

การศึกษาสารปกป้องเซลล์ที่เหมาะสมสำหรับเชื้อ *Lactobacillus*
paracasei TISTR 2593 ในกระบวนการทำแห้ง

STUDY OF CRYOPROTECTANT FOR *LACTOBACILLUS*
PARACASEI TISTR 2593 IN THE DRYING PROCESS



สหกิจศึกษานี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2566

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

STUDY OF CRYOPROTECTANT FOR *LACTOBACILLUS*
PARACASEI TISTR 2593 IN THE DRYING PROCESS



RUNGNAPHA SRIRAKSA

A COOPERATIVE EDUCATION SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, SCHOOL OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 202

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สหกิจศึกษา	การศึกษาสารปกป้องเซลล์ที่เหมาะสมสำหรับเชื้อ <i>Lactobacillus paracasei</i> TISTR 2593 ในกระบวนการทำแห้ง Study of cryoprotectant for <i>Lactobacillus paracasei</i> TISTR 2593 in the drying process
ชื่อนักศึกษา	นางสาวรุ่งนภา ศรีรักษา รหัสนักศึกษา 63050514
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2566
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. กวินชญา สายแก้ว

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดเลือกชนิดสารปกป้องเซลล์ ความเข้มข้น อัตราส่วนเชื้อต่อสารปกป้องเซลล์ อุณหภูมิที่เหมาะสม และกระบวนการทำแห้งที่เหมาะสมสำหรับเชื้อ *Lactobacillus paracasei* TISTR 2593 โดยทำการศึกษาชนิดสารปกป้องเซลล์ 10 ชนิด ความเข้มข้นที่ 5, 10, 15, 20 และ 25% อัตราส่วนเชื้อต่อสารปกป้องเซลล์ที่ใช้คือ 1:0.5, 1:1 และ 1:2 อุณหภูมิที่ -20, -40 และ -80°C และกระบวนการทำแห้งแบ่งออกเป็น 2 วิธี คือการทำให้แห้งด้วยวิธีการแช่เยือกแข็ง (Freeze Dry; FD) และการอบแห้งแบบพ่นฝอย (Spray Dry; SD) พบว่าสารปกป้องเซลล์ชนิดทรีฮาโลส (Trehalose; TL) และไอโซมอลโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ (Isomalto-Oligosaccharide; IMO) มีอัตราการอยู่รอดของเชื้อเท่ากับ 34.38% และ 14.71% ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงเมื่อเทียบกับอัตราการอยู่รอดของสารปกป้องเซลล์ชนิดอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) จากนั้นนำสารที่คัดเลือกนำมาศึกษาความเข้มข้นพบว่าที่ 15% มีอัตราการอยู่รอดของเชื้อ TL เท่ากับ 85.57% และ IMO ที่ 65.63% ในอัตราส่วนของเชื้อต่อสารปกป้องเซลล์พบว่าที่ อัตราส่วน 1:1 มีอัตราการอยู่รอดของเชื้อ TL เท่ากับ 18.71% และ IMO เท่ากับ 55.62% และอุณหภูมิ -80 °C มีอัตราการอยู่รอดของเชื้อ TL เท่ากับ 62.50% ส่วนผลของการทำให้แห้งด้วยวิธีการแช่เยือกแข็ง และการอบแห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้สารปกป้องเซลล์ชนิด TL พบว่าวิธีทำแห้งแบบเยือกแข็ง ให้ผลการปกป้องเซลล์ที่ดีกว่าวิธีทำแห้งแบบพ่นฝอย สรุปได้ว่าสารปกป้องเซลล์ที่สามารถปกป้องเชื้อได้ดีที่สุดคือ Trehalose ที่ความเข้มข้น 15% (w/w) ในอัตราส่วนเชื้อต่อสารปกป้องเซลล์ 1:1 อุณหภูมิ -80 °C และสภาวะที่เหมาะสมที่สุดคือ การทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง

คำสำคัญ: *Lactobacillus paracasei* TISTR 2593, สารปกป้องเซลล์, Freeze Dry, Spray Dry

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Study of cryoprotectant for <i>Lactobacillus paracasei</i> TISTR 2593 in the drying process
Students	Miss Rungnapha Sriraksa ID 63050514
Degree	Bachelor of Science (Industry Microbiology)
Department	Biology
School	Science
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)
Academic Year	2023
Advisor	Dr. Kawinchaya Saikaew

Abstract

This study aims to investigate an appropriate cryoprotectant agents, concentrations, ratios, temperatures, and drying process for bacteria, *Lactobacillus paracasei* TISTR 2593, by studying the types of cryoprotectant substances, their concentrations, ratios, temperatures and the drying process divided into two methods: freeze drying (FD) and spray drying (SD). It was found that the trehalose (TL) and isomaltoligosaccharides (IMO) provided a survival rate of 34.38% and 14.71%, respectively, compared to other cell protection substances. Then, these substances were selected to study for further analysis. We found that the selected cryoprotectants at the level of 15% provided a high survival rate accounting for 85.57% and 65.63% of TL and IMO, respectively. In the ratio of infectious substances to cryoprotectant substances, it was found that at a ratio of 1:1, there was a survival rate of TL at 18.71% and IMO at 55.62%, and a temperature of -80 °C had a TL of 62.50%. Additionally, it was found that the freeze-drying method resulted in better cell protection than the spray-drying method. conclusion, the cryoprotectant that can protect cells best is Trehalose at a concentration of 15% (w/w) in a ratio of cell protectant to cryoprotectant 1:1, temperature -80 °C and the most suitable condition is Freeze drying.

Keyword: *Lactobacillus paracasei* TISTR 2593, Cryoprotectant, Freeze Dry, Spray Dry

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

หัวข้อสหกิจศึกษาเล่มนี้ที่ได้รับมอบหมายเป็นการศึกษาค้นคว้างานวิจัยเรื่อง การศึกษาสารปกป้องเซลล์ที่เหมาะสมสำหรับเชื้อ *Lactobacillus paracasei* TISTR 2593 ในกระบวนการทำแห้ง สามารถดำเนินการจนกระทั่งประสบความสำเร็จไปได้อย่างสมบูรณ์ ด้วยความอนุเคราะห์จากบุคคลหลายท่าน ในด้านการสนับสนุน ให้คำปรึกษา และแนะแนวทางในระหว่างศึกษาและค้นคว้าตลอดจนแก้ไขปัญหาข้อบกพร่องต่างๆ ทั้งนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

ขอขอบพระคุณ คุณปณณธร ทวีเทพไทกุล นักวิจัย ที่ให้โอกาสในการทำสหกิจ สำหรับศึกษาหาความรู้ที่ ศูนย์นวัตกรรมผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์เพื่ออุตสาหกรรม (ICPIM) หน่วยงานศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ (ศคช.) สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) และให้คำแนะนำระหว่างศึกษางาน

ขอขอบพระคุณ คุณนันทนา บำรุงเชื้อ ผู้ช่วยนักวิจัย ที่ได้ให้คำแนะนำ ความรู้เทคนิคทางด้านจุลชีววิทยา ข้อเสนอแนะตลอดการทดลอง ช่วยแก้ไข ตรวจสอบ ชี้แนะข้อบกพร่องและแนะนำ ให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น และช่วยแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นในระหว่างการปฏิบัติงาน

ขอขอบพระคุณ คุณปิยนุช เปสันเทียะ ผู้ช่วยนักวิจัย ผู้ให้คำแนะนำในด้านเทคนิคการใช้งาน Fermenter การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ และให้ความช่วยเหลือในด้านอื่นๆ ตลอดการทดลอง

ขอขอบพระคุณ พี่ๆที่ศูนย์นวัตกรรมผลิตหัวเชื้อจุลินทรีย์เพื่ออุตสาหกรรม (ICPIM) ที่ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือในระหว่างการปฏิบัติงานและให้คำปรึกษาด้านต่างๆ

ขอขอบพระคุณ ดร. กวินชญา สายแก้ว อาจารย์ที่ปรึกษาที่ได้ให้คำแนะนำช่วยเหลือ ตรวจสอบ แก้ไข และปรับปรุงรายงานการวิจัยจนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ รศ. ดวงใจ โอชัยกุล อาจารย์นิเทศสหกิจศึกษา ที่คอยให้คำแนะนำ ติดตามผลระหว่างการทำงาน และดูแลความเรียบร้อยตลอดการฝึกสหกิจ

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณครอบครัว เพื่อน พี่ น้องรวมถึงบุคคลที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาการทดลองในครั้งนี้ที่คอยให้กำลังใจและสนับสนุนตลอดการฝึกสหกิจจนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

รุ่งนภา ศรีรักษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ.....	ก
ABSTRACT	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป.....	ซ
คำย่อ/สัญลักษณ์.....	ญ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 ความหมายของโพรไบโอติก.....	2
2.2 ประโยชน์ของโพรไบโอติก.....	2
2.3 <i>Lactobacillus</i> spp.....	2
2.4 สารพรีไบโอติก	5
2.4.1 Glucose Syrup.....	5
2.4.2 Gum Arabic	5
2.4.3 Fiberest Resistant Dextrin (FRD).....	6
2.4.4 Trehalose.....	6
2.4.5 Isomalto-Oligosaccharide (IMO).....	7
2.4.6 Inulin.....	8
2.4.7 Maltodextrin.....	8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.8 Fructo-Oligosaccharide (FOS)	9
2.4.9 Isomaltulose (IM)	10
2.4.10 Isomalt	10
2.5 Freeze dry	11
2.6 Spray dry	12

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เครื่องมือ	14
3.2 อุปกรณ์	15
3.3 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ	16
3.4 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ	17
3.5 วิธีการทดลอง	17
3.5.1 คัดเลือกชนิดสารปกป้องเซลล์ที่เหมาะสมในกระบวนการทำแห้งสำหรับเชื้อ <i>Lactobacillus paracasei</i> TISTR 2593	17
3.5.2 ศึกษาความเข้มข้นของสารปกป้องเซลล์ที่เหมาะสมในกระบวนการทำแห้ง สำหรับเชื้อ <i>Lactobacillus paracasei</i> TISTR 2593	18
3.5.3 ศึกษาอัตราส่วนของเชื้อต่อสารปกป้องเซลล์ที่เหมาะสมในกระบวนการทำแห้ง สำหรับเชื้อ <i>Lactobacillus paracasei</i> TISTR 2593	18
3.5.4 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในกระบวนการแช่เยือกแข็งสำหรับเชื้อ <i>Lactobacillus paracasei</i> TISTR 2593	19
3.5.5 ศึกษาวิธีการทำแห้งที่เหมาะสมสำหรับเชื้อ <i>Lactobacillus paracasei</i> TISTR 2593	19
3.5.6 ศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาการแช่แข็งที่มีผลต่อการอยู่รอดของเชื้อ <i>Lactobacillus paracasei</i> TISTR 2593	20

บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 การคัดเลือกชนิดสารปกป้องเซลล์ที่เหมาะสมในกระบวนการทำแห้งสำหรับเชื้อ <i>Lactobacillus paracasei</i> TISTR 2593	21
--	----

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การศึกษาความเข้มข้นของสารปกป้องเซลล์ที่เหมาะสมในกระบวนการทำแห้ง สำหรับเชื้อ <i>Lactobacillus paracasei</i> TISTR 2593	24
4.3 การศึกษาอัตราส่วนของเชื้อต่อสารปกป้องเซลล์ที่เหมาะสมในกระบวนการทำแห้ง สำหรับเชื้อ <i>Lactobacillus paracasei</i> TISTR 2593	27
4.4 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในกระบวนการทำแห้งสำหรับเชื้อ <i>Lactobacillus paracasei</i> TISTR 2593	30
4.5 การศึกษาวิธีการทำแห้งที่เหมาะสมสำหรับเชื้อ <i>Lactobacillus paracasei</i> TISTR 2593	34
4.6 การศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาการแช่แข็งที่ส่งผลต่ออัตราการรอดของเชื้อ <i>Lactobacillus paracasei</i> TISTR 2593	36
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	38
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	38
อ้างอิง.....	39
ภาคผนวก.....	45
ภาคผนวก ก.....	46
ภาคผนวก ข.....	47
ภาคผนวก ค.....	48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 4.1 แสดงปริมาณเชื้อ <i>L. paracasei</i> TISTR 2593 ก่อน-หลังทำแห้ง และอัตราการ อยู่รอดของเชื้อหลังการทำแห้ง	21
ตารางที่ 4.2 แสดงปริมาณเชื้อ <i>L. paracasei</i> TISTR 2593 ก่อน-หลังทำแห้ง และอัตราการ อยู่รอดของเชื้อหลังการทำแห้ง	24
ตารางที่ 4.3 แสดงปริมาณเชื้อ <i>L. paracasei</i> TISTR 2593 ก่อน-หลังทำแห้ง และอัตราการ อยู่รอดของเชื้อหลังการทำแห้ง	28
ตารางที่ 4.4 แสดงปริมาณเชื้อ <i>L. paracasei</i> TISTR 2593 ก่อน-หลังทำแห้ง และอัตราการ อยู่รอดของเชื้อหลังการทำแห้ง	31
ตารางที่ 4.5 แสดงปริมาณเชื้อ <i>L. paracasei</i> TISTR 2593 ก่อน-หลังทำแห้ง และอัตราการ อยู่รอดของเชื้อหลังการทำแห้ง	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 2.1 แสดงลักษณะทางกายภาพของเชื้อ <i>L. paracasei</i> TISTR 2593 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์	4
รูปที่ 2.2 โครงสร้างของ Glucose Syrup.....	5
รูปที่ 2.3 โครงสร้างของ Gum Arabic	6
รูปที่ 2.4 โครงสร้างของ Trehalose.....	7
รูปที่ 2.5 โครงสร้างของ Isomalto-Oligosaccharide	7
รูปที่ 2.6 โครงสร้างของ Inulin.....	8
รูปที่ 2.7 โครงสร้างของ Maltodextrin	9
รูปที่ 2.8 โครงสร้างของ Fructo-Oligosaccharide.....	9
รูปที่ 2.9 โครงสร้างของ Isomaltulose.....	10
รูปที่ 2.10 โครงสร้างของ Isomalt.....	11
รูปที่ 2.12 รูปร่างและโครงสร้างของอนุภาคที่ได้จากการทำแห้งแบบพ่นฝอย	13
รูปที่ 4.1 แสดงลักษณะของสารปกป้องเซลล์ทั้ง 10 ชนิด หลังทำให้เป็นผง	22
รูปที่ 4.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเซลล์ในสารปกป้องเซลล์ชนิดต่างๆ (CFU/g) กับระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน) ที่อุณหภูมิ 4 °C.....	23
รูปที่ 4.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเซลล์ในสารปกป้องเซลล์ชนิดต่างๆ (CFU/g) กับระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน) ที่อุณหภูมิ 25 °C	24
รูปที่ 4.4 แสดงลักษณะของสารปกป้องเซลล์ทั้ง 2 ชนิด ที่ความเข้มข้น 5-25% หลังทำให้เป็นผง.....	25
รูปที่ 4.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเซลล์ในสารปกป้องเซลล์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ (CFU/g) กับระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน) ที่อุณหภูมิ 4 °C.....	26
รูปที่ 4.6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเซลล์ในสารปกป้องเซลล์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ (CFU/g) กับระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน) ที่อุณหภูมิ 25 °C.....	27
รูปที่ 4.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเซลล์ในสารปกป้องเซลล์ ที่อัตราส่วนต่างๆ (CFU/g) กับระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน) ที่อุณหภูมิ 4 °C.....	29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเซลล์ในสารปกป้องเซลล์ ที่อัตราส่วนต่างๆ (CFU/g) กับระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน) ที่อุณหภูมิ 25 °C30

รูปที่ 4.9 แสดงลักษณะของสารปกป้องเซลล์ทั้ง 2 ชนิด ที่อุณหภูมิต่างๆ หลังทำให้เป็นผง.....31

รูปที่ 4.10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเซลล์ในสารปกป้องเซลล์ ที่อุณหภูมิต่างๆ (CFU/g) กับระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน) ที่อุณหภูมิ 4 °C.....33

รูปที่ 4.11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเซลล์ในสารปกป้องเซลล์ ที่อุณหภูมิต่างๆ (CFU/g) กับระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน) ที่อุณหภูมิ 4 °C.....34

รูปที่ 4.12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเซลล์ในสารปกป้องเซลล์ ที่สภาวะการทำแห้ง (CFU/g) กับระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน) ที่อุณหภูมิ 4 °C.....36

รูปที่ 4.13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเซลล์ในสารปกป้องเซลล์ ที่สภาวะการทำแห้ง (CFU/g) กับระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน) ที่อุณหภูมิ 25 °C.....36

รูปที่ 4.14 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเซลล์ในสารปกป้องเซลล์ ที่ระยะเวลาการแช่แข็งต่างๆ (CFU/g) กับระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน).....37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำย่อ/สัญลักษณ์

คำย่อ/สัญลักษณ์	คำอธิบาย
<i>L. paracasei</i>	<i>Lactobacillus paracasei</i>
FRD	Fiberest Resistant Dextrin
IM	Isomaltulose
IMO	Isomalto-Oligosaccharide
FOS	Fructo-Oligosaccharide
TL	Trehalose
FD	Freeze Dry
SD	Spray Dry
pH	Positive potential of the Hydrogen ions
CFU/g	Colony forming unit.
MRS Agar	De Man–Rogosa–Sharpe agar
°C	องศาเซลเซียส (degree Celsius)
g	กรัม (gram)
ml	มิลลิลิตร (milliliter)
%	เปอร์เซ็นต์ (percentage)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

จุลินทรีย์โพรไบโอติก (Probiotic) คือ จุลินทรีย์ที่มีชีวิตซึ่งเมื่อร่างกายได้รับในปริมาณที่เพียงพอ จะทำให้เกิดผลที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ โดยจุลินทรีย์โพรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ที่พบได้ในร่างกายในส่วนของลำไส้ ซึ่งทนต่อสภาวะเป็นกรดและเกลือแร่ ทนต่อสภาวะความเป็นกรดในกระเพาะอาหาร มีฤทธิ์ของเอนไซม์ไฮโดรเลสในการย่อยเกลือแร่ และยังสามารถในยึดเกาะกับเยื่อเมือกหรือเซลล์ผิวเยื่อของมนุษย์หรือเซลล์ไลน์ได้ (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข, 2555) และยังให้ประโยชน์แก่มนุษย์ เช่น ส่งเสริมสมดุลของระบบทางเดินอาหารและระบบขับถ่าย ลดการสร้างสารพิษ ส่งเสริมการสร้างภูมิคุ้มกัน ยับยั้งการสร้างสารก่อมะเร็ง ลดคอเลสเตอรอลในเลือด (นฤมล, 2558) โดยไม่ก่อให้เกิดโทษต่อร่างกาย ซึ่งผลิตภัณฑ์อาหารเสริมอาหารที่นิยมนำมาเติมจุลินทรีย์โพรไบโอติก ต้องได้รับอนุญาตจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา โดยจุลินทรีย์โพรไบโอติกจะต้องเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์และมีชีวิตคงเหลืออยู่ไม่น้อยกว่า 10^6 โคโลนี ต่ออาหาร 1 กรัม ตลอดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์นั้น(ประกาศกระทรวงสาธารณสุข, 2555) ซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติกที่รู้จักกันอย่างแพร่หลาย คือ *Lactobacillus* sp. และ *Bifidobacterium* sp. อย่างไรก็ตาม ปัญหาที่พบได้บ่อยในการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์ชนิดต่างๆ เช่นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารประเภทแคปซูลหรือแบบผงผสมน้ำ คือปริมาณเชื้อมีจำนวนชีวิตคงเหลือน้อยกว่าตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ซึ่งอาจเกิดจากเชื้อบาดเจ็บในระหว่างกระบวนการผลิตหรือสภาพแวดล้อมและการเปลี่ยนแปลงทางเมตาบอลิซึมระหว่างการเก็บรักษา ส่งผลต่อการอยู่รอดของโพรไบโอติก และเป็นที่น่าทึ่งที่ว่าการเติมสารปกป้องเซลล์ (Cryoprotectant หรือ protective agent) เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันการสูญเสียสภาพของโปรตีนในระหว่างการแช่แข็ง ซึ่งสารปกป้องเซลล์ทำการชะลอการเสื่อมสภาพของคุณสมบัติทางกายภาพ เคมีและการทำงานของโปรตีนอย่างมีนัยสำคัญ (Zhang *et al.*, 2023) โดยสารปกป้องเซลล์จะทำการแทรกเซลล์เข้าไปวัสดุอาหารโดยไม่ทำให้สูญเสียความสามารถในการมีชีวิตโดยไม่คาดคิดถือเป็นสิ่งสำคัญปัญหาในการสร้างผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกที่มีประสิทธิภาพ (Chen *et al.*, 2023) ซึ่งสารปกป้องเซลล์แต่ละชนิดอาจมีประสิทธิภาพในการปกป้องเซลล์แตกต่างกันออกไป แล้วว่าจะได้ผลจำเพาะต่อจุลินทรีย์แต่ละสายพันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นผู้วิจัยซึ่งมีความสนใจในการศึกษาคัดเลือกสารปกป้องเซลล์ที่มีประสิทธิภาพที่ดีที่สุดในการปกป้องเซลล์เพื่อแก้ปัญหาดังกล่าว โดยนำมาศึกษากับเชื้อ *L. paracasei* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่นำมาใช้ประโยชน์กันอย่างแพร่หลาย

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อคัดเลือกสารปกป้องเซลล์และกระบวนการทำแห้งที่เหมาะสมสำหรับเชื้อ *Lactobacillus paracasei* TISTR 2593

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. ศึกษาผลของสารปกป้องเซลล์ที่ส่งผลต่อการอยู่รอดของเชื้อในกระบวนการทำแห้ง เช่น ชนิด ความเข้มข้น อัตราส่วน เป็นต้น
2. ศึกษาผลของอุณหภูมิที่ส่งผลต่อการอยู่รอดของเชื้อในกระบวนการแช่เยือกแข็ง
3. ศึกษาผลของกระบวนการทำแห้งด้วยวิธี Freeze Dry และ Spray Dry ที่ส่งผลต่อการอยู่รอดของเชื้อ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถผลิตเชื้อโพรไบโอติกในรูปแบบผงที่มีปริมาณการรอดชีวิตได้สูง
2. สามารถศึกษาอิทธิพลของกระบวนการทำแห้งที่ส่งผลต่อเชื้อได้
3. สามารถนำผลการวิจัยที่ได้ไปเป็นข้อมูลในการศึกษาค้นคว้าและพัฒนาต่อยอดงานวิจัยได้ เช่น สารปกป้องเซลล์กลุ่มอื่น ความเข้มข้น และสภาวะการทำแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความหมายของโพรไบโอติก

ความหมายของโพรไบโอติกคือ จุลินทรีย์ที่มีชีวิตเมื่อรับประทานเข้าไปในปริมาณที่เพียงพอจะเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์ (Food *et al.*, 2006)

Lilly and Stillwell (1965) และ ฌีนาภา อางเจียม (2553) ได้ให้ความหมายของโพรไบโอติกว่าสารจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งซึ่งขับออกมาและช่วยกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่น ซึ่งเป็นการทำงานที่ตรงข้ามกับการทำงานของยาปฏิชีวนะ (antibiotic) ที่จะทำลายจุลินทรีย์เกือบทุกชนิด

เชื้อจุลินทรีย์ที่ได้จากการเตรียมจุลินทรีย์ที่มีชีวิตหรือเซลล์ที่ตายแล้ว เมื่อได้รับในปริมาณที่พอเพียง จะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์และกระตุ้นกลไกของระบบภูมิคุ้มกัน (Afric, 1989)

2.2 ประโยชน์ของโพรไบโอติก

จากงานวิจัยเกี่ยวกับโพรไบโอติก พบว่าโพรไบโอติกสามารถช่วยในบรรเทาอาการเจ็บป่วยบางอย่าง เช่น ลดอาการไซนัสอักเสบ ลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคฟันผุ ป้องกันอาการท้องเสีย และลดการติดเชื้อราในช่องคลอดได้ (พัทธ์ธีรา, ม.ป.ป) และยังมีประโยชน์ช่วยในด้านการเพิ่มภูมิคุ้มกันของร่างกาย รักษาโรคมะเร็ง ลดระดับไขมันในกระแสเลือด ลดการอักเสบ ป้องกันโรคมะเร็ง (จินตนา และคณะ, 2564) ช่วยย่อยแลคโตส บรรเทาอาการลำไส้แปรปรวน ลดความเข้มข้นของแอมโมเนียและคอเลสเตอรอลในเลือด ช่วยฟื้นฟูจุลินทรีย์ในลำไส้หลังการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะ และผลิตสารต้านอนุมูลอิสระ และยังสามารถช่วยบรรเทาอาการข้ออักเสบรูมาตอยด์ ใช้ในการรักษาโรคติดเชื้อทางเดินปัสสาวะ (Soares *et al.*, 2023) นอกจากนี้โพรไบโอติกยังสามารถใช้รักษาอาการท้องร่วงในผู้ใหญ่และเด็กได้ (Allen *et al.*, 2004)

2.3 *Lactobacillus* spp.

แลคโตบาซิลลัส (*Lactobacillus*) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ ไม่สร้างเอนไซม์คะตะเลส และเป็นจุลินทรีย์ที่ไม่ใช้ออกซิเจนในการสร้างพลังงาน สามารถทนอยู่ในสภาวะที่มีออกซิเจนได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(aerotolerant) แต่บางชนิดสามารถเจริญได้ในสภาวะไร้อากาศ (strictly fermentative) ทนต่อกรด มีรูปร่างเป็นแท่ง สร้างกรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย (König *et al.*, 2017) และสัณฐานวิทยาของเชื้อแต่ละสายพันธุ์มีความแตกต่างกันเช่น ท่อนสั้น, ท่อนยาว, plump rods, slender rods (Goldstein *et al.*, 2015) โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อเชื้อกรดแลคติกในการเจริญเติบโตคือ อยู่ในช่วง 2-53 °C และช่วงอุณหภูมิที่เชื้อส่วนใหญ่เจริญได้ดีอยู่ในช่วง 30-40 °C และค่า pH ที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 5.58 – 6.20 แต่โดยทั่วไปเจริญได้ที่ pH 5.5-6.2 ซึ่งอัตราการเจริญเติบโตจะลดลงเมื่ออยู่ในสภาพที่เป็นกลางหรือต่าง (Salminen and Wright, 1993)



รูปที่ 2.1 แสดงลักษณะทางกายภาพของเชื้อ *L. paracasei* TISTR 2593 ภายใต้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า

โดยลักษณะทางกายภาพของเชื้อ *Lactobacillus* แบ่งได้ 3 กลุ่ม ดังนี้

1. Obligate Homofermentative Lactobacilli ซึ่งเชื้อกลุ่มนี้จะพบทั้งเอนไซม์ Glucose-6-phosphate-dehydrogenase และ 6-Phosphogluconate dehydrogenase ซึ่งได้แก่กลุ่ม Thermobacteria
2. Facultative Homofermentative Lactobacilli กลุ่มนี้จะพบทั้งเอนไซม์ Dehydrogenase ทั้ง 2 ตัวเหมือนกลุ่มแรกแต่จะสลายกลูโคสได้ดีกว่าโดยจะผ่านกระบวนการของ Embden-Meyerhof-Parnas Pathway (glycolysis) ได้แก่พวก Streptobacteria
3. Obligate Homofermentative Lactobacilli กลุ่มนี้จะขาดเอนไซม์ fructose 1,6-biphosphate aldolase ซึ่งได้แก่พวก Bataacteria จัดเป็น Subgenus ของเชื้อ genus *Lactobacillus* (ณิชาภา, 2553)

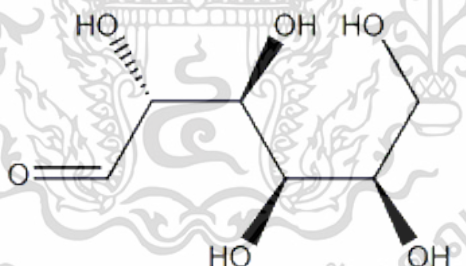
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 สารพรีไบโอติก

พรีไบโอติก (prebiotics) คือสารอาหารที่ร่างกายไม่สามารถย่อยได้ เมื่อผ่านเข้าไปถึงบริเวณลำไส้ใหญ่จะกลายเป็นอาหารของแบคทีเรีย ส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรีย ดังนั้นพรีไบโอติกจึงเป็นประโยชน์ต่อแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ (อำพรรณ, 2549) ซึ่งในทางการค้าพรีไบโอติกส่วนใหญ่ผลิตขึ้นจากการสังเคราะห์ด้วยเอนไซม์จากแบคทีเรีย เช่น เอนไซม์ทรานกลูโคซิเดส แอมิโลมอสเทส และเดกซ์แทรนซูเครส เป็นต้น ซึ่งให้ปริมาณผลผลิตที่สูงกว่า และสามารถควบคุมความยาวของสายออลิโกแซ็กคาไรด์ได้ (ประกานต์ และจารุณี, 2555) สารพรีไบโอติกสกัดได้ตามธรรมชาติ เอนไซม์และปฏิกิริยาเคมี เช่น ถั่วเหลือง มอลโทออลิโกแซ็กคาไรด์ เป็นต้น โดยในการทดลองใช้สารประเภท พรีไบโอติกจำนวน 10 ชนิด ได้แก่

2.4.1 Glucose Syrup

กลูโคสไซรัปเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยแป้ง มีลักษณะของเหลว เหนียวข้น มีรสหวานเล็กน้อย ใสไม่มีสี หรือมีสีเหลืองอ่อนถึงน้ำตาล ขึ้นอยู่กับวัตถุดิบที่ใช้และกรรมวิธีการผลิต ซึ่งอาจใช้วิธีการย่อยสลายแป้งด้วยกรดหรือเอนไซม์ หรืออาจใช้ทั้งกรดหรือเอนไซม์ร่วมกัน โดยใช้เป็นองค์ประกอบที่สำคัญในการผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น ลูกกวาด ไอศกรีม เป็นต้น (มะลิวัลย์, 2554)



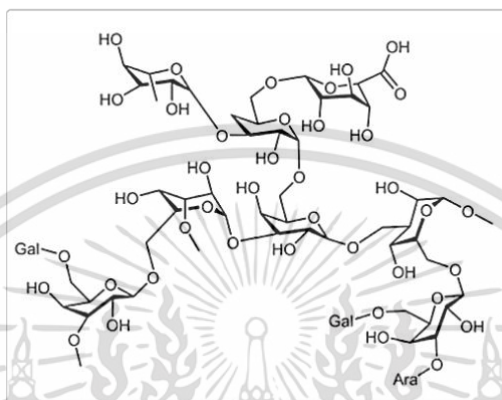
ที่มา: (Chemical book, ม.ป.ป.)

รูปที่ 2.2 โครงสร้างของ Glucose Syrup

2.4.2 Gum Arabic

กัมอาราบิกเป็นโพลีแซ็กคาไรด์เชิงซ้อนที่มีสายแบบแตกแขนง มีความเป็นกลางหรือมีกรดเล็กน้อย พบว่ามีแคลเซียม แมกนีเซียม และโพแทสเซียมผสมกับกรดโพลีแซ็กคาริติก (กรดอาราบิก) มีโครงสร้างแบบ β -D-galactopyranosyl ที่ตำแหน่ง 1,3 โดยแขนด้านข้างประกอบด้วย 1,3 β -D-galactopyranosyl 2-5 โมเลกุล เชื่อมต่อโซ่หลักด้วยพันธะด้วยตำแหน่งที่ 1,6 และด้านข้างประกอบด้วยหน่วยของ α -L-arabinofuranosyl, α -L-rhamnopyranosyl, เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

β -D-glucuronopyranosyl and 4-O-methyl- β -D-glucuronopyranosyl และโครงสร้างโมเลกุลของ gum Arabic ประกอบด้วยกาแลคโตส 39–42%, อาราบิโนส 24–27%, แรมโนส 12–16%, กรดกลูโคโรนิก 15–16%, โปรตีน 1.5–2.6%, ไนโตรเจน 0.22–0.39% และความชื้น 12.5–16.0% (Ali *et al.*, 2009)



ที่มา: (Tiamiyu *et al.*, 2023)

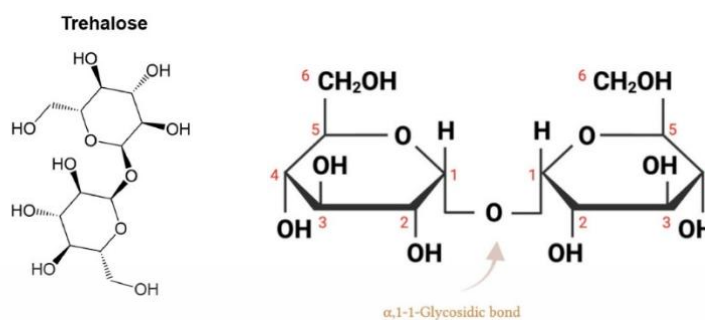
รูปที่ 2.3 โครงสร้างของ Gum Arabic

2.4.3 Fiberest Resistant Dextrin (FRD)

FRD คือผลิตภัณฑ์ชนิดใหม่ชนิดละลายน้ำได้ที่ถูกค้นพบโดยนำความร้อนและกรดมาไฮโดรไลซิสแป้งจากข้าวโพด ซึ่งช่วยเพิ่มปริมาณเส้นใยในอาหารของผลิตภัณฑ์ในกลุ่มแป้ง และสารชนิดนี้ยังมีพันธะกลูโคซิดิกที่จำเพาะต่อเดกซ์ทริน (Huang *et al.*, 2020)

2.4.4 Trehalose

ทรีฮาโลสเป็นไดแซ็กคาไรด์ที่เกิดขึ้นได้ตามธรรมชาติซึ่งพบได้ในสิ่งมีชีวิตอย่างแพร่หลายรวมทั้งแบคทีเรีย เชื้อรา แมลง พืช และสัตว์ เป็นน้ำตาลกลุ่ม non-reducing ประกอบด้วยหน่วยกลูโคไพราโนซิลสองหน่วยที่เชื่อมต่อกันผ่านพันธะ α , α -1, 1-ไกลโคซิดิก ดังรูปที่ 2.4 โดยทรีฮาโลสประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิลส่วนปลายที่ไม่รีดิวซ์ ทำให้เป็นโมเลกุลที่เสถียรและไม่เกิดปฏิกิริยาไกลเคชัน ซึ่งโครงสร้างของทรีฮาโลสยังทำให้โมเลกุลมีความทนทานสูงต่อการย่อยด้วยกรด

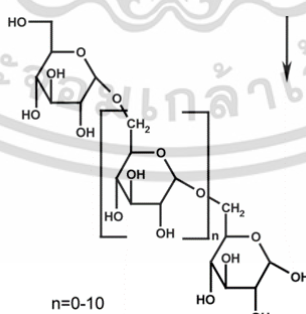


ที่มา:(Jinghan Li *et al.*, 2023), (Chen & Gibney, 2023)

รูปที่ 2.4 โครงสร้างของ Trehalose

2.4.5 Isomalto-Oligosaccharide (IMO)

ไอโซมอลโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ เป็นส่วนผสมอาหารที่มีฟังก์ชันปรับโอติคกำลังได้รับความสนใจอย่างมาก โดย IMO มีหน่วยย่อยเป็นน้ำตาลกลูโคสหน่วยที่เชื่อมโยงกันด้วยพันธะกลูโคซิดิก α -1,2, α -1,3, α -1,4 และ α -1,6 (Somdech *et al.*, 2018) ประกอบด้วยน้ำตาลไอโซมอลโตส (isomaltose) พาโนส (panose) ไอโซมอลโตไตรออส (Isomalt triose) และโอลิโกแซ็กคาร์ไรด์ที่มีลักษณะเป็นกึ่งก้าน สามารถผลิตโดยใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -amylase) พุลลูลานเนส (pullulanase) เบตาอะไมเลส (β -amylase) และทรานสกลูโคซิเดส (transglucosidase) ซึ่งเอนไซม์จะย่อยแป้งจนได้น้ำตาลมอสโตส ซึ่งเอนไซม์ที่สำคัญคือ ทรานสกลูโคซิเดสจะช่วยเร่งปฏิกิริยาทรานสกลูโคเลชัน (transglucosylation) ทำให้ได้ IMO



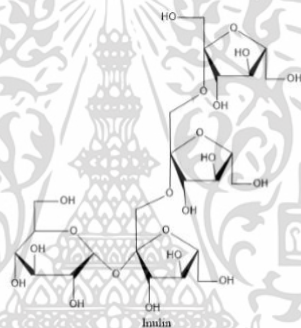
ที่มา: อนันต์ และคณะ, 2558

รูปที่ 2.5 โครงสร้างของ Isomalto-Oligosaccharide

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.6 Inulin

อินนูลิน เป็นโพลีแซ็กคาไรด์จากพืช ซึ่งพบกันอย่างแพร่หลายในเหง้าของพืชคอมโพสิต (พืชที่มีข้อเป็นกระจุก) มีหน้าที่ทางสรีรวิทยาที่หลากหลาย เช่น การลดน้ำตาลในเลือด ควบคุมจุลินทรีย์ในลำไส้และป้องกันมะเร็ง ดังนั้นจึงมักใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเป็นพรีไบโอติก สารทดแทนน้ำตาลและไขมัน สารเพิ่มความข้น (Jinpeng Li *et al.*, 2023) โดยอินนูลินซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตสะสมสำหรับพืช ประกอบด้วยไดแซ็กคาไรด์ (กลูโคสและฟรุกโตส) โดยมีหน่วยฟรุกโตสเพิ่มเติมติดอยู่ (ระดับของการเกิดพอลิเมอร์เซชันอาจมีตั้งแต่ 2 ถึงมากกว่า 60 หน่วยฟรุกโตส) เมื่อเกิดไซส์สัน (ระดับการเกิดพอลิเมอร์เซชันต่ำกว่าประมาณสิบหน่วยฟรุกโตส) พวกมันจะถูกเรียกว่า FOS (Tarone *et al.*, 2021)

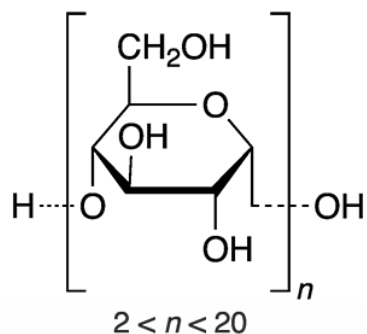


ที่มา: (วสุวัชร, 2566)

รูปที่ 2.6 โครงสร้างของ Inulin

2.4.7 Maltodextrin

มอลโตเด็กซ์ทรินหรือที่เรียกว่าเด็กซ์ทรินที่ละลายน้ำได้หรือเอนไซม์เด็กซ์ทรินเป็นแป้งไฮโดรไลซ์ชนิดหนึ่งโดยมีค่าเทียบเท่าค่าสมมูลเด็กซ์โทรส (DE) น้อยกว่า 20 โดยมอลโตเด็กซ์ทรินประกอบด้วยโอลิโกแซ็กคาไรด์และโพลีแซ็กคาไรด์ที่ประกอบด้วยหน่วยกลูโคสซึ่งเชื่อมโยงกันเป็นหลักด้วยพันธะไกลโคซิดิก α -1,4 (You *et al.*, 2023) ซึ่งใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหารเป็นสารเพิ่มความคงตัว ตัวอย่างเช่น ในอิมัลชันอาหาร หรือเป็นตัวช่วยในการทำให้แห้งแบบพ่นฝอย (Zhao *et al.*, 2021)



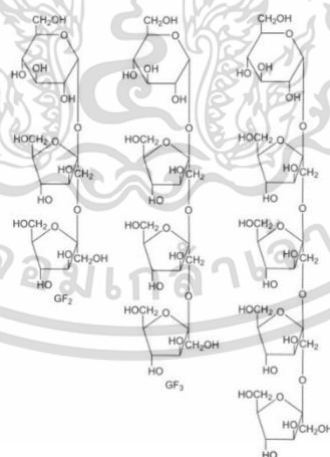
$$2 < n < 20$$

ที่มา: (tcs-mart, n.d.)

รูปที่ 2.7 โครงสร้างของ maltodextrin

2.4.8 Fructo-Oligosaccharide (FOS)

ฟรุคโต-โอลิโกแซ็กคาไรด์ (FOS) โดยพื้นฐานแล้วเป็นโอลิโกแซ็กคาไรด์ของฟรุคโตสที่มีปริมาณกลูโคสเดี่ยวหรือจับกับซูโครส และมีความหวานมากกว่าซูโครส 0.4–0.6 เท่า (W. Li *et al.*, 2023) โดย FOS เป็นโอลิโกแซ็กคาไรด์ที่ได้มาจากพืช ของโมโนเมอร์ฟรุคโตสที่เชื่อมโยงกับกากน้ำตาลกลูโคสส่วนปลายผ่านพันธะไกลโคซิดิก β (2-1) เพกตินเป็นโพลีแซ็กคาไรด์ผนังเซลล์เชิงซ้อนที่ประกอบด้วยแกนหลักของกรดกาแลคโตโรนิกโดยมีสายโซ่ด้านข้างประกอบด้วยน้ำตาลที่เป็นกลาง (อาราบีโนส กาแลคโตส ไฮโลส และมานโนส) เชื่อมต่อกันผ่านพันธะ α (1-4) (Zhang *et al.*, 2022)



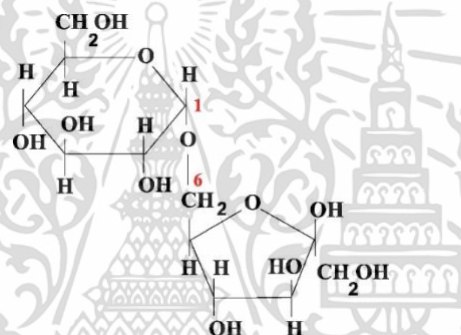
ที่มา: (Deepa, n.d.)

รูปที่ 2.8 โครงสร้างของ Fructo-Oligosaccharide

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.9 Isomaltulose (IM)

ไอโซมอลทูลอส (IM) เป็นไดแซ็กคาไรด์ที่มีศักยภาพในการทดแทนซูโครส เนื่องจากมีคุณสมบัติที่เป็นประโยชน์ เช่น มีความคงตัวสูง และมีศักยภาพในการเป็นพรีไบโอติก IM ได้มาจากซูโครสของเอนไซม์ โดยใช้กลูโคซิลทรานสเฟอเรสซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ผลิตโดยจุลินทรีย์หลายชนิด เช่น *Protaminobacter rubrum*, *Serratia plymuthica*, *Klebsiella* sp. และ *Erwinia* sp. (de Souza, Santos, et al., 2022) และยังพบได้ในกลุ่มพืช เช่น อ้อย หัวบีท และน้ำผึ้ง และ IM ประกอบด้วย D-Glucose และ D-fructose ที่เชื่อมต่อกันด้วยการเชื่อมโยง α -1,6-glycosidic เป็นโครงสร้างที่มีเสถียรภาพมากกว่าซูโครสในสภาวะ pH และอุณหภูมิที่ไม่เอื้ออำนวย (de Souza, Almeida, et al., 2022)



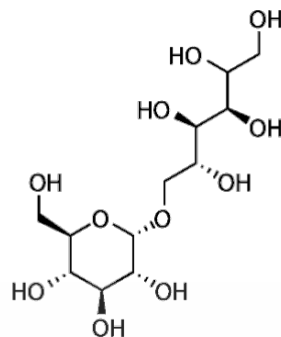
ที่มา: (de Souza, Almeida, et al., 2022)

รูปที่ 2.9 โครงสร้างของ Isomaltulose

2.4.10 Isomalt

ไอโซมอลต์เป็นแอลกอฮอล์น้ำตาลผลึกที่ละลายน้ำได้ และประกอบด้วยไดแซ็กคาไรด์ 2 ชนิด ได้แก่ 1-O- α -D-glucopyranosyl-D-mannitol (GPM) ไตไฮเดรต และ 6-O- α -D-glucopyranosyl-D-sorbitol (GPS) (Kállai-Szabó et al., 2014) ซึ่งสมบัติที่สำคัญของไอโซมอลต์คือความสามารถในการไม่ดูดซับน้ำจนกว่าแอกติวิตีของน้ำจะถึงค่าที่สูงกว่า 0.85 ดังนั้นจึงถูกนำมาใช้ในลูกอมแข็งและสารเคลือบเนื่องจากช่วยยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ที่จัดเก็บ เมื่อไอโซมอลต์ละลายในน้ำ ผลึกต้องการพลังงานน้อยมากในการละลาย (-39.36 J/g) และจากมุมมองทางเคมี ไอโซมอลต์ไม่มีกลุ่มสุดท้ายรีดิวซ์ และยังคงความเสถียรภายใต้การสัมผัส pH เป็นเวลานาน ในช่วง 2–10 (Tavera-Quiroz et al., 2015)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ที่มา: (Selleck Chemicals LLC, n.d.)

รูปที่ 2.10 โครงสร้างของ Isomalt

2.5 Freeze dry

หมายถึง การทำให้แห้งด้วยการแช่เยือกแข็ง โดยทำให้น้ำที่อยู่ในเซลล์ซึ่งเป็นของเหลวเปลี่ยนสถานะเป็นของแข็งที่เป็นผลึกน้ำแข็งเล็กๆ ก่อน จากนั้นจะทำการลดความดันสภาพแวดล้อมให้ต่ำกว่าบรรยากาศปกติ เพื่อให้ผลึกน้ำแข็งสามารถระเหิด (Sublimation) กลายเป็นไอ โดยภายใต้อุณหภูมิเท่ากับหรือต่ำกว่า 0°C จะทำให้น้ำแข็งเกิดการระเหิดที่ความดัน 4.7 มิลลิเมตรปรอทหรือต่ำกว่า (สุกิจ, ม.ป.ป.)

ขั้นตอนการทำให้แห้งแบบการแช่เยือกแข็งประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ดังนี้

1. การแช่เยือกแข็ง (Freezing) เป็นกระบวนการลดอุณหภูมิของตัวอย่างให้ต่ำกว่าจุดเยือกแข็งอย่างรวดเร็ว เพื่อทำให้น้ำที่อยู่ในตัวอย่างเกิดเป็นผลึกน้ำแข็งที่มีขนาดเล็กและสม่ำเสมอ กระจายตัวทั้งภายในและภายนอกเซลล์ แต่ถ้าใช้ระยะเวลาในการแช่เยือกแข็งนาน ผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นจะมีขนาดใหญ่และเกิดบริเวณภายนอกเซลล์ ซึ่งจะไปดันให้ผนังเซลล์เกิดความเสียหาย โดยการแช่เยือกแข็งนิยมใช้สารให้ความเย็น ได้แก่ ไนโตรเจนเหลว (-196°C) หรือคาร์บอนไดออกไซด์เหลว (-78.5°C)
2. การทำแห้งขั้นปฐมภูมิ (Primary Drying) เป็นกระบวนการการลดปริมาณน้ำในตัวอย่างด้วยการ ระเหิดผลึกน้ำแข็งในเซลล์ให้กลายเป็นไอน้ำด้วยการลดความดันบรรยากาศโดยรอบให้ต่ำกว่าจุดรวมสาม ในขั้นตอนนี้ประมาณ 95% ของน้ำในตัวอย่างจะถูกระเหิด
3. การทำแห้งขั้นทุติยภูมิ (Secondary Drying) เป็นการเพิ่มอุณหภูมิในระบบให้สูงขึ้นอย่างช้าๆ เพื่อทำลายปฏิกิริยาทางเคมี-ฟิสิกส์ใดๆ ที่เกิดขึ้นระหว่างโมเลกุลของน้ำและตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

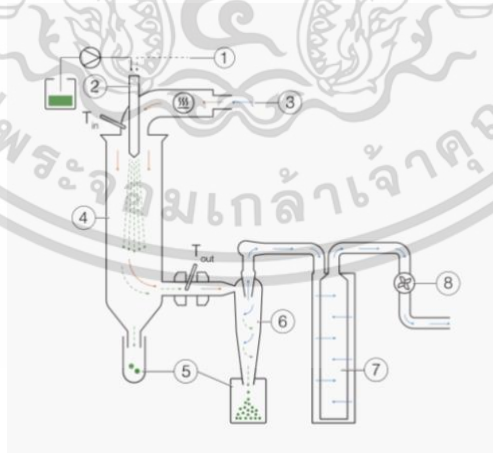
และเพื่อถึงความชื้นที่ตกค้างอยู่ออกจากตัวอย่างภายหลังการทำแห้งขั้นปฐมภูมิ ซึ่งเมื่อสิ้นสุดการทำงานปริมาณน้ำที่เหลืออยู่ในตัวอย่างจะต่ำมากประมาณ 1- 4% (ดลฤดี, 2564)

2.6 Spray dry

หมายถึง การทำแห้งแบบพ่นฝอยทำได้โดยการละลาย ทำให้เป็นอิมัลชัน หรือกระจายสารหลักในตัวทำละลายหรือในสารละลายของวัสดุพาหะ จากนั้นวัสดุจะถูกทำให้กลายเป็นอนุภาคละเอียด แล้วพ่นไปยังห้องอบแห้งซึ่งจะมีไอร้อนจากแก๊สไล่ความชื้น ช่วยให้สารทำละลายระเหยจนได้เป็นอนุภาคของแข็งที่แห้ง จากนั้นจึงนำไปแยกจากไอแก๊สแล้วรวบรวมโดยใช้แรงหมุนเหวี่ยงจากไซโคลน (BUCHI (Thailand), n.d.)

ส่วนประกอบของ Spray Dry (รูปที่ 2.11)

- (1)+(2) การก่อดำของหยดสาร: หัวพ่นของเหลวสองทางสำหรับ S-300
- (3) การให้ความร้อน: ให้ความร้อนกับอากาศเข้าจนถึงอุณหภูมิที่ต้องการ (สูงสุด 250 °C)
- (4) ภาชนะทำแห้ง: แลกเปลี่ยนความร้อนแบบเหนียวกันระหว่างแก๊สไล่ความชื้นกับหยดสารตัวอย่าง
- (5) การเก็บอนุภาคสามารถทำได้สองที่
- (6) การเก็บอนุภาค: เทคโนโลยีไซโคลน
- (7) กรองขากออก: การรวบรวมอนุภาคที่ละเอียดที่สุดเพื่อปกป้องผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม
- (8) ไล่ความชื้น: ผ่านทางเครื่องช่วยหายใจ

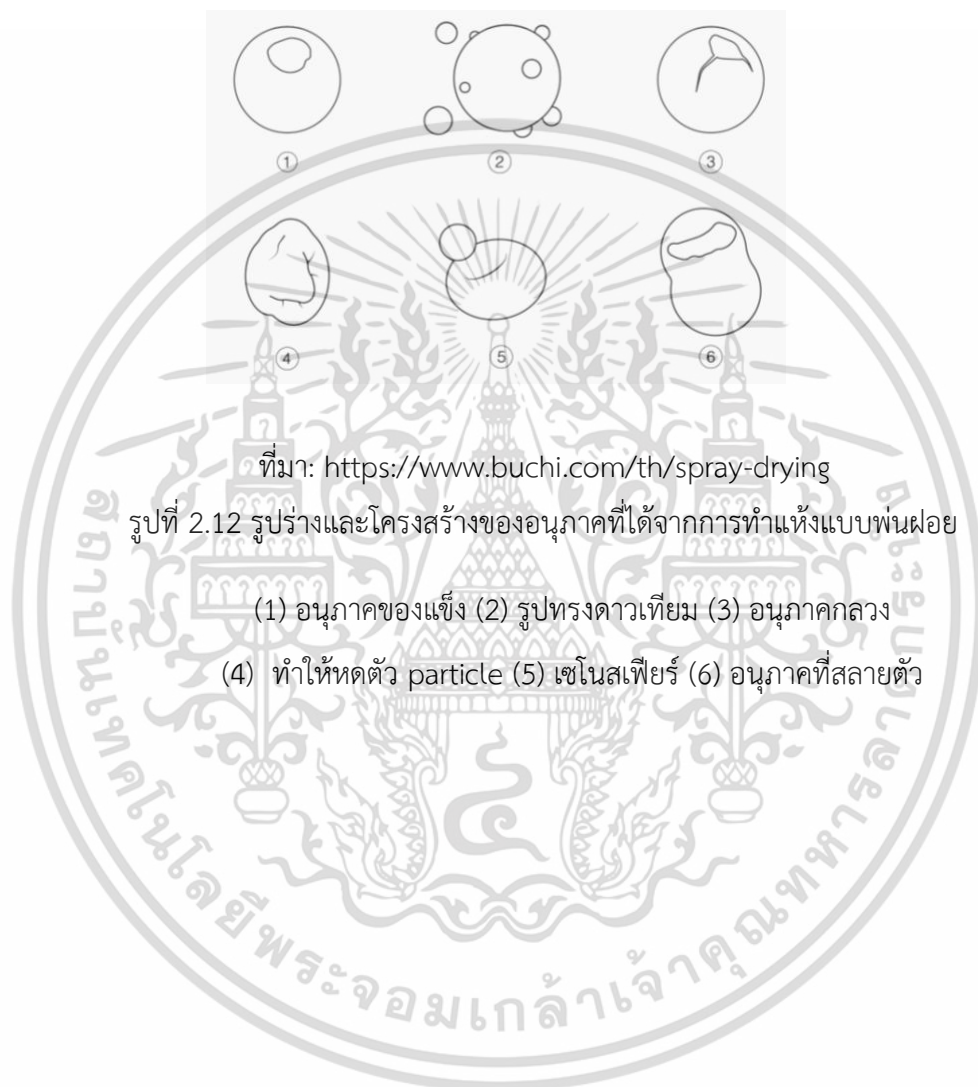


ที่มา: <https://www.buchi.com/th/spray-drying>

รูปที่ 2.11 หลักการทำงานของเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยรูปร่างและโครงสร้างอนุภาคหลายประเภทสามารถผลิตได้จากกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย ลักษณะพื้นฐานที่ได้จะมีทั้งแบบหนาแน่น กลวง มีรูพรุน หรือมีโครงสร้างท่อหุ้มเป็นรูปทรงกลม มีรอยหยัก ยุบหดตัว หรือเซนโซเฟียร์ (คล้ายโดนัท) ตามกฎทั่วไปแล้ว การทำให้แห้งช้าจะทำให้อนุภาคมีขนาดเล็กลง ในขณะที่การอบแห้งอย่างรวดเร็วทำให้เกิดอนุภาคกลวง (BUCHI (Thailand), n.d.)



ที่มา: <https://www.buchi.com/th/spray-drying>

รูปที่ 2.12 รูปร่างและโครงสร้างของอนุภาคที่ได้จากการทำแห้งแบบพ่นฝอย

- (1) อนุภาคของแข็ง (2) รูปทรงดาวเทียม (3) อนุภาคกลวง
(4) ทำให้หดตัว particle (5) เซนโซเฟียร์ (6) อนุภาคที่สลายตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เครื่องมือ

- 3.1.1 กล้องจุลทรรศน์ ยี่ห้อ Olympus รุ่น BX53 ประเทศญี่ปุ่น
- 3.1.2 เครื่องกรองน้ำ ยี่ห้อ Merck Millipores รุ่น TANKPE060 ประเทศฝรั่งเศส
- 3.1.3 เครื่องชั่งสแตนเลส 2 แขน (สำหรับ Balance)
- 3.1.4 เครื่องชั่งสาร 3 ตำแหน่ง ยี่ห้อ A&D รุ่น FX-500i ประเทศญี่ปุ่น
- 3.1.5 เครื่องชั่งสาร 3 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น MS603TS/00 ประเทศ
สวิตเซอร์แลนด์
- 3.1.6 เครื่องซีล ยี่ห้อ Hualian รุ่น HVC-260T/1A ประเทศไทย
- 3.1.7 เครื่องปั่นเหวี่ยงตะกอนเซลล์ ยี่ห้อ Beckman รุ่น J-26S XPI ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 3.1.8 เครื่องวัด pH meter ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น S220 ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
- 3.1.9 เครื่อง Fermenter 5 ลิตร Twin ยี่ห้อ Sartorius stedim รุ่น 1310-ADC-5188-5S
ประเทศเยอรมนี
- 3.1.10 เครื่อง Freeze Dry ยี่ห้อ Christ รุ่น Epsilon 2-100 LSC plus ประเทศเยอรมนี
- 3.1.11 เครื่อง Spray Day ยี่ห้อ Buchi รุ่น B-290 ประเทศไทย
- 3.1.12 ตะเกียงบุนเสน ยี่ห้อ Integra รุ่น Fireboy eco ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
- 3.1.13 ตู้แช่แข็งควบคุมอุณหภูมิที่ต่ำ -86 °C
- 3.1.14 ตู้แช่ตัวอย่าง ยี่ห้อ Z-COOL รุ่น ZCO-2DQ30 ประเทศไทย
- 3.1.15 ตู้ดูดควันไอสารเคมี ยี่ห้อ Flex lab รุ่น SH series ประเทศไทย
- 3.1.16 ตู้อบลมร้อน ยี่ห้อ memmert รุ่น UFE700 ประเทศเยอรมนี
- 3.1.17 หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) ยี่ห้อ Hirayama รุ่น HVE-50 ประเทศญี่ปุ่น
- 3.1.18 Biohazard safety cabinet class II ยี่ห้อ Scanlaf รุ่น Mars 1500 ประเทศเดนมาร์ค
- 3.1.19 Incubator ยี่ห้อ memmert รุ่น IN-260 ประเทศเยอรมนี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.1.20 Micropipette ขนาด 20, 200, 1000 ไมโครลิตร และ 5 มิลลิลิตร ยี่ห้อ Socorex รุ่น ACURA 825 ประเทศสวีเดน
- 3.1.21 Multichannel micropipettes ขนาด 20 และ 200 ไมโครลิตร ยี่ห้อ Socorex รุ่น ACURA 855 ประเทศสวีเดน
- 3.1.22 Refractometer ยี่ห้อ ATAGO รุ่น MASTER-50H ประเทศญี่ปุ่น
- 3.1.23 Vortex mixer ยี่ห้อ Scientific Industries รุ่น G-560E ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 3.1.24 Water bath ยี่ห้อ memmert รุ่น WNB29 ประเทศเยอรมนี

3.2 อุปกรณ์

- 3.2.1 กระจกสไลด์
- 3.2.2 กระจกบอแก้ว
- 3.2.3 อลูมิเนียมฟอยล์
- 3.2.4 ขวดปั่นเหวี่ยงเชื้อ ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 3.2.5 ขวด Duran ขนาด 100 และ 1000 มิลลิลิตร
- 3.2.6 จานอาหารเลี้ยงเชื้อ
- 3.2.7 ซ้อนตักสาร
- 3.2.8 แท่งแก้วคนสาร
- 3.2.9 ปีกเกอร์
- 3.2.10 หลอด vial
- 3.2.11 หลอด falcon ขนาด 50 มิลลิลิตร
- 3.2.12 Anaerobic jar ขนาด 2.5 และ 3.5 ลิตร
- 3.2.13 Gas pack ขนาด 2.5 และ 3.5 ลิตร
- 3.2.14 Microcentrifuge tube ขนาด 1.5 และ 2 มิลลิลิตร
- 3.2.15 Microtube rack ขนาด 60 ช่อง
- 3.2.16 Tip ขนาด 100, 1000 ไมโครลิตร และ 10 มิลลิลิตร
- 3.2.17 Test tube stand (ที่วางหลอดทดลอง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

- 3.3.1 Agar Technical Solidifying Agent ยี่ห้อ Difco ประเทศฝรั่งเศส
- 3.3.2 Ethanol 95% (C₆H₁₂O)
- 3.3.3 Crystal violet (C₂₅H₃₀ClN₃) ยี่ห้อ Merck ประเทศเยอรมนี
- 3.3.4 Di-Potassium hydrogen phosphate (K₂HPO₄)
- 3.3.5 Di-Ammonium hydrogen citrate (C₆H₅O₇(NH₄)₂H) ยี่ห้อ PanReac AppliChem ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 3.3.6 Fiberest resistant dextrin HF (C₁₈H₃₂O₁₆) ยี่ห้อ SAMYANG ประเทศเกาหลีใต้
- 3.3.7 Fructo-oligosaccharide
- 3.3.8 Glucose (C₆H₁₂O₆)
- 3.3.9 Glucose Syrup (C₆H₁₂O₆) ยี่ห้อปลากราฟ ประเทศไทย
- 3.3.10 Gum Arabic
- 3.3.11 Inulin (C₁₇H₃₀O₁₆) ยี่ห้อ Fuji FF ประเทศไทย
- 3.3.12 Iodine (I₃K) ยี่ห้อ Merck ประเทศเยอรมนี
- 3.3.13 Isomalt (C₁₂H₂₄O₁₁)
- 3.3.14 Isomalto-oligosaccharide (C₁₂H₂₂O₁₁)
- 3.3.15 Isomaltulose (C₁₂H₂₂O₁₁) ยี่ห้อ Palatyne ประเทศไทย
- 3.3.16 L-cysteine Base (C₃H₇NO₂S) ประเทศจีน
- 3.3.17 L-cysteine Hydrochloride Monohydrate (C₃H₇NO₂S) ยี่ห้อ TCI ประเทศญี่ปุ่น
- 3.3.18 Magnesium sulfate hydrated (MgSO₄ · 7H₂O) ยี่ห้อ UNIVAR ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 3.3.19 Maltodextrin (C₁₂H₂₄O₁₁) ยี่ห้อ UNIFY ประเทศจีน
- 3.3.20 Manganese (II) sulfate monohydrate, reagent grade, ACS (MnSO₄ · H₂O) ยี่ห้อ Scharlau ประเทศสเปน
- 3.3.21 MRS broth ยี่ห้อ Merck ประเทศเยอรมนี
- 3.3.22 Peptone from casein ยี่ห้อ CHEMRICH ประเทศไต้หวัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.3.23 Phosphoric acid 85% (H_3PO_4) ยี่ห้อ RCI Lab scan ประเทศไทย
- 3.3.24 Safranin ($C_{20}H_{19}N_4Cl$) ยี่ห้อ Merck ประเทศเยอรมนี
- 3.3.25 Sodium acetate (CH_3COONa)
- 3.3.26 Sodium chloride 0.85% ($NaCl$) ยี่ห้อ KEMAUS ประเทศออสเตรเลีย
- 3.3.27 Trehalose ($C_{12}H_{22}O_{11}$) ยี่ห้อ Unify ประเทศไทย.
- 3.3.28 Tween-80 ($C_{64}H_{124}O_{26}$) ยี่ห้อ เคมีคอสเมติกส์ประเทศไทย
- 3.3.29 Yeast extract ยี่ห้อ AMP ประเทศไทย

3.4 เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ

Lactobacillus paracasei TISTR 2593

3.5 วิธีการทดลอง

3.5.1 คัดเลือกชนิดสารปกป้องเซลล์ที่เหมาะสมในกระบวนการทำแห้งสำหรับเชื้อ *Lactobacillus paracasei* TISTR 2593

เลี้ยงเชื้อ *L. paracasei* TISTR 2593 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่อุณหภูมิ 37 °C ค่า pH 5.7 ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมง นำมาปั่นเหวี่ยงและล้างตะกอนเซลล์จำนวน 2 รอบ ด้วย 0.85% (w/v) NaCl ที่ความเร็วรอบ 14,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที และทำการแบ่งตัวอย่างออกเป็น 10 ชุด เพื่อนำมาผสมกับสารปกป้องทั้ง 10 ชนิด ได้แก่ Glucose Syrup, Gum Arabic, FRD, Trehalose, IMO, Inulin, Maltodextrin, FOS, IM และ Isomalt ที่ความเข้มข้น 15% (w/w) ในอัตราส่วนน้ำหนักเชื้อเปียกต่อน้ำหนักสารปกป้องเซลล์ (1:1) และทำการดึงเก็บตัวอย่างเพื่อนับปริมาณเชื้อที่มีชีวิตก่อนทำแห้ง และนำตัวอย่างหลังผสมที่ได้ทั้งหมดมาทำแห้งด้วยกระบวนการแช่เยือกแข็ง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นแบ่งตัวอย่างหลังทำแห้งบางส่วนมานับปริมาณเชื้อหลังทำแห้ง และทำการแบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 ชุด เพื่อศึกษาอัตราการอยู่รอดในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4° C และ 25° C ที่ระยะเวลา 0, 15, 30 และ 45 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.2 ศึกษาความเข้มข้นของสารปกป้องเซลล์ที่เหมาะสมในกระบวนการทำแห้งสำหรับเชื้อ *Lactobacillus paracasei* TISTR 2593

เลี้ยงเชื้อ *L. paracasei* TISTR 2593 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่อุณหภูมิ 37 °C ค่า pH 5.7 ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงและล้างตะกอนเซลล์จำนวน 2 รอบด้วย 0.85% (w/v) NaCl ที่ความเร็วรอบ 14,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที และทำการแบ่งตัวอย่างออกเป็น 10 ชุด สำหรับผสมสารปกป้องเซลล์ที่มีความเข้มข้นต่างๆ โดยคัดเลือกสารปกป้องเซลล์ที่มีประสิทธิภาพในการปกป้องเซลล์จากกระบวนการทำแห้งได้ดีที่สุด 2 ชนิด จากการทดลองที่ 3.5.1 นำมาผสมที่ความเข้มข้น 5, 10, 15, 20 และ 25% (w/w) ในอัตราส่วนน้ำหนักเชื้อเปียกต่อน้ำหนักสารปกป้องเซลล์ (1:1) และทำการดิงเก็บตัวอย่างเพื่อนับปริมาณเชื้อที่มีชีวิตก่อนทำแห้ง และนำตัวอย่างหลังผสมที่ได้ทั้งหมดมาทำแห้งด้วยกระบวนการแช่เยือกแข็ง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นแบ่งตัวอย่างหลังทำแห้งบางส่วนมานับปริมาณเชื้อหลังทำแห้ง และทำการแบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 ชุด เพื่อศึกษาอัตราการอยู่รอดในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C และ 25 °C ที่ระยะเวลา 0, 15, 30 และ 45 วัน

3.5.3 ศึกษาอัตราส่วนของเชื้อต่อสารปกป้องเซลล์ที่เหมาะสมในกระบวนการทำแห้งสำหรับเชื้อ *Lactobacillus paracasei* TISTR 2593

เลี้ยงเชื้อ *L. paracasei* TISTR 2593 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่อุณหภูมิ 37 °C ค่า pH 5.7 ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงและล้างตะกอนเซลล์จำนวน 2 รอบด้วย 0.85% (w/v) NaCl ที่ความเร็วรอบ 14,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที และทำการแบ่งตัวอย่างออกเป็น 6 ชุด สำหรับผสมสารปกป้องเซลล์ที่อัตราส่วนต่างๆ โดยคัดเลือกความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพในการปกป้องเซลล์จากกระบวนการทำแห้งได้ดีที่สุด จากการทดลองที่ 3.5.2 นำมาผสมในอัตราส่วนน้ำหนักเชื้อเปียกต่อน้ำหนักสารปกป้องเซลล์ คือ 1.0:0.5, 1.0:1.0 และ 1.0:2.0 และทำการดิงเก็บตัวอย่างเพื่อนับปริมาณเชื้อที่มีชีวิตก่อนทำแห้ง และนำตัวอย่างหลังผสมที่ได้ทั้งหมดมาทำแห้งด้วยกระบวนการแช่เยือกแข็ง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นแบ่งตัวอย่างหลังทำแห้งบางส่วนมานับปริมาณเชื้อหลังทำแห้ง และทำการแบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 ชุด เพื่อศึกษาอัตราการอยู่รอดในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C และ 25 °C ที่ระยะเวลา 0, 15, 30 และ 45 วัน

3.5.4 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในกระบวนการแช่เยือกแข็งสำหรับเชื้อ *Lactobacillus paracasei* TISTR 2593

เลี้ยงเชื้อ *L. paracasei* TISTR 2593 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่อุณหภูมิ 37 °C ค่า pH 5.7 ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงและล้างตะกอนเซลล์จำนวน 2 รอบด้วย 0.85% (w/v) NaCl ที่ความเร็วรอบ 14,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที และทำการแบ่งตัวอย่างออกเป็น 6 ชุด สำหรับผสมสารปกป้องเซลล์ที่อุณหภูมิต่างๆ โดยคัดเลือกอัตราส่วนที่มีประสิทธิภาพในการปกป้องเซลล์จากกระบวนการทำแห้งได้ดีที่สุด จากการทดลองที่ 3.5.3 โดยทำการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20, -40 และ -80 °C จากนั้นทำการดึงเก็บตัวอย่างเพื่อนับปริมาณเชื้อที่มีชีวิตก่อนทำแห้ง และนำตัวอย่างหลังผสมที่ได้ทั้งหมดมาทำแห้งด้วยกระบวนการแช่เยือกแข็ง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นแบ่งตัวอย่างหลังทำแห้งบางส่วนมานับปริมาณเชื้อหลังทำแห้ง และทำการแบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 ชุด เพื่อศึกษาอัตราการอยู่รอดในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C และ 25 °C ที่ระยะเวลา 0, 15, 30 และ 45 วัน

3.5.5 ศึกษาวิธีการทำแห้งที่เหมาะสมสำหรับเชื้อ *Lactobacillus paracasei* TISTR 2593

เลี้ยงเชื้อ *L. paracasei* TISTR 2593 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่อุณหภูมิ 37 °C ค่า pH 5.7 ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมง จากนั้นนำมาปั่นเหวี่ยงและล้างตะกอนเซลล์จำนวน 2 รอบด้วย 0.85% (w/v) NaCl ที่ความเร็วรอบ 14,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที และทำการแบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 ชุด สำหรับผสมสารปกป้องเซลล์ โดยคัดเลือกอุณหภูมิที่มีประสิทธิภาพในการปกป้องเซลล์จากกระบวนการทำแห้งได้ดีที่สุด จากการทดลองที่ 3.5.4 โดยชุดที่ 1 จะทำการทดสอบการศึกษาวิธีการแช่เยือกแข็ง แบ่งออกเป็น 3 ชุดย่อย โดยชุดที่ 1.1 จะศึกษาที่อุณหภูมิ 37 °C (อ้างอิง ICPIM) ชุดที่ 1.2 ที่อุณหภูมิ 30 °C และชุดที่ 1.3 ที่อุณหภูมิ 15 °C ที่ Vacuum 0.001 mbar เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และในแต่ละชุดจะทำการดึงเก็บตัวอย่างก่อนเพื่อนับปริมาณเชื้อที่มีชีวิตก่อนทำแห้ง จากนั้นแบ่งตัวอย่างหลังทำแห้งบางส่วนมานับปริมาณเชื้อหลังทำแห้ง

ชุดที่ 2 ทำการทดสอบการศึกษาวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย แบ่งออกเป็น 2 ชุดย่อย โดยชุดที่ 2.1 จะศึกษาค่า Inlet 170 °C flow rate 20-25 และ Outlet 80-85 °C (Teapaisan *et al.*, 2012, Gardiner *et al.*, 2000, Luangthongkam *et al.*, 2021) และชุดที่ 2.1 ที่ค่า Inlet 140 °C flow rate 25 และ Outlet 74-76 °C (Tao *et al.*, 2019) จากนั้นแบ่งตัวอย่างหลังทำแห้งบางส่วนมานับปริมาณ

เชื้อหลังทำแห้ง และทั้ง 2 สภาวะจะทำการแบ่งตัวอย่างออกเป็น 2 ชุด เพื่อศึกษาอัตราการอยู่รอดในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C และ 25 °C ที่ระยะเวลา 0, 15, 30 และ 45 วัน

3.5.6 ศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาการแช่แข็งที่มีผลต่อการอยู่รอดของเชื้อ *Lactobacillus paracasei* TISTR 2593

หลังจากการทดลองที่ 3.5.4 ทำการผสมสารปกป้องเซลล์ จะแบ่งตัวอย่างออกมาเป็น 3 ชุด ชุดละ 5 ซ้ำ และนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20, -40 และ -80 °C ตรวจสอบอัตราการอยู่รอดทุกๆ 5 วัน เป็นเวลา 20 วัน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 การคัดเลือกชนิดสารปกป้องเซลล์ที่เหมาะสมในกระบวนการทำแห้งสำหรับเชื้อ

Lactobacillus paracasei TISTR 2593

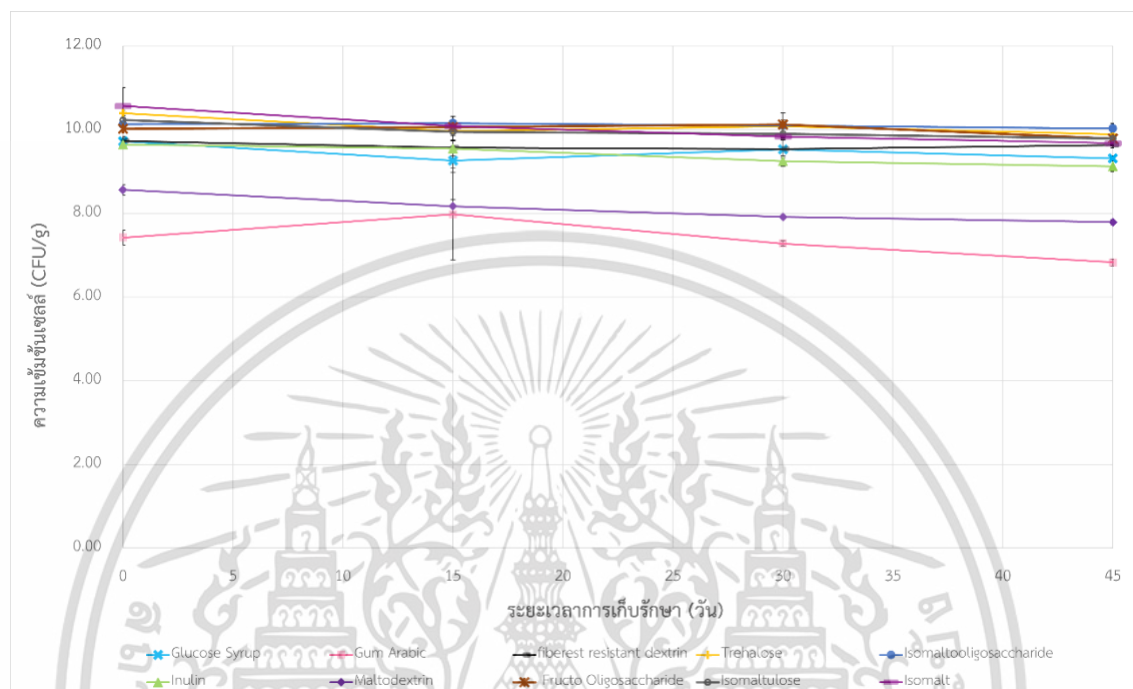
จากการทดลองการศึกษาชนิดของสารปกป้องเซลล์สำหรับเชื้อ *L. paracasei* TISTR 2593 ทั้งหมด 10 ชนิด พบว่าสารชนิด Trehalose มีอัตราการอยู่รอดของเชื้อสูงเท่ากับ 34.38% รองลงมาคือสารชนิด IMO, FOS, Isomaltulose และ Isomalt มีอัตราการอยู่รอดของเชื้อเท่ากับ 14.71%, 14.24%, 16.08% และ 14.58 % ดังตารางที่ 4.1 โดยสารแต่ละชนิดหลังทำให้เป็นผง มีลักษณะเป็นผงละเอียด ไม่มีการจับตัวเป็นก้อน ยกเว้นสาร 2 ชนิดนี้คือ Isomaltulose และ Isomalt ที่ยังพบปัญหา เนื่องจากสารทั้ง 2 ชนิด มีลักษณะจับตัวเป็นก้อนและมีการขึ้น อาจเกิดจากที่สารมีการดูดความชื้นกลับ เมื่อทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งทำให้ยากต่อการนำไปใช้งาน และส่งผลต่อการผลิตผลิตภัณฑ์ในอนาคต แตกต่างจากสารชนิดอื่นที่ยังมีลักษณะเป็นผง ไม่มีการจับตัวกันเป็นก้อน ดังรูปที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงปริมาณเชื้อ *L. paracasei* TISTR 2593 ก่อน-หลังทำแห้ง และอัตราการอยู่รอดของเชื้อหลังการทำแห้ง

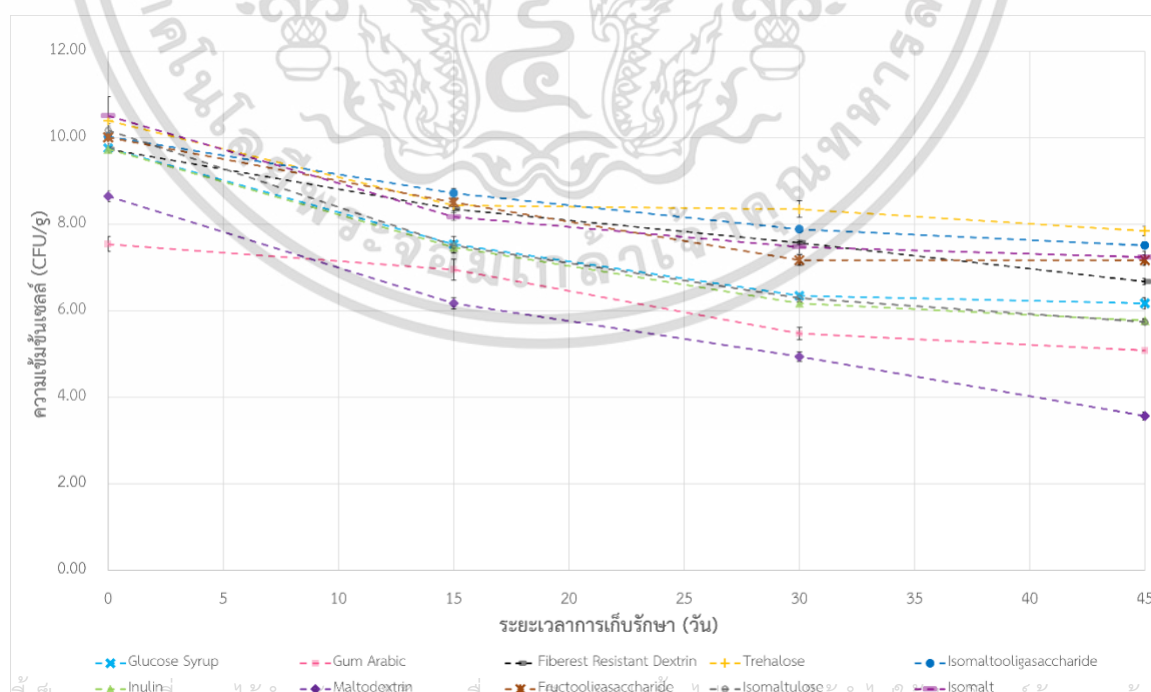
สารปกป้องเซลล์	ปริมาณเชื้อก่อนทำแห้ง (CFU/g)	ปริมาณเชื้อหลังทำแห้ง (CFU/g)	อัตราการอยู่รอด (%)
Glucose Syrup	6.79×10^{10}	5.42×10^9	7.98 ^c
Gum Arabic	1.24×10^{11}	2.75×10^7	0.02 ^d
FRD	6.49×10^{10}	5.42×10^9	8.35 ^c
Trehalose	7.27×10^{10}	2.50×10^{10}	34.38 ^a
IMO	9.23×10^{10}	1.36×10^{10}	14.71 ^b
Inulin	9.16×10^{10}	4.50×10^9	4.91 ^{cd}
Maltodextrin	1.65×10^{11}	3.75×10^8	0.23 ^d
FOS	7.43×10^{10}	1.06×10^{10}	14.24 ^b
Isomaltulose	1.09×10^{11}	1.75×10^{10}	16.08 ^b

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจาก Trehalose เป็นน้ำตาลที่เสถียรที่สุดและยังไม่เกิดปฏิกิริยากับโปรตีนและสารชีวโมเลกุลที่เกิดปฏิกิริยาอื่นๆ (Giulio *et al.*, 2005)



รูปที่ 4.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเซลล์ในสารปกป้องเซลล์ชนิดต่างๆ (CFU/g) กับระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน) ที่อุณหภูมิ 4 °C



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับบริการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้า ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเซลล์ในสารปกป้องเซลล์ชนิดต่างๆ (CFU/g) กับระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน) ที่อุณหภูมิ 25 °C

4.2 การศึกษาความเข้มข้นของสารปกป้องเซลล์ที่เหมาะสมในกระบวนการทำแห้งสำหรับเชื้อ *Lactobacillus paracasei* TISTR 2593

จากการศึกษาความเข้มข้นของสารปกป้องเซลล์ที่เหมาะสมในกระบวนการทำแห้งสำหรับเชื้อ *L. paracasei* TISTR 2593 โดยสารที่ได้รับการคัดเลือกคือ Trehalose และ IMO ที่ความเข้มข้น 5-25% พบว่า Trehalose และ IMO ที่ความเข้มข้น 15% (w/w) มีอัตราการอยู่รอดเท่ากับ 85.57% และ 65.63% ดังตารางที่ 4.2 และตัวอย่างหลังทำให้เป็นผง หลังบดมีผงสีขาว ละเอียด ไม่จับตัวเป็นก้อน แต่หลังจาก 15 วัน พบว่าการใช้สารชนิด IMO ที่ความเข้มข้น 20% และ 25% ที่อุณหภูมิ 25 °C มีลักษณะเป็นก้อน เนื่องจากสารมีแนวโน้มที่จะขึ้นได้ง่าย ทำให้ยากต่อการใช้งาน และอาจจะส่งผลต่อผลิตภัณฑ์หากมีการนำไปใช้

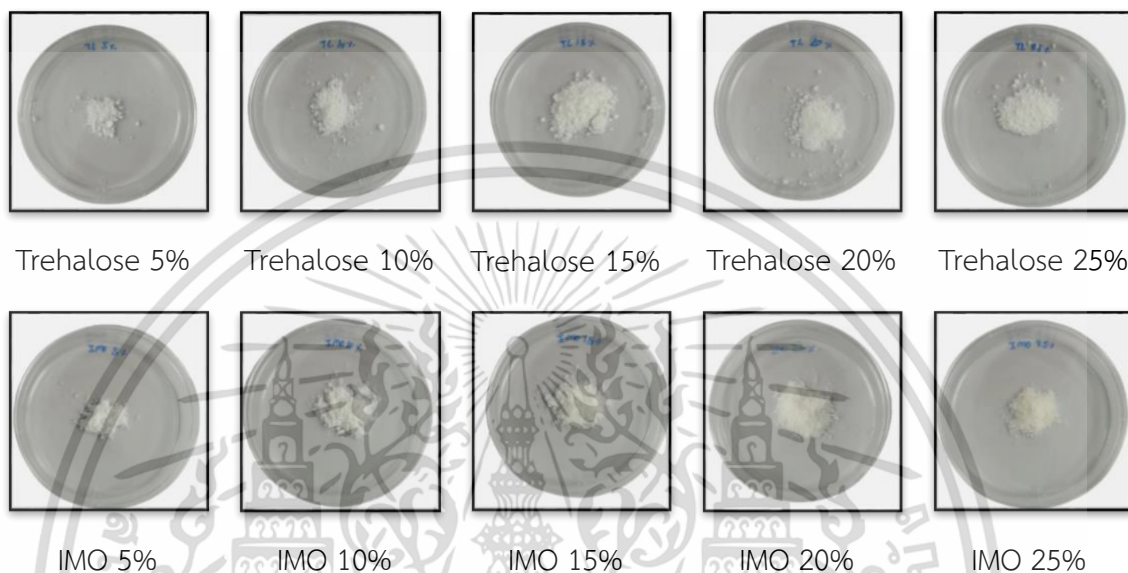
ตารางที่ 4.2 แสดงปริมาณเชื้อ *L. paracasei* TISTR 2593 ก่อน-หลังทำแห้ง และอัตราการอยู่รอดของเชื้อหลังการทำแห้ง

สารปกป้องเซลล์	ความเข้มข้น	ปริมาณเชื้อก่อนทำ	ปริมาณเชื้อหลังทำ	อัตราการอยู่รอด
		แห้ง	แห้ง	
		(CFU/g)	(CFU/g)	(%)
Trehalose	5	4.82×10^{10}	4.42×10^8	0.92 ^d
	10	4.78×10^{10}	4.25×10^9	8.89 ^d
	15	2.01×10^{10}	1.72×10^{10}	85.57 ^a
	20	1.59×10^{10}	8.83×10^9	55.40 ^{bc}
	25	2.00×10^{10}	1.02×10^{10}	50.89 ^{bc}
IMO	5	4.38×10^{10}	3.67×10^9	8.37 ^d
	10	2.34×10^{11}	5.92×10^9	2.53 ^d
	15	2.11×10^{10}	1.38×10^{10}	65.63 ^{ab}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

20	1.61×10^{10}	9.58×10^9	59.37 ^{bc}
25	1.68×10^{10}	6.58×10^9	39.21 ^c

หมายเหตุ : a-b หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรต่างกันตามแนวดิ่ง โดยแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

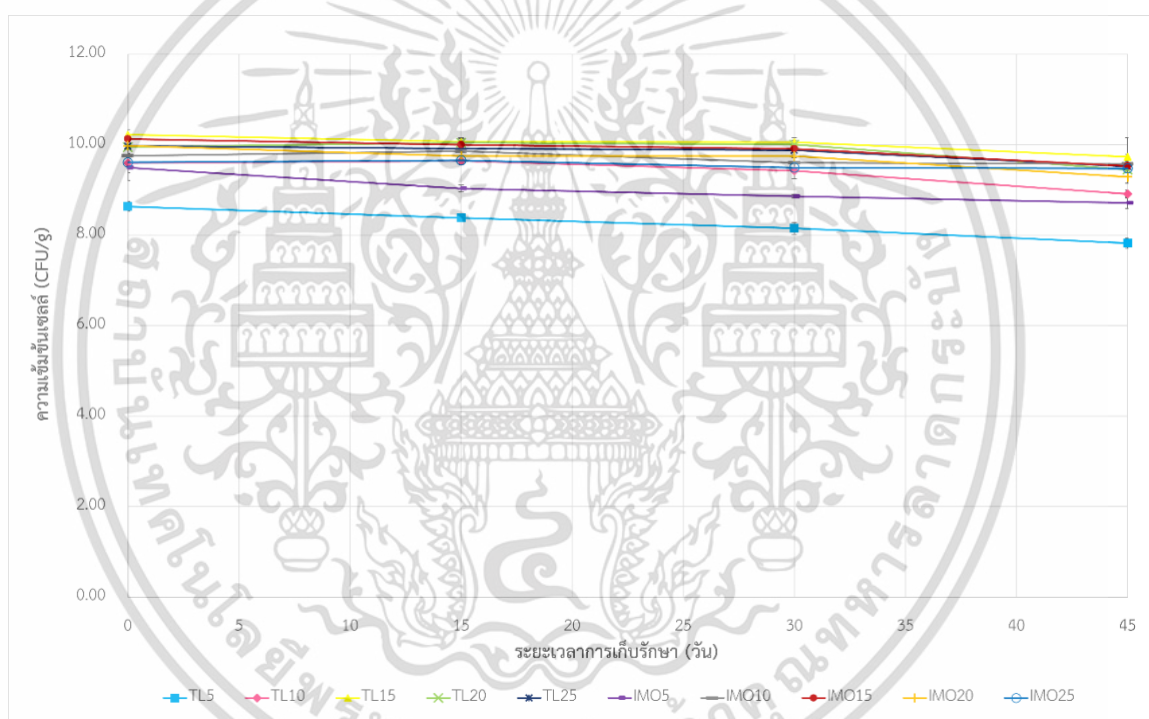


รูปที่ 4.4 แสดงลักษณะของสารปกป้องเซลล์ทั้ง 2 ชนิด ที่ความเข้มข้น 5-25% หลังทำให้เป็นผง

จากการติดตามค่าแนวโน้มผลอัตราการอยู่รอดเชื้อ *L. paracasei* TISTR 2593 ที่ความเข้มข้น 5%, 10%, 15%, 20% และ 25% พบว่าปริมาณเชื้อวันที่ 0-45 ที่อุณหภูมิ 4 °C มีค่าแนวโน้มคงที่ในแต่ละความเข้มข้น ดังรูปที่ 4.6 โดยอัตราการอยู่รอดของสารชนิด Trehalose ในวันที่ 45 มีค่าเท่ากับ 0.14%, 1.73%, 27.00%, 17.77% และ 16.69% ตามลำดับ และ IMO มีอัตราการอยู่รอดเท่ากับ 1.22%, 1.60%, 17.40%, 12.39% และ 17.87% ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าสารทั้ง 2 ชนิด ที่ความเข้มข้น 15% ให้อัตราการอยู่รอดที่สูงกว่าความเข้มข้นอื่นๆ และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับอุณหภูมิที่ 25 °C จะเห็นได้ชัดว่าค่าแนวโน้มแต่ละความเข้มข้นมีปริมาณเชื้อที่ลดลงอย่างชัดเจน ดังรูปที่ 4.7 และ Trehalose ในวันที่ 45 ที่ความเข้มข้น 15% มีอัตราการอยู่รอดเท่ากับ 0.02 % เมื่อเปรียบเทียบกับความเข้มข้นอื่นๆ ที่มีค่าเท่ากับ 0.00% และในส่วนของ IMO มีค่าอัตราการอยู่รอดเท่ากับ 0.00% ในทุกความเข้มข้น ซึ่งการศึกษาอื่นก็พบผลการทดลองในลักษณะเช่นเดียวกันคือ น้ำตาลที่มีขนาดเล็กโดยทั่วไปจะเหมาะสมกว่าสำหรับปฏิกิริยาระหว่างโมเลกุล (เช่น พันธะไฮโดรเจน) และการรีดักชัน ในขณะที่น้ำตาลที่มีขนาดใหญ่

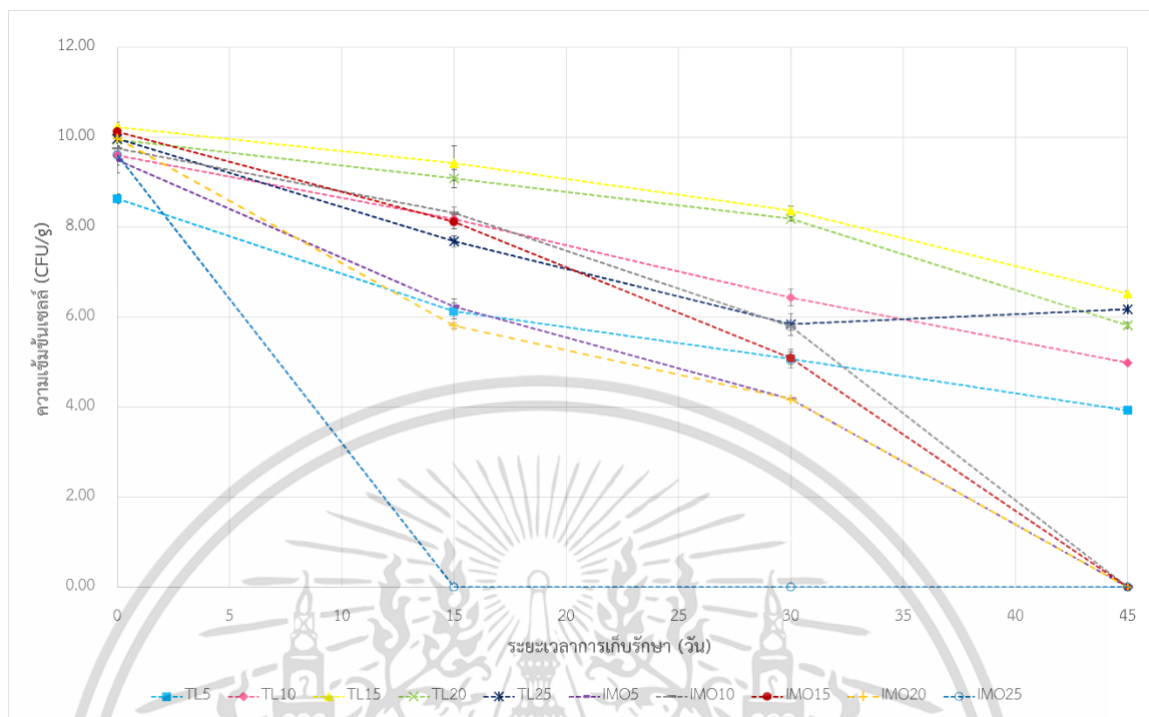
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กว่า (เช่น โอลิโกแซ็กคาไรด์) จะเหมาะสำหรับการทำให้เป็นผลึกแก้ว (vitrification) ดังนั้นน้ำตาลที่ค่อนข้างเล็ก (เช่น ไดแซ็กคาไรด์) เช่น ทรีฮาโลสอาจเหมาะสมในการรักษาเสถียรภาพของโปรตีนภายใต้สภาวะการทำแห้งแบบเยือกแข็ง โดย Trehalose ถูกนำมาใช้ในการผสมผสานการป้องกันในการศึกษาก่อนหน้านี้จำนวนมากเนื่องจากมีสาเหตุมาจากผลการป้องกันที่ดีเยี่ยม (Chin *et al.*, 2021) และการเพิ่มความเข้มข้นของ Trehalose ถึง 20% และ 25% ไม่ได้ทำให้มีคุณสมบัติเพิ่มเติม ซึ่งความเข้มข้นของ Trehalose ที่สูงอาจนำไปสู่การตกผลึกได้ และอาจทำให้เกิดการแยกตัวระหว่างการแช่แข็งได้ (Muhoza *et al.*, 2020)



รูปที่ 4.5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเซลล์ในสารปกป้องเซลล์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ (CFU/g) กับระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน) ที่อุณหภูมิ 4 °C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเซลล์เซลล์ในสารปกป้องเซลล์ ที่ความเข้มข้นต่างๆ (CFU/g) กับระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน) ที่อุณหภูมิ 25 °C

4.3 การศึกษาอัตราส่วนของเชื้อต่อสารปกป้องเซลล์ที่เหมาะสมในกระบวนการทำแห้งสำหรับเชื้อ *Lactobacillus paracasei* TISTR 2593

จากการศึกษาอัตราส่วนของสารปกป้องเซลล์ที่เหมาะสมในกระบวนการทำแห้งสำหรับเชื้อ *L. paracasei* TISTR 2593 ที่อัตราส่วนน้ำหนักเชื้อเปียกต่อน้ำหนักสารปกป้องเซลล์ คือ 1:0.5, 1:1 และ 1:2 พบว่า Trehalose และ IMO ที่อัตราส่วน 1:0.5 มีอัตราการอยู่รอดสูงสุดที่สุดคือ 22.65% และ 79.33% แต่เมื่อพิจารณาถึงต้นทุนของอัตราส่วนที่ 1:0.5 จะพบว่ามีต้นทุนที่สูงกว่าอัตราส่วนอื่นๆ ซึ่งที่ 1:0.5 มีต้นทุนต่อกิโลกรัมเท่ากับ 5,775 บาท และ 5,575 บาท เมื่อเทียบกับอัตราส่วน 1:1 ที่มีต้นทุนต่อกิโลกรัมเท่ากับ 3,018 บาท และ 2,818 บาท และมีอัตราการอยู่รอดเท่ากับ 18.71% และ 55.62% ดังตารางที่ 4.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 แสดงปริมาณเชื้อ *L. paracasei* TISTR 2593 ก่อน-หลังทำแห้ง และอัตราการอยู่รอดของเชื้อหลังการทำแห้ง

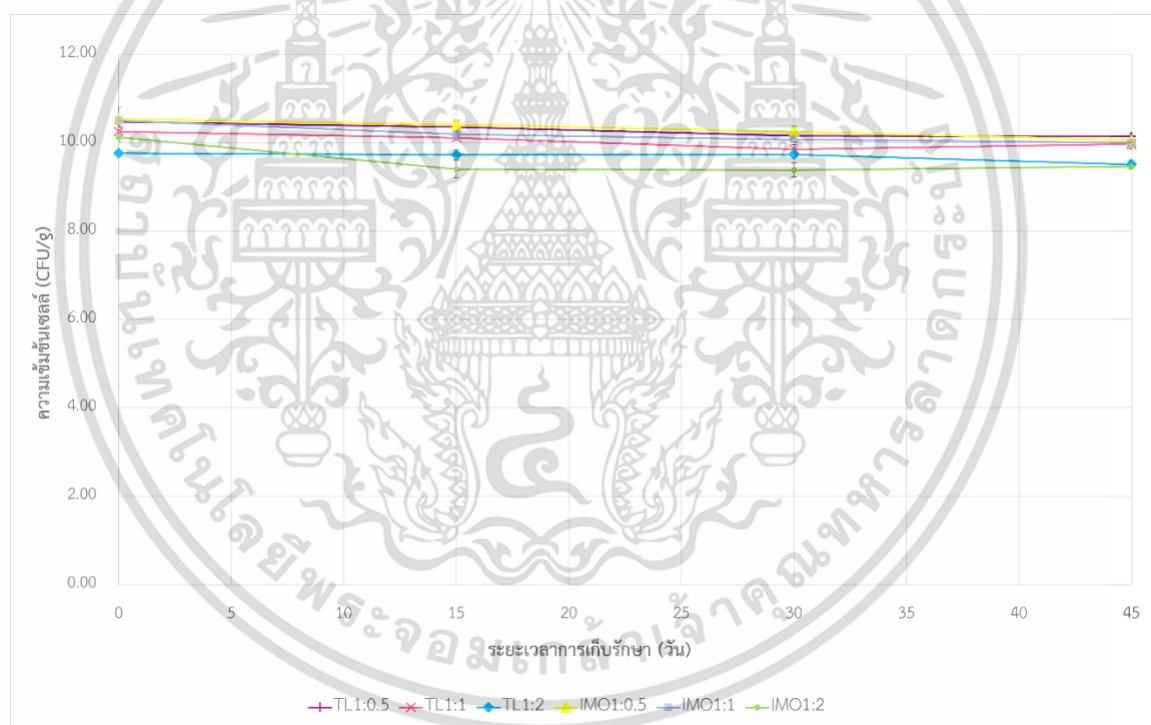
สารปกป้องเซลล์	อัตราส่วน	ปริมาณเชื้อก่อนแห้งแข็ง (CFU/g)	ปริมาณเชื้อหลังทำแห้ง (CFU/g)	อัตราการอยู่รอด (%)	ต้นทุนต่อกิโลกรัม (บาท)
Trehalose	1:0.5	1.32×10^{11}	3.00×10^{10}	22.65 ^b	5,775
	1:1	9.71×10^{10}	1.82×10^{10}	18.71 ^b	3,018
	1:2	3.14×10^{10}	5.83×10^9	18.57 ^b	1,639
IMO	1:0.5	4.83×10^{10}	3.83×10^{10}	79.33 ^a	5,575
	1:1	5.69×10^{10}	3.17×10^{10}	55.62 ^a	2,818
	1:2	2.06×10^{10}	1.34×10^{10}	65.19 ^a	1,439

หมายเหตุ : ต้นทุนประเมินเฉพาะค่าอาหารเลี้ยงเชื้อเท่านั้น

: a-b หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรต่างกันตามแนวตั้ง โดยแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

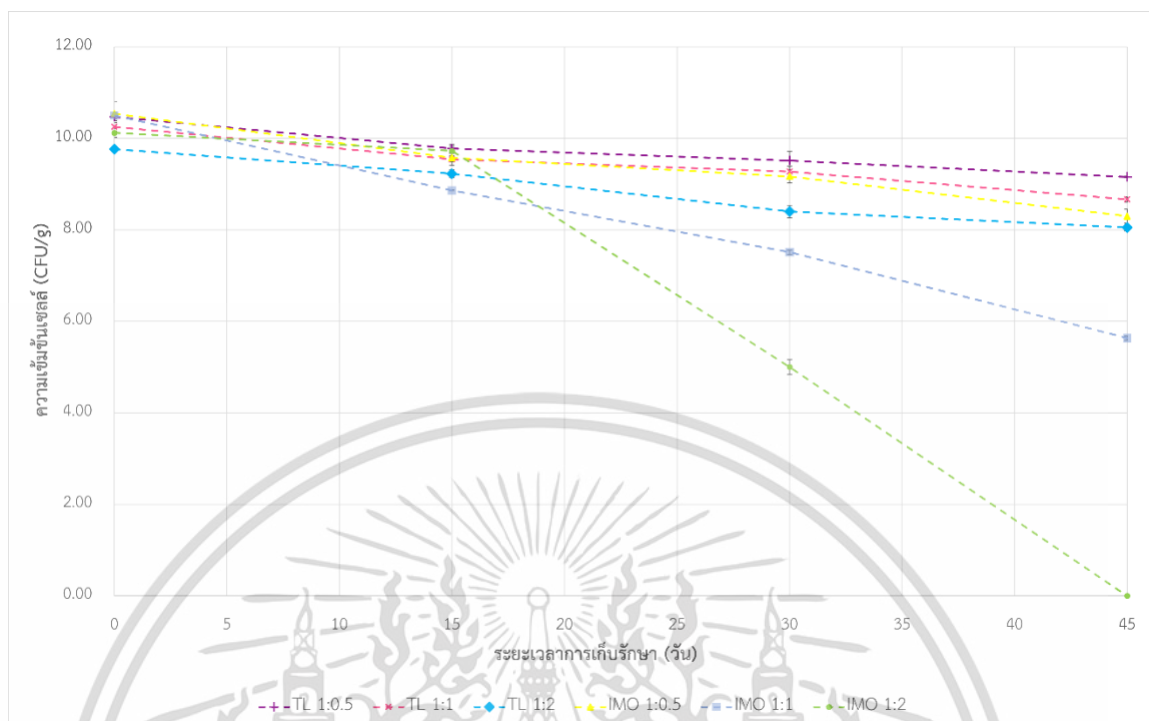
จากการติดตามผลค่าแวนโน้มอัตราการยู่รอดเชื้อ *L. paracasei* TISTR 2593 ที่อัตราส่วน 1:0.5, 1:1 และ 1:2 พบว่าปริมาณเชื้อที่อุณหภูมิ 4 °C ทุกอัตราส่วนมีค่าแวนโน้มคงที่ ดังรูปที่ 4.7 โดยอัตราการยู่รอดของสารชนิด Trehalose ที่ 45 วัน มีอัตราการยู่รอดเท่ากับ 10.57%, 9.61% และ 10.35% ตามลำดับ และ IMO มีอัตราการยู่รอดเท่ากับ 23.63%, 18.15% และ 14.17% ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบกับอุณหภูมิที่ 25 °C จะพบว่าปริมาณเชื้อมีแวนโน้มที่ลดลง ดังรูปที่ 4.8 และเห็นได้ว่าสารชนิด IMO ที่อัตราส่วน 1:2 ในวันที่ 45 มีปริมาณเชื้อลดลงอย่างมากเมื่อเปรียบเทียบกับอัตราส่วนอื่นๆ และจากกราฟที่ 4.8 จะเห็นได้ว่าสารชนิด Trehalose ในอัตราส่วนต่างๆ ปริมาณเชื้อที่สูงแตกต่างจากสารชนิด IMO ที่มีปริมาณเชื้อลดลง ยกเว้นในอัตราส่วน 1:0.5 ที่พบว่ามีปริมาณเชื้อสูงเทียบเท่า Trehalose



รูปที่ 4.7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเซลล์ในสารปกป้องเซลล์ ที่อัตราส่วนต่างๆ (CFU/g) กับระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน) ที่อุณหภูมิ 4 °C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเซลล์ในสารปกป้องเซลล์ ที่อัตราส่วนต่างๆ (CFU/g) กับระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน) ที่อุณหภูมิ 25 °C

4.4 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในกระบวนการทำแห้งสำหรับเชื้อ *Lactobacillus paracasei* TISTR 2593

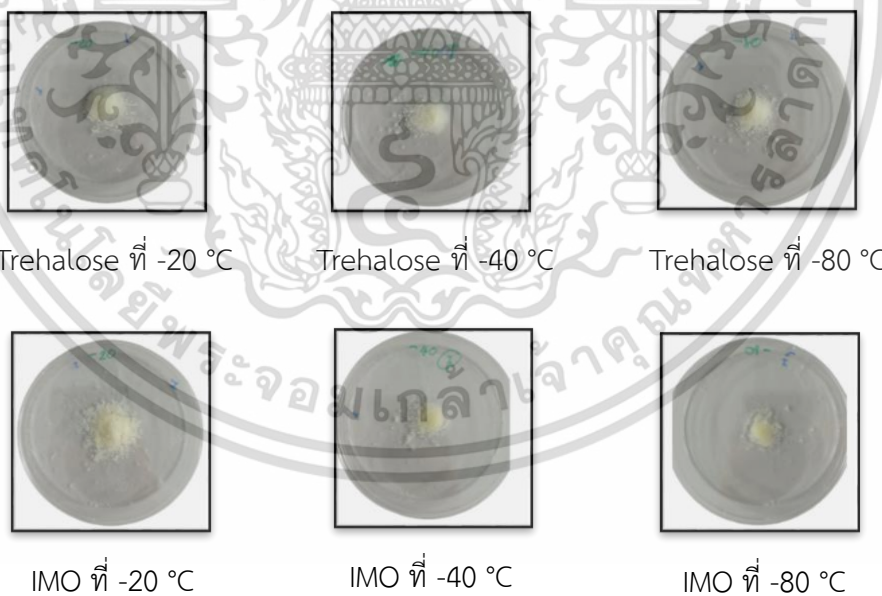
จากการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในกระบวนการทำแห้งสำหรับเชื้อ *L. paracasei* TISTR 2593 ที่อุณหภูมิ -20 °C, -40 °C และ -80 °C พบว่าที่อุณหภูมิ -80 °C ของ Trehalose มีอัตราการอยู่รอดสูงที่สุดคือ 62.50% ดังตารางที่ 4.4 และหลังทำให้เป็นผงจะพบว่า Trehalose เป็นผงละเอียด ไม่จับตัวเป็นก้อน ส่วน IMO มีลักษณะการจับตัวกันเป็นก้อน ที่อาจจะเกิดจากการที่สารมีการดูดความชื้นกลับ ซึ่งจะส่งผลต่อการใช้งาน ดังรูปที่ 4.9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 แสดงปริมาณเชื้อ *L. paracasei* TISTR 2593 ก่อน-หลังทำแห้ง และอัตราการอยู่รอดของเชื้อหลังการทำแห้ง

สารปกป้องเซลล์	อุณหภูมิ	ปริมาณเชื้อก่อนทำแห้ง (CFU/g)	ปริมาณเชื้อหลังทำแห้ง (CFU/g)	อัตราการอยู่รอด (%)
Trehalose	-20	3.33×10^{10}	9.42×10^9	28.25 ^c
	-40	3.33×10^{10}	1.48×10^{10}	44.25 ^b
	-80	3.33×10^{10}	2.08×10^{10}	62.50 ^a
IMO	-20	8.80×10^{10}	1.13×10^{10}	12.88 ^c
	-40	8.80×10^{10}	1.47×10^{10}	16.66 ^c
	-80	8.80×10^{10}	1.60×10^{10}	18.18 ^c

หมายเหตุ : a-b หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรต่างกันตามแนวดิ่ง โดยแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)



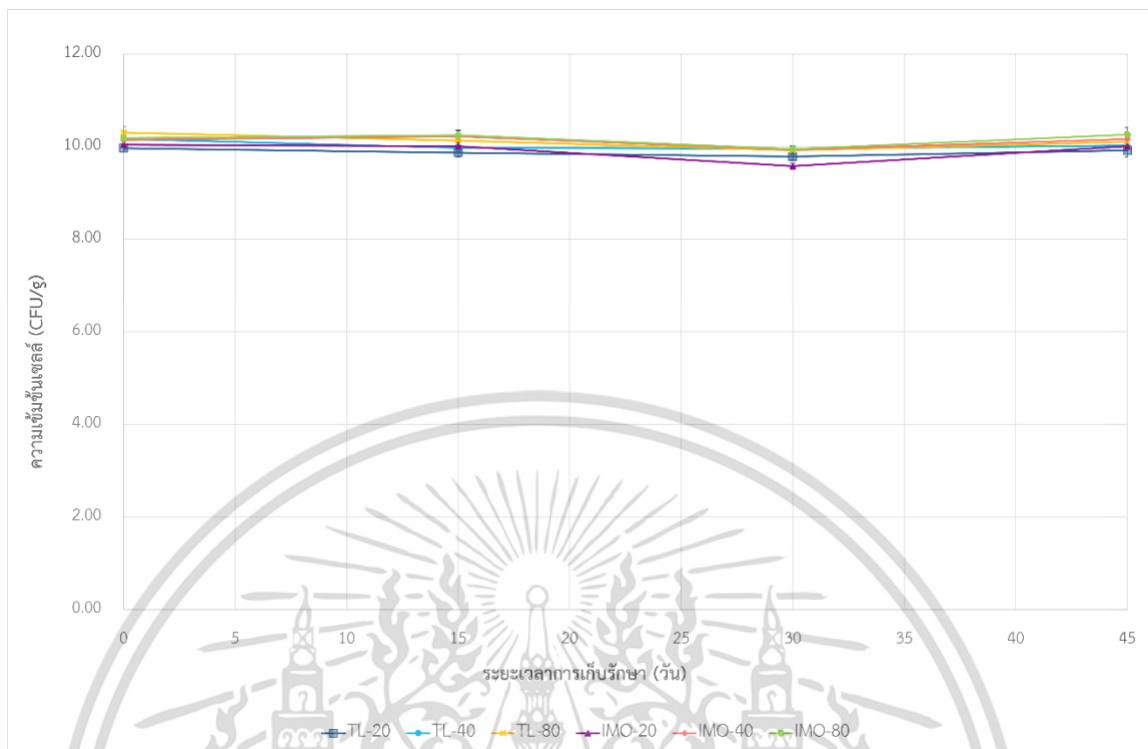
รูปที่ 4.9 แสดงลักษณะของสารปกป้องเซลล์ทั้ง 2 ชนิด ที่อุณหภูมิต่างๆ หลังทำให้เป็นผง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

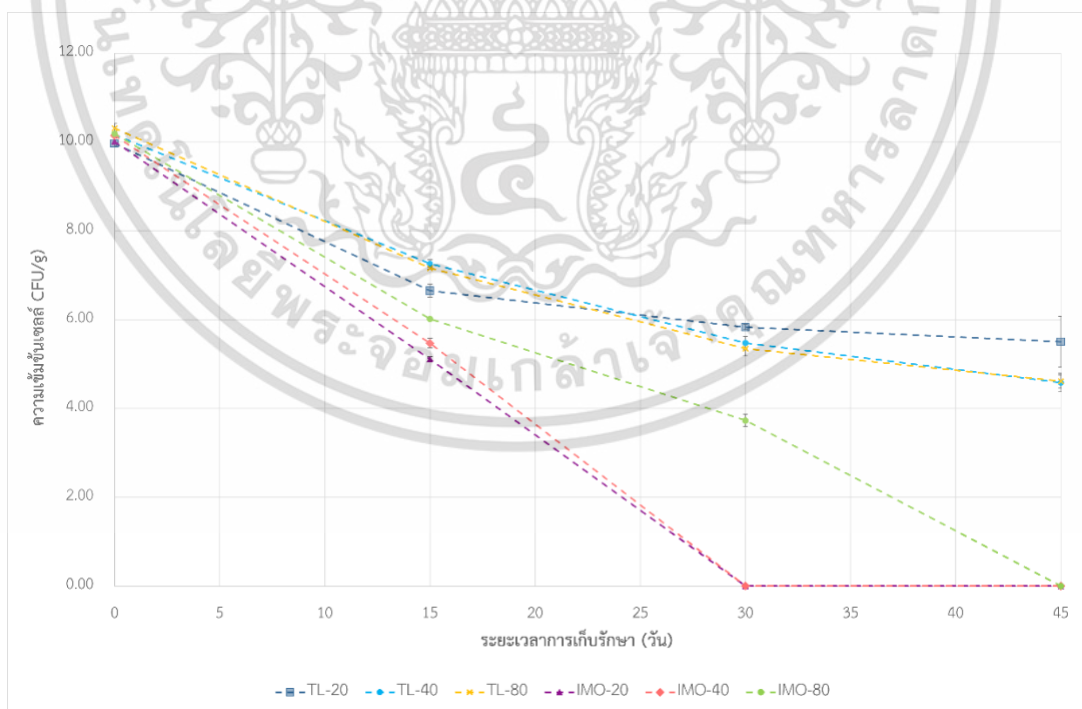
จากการติดตามผลค่าแนวโน้มของอัตราการอยู่รอดของเชื้อ *L. paracasei* TISTR 2593 ที่อุณหภูมิ -20 °C, -40 °C และ -80 °C พบว่าปริมาณเชื้อที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 4 °C ทุกอุณหภูมิมีค่าแนวโน้มคงที่ ดังรูปที่ 4.14 โดยอัตราการอยู่รอดของสารชนิด Trehalose ที่ 45 วัน มีอัตราการอยู่รอดเท่ากับ 26.00%, 31.75% และ 38.25% ตามลำดับ และ IMO มีอัตราการอยู่รอดเท่ากับ 11.64%, 17.51% และ 21.78% ตามลำดับ

เมื่อเปรียบเทียบกับ การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C พบว่าการแช่แข็งทุกอุณหภูมิมียปริมาณเชื้อแนวโน้มที่ลดลง และจากการตรวจนับปริมาณเชื้อ ปรากฏว่าตัวอย่างที่ระดับการเจือจาง 10^{-1} ของสารชนิด IMO ที่อุณหภูมิ -20 °C และ -40 °C ในวันที่ 30 ไม่พบการเจริญของเชื้อ ส่วนอุณหภูมิ -80 °C ไม่พบการเจริญของเชื้อในวันที่ 45 ซึ่งบ่งบอกได้ว่าเชื้อ *L. paracasei* TISTR 2593 ไม่สามารถอยู่รอดภายใต้สภาวะดังกล่าวได้ และในส่วนของ Trehalose ยังคงพบอัตราการอยู่รอดของเชื้อ แต่ปริมาณเชื้อหลังทำแห้งมีค่าต่ำกว่า 10^6 ทำให้ไม่สามารถเชื้อและสารดังกล่าวได้ เพราะมีปริมาณเชื้อที่ต่ำกว่าเกณฑ์ที่กำหนด ซึ่งตามมาตรฐานของ ออย. กำหนดไว้ที่ปริมาณเชื้อไม่ต่ำกว่า 10^6 CFU/g (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข, 2555)

ผลการทดลองนี้ที่อุณหภูมิ -80 °C มีปริมาณเชื้อหลังทำแห้งมากกว่าการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 °C และ -40 °C ซึ่งการทดลองครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Yang และคณะ ที่พบว่าอัตราการรอดชีวิตที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างทั้งสองกลุ่ม (-20 °C และ -80 °C) หลังจากกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีสาเหตุหลักมาจากกระบวนการก่อน pre-freeze เนื่องจากอัตราการเยือกแข็งที่ -20 °C ค่อนข้างต่ำ ทำให้มีผลึกน้ำแข็งที่ก่อตัวมีขนาดใหญ่และไม่สม่ำเสมอ ส่งผลให้เกิดความเสียหายร้ายแรงต่อผนังเซลล์ในขณะเดียวกัน ผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นในกลุ่ม -80 °C มีขนาดค่อนข้างเล็ก ซึ่งช่วยปกป้องความสมบูรณ์ของผนังเซลล์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และช่วยเพิ่มความต้านทานต่อเชื้อในระหว่างการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Yang et al., 2022)



รูปที่ 4.10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเซลล์ในสารปกป้องเซลล์ ที่อุณหภูมิต่างๆ (CFU/g) กับระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน) ที่อุณหภูมิ 4 °C



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเซลล์ในสารปกป้องเซลล์ ที่อุณหภูมิต่างๆ (CFU/g) กับระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน) ที่อุณหภูมิ 4 °C

4.5 การศึกษาวิธีการทำแห้งที่เหมาะสมสำหรับเชื้อ *Lactobacillus paracasei* TISTR 2593

จากการศึกษาวิธีการทำแห้งที่เหมาะสมสำหรับเชื้อ *L. paracasei* TISTR 2593 โดยแบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ กระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง แบ่งออกเป็น 3 สภาวะ และกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย แบ่งออกเป็น 2 สภาวะ พบว่ากระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งทั้ง 3 สภาวะ แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) มีค่าอัตราการอยู่รอดเท่ากับ 49.25%, 37.93% และ 46.79% ตามลำดับ เช่นเดียวกับกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย ทั้ง 2 สภาวะ ที่แตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยมีค่าอัตราการอยู่รอดเท่ากับ 2.59% และ 4.93% ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.5 และเมื่อนำทั้ง 2 กระบวนการมาเปรียบเทียบกันจะเห็นได้ชัดว่า กระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง มีอัตราการอยู่รอดที่สูงกว่ากระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย

ตารางที่ 4.5 แสดงปริมาณเชื้อ *L. paracasei* TISTR 2593 ก่อน-หลังทำแห้ง และอัตราการอยู่รอดของเชื้อหลังการทำแห้ง \leq

สภาวะการทำแห้ง	สภาวะ	ปริมาณเชื้อก่อนทำแห้ง (CFU/g)	ปริมาณเชื้อหลังทำแห้ง (CFU/g)	อัตราการอยู่รอด (%)
Freeze Dry	1	3.38×10^{10}	1.67×10^{10}	49.25 ^a
	2	3.38×10^{10}	1.28×10^{10}	37.93 ^a
	3	3.38×10^{10}	1.58×10^{10}	46.79 ^a
Spray Dry	1	3.38×10^{10}	8.75×10^8	2.59 ^b
	2	3.38×10^{10}	1.67×10^9	4.93 ^b

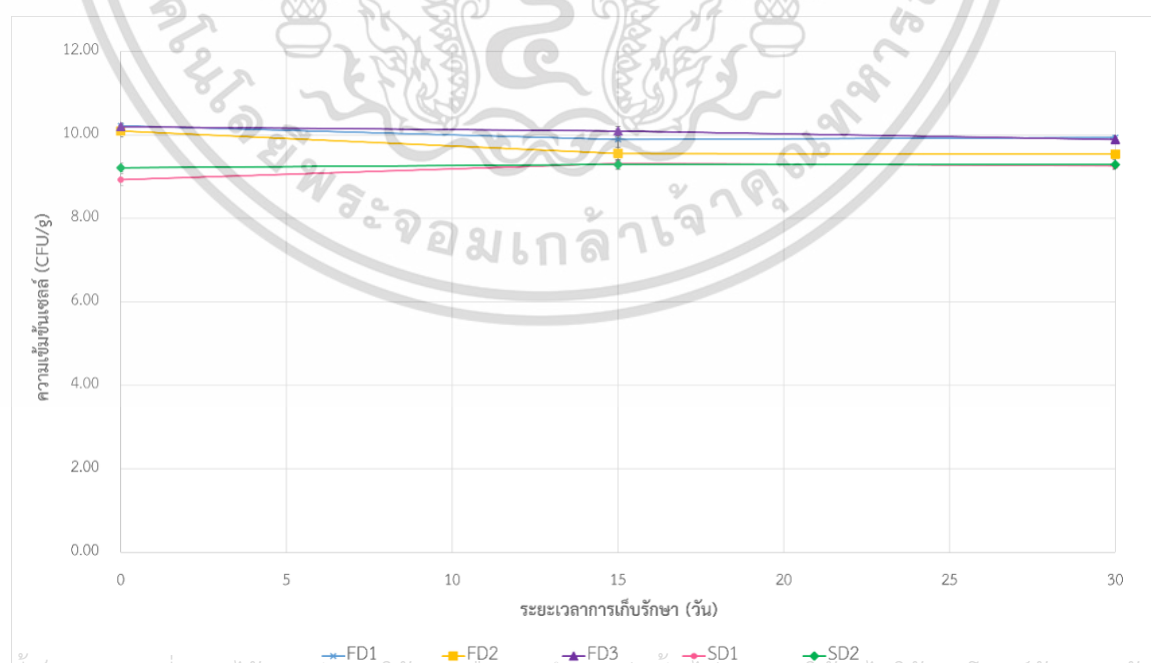
หมายเหตุ : a-b หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรต่างกันตามแนวตั้ง โดยแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการติดตามผลแนวโน้มของอัตราการอยู่รอดของเชื้อ *L. paracasei* TISTR 2593 ทั้ง 2 สภาวะการทำแห้ง พบว่าอัตราการอยู่รอดของอุณหภูมิกักเก็บรักษาที่ 4 °C ทุกอุณหภูมิมีค่าแนวโน้มคงที่ ดังรูปที่ 4.16 โดยอัตราการอยู่รอดของกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่ 30 วัน มีอัตราการอยู่รอดเท่ากับ 25.61%, 10.34% และ 15.51% ตามลำดับ และกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีอัตราการอยู่รอดเท่ากับ 5.42% และ 5.91% ตามลำดับ

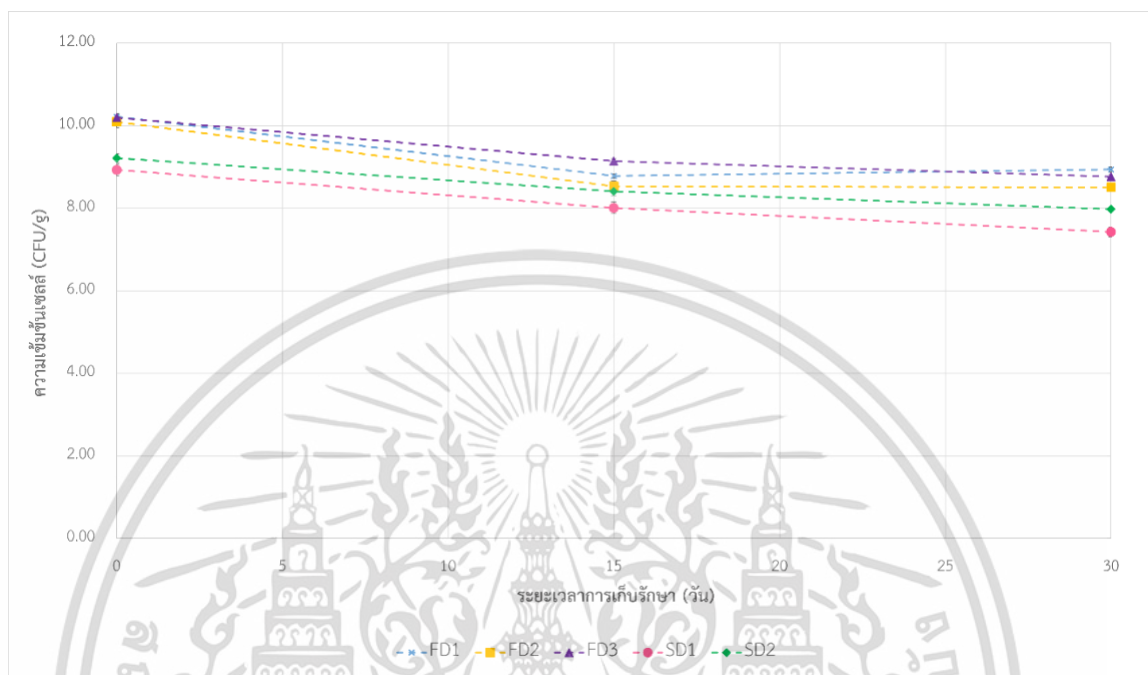
เมื่อเปรียบเทียบกับกักเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 °C พบว่าทุกสภาวะการทำแห้ง มีค่าแนวโน้มที่ลดลงเห็นได้อย่างชัดเจน และกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่ 30 วัน มีอัตราการอยู่รอดเท่ากับ 2.59%, 0.96% และ 1.72% ตามลำดับ ส่วนกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีอัตราการอยู่รอดเท่ากับ 0.08% และ 0.28% ตามลำดับ

ผลการทดลองครั้งนี้ไม่เป็นไปตามความคาดหมายเนื่องจากอัตราการรอดชีวิตของสภาวะแบบแช่เยือกแข็งมีอัตราการรอดชีวิตที่มากกว่าสภาวะการทำแห้งแบบพ่นฝอย ทำให้ผลการทดลองที่ได้ในครั้งนี้ไม่สอดคล้องกับการศึกษาของ Luangthongkam และคณะ ที่พบว่าการทำแห้งแบบพ่นฝอยมีอัตราการอยู่รอดดีกว่าการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และเกี่ยวเนื่องถึงอุณหภูมิในกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่พบว่าค่า Outlet ที่เหมาะสมที่สุด คือ 80 °C และค่า Inlet 175 °C จะให้ผลอัตราการอยู่รอดสูงที่สุด (Luangthongkam *et al.*, 2021) ทำให้ผลที่ได้ไม่สอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้มีค่า Inlet 170 °C Outlet 78-80 °C ซึ่งมีอัตราการรอดชีวิตที่น้อยกว่าค่า Inlet 140 °C Outlet 75 °C



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 4.12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเซลล์ในสารปกป้องเซลล์ ที่สภาวะการทำแห้ง (CFU/g) กับระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน) ที่อุณหภูมิ 4 °C

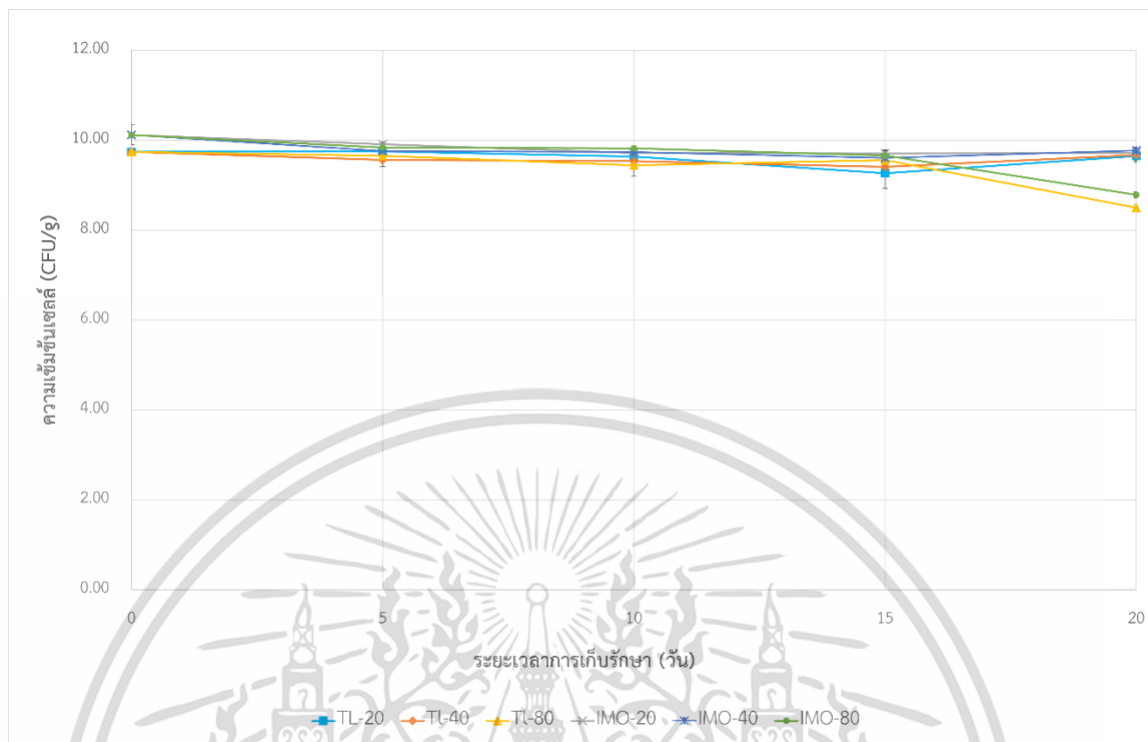


รูปที่ 4.13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเซลล์ในสารปกป้องเซลล์ ที่สภาวะการทำแห้ง (CFU/g) กับระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน) ที่อุณหภูมิ 25 °C

4.6 การศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาการแช่แข็งที่ส่งผลต่ออัตราการอยู่รอดของเชื้อ *Lactobacillus paracasei* TISTR 2593

จากการศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาการแช่แข็งที่ส่งผลต่ออัตราการรอดชีวิตของเชื้อ *L. paracasei* TISTR 2593 ที่อุณหภูมิ -20 °C, -40 °C และ -80 °C โดยติดตามค่าแนวโน้มของอัตราการอยู่รอดทุกๆ 5 วัน เป็นเวลาทั้งหมด 20 วัน จะเห็นได้ว่าเส้นแนวโน้มมีค่าคงที่ ยกเว้นที่อุณหภูมิ -80 °C ที่พบปริมาณเชื้อลดลงอย่างผิดปกติ ทำให้เกิดเหตุสุดวิสัยทางเทคนิค เนื่องจากพบปัญหาว่าตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -80 °C มีอุณหภูมิที่ผิดปกติ จึงอาจจะทำให้ตัวอย่างที่เก็บรักษาละลายได้ ส่งผลทำให้เซลล์ขาดเก็บ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.14 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นเซลล์ในสารปกป้องเซลล์ ที่ระยะเวลาการแช่แข็งต่างๆ (CFU/g) กับระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการทดลองการเปรียบเทียบสารปกป้องเซลล์ที่เหมาะสมต่อกระบวนการทำแห้งมีจำนวน 10 ชนิด ได้แก่ Glucose Syrup, Gum Arabic, FRD, Trehalose, IMO, Inulin, Maltodextrin, FOS, Isomaltulose และ Isomalt พบว่า Trehalose มีประสิทธิภาพในการปกป้องเซลล์ได้ดีที่สุด ที่ความเข้มข้น 15% (w/w) โดยใช้อัตราส่วนเชื้อเปียกต่อสาร 1:1 ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการแช่แข็งก่อนกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง คืออุณหภูมิ -80°C

และจากการเปรียบเทียบการใช้สารชนิด Trehalose ตามความเข้มข้นและอัตราส่วนช่วงต้น เป็นสารปกป้องเซลล์สำหรับกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งและแบบพ่นฝอย พบว่าสารปกป้องเซลล์ในกระบวนการแช่เยือกแข็งได้ดีกว่าการทำแห้งแบบพ่นฝอย แต่หากจำเป็นต้องใช้กระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่ใช้ Trehalose เป็นสารปกป้องเซลล์ ควรใช้อุณหภูมิที่ต่ำ (Inlet 140°C Outlet 75°C) เนื่องจากทำให้มีอัตราการรอดชีวิตมากกว่าการใช้อุณหภูมิที่สูง (Inlet 170°C Outlet $78-80^{\circ}\text{C}$)

อย่างไรก็ตามแม้การใช้ Trehalose จะสามารถปกป้องเซลล์ได้ดีจากการทำแห้ง แต่ยังมีปัญหาที่เกิดขึ้นคือ สามารถปกป้องเซลล์ได้กับการเก็บรักษาอุณหภูมิที่ 4°C แต่ไม่สามารถปกป้องเซลล์ได้กับการเก็บรักษาอุณหภูมิที่ 25°C ได้

จากการศึกษาเพิ่มเติม พบว่าเชื้อที่มีการเติมสารปกป้องเซลล์สามารถแช่แข็งอยู่ภายใต้อุณหภูมิ -20°C , -40°C และ -80°C เป็นระยะเวลา 20 วัน ได้ โดยมีค่าแนวโน้มของปริมาณเชื้อลดลงเล็กน้อย

5.2 ข้อเสนอแนะ

- 5.2.1 อุณหภูมิการเก็บรักษาที่ 25°C เชื้อไม่สามารถอยู่รอดได้ ดังนั้นควรศึกษาสารปกป้องเซลล์ชนิดอื่นหรือสารกลุ่มอื่น เช่น กลุ่มเอนไซม์ที่สังเคราะห์จากแบคทีเรีย เช่น เอนไซม์ทรานกลูโคซิเดส แอมิโลมอสเทส และเดกซ์แทรนซูเครส เป็นต้น
- 5.2.2 สภาวะต่างๆที่ไม่เหมาะสมต่อวิธี Spray dry ดังนั้นควรศึกษาเพิ่มเติม เช่น อุณหภูมิเข้า-ออก อัตราการไหล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อ้างอิง

- กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 346) พ.ศ. 2555 เรื่องการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหาร (ฉบับที่ 2). ราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่มที่ 128, ตอนพิเศษ86 ง ณาภา อาจเอี่ยม. 2553. การคัดเลือกแบคทีเรียกรดแลคติกเพื่อเป็นโพรไบโอติกที่มีศักยภาพจากอาหารหมัก. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาเภสัชเคมีและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ คณะเภสัชศาสตร์. มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
- ดลฤดี โตเย็น. 2564. หลักการทำตัวอย่างให้แห้งด้วยเทคนิค Freeze-drying. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก <https://www3.rdi.ku.ac.th/cl/knowledge/2564/dec2021/frezedryingsample.pdf>.
- ทีชีเอส แปซิฟิก. ม.ป.ป. มอลโทเดกซ์ทริน (Maltodextrin). [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก <https://www.tcs-mart.com/product/maltodextrin/>
- นฤมล มงคลธวัช. 2558. ผลลัพธ์โพรไบโอติกที่ไม่ผลิตจากนมกับสุขภาพ. วรสารวิทยาศาสตร์บูรพา. 2: 209-220.
- ประกาศนิต์ ฤดีกุลธำรง, จารุณี ควรพิบูลย์. 2555. พรไบโอติก: อาหารส่งเสริมสุขภาพ. ธรรมชาติเวชสาร. 2: 362-369
- พัทธ์ธีรา โสดาตา. ม.ป.ป. ประโยชน์ของโพรไบโอติก. คณะเภสัชศาสตร์, มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์. https://pharm.tu.ac.th/uploads/pharm/pdf/articles/20181002_4.pdf
- มะลิวัลย์ ไชโย. 2554. การเปรียบเทียบคุณภาพของไซรัปกล้วยที่ผลิตจากน้ำตาลทรายและน้ำตาลอ้อย. การศึกษามหาบัณฑิต. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ศึกษา. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
- วสุวัชร วงษ์จันทร์. 2566. อินูลิน (Inulin) คืออะไร?. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก <https://sgechem.com/articles/อินูลิน-inulin-คืออะไร>.
- สุกิจ ลิตติกรณ์. ม.ป.ป. ทำความรู้จักกับการทำแห้งแบบ แช่เยือกแข็ง (Freeze Dry). [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก <https://www.harn.co.th/articles/getting-to-know-freeze-dry/>.
- อนันต์ บุญปาน, สิริแข พงษ์สวัสดิ์ และทรงพล จำดิษฐ์. 2558. การผลิตไฮโซมอลโตโอลิโกแซ็กคารไรด์จากแป้งมันสำปะหลังด้วยกระบวนการทางเอนไซม์. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อำพรธณ ชัยกุลเสรีวัฒน์. 2006. โพรไบโอติกและพรีไบโอติกมีประโยชน์ต่อร่างกายคุณอย่างไร.

Journal of Food Technology, Siam University, 2(1), 62-62.

BUCHI (Thailand). n.d. เทคโนโลยีการทำแห้งแบบพ่นฝอย. [ออนไลน์].

<https://www.buchi.com/th/spray-drying>

Tcsmart. n.d. มอลโทเดกซ์ทริน (Maltodextrin). [ออนไลน์].

เข้าถึงได้จาก <https://www.tcs-mart.com/product/maltodextrin/>

Afric, R. F. (1989). Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology, 66(5), 365-378.* <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1989.tb05105.x>

Ali, B. H., Ziada, A., & Blunden, G. (2009). Biological effects of gum arabic: A review of some recent research. *Food and Chemical Toxicology, 47(1), 1-8.*

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.07.001>

Allen, S. J., Okoko, B., Martinez, E., Gregorio, G., & Dans, L. F. (2004). Probiotics for treating infectious diarrhoea. *Cochrane Database Syst Rev(2), Cd003048.*

<https://doi.org/10.1002/14651858.CD003048.pub2>

Chen, A., & Gibney, P. A. (2023). Dietary Trehalose as a Bioactive Nutrient. *Nutrients, 15(6), 1393.* <https://doi.org/10.3390/nu15061393>

Chen, B., Wang, X., Li, P., Feng, X., Mao, Z., Wei, J., Lin, X., Li, X., & Wang, L. (2023).

Exploring the protective effects of freeze-dried *Lactobacillus rhamnosus* under optimized cryoprotectants formulation. *LWT, 173, 114295.*

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2022.114295>

Chin, Y.-W., Lee, S., Yu, H. H., Yang, S. J., & Kim, T.-W. (2021). Combinatorial Effects of Protective Agents on Survival Rate of the Yeast Starter, *Saccharomyces cerevisiae* 88-4, after Freeze-Drying. *Microorganisms, 9(3), 613.*

<https://doi.org/10.3390/microorganisms9030613>

de Souza, W. F. C., Almeida, F. L. C., de Castro, R. J. S., & Sato, H. H. (2022). Isomaltulose: From origin to application and its beneficial properties – A bibliometric approach. *Food Research International, 155, 111061.*

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111061>

de Souza, W. F. C., Santos, K. L. d. O., Rodrigues, P. R., Vieira, R. P., de Castro, R. J. S., & Sato, H. H. (2022). Incorporation and influence of natural gums in an alginate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

matrix for *Serratia plymuthica* immobilization and isomaltulose production. *Food Research International*, 162, 112050.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.112050>

Deepa Srivastava. (n.d). Fructo-oligosaccharides [Online].

https://ddugu.ac.in/ePathshala_Attachments/STUDY349@410842.pdf

Food, Organization, A., & Organization, W. H. (2006). *Probiotics in food: Health and nutritional properties and guidelines for evaluation*. FAO.

Gardiner, G. E., O'Sullivan, E., Kelly, J., Auty, M. A., Fitzgerald, G. F., Collins, J. K., Ross, R. P., & Stanton, C. (2000). Comparative survival rates of human-derived probiotic *Lactobacillus paracasei* and *L. salivarius* strains during heat treatment and spray drying. *Appl Environ Microbiol*, 66(6), 2605-2612.

<https://doi.org/10.1128/aem.66.6.2605-2612.2000>

Giulio, B. D., Orlando, P., Barba, G., Coppola, R., Rosa, M. D., Sada, A., Prisco, P. P. D., & 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(5), 739-746. <https://doi.org/10.1007/s11274-004-4735-2>

Goldstein, E. J. C., Tyrrell, K. L., & Citron, D. M. (2015). *Lactobacillus* Species: Taxonomic Complexity and Controversial Susceptibilities. *Clinical Infectious Diseases*, 60(suppl_2), S98-S107. <https://doi.org/10.1093/cid/civ072>

Huang, Z., Wang, J. J., Chen, Y., Wei, N., Hou, Y., Bai, W., & Hu, S.-Q. (2020). Effect of water-soluble dietary fiber resistant dextrin on flour and bread qualities. *Food Chemistry*, 317, 126452.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126452>

Jalali, M., Abedi, D., Varshosaz, J., Najjarzadeh, M., Mirlohi, M., & Tavakoli, N. (2012).

Stability evaluation of freeze-dried *Lactobacillus paracasei* subsp. tolerance and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* in oral capsules. *Research in pharmaceutical sciences*, 7(1), 31.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Kállai-Szabó, N., Luhn, O., Bernard, J., Kállai-Szabó, B., Zelkó, R., & Antal, I. (2014). Comparative dissolution study of drug and inert isomalt based core material from layered pellets. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 98, 339-344. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jpba.2014.06.005>
- König, H., Uden, G., & Froehlich, J. (2017). *Biology of Microorganisms on Grapes, in Must and in Wine*. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-60021-5>
- Li, J., Wang, H., Wang, L., Yu, D., & Zhang, X. (2023). Stabilization Effects of Saccharides in Protein Formulations: a Review of Sucrose, Trehalose, Cyclodextrins and Dextrans. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 106625. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ejps.2023.106625>
- Li, J., Yang, J., Li, J., Gantumur, M.-A., Wei, X., Oh, K.-C., & Jiang, Z. (2023). Structure and rheological properties of extruded whey protein isolate: Impact of inulin. *International Journal of Biological Macromolecules*, 226, 1570-1578. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.11.268>
- Li, W., Zhang, W., Fan, X., Xu, H., Yuan, H., Wang, Y., Yang, R., Tian, H., Wu, Y., & Yang, H. (2023). Fructo-oligosaccharide enhanced bioavailability of polyglycosylated anthocyanins from red radish via regulating gut microbiota in mice. *Food Chemistry: X*, 19, 100765. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fochx.2023.100765>
- Luangthongkam, P., Blinco, J.-A., Dart, P., Callaghan, M., & Speight, R. (2021). Comparison of spray-drying and freeze-drying for inoculum production of the probiotic *Bacillus amyloliquefaciens* strain H57. *Food and Bioproducts Processing*, 130, 121-131. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fbp.2021.09.010>
- Muhoza, B., Xia, S., Wang, X., & Zhang, X. (2020). The protection effect of trehalose on the multinuclear microcapsules based on gelatin and high methyl pectin coacervate during freeze-drying. *Food Hydrocolloids*, 105, 105807. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105807>
- Salminen, S. & Wright, A.V. 1993. *Lactic acid bacteria*. New York: Marcel Dekker Inc. pp. 442.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Selleck Chemicals LLC. (n.d). Isomalt [Online].

<https://www.selleckchem.com/products/isomalt.html>

Soares, M. B., Almada, C. N., Pereira, E. P. R., Ferreira, B. M., Balthazar, C. F., Khorshidian, N., Rocha, R. S., Xavier-Santos, D., Cruz, A. G., Ranadheera, C. S., Mortazavian, A. M., Gómez-Zavaglia, A., Martinez, R. C. R., & Sant'Ana, A. S. (2023). Review - Sporeforming probiotic bacteria: Characteristics, health benefits, and technological aspects for their applications in foods and beverages. *Trends in Food Science & Technology*, 138, 453-469.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.06.029>

Sorndech, W., Nakorn, K. N., Tongta, S., & Blennow, A. (2018). Isomalto-oligosaccharides: Recent insights in production technology and their use for food and medical applications. *LWT*, 95, 135-142.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.04.098>

Tao, T., Ding, Z., Hou, D., Prakash, S., Zhao, Y., Fan, Z., Zhang, D., Wang, Z., Liu, M., & Han, J. (2019). Influence of polysaccharide as co-encapsulant on powder characteristics, survival and viability of microencapsulated *Lactobacillus paracasei* Lpc-37 by spray drying. *Journal of Food Engineering*, 252, 10-17.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2019.02.009>

Tarone, A. G., Silva, E. K., Betim Cazarin, C. B., & Marostica Junior, M. R. (2021). Inulin/fructooligosaccharides/pectin-based structured systems: Promising encapsulating matrices of polyphenols recovered from jaboticaba peel. *Food Hydrocolloids*, 111, 106387.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106387>

Tavera-Quiroz, M. J., Urriza, M., Pinotti, A., & Bertola, N. (2015). Baked snack from green apples formulated with the addition of isomalt. *LWT - Food Science and Technology*, 62(2), 1004-1010.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.02.009>

Teapaisan, R., Chooruk, A., Wannun, A., Wichienchot, S., & Piwat, S. (2012). Survival rates of human-derived probiotic *Lactobacillus paracasei* SD1 in milk powder using spray drying. *Songklanakarin J Sci Technol*, 34.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Tiamiyu, Q. O., Adebayo, S. E., & Yusuf, A. A. (2023). Gum Arabic edible coating and its application in preservation of fresh fruits and vegetables: A review. *Food Chemistry Advances*, 2, 100251.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100251>
- Yang, Y., Wang, R., Yang, Y., E, J., & Wang, J. (2022). Effects of different pre-freezing temperatures on the freeze-drying survival rate and stability during room temperature storage of *Lactiplantibacillus plantarum* LIP-1. *Food Bioscience*, 50, 102087. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.102087>
- You, Y., Li, Y., Tao, J., Li, C., Gu, Z., Ban, X., Kong, H., Xia, H., Tong, Y., & Li, Z. (2023). Remarkable improvement in the storage stability of maltodextrin through 1,4- α -glucan branching enzyme modification. *Food Hydrocolloids*, 141, 108696.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108696>
- Zayed, G., & Roos, Y. H. (2004). Influence of trehalose and moisture content on survival of *Lactobacillus salivarius* subjected to freeze-drying and storage. *Process Biochemistry*, 39(9), 1081-1086. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0032-9592\(03\)00222-X](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00222-X)
- Zhang, G., Zhu, C., Walayat, N., Tang, W., Tu, Y., Ding, Y., & Liu, J. (2023). Effect of cryoprotectants on physicochemical and structural changes in repeated freeze-thawed egg white protein. *Food Bioscience*, 55, 102913.
- Zhang, Y., Mu, C., Liu, S., & Zhu, W. (2022). Dietary citrus pectin drives more ileal microbial protein metabolism and stronger fecal carbohydrate fermentation over fructo-oligosaccharide in growing pigs. *Animal Nutrition*, 11, 252-263.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.aninu.2022.08.005>
- Zhao, C., Yin, H., Yan, J., Niu, X., Qi, B., & Liu, J. (2021). Structure and acid-induced gelation properties of soy protein isolate–maltodextrin glycation conjugates with ultrasonic pretreatment. *Food Hydrocolloids*, 112, 106278.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106278>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. MRS broth ผสมกับ L- cysteine (MRS+L broth)

MRS broth	52.2	กรัม
L- cysteine Hydrochloride Monohydrate	0.5	กรัม

ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร คนจนละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C 15 นาที

2. MRS Agar ผสมกับ L- cysteine (MRS+L Agar)

MRS broth	52.2	กรัม
L- cysteine Hydrochloride Monohydrate	0.5	กรัม
Agar	15	กรัม

ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร คนจนละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C 15 นาที

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารเคมี

1. 0.85% (w/v) NaCl

NaCl	8.5	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

2. Phosphoric 50%

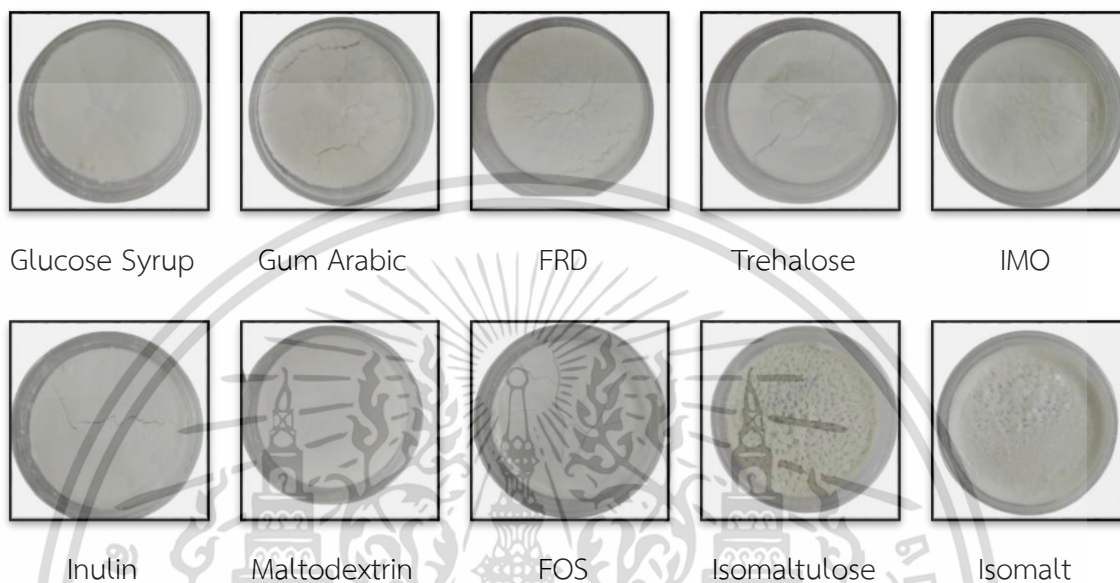
ตวง Phosphoric 85% (v/v) 58.82 มิลลิลิตร เทกรดลงน้ำกลั่นคนให้เข้ากัน แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร



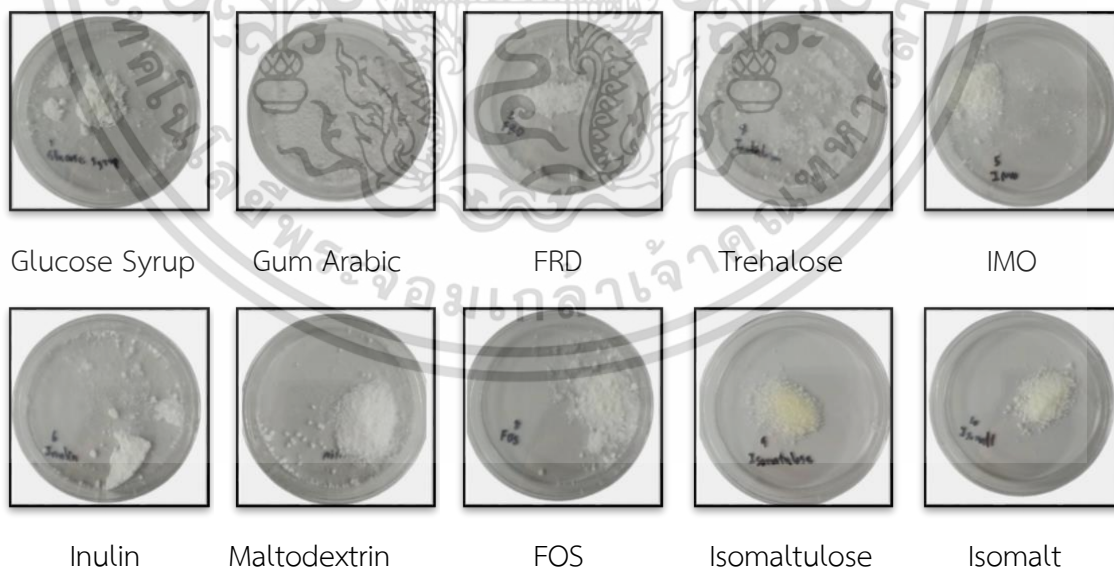
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ลักษณะของสารปกป้องเซลล์หลังทำแห้งและหลังทำให้เป็นผง

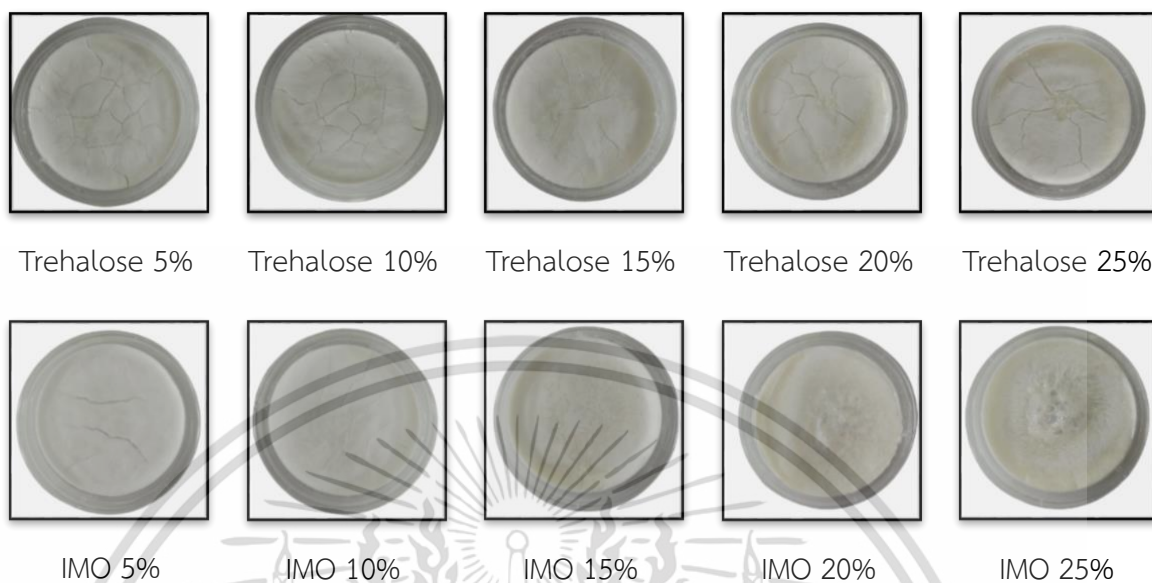


รูปที่ 1 แสดงลักษณะของสารปกป้องเซลล์ทั้ง 10 ชนิด หลังทำแห้ง

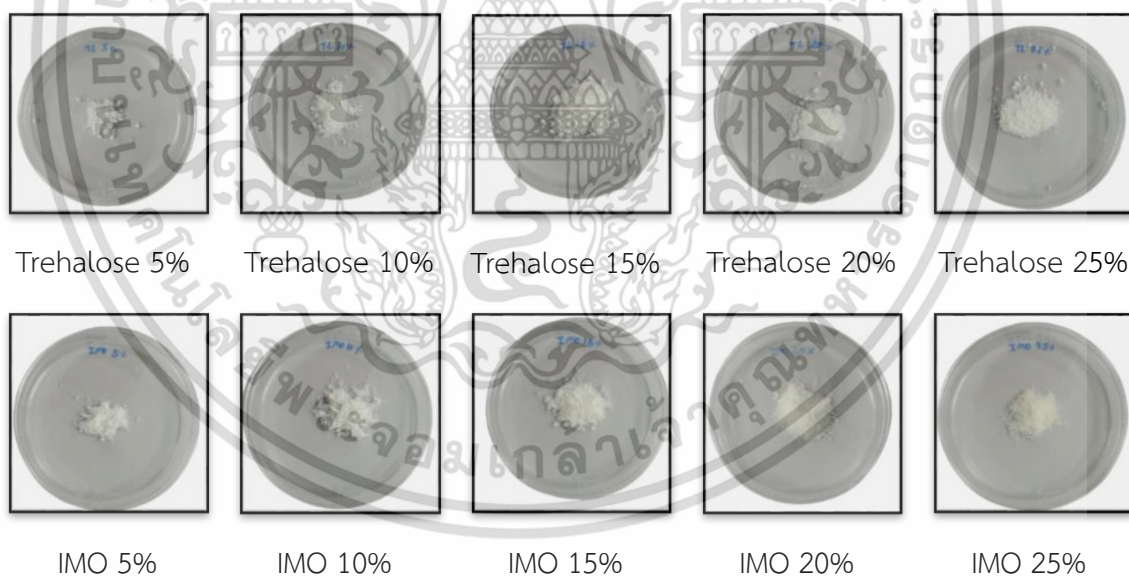


รูปที่ 2 แสดงลักษณะของสารปกป้องเซลล์ทั้ง 10 ชนิด หลังทำให้เป็นผง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3 แสดงลักษณะของสารปกป้องเซลล์ทั้ง 2 ชนิด ที่ความชื้น 5-25% หลังทำแห้ง

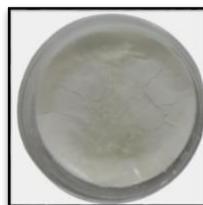


รูปที่ 4 แสดงลักษณะของสารปกป้องเซลล์ทั้ง 2 ชนิด ที่ความชื้น 5-25% หลังทำให้เป็นผง

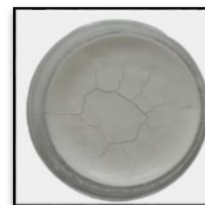
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Trehalose 1:0.5



Trehalose 1:1



Trehalose 1:2



IMO 1:0.5



IMO 1:1



IMO 1:2

รูปที่ 5 แสดงลักษณะของสารปกป้องเซลล์ทั้ง 2 ชนิด ที่อัตราส่วนน้ำหนักรักษาเชื้อเป็ยกต่อน้ำหนักสารปกป้องเซลล์ หลังทำแห้ง



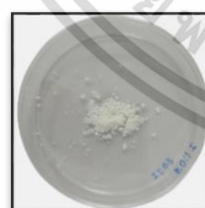
Trehalose 1:0.5



Trehalose 1:1



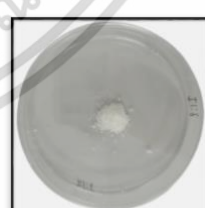
Trehalose 1:2



IMO 1:0.5



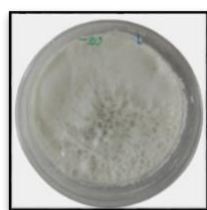
IMO 1:1



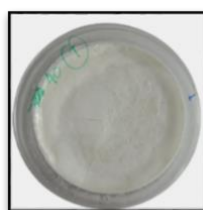
IMO 1:2

รูปที่ 6 แสดงลักษณะของสารปกป้องเซลล์ทั้ง 2 ชนิด ที่อัตราส่วนน้ำหนักรักษาเชื้อเป็ยกต่อน้ำหนักสารปกป้องเซลล์ หลังทำให้เป็นผง

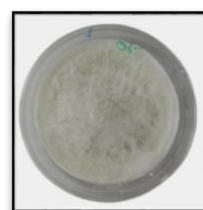
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



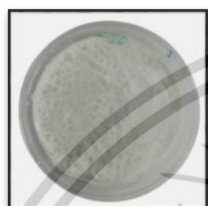
Trehalose ที่ -20 °C



Trehalose ที่ -40 °C



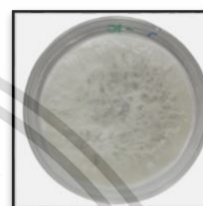
Trehalose ที่ -80 °C



IMO ที่ -20 °C



IMO ที่ -40 °C



IMO ที่ -80 °C

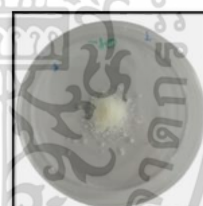
รูปที่ 7 แสดงลักษณะของสารปกป้องเซลล์ทั้ง 2 ชนิด ที่อุณหภูมิต่างๆ หลังทำแห้ง



Trehalose ที่ -20 °C



Trehalose ที่ -40 °C



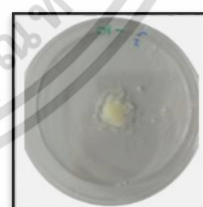
Trehalose ที่ -80 °C



IMO ที่ -20 °C



IMO ที่ -40 °C



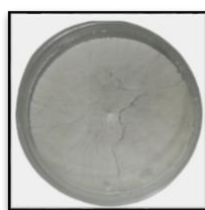
IMO ที่ -80 °C

รูปที่ 8 แสดงลักษณะของสารปกป้องเซลล์ทั้ง 2 ชนิด ที่อุณหภูมิต่างๆ หลังทำให้เป็นผง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Condition 1



Condition 2



Condition 3

รูปที่ 9 แสดงลักษณะของสารปกป้องเซลล์ชนิด Trehalose ในกระบวนทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง หลังทำแห้ง



Condition 1



Condition 2

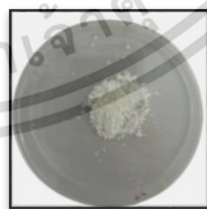


Condition 3

รูปที่ 10 แสดงลักษณะของสารปกป้องเซลล์ชนิด Trehalose ในกระบวนทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง หลังทำให้เป็นผง



Condition 1



Condition 2

รูปที่ 11 แสดงลักษณะของสารปกป้องเซลล์ชนิด Trehalose ในกระบวนทำแห้งแบบพ่นฝอยหลังทำให้เป็นผง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



งานทะเบียนคณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
คำรับรองเล่มโครงการ สหกิจศึกษา

วันที่ 19 เดือน มีนาคม พ.ศ 2567

ข้าพเจ้า นางสาวรุ่งนภา ศรีรักษา รหัสประจำตัว 63050514

นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ภาควิชาชีววิทยา ขอรับรองว่า
โครงการสหกิจศึกษา เรื่อง

ชื่อภาษาไทย การศึกษาสารปกป้องเซลล์ที่เหมาะสมสำหรับเชื้อ *Lactobacillus paracasei*
TISTR 2593 ในกระบวนการทำแห้ง

ชื่อภาษาอังกฤษ Study of cryoprotectant for *Lactobacillus paracasei* TISTR 2593 in
the drying process

ปีการศึกษา 2566

เป็นผลงานวิจัยที่มีได้คัดลอก หรือละเมิดลิขสิทธิ์ของผู้อื่น และได้ผ่านการตรวจสอบความซ้ำซ้อน
เรียบร้อยแล้ว และได้แนบเอกสารการตรวจสอบการลอกเลียนงานวรรณกรรมที่ตรวจสอบจากเล่ม
โครงการสหกิจศึกษาฉบับสมบูรณ์แล้ว
โปรแกรมอักขราวิสุทธิ์ 2.10 %

ลงชื่อ.....รุ่งนภา ศรีรักษา.....

(นางสาวรุ่งนภา ศรีรักษา)

นักศึกษา

ข้าพเจ้า ดร. กวินชญา สายแก้ว อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการสหกิจศึกษา ได้ตรวจสอบโครงการสหกิจศึกษา
ของนักศึกษาข้างต้นแล้ว ขอรับรองว่าเป็นผลงานวิจัยของนักศึกษาจริงและมีเนื้อหาสมบูรณ์ จึงลงชื่อไว้เป็น
หลักฐาน

ลงชื่อ.....กวินชญา สายแก้ว.....

(ดร. กวินชญา สายแก้ว)

อาจารย์ที่ปรึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้