

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การรอดชีวิตของจุลินทรีย์โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่รมควันและไส้กรอกเปรี้ยว
(Probiotics survival in chicken cocktail sausage and fermented sausage)

จัดทำโดย

นางสาวรณิดา สุเมธ สาขาเทคโนโลยีการหมัก รหัส 47040820
นายวัชร รัตน์ สาขาเทคโนโลยีการหมัก รหัส 47040823

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

.....
(ผศ.ดร.ศศิวิมล ชื่นอิม อาเหม็ด)

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน..... 85434
วัน,เดือน,ปี 11 พ.ย. 2551

12009933

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นางสาวรณิดา สุเมธ และนายวัชร รัตนะ : การรอดชีวิตของจุลินทรีย์โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่รมควันและไส้กรอกเปรี้ยว (Probiotic survival in chicken cocktail sausage and fermented sausage).

สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมัก ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.ศศิวิมล ชื่นอิม อาเหม็ด

บทคัดย่อ

ในการทดลองได้มีแนวคิดในการเสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่ 2 ชนิด คือ ไส้กรอกไก่รมควัน และไส้กรอกเปรี้ยว เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติก โดยใช้เชื้อ *Lactobacillus acidophilus* La5 ที่ผ่านการเคลือบเซลล์ด้วยเจลบุกผสมเพคติน โดยวิธีเอ็กซ์ทรูชัน จากการศึกษาอัตราการรอดชีวิตของเชื้อ *L. acidophilus* ในไส้กรอกเปรี้ยวพบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น จำนวนเชื้อ *L. acidophilus* ก็มากขึ้นด้วย แต่เมื่อนำมาทำให้สุกโดยการทอดที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส นาน 7 นาที พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ไม่สามารถรอดชีวิตที่สภาวะดังกล่าวได้ในกรณีของไส้กรอกไก่รมควันพบว่าการเสริมโพรไบโอติก La5 ที่ผ่านการเคลือบเซลล์สามารถรักษาอัตราการรอดชีวิตของเชื้อ *L. acidophilus* ในระหว่างกระบวนการผลิตและเก็บรักษาผลิตภัณฑ์โดยมีปริมาณเชื้อรอดชีวิตมากกว่า 7 log (cfu/g) ในวันที่ 20 ของการเก็บรักษาและเมื่อทดสอบการยอมรับลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่รมควันเสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติกกับไส้กรอกไก่รมควันที่ไม่ได้เสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติกพบว่าลักษณะทางประสาทสัมผัสโดยรวมนั้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ยกเว้นปัจจัยด้านความเปรี้ยว

.....
รณิดา สุเมธ

รณิดา สุเมธ

.....
วัชร รัตนะ

วัชร รัตนะ

.....
ผศ.ดร.ศศิวิมล ชื่นอิม อาเหม็ด

.....
02 / 05 / 51

วัน / เดือน / ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เฉพาะในเพื่อการศึกษานี้ ไม่นิยมนำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การนำเสนอปัญหาพิเศษในหัวข้อเรื่อง การรอดชีวิตของจุลินทรีย์โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่รมควันและไส้กรอกเปรี้ยวไก่ (Probiotics survival in chicken cocktail sausage and chicken fermented sausage) สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ผู้จัดทำขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ศศิวิมล ชื่นอ้อม อาเหม็ด ซึ่งให้เกียรติเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาคอยให้คำแนะนำปรึกษาด้านการวิจัยค้นคว้า รวมทั้งแก้ไขรายงานฉบับนี้ให้มีความถูกต้องและสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเพื่อนๆ สาขาเทคโนโลยีการหมัก ที่คอยช่วยเหลือ ให้คำแนะนำในครั้งนี้ และที่สำคัญขอขอบพระคุณ คุณพ่อและคุณแม่ที่เอื้ออุปการณ์ต่างๆ ในการทำปัญหา และเป็นกำลังใจในการทำงาน รวมทั้งสนับสนุนทางการศึกษามาตลอด

นางสาวรณิดา สุเมธ

นายวัชร รัตนะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
<u>บทที่ 1</u> บทนำ	1
<u>บทที่ 2</u> วารสารปริทัศน์	
2.1 โพรไบโอติก	3
2.2 ไมโครเอนแคปซูลชั้น	8
2.3 บุก	10
2.4 เพคติน	12
2.5 ไล์กรอกนมควัน	13
2.6 ไล์กรอกเปรี้ยว	16
2.7 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	17
2.8 <i>Lactobacillus acidophilus</i>	19
<u>บทที่ 3</u> อุปกรณ์ และ วิธีการ	
3.1 วัตถุประสงค์ อุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง	20
3.2 วิธีการทดลอง	21
<u>บทที่ 4</u> ผลการทดลอง	
4.1 อัตราการรอดชีวิตของเชื้อ <i>L. acidophilus</i> La5 ที่ผ่านการเคลือบเซลล์ด้วยเจลบุกผสมเพคติน โดยวิธีอิเล็กโทรพoration ในผลิตภัณฑ์ไล์กรอกนมควัน	27
4.2 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ไล์กรอกนมควันที่บรรจุเชื้อ <i>L. acidophilus</i> La5 ที่ผ่านการเคลือบเซลล์ด้วยเจลบุกผสมเพคติน โดยวิธีอิเล็กโทรพoration	30
4.3 อัตราการรอดชีวิตของเชื้อ <i>L. acidophilus</i> La5 ที่ผ่านการเคลือบเซลล์ด้วยเจลบุกผสมเพคติน โดยวิธีอิเล็กโทรพoration เปรียบเทียบกับเซลล์อิสระในผลิตภัณฑ์ไล์กรอกเปรี้ยว	31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
<u>บทที่ 5</u> สรุปผลการทดลอง	34
บรรณานุกรม	35
ภาคผนวก ก.	38
ภาคผนวก ข.	42
ภาคผนวก ค.	76
ภาคผนวก ง.	77



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1 จำนวนเชื้อ <i>L. acidophilus</i> La5 ที่รอดชีวิตในผลิตภัณฑ์ ไส้กรอกไก่อรมควันที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็นเป็นเวลา 20 วัน	28
4.2 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่อรมควัน ที่บรรจุเชื้อ <i>L. acidophilus</i> La5 ที่ผ่านการเคลือบเซลล์ ด้วยเจลบุกผสมเพคติน โดยวิธีเอ็กซ์ทรูชัน	30
4.3 จำนวนเชื้อ <i>L. acidophilus</i> La5 ที่รอดชีวิตในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยว ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน	32



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 เทคนิคเอ็กซ์ทรูชัน (Extrusion)	9
4.1 ปริมาณเชื้อ La5 ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่อรมควัน เก็บรักษา ในอุณหภูมิตู้เย็น เริ่มจากวันที่ 0 (หลังต้ม)	28
4.2 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของผลิตภัณฑ์ ไส้กรอกไก่อรมควัน ที่มีการเติมเชื้อ <i>L. acidophilus</i> La5 และเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็นเป็นเวลา 20 วัน	29
4.3 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่อรมควัน ที่มีการเติมเชื้อ <i>L. acidophilus</i> La5 และเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็นเป็นเวลา 20 วัน	29
4.4 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยว ที่มีการเติมเชื้อ <i>L. acidophilus</i> La5 และเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน	33
4.5 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวที่มีการเติมเชื้อ <i>L. acidophilus</i> La5 และเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน	33

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ในปัจจุบันแนวโน้มการบริโภค และการส่งออกไก่เนื้อ ของไทยในปี พ.ศ. 2550 มีการพัฒนาขึ้นมา ความก้าวหน้าของอุตสาหกรรมไก่เนื้อของไทยส่งผลให้มีการขยายตลาด การส่งออกเพิ่มขึ้นร้อยละ 6.5-7.0 จากปี พ.ศ. 2549 โดยปริมาณการส่งออกไก่เนื้อและผลิตภัณฑ์ของไทยคาดว่าจะอยู่ที่ 330,000 ตัน ตลาดส่งออกที่สำคัญของไทยได้แก่ ญี่ปุ่น และ สหภาพยุโรป แม้ว่าแนวทางการส่งออกไก่เนื้อและผลิตภัณฑ์ของไทยไปยังตลาดหลัก ในปี พ.ศ. 2550 จะขยายตัวได้แต่อุปสรรคที่สำคัญของการส่งออกไก่เนื้อของไทยก็ยังคงปรับตัวกับการปรับขึ้นราคาวัตถุดิบของอาหารไก่ที่มีมูลค่าสูงขึ้น อีกทั้งประเทศไทยยังมีคู่แข่งอย่างบราซิล ซึ่งเป็นอีกประเทศหนึ่งที่มีการส่งออกไก่เนื้อมากเป็นอันดับต้นๆของโลก

การแปรรูปผลิตภัณฑ์ไก่เนื้อจึงเป็นแนวทางหนึ่งซึ่งสามารถส่งผลทำให้ราคาของผลิตภัณฑ์ไก่เนื้อเพิ่มขึ้นและยังสามารถยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไก่เนื้อได้ การแปรรูปผลิตภัณฑ์ไก่เนื้อสามารถทำได้หลายรูปแบบ ซึ่ง ผลิตภัณฑ์ได้รับความนิยมในหลายประเทศ เช่น ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่ สามารถนำมาพัฒนาให้เป็นผลิตภัณฑ์เสริมจุลินทรีย์ โพรไบโอติก ซึ่งก็จะเป็นการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพอีกรูปแบบหนึ่งและยังเป็นการขยายตลาดสู่กลุ่มผู้ที่บริดภาคที่รักสุขภาพอีกด้วย เนื่องจากยุคปัจจุบันมนุษย์เราหันมาใส่ใจกับสุขภาพมากขึ้น จุลินทรีย์โพรไบโอติกเป็นที่นิยมในกลุ่มผู้รักสุขภาพโดยเฉพาะในต่างประเทศซึ่งจะพบว่าผลิตภัณฑ์อาหารที่เสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติกมากมายโดยส่วนใหญ่มักเป็นผลิตภัณฑ์จากนม เช่นโยเกิร์ต เนื่องจากพบว่าอัตราการอยู่รอดของโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์นมดีกว่าในผลิตภัณฑ์อาหารอื่นๆดังนั้นในการทดลองจึงสนใจที่จะพัฒนาผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่เสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติกเพื่อเป็นการเพิ่มทางเลือกแก่ผู้บริโภคให้ได้รับประโยชน์จากการบริโภคโพรไบโอติกอีกทางหนึ่ง

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ผ่านการเคลือบเซลล์ในระหว่างกระบวนการผลิตและเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่รมควัน
2. เพื่อศึกษาอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ผ่านการเคลือบเซลล์ในระหว่างกระบวนการหมักไส้กรอกเปรี้ยวไก่
3. เพื่อทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่โพรไบโอติก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 โพรไบโอติก (Probiotic) (<http://www.micro.sc.su.ac.th/new/webboard/?read,4,13>)

คำว่า โพรไบโอติก (Probiotic) ถูกนำมาใช้เป็นครั้งแรกในรายงานการวิจัยทางวิทยาศาสตร์ของ Lilly และ Stillwell ในปี พ.ศ. 2508 เพื่อกล่าวถึงสารที่จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งขับออกมา และช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นการทำงานที่ตรงข้ามกับการทำงานของยาปฏิชีวนะ (antibiotic) ที่จะทำลายจุลินทรีย์เกือบทุกชนิด

โพรไบโอติกคือ แบคทีเรียที่ดี มีประโยชน์ต่อเรานี้ อาศัยอยู่ในลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่ของมนุษย์ ตั้งแต่เกิด ทำหน้าที่ช่วยย่อยอาหารและผลิตสารอาหารที่ดีมีประโยชน์ ได้แก่ กรดอะมิโน กรดแลคติก พลังงาน ไบโตามินเค ไบโตามินบี และสารปฏิชีวนะธรรมชาติหลายชนิด จากการศึกษาวิจัยพบว่าเซลล์ของจุลินทรีย์โพรไบโอติก สายพันธุ์ที่คัดเลือกมาเป็นพิเศษที่ถูกดูแลและอยู่ในสภาพแวดล้อมที่ควบคุมเฉพาะ และมีความเข้มข้นในปริมาณที่เหมาะสม มีคุณสมบัติการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายให้ทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อป้องกัน ซ่อมแซมร่างกายให้เข้าสู่ภาวะปกติ พร้อมทั้งสร้างสมดุล ส่งเสริมสุขภาพ กำจัดโรคร้าย ซึ่งจะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อร่างกาย ดังนี้

1. กรดแลคติกที่แบคทีเรียผลิตออกมา จะทำให้สภาวะภายในลำไส้ มีความเป็นกรดมากพอที่จะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค
2. ทำให้ระบบขับถ่ายดี ไม่เกิดการหมักหมมของของเสียในร่างกาย เป็นการลดอัตราเสี่ยงของการเกิดมะเร็ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งมะเร็งลำไส้ใหญ่ และมะเร็งตับ
3. ไบโตามินบีที่ได้ จะทำให้เซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันทำงานอย่างมีประสิทธิภาพ และยังทำให้มีการผลิตเม็ดเลือดแดงดีขึ้นด้วย
4. ช่วยยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง และกำจัดสารก่อมะเร็งบางชนิด
5. แลคติกแอซิดแบคทีเรีย ยังช่วยลดระดับน้ำตาลและโคเลสเตอรอลในเลือดด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. ผลิตภัณฑ์แลคเตส ซึ่งช่วยย่อยน้ำตาลในนม ทำให้เราไม่มีอาการท้องอืดจากการดื่มนม และช่วยให้การดูดซึมแคลเซียมดีขึ้น

7. สร้างสมดุลของเมตาบอลิซึมในร่างกาย จึงช่วยสร้างสมดุลให้ร่างกายโดยรวม

8. เพิ่มระดับภูมิคุ้มกัน ทำให้ร่างกายมีความแข็งแรง สามารถต่อสู้เชื้อโรคได้ดี

9. สร้างสารแบคทีเรียโอซิน ที่เลือกทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในร่างกาย

10. ช่วยลดอาการอาหารเป็นพิษ ปรับสมดุลของระบบย่อยอาหาร

11. ช่วยทำให้ผิวพรรณผ่องใส ลดการเกิด สิว ฝ้า

12. ช่วยลดความวิตกกังวล และคลายความซึมเศร้า

13. ช่วยทำให้ร่างกายเพิ่มการดูดซึมแคลเซียมและธาตุเหล็ก

14. ช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคกระดูกผุ

นอกจากใช้ในอุตสาหกรรมอาหารแล้ว โพรไบโอติกส์ก็ยังถูกใช้ในการรักษาโรคทางเดินอาหาร และในการทดลองทางการแพทย์อย่างแพร่หลาย อาทิ การใช้ *Lactobacillus rhamnosus* GG ในการบรรเทาและป้องกันอาการท้องร่วงในเด็กทารก การใช้ *Bifidobacteria* และ *Lactobacilli* ร่วมกันในการรักษาอาการท้องร่วงอย่างรุนแรง และช่วยลดอัตราการเจ็บป่วยด้วยโรคทางเดินอาหารและการเสียชีวิตในทารกที่คลอดก่อนกำหนด นอกจากนี้ยังมีหลักฐานจากงานวิจัยทางการแพทย์อีกหลายชิ้นที่ยืนยันว่า *Bifidobacteria* สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันในร่างกายได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ตัวอย่างโพรไบโอติกส์ที่มีขายในปัจจุบัน (พ.ศ. 2547) (<http://th.wikipedia.org>)

- 1) *Lactobacilli*
- *Lactobacillus acidophilus*
 - *Lactobacillus casei*
 - *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*
 - *Lactobacillus reuteri*
 - *Lactobacillus brevis*
 - *Lactobacillus rhamnosus*
- 2) Gram-positive cocci
- *Lactococcus lactis subsp. cremoris*
 - *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- *Enterococcus faecium*

- 3) *Bifidobacteria*
- *Bifidobacterium bifidum*
 - *Bifidobacterium adolescentis*
 - *Bifidobacterium animalis*
 - *Bifidobacterium infantis*
 - *Bifidobacterium longum*
 - *Bifidobacterium thermophilum*

ในปี ค.ศ. 1974 Parker ได้ให้คำจำกัดความว่า โพรไบโอติก คือสิ่งมีชีวิตและสารเคมีที่มีผลต่อสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ คำจำกัดความล่าสุด ซึ่งเสนอโดย Fuller ในปี พ.ศ. 2532 อธิบายคำว่า โพรไบโอติก คืออาหารเสริมซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิต สามารถก่อประโยชน์ต่อร่างกายของสิ่งมีชีวิตที่มันอาศัยอยู่ โดยการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในร่างกาย จนในที่สุดปี ค.ศ. 1992 Havenaar และ Veid ได้ขยายคำจำกัดความของ โพรไบโอติกว่า จะต้องประกอบด้วย จุลินทรีย์ที่มีชีวิตซึ่งอาจมีเพียงชนิดเดียว หรือเป็นส่วนผสมของจุลินทรีย์หลายชนิด ที่สามารถไปปรับปรุงคุณสมบัติของจุลินทรีย์ดั้งเดิมที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของสัตว์นั้น โดยจุลินทรีย์เหล่านี้อาจอยู่ในรูปของเซลล์แห้งจากขบวนการระเหิดแห้ง (freeze-dried cells) หรืออยู่ในรูปผลิตภัณฑ์หมัก ซึ่งนอกจากไปส่งเสริมการเจริญเติบโตแล้ว ยังทำให้คนและสัตว์มีสุขภาพดีขึ้นด้วย และโพรไบโอติก ไม่ใช่จำกัดการใช้เฉพาะในทางเดินอาหารเท่านั้น ยังอาจไปมีผลต่อระบบอื่นๆ เช่น ทางเดินหายใจส่วนต้น หรือระบบปัสสาวะ และระบบสืบพันธุ์

2.1.1 ชนิดของจุลินทรีย์โพรไบโอติก (<http://www.vcharkarn.com/vcafe/56540>)

2.1.1.1 ลักษณะของเชื้อ Lactobacillus

Lactobacilli เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ มีลักษณะเป็นแท่งสั้นๆ เป็นพวก แฟคัล เดทีฟแอนแอโรบ เป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์ ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ แยกได้จากทางเดินอาหาร ในลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่ นอกจากนี้ยังพบบริเวณช่องคลอดอีกด้วย เจริญได้ในสภาวะกรด Lactobacilli สามารถใช้น้ำตาลซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนและผลิตกรดแลคติกได้มากกว่าร้อยละ 85 ในการหมักแบบไฮโมเฟอร์เมนเททิฟ หรือได้กรดแลคติกร้อยละ 50 คาร์บอนไดออกไซด์ เอทานอล และกรดแอซีติก ในการหมักแบบเฮเทอโรเฟอร์เมนเททิฟ เจริญได้ที่พีเอช 4.0-4.5 อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญคือ 30-40 องศาเซลเซียส

อย่างไรก็ตามไม่ใช่ทั้งหมดของ Lactobacillus ทุกสายพันธุ์ที่จะมีประสิทธิภาพในการต่อต้าน จุลินทรีย์ก่อโรคในลำไส้ มีการทดลองใช้อาสาสมัครที่มีสุขภาพแข็งแรง 23 คน รับประทานผลิตภัณฑ์ โพรไบโอติกที่มี *L. acidophilus* และ *L. bulgaricus* แล้วลองให้ได้รับเชื้อ *E. coli* ชนิดที่สร้างเอ็นเทอโรท็อกซิน พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทั้งในอัตราการเกิดโรค ระยะฟักตัวและระยะเวลาในการเกิดโรค เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ได้รับโพรไบโอติก *Saccharomyces boulardii* ถูกนำมาใช้ในการทดลองเกี่ยวกับการป้องกันและรักษาโรคท้องร่วงที่สัมพันธ์กับการติดเชื้อ *Clostridium difficile* ใช้ผู้ป่วยจำนวนทั้งหมด 180 คน ในการทดลอง เป็นกลุ่มควบคุม 20 คน พบว่าผู้ป่วยที่ได้รับโพรไบโอติกร้อยละ 9.5 มีอาการท้องเสีย เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่มีอาการร้อยละ 22 ดังนั้น การใช้โพรไบโอติกช่วยลดการเกิดอาการท้องร่วงที่สัมพันธ์กับการติดเชื้อ *C. difficile* ถึงแม้ว่า *S. boulardii* จะไม่สามารถป้องกันเชื้อก่อโรคได้ก็ตาม

2.1.1.2 ลักษณะของเชื้อ Bifidobacteria

Bifidobacteria เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่ต้องการอากาศอย่างแท้จริง มีรูปร่างเป็นแท่งคล้ายตัว Y และไม่ผลิตก๊าซ ถูกค้นพบครั้งแรกโดย Tissier ในปี ค.ศ. 1900 ซึ่งแยกได้จากอุจจาระของเด็กทารก และตั้งชื่อว่า *Bacillus bifidus* และจัดเข้าสู่จีนัส Bifidobacterium ในปี ค.ศ. 1920 (Orla-เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Jensen, 1924) คุณสมบัติที่สำคัญคือ สามารถหมักน้ำตาลเฮกไซสได้เป็นกรดแลคติกโดยผ่านวิถีฟอสโฟคีโตเลท (phosphoketolase pathway) เมื่ออยู่ในสภาวะไม่เหมาะสมต่อการเจริญก็จะเกิดการเปลี่ยนแปลงเซลล์ให้มีกิ่งก้านมากมายในอาหารที่ขาด เบต้า-เมทิล-ดี-กลูโคซามีน (b-methyl-D-glucosamine) เซลล์ที่มีลักษณะเป็นสองส่วนเท่ากันจะเกิดรูปร่างที่แตกแขนงมากขึ้น (Glick และคณะ, 1960) และเมื่อมีการเติมกรดอะมิโนเพียงเล็กน้อยในอาหารเลี้ยงเชื้อ เซลล์ที่เป็นกิ่งก้านมากมายจะเปลี่ยนเป็นแท่งโค้ง bifidobacteria นี้ พบได้ในลำไส้เล็ก ลำไส้ใหญ่ และช่องคลอด ผลิตวิตามินบี อุดหนุนที่เหมาะสมในการเจริญคือ 37-41 องศาเซลเซียส พีเอชที่เหมาะสมคือ 5.5-7.0 ผลิตกรดแลคติก กรดแลคติก ทำให้เพิ่มความเป็นกรดในลำไส้

2.1.2 หลักการทำงานของโพรไบโอติก

1. ลดจำนวนจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค
 - สร้างสารปฏิชีวนะ (Antibacterial substance)
 - ขัดขวางเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค
 - สามารถจับกับผนังของลำไส้ ทำให้จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคไม่สามารถเกาะ และก่อตัวในทางเดินอาหารได้
2. ช่วยระบบการย่อยอาหาร
 - สร้างกรดแลคติก ทำให้กระเพาะมีสภาพเป็นกรดมากขึ้นทำให้การย่อยอาหารมากขึ้น
 - สร้างน้ำย่อยเช่น เพคตินเนส , เซลลูเลส
 - ลดพิษของ เอมีน และแอมโมเนีย
3. กระตุ้นภูมิคุ้มกันโรค
 - มีการสร้างแอนติบอดีมากขึ้น
 - เพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของแมคโครฟาจซึ่งเป็นเซลล์ชนิดหนึ่งที่ทำหน้าที่ในการกินจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคหรือสารแปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกาย

2.1.3 แลคโตบาซิลัส แอซิโตฟิลัส และ บิฟิโดแบคทีเรียมีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกที่ดี

(<http://www.maesot-hospital.com>)

1. ช่วยระบบขับถ่ายทำงานได้ดี ช่วยให้อุจจาระนิ่ม ท้องไม่ผูก

2. เมื่อลงไปถึงลำไส้ จะเกาะจับอยู่ที่เยื่อบุลำไส้ กลายเป็นตัวป้องกันอีกชั้นหนึ่ง ทำให้เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จุลินทรีย์ ก่อโรคไม่สามารถเกาะ และฝังตัวที่เยื่อบุลำไส้ เพื่อเข้าสู่ผนังลำไส้ได้

3. จุลินทรีย์เหล่านี้ ยังจะช่วยย่อยน้ำตาลแลคโตสในนม แก้ปัญหาท้องเสีย ท้องอืด ให้กับผู้ที่ดื่มนมไม่ได้

4. ช่วยย่อยโปรตีนในนม

5. ช่วยกระตุ้นให้ร่างกายดูดซึมสารอาหาร เช่น แคลเซียม และเหล็กได้ดีขึ้น

6. ให้ผลผลิตประเภทกรดอินทรีย์ และสารแอนติไบโอติก ซึ่งช่วยยับยั้งการเจริญเติบโต ของจุลินทรีย์ก่อโรค

7. จุลินทรีย์บีโอดีแบคทีเรียยังสามารถผลิตวิตามินบีต่างๆ ได้อีกด้วย

8. ที่สำคัญที่สุด ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันตามธรรมชาติของร่างกายมนุษย์ อันจะส่งผลให้สุขภาพแข็งแรง ไม่เจ็บป่วยง่ายนั่นเอง

9. โยเกิร์ตผสมจุลินทรีย์สุขภาพ จึงมีประโยชน์กว่าโยเกิร์ตทั่วไป และเหมาะสมอย่างยิ่งกับผู้ป่วย ที่ได้รับยาปฏิชีวนะ หรือผู้สูงอายุ ซึ่งมีจำนวนจุลินทรีย์ในลำไส้ลดน้อยลง

10. มีความทนทานต่อกรดในกระเพาะอาหาร และต่างในลำไส้เล็ก ทำให้สามารถเคลื่อนผ่านไปจนถึงลำไส้ส่วนล่างได้ ขณะที่ยังมีชีวิตอยู่ และมีปริมาณมาก (10^6 cfu/g) พอที่จะสร้างประโยชน์ให้แก่ร่างกาย

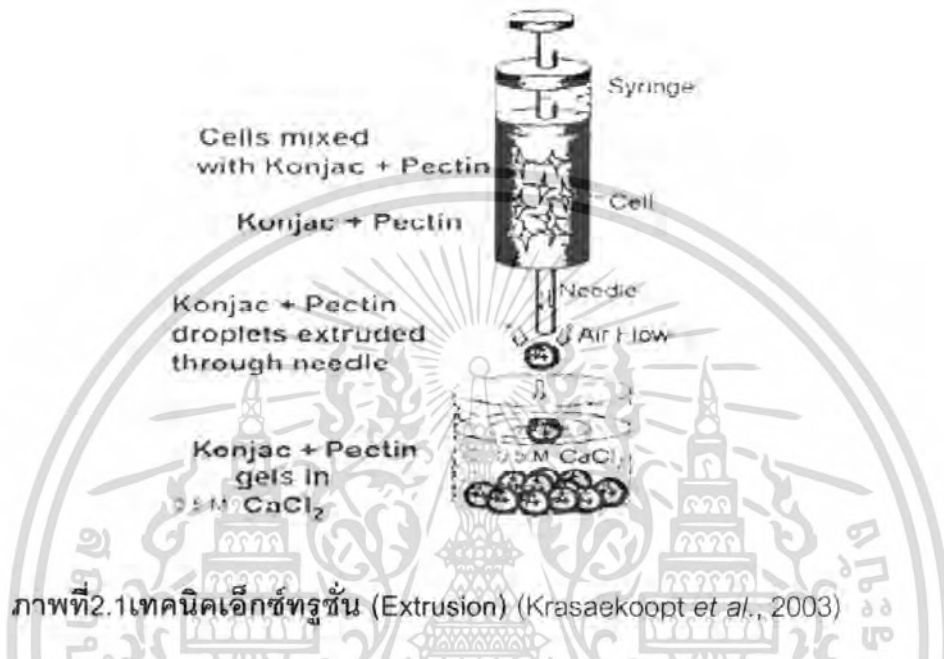
2.2 ไมโครเอนแคปซูลชัน (Microencapsulation)

การป้องกันจุลินทรีย์โพรไบโอติกด้วยเทคนิคไมโครเอนแคปซูลชัน ก็เพื่อปรับปรุงอัตราการรอดชีวิตในผลิตภัณฑ์อาหารและระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ (Rao et al.,1989) วัตถุประสงค์ของการเพิ่มของอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์เพื่อสามารถนำไปใช้ในอาหารหมักหลายชนิด (Champagne et al .,1992a; Champagne et al .,1992b; Champagne et al .,1993; Champagne et al .,1994) เช่น การผลิตที่ทำจากหางนม ประโยชน์ของการห่อหุ้มเซลล์ คือ ปกป้องเซลล์จุลินทรีย์ให้อยู่ในเม็ดบีดส์ หรือโครงสร้างของสารที่ใช้เคลือบ เพื่อให้เกิดความคงตัวในระหว่างการเก็บรักษา (Kim et al ., 1988; Kebary et al ., 1998)

เทคนิคการเคลือบเซลล์ถูกนำมาใช้กับจุลินทรีย์โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์อาหารหมักหรือการผลิตมวลเซลล์ (biomass production) ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 วิธี คือวิธีเอ็กซ์ทรูชัน (extrusion) และวิธีอิมัลชัน (emulsion) ทั้ง 2 วิธี สามารถเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติกได้ถึง 80-95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น เมื่อคุณผู้เห็นใบนี้โปรดอย่าเผยแพร่ให้ผู้อื่น
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Audet et al., 1988; Rao et al., 1989; Sheu and Marshall, 1991; Sheu and Marshall, 1993; Sheu et al., 1993; Jankowski et al., 1997; Keব্য et al., 1998)



ภาพที่ 2.1 เทคนิคเอ็กซ์ทรูชัน (Extrusion) (Krasaekoopt et al., 2003)

เทคนิคเอ็กซ์ทรูชัน (Extrusion) เป็นวิธีเก่าแก่ที่สุดและเป็นที่ยอมรับ เนื่องจากเป็นวิธีที่ไม่ซับซ้อน ซึ่งอาศัยการพอร์มเม็ดเจลในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) เริ่มจากการเตรียมสารละลายไฮโดรคอลลอยด์ เช่น โซเดียมอัลจิเนต และเติมจุลินทรีย์ลงไป จากนั้นขับเซลล์ให้ไหลออกจากรูของเข็มฉีดยา ในรูปของหยดสารละลายและทำให้แข็งตัวหรือขึ้นรูปในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ขนาดและรูปร่างของเม็ดเจลจะขึ้นกับเส้นผ่านศูนย์กลางของเข็ม และระยะห่างของแต่ละหยด วิธีนี้เป็นวิธีที่นิยมมากที่สุด เนื่องจากง่าย สะดวก ราคาถูก และไม่มีสภาวะที่เป็นอันตรายต่อเซลล์ เช่น ความร้อนหรือแรงเฉือน เซลล์ที่แขวนลอยอยู่ในสารละลายโซเดียมอัลจิเนตจะถูกหยดลงในสารละลายที่มีประจุบวกมาก (โดยทั่วไปใช้แคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) ในรูปของสารละลายแคลเซียมคลอไรด์) และเกิดการพอร์มเป็นเม็ดเจลในทันที การห่อหุ้มเซลล์ของอัลจิเนตจะอยู่ในโครงสร้างที่สานกันเป็นร่างแหสามมิติที่มีการเชื่อมของพันธะไอออนิก การเคลือบเซลล์จะให้ผลดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อมที่เหมาะสมสำหรับวัตถุดิบที่ใช้ในการดักจับ (entrapped material) โดยมีราคาถูก ใช้งานง่าย และเข้ากันได้ (biocompatibility) กับสิ่งมีชีวิต

เอ็กซ์ทรูชันเป็นอีกวิธีการหนึ่งสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 บุก (konjac glucomannan) (www.konjac-glucomannan.com/konjac.html)

บุก เป็นพืชที่เจริญเติบโตในพื้นที่แถบภูเขา ที่ห่างไกลจากสภาวะมลพิษทางอากาศและทางน้ำ ในเมือง อย่างเช่น ยาฆ่าแมลงและปุ๋ยเคมี องค์ประกอบหลักของบุก คือ กลูโคสแมนแนน ซึ่งเป็นเส้นใยธรรมชาติที่สามารถละลายน้ำได้

ชาวญี่ปุ่นเรียก บุก ว่า Konnyaku และชาวญี่ปุ่นนำรากของ Konnyaku มาทำเป็นแป้งใช้ประกอบอาหารญี่ปุ่นมานานกว่า 2000 ปี จนกระทั่งปัจจุบันมีนักวิทยาศาสตร์ได้เปิดเผยว่า บุกมีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีไขมันและ แคลอรีต่ำ ช่วยลดระดับน้ำตาลคอเลสเตอรอล และ ไตรกรีเซอไรด์ในเลือด อีกทั้งยังช่วยทำความสะอาดลำไส้โดยสามารถขจัดของเสียออกจากระบบทางเดินอาหาร บรรเทาอาการท้องผูกและที่สำคัญสามารถช่วยควบคุมน้ำหนัก ในอุตสาหกรรมอาหารให้ความสนใจกับบุกโดยใช้แทนคาร์โบไฮเดรต ด้วยเหตุเพราะบุกมีแคลอรีต่ำ ช่วยพัฒนาเนื้อสัมผัสธรรมชาติของผลิตภัณฑ์ บุกช่วยรักษาความชุ่มชื้นของผลิตภัณฑ์อาหารบางชนิดได้เป็นอย่างดี

2.3.1 องค์ประกอบของบุก (www.acroyali.com/konjac%20power.htm)

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

2.3.2 คุณสมบัติของบุก (www.glucomannan.com)

1. ความสามารถในการละลายน้ำ (water solubility)

konjac glucomannan (KGM) สามารถละลายน้ำได้อย่างรวดเร็วและสามารถดูดซับน้ำได้อย่างรวดเร็ว ประมาณ 100-200 เท่าของปริมาตรเดิม สารละลายบุกเป็นสารละลายประเภท pseudo - plastic liquid ซึ่งมีลักษณะเฉพาะคือ ถูกแยกเป็นแผ่นบางๆ ส่วนหนึ่งของบุกประกอบด้วยเส้นใยของ macromolecules ที่พันกันเป็นสายยาวและเมื่อสัมผัสกับน้ำจะดูดซับเข้าไปในเส้นใย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของ macromolecules อย่างช้าๆ เป็นผลให้อนุภาคของ macromolecules ขยายได้ถึง 200 เท่าจากปริมาตรเดิม และกลายเป็นของเหลวที่มีลักษณะข้นหนืด

2. สารให้ความข้นหนืด (Thickener)

บุกเป็นสารโมเลกุลใหญ่ และมีความเหนียวหนืดและแข็งแรงที่สุดในบรรดา dietary fiber อื่นๆ มีความหนาแน่นสูงโดยธรรมชาติและมีหมู่ acetyl groups ในผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วย konjac glucomannan จะเป็นสารละลายที่มีความหนืดสูง ตัวอย่างเช่น 1% ของผงบุกในน้ำ (ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส) จะมีความข้นหนืดอยู่ในช่วง 20,000 cP ถึงกว่า 40,000 cP และให้ความหนืดสูงกว่าสารให้ความหนืดตามธรรมชาติชนิดอื่นๆ บุกสามารถทำงานร่วมกับสารพวก คาราจีแนน แชนแทนกัม โลกอสปีนกัม (LBG) และแบ่งได้ ตัวอย่างเช่นการเติมบุก 0.02-0.03 % กับแชนแทนกัม 1 % จะทำให้มีความหนืดเพิ่มขึ้น เมื่อมีการให้ความร้อนเพิ่มขึ้น ด้วย คอนยัค - แชนแทนเจล (konjac -xanthan jel) เป็นโมเลกุลที่ยึดติดติดกัน และมีความยืดหยุ่นที่ดี

3. สารให้ความคงตัว (stabilizer)

Konjac gum แตกต่างจากแชนแทนกัม กัวกัม หรือ โลกอสปีนกัม เพราะ Konjac gum เป็นชนิดไม่มีประจุ (non-ionic) ดังนั้นเกลือจึงมีอิทธิพลต่อบุกน้อยมาก บุกสามารถคงตัวอยู่ได้โดยปราศจากการตกตะกอนถึงแม้ว่าค่า pH จะลดลงถึงระดับที่ต่ำกว่า 3.3 บุกยังใช้แทนโลกอสปีนกัม เพื่อเป็นสารให้ความคงตัวในไอศกรีมเนย และผลิตภัณฑ์นมอื่นๆ เพราะบุกสามารถปกป้องการเปลี่ยนแปลงของเม็มน้ำแข็งเล็กๆได้

4. สารทำให้เกิดเจล (Gelling agent)

บุกมีคุณสมบัติเป็นได้ทั้งเจลที่ผันกลับได้ด้วยความร้อน (Thermal reversible gel) และเจลที่ไม่สามารถผันกลับได้ด้วยความร้อน (Thermal irreversible gel) ภายใต้สภาวะที่แตกต่างกันการเกิดเจลที่ผันกลับได้ด้วยความร้อนกับสารประกอบ

ระหว่าง กลูโคแมนแนน กับสารประกอบไฮโดรฟิลิคคอลลอยด์ (Hydrophilic colloid)

) เช่น คาราจีแนน (carageenan) เพคติน (pectin) เจลาติน (gelatin) โซเดียมอัลจิเนต (sodium alginate) ทำให้เกิดสารประกอบที่เป็นของแข็งภายใต้อุณหภูมิห้อง (ไม่เกิน 40 องศาเซลเซียส) แต่ถ้าเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นคือ 50 องศาเซลเซียส หรือมากกว่า จะทำให้กลายเป็นสถานะของเหลว เนื่องจาก konjac glucomannan เป็น โพลีแซคคาไรด์ที่ประกอบไปด้วยหน่วยย่อยซ้ำๆกัน แต่เมื่อมีการเติมต่างอ่อนๆ เช่น แคลเซียมไฮดรอกไซด์ (CaOH_2) จะทำให้เกิดเจลที่มีความแข็งแรงยืดหยุ่นและไม่ละลายเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น

โดยปกติแล้วสารละลาย konjac glucomannan จะไม่เกิดเจลเนื่องจากมี หมู่ acetyl อยู่ในโครงสร้างซึ่งป้องกันการเข้าใกล้ของโมเลกุลอื่นๆ แต่เมื่อให้ความร้อนในสภาวะที่ (pH 9-10) จะทำให้เกิดโครงสร้างที่เป็นเจลขึ้น โดยที่เจลนี้จะมีควมคงตัวแม้ว่าจะมีสภาวะที่มีอุณหภูมิสูงถึง 100-200 องศาเซลเซียส ก็ตาม (เป็นเจลที่ไม่สามารถผันกลับได้ด้วยความร้อน) ทั้งนี้เนื่องจากการให้ความร้อนในสภาวะต่างอ่อนๆจะไปกำจัดหมู่ acetyl ในโครงสร้างของ konjac glucomannan

5. สารทำให้เกิดฟิล์ม (film former)

konjac glucomannan สามารถทำให้เกิดฟิล์มได้ด้วยตัวของมันเองหรือการผสมอยู่ร่วมกับ gum อื่นๆ เช่น คาราจีแนน

6. เป็นแหล่งใยอาหาร (Dietary fiber) ที่ละลายน้ำ

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

2.4 เพคติน (pectin) (Rolin ,1993)

เพคตินเป็นโพลีแซคคาไรด์ที่ได้จากธรรมชาติ สกัดได้จากพืชและผลไม้ส่วนใหญ่ เช่น พืชตระกูลส้มทุกชนิด แอปเปิ้ล องุ่น แครอท กัลวย ถั่ว และบีท เป็นต้น โดยการtritด้วยกรดร้อน ซึ่งจะไฮโดรไลซ์โปรโตเพคติน(protopectin) ให้เป็นเพคติน เพคตินจัดเป็นเส้นใยอาหารที่ละลายน้ำได้ (soluble dietary fiber)

เพคตินประกอบด้วย กรดกาแลกทูโรนิก (galacturonic acid) เป็นองค์ประกอบหลัก โดยกรดกาแลกทูโรนิกจะถูกเอสเทอร์ไฟต์บางส่วนด้วยหมู่เมทิลได้ ซึ่งโครงสร้างของเพคตินขึ้นอยู่กับแหล่งวัตถุดิบและกระบวนการสกัด Low methoxy pectin มี degree of esterification (DE) น้อยกว่า 50% สามารถฟอร์มเจลที่แข็งแรงด้วยปฏิกิริยาของแคลเซียมไอออน (Ca^{2+}) หรือมัลติวาเลนต์แคทไอออน ซึ่งเชื่อมต่อกับสายของกรดกาแลกทูโรนิกเกิดเป็นแคลเซียมเพคตินไฮโดรเจล (calcium pectinate hydrogels) มีความเสถียรในสารละลายที่เป็นกรด เพคตินเป็นวัตถุเจือปนอาหารที่นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อทำหน้าที่หลายอย่าง ได้แก่ เป็นสารทำให้เกิดเจล เป็นสารเพิ่มความข้นหนืด และเป็นสารให้ความคงตัว

2.5 ไส้กรอกรมควัน (ยาวลักษณ์, 2547)

ไส้กรอกเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้เนื้อสัตว์มาแปรรูป เนื้อสัตว์จะผ่านการลดขนาดแล้วนำมาผสมกับเกลือ เครื่องเทศปรุงรสต่างๆ บรรจุใส่ไส้ แล้วรมควัน ทำให้อ่อนจนสุก หรือไม่ให้ความร้อนก็ได้ ไส้กรอกแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ ไส้กรอกชนิดหยาบ เช่น ซาลามิ (salami) อีกชนิดคือ ไส้กรอกชนิดบดละเอียด เช่น bologna ซึ่งมีส่วนผสมเป็นเนื้อเดียวกัน โดยอยู่ในสภาพอิมัลชัน ชนิดน้ำมันในน้ำ (oil in water emulsion) โดยมีเม็ดไขมันกระจายตัว รวมอยู่กับโมเลกุลของน้ำ ซึ่งโดยปกติ น้ำมันกับน้ำ จะไม่รวมตัวกัน จึงต้องมีสารช่วยในการรวมตัว (emulsifier) ซึ่งได้แก่ โปรตีนไมโอซิน และโปรตีนแอคตินจากเนื้อสัตว์ที่มีสมบัติละลายได้ในเกลือ ทำหน้าที่หุ้มเม็ดไขมันไว้ทำให้เกิดสารผสมที่คงตัว

ไส้กรอกชนิดบดละเอียดอิมัลชันเป็นผลิตภัณฑ์ที่นิยมมากในปัจจุบัน เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการสูง สะดวกในการบริโภค และสามารถเก็บรักษาได้นาน

2.5.1 ขั้นตอนการทำไส้กรอก (ชลธิชา และชุติมา, 2549)

การทำไส้กรอกเป็นกระบวนการที่มีขั้นตอนการผลิตที่ต่อเนื่องและสัมพันธ์กัน แต่ละขั้นตอนมีความสำคัญต่อคุณภาพวัตถุดิบ แบ่งเป็นขั้นตอนต่างๆ ดังนี้

การลดขนาด หมายถึง การดำเนินการเพื่อลดขนาดของชิ้นส่วนย่อยของเนื้อ (particle) ลง เพื่อจะสามารถนำไปรวมตัวกันเป็นรูปแบบอื่นๆตามต้องการได้ การลดขนาดชิ้นส่วนย่อยนี้ สามารถทำได้หลายระดับด้วยกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์เป็นสำคัญ ผลิตภัณฑ์บางชนิดอาจต้องการลด

ขนาดถึงเพียงระดับหยาบก็พอ แต่บางชนิดต้องลดขนาดถึงขั้นละเอียดและสามารถสร้างอิมัลชัน (emulsion) ไปด้วย ดังนั้นการลดขนาดจึงมีผลดีดังนี้ คือ

-ช่วยปรับปรุงความสม่ำเสมอของผลิตภัณฑ์ โดยการที่มีชิ้นส่วนในขนาดที่น้อยสม่ำเสมอและทำให้ส่วนประกอบต่างๆกระจายไปได้อย่างทั่วถึง

-ทำให้เนื้อมีความนุ่มถูกใจผู้บริโภค เพราะถูกลดขนาดลง

เครื่องมือที่ใช้ในการลดขนาดชิ้นส่วนย่อยของเนื้อ ได้แก่ เครื่องบด(meat grinder) เครื่องสับละเอียด(silent cutter) และเครื่องปั่นอิมัลชัน(emulsion mill) เป็นต้น ในการทำผลิตภัณฑ์เนื้อหลายๆชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่งการทำให้กรอกชิ้นตอนแรกๆจะประกอบไปด้วย

2.5.1.1 การบดเนื้อ(grinding)

เพื่อลดขนาดเนื้อลง โดยนำเนื้อไปผ่านการหั่นเป็นชิ้นเล็กๆเข้าเครื่องบดเนื้อ(meat grinder) ทำให้เนื้อมีขนาดเล็กลง เพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวในการสกัดโปรตีนที่ละลายได้ในเกลือ การทำผลิตภัณฑ์ทั้งบดหยาบและบดละเอียดจะต้องผ่านขั้นตอนการบด

2.5.1.2 การผสมในเครื่องผสม (Mixing)

หลังจากการบดแล้วจะนำเครื่องปรุงมาคลุกเคล้าผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน เพื่อให้ส่วนประกอบทุกอย่างมีการกระจายตัวออกไป ในส่วนผสมทั้งหมดอย่างทั่วถึงและสม่ำเสมอ

ไส้กรอกแบบอิมัลชันจะเตรียมจากเนื้อแดง น้ำแข็งหรือน้ำ เกลือ เครื่องปรุงรส และส่วนประกอบที่ช่วยในการหมักให้เกิดสี ได้แก่ โซเดียมไนไตรท์ โซเดียมไนเตรท และโซเดียมอิริโธเบท บดส่วนผสมต่างๆประมาณ 1-5 นาที แล้วจึงเติมไขมัน แล้วสับต่อไปอีกหลายนาที จนกระทั่งอิมัลชันคงตัว

การเติมน้ำและเกลือจะทำให้เกิดน้ำเกลือ ซึ่งจะละลายโปรตีนที่ละลายในน้ำเกลือออกมา เครื่องปรุงรสและส่วนประกอบในการหมักอื่นๆ ที่ช่วยให้เกิดสีของการหมักจะเติมไปพร้อมกับเนื้อ เพื่อให้แน่ใจว่าสามารถกระจายได้อย่างทั่วถึง หากมีการเติมสารที่ช่วยในการรวมตัวอื่นๆ (nonmeat binder) จะเติมไปพร้อมกับการบดเนื้อแดง หรืออาจเติมก่อนที่จะเติมไขมันจึงจะได้ผลดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.1.3 การบรรจุและผูกไส้

ส่วนผสมจะถูกนำมาเข้าเครื่องบรรจุและผูกไส้ เครื่องบรรจุที่ดีควรกำจัดอากาศออก ทำให้ไส้กรอกแน่นปราศจากอากาศ เครื่องผูกไส้มีทั้งชนิดใช้เชือกผูกสำหรับไส้กรอกขนาดเล็ก และขลิบโลหะสำหรับปิดหรือมัดปลายไส้กรอกขนาดใหญ่ ไส้ที่ใช้บรรจุอาจเป็นไส้ธรรมชาติจากสัตว์ หรือไส้สังเคราะห์ก็ได้

ก. ไส้บรรจุธรรมชาติ

ไส้บรรจุที่ทำมาจากลำไส้หรือส่วนของสัตว์ที่มีรูปร่างแน่นอน มีความคงทนตลอดทุกขั้นตอนในการทำผลิตภัณฑ์นั้นๆได้ ส่วนใหญ่ได้จากลำไส้และกระเพาะของสุกร โค กระบือ แพะ และแกะ

ไส้บรรจุธรรมชาตินี้มีคุณสมบัติที่ปล่อยให้ความชื้นและควันไฟซึมเข้าภายในเนื้อไส้กรอกได้ง่ายมาก และนอกจากนั้นยังสามารถหดตัวได้ จึงทำให้ไส้รัดแน่นเข้ากับเนื้อได้อย่างแนบสนิท จนอาจสูญเสียความชื้นได้ง่ายกว่าไส้สังเคราะห์ ส่วนใหญ่จึงใช้ในการทำกุนเชียง และ dry sausage ซึ่งสามารถรับประทานได้เข้าไปด้วยได้

ข. ไส้สังเคราะห์

ไส้ที่ผลิตขึ้นมาจำหน่ายโดยแบ่งออกได้เป็น 3 ชนิด

1) ไส้บรรจุเซลลูโลส ทำมาจากใยฝ้ายชั้นชนิดที่อยู่ติดกับเมล็ดฝ้าย(cotton linters) ซึ่งเตรียมได้โดยการละลายใยเหล่านี้ก่อน แล้วจึงดำเนินการสร้างให้เป็นไส้บรรจุขึ้นมาใหม่ ซึ่งขนาดของไส้ที่ได้จะมีความเป็นเอกรูป(uniform) มีปริมาณจุลินทรีย์ต่ำมาก และมีความแข็งแรงทนทานเป็นอย่างมาก

2) ไส้บรรจุคอลลาเจนชนิดบริโภาคได้ และชนิดบริโภาคไม่ได้ ทำมาจากการสร้างขึ้นมาใหม่ (regenerate) ของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันคอลลาเจนจากหนังสัตว์ ไส้บรรจุชนิดบริโภาคไม่ได้มีข้อดีคือ มีความแข็งแรงสม่ำเสมอและหดตัวได้อย่างเหมาะสม ส่วนไส้ชนิดบริโภาคได้เหมาะกับการทำไส้กรอกหมูสด โดยมีขนาดที่แตกต่างกันหลายแบบและมีความแข็งแรงกว่าไส้ธรรมชาติ

3) ไส้พลาสติกใช้สำหรับไส้กรอกบางชนิดที่ไม่ต้องนำไปรมควัน หรือทำให้สุก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.1.4 การรมควัน

การรมควันนี้อันที่จริงแล้วได้เริ่มต้นจากการทำให้เนื้อแห้ง โดยแขวนไว้บนเตาไฟหรือกองไฟ และต่อมาจึงเป็นการหันมารรมควันเพื่อให้มีรสชาติเฉพาะตัว และให้มีรูปร่างและสีสันทึ่ น่ากินมากกว่าที่จะเป็นไปเพื่อการถนอมอาหาร

ควันไฟอาจช่วยในแง่การเก็บรักษาได้บ้าง เนื่องจากสารเคมีในควันไฟบางชนิดมีคุณสมบัติในการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ และบางชนิดช่วยชะลอการเหม็นหืนได้ แต่ปริมาณของสารเหล่านั้นที่แทรกซึมอยู่ในเนื้อสัตว์ที่ถูกรรมควันมีปริมาณน้อยมาก

2.5.1.5 การทำให้สุก

มีวัตถุประสงค์ดังนี้

- ทำให้ไส้กรอกมีเนื้อแน่น โดยทำให้โปรตีนตกตะกอน และทำให้แห้งบางส่วน
- ทำให้สีของการหมักคงทน โดยการทำให้ไมโอโกลบินเสียสภาพธรรมชาติ และสุดท้ายสร้างสารไนโตรโซฮีโมโกลบิน
- พลาสติกใสไส้กรอก เพื่อยืดอายุการเก็บ

2.5.1.6 การเก็บรักษา

ควรบรรจุไส้กรอกในภาชนะที่เหมาะสมในห่อที่สะอาดและเย็น เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ และเก็บไว้ในห้องเย็นตลอดเวลาของการจำหน่าย

2.6 ไส้กรอกอีสานหรือไส้กรอกเปรี้ยว (Fermented sausage) (www.doae.go.th, 2550)

เป็นอาหารที่นิยมมาก ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ไส้กรอกอีสานหมายถึงผลิตภัณฑ์ที่ทำจากเนื้อหมู มันหมู ข้าวสุก เครื่องปรุงแต่งกลิ่นและรส บรรจุในไส้หมูหรือไส้ชนิดอื่นที่บริโภคได้และต้องทำให้สุกก่อนรับประทาน(มอก.1266-2537)ในระยะแรกของการหมักพบ *Pediococcus cerevisiae* ที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37-45 องศาเซลเซียส pH อยู่ในช่วง 4.5-5.6 การหมักระยะต่อมาเนื่องจากอยู่ในสภาพปราศจากอากาศ ทำให้จุลินทรีย์สร้างกรดเพิ่มขึ้น จนเหลือจุลินทรีย์ที่ทนกรดได้ไม่กี่ชนิด เมื่อนำตัวอย่างมาตรวจสอบพบเชื้อ *Lactobacillus sp.* มากในช่วงที่มี pH ประมาณ 5 หรือต่ำกว่านี้ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความชื้นเฉลี่ยร้อยละ 51-74 ได้กรอกอีสานที่จำหน่ายตามท้องตลาดทั่วไปนั้น ผู้ผลิตหมักและผึ่งแดดทิ้งไว้เพียง 1-2 วันเท่านั้น จึงมีรสเปรี้ยวน้อยกว่าแหมม แต่ก็ปลอดภัยจากจุลินทรีย์ที่อาจสร้างสารพิษได้ เนื่องจากได้กรอกอีสานต้องนำมาทำให้สุก โดยการปิ้ง ย่างหรืออบก่อนรับประทาน

ส่วนประกอบของได้กรอกอีสานคล้ายคลึงกับแหมม แต่มีข้อแตกต่างเล็กน้อยดังนี้คือ

1. เนื้อที่ใช้ไม่จำเป็นต้องเอาไขมันออก การผสมเนื้อแดงและไขมันขึ้นอยู่กับราคา ถ้าใช้ไขมันต่ำ ราคาจะสูงขึ้น อัตราส่วนของเนื้อแดง:ไขมัน ตั้งแต่ 80:20 จนถึง 50:50 อาจใช้หมูสามชั้นผสมหนังหมูต้มบดหยาบ ช่วยให้เกาะตัวและลดต้นทุน หรือหมูสามชั้นผสมเนื้อแดงก็ได้

2. ข้าวที่ผสม ใช้ได้ทั้งข้าวเหนียวและข้าวเจ้าที่สุกแล้ว ข้าวเหนียวก่อนนำมาผสม ล้างน้ำให้แยกตัวจากกัน เพื่อให้การกระจายตัวดีขึ้น และเพิ่มความชื้น อาจผสมในปริมาณสูงถึงร้อยละ 20-50

3. สารปรุงรสอื่น ๆ ได้แก่ ไนโตรท์ หรือสารผสม กลือ น้ำตาล ผงชูรส กระเทียม พริกไทย อาจผสมลูกผักชีป่นด้วยเพื่อให้มีกลิ่นหอม

4. ไม้ที่ใช้บรรจุ นิยมใช้ไม้เล็กของหมู ชูดเมือก ล้างสิ่งสกปรก หมักเกลือหรือกำจัดกลิ่นและเมือก ด้วยใบฝรั่ง ซึ่งมีคุณสมบัติดูดกลิ่น หรืออาจเคล้ากับแป้งมัน เพื่อดูดสิ่งสกปรกและกลิ่น ล้างหลายครั้งจนกว่าจะหมดกลิ่นเหม็น

2.7 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

อัตราการรอดชีวิตของบีฟิโดแบคทีเรียที่ผ่านการเคลือบเซลล์ด้วยเจลบุกผสมเพคติน ในผลิตภัณฑ์น้ำส้ม และไอศกรีมรสนม กองกัญจน์ และจุฑาภรณ์, (2549) ศึกษาอัตราการรอดชีวิตพบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น แนวโน้มการรอดชีวิตของเชื้อ Bb-12 ในผลิตภัณฑ์น้ำส้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยจำนวนเซลล์อิสระ เซลล์ที่ผ่านการเคลือบโดยวิธีอิมัลชันและเซลล์ที่ผ่านการเคลือบด้วยวิธีเอ็กซ์ทรูชัน ในวันที่ 0 มีค่าเท่ากับ 8.73, 10.22 และ 10.45 log CFU/ml ตามลำดับ แต่เมื่อผ่านไป 20 วัน พบว่าจำนวนเซลล์ Bb-12 ลดลงเหลือ 6.90, 8.05 และ 9.15 log CFU/ml ตามลำดับ คิดเป็นอัตราการรอดชีวิต (%) 79.04, 78.77 และ 87.56 ตามลำดับสรุปว่าเชื้อ Bb-12 ที่ผ่านการเคลือบเซลล์โดยวิธี เอ็กซ์ทรูชันมีอัตราการรอดชีวิตในผลิตภัณฑ์น้ำส้มสูงที่สุด

และจากการทดลองในไอศกรีมรสนมพบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น แนวโน้มของการรอดชีวิตของเชื้อ Bb-12 ในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมรสนมลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

95% โดยจำนวนเซลล์อิสระ เซลล์ที่ผ่านการเคลือบโดยวิธีอิมัลชันและเซลล์ที่ผ่านการเคลือบด้วยวิธีเอ็กซ์ทรูชัน ในวันที่ 0 มีค่าเท่ากับ 8.84, 8.92 และ 9.38 log CFU/ml ตามลำดับ แต่เมื่อผ่านไป 56 วัน พบว่าจำนวนเซลล์ Bb-12 ลดลงเหลือ 7.05, 7.33 และ 8.20 log CFU/ml ตามลำดับ คิดเป็นอัตราการรอดชีวิต (%) 79.75, 82.17 และ 87.42 ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าเชื้อ Bb-12 ที่ผ่านการเคลือบเซลล์โดยวิธีเอ็กซ์ทรูชันมีอัตราการรอดชีวิตในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมรสนมสูงที่สุด

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยอีกมากมายเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์อาหารเสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติก โดยวิธีการต่างๆ เพื่อเพิ่มอัตราการรอดชีวิตในผลิตภัณฑ์ มาของเนส เนยแข็ง เพื่อก่อให้เกิดประโยชน์แก่ร่างกาย มากที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์อาหารเสริมโพรไบโอติก (Kailasapathy, 2002)

Culture	Technique/Mechanism	Product	Reference
<i>B. bifidum</i> , <i>B. infantis</i>	Calcium alginate	Mayonnaise	Khalit and Mansour, 1998
<i>L. paracasei</i>	Milk fat	Cheddar cheese	Stanton et al., 1998
<i>Enterococcus faecium</i>	Milk fat	Cheddar cheese	Gardiner et al., 1998
<i>B. bifidum</i> , <i>B. adolescentis</i>	Cream	White brined cheese	Ghoddusi and Robinson, 1998
<i>B. bifidum</i> , <i>B. infantis</i> , and <i>B. longum</i>	Calcium alginate gels	Crescenza cheese	Gobbeti et al., 1997
<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	k-Carrageenan and locust bean gum	Fresh cheese	Sodini et al., 1997
<i>L. casei</i>	Liquid core alginate capsule	Lactic acid	Yoo et al., 1996
<i>Lactobacilli</i>	Calcium alginate	Frozen dessert	Sheu and Marshall, 1993
<i>Lactococci</i>	Calcium alginate	Cream	Prevost and Divies, 1992
<i>L. casei</i>	k-Carrageenan and locust bean gum	Yoghurt	Lacroix et al., 1990

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 *Lactobacillus acidophilus* (www.en.wikipedia.org, 2551)



เชื้อแบคทีเรีย *L. acidophilus* ถูกใช้เป็นกล้าเชื้อเริ่มต้นในการผลิตโยเกิร์ต โดยคำว่า *lacto* หมายถึงนม *bacillus* หมายถึงรูปร่างเป็นแท่ง และ *acidophilus* หมายถึง ความชอบกรด จัดเป็น Homofermentative lactic acid bacteria กล่าวคือ เชื้อในกลุ่มนี้สามารถหมักน้ำตาลกลูโคส 1 โมเลกุล ไปเป็นกรดแลคติกในปริมาณที่มากกว่าร้อยละ 95 มีรูปร่างเป็นท่อน ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ ไม่สร้างสปอร์ ไม่สร้างเอนไซม์อะไมเลส สามารถเจริญได้ที่ pH ต่ำกว่าหรือเท่ากับ 5 และเจริญได้ดีที่ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส *L. acidophilus* เป็นจุลินทรีย์โปรไบโอติกชนิดหนึ่งที่อยู่กันดีในด้าน จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ และยังเป็นจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติในการลดอันตรายจากเชื้อ แบคทีเรียและยีสต์ตัวอื่นที่รอดมาอยู่บริเวณลำไส้เล็กได้ และสามารถผลิตเอนไซม์แลคเตส ซึ่งมีความสำคัญในการย่อยสลายน้ำตาลแลคโตสในนมได้ และช่วยให้ผู้ป่วยที่เป็นโรคขาดแคลนแลคโตส (lactose intolerance) ให้มีความสามารถในการย่อยแลคโตสในนมได้ และเชือนี้ยังมีความเกี่ยวข้องพันใน กระบวนการผลิตวิตามินบีอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วัตถุดิบ อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

- 3.1.1 *Lactobacillus acidophilus* La5 (CHR HANSEN)
- 3.1.2 ผงบุก (Food and Cosmetic System Co.,LTD)
- 3.1.3 เพคติน(Nutricol FMC Corporation, U.S.A.)
- 3.1.4 เนื้อไก่ (ส่วนสะโพก) (CPF บริษัท เจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด มหาชน)
- 3.1.5 ไข่เทียม (ไข่เซลลูโลส) (nippi incorporated, Japan)
- 3.1.6 ผงเพรค

3.2 สารเคมี

- 3.2.1 แคลเซียมคลอไรด์ (0.2M CaCl_2)
- 3.2.2 โพแทสเซียมคาร์บอเนต (K_2CO_3)
- 3.2.3 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (0.1 N NaOH)
- 3.2.4 โพแทสเซียมอะทาลิต ($\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$)
- 3.2.5 ฟีนอล์ฟทาลีน
- 3.2.6 แอลกอฮอล์ 95%
- 3.2.7 Modified MRS-IM Agar (ภาคผนวก)
- 3.2.8 peptone (เปปโตเน) (ภาคผนวก)
- 3.2.9 MRS broth

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์

- 3.3.1 เครื่องแก้วสำหรับตรวจวิเคราะห์
- 3.3.2 เครื่องฆ่าเชื้อด้วยไอน้ำอัตโนมัติ (autoclave) (Tomy autoclave ss-325)
- 3.3.3 ตู้บ่มเชื้อจุลินทรีย์(Kendo laboratory products,Germany)
- 3.3.4 เครื่องตีปั่นอาหาร(ASE^{CE}, France)
- 3.3.5 เครื่องหมุนเหวี่ยง (beckmanmanufacturing , U.S.A)
- 3.3.6 เครื่องบด(Seven five)
- 3.3.7 เครื่องบดผสม(ยี่ห้อ DITOSAMA บริษัท อีคิว จำกัด)
- 3.3.8 เครื่องวัดpH(Wissenschaftlich technische werkstätten D-82362 weilheim Germany)
- 3.3.9 เครื่องผสม(Vortex mixer) (G-560E , U.S.A.)
- 3.3.10 เครื่องชั่ง2ตำแหน่ง (ไฮแอนติฟิก โปรโมชัน)
- 3.3.11 เครื่องชั่ง4ตำแหน่ง(Onaus crop. Pine Brock, NJ , USA item AR 2140 no series 1225160123)
- 3.3.13 ตู้อบ (Mement 600 D06062)

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 การเตรียมเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* La5

3.4.1.1 ชั่งเชื้อบริสุทธิ์ La5 ในรูป lyophilized powder 1 g ลงในอาหาร MRS broth 500ml

3.4.1.2 นำไปบ่มในตู้บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.4.1.3 นำเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000xg นาน 10นาที เพื่อทำการแยกเซลล์ และล้างเซลล์ด้วย sterile 0.1% peptone

3.4.2 การเตรียมสารละลายบุก 1.5%

นำน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตรใส่ลงในบีกเกอร์ 250 มิลลิลิตร ให้ความร้อนจนมีอุณหภูมิประมาณ 85 องศาเซลเซียส ใส่บุก 0.3 กรัม ลงไปคนให้ละลายหมดจนได้เป็นสารละลายเจล

ใส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.3 การเตรียมสารละลายเพคติน 6%

นำน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตรใส่ลงในปีกเกอร์ 250 มิลลิลิตร ให้ความร้อนจนมีอุณหภูมิประมาณ 60 องศาเซลเซียส ใส่เพคติน 2.4 กรัม ลงไปคนให้ละลาย

3.4.5 การเตรียมเจลบุกผสมเพคติน (สวรรยา .2549)

นำสารละลายบุกและเพคตินที่เตรียมได้จากข้อ 3.4.2 และ 3.4.3 มาผสมกันให้เป็นเนื้อเดียวกันที่อุณหภูมิประมาณ 60 องศาเซลเซียส จากนั้นเติม K_2CO_3 ประมาณ 0.03 กรัม (10%ของน้ำหนักบุกที่ใช้) คนให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน

3.4.6 ศึกษาการรอดชีวิตของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* La5 ที่ผ่านการเคลือบเซลล์ด้วยเจลบุกผสมเพคติน โดยวิธีเอ็กซ์ทราซันในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่รมควันและไส้กรอกเปรี้ยว

3.4.6.1. การเคลือบเซลล์โดยวิธีเอ็กซ์ทราซัน

3.4.6.1.1. นำเจลผสมบุกและเพคตินที่เตรียมได้จากข้อ 3.4.5 ปริมาณ 15 กรัม เติมเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* La5 ที่ได้จากข้อ 3.4.1 ลงไป ผสมให้เชื้อกระจายสม่ำเสมอ

3.4.6.1.2. ดูดสารผสมที่ได้บรรจุในหลอดฉีดยา แล้วหยดผ่านรูเข็มฉีดยาเบอร์ 24 ลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.5M ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว รอให้เม็ดเจลแข็งตัวเป็นเวลา 30 นาที กรอง และล้างเม็ดเจลด้วยน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ

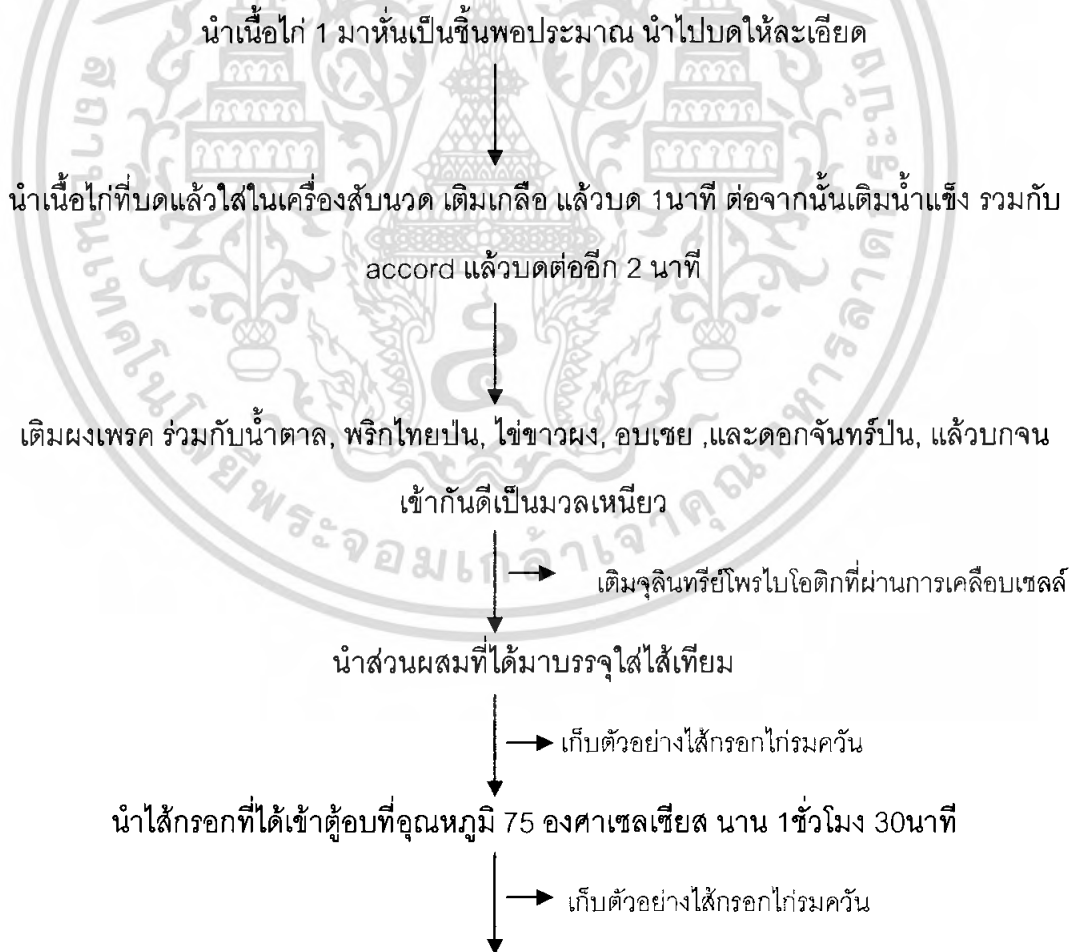
3.4.6.2 การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* La5 ที่ผ่านการเคลือบเซลล์ด้วยเจลบุกผสมเพคติน ในระหว่างกระบวนการผลิตและเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่รมควัน

3.4.6.2.1) ขั้นตอนการเตรียมไส้กรอกไก่รมควัน

- นำเนื้อไก่ 1 กิโลกรัม มาหั่นเป็นชิ้นพอประมาณ นำไปบดให้ละเอียด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

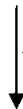
- นำเนื้อไก่ที่บดแล้วใส่ในเครื่องสับนวด เติมเกลือ 17.5 กรัม แล้วบด 1 นาที ต่อจากนั้น เติมน้ำแข็ง 1/3 ส่วน รวมกับ accord 5 กรัม แล้วบดต่ออีก 2 นาที
- เติมผงเพชร 2.5 กรัม ร่วมกับน้ำตาล 7.5 กรัม, พริกไทยป่น 4 กรัม, ไซขาวผง 7.5 กรัม, อบเชย 0.3 กรัม และดอกจันทน์ป่น 0.75 กรัม แล้วบดจนเข้ากันดีเป็นมวลเหนียว
- นำส่วนผสมที่ได้มาบรรจุใส่ไส้เทียม
- นำไส้กรอกที่ได้เข้าตู้อบรมควันที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง 30 นาที
- นำไส้กรอกที่ได้มาต้มในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที แล้วนำมาทำให้เย็นทันทีด้วยน้ำสะอาด
- บรรจุใส่ถุงพลาสติกแบบสุญญากาศ แล้วเก็บที่อุณหภูมิตู้เย็น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำไส้กรอกที่ได้มาต้มในน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที แล้วนำมาทำให้เย็น

ทันทีด้วยน้ำสะอาด



เก็บตัวอย่างไส้กรอกไกรมควัน

บรรจุใส่ถุงพลาสติกแบบสูญญากาศ แล้วเก็บที่อุณหภูมิตู้เย็น



เก็บตัวอย่างไส้กรอกไกรมควันในวันที่ 0, 5, 10, 15, 20

เพื่อวิเคราะห์อัตราการรอดชีวิตของเชื้อโพรไบโอติก

ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการผลิตไส้กรอกรมควันเสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติก

3.4.6.2.2) การวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* La5

ตรวจนับจำนวนเซลล์โพรไบโอติกที่มีชีวิตภายในเม็ดเจล โดยชั่งตัวอย่างไส้กรอกไกรมควัน 25 กรัม ใส่ลงในสารละลายเปปโตนความเข้มข้น 0.1% ปริมาตร 225 มิลลิลิตร แล้วนำไปตีปั่นด้วยเครื่อง stomacher เป็นเวลา 6 นาที จากนั้นจึงปิเปตมา 1 มิลลิลิตรเพื่อทำการเจือจางจนได้ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสม ด้วยสารละลายเปปโตนความเข้มข้น 0.1% pour plate ด้วยอาหาร Modified MRS-IM Agar (ภาคผนวก) แล้วนำไปบ่มใน candle jar อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.4.6.2.3) วิเคราะห์ความเป็นกรดโดยไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1N (ภาคผนวก)

3.4.6.2.4) วัดความเป็นกรดต่างโดยใช้เครื่อง pH meter

3.4.6.3 วิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* La5 ที่ผ่านการเคลือบเซลล์ด้วย เจลบุกผสม

เพคติน ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยว

3.4.6.3.1) ขั้นตอนการเตรียมไส้กรอกเปรี้ยว

- นำเนื้อไก่ 900 กรัม มาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เติมเกลือ 18 กรัม, ผงเพรค 1.8 กรัม แล้วนวดผสมให้เข้ากัน
- เติมน้ำตาลทราย 9 กรัม, พริกไทยป่น 4.5 กรัม และลูกผักชีป่น 2.25 กรัม แล้วคลุกให้เข้ากัน
- เติมห่วงสูง 315 กรัม และกระเทียม 90 กรัม แล้วคลุกผสมให้เข้ากัน
- บรรจุในไส้เทียม
- เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน



ภาพที่ 3.2 ขั้นตอนการผลิตไส้กรอกเปรี้ยวเสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติก

3.4.6.3.2) ทำการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* La5 และความเป็นกรด เช่นเดียวกับข้อ 3.4.6.2.2 - 3.4.6.2.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.7) การทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของไส้กรอกไก่ผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก

3.4.7.1) จำนวนผู้ทดสอบที่ไม่ได้รับการฝึกฝนทางประสาทสัมผัส ทั้งหมดมีจำนวน 31 คน

3.4.7.2) ปัจจัยที่ใช้ทดสอบ

ปัจจัยที่ใช้ในการทดสอบทางประสาทสัมผัสของไส้กรอกไก่มีทั้งหมด ดังนี้ ลักษณะของสีของไส้กรอก ลักษณะของเนื้อสัมผัสของไส้กรอก ลักษณะของกลิ่นไส้กรอก ลักษณะของรสชาติไส้กรอก ความชอบโดยรวม ความเปรี้ยวของไส้กรอก และ ความหยาบของเนื้อไส้กรอก

3.4.7.3) ระดับสเกลที่ทดสอบ

3.4.7.3.1) ระดับสเกลที่ทดสอบที่ใช้ในการทดสอบทางประสาทสัมผัสของไส้กรอกไก่มีทั้งหมด 3 รูปแบบดังนี้

- 1) ชอบมาก ชอบ ปานกลางไม่ชอบและไม่ชอบมาก
- 2) เปรี้ยวมาก เปรี้ยว ปานกลางไม่เปรี้ยวไม่เปรี้ยวมาก
- 3) หยาบมาก หยาบ ปานกลาง ละเอียดยืด ละเอียดยืดมาก

3.4.7.4) ใช้โปรแกรม One way Anova ในการวิเคราะห์ผล

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

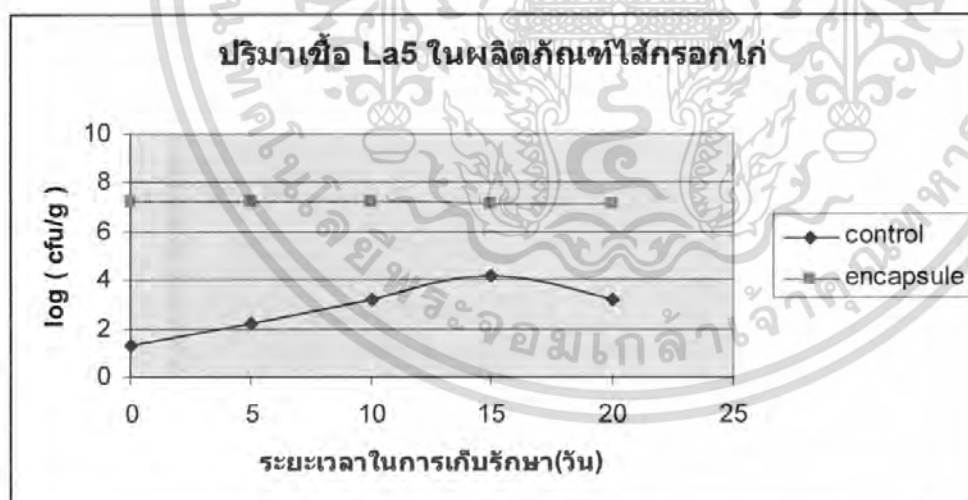
4.1 อัตราการรอดชีวิตของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* La5 ที่ผ่านการเคลือบเซลล์ด้วย เจลบุกผสมเพคติน โดยวิธีเอ็กซ์ทรูชันในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่รมควัน

จากการศึกษาการรอดชีวิตของโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่รมควัน ที่มีการเติมเชื้อ *L. acidophilus* La5 ที่ผ่านการเคลือบเซลล์ด้วยเจลบุกผสมเพคติน ในระหว่างกระบวนการผลิตและ (ตาราง 4.1) การเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็นเป็นเวลา 20 วัน (ภาพที่ 4.1) พบว่าหลังจากผ่านขั้นตอนการอบรมควันที่ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง ส่งผลทำให้มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ลดลงจาก 9.28 เป็น 7.23 (log CFU/g) ในขณะที่การต้มที่ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ส่งผลทำให้ปริมาณเชื้อลดลงเพียงเล็กน้อยจาก 7.23 เป็น 7.18 (log CFU/g) และเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น พบว่าอัตราการรอดชีวิตของเชื้อ *L. acidophilus* La5 ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่รมควันมีแนวโน้มค่อนข้างคงที่ โดยเซลล์ที่ผ่านการเคลือบโดยวิธีเอ็กซ์ทรูชัน ในวันที่ 0 มีค่าเท่ากับ 7.18 (log CFU/g) และเมื่อผ่านไป 20 วัน พบว่าจำนวนเซลล์ La5 เท่ากับ 7.11 (log CFU/g)

ภาพที่ 4.1 แสดงการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่รมควัน ที่มีการเติมเชื้อ *L. acidophilus* La5 ที่ผ่านการเคลือบเซลล์ด้วยเจลบุกผสมเพคตินในระหว่าง การเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็นเป็นเวลา 20 วัน พบว่าในวันที่ 0 ค่าความเป็นกรด-ด่าง และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่รมควันมีค่าเท่ากับ 6.28 และ 0.38 ตามลำดับโดยค่า pH มีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยซึ่งสอดคล้องกับค่า % กรดที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยโดยในวันที่ 20 มีค่า pH เท่ากับ 5.56 และ % กรด เท่ากับ 0.62

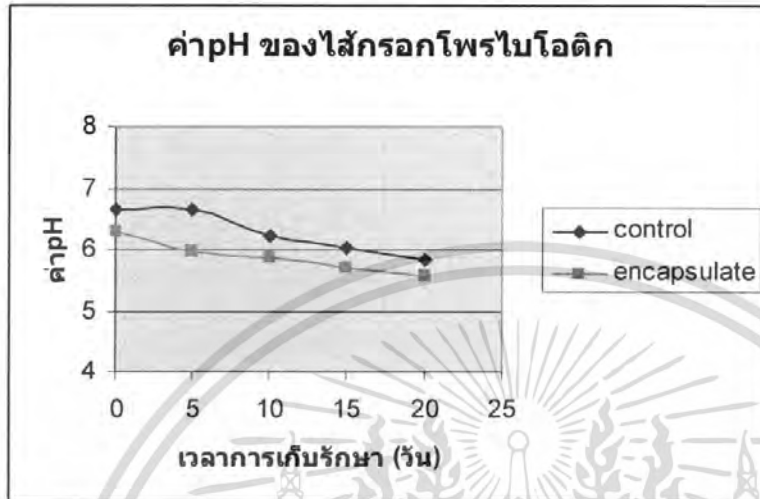
ตารางที่ 4.1 จำนวนเชื้อ *L. acidophilus* La5 ที่รอดชีวิตในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่รมควันที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็นเป็นเวลา 20 วัน

จำนวนเชื้อ La5 (log CFU/g)							
ระยะเวลาเก็บรักษา (วัน)	ก่อนอบรมควัน	หลังอบรมควัน	หลังต้มวันที่ 0	หลังต้มวันที่ 5	หลังต้มวันที่ 10	หลังต้มวันที่ 15	หลังต้มวันที่ 20
encapsulated	9.28	7.23	7.18	7.23	7.18	7.15	7.11

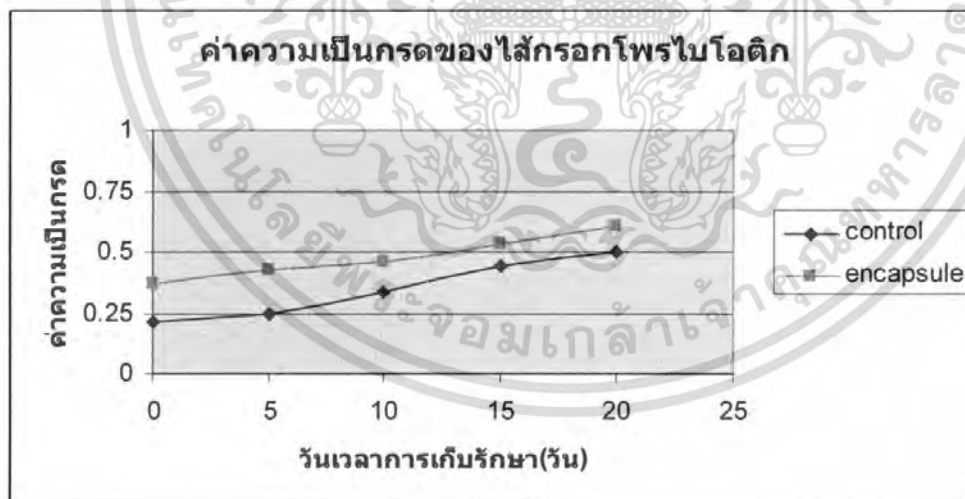


ภาพที่ 4.1 ปริมาณเชื้อ La5 ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่รมควัน เก็บรักษาในอุณหภูมิตู้เย็น เริ่มจากวันที่ 0 (หลังต้ม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่อรมควัน ที่มีการเติมเชื้อ *L. acidophilus* La5 และเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็นเป็นเวลา 20 วัน



ภาพที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่อรมควัน ที่มีการเติมเชื้อ *L. acidophilus* La5 และเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็นเป็นเวลา 20 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่รมควัน ที่เสริมโพรไบโอติก *L. acidophilus* La5 ที่ผ่านการเคลือบเซลล์ด้วยเจลบุกผสมเพคติน โดยวิธีเอ็กซ์ทราซัน

ปัจจัยการทดสอบ	เสริมโพรไบโอติก (encapsule)	ตัวอย่างควบคุม (control)
สี	3.32 ± 0.75 ^a	3.36 ± 0.76 ^a
ความเป็นเนื้อเดียวกัน	2.84 ± 0.90 ^a	3.10 ± 0.47 ^a
เนื้อสัมผัส	3.23 ± 0.62 ^a	3.42 ± 0.77 ^a
กลิ่น	3.26 ± 0.77 ^a	3.42 ± 0.99 ^a
ความเปรี้ยว	3.58 ± 0.67 ^a	3.13 ± 0.43 ^b
รสชาติ	2.87 ± 0.67 ^a	3.23 ± 0.85 ^a
ความชอบโดยรวม	3.26 ± 0.77 ^a	3.51 ± 0.92 ^a

*ตัวอักษรที่แตกต่างกันหมายถึงค่าเฉลี่ยที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

**ตัวอย่างไส้กรอกรมควันเสริมโพรไบโอติก ณ วันที่ 10 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น

จากการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของไส้กรอกรมควันที่เติมเชื้อ La5 encapsulated กับ ไส้กรอกรมควัน ที่เป็นตัวอย่างควบคุม(control) พบว่าผู้ทดสอบให้การยอมรับ สี , กลิ่น , รสชาติ , เนื้อสัมผัส , ความเป็นเนื้อเดียวกัน และความชอบโดยรวมของไส้กรอกทั้งสองชนิด พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ยกเว้นปัจจัยด้านความเปรี้ยวของไส้กรอก ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ทั้งนี้เนื่องจากความเปรี้ยวของเชื้อ La5 ที่เติมลงในไส้กรอกรมควันที่สามารถผลิตกรดแลคติกได้เล็กน้อยในระหว่างการเก็บรักษาในตู้เย็นจึงทำให้ความเปรี้ยวของไส้กรอกรมควันที่เติมเชื้อ La5 (encapsuled)กับ ไส้กรอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รมควัน (control) มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%อย่างไรก็ตามจะเห็นได้ว่าผู้ทดสอบให้การยอมรับได้กรอกรมควันที่ระดับความเปรียบ่วงกล่าว

4.3 อัตราการรอดชีวิตของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* La5 ที่ผ่านการเคลือบเซลล์ด้วย เจลบุกผสมเพคติน โดยวิธีเอ็กซ์ทราซันเปรียบเทียบกับเซลล์อิสระ ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยว

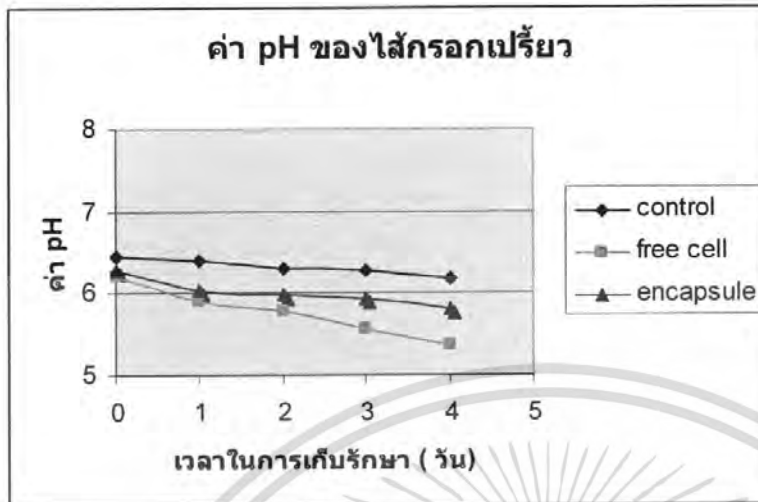
ตารางที่ 4.3 แสดงจำนวนเชื้อ *L. acidophilus* La5 ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยว โดยถูกเติมในรูปของเชื้อที่ผ่านการเคลือบด้วยเจลบุกผสมเพคติน (encapsulated cell) เปรียบเทียบกับการเติมในรูปของเซลล์อิสระ (free cells) และที่ไม่มีการเติมเชื้อเริ่มต้นใดๆ (หมักตามธรรมชาติ) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น เชื้อ *L. acidophilus* La5 ที่ผ่านการเคลือบเซลล์ เซลล์อิสระ และ control ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวในวันที่ 0 มีค่าเท่ากับ 4.00 (log CFU/g) , 4.04 (log CFU/g) และ 2.81 (log CFU/g) ตามลำดับ แต่เมื่อผ่านไป 4 วันพบว่าจำนวนเซลล์ La5 ที่ผ่านการเคลือบเซลล์และ control มีปริมาณเชื้อ เพิ่มขึ้นเป็น 14.30 (log CFU/g) และ 11.26 (log CFU/g) ในขณะที่เซลล์อิสระมีปริมาณเชื้อลดลงเหลือประมาณ 2.26 (log CFU/g) และเหลือเพียง 1.3 (log CFU/g) ในวันที่ 4

ภาพที่ 4.4 แสดงการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยว ที่มีการเติมเชื้อ *L. acidophilus* La5 ทั้งเซลล์อิสระและเซลล์ที่ผ่านการเคลือบเซลล์ และ control ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน พบว่ามีแนวโน้มลดลงสอดคล้องกับเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 4.5) โดยในวันที่ 0 ค่าความเป็นกรด-ด่าง และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวในส่วนของ capsule กับ free cell มีค่าเท่ากับ 6.27 , 0.27 และ 6.44 , 0.26 ตามลำดับซึ่งค่า pH และ ความเป็นกรดในวันที่ 0 นี้ทำให้ปริมาณเชื้อ La5 สามารถที่จะดำรงชีพ อยู่ได้ ส่วน ในวันที่ 4 ค่าความเป็นกรด-ด่าง และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยโดยในวันที่ 4 มีค่า pH เท่ากับ 5.82 , 1.08 กับ 6.17, 1.00 ซึ่งค่า pH และ ความเป็นกรดในวันที่ 4 นี้ เชื้อ La5 ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวในส่วนของ capsule รอดชีวิตอยู่ได้ แต่ เชื้อ La5 ผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวในส่วนของ free cell ไม่สามารถรอดชีวิตอยู่ได้

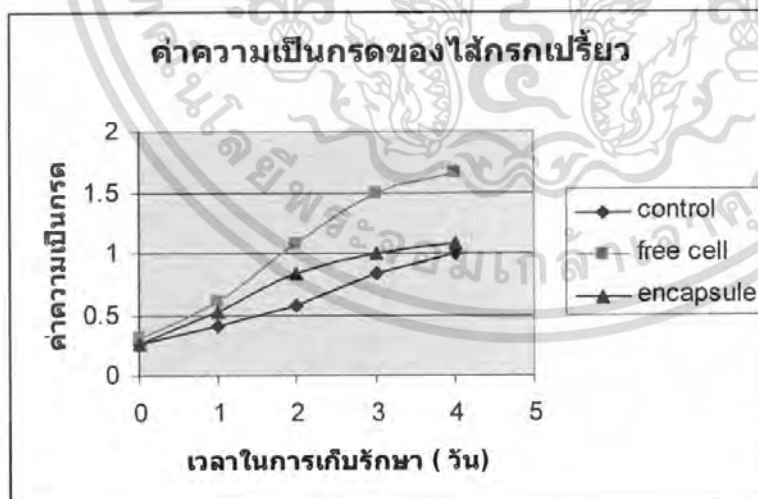
ตารางที่ 4.3 จำนวนเชื้อ *L. acidophilus* La5 ที่รอดชีวิตในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	จำนวนเชื้อ La-5(log CFU/g) ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยว		
	Free cell	Encapsulate cell	Control (เชื้อธรรมชาติ)
0	4.04	4.00	2.81
1	4.61	9.17	6.04
2	2.23	11.27	8.28
3	1.81	12.26	10.18
4	1.30	14.30	11.26
4 (หลังทอดที่อุณหภูมิ 110°C 7 นาที)	$< 1 \times 10^1$	2.43	$< 1 \times 10^1$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่4.4 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวที่มีการเติมเชื้อ *L. acidophilus* La5 และเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน (เริ่มจากวันที่0)



ภาพที่4.5 การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวที่มีการเติม

เชื้อ *L. acidophilus* La5 และเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน (เริ่มจากวันที่0)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

5.1.1 การเคลือบเซลล์ La5 ด้วยเจลบุกผสมเพคติน มีผลช่วยปกป้องอัตราการรอดชีวิตของ โพรไบโอติกในระหว่างกระบวนการการผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่อรมควันและในระหว่าง ที่เก็บรักษาที่ อุณหภูมิตู้เย็นได้โดยมีปริมาณเชื้อธรรมชาติมากกว่า 10^7 cfu/g ในวันที่ 20 ของวันที่เก็บรักษา

5.1.2 การเคลือบเซลล์ La5 ด้วยเจลบุกผสมเพคติน ก่อนเติมลงในผลิตภัณฑ์มีผลช่วยเพิ่ม อัตราการรอดชีวิตของ เชื้อ *L. acidophilus* La5 ในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยวจากความเป็นกรดที่ เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในระหว่างการหมัก

5.1.3 ผู้บริโภคให้การยอมรับผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่อรมควันที่เสริมโพรไบโอติก (encapsule) ด้าน สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส ความเป็นเนื้อเดียวกันและความชอบโดยรวม ไม่แตกต่างจาก ตัวอย่างควบคุม อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยมีคะแนนความชอบเฉลี่ยในช่วง ชอบถึงปานกลาง ส่วนด้านความเปรี้ยวพบว่า มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยความชอบโดยรวมของไส้กรอกที่เสริมโพรไบโอติก (encapsule) และไส้กรอกที่ไม่ได้เสริมโพรไบโอติก (control) มีค่าเท่ากับ 3.26 ± 0.77 และ 3.51 ± 0.92 ตามลำดับ

5.2 ข้อเสนอแนะ

- การทำไส้กรอกเสริมโพรไบโอติกขั้นตอนการทำ capsule นั้นต้องทำด้วยความระมัดระวัง เพราะเชื้อค่อนข้างบอบบาง ไม่ควรให้ความร้อนเกิน 75 องศาเซลเซียสเพราะอาจทำให้เชื้อตายได้

บรรณานุกรม

ก่องกัญจน์ เปี่ยมด้วยธรรม และจุฑาภรณ์ ปาลคะเซนทร์. 2549. เอกสารเสริมปัญหาพิเศษในหัวข้อเรื่อง อัตราการรอดชีวิตของบิฟิโดแบคทีเรียที่ผ่านการเคลือบเซลล์ด้วยเจลบุกผสมเพคตินในผลิตภัณฑ์น้ำส้ม ไอศกรีม และในสภาวะจำลองระบบทางเดินอาหาร. คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ชลธิชา หัตถินาถ และชุติมา ต้นสัตยาเลิศ. 2549. เอกสารเสริมปัญหาพิเศษในหัวข้อเรื่องชนิดและสัดส่วนของไขมันกับพรีอิมัลชันที่มีผลต่อลักษณะทางกายภาพ และลักษณะทางประสาทสัมผัสของไส้กรอกเนื้อพะ. คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 18-32.

บุญเทียม พันธุ์เพ็ง , อติศร เสวตวิวัฒน์ และ สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา .2549. เอกสารบทปฏิบัติการจุลชีววิทยาทางอาหาร.คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.บทที่2 หน้า 5-6

เยาวลักษณ์ สุรพันธ์พิศิษฐ์. 2547. เอกสารบทปฏิบัติการวิชาผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์. คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 25-26,32.

สวรรณยา เม็งเกิร์ต. 2549. เอกสารเสริมสัมมนาปริญญาโทในหัวข้อเรื่องอัตราการรอดชีวิตของเชื้อ

Lactobacillus acidophilus La5 ที่ผ่านการเคลือบเซลล์ด้วยบุกร่วมกับเพคตินในโยเกิร์ตพร้อมดื่มพาสเจอร์ไรซ์. คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

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.

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.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 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 technology to produce freeze-dried, phage-protected cultures of *Lactococcus lactis*. *Food Research International*, 25(6), 419-427.
- Jankowski, T., Zielinska, M., & Wysłowska, A. (1997). Encapsulation of lactic acid bacteria with alginate-chitosan capsules. *Biotechnology Techniques*, 11(1), 31-34.
- Kailasapathy, K. (2002). Microencapsulation of Probiotic Bacteria: Technology and Potential Applications. *Issues Intest. Microbiol*, 3, 39-48.
- Kearey, 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., Kamara, B. J., Good, I. C., & Enders, G. L. (1988). Method for the preparation of Stable microencapsulated lactic acid bacteria. *Journal of Industrial Microbiology*, 3(4), 253-257.
- Krasaekoopt, W., Bhandari, B., Deeth, H. (2003). Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *International Dairy Journal*, 13, 3-13.
- Roa, A. V., Shiwnarain, N., & Maharaj, I. (1989). Survival of microencapsulated Bifidobacterium *Pseudolongum* in simulated gastric and intestinal juices. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 22(4), 345-349.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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., (1991).Microencapsulation of lactobacilli in calcium alginate gels. *Journal of food Science*,54(3),557-561.

Sheu,T.Y.,& Marshall, R.T.,& heymann,H.(1993). Improving culture viability in frozen dairy desserts by microencapsulation. *Journal of dairy Science*,76(7),1902-1907.

www.doae.go.th. (2550). ใ้สักรอกอีสาน.ออนไลน์เข้าถึงได้จาก

http://www.doae.go.th/ni/food/food_39.htm.(7 พฤศจิกายน 2550)

www.en.wikipedia.org. (2551). *Lactobacillus acidophilus*. ออนไลน์เข้าถึงได้จาก

http://en.wikipedia.org/wiki/Lactobacillus_acidophilus. (10 มีนาคม 2551)

<http://www.micro.sc.su.ac.th/new/webboard/?read,4,13> . (2551).ออนไลน์เข้าถึงได้จากโพรไบโอติก(Probiotic).(30 มีนาคม 2551)

<http://th.wikipedia.org/>.(2551).ตัวอย่างโพรไบโอติกที่มีใช้ในปัจจุบัน พ.ศ. 2547. ออนไลน์ เข้าถึงได้จาก(30 มีนาคม 2551)

<http://www.vcharkarn.com/vcafe/56540>. (2551).ชนิดของจุลินทรีย์โพรไบโอติก.(ออนไลน์เข้าถึงได้จาก(30 มีนาคม 2551)

<http://www.maesot-hospital.com/ghealth/health40749.htm> (2551).แลคโตบาซิลัส แอซิโดฟิลัส

และบีฟิโดแบคทีเรียมีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกที่ดี.ออนไลน์เข้าถึงได้จาก.(30 มีนาคม 2551)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

การวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาและการวิเคราะห์ทางเคมี

ก.1 การวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

ก.1.1 การวิเคราะห์จำนวนเชื้อ *Lactobacillus acidophilus*

อาหารเลี้ยงเชื้อ Modified MRS-IM Agar

การเตรียม Modified MRS-IM Agar

Tryptone	10	กรัม
Yeast extract	5	กรัม
Tween 80	1	กรัม
di-Potassium Hydrogen Phosphate	2.6	กรัม
Sodium acetate, 3H ₂ O	5	กรัม
Di-Ammonium hydrogen citrate	2	กรัม
Manganese (II) –sulphate. H ₂ O	0.05	กรัม
Magnesium sulphate.7 H ₂ O	0.2	กรัม
Agar	13	กรัม
น้ำกรอง	1	ลิตร

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดให้เข้ากัน แล้วนำไปต้มจนได้สารละลายใส ระวังอย่าให้
 ฝุ่นจับตัวเป็นก้อน เทใส่ภาชนะแล้วนำไปนิ่งมาเชื้อภายใต้ความดันไอ ที่อุณหภูมิ 121 องศา
 เซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ก.1.1.1 การเตรียมสารมอลโตสความเข้มข้น 20% (น้ำหนักต่อปริมาตร)

มอลโตส	20	กรัม
น้ำกรอง	100	กรัม

นำสารละลายมอลโตสที่เตรียมได้มากรองด้วยแผ่นกรองขนาด 0.45 ไมครอน ที่ผ่าน

การฆ่าเชื้อ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.1.1.2 การเตรียมอาหาร MRS-IM Agar ที่ประกอบด้วยสารละลายยวมอลโตส

นำอาหาร MRS-IM Agar 1000 มิลลิลิตร ที่เตรียมไว้มาทำให้ละลาย แล้วรอให้อุณหภูมิประมาณ 47 องศาเซลเซียส จึงเติมสารละลายยวมอลโตสความเข้มข้น 20% ลงไป ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ก.1.1.3 การเตรียมสารละลาย peptone 0.1%

นำ peptone 1.0กรัม ละลายน้ำกลั่น ปริมาตรเป็น 1ลิตร บีบเปิดใส่หลอดทดลอง หลอดละ 9มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อภายใต้ความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15นาที

ก.1.2 วิธีวิเคราะห์

ก.1.2.1 การตรวจนับปริมาณเชื้อที่มีชีวิตที่ผ่านการเคลือบเซลล์ โดยวิธี plate count

นำตัวอย่างใส่กรอกที่มีเซลล์ที่ผ่านการเคลือบเซลล์ 25กรัม กับสารละลาย เปปโตน 0.1% ปริมาตร 225 มิลลิลิตร มาทำการปั่นด้วยเครื่อง stomacher นาน 6 นาที แล้วบีบเปิดมา 1 มิลลิลิตร เพื่อเจือจางในสารละลายเปปโตน 0.1% ปริมาตร 9 มิลลิลิตร จนได้ระดับการเจือจางที่เหมาะสม จากนั้นบีบเปิดตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงบนจานเพาะเชื้อ แล้วทำการ pour plate ด้วย Modified MRS-IM Agar แล้วนำไปบ่มในสภาวะไร้อากาศใน candle jar ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

การคำนวณ

-วิธีคำนวณปริมาณเชื้อ (ดร. บุญเทียม พันธุ์เพ็ง และ คณะ ,2549)

1. นับจำนวนโคโลนีในเพลท ให้เอาจำนวนโคโลนีที่อยู่ในช่วง 30-300 โคโลนี เช่น ตัวอย่างมี 2 ตัวอย่าง ในช่วงโคโลนีที่นับได้ อยู่ที่ 175 กับ 208 ที่ความเจือจาง 10^{-2} จะได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 191.5×10^2 ดังนั้นผลการตรวจนับโคโลนีจะได้เท่ากับ 1.9×10^4

2. ในกรณีที่จำนวนโคโลนีอยู่ในช่วงที่นับได้ที่ความเจือจาง 2 ความเจือจางโดยหาค่าเฉลี่ยของแต่ละความเจือจาง แล้วเอาค่าเฉลี่ยของระดับความเจือจางที่มากกว่าหารด้วยค่าเฉลี่ยระดับความเจือจางที่น้อยกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- กรณีที่1 ถ้าผลหารออกมามีค่าน้อยกว่า 2 ให้ใช้ค่าเฉลี่ยทั้ง 4 ซ้ำ
- กรณีที่2 ถ้าผลหารออกมามีค่ามากกว่า 2 ให้ใช้ค่าเฉลี่ยของ 2 ซ้ำ ของระดับความเจือจางที่เมื่อ คูณด้วย dilution factor แล้วมีค่าน้อยกว่า

ก.2 การวิเคราะห์ทางเคมี

ก.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณเปอร์เซ็นต์กรด

ก.2.1.1 การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 0.1 นอร์มัล

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม ละลายน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปหาความเข้มข้นที่แน่นอน (Standardize) ด้วยสารละลายมาตรฐาน โพแทสเซียมฟทาเลต (potassium phthalate, $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$)

วิธีหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ทำโดย

1. ละลายโพแทสเซียมฟทาเลตที่ผ่านการอบแห้งที่ 120 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง และทำให้เย็นในโถดูดความชื้น (desiccator) ปริมาตร 0.6000-0.7000 กรัม ในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร และใส่ในขวดรูปชมพู่

2. หยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 1% ในสารละลาย โพแทสเซียมฟทาเลตจำนวน 2 หยด

3. นำไปไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่บรรจุอยู่ในบิวเรตจนกระทั่ง สารละลายทำปฏิกิริยาเปลี่ยนจากไม่มีสีเป็นสีชมพูอ่อนที่คงตัว แสดงว่าถึงจุดยุติ (pH 8.3) บันทึกปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้แล้ว คำนวณหาความเข้มข้นที่แน่นอน ดังสมการ

$$\text{ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน NaOH (นอร์มัล)} = \frac{\text{จำนวนกรัมโพแทสเซียมฟทาเลต} \times 100}{\text{ปริมาตรโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ (ml)} \times 204.229}$$

*มวลโมเลกุลของโพแทสเซียมฟทาเลต เท่ากับ 204.229

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.2.1.2 เตรียมสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 1%

ชั่งฟีนอล์ฟทาลีน 1 กรัม ละลายในเอทิลแอลกอฮอล์ 95% 50 มิลลิลิตรแล้วปรับปริมาตรด้วย น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

ก.2.2 วิธีวิเคราะห์

ชั่งตัวอย่างได้กรอกมา 5 กรัม ใส่รวมกับน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ (flask) จากนั้นหยดฟีนอล์ฟทาลีน 2-3 หยด ไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐาน NaOH จนได้จุดยุติที่ pH ประมาณ 8.2-8.3 และบันทึกปริมาณของ NaOH 0.1N ที่ใช้ในการไทเทรต และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก

การคำนวณ

$$\text{ค่าความเป็นกรด (\%)} = \frac{\text{โซเดียมไฮดรอกไซด์(N)} \times \text{ปริมาตรโซเดียมไฮดรอกไซด์(ml)} \times 90.08^{**} \times 100}{1000 \times \text{ปริมาตรของสารละลายตัวอย่าง}}$$

**มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแลคติก เท่ากับ 90.08

ภาคผนวก ข.

ผลการตรวจนับเชื้อ *Lactobacillus acidophilus*

ข.1 ผลใส่กรอกไก่อรมควัน

ข.1.1 ผลการตรวจนับเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ด้วยวิธี pour plate บนอาหาร Modified MRS-IM Agar

ตารางที่ ข.1 ผลการตรวจนับเชื้อ *L. acidophilus* ของใส่กรอกไก่อรมควัน ครั้งที่ 1 (วันที่ 0 ก่อนอบ)

ลักษณะเซลล์	จำนวนโคโลนีที่ตรวจนับได้								จำนวนเชื้อทั้งหมด (CFU/g)
	10 ⁻⁶		10 ⁻⁷		10 ⁻⁸		10 ⁻⁹		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	
Encapsule	>300	>300	195	180	83	72	7	9	1.9×10 ⁹

$$1) \quad \{(195+180) / 2\} \times 10^7 = 187.5 \times 10^7$$

$$2) \quad \{(83+72) / 2\} \times 10^7 = 775 \times 10^7$$

$$\text{ดังนั้น } (775 / 187.5) = 4.1$$

ค่าหามีค่ามากกว่า 2 ดังนั้นจึงใช้ระดับความเชื่อจางที่มีค่าน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบ 2 ความเชื่อจาง

$$\text{จะได้ } \{(195+180) / 2\} \times 10^7 = 187.5 \times 10^7$$

$$\text{แล้ว } 187.5 \times 10^7 \text{ ประมาณ } 1.9 \times 10^9 \text{ จึงได้ค่าเฉลี่ยที่ } 1.9 \times 10^9$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.2 ผลการตรวจนับเชื้อ *L. acidophilus* ของไส้กรอกไก่รมควัน ครั้งที่ 1 (วันที่ 0 หลังอบที่ 75°C 1 ชั่วโมง 30 นาที)

ลักษณะเซลล์	จำนวนโคโลนีที่ตรวจนับได้								จำนวนเชื้อทั้งหมด (CFU/g)
	10 ⁻⁴		10 ⁻⁵		10 ⁻⁶		10 ⁻⁷		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	
Encapsule	>300	>300	179	160	61	65	5	7	1.7×10 ⁷

$$1) \quad \{(179+160) / 2\} \times 10^5 = 169.5 \times 10^5$$

$$2) \quad \{(61+65) / 2\} \times 10^5 = 630 \times 10^5$$

$$\text{ดังนั้น } (630 / 169.5) = 3.7$$

ค่าหามีค่ามากกว่า 2 ดังนั้นจึงใช้ระดับความเจือจางที่มีค่าน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบ 2 ความเจือจาง

$$\text{จะได้ } \{(179+160) / 2\} \times 10^5 = 169.5 \times 10^5$$

$$\text{แล้ว } 169.5 \times 10^5 \text{ ประมาณ } 1.7 \times 10^7 \text{ จึงได้ค่าเฉลี่ยที่ } 1.7 \times 10^7$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.3 ผลการตรวจนับเชื้อ *L. acidophilus* ของไส้กรอกไก่อรมควัน ครั้งที่ 1 (วันที่ 0 หลังต้มที่ 75°C 5 นาที)

ลักษณะเซลล์	จำนวนโคโลนีที่ตรวจนับได้								จำนวนเชื้อทั้งหมด (CFU/g)
	10 ⁻⁴		10 ⁻⁵		10 ⁻⁶		10 ⁻⁷		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	
Encapsule	>300	>300	146	158	42	51	2	3	1.5 x 10 ⁷

$$1) \quad \{(146+158) / 2\} \times 10^5 = 152 \times 10^5$$

$$2) \quad \{(420+510) / 2\} \times 10^5 = 465 \times 10^5$$

$$\text{ดังนั้น } (465 / 152) = 3.0$$

ค่าหามีค่ามากกว่า 2 ดังนั้นจึงใช้ระดับความเจือจางที่มีค่าน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบ 2 ความเจือจาง

$$\text{จะได้ } \{(146+158) / 2\} \times 10^5 = 152 \times 10^5$$

$$\text{แล้ว } 152 \times 10^5 \text{ ประมาณ } 1.5 \times 10^7 \text{ จึงได้ค่าเฉลี่ยที่ } 1.5 \times 10^7$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.4 ผลการตรวจนับเชื้อ *L. acidophilus* ของไส้กรอกไก่อรมควัน ครั้งที่ 2 (วันที่ 5)

ลักษณะเซลล์	จำนวนโคโลนีที่ตรวจนับได้								จำนวนเชื้อทั้งหมด (CFU/g)
	10^{-4}		10^{-5}		10^{-6}		10^{-7}		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	
Encapsule	>300	>300	167	175	52	68	7	5	1.7×10^7

$$1) \quad \{(167+175) / 2\} \times 10^5 = 171 \times 10^5$$

$$2) \quad \{(520+680) / 2\} \times 10^5 = 600 \times 10^5$$

$$\text{ดังนั้น } (600 / 171) = 3.5$$

ค่าหาค่ามากกว่า 2 ดังนั้นจึงใช้ระดับความเจือจางที่มีค่าน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบ 2 ความเจือจาง

$$\text{จะได้ } \{(167+175) / 2\} \times 10^5 = 171 \times 10^5$$

$$\text{แล้ว } 171 \times 10^5 \text{ ประมาณ } 1.7 \times 10^7 \text{ จึงได้ค่าเฉลี่ยที่ } 1.7 \times 10^7$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.5 ผลการตรวจนับเชื้อ *L. acidophilus* ของไส้กรอกไก่อรมควัน ครั้งที่ 3 (วันที่ 10)

ลักษณะเซลล์	จำนวนโคโลนีที่ตรวจนับได้								จำนวนเชื้อทั้งหมด (CFU/g)
	10 ⁻⁴		10 ⁻⁵		10 ⁻⁶		10 ⁻⁷		
	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	
	1	2	1	2	1	2	1	2	
Encapsule	>300	>300	151	157	55	52	4	6	1.5 x 10 ⁷

$$1) \quad \{(151+157) / 2\} \times 10^5 = 154 \times 10^5$$

$$2) \quad \{(550+520) / 2\} \times 10^5 = 535 \times 10^5$$

$$\text{ดังนั้น } (535 / 154) = 3.4$$

ค่าหามีค่ามากกว่า 2 ดังนั้นจึงใช้ระดับความเจือจางที่มีค่าน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบ 2 ความเจือจาง

$$\text{จะได้ } \{(151+157) / 2\} \times 10^5 = 154 \times 10^5$$

$$\text{แล้ว } 154 \times 10^5 \text{ ประมาณ } 1.5 \times 10^7 \text{ จึงได้ค่าเฉลี่ย ที่ } 1.5 \times 10^7$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.6 ผลการตรวจนับเชื้อ *L. acidophilus* ของไส้กรอกไก่อรมควัน ครั้งที่ 4 (วันที่ 15)

ลักษณะเซลล์	จำนวนโคโลนีที่ตรวจนับได้								จำนวนเชื้อทั้งหมด (CFU/g)
	10^{-4}		10^{-5}		10^{-6}		10^{-7}		
	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	
	1	2	1	2	1	2	1	2	
Encapsule	>300	>300	139	143	34	47	6	5	1.4×10^7

$$1) \quad \{(139+143) / 2\} \times 10^5 = 141 \times 10^5$$

$$2) \quad \{(340+470) / 2\} \times 10^5 = 405 \times 10^5$$

$$\text{ดังนั้น } (405 / 141) = 2.8$$

ค่าหาค่ามากกว่า 2 ดังนั้นจึงใช้ระดับความเจือจางที่มีค่าน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบ2 ความเจือจาง

$$\text{จะได้ } \{(139+143) / 2\} \times 10^5 = 141 \times 10^5$$

$$\text{แล้ว } 141 \times 10^5 \text{ ประมาณ } 1.4 \times 10^7 \text{ จึงได้ค่าเฉลี่ยที่ } 1.4 \times 10^7$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.7 ผลการตรวจนับเชื้อ *L. acidophilus* ของไส้กรอกไก่อรมควัน ครั้งที่ 5 (วันที่ 20)

ลักษณะเซลล์	จำนวนโคโลนีที่ตรวจนับได้								จำนวนเชื้อทั้งหมด (CFU/g)
	10 ⁻⁴		10 ⁻⁵		10 ⁻⁶		10 ⁻⁷		
	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	
	1	2	1	2	1	2	1	2	
Encapsule	>300	>300	126	138	35	40	2	1	1.3 x 10 ⁷

$$1) \quad \{(126+138) / 2\} \times 10^5 = 132 \times 10^5$$

$$2) \quad \{(350+400) / 2\} \times 10^5 = 375 \times 10^5$$

$$\text{ดังนั้น } (375 / 132) = 2.8$$

ค่าหาค่ามากกว่า 2 ดังนั้นจึงใช้ระดับความเจือจางที่มีค่าน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบ 2 ความเจือจาง

$$\text{จะได้ } \{(126+138) / 2\} \times 10^5 = 132 \times 10^5$$

$$\text{แล้ว } 132 \times 10^5 \text{ ประมาณ } 1.3 \times 10^7 \text{ จึงได้ค่าเฉลี่ยที่ } 1.3 \times 10^7$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.2 ผลไม้กรอกเปรี้ยว

ข.2.1 ผลการตรวจนับเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ด้วยวิธี pour plate บนอาหาร Modified MRS-IM Agar

ตารางที่ ข.8.1-3 ผลการตรวจนับเชื้อ *L. acidophilus* ของผลไม้กรอกเปรี้ยว ครั้งที่ 1 (วันที่ 0)

ตารางที่ ข.8.1 ผลการตรวจนับเชื้อ *L. acidophilus* ของผลไม้กรอกเปรี้ยว ครั้งที่ 1 (วันที่ 0)

ลักษณะเซลล์	จำนวนโคโลนีที่ตรวจนับได้								จำนวนเชื้อทั้งหมด (CFU/g)
	10 ⁻¹		10 ⁻²		10 ⁻³		10 ⁻⁴		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	
Control	50	79	8	5	-	-	-	-	6.5x10 ²

มีช่วงที่อยู่ใน 30 – 300 อยู่ช่วงเดียว

$$1) \quad \frac{(50+79)}{2} \times 10^1 = 64.5 \times 10^1$$

แล้ว 64.5×10^1 ประมาณ 6.5×10^2 จึงได้ค่าเฉลี่ยที่ 6.5×10^2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.8.2 ผลการตรวจนับเชื้อ *L. acidophilus* ของไส้กรอกเปรี้ยว ครั้งที่ 1 (วันที่ 0)

ลักษณะเซลล์	จำนวนโคโลนีที่ตรวจนับได้								จำนวนเชื้อทั้งหมด (CFU/g)
	10 ⁻²		10 ⁻³		10 ⁻⁴		10 ⁻⁵		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	
Free cell	112	104	42	37	2	3	-	-	1.1 x 10 ⁴

$$1) \quad \{(112+104) / 2\} \times 10^2 = 108 \times 10^2$$

$$2) \quad \{(420+370) / 2\} \times 10^2 = 276 \times 10^2$$

$$\text{ดังนั้น } (276/108) = 2.5$$

ค่าหามีค่ามากกว่า 2 ดังนั้นจึงใช้ระดับความเจือจางที่มีค่าน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบ 2 ความเจือจาง

$$\text{จะได้ } \{(112+104) / 2\} \times 10^2 = 108 \times 10^2$$

$$\text{แล้ว } 108 \times 10^2 \text{ ประมาณ } 1.1 \times 10^4 \text{ จึงได้ค่าเฉลี่ยที่ } 1.1 \times 10^4$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.8.3 ผลการตรวจนับเชื้อ *L. acidophilus* ของไส้กรอกเปรี้ยว ครั้งที่ 1 (วันที่ 0)

ลักษณะเซลล์	จำนวนโคโลนีที่ตรวจนับได้								จำนวนเชื้อทั้งหมด
	10^{-2}		10^{-3}		10^{-4}		10^{-5}		
	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	
	1	2	1	2	1	2	1	2	
Encapsule	100	107	41	32	1	1	-	-	1.0×10^4

$$1) \quad \{(100+107) / 2\} \times 10^2 = 103.5 \times 10^2$$

$$2) \quad \{(41+32) / 2\} \times 10^2 = 36.5 \times 10^2$$

$$\text{ดังนั้น } (36.5 / 103.5) = 0.35$$

ค่าหามีค่ามากกว่า 2 ดังนั้นจึงใช้ระดับความเจือจางที่มีค่าน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบ2 ความเจือจาง

$$\text{จะได้ } \{(100+107) / 2\} \times 10^2 = 103.5 \times 10^2$$

$$\text{แล้ว } 103.5 \times 10^2 \text{ ประมาณ } 1.0 \times 10^4 \text{ จึงได้ค่าเฉลี่ยที่ } 1.0 \times 10^4$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.9.1-3 ผลการตรวจนับเชื้อ *L. acidophilus* ของไส้กรอกเปรี้ยว ครั้งที่ 2 (วันที่ 1)

ตารางที่ ข.9.1 ผลการตรวจนับเชื้อ *L. acidophilus* ของไส้กรอกเปรี้ยว ครั้งที่ 2 (วันที่ 1)

ลักษณะเซลล์	จำนวนโคโลนีที่ตรวจนับได้								จำนวนเชื้อทั้งหมด (CFU/g)
	10 ⁴		10 ⁵		10 ⁶		10 ⁷		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	
Control	105	110	51	47	4	3	-	-	1.1 x 10 ⁶

$$1) \quad \{(105+110) / 2\} \times 10^4 = 102.5 \times 10^4$$

$$2) \quad \{(51+47) / 2\} \times 10^5 = 490 \times 10^4$$

$$\text{ดังนั้น } (490/102.5) = 4.7$$

ค่าหาค่ามากกว่า 2 ดังนั้นจึงใช้ระดับความเจือจางที่มีค่าน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ 2 ความเจือจาง

$$\text{จะได้ } \{(105+110) / 2\} \times 10^4 = 102.5 \times 10^4$$

$$\text{แล้ว } 102.5 \times 10^4 \text{ ประมาณ } 1.0 \times 10^6 \text{ จึงได้ค่าเฉลี่ยที่ } 1.0 \times 10^6$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.9.2 ผลการตรวจนับเชื้อ *L. acidophilus* ของไส้กรอกเปรี้ยว ครั้งที่ 2 (วันที่ 1)

ลักษณะเซลล์	จำนวนโคโลนีที่ตรวจนับได้								จำนวนเชื้อทั้งหมด (CFU/g)
	10 ⁻³		10 ⁻⁴		10 ⁻⁵		10 ⁻⁶		
	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	
	1	2	1	2	1	2	1	2	
Free cell	39	42	2	3	-	-	-	-	4.1 x 10 ⁴

มีช่วงที่อยู่ ใน 30 – 300 อยู่ช่วงเดียว

$$1) \quad \{(39+42) / 2\} \times 10^3 = 40.5 \times 10^3$$

แล้ว 40.5×10^3 ประมาณ 4.1×10^4 จึงได้ค่าเฉลี่ย ที่ 4.1×10^4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.9.3 ผลการตรวจนับเชื้อ *L. acidophilus* ของไส้กรอกเปรี้ยว ครั้งที่ 2 (วันที่ 1)

ลักษณะเซลล์	จำนวนโคโลนีที่ตรวจนับได้								จำนวนเชื้อทั้งหมด (CFU/g)
	10 ⁻⁶		10 ⁻⁷		10 ⁻⁸		10 ⁻⁹		
	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	
	1	2	1	2	1	2	1	2	
Encapsule	>300	>300	153	149	52	69	7	9	1.5 x 10 ⁹

$$1) \quad \{(153+149) / 2\} \times 10^7 = 151 \times 10^7$$

$$2) \quad \{(520+690) / 2\} \times 10^7 = 605 \times 10^7$$

$$\text{ดังนั้น } (605/151) = 4.0$$

ค่าหามีค่ามากกว่า 2 ดังนั้นจึงใช้ระดับความเจือจางที่มีค่าน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบ2 ความเจือจาง

$$\text{จะได้ } \{(153+149) / 2\} \times 10^7 = 151 \times 10^7$$

แล้ว 151×10^7 ประมาณ 1.5×10^9 จึงได้ค่าเฉลี่ย ที่ 1.5×10^9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.10.1-3 ผลการตรวจนับเชื้อ *L. acidophilus* ของไส้กรอกเปรี้ยว ครั้งที่ 3 (วันที่ 2)

ตารางที่ ข.10.1 ผลการตรวจนับเชื้อ *L. acidophilus* ของไส้กรอกเปรี้ยว ครั้งที่ 3 (วันที่ 2)

ลักษณะเซลล์	จำนวนโคโลนีที่ตรวจนับได้								จำนวนเชื้อทั้งหมด (CFU/g)
	10 ⁻⁶		10 ⁻⁷		10 ⁻⁸		10 ⁻⁹		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	
Control	183	155	58	76	8	9	-	-	1.7 x10 ⁸

$$1) \quad \{(183+155) / 2\} \times 10^6 = 169 \times 10^6$$

$$2) \quad \{(58+76) / 2\} \times 10^6 = 67 \times 10^6$$

$$\text{ดังนั้น } (67/169) = 3.9$$

ค่าหามีค่ามากกว่า 2 ดังนั้นจึงใช้ระดับความเจือจางที่มีค่าน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบ2 ความเจือจาง

$$\text{จะได้ } \{(183+155) / 2\} \times 10^6 = 169 \times 10^6$$

$$\text{แล้ว } 169 \times 10^6 \text{ ประมาณ } 1.7 \times 10^8 \text{ จึงได้ค่าเฉลี่ยที่ } 1.7 \times 10^8$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.10.2 ผลการตรวจนับเชื้อ *L. acidophilus* ของไส้กรอกเปรี้ยว ครั้งที่ 3 (วันที่ 2)

ลักษณะเซลล์	จำนวนโคโลนีที่ตรวจนับได้								จำนวนเชื้อทั้งหมด (CFU/g)
	10 ⁻¹		10 ⁻²		10 ⁻³		10 ⁻⁴		
	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	
	1	2	1	2	1	2	1	2	
Free cell	25	12	2	1	-	-	-	-	< 1.7 x 10 ²

$$1) \{(25+12) / 2\} \times 10^1 = 18.5 \times 10^1$$

$$2) \{(20+10) / 2\} \times 10^1 = 15 \times 10^1$$

$$\text{ดังนั้น } (18.5/15) = 1.23$$

ค่าหาร 2 มีค่าน้อยกว่า 2 ดังนั้นให้ใช้ค่าเฉลี่ยของทั้ง 4 ซ้ำ

$$\{(25 + 12 + 20 + 10) / 4\} \times 10^1 = 16.7 \times 10^1$$

$$\text{หรือ } 1.7 \times 10^2$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.10.3 ผลการตรวจนับเชื้อ *L. acidophilus* ของไส้กรอกเปรี้ยว ครั้งที่ 3 (วันที่ 2)

ลักษณะเซลล์	จำนวนโคโลนีที่ตรวจนับได้								จำนวนเชื้อทั้งหมด (CFU/g)
	10 ⁻⁸		10 ⁻⁹		10 ⁻¹⁰		10 ⁻¹¹		
	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	
	1	2	1	2	1	2	1	2	
Encapsule	>300	>300	187	195	47	56	5	7	1.9 x 10 ¹¹

$$1) \quad \{(187+195) / 2\} \times 10^9 = 191 \times 10^9$$

$$2) \quad \{(470+560) / 2\} \times 10^9 = 515 \times 10^9$$

$$\text{ดังนั้น } (515/191) = 2.6$$

ค่าหามีค่ามากกว่า 2 ดังนั้นจึงใช้ระดับความเจือจางที่มีค่าน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบ2 ความเจือจาง

$$\text{จะได้ } \{(187+195) / 2\} \times 10^9 = 191 \times 10^9$$

$$\text{แล้ว } 191 \times 10^9 \text{ ประมาณ } 1.9 \times 10^{11} \text{ จึงได้ค่าเฉลี่ยที่ } 1.9 \times 10^{11}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.11.1-3 ผลการตรวจนับเชื้อ *L. acidophilus* ของไส้กรอกเปรี้ยว ครั้งที่ 4 (วันที่ 3)

ตารางที่ ข.11.1 ผลการตรวจนับเชื้อ *L. acidophilus* ของไส้กรอกเปรี้ยว ครั้งที่ 4 (วันที่ 3)

ลักษณะเซลล์	จำนวนโคโลนีที่ตรวจนับได้								จำนวนเชื้อทั้งหมด (CFU/g)
	10 ⁻⁸		10 ⁻⁹		10 ⁻¹⁰		10 ⁻¹¹		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	
Control	159	132	76	54	10	8	-	-	1.5 x 10 ¹⁰

$$1) \quad \{(159+132) / 2\} \times 10^8 = 145.5 \times 10^8$$

$$2) \quad \{(760+540) / 2\} \times 10^8 = 650 \times 10^8$$

$$\text{ดังนั้น } (650/145.5) = 4.4$$

ค่าหามีค่ามากกว่า 2 ดังนั้นจึงใช้ระดับความเจือจางที่มีค่าน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบ 2 ความเจือจาง

$$\text{จะได้ } \{(159+132) / 2\} \times 10^8 = 145.5 \times 10^8$$

$$\text{แล้ว } 145.5 \times 10^8 \text{ ประมาณ } 1.5 \times 10^{10} \text{ จึงได้ค่าเฉลี่ยที่ } 1.5 \times 10^{10}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.11.2 ผลการตรวจนับเชื้อ *L. acidophilus* ของไส้กรอกเปรี้ยว ครั้งที่ 4 (วันที่ 3)

ลักษณะเซลล์	จำนวนโคโลนีที่ตรวจนับได้								จำนวนเชื้อทั้งหมด (CFU/g)
	10 ⁻¹		10 ⁻²		10 ⁻³		10 ⁻⁴		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	
Free cell	5	8	-	-	-	-	-	-	< 6.5 x 10 ¹

$$1) \{(5+8)/2\} \times 10^1 = 6.5 \times 10^1$$

ตารางที่ ข.11.3 ผลการตรวจนับเชื้อ *L. acidophilus* ของไส้กรอกเปรี้ยว ครั้งที่ 4 (วันที่ 3)

ลักษณะเซลล์	จำนวนโคโลนีที่ตรวจนับได้								จำนวนเชื้อทั้งหมด (CFU/g)
	10 ⁻⁹		10 ⁻¹⁰		10 ⁻¹¹		10 ⁻¹²		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	
Encapsule	>300	>300	183	172	72	80	7	5	1.8 x 10 ¹²

$$1) \{(183+172)/2\} \times 10^{10} = 177.5 \times 10^{10}$$

$$2) \{(720+800)/2\} \times 10^{10} = 760 \times 10^{10}$$

$$\text{ดังนั้น } (760/177.5) = 4.2$$

ค่าอาหารมีค่ามากกว่า 2 ดังนั้นจึงใช้ระดับความเจือจางที่มีค่าน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบ 2 ความเจือจาง

$$\text{จะได้ } \{(183+172)/2\} \times 10^{10} = 177.5 \times 10^{10}$$

$$\text{แล้ว } 177.5 \times 10^{10} \text{ ประมาณ } 1.8 \times 10^{12} \text{ จึงได้ค่าเฉลี่ย ที่ } 1.8 \times 10^{12}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.12.1-3 ผลการตรวจนับเชื้อ *L. acidophilus* ของไส้กรอกเปรี้ยว ครั้งที่ 5 (วันที่ 4)

ตารางที่ ข.12.1 ผลการตรวจนับเชื้อ *L. acidophilus* ของไส้กรอกเปรี้ยว ครั้งที่ 5 (วันที่ 4 ก่อนนำไปทอด)

ลักษณะเซลล์	จำนวนโคโลนีที่ตรวจนับได้								จำนวนเชื้อทั้งหมด (CFU/g)
	10 ⁻⁹		10 ⁻¹⁰		10 ⁻¹¹		10 ⁻¹²		
	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	ครั้งที่	
	1	2	1	2	1	2	1	2	
Control	171	192	62	41	11	9	1	-	1.8 x 10 ¹¹

$$1) \quad \{(171+192) / 2\} \times 10^9 = 181.5 \times 10^9$$

$$2) \quad \{(62+41) / 2\} \times 10^9 = 51.5 \times 10^9$$

$$\text{ดังนั้น } (51.5 / 181.5) = 0.28$$

ค่าหามีค่ามากกว่า 2 ดังนั้นจึงใช้ระดับความเจือจางที่มีค่าน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ 2 ความเจือจาง

$$\text{จะได้ } \{(171+192) / 2\} \times 10^9 = 181.5 \times 10^9$$

$$\text{แล้ว } 181.5 \times 10^9 \text{ ประมาณ } 1.8 \times 10^{11} \text{ จึงได้ค่าเฉลี่ยที่ } 1.8 \times 10^{11}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.12.2 ผลการตรวจนับเชื้อ *L. acidophilus* ของไส้กรอกเปรี้ยว ครั้งที่ 5 (วันที่ 4 ก่อนนำไปทอด)

ลักษณะเซลล์	จำนวนโคโลนีที่ตรวจนับได้								จำนวนเชื้อทั้งหมด (CFU/g)
	10 ⁻¹		10 ⁻²		10 ⁻³		10 ⁻⁴		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	
Free cell	2	-	-	-	-	-	-	-	< 2 x 10 ¹

ตารางที่ ข.12.3 ผลการตรวจนับเชื้อ *L. acidophilus* ของไส้กรอกเปรี้ยว ครั้งที่ 5 (วันที่ 4 ก่อนนำไปทอด)

ลักษณะเซลล์	จำนวนโคโลนีที่ตรวจนับได้								จำนวนเชื้อทั้งหมด (CFU/g)
	10 ⁻¹¹		10 ⁻¹²		10 ⁻¹³		10 ⁻¹⁴		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	
Encapsule	>300	>300	193	201	69	82	8	6	2.0 x 10 ¹⁴

$$1) \quad \{(193+201) / 2\} \times 10^{12} = 197 \times 10^{12}$$

$$2) \quad \{(690+820) / 2\} \times 10^{12} = 755 \times 10^{12}$$

$$\text{ดังนั้น } (755/197) = 3.8$$

ค่าหาค่ามากกว่า 2 ดังนั้นจึงใช้ระดับความเจือจางที่มีค่าน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบ 2 ความเจือจาง

$$\text{จะได้ } \{(193+201) / 2\} \times 10^{12} = 197 \times 10^{12}$$

$$\text{แล้ว } 197 \times 10^{12} \text{ ประมาณ } 2.0 \times 10^{14} \text{ จึงได้ค่าเฉลี่ย ที่ } 2.0 \times 10^{14}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.13.1-3 ผลการตรวจนับเชื้อ *L. acidophilus* ของไส้กรอกเปรี้ยว ครั้งที่ 6 (หลังทอด)

ตารางที่ ข.13.1 ผลการตรวจนับเชื้อ *L. acidophilus* ของไส้กรอกเปรี้ยว ครั้งที่ 6 (หลังทอดที่

อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส นาน 7 นาที)

ลักษณะ เซลล์	จำนวนโคโลนีที่ตรวจนับได้								จำนวนเชื้อ ทั้งหมด (CFU/g)
	10 ⁻¹		10 ⁻²		10 ⁻³		10 ⁻⁴		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	
Control	-	-	-	-	-	-	-	-	< 1 x 10 ¹

< 1 x 10¹ เพราะ จำนวนเชื้อไม่อยู่ในช่วงที่นับได้

ตารางที่ ข.13.2 ผลการตรวจนับเชื้อ *L. acidophilus* ของไส้กรอกเปรี้ยว ครั้งที่ 6 (หลังทอดที่

อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส นาน 7 นาที)

ลักษณะ เซลล์	จำนวนโคโลนีที่ตรวจนับได้								จำนวนเชื้อ ทั้งหมด (CFU/g)
	10 ⁻¹		10 ⁻²		10 ⁻³		10 ⁻⁴		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	
Free cell	-	-	-	-	-	-	-	-	< 1 x 10 ¹

< 1 x 10¹ เพราะ จำนวนเชื้อไม่อยู่ในช่วงที่นับได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.13.3 ผลการตรวจนับเชื้อ *L. acidophilus* ของไส้กรอกเปรี้ยว ครั้งที่ 6
(หลังทอดที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส นาน 7 นาที)

ลักษณะ เซลล์	จำนวนโคโลนีที่ตรวจนับได้								จำนวนเชื้อ ทั้งหมด (CFU/g)
	10^{-1}		10^{-2}		10^{-3}		10^{-4}		
	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	
Encapsule	17	20	5	2	-	-	-	-	$< 2.7 \times 10^2$

$$1) \{(17+20) / 2\} \times 10^1 = 18.5 \times 10^1$$

$$2) \{(50+20) / 2\} \times 10^1 = 35 \times 10^1$$

$$\text{ดังนั้น } (18.5/35) = 0.5$$

ค่าหาร 2 มีค่าน้อยกว่า 2 ดังนั้นให้ใช้ค่าเฉลี่ยของทั้ง 4 ซ้ำ

$$\{(17 + 20 + 50 + 20) / 4\} \times 10^1 = 26.7 \times 10^1$$

$$\text{หรือ } 2.7 \times 10^2$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.3 เพอร์เซ็นต์กรด และค่าความเป็นกรด-ด่าง ในผลิตภัณฑ์ที่มีเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ทั้งที่เป็นเซลล์อิสระ และที่ผ่านการเคลือบเซลล์

ข.3.1 ผลค่า pH และเปอร์เซ็นต์กรดในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่รมควัน

ตารางที่ ข.14 ผลค่า pH และเปอร์เซ็นต์กรดในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่รมควัน ครั้งที่ 1 (วันที่ 0)

ลักษณะเซลล์	%กรด			pH
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	
Control	0.21	0.24	0.20	6.67
Encapsule	0.40	0.37	0.36	6.28

ตารางที่ ข.15 ผลค่า pH และเปอร์เซ็นต์กรดในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่รมควัน ครั้งที่ 2 (วันที่ 5)

ลักษณะเซลล์	%กรด			pH
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	
Control	0.31	0.26	0.20	6.46
Encapsule	0.44	0.46	0.41	5.98

ตารางที่ ข.16 ผลค่า pH และเปอร์เซ็นต์กรดในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่รมควัน ครั้งที่ 3 (วันที่ 10)

ลักษณะเซลล์	%กรด			pH
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	
Control	0.33	0.36	0.33	6.22
Encapsule	0.44	0.46	0.48	5.87

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.17 ผลค่า pH และเปอร์เซ็นต์กรดในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่รมควัน ครั้งที่ 4 (วันที่ 15)

ลักษณะเซลล์	%กรด			pH
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	
Control	0.45	0.40	0.47	6.03
Encapsule	0.51	0.52	0.55	5.72

ตารางที่ ข.18 ผลค่า pH และเปอร์เซ็นต์กรดในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่รมควัน ครั้งที่ 5 (วันที่ 20)

ลักษณะเซลล์	%กรด			pH
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	
Control	0.53	0.49	0.50	5.82
Encapsule	0.66	0.59	0.60	5.56

ข.3.2 ผลค่า pH และเปอร์เซ็นต์กรดในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยว

ตารางที่ ข.19 ผลค่า pH และเปอร์เซ็นต์กรดในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยว ครั้งที่ 1 (วันที่ 0)

ลักษณะเซลล์	%กรด			pH
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	
Control	0.25	0.26	0.27	6.44
Free cell	0.32	0.30	0.31	6.21
Encapsule	0.26	0.28	0.28	6.27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.20 ผลค่า pH และเปอร์เซ็นต์กรดในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยว ครั้งที่ 2 (วันที่ 1)

ลักษณะเซลล์	%กรด			pH
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	
Control	0.41	0.39	0.44	6.39
Free cell	0.61	0.64	0.57	5.92
Encapsule	0.51	0.51	0.53	6.03

ตารางที่ ข.21 ผลค่า pH และเปอร์เซ็นต์กรดในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยว ครั้งที่ 3 (วันที่ 2)

ลักษณะเซลล์	%กรด			pH
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	
Control	0.56	0.56	0.58	6.31
Free cell	1.10	1.09	1.08	5.78
Encapsule	0.81	0.82	0.85	5.99

ตารางที่ ข.22 ผลค่า pH และเปอร์เซ็นต์กรดในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยว ครั้งที่ 4 (วันที่ 3)

ลักษณะเซลล์	%กรด			pH
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	
Control	0.83	0.82	0.84	6.29
Free cell	1.48	1.50	1.52	5.56
Encapsule	0.98	1.03	1.00	5.93

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.23 ผลค่า pH และเปอร์เซ็นต์กรดในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกเปรี้ยว ครั้งที่ 5 (วันที่ 4)

ลักษณะเซลล์	%กรด			pH
	ครั้งที่1	ครั้งที่2	ครั้งที่3	
Control	0.98	1.01	1.00	6.17
Free cell	1.67	1.67	1.62	5.38
Encapsule	1.08	1.05	1.11	5.82

ข.4 ตาราง ANOVA แสดงลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไกรมควันทั้งที่มีเชื้อ *L. acidophilus* ที่ผ่านการเคลือบเซลล์และไม่มีเชื้อ

ข.4.1 ตาราง ANOVA ของลักษณะสีของไส้กรอกไกรมควัน

Descriptives: COLOUR

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
encapsule	31	3.3226	.7478	.1343	3.0483	3.5969	2.00	5.00
control	31	3.3548	.7549	.1356	3.0779	3.6317	2.00	5.00
Total	62	3.3387	.7453	9.466E-02	3.1494	3.5280	2.00	5.00

ANOVA:

COLOUR

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.613E-02	1	1.613E-02	.029	.866
Within Groups	33.871	60	.565		
Total	33.887	61			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.4.2 ตาราง ANOVA ของลักษณะความเป็นเนื้อเดียวกันของไส้กรอกไก่อรมควัน

Descriptives: SMOOTH

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
encapsule	31	2.8387	.8980	.1613	2.5093	3.1681	2.00	5.00
control	31	3.0968	.4729	8.494E-02	2.9233	3.2702	2.00	4.00
Total	62	2.9677	.7236	9.189E-02	2.7840	3.1515	2.00	5.00

ANOVA:		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
SMOOTH	Between Groups	1.032	1	1.032	2.004	.162
	Within Groups	30.903	60	.515		
	Total	31.935	61			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.4.3 ตาราง ANOVA ของลักษณะเนื้อสัมผัสของไส้กรอกไก่อรมควัน

Descriptives: TEXTURE

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
encapsule	31	3.2258	.6170	.1108	2.9995	3.4521	2.00	4.00
control	31	3.4194	.7648	.1374	3.1388	3.6999	2.00	5.00
Total	62	3.3226	.6960	8.839E-02	3.1458	3.4993	2.00	5.00

ANOVA:

TEXTURE

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.581	1	.581	1.203	.277
Within Groups	28.968	60	.483		
Total	29.548	61			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.4.4 ตาราง ANOVA ของลักษณะกลิ่นของไส้กรอกไก่รมควัน

Descriptives: FLAVER

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
encapsule	31	3.2581	.7732	.1389	2.9744	3.5417	1.00	4.00
control	31	3.4194	.9924	.1782	3.0553	3.7834	1.00	5.00
Total	62	3.3387	.8860	.1125	3.1137	3.5637	1.00	5.00

ANOVA:

FLAVER

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.403	1	.403	.510	.478
Within Groups	47.484	60	.791		
Total	47.887	61			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.4.5 ตาราง ANOVA ของความเปรี้ยวของไส้กรอกไก่อรมควัน

Descriptives: SOUR

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
encapsule	31	3.5806	.6720	.1207	3.3341	3.8271	2.00	4.00
control	31	3.1290	.4275	7.679E-02	2.9722	3.2859	2.00	4.00
Total	62	3.3548	.6032	7.660E-02	3.2017	3.5080	2.00	4.00

ANOVA:		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
SOUR	Between Groups	3.161	1	3.161	9.966	.002
	Within Groups	19.032	60	.317		
	Total	22.194	61			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.4.6 ตาราง ANOVA ของลักษณะรสชาติของไส้กรอกไก่อรมควัน

Descriptives: TEST

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
encapsule	31	2.8710	.6704	.1204	2.6251	3.1169	2.00	4.00
control	31	3.2258	.8450	.1518	2.9159	3.5357	2.00	5.00
Total	62	3.0484	.7773	9.872E-02	2.8510	3.2458	2.00	5.00

ANOVA:		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TEST						
Between Groups		1.952	1	1.952	3.355	.072
Within Groups		34.903	60	.582		
Total		36.855	61			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.4.7 ตาราง ANOVA ของลักษณะโดยรวมของไส้กรอกไก่อรมควัน

Descriptives: TOTAL

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
encapsule	31	3.2581	.7732	.1389	2.9744	3.5417	2.00	5.00
control	31	3.5806	.9228	.1657	3.2421	3.9191	2.00	5.00
Total	62	3.4194	.8598	.1092	3.2010	3.6377	2.00	5.00

ANOVA:		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
TOTAL						
Between Groups		1.613	1	1.613	2.226	.141
Within Groups		43.484	60	.725		
Total		45.097	61			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.5 ตัวอย่างแบบสำรวจเกี่ยวกับรสชาติไส้กรอกไก่อรมควัน

รหัส.....

ลักษณะของสีของไส้กรอก

ชอบมาก

ชอบ

ปานกลาง

ไม่ชอบ

ไม่ชอบมาก

ลักษณะของรสชาติไส้กรอก

ชอบมาก

ชอบ

ปานกลาง

ไม่ชอบ

ไม่ชอบมาก

ความละเอียดเป็นเนื้อเดียวกันของเนื้อไส้กรอก

ละเอียดมาก

ละเอียด

ปานกลาง

หยาบ

หยาบมาก

ความชอบโดยรวมของไส้กรอก

ชอบมาก

ชอบ

ปานกลาง

ไม่ชอบ

ไม่ชอบมาก

ลักษณะของเนื้อสัมผัสของไส้กรอก

ชอบมาก

ชอบ

ปานกลาง

ไม่ชอบ

ไม่ชอบมาก

ลักษณะของกลิ่นไส้กรอก

ชอบมาก

ชอบ

ปานกลาง

ไม่ชอบ

ไม่ชอบมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเปรี้ยวของไส้กรอก

- เปรี้ยวมาก
- เปรี้ยว
- ปานกลาง
- เค็ม
- เค็มมาก

ข้อเสนอนี้แนะ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.

การเตรียมไส้กรอกไก่อรมควันและไส้กรอกเปรี้ยว

ค.1 การเตรียมไส้กรอกไก่อรมควัน (เยวาลักษณ์, 2547)

การเตรียมส่วนผสม

เนื้อไก่	1000	กรัม
น้ำแข็ง	300	กรัม
Accord	5	กรัม
น้ำตาล	7.5	กรัม
พริกไทยป่น	4	กรัม
ไข่ขาวผง	7.5	กรัม
ดอกจันทร์ป่น	0.75	กรัม
อบเชย	0.3	กรัม
ผงเพชร	2.5	กรัม
เกลือ	17.5	กรัม

ค.1 การเตรียมไส้กรอกเปรี้ยว (เยวาลักษณ์, 2547)

การเตรียมส่วนผสม

เนื้อไก่	900	กรัม
พริกไทยป่น	4.5	กรัม
น้ำตาลทราย	9	กรัม
ลูกผักชีป่น	2.25	กรัม
กระเทียม	90	กรัม
ผงเพชร	1.8	กรัม
ข้าวหุงสุก	315	กรัม
เกลือ	18	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง.

รูปภาพ



ภาพที่ ง.1 ลักษณะของเจลบุกผสมเพคติน



ภาพที่ ง.2 เชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

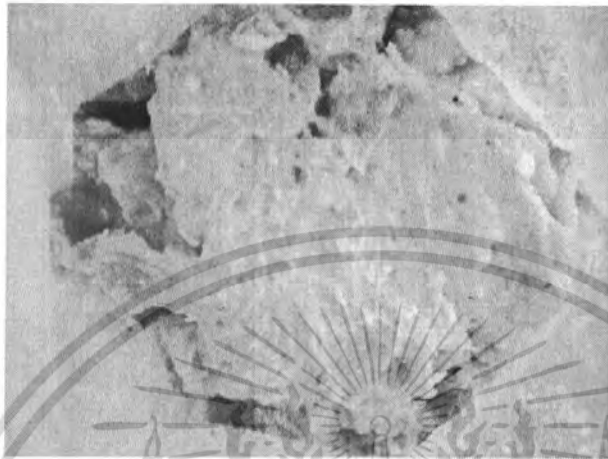


ภาพที่ ง.3 ลักษณะของเม็ดเจลที่ได้จากการเคลือบเซลล์ *L. acidophilus La5*



ภาพที่ ง.4 ใ้สกัดเปรียบเทียบระหว่างการใส่เชื้อ *L. acidophilus La5* แบบไม่เคลือบเซลล์ (Free cell) กับที่ผ่านการเคลือบเซลล์(Encapsulation)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

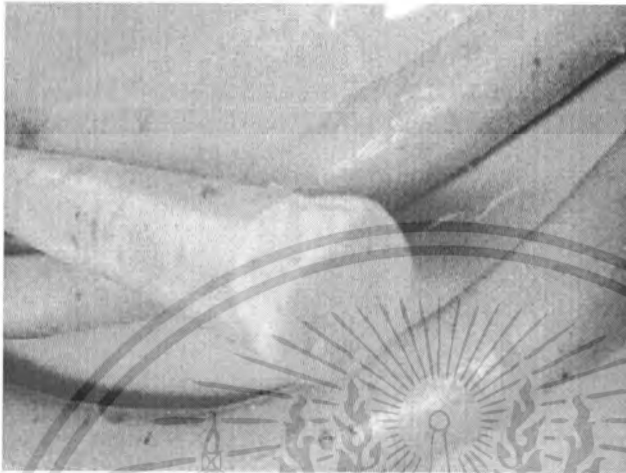


ภาพที่ ง.5 เนื้อไก่ที่ผ่านกระบวนการบดผสมแล้วในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกไก่รมควัน



ภาพที่ ง.6 การบรรจุไส้กรอกไก่รมควันลงในไส้เซลลูโลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

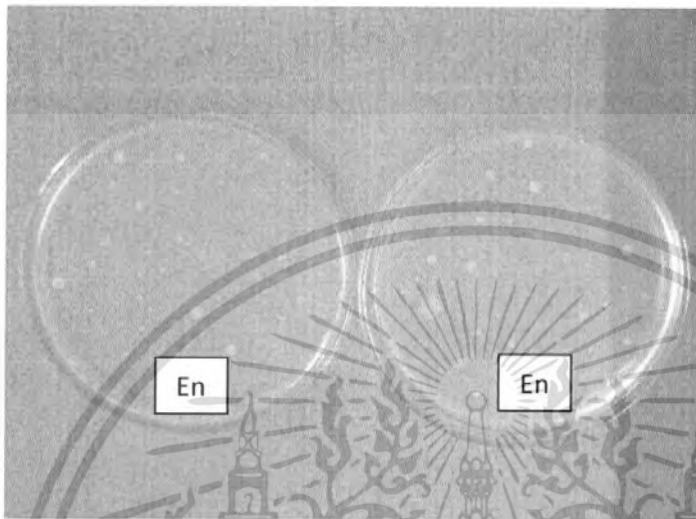


ภาพที่ ง.7 ลักษณะเนื้อไส้กรอกไก่อรมควันที่มีการเติมจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ผ่านการเคลือบเซลล์โดยวิธีเอ็กซ์ทรูชัน



ภาพที่ ง.8 การบรรจุไส้กรอกรมควันแบบสุญญากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ง.9 ลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified MRS-IM Agar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้