวิธีเอกซ์ทรูชั่น

ละลายบุกผสมคาราจีแนน 2% และพรีไบโอติก 2% ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ผสมกับ *L. acidophilus* และ *P. acidilactici* ประมาณ 10^7 -10^8 cfu/ml ตามลำดับ และบรรจุลงในกระบอกฉีดยา หยดลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ และตั้งทิ้งไว้นาน 30 นาที ล้างด้วยน้ำกลั่นสเตอไรส์ นำเม็ดบีดส์ (encapsulation cell) ที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำเม็ดบีดส์ที่ได้มาเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง และที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเม็ดบีดส์ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง มาศึกษาอัตราการรอดชีวิตทุก 6 ชั่วโมงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับกรณีก่อนอบและที่เก็บรักษาในตู้เย็น(4 องศาเซลเซียส) โดยนำเม็ดบีดส์มาตีป่นเพื่อแยกเซลล์ออกจากสารเคลือบด้วยเครื่อง stomacher นาน 6 นาที นำมาเจือจางในสารละลาย 0.1% peptone ให้ได้ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม (30-300 cfu/ml)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการ pour plate ในอาหาร MRS agar และบ่มที่สภาวะมีอากาศเล็กน้อย ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.5.4 ศึกษาอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์โพรไบโอติก ที่ผ่านการเคลือบเซลล์

นำเม็ดบีดส์ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง มาตีป่นเพื่อแยกเซลล์ออกจากสารเคลือบด้วยเครื่อง stomacher นาน 6 นาที นำมาเจือจางในสารละลาย 0.1% peptone ให้ได้ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม (30-300 cfu/ml) ทำการ pour plate ในอาหาร MRS agar บ่มที่สภาวะมีอากาศเล็กน้อย ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง นับจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต และคำนวณอัตราการรอดชีวิต (เปอร์เซ็นต์) ดังสมการ

$$\text{จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (cfu/ml)} = \frac{\text{จำนวนโคโลนีที่นับได้ x dilution factor}}{1.00 \text{ ml}}$$

$$\%\ \text{อัตราการรอดชีวิต} = \frac{\text{จำนวนจุลินทรีย์ที่ผ่านการเคลือบเซลล์ในระหว่างการเก็บรักษา x 100}}{\text{จำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตหลังกระบวนการเคลือบเซลล์}}$$

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและการวิจารณ์

4.1 การศึกษาชนิดและสัดส่วนของวัตถุดิบต่อความแข็งแรงของเจลที่ใช้เป็นสารเคลือบเซลล์

จากการเตรียมวัตถุดิบโดยใช้บุก 1.5% และโซเดียมอัลจิเนต 2% ผสมกับแคลเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่างๆกัน คือ 0.1 , 1.0 และ 1.5 M พบว่าความแข็งแรงของเจลเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ที่เพิ่มขึ้น(ตารางที่4.1) กล่าวคือที่ความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ 1.5 M ให้ความแข็งแรงของเจลมากกว่าที่ 1.0 M และ 0.1 M ตามลำดับ จึงเลือกใช้บุก 1.5% ผสมโซเดียมอัลจิเนต 2% กับแคลเซียมคลอไรด์ในความเข้มข้น 1.0 M เนื่องจากแคลเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น1.5 M ทำให้เจลบุกมีความแข็งตัวมาก ทำให้เซลล์จุลินทรีย์ออกมาจากเจลบีดส์ได้ยาก เมื่อนำไปตีป่นด้วยเครื่อง stomacher ไม่สามารถทำให้เจลบีดส์แตกได้ ซึ่งมีผลต่อการนับอัตราการรอดชีวิตของเซลล์

ส่วนบุกผสมคาราจีแนนที่ความเข้มข้นต่างกัน คือ 1% , 2% และ 3% และผสมกับแคลเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้นต่างๆกัน คือ 0.1 , 1.0 และ 1.5 M พบว่ายิ่งความเข้มข้นบุกผสมคาราจีแนนและความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์สูง ทำให้ค่าความแข็งแรงของเจลยิ่งมีค่าสูงขึ้นด้วย นั่นคือความแข็งแรงของเจลที่ความเข้มข้นของบุกผสมคาราจีแนน 3% และแคลเซียมคลอไรด์ 1.5 M มีค่าความแข็งแรงของเจลมากที่สุด อย่างไรก็ตามที่ความเข้มข้นของบุกผสมคาราจีแนน 3% ไม่เหมาะสมสำหรับในการเคลือบเซลล์ด้วยวิธีเอกซ์ทรูชั้น เนื่องจากบุกผสมคาราจีแนนที่ความเข้มข้น 3% นั้นมีความข้นหนืดมากและแข็งตัวเร็วที่อุณหภูมิห้อง ทำให้หยดออกจากกระบอกฉีดยาได้ยาก จึงเลือกใช้บุกผสมคาราจีแนน 2% และแคลเซียมคลอไรด์ในความเข้มข้น 1.0 M ในการเตรียมเจลเพื่อใช้เป็นสารเคลือบเซลล์โพรไบโอติกต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ก ผลของความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ต่อความแข็งแรงของเจลบุกผสมอัลจิเนต

วัตถุดิบ	ค่าความแข็งแรงของเจล(กรัม)		
	ความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ (M)		
	0.1	1.0	1.5
(บุก 1.5% ผสมโซเดียมอัลจิเนต 2.0%)	31.1±0.707 [c]	43.9±1.838 [b]	80.85±10.960 [a]

ตารางที่ 4.1 ข ผลของความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์และความเข้มข้นของบุกผสมคาราจีแนนต่อความแข็งแรงของเจล

วัตถุดิบ (บุกผสมคาราจีแนน)	ค่าความแข็งแรงของเจล(กรัม)		
	ความเข้มข้นของแคลเซียมคลอไรด์ (M)		
	0.1	1.0	1.5
1%	364.35 ±39.527 [c, f]	509.15 ±19.870 [b, f]	817.2 ±39.457 [a, f]
2%	1207.05 ±63.286 [c, e]	2774.65 ±336.371 [b, e]	5516.35 ±386.151 [a, e]
3%	2095.7 ±15.839 [c, d]	4790.25 ±300.025 [b, d]	7405.95 ±276.691 [a, d]

หมายเหตุ : ข้อมูลจากการทดลอง 2 ซ้ำ

ตัวอักษร a b c หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เมื่อเปรียบเทียบตารางในแนวนอน

ตัวอักษร d e f หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เมื่อเปรียบเทียบตารางในแนวตั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ศึกษาการห่อหุ้มจุลินทรีย์โพรไบโอติกด้วยวิธีเอกซ์ทรูชั่น (extrusion method)

จากการศึกษาการห่อหุ้มจุลินทรีย์โพรไบโอติก พบว่าเจลบีดส์จากบุกผสมคาราจีแนนมีสีขาวขุ่นเล็กน้อย มีความข้นหนืดมาก ความเร็วในการแข็งตัวของเจลค่อนข้างเร็ว และมีความยืดหยุ่นมากกว่าโซเดียมอัลจิเนตผสมบุก ส่วนเจลบีดส์จากโซเดียมอัลจิเนตผสมบุกนั้นมีลักษณะสีเหลืองอ่อนขุ่น มีความข้นหนืดน้อยกว่าคาราจีแนน ความเร็วในการแข็งตัวของเจลช้า และมีความยืดหยุ่นน้อย ดังแสดงในตาราง 4.2

ตารางที่ 4.2 ลักษณะของเจลบีดส์ที่ได้จากสภาวะต่างๆ ที่ใช้ในการเคลือบเซลล์ ด้วยวิธีเอกซ์ทรูชั่น

คุณลักษณะ	เจลบีดส์จากบุกผสมคาราจีแนน	เจลบีดส์จากโซเดียมอัลจิเนตผสมบุก
1. สี	สีขาวขุ่นเล็กน้อย	สีเหลืองอ่อนขุ่น
2. ความข้นหนืดของสารละลาย	มีความข้นหนืดมาก	มีความข้นหนืดน้อยกว่าคาราจีแนน
3. ความเร็วในการแข็งตัวของเจล	แข็งตัวค่อนข้างเร็ว	แข็งตัวช้า
4. ความยืดหยุ่นของเจล	มีความยืดหยุ่นมากกว่าโซเดียมอัลจิเนตผสมบุก	ยืนหยุ่นน้อย

4.3 ศึกษาอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ผ่านการเคลือบเซลล์

จากตารางตารางที่ 4.3 และตารางที่ 4.4 แสดงให้เห็นว่าในระหว่างการเก็บรักษากล้าเชื้อ *L. acidophilus* ที่อุณหภูมิต่างกัน ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตเมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้องนั้นมีอัตราการรอดชีวิตต่ำกว่าเมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แสดงว่าที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถรักษาการรอดชีวิตของเซลล์ได้ดีกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง และเมื่อใช้วัตถุดิบเคลือบเซลล์ที่ต่างชนิดกัน พบว่าส่งผลต่อการรอดชีวิตของเซลล์ด้วย คือ เมื่อเปรียบเทียบที่อุณหภูมิห้อง บุกผสมโซเดียมอัลจิเนตนั้นสามารถช่วยรักษาการรอดชีวิตของเซลล์ได้มากกว่าบุกผสมคาราจีแนน 2% ถึง 6 ชั่วโมง และถึงแม้ว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิตให้ยาวนานขึ้นกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง แต่ก็รักษาการรอดชีวิตได้เพียง 24 ชั่วโมงเท่านั้น ซึ่งอาจเนื่องมาจากวัตถุดิบที่ใช้เคลือบเซลล์นั้นปราศจากอาหารที่จำเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อการเจริญของเซลล์ จึงทำให้เซลล์มีอัตราการรอดชีวิตได้เพียงระยะสั้นเท่านั้น ถึงแม้ว่าจะเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสก็ตาม

ตารางที่4.3 อัตราการรอดชีวิตของ *Lactobacillus acidophilus* โดยการใช้บุก 1.5% ผสมโซเดียมอัลจิเนต 2% เป็นสารเคลือบ

เวลา (ชม.)	อัตราการรอดชีวิต log (cfu/g)		อัตราการรอดชีวิต (%)	
	อุณหภูมิห้อง	อุณหภูมิ4°c	อุณหภูมิห้อง	อุณหภูมิ4°c
ก่อนอบที่ 40°c	5.43	5.43	100	100
0 (หลังอบที่ 40°c นาน 1 ชม.)	5.32	5.32	97.85	97.85
6	3.32	5.25	61.08	96.62
12	1.11	3.44	20.48	63.37
18	-	2.34	-	43.06
24	-	1.36	-	25.03

หมายเหตุ : ข้อมูลจากการทดลอง 2 ซ้ำ

ตารางที่4.4 อัตราการรอดชีวิตของ *Lactobacillus acidophilus* โดยการใช้บุกผสมคาราจีแนน 2% เป็นสารเคลือบ

เวลา (ชม.)	อัตราการรอดชีวิต log (cfu/g)		อัตราการรอดชีวิต (%)	
	อุณหภูมิห้อง	อุณหภูมิ4°c	อุณหภูมิห้อง	อุณหภูมิ4°c
0 (ก่อนอบที่ 40°c)	5.43	5.43	100	100
0 (หลังอบที่ 40°c นาน 1 ชม.)	5.32	5.32	97.85	97.85
6	2.17	5.23	40.01	96.16
12	-	3.17	-	58.39
18	-	2.27	-	41.90
24	-	1.39	-	25.70

หมายเหตุ : ข้อมูลจากการทดลอง 2 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางตารางที่ 4.5 และตารางที่ 4.6 แสดงให้เห็นว่าในระหว่างการเก็บรักษาหลังเชื้อ *P. acidilactici* ที่อุณหภูมิต่างกัน ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตเมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิห้องนั้นมีอัตราการรอดชีวิตต่ำกว่าเมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แสดงว่าที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถรักษาการรอดชีวิตของเซลล์ได้ดีกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง และเมื่อใช้วัตถุดิบเคลือบเซลล์ที่ต่างชนิดกัน พบว่าส่งผลต่อการรอดชีวิตของเซลล์ด้วย คือ เมื่อเปรียบเทียบที่อุณหภูมิห้อง บุกผสมโซเดียมอัลจิเนตนั้นสามารถช่วยรักษาการรอดชีวิตของเซลล์ได้มากกว่าบุกผสมคาราจีแนน 2% ถึง 6 ชั่วโมง และถึงแม้ว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จะช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิตให้ยาวนานขึ้นกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง แต่ก็รักษาการรอดชีวิตได้เพียง 18 ชั่วโมงเท่านั้น ซึ่งอาจเนื่องมาจากวัตถุดิบที่ใช้เคลือบเซลล์นั้นปราศจากอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของเซลล์ จึงทำให้เซลล์มีอัตราการรอดชีวิตได้เพียงระยะสั้นเท่านั้น ถึงแม้ว่าจะเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสก็ตาม ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความ sensitive ของเชื้อแต่ละชนิด โดยอัตราการรอดชีวิตที่สภาวะเดียวกัน เชื้อ *P. acidilactici* จะมีอัตราการรอดชีวิตที่ต่ำกว่าเชื้อ *L. acidophilus* เช่นกัน

4.4 ผลของการเติมพรีไบโอติกลงในสารเคลือบต่ออัตราการรอดชีวิตของโพรไบโอติก

จากตารางตารางที่ 4.7 และตารางที่ 4.8 แสดงให้เห็นว่าการใช้สารเคลือบบุกผสมคาราจีแนนที่มีความเข้มข้น 2% และเสริมด้วยพรีไบโอติก 2% และทำการเก็บรักษาหลังเชื้อ *L. acidophilus* และเชื้อ *P. acidilactici* ไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าอัตราการรอดชีวิตไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบกับกรณีที่ใช้สารเคลือบที่ไม่ได้เสริมด้วยพรีไบโอติก 2% และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ตารางที่4.4 กับตารางที่4.7 และตารางที่4.6 กับตารางที่4.8) ซึ่งอาจเนื่องมาจากพรีไบโอติก ที่ใช้นั้นไม่เหมาะสมกับจุลินทรีย์ชนิดดังกล่าว และเซลล์อยู่ในสภาวะเครียด น่าจะมี recovery medium ชนิดอื่น(Dembczynski and Jankowski., 2002) เข้ามาเสริมก่อนที่จะเสริมด้วยพรีไบโอติก ดังกล่าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
96792

ตารางที่4.5 อัตราการรอดชีวิตของ *Pediococcus acidilactici* โดยการใช้บุก 1.5%ผสมโซเดียมอัลจิเนต 2% เป็นสารเคลือบ

เวลา (ชม.)	อัตราการรอดชีวิต log (cfu/g)		อัตราการรอดชีวิต (%)	
	อุณหภูมิห้อง	อุณหภูมิ4°c	อุณหภูมิห้อง	อุณหภูมิ4°c
0 (ก่อนอบที่ 40°c)	5.98	5.98	100	100
0 (หลังอบที่ 40°c นาน 1 ชม.)	5.94	5.94	99.22	99.22
6	2.87	3.44	48.05	57.56
12	1.87	2.25	31.36	37.66
18	-	1.49	-	24.90
24	-	-	-	-

หมายเหตุ : ข้อมูลจากการทดลอง 2 ซ้ำ

ตารางที่4.6 อัตราการรอดชีวิตของ *Pediococcus acidilactici* โดยการใช้บุกผสมคาราจีแนน 2% เป็นสารเคลือบ

เวลา (ชม.)	อัตราการรอดชีวิต log(cfu/g)		อัตราการรอดชีวิต (%)	
	อุณหภูมิห้อง	อุณหภูมิ4°c	อุณหภูมิห้อง	อุณหภูมิ4°c
0 (ก่อนอบที่ 40°c)	5.98	5.98	100	100
0 (หลังอบที่ 40°c นาน 1 ชม.)	5.94	5.94	99.22	99.22
6	1.11	3.61	18.60	60.32
12	-	1.20	-	20.11
18	-	-	-	-
24	-	-	-	-

หมายเหตุ : ข้อมูลจากการทดลอง 2 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่4.7 อัตราการรอดชีวิตของ *Lactobacillus acidophilus* โดยใช้บุกผสมคาราจีแนน 2% เป็นสารเคลือบเสริมด้วยพรีไบโอติก 2%

เวลา(ชม.)	อัตราการรอดชีวิต log (cfu/g) อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	อัตราการรอดชีวิต (%)
0 (ก่อนอบที่ 40°c)	5.51	100
0 (หลังอบที่ 40°c นาน 1 ชม.)	5.39	97.93
6	5.30	96.17
12	3.29	59.70
18	2.36	42.85
24	1.26	23.00

หมายเหตุ : ข้อมูลจากการทดลอง 2 ซ้ำ

ตารางที่4.8 อัตราการรอดชีวิตของ *Pediococcus acidilactici* โดยใช้บุกผสมคาราจีแนน 2% เป็นสารเคลือบและเสริมด้วยพรีไบโอติก 2%

เวลา(ชม.)	อัตราการรอดชีวิต log (cfu/g) อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส	อัตราการรอดชีวิต (%)
0 (ก่อนอบที่ 40°c)	5.92	100
0 (หลังอบที่ 40°c นาน 1 ชม.)	5.85	98.68
6	3.59	60.56
12	1.23	20.75
18	-	-
24	-	-

หมายเหตุ : ข้อมูลจากการทดลอง 2 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

5.1.1 การเคลือบเซลล์ด้วยโซเดียมอัลจิเนต 2% ผสมกับบุก 1.5% มีผลทำให้เชื้อมีอัตราการรอดชีวิตได้ดีกว่าการใช้บุกผสมคาราจีแนน 2% จากการทดลองพบว่าเชื้อที่ถูกเคลือบด้วยโซเดียมอัลจิเนต 2% ผสมกับบุก1.5% จะทำให้อัตราการรอดชีวิตเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบที่อุณหภูมิเดียวกัน คือ ที่อุณหภูมิห้องเชื้อมีอัตรารอดชีวิตได้ถึง 6 ชั่วโมง เมื่อใช้บุกผสมคาราจีแนน 2% แต่เชื้อที่ถูกเคลือบด้วยบุกผสมโซเดียมอัลจิเนต จะมีอัตราการรอดชีวิตได้ถึง 12 ชั่วโมง แสดงว่าการใช้สารเคลือบที่ต่างชนิดกัน ส่งผลให้อัตราการรอดชีวิตของเซลล์แบคทีเรียต่างกัน

5.1.2 การเก็บรักษาเชื้อที่ผ่านการเคลือบแล้วไว้ที่อุณหภูมิตู้เย็น ส่งผลให้อัตราการรอดชีวิตของเชื้อเพิ่มขึ้นกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

5.1.3 เมื่อทำการศึกษาผลของการเติมพรีไบโอติก โดยผสมในสารที่ใช้เคลือบเซลล์ พบว่าสารเคลือบที่ไม่ได้ผสมพรีไบโอติก กับสารเคลือบที่มีการผสมพรีไบโอติก พบว่าให้อัตราการรอดชีวิตของเชื้อไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

5.1.4 รูปร่างของจุลินทรีย์ไม่มีอิทธิพลต่อการเคลือบเซลล์กล่าวคือวัตถุดิบที่ใช้เคลือบเซลล์สามารถใช้เคลือบเซลล์ได้ทั้งจุลินทรีย์ที่มีรูปร่างเป็นทรงกลมและท่อนได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

ในการทดลองควรจะเพิ่มสัดส่วนปริมาณของเชื้อให้มากขึ้น และควรเติมสารอาหารหรือสารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต (growth factor) ลงในสารเคลือบ เพื่อให้มีอัตราการรอดชีวิตที่สูงขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

21093

เอกสารอ้างอิง

โศภินาฎ เกตุวิชิต และสิตานัน ธิติประเสริฐ. (2547).การเคลือบเซลล์บิฟีโดแบคทีเรียด้วยบุกและอัตราการรอดชีวิตในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตพร้อมดื่มพาสเจอร์ไรส์. โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, 13-28.

ผศ.ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์. (2548)."ความสำคัญของการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกในอาหารหมักของไทย." เอกสารประกอบการสอนวิชาอาหารหมักพื้นบ้าน. โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, 23-29.

Audet, P., Paquin, C., & Lacroix, C. (1988). Immobilized growing lactic acid bacteria with K-carrageenan-locust bean gum gel. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 29(1), 11-18.

Audet, P., Paquin, C., & Lacroix, C. (1989). Sugar utilization and acid production by free and entrapped cell of Streptococcus salivarius spp. thermophilus, Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus, and Lactococcus lactis in a way permeate medium. *Applied and Environmental Microbiology*, 55(1), 185-189.

Champagne, C.P., Guady, C., Poncelet, D., & Neufeld, R.J. (1992a). Lactococcus lactis release From calcium alginate beads. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(5), 1429-1434.

Champagne, C.P.,Girard, F., & Rodrigue, N.(1993). Production of concentrates suspension of thermophilic lactic acid bacteria in calcium-alginate beads.International Dairy Journal, 3(3), 257-275.

Champagne, C.P., Lacroix, C., & Sondini-Gallot, I.(1994). Immobilized cell technologies for the dairy industry. *Critical Reviews in Biotechnology*, 14(2),109-134.

Champagne, C.P.,Morin,N.,Couture,R., Gagnon, C., Jelen,P., & Lacroix, C.(1992b).The potential of immobilized cell teachnology to produce freeze-dried, phage-protected cultures of *Lactococcus lactis. Food Research international,* 25(6),419-427.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

Dembczynski, R.,Jankowski, T. (2002).Growth characteristics and acidifying activity of *Lactobacillus rhamnosus* in alginate/starch liquid-core capsules. *Biotechnology and food Microbiology*, 111-115.

Fuller, R. (1992). *Probiotics: the scientific basis.* London: Chapmam & Hall.

Jankowski, T., Zielinska, M., & Wysakorska, A. (1997) Encapsula-Tion of lactic acid bacteria with alginate\starch casules. *Biotechnology Techniques*, 11(1), 31-34.

Kearey, L., Upton, M., & Loughlin, A. (1990) . Enhancing the viagility of *Lactobacillus plantarum* inoculum by immobilizing the cells in calcium-alginate beads. *Applied and Environmental Micro-Biology*, 56(10),3112-3116.

Kebary, K.M.K., Hussein, S.A., & Badari, R.M. (1998). Improving Viability of *Bifidobacteria* and their effect on frozen ice milk.*Egyptian Journal of Dairy Science*, 26(2),319-337.

Kim, H. S., & Giilliland, S. (1983). *Lactobacillus acidophilus* as a Dietary adjunct for milk to aid lactose digestion in humans. *Journal Of Dairy Science*, 66(5), 959-966.

Kim, H. S., Kamara, B. J., Good, I. C., & Enders, G. L.(1988). Method for the preparation of stabile microencapsulated lactic acid bacteria. *Journal of Industrial Microbiology*, 3(4),253-257.

Kim,K.I.,& Yoon, Y.H. (1995). A study on the preparation of direct vat lactic acid bacterial starter. *Korean Journal of Dairy Science*,17(2), 129-134.

King, A.H. (1995). Encapsulation of food ingredients: a review of available technology, focusing on hydrocolloids. In S. J. Risch,& G.A. Reineccius (Eds.), *Encapsulation and controlled release of food ingredients* (pp. 213-220). Washington DC: American Chemical Society.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Klein, J.,& Vorlop, K.D. (1983). Immobilized cells, catalyst preparation and reaction performance. In H.Blanch, E. T. Papoutsakis & G. Stephanopoulos (Eds.), *Foundations of biochemicals engineering kinetics and thermodynamics in biological systems,* ACS Symposium, Series No. 207 (pp. 475-486). Washington DC: American Chemical Society.

Martinsen, A., Skjak-Braek, C., &Smidsrod, O. (1989). Alginate as immobilization material. I. Correlation between chemical and physical properties of alginate gel beads. *Biotechnology and Bioengineering, 33*(1), 79-89.

Roa, A. V., Shiwnarain ,N., & Maharaj,I.(1989). Survival of microencapsulated *Bifidobacterium pseudolongum* in simulated gastric and intestinal juices. *Cannadian Institute of food science and Technology Journal*,22(4),345-349.

Sheu, T.Y., & Marshall, R. T. (1991). Improving culture viability in Frozen dairy desserts by microencapsulation. *Journal of Dairy Science*, 74(supplement I),107.

Sheu, T Y., & Marshall, R. T. 91993). Microencapsulation of Lactobacilli in calcium alginate gels. *Journal of Food Science*,54(3),557-107561.

Sheu, T. Y., Marshall, R. T., & Heymann, H. (1993). Improving Survival of culture bacteria in frozen desserts by microentrapment. *Journal of Dairy Science*, 76(7), 1902-1907.

Skjak-Braek, G., Larsen, B., & Smidsrod, O. (1986). Tailoring of alginates by enzymatic modification in vitro. *International Journal of Biological Macromolecules*, 8(6), 330-336.

Smidsrod, O., Haug, A., & Lian, B. (1972). Properties of poly (1,4-heuronates) in the gel state. I. Evaluation of a method for the determination of stiffness. *Acta Chemica Scandinavica*, 26(1), 71-78.

Smidsrod, O., & Skjak-Braek, G.(1990). Alginate as immobilization matrix for cells.*Trends in Biotechnology*, 8(3), 71-78.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Steenson, L.R., Klaenhammer. T.R., & Swaisgood, H. E. (1987). Calcium alginate-immobilized cultures of lactic strpyococci are Protected from bacteriophages. *Journal of Dairy Science*, 70(6), 1121-1127.

Sung, H. H. (1997). Enhancing survival of lactic acid bacteria in ice Cream by natural encapsulation. *Dissertation Abstracts International*, 13(9),5407.

Tanaka, H., Masatose, M.,&Veleky, I. A.(1984). Diffusion characteristics of substrates in Ca-alginate beads. *Biotechnology and Bioengineering*, 26(1), 53-58.

คุณสมบัติของบุก (ออนไลน์) เข้าถึงได้จาก : http:// www.Konjac-glucomannan.com/konjac.html

โครงสร้างทางเคมีของ Carageenan(ออนไลน์) เข้าถึงได้จาก : http://sci-toys.com/ingredients/carageenan.html

โครงสร้างทางเคมีของอัลจิเนต(ออนไลน์)เข้าถึงได้จาก:http://www.fao.org/docrep/W6355E/w6355e0x.htm

ความหมายของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* (ออนไลน์)เข้าถึงได้จากเข้าถึงได้จาก: http://en.wikipedia.org/wiki/Lactobacillus_acidophilus

จุลินทรีย์โพรไบโอติค(ออนไลน์) เข้าถึงได้จาก : http:// www.elixa.com/nutrient/mblend

จุลินทรีย์ *Pediococcus acidilactici* (ออนไลน์) เข้าถึงได้จาก : http://mic.sgmjournals.org/cgi/reprint/2000

บุก(ออนไลน์) เข้าถึงได้จาก : http://www. glucomannan.com

อัลจิเนต(ออนไลน์) เข้าถึงได้จาก : http://www.dharmatrading.com/html/eng/2008-AA.shtml

การใช้ประโยชน์ของโพรไบโอติกทดแทน(ออนไลน์) เข้าถึงได้จาก : http://www.ncbi.nlm.nih.gov

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องค์ประกอบทางเคมีของบุก(ออนไลน์)เข้าถึงได้จาก:

http://www.acroyali.com/konjac%20powder.htm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมีที่ใช้

อาหารเลี้ยงเชื้อ

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS – agar (g/l)

1. Peptone from casein	10	g
2. Meat extract	8	g
3. Yeast extract	4	g
4. Glucose	20	g
5. Dipotassium hydrogen phosphate	2	g
6. Tween 80	1	g
7. Di-ammonium hydrogen citrate	2	g
8. Sodium acetate	5	g
9. Magnesium sulfate	0.2	g
10. Manganese sulfate	0.04	g
11. Calcium carbonate	10	g
12. Agar	12	g

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดให้เข้ากัน แล้วนำไปเข้าเครื่องไมโครเวฟจนได้สารละลายใส ระวังอย่าให้วุ้นจับตัวกันเป็นก้อน ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร เก็บใส่ภาชนะแล้วนำไปผ่านการฆ่าเชื้อภายใต้ความดันไอ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

สารเคมี

การเตรียมแคลเซียมคลอไรด์

1. $CaCl_2 . 2H_2O$ 1 Molar	147	g/l

หมายเหตุ $CaCl_2 . 2H_2O$ 1 Molar มีน้ำอยู่ 36 กรัม ดังนั้นเตรียม $CaCl_2 . 2H_2O$ 1 ลิตรจะมีน้ำเกินมา 36 มิลลิลิตร การเตรียม $CaCl_2 . 2H_2O$ 1 Molar จึงทำการชั่ง $CaCl_2 . 2H_2O$ 147 กรัมและเติมน้ำ 964 มิลลิลิตร ละลายให้เข้ากัน เก็บใส่ภาชนะแล้วนำไปผ่านการฆ่าเชื้อภายใต้ความดันไอ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

การคำนวณค่าความแข็งแรงของเจลวัตถุดิบ การเจริญและอัตราการรอดชีวิตของเชื้อโพรไบโอติคที่ผ่านการเคลือบเซลล์และที่ไม่ผ่านการเคลือบเซลล์ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิตู้เย็น

ตาราง ข.1 ค่าความแข็งแรงของเจล (gel strength) บุกผสมโซเดียมอัลจิเนต

วัตถุดิบ	ความเข้มข้นของ $CaCl_2$ (M)	1	2	ค่าเฉลี่ย
บุก 1.5% ผสมโซเดียมอัลจิเนต 2.0%	0.1	31.6 g	30.6 g	31.1±0.707 g
	1	42.6 g	45.2 g	43.9±1.838 g
	1.5	73.1 g	88.6 g	80.85±10.960 g

ตาราง ข.2 ค่าความแข็งแรงของเจล(gel strength) บุกผสมคาราจีแนน

ความเข้มข้นของบุกผสมคาราจีแนน (%)	ครั้งที่	$CaCl_2$ 0.1 M	$CaCl_2$ 1 M	$CaCl_2$ 1.5 M
1 %	1	392.3 g	495.1 g	789.3 g
	2	336.4 g	523.2 g	845.1 g
	ค่าเฉลี่ย	364.35 ±39.527 g	509.15 ±19.870 g	817.2 ±39.457 g
2 %	1	1251.8 g	2536.8 g	5789.4 g
	2	1162.3 g	3012.5 g	5243.3 g
	ค่าเฉลี่ย	1207.05 ±63.286 g	2774.65 ±336.371 g	5516.35 ±386.151 g
3 %	1	2106.9 g	4578.1 g	7210.3 g
	2	2084.5 g	5002.4 g	7601.6 g
	ค่าเฉลี่ย	2095.7 ±15.839 g	4790.25 ±300.025 g	7405.95 ±276.691 g

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ข.3 อัตราการรอดชีวิต*Lactobacillus acidophilus* โดยใช้บุก 1.5% ผสมโซเดียมอัลจิเนต 2% เป็นสารเคลือบ

เวลา (ชม.)	อัตราการรอดชีวิตที่อุณหภูมิห้อง log (cfu/g)			อัตราการรอดชีวิตที่อุณหภูมิ4°c log (cfu/g)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
ก่อนอบที่ 40°c	5.44	5.42	5.43	5.44	5.42	5.43
0 (หลังอบที่ 40°c นาน 1 ชม.)	5.30	5.34	5.32	5.30	5.34	5.32
6	3.31	3.30	3.32	5.24	5.26	5.25
12	1.09	1.13	1.11	3.46	3.45	3.44
18	-	-	-	2.34	2.34	2.34
24	-	-	-	1.37	1.35	1.36

ตาราง ข.4 อัตราการรอดชีวิต *Lactobacillus acidophilus* โดยใช้บุกผสมคาราจีแนน 2% เป็นสารเคลือบ

เวลา (ชม.)	อัตราการรอดชีวิตที่อุณหภูมิห้อง log (cfu/g)			อัตราการรอดชีวิตที่อุณหภูมิ4°c log (cfu/g)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
ก่อนอบที่ 40°c	5.44	5.42	5.43	5.44	5.42	5.43
0 (หลังอบที่ 40°c นาน 1 ชม.)	5.30	5.34	5.32	5.30	5.34	5.32
6	2.15	2.19	2.17	5.25	5.21	5.23
12	-	-	-	3.16	3.18	3.17
18	-	-	-	2.27	2.28	2.27
24	-	-	-	1.39	1.39	1.39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ข.5 อัตราการรอดชีวิต *Lactobacillus acidophilus* โดยใช้บุกผสมคาราจีแนน 2% เป็นสารเคลือบและเสริมด้วยพรีไบโอติก 2%

เวลา(ชม.)	อัตราการรอดชีวิตที่อุณหภูมิ4°c log (cfu/g)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
ก่อนอบที่ 40°c	5.49	5.52	5.51
0 (หลังอบที่ 40°c นาน 1 ชม.)	5.37	5.42	5.39
6	5.28	5.32	5.30
12	3.27	3.31	3.29
18	2.36	2.36	2.36
24	1.25	1.26	1.26

ตาราง ข.6 อัตราการรอดชีวิต *Pediococcus acidilactici* โดยใช้บุก 1.5% ผสมโซเดียมอัลจิเนต 2% เป็นสารเคลือบ

เวลา (ชม.)	อัตราการรอดชีวิตที่อุณหภูมิห้อง log (cfu/g)			อัตราการรอดชีวิตที่อุณหภูมิ4°c log (cfu/g)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
ก่อนอบที่ 40°c	5.98	5.98	5.98	5.98	5.98	5.98
0 (หลังอบที่ 40°c นาน 1 ชม.)	5.95	5.93	5.94	5.95	5.93	5.94
6	2.85	2.89	2.87	3.46	3.47	3.45
12	1.86	1.88	1.87	2.27	2.23	2.25
18	-	-	-	1.47	1.48	1.49
24	-	-	-	-	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ข.7 อัตราการรอดชีวิต *Pediococcus acidilactici* โดยใช้บุกผสมคาราจีแนน 2% เป็นสารเคลือบ

เวลา (ชม.)	อัตราการรอดชีวิตที่อุณหภูมิห้อง log (cfu/g)			อัตราการรอดชีวิตที่อุณหภูมิ4°c log (cfu/g)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
ก่อนอบที่ 40°c	5.98	5.98	5.98	5.98	5.98	5.98
0 (หลังอบที่ 40°c นาน 1 ชม.)	5.95	5.93	5.94	5.95	5.93	5.94
6	1.10	1.11	1.11	3.63	3.59	3.61
12	-	-	-	1.19	1.21	1.20
18	-	-	-	-	-	-
24	-	-	-	-	-	-

ตาราง ข.8 อัตราการรอดชีวิต *Pediococcus acidilactici* โดยใช้บุกผสมคาราจีแนน 2% เป็นสารเคลือบและเสริมด้วยพรีไบโอติก 2%

เวลา(ชม.)	อัตราการรอดชีวิตที่อุณหภูมิ4°c log (cfu/g)		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ค่าเฉลี่ย
ก่อนอบที่ 40°c	5.91	5.90	5.92
0 (หลังอบที่ 40°c นาน 1 ชม.)	5.87	5.84	5.86
6	3.58	3.61	3.59
12	1.23	1.23	1.23
18	-	-	-
24	-	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ข.9 การสูญเสียความชื้น ระหว่างการอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง

วัตถุดิบที่ใช้เคลือบเซลล์	ครั้งที่	% ความชื้น
บุกผสมคาราจีแนน 2%	1	2.78
	2	2.85
	ค่าเฉลี่ย	2.81±0.049
บุก1.5 %ผสมโซเดียมอัลจิเนต 2%	1	2.21
	2	2.30
	ค่าเฉลี่ย	2.25 ±0.064

ตาราง ข.10 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปรียบเทียบค่าความแข็งแรงของเจลเมื่อความเข้มข้นของบุกผสมคาราจีแนนเป็น 1%, 2% และ 3% และใช้แคลเซียมคลอไรด์ 0.1 M

SOLN
Duncan

	N	Subset for alpha = .05		
CON.CONJ		1	2	3
1.00	2	364.3500		
2.00	2		1207.0500	
3.00	2			2095.7000
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ข.11 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปรียบเทียบค่าความแข็งแรงของเจลเมื่อความเข้มข้นของบุก ผสมคาราจีแนนเป็น 1%, 2% และ 3% และใช้แคลเซียมคลอไรด์ 1.0 M

SOLN
Duncan

	N	Subset for alpha = .05		
CON.CONJ		1	2	3
1.00	2	509.1500		
2.00	2		2774.6500	
3.00	2			4790.2500
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ตาราง ข.12 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปรียบเทียบค่าความแข็งแรงของเจลเมื่อความเข้มข้นของบุก ผสมคาราจีแนนเป็น 1%, 2% และ 3% และใช้แคลเซียมคลอไรด์ 1.5 M

SOLN
Duncan

	N	Subset for alpha = .05		
CON.CONJ		1	2	3
1.00	2	817.2000		
2.00	2		5516.3500	
3.00	2			7401.4500
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ตาราง ข.13 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปรียบเทียบค่าความแข็งแรงของเจลเมื่อความเข้มข้นของบุก ผสมคาราจีแนนเป็น 1% และใช้แคลเซียมคลอไรด์ 0.1,1.0 และ1.5 M

SOLN
Duncan

	N	Subset for alpha = .05		
CON.CACL		1	2	3
.10	2	364.3500		
1.00	2		509.1500	
1.50	2			817.2000
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง ข.14 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปรียบเทียบค่าความแข็งแรงของเจลเมื่อความเข้มข้นของบุก ผสมคาราจีแนนเป็น2% และใช้แคลเซียมคลอไรด์ 0.1,1.0 และ1.5 M

SOLN
Duncan

	N	Subset for alpha = .05		
CON.CACL		1	2	3
.10	2	1207.0500		
1.00	2		2774.6500	
1.50	2			5516.3500
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

ตาราง ข.15 การวิเคราะห์ผลทางสถิติเปรียบเทียบค่าความแข็งแรงของเจลเมื่อความเข้มข้นของบุก ผสมคาราจีแนนเป็น3% และใช้แคลเซียมคลอไรด์ 0.1,1.0 และ1.5 M

SOLN
Duncan

	N	Subset for alpha = .05		
CON.CACL		1	2	3
.10	2	2095.7000		
1.00	2		4790.2500	
1.50	2			7405.9500
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

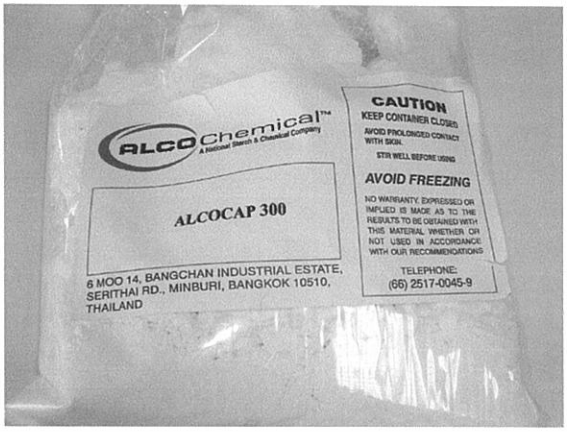
ภาคผนวก ค.

รูปภาพวัตถุดิบที่ใช้ ผลิตภัณฑ์ และเชื้อจุลินทรีย์

รูปที่ ค. 1 ผงบุก NUTRICOL GP 312 konjac (FMC BIOPOLYMER)

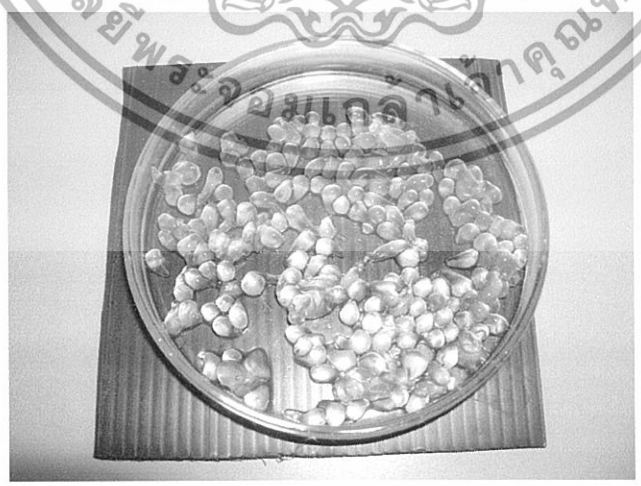
รูปที่ ค. 2 ผงบุกผสมคาราจีแนน NUTRICOL GP 751 konjac flour (FMC BIOPOLYMER)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



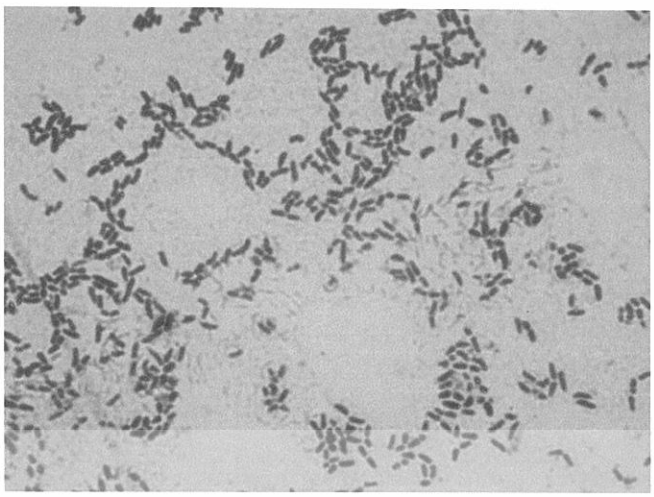
รูปที่ ค. 3 แป้งข้าวโพดดัดแปลง ALCO-CAP™ 300

รูปที่ ค. 4 ลักษณะเม็ดบีดส์ก่อนอบที่อุณหภูมิ 40°c นาน 1 ชั่วโมง

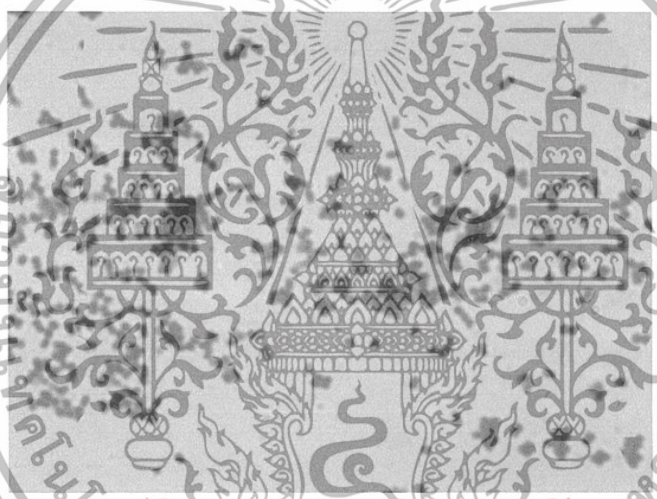


รูปที่ ค. 5 ลักษณะเม็ดบีดส์หลังอบที่อุณหภูมิ 40°c นาน 1 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ค. 6 ลักษณะของแบคทีเรีย *Lactobacillus acidophilus* ที่ถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ 1,000 เท่า



รูปที่ ค. 7 ลักษณะของแบคทีเรีย *Pediococcus acidilactici* ที่ถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ 1,000เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นายวัชพล ปาระแม จบการศึกษาระดับอนุบาลที่โรงเรียนสตรีพร้อมพรรณวิทยา และต่อระดับประถมศึกษาที่โรงเรียนพร้อมพรรณวิทยาจนจบการศึกษาระดับประถมศึกษาปีที่6 หลังจากนั้นได้มาศึกษาต่อจนถึงระดับมัธยมศึกษาปีที่6 ที่โรงเรียนสุรศักดิ์มนตรีจนจบการศึกษา และได้มาศึกษาต่อในระดับมหาวิทยาลัยที่สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังจนสำเร็จการศึกษาในเดือนมีนาคม พ.ศ. 2549

นางสาววันวิสา พรรค์พิทักษ์ สำเร็จการศึกษาระดับประถมศึกษาที่โรงเรียนพนัสศึกษาลัย และศึกษาต่อในระดับมัธยมศึกษาตอนต้นและมัธยมศึกษาตอนปลายที่โรงเรียนพนัสพิทยาคาร จนสำเร็จการศึกษาในปีพ.ศ.2543 จากนั้นได้เข้ารับการศึกษาต่อในระดับอุดมศึกษา ที่สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และสำเร็จการศึกษาในเดือนมีนาคม พ.ศ. 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้