ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การเคลือบเซลล์บิฟิโดแบคทีเรียด้วยบุก
และอัตราการรอดชีวิตในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตพร้อมดื่มพาสเจอไรส์
(Microencapsulation of Bifidobacteria in konjac gel bead and their survival rate in pasteurized drinking yoghurt)

จัดทำโดย

น.ส. โศภินาฎ เกตุวิชิต รหัสนักศึกษา 44040775
น.ส. สิตานัน ธิติประเสริฐ รหัสนักศึกษา 44040777

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

..... 25/3/48 **อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ**

(ดร.ศศิวิมล ชื่นอิ่ม อาเหม็ด)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

20419

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

T096981

การเคลือบเซลล์บิฟิโดแบคทีเรียด้วยบุก และอัตราการรอดชีวิตในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตพร้อมดื่มพาสเจอไรส์

(Microencapsulation of Bifidobacteria in konjac gel bead and their survival rate in pasteurized drinking yoghurt)

จัดทำโดย

น.ส. โศภีนาฎ เกตุวิชิต รหัสนักศึกษา 44040775

น.ส. สิตานัน ธิติประเสริฐ รหัสนักศึกษา 44040777

อาจารย์ที่ปรึกษา

ดร.ศศิวิมล ชื่นอิ่ม อาเหม็ด

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2547

ปพ.
ศ918ก
ส54ง

เลขหมู่.....96981
เลขทะเบียน.....
วัน.เดือน.ปี.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น.ส.โศภินาฏ เกตุวิชิต และน.ส.สิตานัน ธิติประเสริฐ . 2547 : การเคลือบเซลล์บิฟีโดแบคทีเรียด้วยบุกและอัตราการรอดชีวิตในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตพร้อมดื่มพาสเจอไรส์ (Microencapsulation of Bifidobacteria in konjac gel bead and their survival rate in pasteurized drinking yoghurt) ภาควิชาเทคโนโลยีการหมัก โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
อาจารย์ที่ปรึกษา : ดร.ศศิวิมล ชื่นอิ่ม อาเหมีด

บทคัดย่อ

การเคลือบเซลล์จุลินทรีย์ด้วยสารชีวโมเลกุลขนาดใหญ่ เป็นแนวทางหนึ่งในการปกป้องเซลล์จากสภาวะแวดล้อมที่รุนแรง ปัจจุบันได้มีการศึกษาการเคลือบเซลล์จุลินทรีย์โพรไบโอติกด้วยสารชีวโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น แคลเซียม – อัลจิเนต (Ca-alginate) เค – คาราจีแนน (k-carrageenan) และเจลแลนกัม (gellan gum) เพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ซึ่งสามารถช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของเชื้อโพรไบโอติคจากความร้อน ความเป็นกรด และพีเอชได้ ในการทดลองนี้ได้ศึกษาการเคลือบเซลล์บิฟีโดแบคทีเรียด้วยบุกในรูปสารละลายอิมัลชั่นชนิดน้ำในน้ำมัน (W/O ; water in oil) พบว่า สภาวะที่มีการเติม tween 80 และกวนผสมด้วยความเร็วรอบสูง ซึ่งทำให้ได้เจลบีดส์ (encapsulated cell) ที่มีขนาดเล็กกว่าสภาวะที่ไม่มีการเติม tween 80 อย่างไรก็ตาม จากการศึกษาอัตราการรอดชีวิตของเชื้อบิฟีโดแบคทีเรียที่ผ่านการเคลือบเซลล์ด้วยบุกในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ผ่านการพาสเจอไรส์และไม่พาสเจอไรส์ พบว่า การเคลือบเซลล์บิฟีโดแบคทีเรียด้วยบุก ไม่สามารถเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของเชื้อบิฟีโดแบคทีเรียจากกระบวนการพาส-เจอไรส์ ที่อุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 15 วินาที และเมื่อทำการเก็บรักษาโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่อุณหภูมิตู้เย็น เป็นระยะเวลา 20 วัน พบว่า การลดลงของค่าความเป็นกรด – ด่างและปริมาณกรด (% titratable acidity) ที่เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับปริมาณเชื้อบิฟีโดแบคทีเรียที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น

โศภินาฏ เกตุวิชิต
สิตานัน ธิติประเสริฐ
ลายมือชื่อนักศึกษา

(ดร. ศศิวิมล ชื่นอิ่ม อาเหมีด)
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

25 / 3 / 48
วัน/เดือน/ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การจัดทำปัญหาพิเศษในหัวข้อเรื่อง การเคลือบเซลล์บิฟิโดแบคทีเรียด้วยบุกและอัตราการรอดชีวิตในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตพร้อมดื่มพาสเจอไรส์นี้ได้สำเร็จลงด้วยดี ผู้จัดทำขอขอบพระคุณ ดร.ศศิวิมล ชื่นอิ่ม อาเหม็ด ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ ที่กรุณาสละเวลาอันมีค่ามาคอยแนะนำ ให้คำปรึกษาและดูแลเอาใจใส่เป็นอย่างดี รวมทั้ง แก้ไขรายงานฉบับนี้ให้มีความถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

และขอบพระคุณพ่อและแม่ ที่คอยให้กำลังใจ แนะนำการเตรียมตัวในการนำเสนอ รวมทั้งขอบคุณเพื่อนๆ น้องๆ สาขาเทคโนโลยีการหมัก ชั้นปีที่ 3 และ 4 (รุ่นที่ 8) ทุกคน ที่คอยให้กำลังใจให้ความช่วยเหลือและคำปรึกษาในเรื่องต่างๆ ตลอดการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้

คณะผู้จัดทำ

24 มีนาคม 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ ก

กิตติกรรมประกาศ ข

สารบัญ ค

สารบัญ (ต่อ) ง

สารบัญรูปภาพ จ

สารบัญรูปภาพ (ต่อ) ฉ

สารบัญตาราง ช

บทที่ 1 บทนำ 1

บทที่ 2 วารสารปริทรรศน์

2.1 บุก 2

2.2 บิฟิโดแบคทีเรีย 5

2.3 โยเกิร์ต 8

2.4 ไมโครเอนแคปซูเลชัน 9

บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง 11

3.1 วัตถุดิบ 11

3.2 สารเคมี 11

3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์ 12

3.4 วิธีการทดลอง 13

บทที่ 4 ผลการทดลองและการวิจารณ์

4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเคลือบเซลล์บิฟิโดแบคทีเรีย โดยวิธีอิมัลชัน (Emulsion method) 19

4.2 ศึกษาอัตราการรอดชีวิตของเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียที่ผ่านการเคลือบเซลล์ด้วยบุกใน ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต พร้อมดื่มพาสเจอไรส์ 23

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง 27

5.2 ข้อเสนอแนะ 27

เอกสารอ้างอิง 29

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก. การวิเคราะห์ทางจุลชีวิทยาและการวิเคราะห์ทางเคมี 31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ภาคผนวก ข. การคำนวณการเจริญและพฤติกรรมการผลิตกรดของเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียทั้งที่ไม่ผ่านการเคลือบเซลล์และที่ผ่านการเคลือบเซลล์ในระหว่างการเก็บรักษาโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่อุณหภูมิตู้เย็น 35

ภาคผนวก ค. การปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดในโยเกิร์ตและการเตรียมน้ำเชื่อม 41

ภาคผนวก ง. รูปภาพผลิตภัณฑ์ และเชื้อจุลินทรีย์ 43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

รูปที่		หน้า
1.	ลักษณะของบิฟีโดแบคทีเรีย	6
2.	ลักษณะของบิฟีโดแบคทีเรียจากกล้อง SCANNING ELECTRON MICROSCOPY x5000	6
3.1	ขั้นตอนการเคลือบเซลล์บิฟีโดแบคทีเรียใน cold – melting hydrogel beads	15
3.2	ขั้นตอนการเตรียมโยเกิร์ต	17
4.1ก	การเคลือบเซลล์บิฟีโดแบคทีเรียด้วยบุก (กำลังขยาย 40x) โดยวิธีอิมัลชั่น (Emulsion method) ภายใต้สภาวะที่มีการเติม tween 80 และกวนผสมด้วยความเร็วรอบสูง	21
4.1ข	องค์ประกอบภายในของการเคลือบเซลล์บิฟีโดแบคทีเรียด้วยบุก (กำลังขยาย 1000x) โดยวิธีอิมัลชั่น (Emulsion method) ภายใต้สภาวะที่มีการเติม tween 80 และกวนผสมด้วยความเร็วรอบสูง	21
4.2ก	การเคลือบเซลล์บิฟีโดแบคทีเรียด้วยบุก (กำลังขยาย 40x) โดยวิธีอิมัลชั่น (Emulsion method) ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเติม tween 80 และกวนผสมด้วยความเร็วรอบสูง	22
4.2ข	องค์ประกอบภายในของการเคลือบเซลล์บิฟีโดแบคทีเรียด้วยบุก (กำลังขยาย 1000x) โดยวิธีอิมัลชั่น (Emulsion method) ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเติม tween 80 และกวนผสมด้วยความเร็วรอบสูง	22
4.5	การเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกในระหว่างการเก็บรักษาโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่อุณหภูมิตู้เย็น ในช่วงระยะเวลา 0 – 20 วัน	25
4.6	การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในระหว่างการเก็บรักษาโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่อุณหภูมิตู้เย็น ในช่วงระยะเวลา 0 – 20 วัน	26

รูปภาคผนวก

ค1.	การปรับปริมาตรของแข็งทั้งหมด	41
ง1.	ลักษณะโคโลนีของเชื้อบิฟีโดแบคทีเรีย	43
ง2.	เจลของบุก	43
ง3.	ลักษณะและขนาดของเม็ดบีดส์จากสภาวะที่ไม่มีการเติม tween 80 และกวนผสมด้วยความเร็วรอบต่ำสุด	44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

รูปที่		หน้า
ง4.	ลักษณะและขนาดของเม็ดบีดส์จากสภาวะที่เติม tween 80 และกวนผสมด้วยความเร็วรอบต่ำสุด	44
ง5.	ลักษณะและขนาดของเม็ดบีดส์จากสภาวะที่ไม่มีการเติม tween 80 และกวนผสมด้วยความเร็วรอบสูงสุด	44
ง6.	ลักษณะและขนาดของเม็ดบีดส์จากสภาวะที่เติม tween 80 และกวนผสมด้วยความเร็วรอบสูงสุด	45
ง7.	ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตพร้อมดื่ม	45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4.1	คุณลักษณะของเจลบีดส์ที่ได้จากสภาวะต่างๆที่ใช้ในการเคลือบเซลล์บิฟีโดแบคทีเรียโดยวิธีอิมัลชั่น (Emulsion method)	20
4.2	เปรียบเทียบปริมาณเชื้อบิฟีโดแบคทีเรียที่ไม่ผ่านการเคลือบเซลล์และที่ผ่านการเคลือบเซลล์ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ไม่ผ่านการพาสเจอไรส์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 20 วัน	23
4.3	เปรียบเทียบปริมาณเชื้อบิฟีโดแบคทีเรียที่ไม่ผ่านการเคลือบเซลล์และที่ผ่านการเคลือบเซลล์ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ผ่านการพาสเจอไรส์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 20 วัน	24

ตารางภาคผนวก

ข1.	ปริมาณเชื้อบิฟีโดแบคทีเรียที่ไม่ผ่านการเคลือบเซลล์ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ไม่ผ่านการพาสเจอไรส์	35
ข2.	ปริมาณเชื้อบิฟีโดแบคทีเรียที่ไม่ผ่านการเคลือบเซลล์ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ผ่านการพาสเจอไรส์	35
ข3.	ปริมาณเชื้อบิฟีโดแบคทีเรียที่ผ่านการเคลือบเซลล์ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ไม่ผ่านการพาสเจอไรส์ (ปริมาณเชื้อที่รั่วออกจากบุก ; leakage)	36
ข4.	ปริมาณเชื้อบิฟีโดแบคทีเรียที่ผ่านการเคลือบเซลล์ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ไม่ผ่านการพาสเจอไรส์ (ปริมาณเชื้อที่ผ่านการเคลือบเซลล์ภายหลังการนำไปตีป่นด้วย stomacher)	36
ข5.	ปริมาณเชื้อบิฟีโดแบคทีเรียที่ผ่านการเคลือบเซลล์ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ผ่านการพาสเจอไรส์ (ปริมาณเชื้อที่รั่วออกจากบุก ; leakage)	37
ข6.	ปริมาณเชื้อบิฟีโดแบคทีเรียที่ผ่านการเคลือบเซลล์ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ผ่านการพาสเจอไรส์ (ปริมาณเชื้อที่ผ่านการเคลือบเซลล์ภายหลังการนำไปตีป่นด้วย stomacher)	37
ข7.	การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด – ด่าง ของการเก็บรักษาโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่อุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 20 วัน	38
ข8.	ปริมาณโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรทหาปริมาณกรดแลคติกในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ถ่ายเชื้อบิฟีโดแบคทีเรียที่ไม่ผ่านการเคลือบเซลล์และที่ผ่านการเคลือบเซลล์ทั้งที่ไม่มีการนำไปผ่านการพาสเจอไรส์และผ่านการพาสเจอไรส์	39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

โพรไบโอติค หมายถึง จุลินทรีย์ที่มีชีวิต ซึ่งเมื่อรับประทานเข้าไปแล้วก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์และสัตว์ เช่น บิฟีโดแบคทีเรีย (Bifidobacteria) และแลคโตบาซิลไล (lactobacilli) ที่มีอยู่ในโยเกิร์ตหรือผลิตภัณฑ์ที่คล้ายกับโยเกิร์ต แต่เนื่องจาก มีปัจจัยหลายอย่างที่จะส่งผลกระทบต่ออัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์โพรไบโอติคในผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น ความเป็นกรดพีเอช ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และปริมาณออกซิเจน เป็นต้น จึงได้มีงานวิจัยที่ศึกษาการเคลือบเซลล์จุลินทรีย์โพรไบโอติคด้วยสารชีวโมเลกุลใหญ่ที่มีอยู่ในธรรมชาติเพื่อช่วยปกป้องเซลล์จากสภาวะรุนแรงดังกล่าว โดยสารที่นิยมนำมาใช้ ได้แก่ แคลเซียม-อัลจิเนต (calcium alginate) เค- คาราจีแนน (k-carrageenan) และเจลแลนกัม(gellan gum) ซึ่งพบว่า สามารถช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของเชื้อโพรไบโอติคได้ (Picot และ Lacroix, 2004)

บุกเป็นพืชที่รู้จักกันอย่างกว้างขวางในพื้นที่แถบภูเขา ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารให้ความคงตัวในผลิตภัณฑ์จากนมต่างๆได้ ในสภาวะที่มีค่า pH ต่ำกว่า 3.3 อีกทั้งเป็นสารที่ทำให้เกิดเจล โดยเป็นทั้งเจลที่ผันกลับได้ด้วยความร้อน (thermal-reversible gel) และเจลที่ไม่ผันกลับได้ด้วยความร้อน (thermal-irreversible gel) ภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน รวมทั้งเป็นแหล่งของ dietary fiber ที่มีความสามารถในการละลายน้ำได้อย่างรวดเร็ว (www.glucomannan.com/gum.htm)

ในการทดลองนี้ ได้ทำการศึกษาการใช้บุกเป็นสารเคลือบเซลล์บิฟีโดแบคทีเรียด้วยวิธีอิมัลชั่น (Emulsion method) โดยทำให้อยู่ในรูปของสารละลายอิมัลชั่นชนิดน้ำในน้ำมัน (W/O emulsion) และเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตของเชื้อบิฟีโดแบคทีเรียที่ผ่านการเคลือบและไม่เคลือบเซลล์ด้วยบุกในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตพร้อมดื่มพาสเจอไรส์

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเคลือบเซลล์บิฟีโดแบคทีเรียด้วยบุกโดยวิธีอิมัลชั่น (Emulsion method)
2. ศึกษาอัตราการรอดชีวิตของเชื้อบิฟีโดแบคทีเรียที่ผ่านการเคลือบเซลล์ด้วยบุกในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตพร้อมดื่มพาสเจอไรส์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
วารสารปริทรรศน์

2.1 บุก (konjac)

บุกเป็นพืชที่รู้จักกันอย่างกว้างขวางในพื้นที่แถบภูเขา ที่ไกลจากสภาวะมลพิษทางอากาศและทางน้ำในเมือง องค์ประกอบหลักของบุก คือ เส้นใยธรรมชาติที่มีความสามารถในการละลายน้ำ (soluble dietary fiber)

อาหารที่ทำจากบุก(konjac food) เป็นอาหารพื้นบ้านของชาวจีนและชาวญี่ปุ่นมากว่า 2,000 ปี และจัดเป็นอาหารเพื่อสุขภาพที่ได้รับความนิยมในแถบเอเชีย

องค์ประกอบทางเคมีของบุก (www.acroyali.com/KONJAC%20POWDER.htm)

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

โครงสร้างทางเคมีของ konjac glucomannan (KGM)

konjac glucomannan เกิดขึ้นจากกระบวนการโพลีเมอไรเซชัน(polymerization) ของส่วนที่เป็นกลูโคสและแมนโนส ทำให้มีโครงสร้างโมเลกุลเป็นโพลีแซคคาไรด์(polysaccharide)ที่ประกอบด้วยหน่วยย่อยซ้ำๆของ β - D - glucose และ β - D – mannose เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ 1,4 linkage ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ของกลูโคสบางหน่วยมีโครงสร้างเป็นโซ่กิ่ง(side chain) ที่เชื่อมต่อด้วยพันธะ 1,3 linkage ในโครงสร้างสายหลัก 1 สายจะประกอบด้วยกลูโคส 3,280 หน่วย และในโซ่กิ่งแต่ละสายจะประกอบด้วยกลูโคสประมาณ 12 หน่วยหรือมากกว่า ซึ่งโดยเฉลี่ยทุกๆ 19 หน่วยของกลูโคสในโซ่กิ่ง จะมีหมู่ acetyl 1 หมู่ เชื่อมต่อด้วยพันธะเอสเทอร์(ester linkage) konjac glucomannan มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ระหว่าง 1,000,000-2,000,000 ดาลตัน ขึ้นอยู่กับชนิดหรือประเภทของบุก วิธีการกรรมวิธีและระยะเวลาในการเก็บวัตถุดิบ (www.acroyali.com/KONJAC%20POWDER.htm)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลูโคแมนแนนมีประโยชน์สำหรับมนุษย์ในเรื่องของการช่วยลดน้ำหนัก ช่วยลดระดับของคอเลสเทอรอล(cholesterol) นอกจากนี้ กลูโคแมนแนนยังช่วยลดอัตราเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจ โรคความดันโลหิตสูงและช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด

<u>คุณสมบัติของ konjac glucomannan</u> (www.glucomannan.com/gum.htm)

1. ความสามารถในการละลายน้ำ (Water solubility)

konjac glucomannan มีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้อย่างรวดเร็ว และสามารถดูดซับน้ำได้ 100-200 เท่าของปริมาตรเดิม อนุภาคของผงบุกประกอบด้วยส่วนของ macromolecules ที่เป็นเส้นยาวๆ และพันกันบริเวณปลายสาย เมื่อบุกสัมผัสกับน้ำ โมเลกุลของน้ำจะถูกดูดซับเข้าไปในโครงสร้าง เป็นสาเหตุให้อนุภาคของบุกสามารพองตัวเพิ่มขึ้นเป็น 200 เท่าของปริมาตรที่มีอยู่เดิม และกลายเป็นของเหลวที่มีความข้นหนืด

2. สารให้ความข้นหนืด (Thickener)

konjac glucomannan มีน้ำหนักโมเลกุล ความหนืดและความหนาแน่นที่สูงที่สุดในบรรดา dietary fiber ชนิดต่างๆ หมู่ acetyl ของกลูโคแมนแนนเป็นส่วนที่ทำให้สารละลายมีความหนืดสูง โดยทั่วไป ผลิตภัณฑ์บุกทางการค้าในปริมาณ 1% ของน้ำ จะให้ความข้นหนืดอยู่ในช่วง 20,000 cp – 40,000 cp (ที่อุณหภูมิ 30°C) ซึ่งสูงกว่าสารให้ความข้นหนืดอื่นๆที่มีอยู่ในธรรมชาติ

3. สารให้ความคงตัว (Stabilizer)

konjac gum เป็นสารให้ความคงตัวชนิดไม่มีประจุ ที่อุณหภูมิห้อง konjac gum มีความคงตัว ไม่ตกตะกอน ถึงแม้ว่าจะอยู่ในสภาวะที่มีค่า pH ต่ำกว่า 3.3 ก็ตาม สามารถใช้ konjac gum เป็นสารให้ความคงตัวในผลิตภัณฑ์ไอศครีม เนยแข็งและผลิตภัณฑ์จากนมอื่นๆ โดยสามารถป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งในผลิตภัณฑ์ได้

4. สารที่ทำให้เกิดเจล (Gelling agent)

konjac glucomannan มีคุณสมบัติเป็นได้ทั้งเจลที่ผันกลับได้ด้วยความร้อน (thermal-reversible gel) และเจลที่ไม่สามารถผันกลับได้ด้วยความร้อน(thermal-irreversible gel) ภายใต้สภาวะที่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเกิดเจลที่ผันกลับได้ด้วยความร้อนเกิดขึ้น โดยการให้ความร้อนกับสารประกอบระหว่างกลูโคแมนแนนกับสารประกอบไฮโดรฟิลิคคอลลอยด์ (hydrophilic colloid) เช่น คาราจีแนน (carrageenan) เพคติน(pectin) เจลาติน(gelatin)และโซเดียมอัลจิเนต (sodium alginate) ทำให้เกิดสารประกอบที่เป็นของแข็งภายใต้อุณหภูมิห้อง (อุณหภูมิไม่เกิน 40°C) แต่ถ้าเพิ่มอุณหภูมิให้สูงขึ้นคือ 50 °C หรือมากกว่า จะทำให้กลายสถานะเป็นของเหลวหรือของแข็งกึ่งเหลว เนื่องจาก konjac glucomannan เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยหน่วยย่อยซ้ำๆกัน เมื่อมีการเติมด่างอ่อน เช่น แคลเซียมไฮดรอกไซด์($Ca[OH]_2$) จะทำให้เกิดเจลที่มีความแข็งแรง ยืดหยุ่นและไม่ละลายเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น

โดยปกติ สารละลาย konjac glucomannan จะไม่เกิดเป็นเจล เนื่องจากมีหมู่ acetyl อยู่ในโครงสร้าง ซึ่งป้องกันการเข้าใกล้ของโมเลกุลอื่นๆ แต่เมื่อให้ความร้อนในสภาวะที่ pH 9-10 จะทำให้เกิดโครงสร้างที่เป็นเจลขึ้น โดยเจลนี้จะมีความความคงตัว แม้ว่าจะอยู่ในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูงถึง 100-200°C ก็ตาม (เป็นเจลที่ไม่สามารถผันกลับได้ด้วยความร้อน) ทั้งนี้เนื่องจาก การให้ความร้อนในสภาวะที่เป็นด่างอ่อน จะไปกำจัดหมู่ acetyl ในโครงสร้างของ konjac glucomannan

5. สารที่ทำให้เกิดฟิล์ม (film former)

บุกสามารถทำให้เกิดฟิล์มได้ด้วยตัวของมันเองหรือการผสมอยู่ร่วมกับ gum อื่นๆ เช่น คาราจีแนน

6. เป็นแหล่งของ dietary fiber ที่ละลายน้ำ

หัวบุกสดประกอบด้วย dry matter 13% ซึ่ง 70% เป็นกลูโคแมนแนน และอีก 30% เป็นแป้ง(starch)

Konjac foods :

- เป็นเส้นใยธรรมชาติที่ละลายน้ำ ไม่มีไขมัน น้ำตาล แป้งหรือโปรตีน
- ไม่ให้พลังงาน
- มีลักษณะเป็นวุ้น/เจลาตินกึ่งโปร่งแสง ไม่มีกลิ่น แต่ง่ายต่อการดูดซับกลิ่นต่างๆ ของอาหารที่เป็นองค์ประกอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- สามารถเปลี่ยนแปลงรูปแบบและรูปร่างได้หลายแบบ
- สามารถเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องได้เป็นเวลาประมาณ 1 ปี

ลักษณะเฉพาะของ konjac glucomannan ที่แตกต่างจาก dietary fiber อื่นๆ :

- เป็นเส้นใยธรรมชาติที่ละลายน้ำและให้ความหนืดสูงมาก กลายเป็นสารละลายที่เหนียวและหนืด
- konjac glucomannan มีน้ำหนักโมเลกุลสูงที่สุดในบรรดา dietary fiber
- konjac glucomannan มีความสามารถในการอุ้มน้ำได้มากที่สุด
- konjac glucomannan มีคุณสมบัติเป็น reversible/thermo- non - reversible gel

2.2 บิฟิโดแบคทีเรีย (Bifidobacteria)

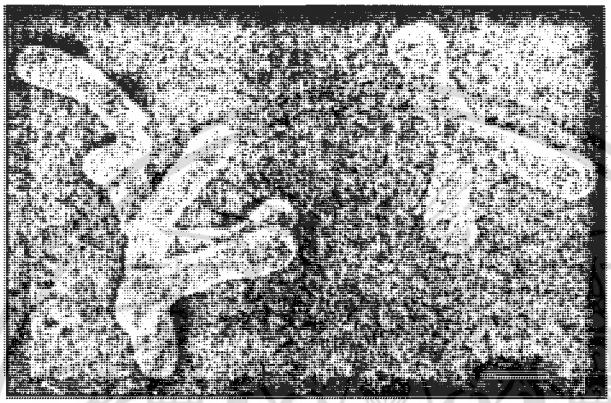
Bifidobacteria พบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1900 ในอุจจาระทารก โดย Henry Tissiser แห่งสถาบันวิจัยปลาสเตอร์ ประเทศฝรั่งเศส และตั้งชื่อว่า Bacillus bifidus comminis มีลักษณะเป็นท่อนโค้ง ติดสีแกรมบวก สามารถสร้างกรดได้ จะพบมากในลำไส้ของเด็กทารกขณะกำลังดื่มนมมารดาอยู่ ซึ่งนักวิทยาศาสตร์หลายท่านประสบปัญหาด้านการเลี้ยงจุลินทรีย์ชนิดนี้ Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Edition ที่ 7 จัดให้ Bifidobacteria อยู่ในกลุ่ม Lactobacilli และมีเพียงสปีชีส์เดียว คือ *Lactobacillus bifidum* พบว่า มีลักษณะคล้ายกับแบคทีเรีย Bacterioides, Bacterium, Tisseria, Nocardia, Lactobacillus, Actinomyces และ Corynebacterium ต่อมา Bergey's Manual of Determinative Bacteriology Edition ที่ 8 ได้จัดให้ Bifidobacteria อยู่ในกลุ่ม Family Actinomycetaceae ต่อมาปี ค.ศ. 1924 Oral – Jensen หาวิธีจำแนกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ความต้องการสารอาหาร และลักษณะทางชีวเคมี จัดให้ Bifidobacteria อยู่ในจีนัส Bifidobacteria (Scardovi, 1986)

2.2.1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาของบิฟิโดแบคทีเรีย

บิฟิโดแบคทีเรียสามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์ โคโลนีมีลักษณะผิวเกลี้ยงนูน โค้ง ขอบเรียบ ไม่เว้า สีครีม หรือ สีขาว เนื้อโคโลนีนุ่ม สะท้อนเป็นเงาไม่ขุ่นมัว เมื่อย้อมสีแกรมติดสีแกรมบวก ไม่ติดสีแอซิดฟาสต์ (acid fast) ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ มีรูปร่างหลายแบบ (pleomorphic form) มีลักษณะเป็นกิ่งก้านสาขา ไม่ต่อกันเป็นสายยาว เป็นแท่งยาวสั้น คล้ายตัว Y หรือตัว X หรือตัวV ขึ้นกับองค์ประกอบของอาหารที่ใช้ มีขนาดความยาวของเซลล์ 2 – 8 ไมครอน

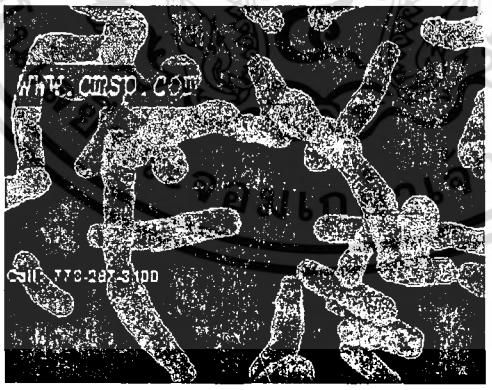
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สายพันธุ์ที่แยกจากมนุษย์เจริญได้ที่อุณหภูมิ 36 – 38 องศาเซลเซียส แต่สายพันธุ์ที่แยกจากสัตว์เจริญได้ที่อุณหภูมิ 41 – 43 องศาเซลเซียสและอาจจะสูงถึง 46 องศาเซลเซียส โดยไม่เจริญที่อุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส และไม่ทนต่ออุณหภูมิที่สูงกว่า 46 องศาเซลเซียส ส่วนพีเอชที่เหมาะสมในการเจริญเริ่มต้นอยู่ระหว่าง 6.5 – 7.0 และไม่เจริญที่พีเอชต่ำกว่า 5.0 หรือสูงกว่า 8.0 (Scardovi, 1986 ; Sgorbati และคณะ, 1995)



รูปที่ 1 ลักษณะของบิฟีโดแบคทีเรีย

ที่มา : http://biology.kenyon.edu/Microbial_Biorealm/bacteria/grampositive/bifidobacterium/Bifidobacterium.htm



รูปที่ 2 ลักษณะของบิฟีโดแบคทีเรียจากกล้อง SCANNING ELECTRON MICROSCOPY x5000

ที่มา : http://catalog.cmsp.com/datav3/im010005.htm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3 ลักษณะทางพันธุกรรมของบิฟิโดแบคทีเรีย

องค์ประกอบพื้นฐานของ ดีเอ็นเอ (DNA base composition) ของโครโมโซมบิฟิโดแบคทีเรียแตกต่างจากแลคโตบาซิลลัส โดยแบคทีเรียตระกูล Bifidobacterium มีร้อยละของ guanine + cytosine (G + C%) ระหว่าง 57.2 – 64.5 (Scardovi, 1986) บิฟิโดแบคทีเรีย 24 สปีชีส์ มีเพียง 5 สปีชีส์ เท่านั้นที่มีพลาสมิด (Plasmid) คือ *B. globosum, B. longum, B. breve, B. asteroids* และ *B. indicum* (Sgorbati และคณะ, 1995)

2.2.4 กระบวนการเมแทบอลิซึม

แบคทีเรียตระกูล Bifidobacterium สามารถย่อยสลายน้ำตาลที่มีคาร์บอนหกอะตอม (hexose) ตามวัฏจักร Fructose – 6 –phosphate pathway วัฏจักรนี้พบเอนไซม์ fructose – 6 – phosphate phosphoketolase (F6PPK) แต่ไม่พบ aldolase และ glucose - 6 - phosphate สารเมแทบอไลท์จากการหมักกลูโคส 2 โมเลกุล จะได้ อะซีเทต (acetate) และแลคเทต (lactate) 3 และ 2 โมล ตามลำดับ นอกจากนั้นกรดไพรูวิค (pyruvic acid) สามารถย่อยสลายได้ 2 ทาง คือ การเกิดรีดักชัน (reduction) จากไพรูเวท (pyruvate) เป็น L(+) lactate โดยเอนไซม์ L(+) dehydrogenase (E.C.1.1.1.27) อีกทางหนึ่งจะแยกไพรูเวทโดยใช้เอนไซม์ phosphoroelastic เป็นกรดฟอร์มิค และ acetyl phosphate ซึ่งสามารถเปลี่ยนไปเป็นเอทิลแอลกอฮอล์และได้ NAD อัตราส่วนของอะซีเทตและแลคเทตที่ผลิตได้อาจแปรผันตามสปีชีส์ แม้แต่สปีชีส์เดียวกันก็อาจไม่เท่ากัน บิฟิโดแบคทีเรียบางสปีชีส์อาจสร้างกรดซัคซินิค (succinic acid) และอาจมีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เล็กน้อยหลังจากการสลาย gluconate เอนไซม์ fructose – 6 – phosphate phosphoketolase (F6PPK) (E.C.4.1.2.22) เป็นเอนไซม์เฉพาะในการเมแทบอลิซึมน้ำตาลของแบคทีเรีย ในตระกูล Bifidobacterium ไม่พบในแบคทีเรียตระกูลอื่นที่มีลักษณะทางสัณฐานวิทยาเหมือนบิฟิโดแบคทีเรีย เช่น Lactobacillus, Arthrobactor, Propionibacterium, Corybacterium และ Actinomycetaceae เป็นต้น (Scardovi, 1986)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 โยเกิร์ต

โยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์นมหมักที่ผลิตจากการเติมจุลินทรีย์ลงไปในนม (Fermented milk) มีถิ่นกำเนิดในแถบประเทศเอเชียตะวันออก โยเกิร์ตมีการผลิตมาตั้งแต่สมัยโบราณแถบประเทศบัลกาเรีย โยเกิร์ตเป็นภาษาพื้นเมืองของภูมิภาคนี้ มีความหมายว่า "ยาอายุวัฒนะ" แต่เดิมเรียก "ยาเอิด" (yaourt) โดยทั่วไปเรียกว่า โยเกิร์ต แต่อาจเขียนได้หลายแบบ คือ yoghurt , yogurt หรือ yoghourt (นรินทร์, 2538)

โยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์หมักจากจุลินทรีย์ (Fermented product) ผลิตจากน้ำนมอาจเป็นนมสดพร่องมันเนย หรือนมคืนรูปจากนมพร่องมันเนย หมักด้วยจุลินทรีย์ในกลุ่มแลคติกแอสิดแบคทีเรีย (lactic acid bacteria)ได้แก่เชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* กับ *Streptococcus thermophilus* จุลินทรีย์สามารถย่อยน้ำตาล แลคโตสในนมให้เป็นกรดแลคติก (lactic acid) ส่งผลให้ความเป็นกรด – ด่างของนมสดจาก 6.5 – 6.7 เป็น 4.2 – 4.5 (อภิญญา, 2542) ซึ่งเป็นจุด Isoelectric โปรตีนเกิดการจับตัวกันเป็นก้อนและตกตะกอนเป็นลิ่ม(curd) เนื้อสัมผัสกึ่งแข็งกึ่งเหลว มีสีขาวหรือขาวนวล มีกลิ่นเฉพาะตัว รสชาติค่อนข้างเปรี้ยว (Tamime and Robinson, 1985)

นอกจากกรดแลคติกที่ได้จากการผลิตโดยจุลินทรีย์แล้วยังมีสารอื่นๆที่เกิดขึ้นด้วยแต่มีปริมาณน้อย ได้แต่ สารประกอบที่ระเหยได้ (volatile compounds) สารเหล่านี้ทำให้เกิดกลิ่นรสเฉพาะตัวของโยเกิร์ต

2.4 โยเกิร์ตพร้อมดื่มหรือนมเปรี้ยว (Drinking yoghurt) (ศศิวิมล, 2547)

มีลักษณะข้นกว่านมสดธรรมดาเล็กน้อยทำให้สามารถดื่มได้ เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำโยเกิร์ตที่บ่มจนได้ปริมาณกรดตามต้องการมาผสมกับน้ำผลไม้หรือน้ำเชื่อมในอัตราส่วนร้อยละ 30-85 แล้วทำให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยผ่านการโฮโมจีไนเซชั่น (homogenization) แล้วจึงนำไปผ่านกรรมวิธีการฆ่าเชื้อ ซึ่งอาจจำแนกได้เป็น 3 ประเภทตามอายุการเก็บรักษา คือ

2.4.1. ประเภทที่จุลินทรีย์โยเกิร์ตยังมีชีวิตอยู่

เป็นนมเปรี้ยวที่ไม่ผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อใดๆ หลังจากกระบวนการหมัก ผู้บริโภคจึงได้รับประโยชน์จากเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ตที่ยังมีชีวิตอยู่ อย่างไรก็ตามนมเปรี้ยวประเภทนี้มีอายุการเก็บรักษาค่อนข้างสั้น สามารถเก็บไว้ในตู้เย็นได้ประมาณ 2 – 3 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2. ประเภทผ่านการพาสเจอไรเซชั่น

หลังจากการผสมโยเกิร์ตกับน้ำผลไม้หรือน้ำเชื่อมและผ่านการโฮโมจีไนซ์แล้ว นมเปรี้ยวที่ได้จะผ่านกระบวนการพาสเจอไรเซชั่น เพื่อเป็นการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนมาในผลิตภัณฑ์แล้วจึงบรรจุขวด เนื่องจากเชื้อจะถูกทำลายด้วยความร้อนในระหว่างการพาสเจอไรเซชั่น นมเปรี้ยวประเภทนี้จึงสามารถเก็บไว้ในตู้เย็นได้นานกว่า 1 เดือน

2.4.3. ประเภทผ่านกระบวนการยูเอชที (UHT)

เป็นนมเปรี้ยวที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยระบบยูเอชทีซึ่งใช้ความร้อนสูง จึงสามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้ทุกชนิด ดังนั้นผู้บริโภคจึงไม่ได้รับประโยชน์จากเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ต นมเปรี้ยวประเภทนี้มีอายุการเก็บรักษาได้ไม่น้อยกว่า 6 เดือนและสามารถเก็บรักษาได้ที่อุณหภูมิห้อง

2.5 ไมโครเอนแคปซูเลชัน (microencapsulation)

ปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ด้านอาหารพยายามที่จะทำให้เชื้อโพรไบโอติคสามารถทนต่อสภาวะต่างๆในกระบวนการแปรรูปอาหารได้มากขึ้น เช่น ทนต่อความชื้น ออกซิเจน ความร้อน โดยทำการบรรจุจุลินทรีย์เหล่านี้ในเจลที่เป็นแคปซูลเช่นเดียวกับที่ใช้ในผลิตภัณฑ์ประเภทวิตามินต่างๆ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำควบคู่กันไปด้วย อย่างไรก็ตาม การประยุกต์ใช้เจลแคปซูลนี้ไม่สามารถจะปฏิบัติได้จริงเพราะส่งผลต่อกระบวนการผลิตอาหาร คือ เจลนี้ทำให้คุณลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหารเปลี่ยนไปและต้นทุนที่จะเพิ่มสูงขึ้นมากหากทำวิธีการนี้ เพื่อปกป้องเซลล์จากสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม ดังนั้น จึงได้มีการศึกษาและนำเทคโนโลยีใหม่ที่เรียกว่า ไมโครเอนแคปซูเลชั่นมาใช้เพื่อที่จะแก้ปัญหานี้ (Shah, 2000) ซึ่งวิธีการดังกล่าวเป็นวิธีการนำเซลล์ที่มีชีวิตบรรจุลงในสาร ชีวโมเลกุลขนาดใหญ่แบบ hydrocolloid beads โดยแบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ

2.5.1. Extrusion method เป็นวิธีที่นำส่วนผสมระหว่างสารละลาย hydrocolloid กับสารละลายเชื้อ มาบรรจุลงในกระบอกฉีดยาแล้วทำการฉีดลงในสารละลายที่มีความกระด้าง โดยรูปร่างและขนาดของเม็ดบีดส์ที่ได้จะขึ้นอยู่กับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของเข็มฉีดยา และระยะการตกของส่วนผสมที่หยดลงสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.2. Emulsion method เป็นวิธีการทำให้ของเหลวที่ไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกันตั้งแต่ 2 ชนิดเข้าด้วยกัน ภายในอิมัลชั่นของเหลวหนึ่งจะมีลักษณะเป็นหยดเล็กๆ กระจายอยู่ในของเหลวอีกชนิดหนึ่ง ของเหลวที่อยู่ในรูปหยดเล็กๆนี้ เรียกว่า ส่วนไม่ต่อเนื่อง ส่วนของเหลวอีกชนิดหนึ่งที่อยู่โดยรอบของเหลวชนิดแรกจะเรียกว่าส่วนต่อเนื่อง โดยวิธีการเคลือบเซลล์เป็นการใช้น้ำมันพืช เช่น น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันดอกทานตะวัน น้ำมันดอกคาโนลา หรือน้ำมันข้าวโพด เป็นส่วนที่ต่อเนื่อง และใช้สารชีวโมเลกุลขนาดใหญ่ เช่น k – Carageenan Alginate Cellulose acetate phptalate(CAP) Chitosan หรือ Gelatin เป็นส่วนที่ไม่ต่อเนื่อง เมื่อนำส่วนที่ไม่ต่อเนื่องมากวนผสมให้เข้ากับส่วนที่ต่อเนื่อง จะเกิดเป็นอิมัลชั่นชนิด water in oil (W/O emulsion) โดยส่วนที่ไม่ต่อเนื่องจะฟอร์มตัวเป็นอนุภาคเล็กๆ อยู่ภายในส่วนที่ต่อเนื่องหรือส่วนของน้ำมันพืช และการทำให้เกิดเป็นอิมัลชั่นได้ดีขึ้นนั้นอาศัยการเติมอิมัลซิไฟเออร์ เช่น Tween 80 (0.2%) เพื่อช่วยลดแรงตึงผิวที่ผิวสัมผัส (Sheu & Marshall, 1993; Sheu et al., 1993; Kebary et al., 1998) และขนาดของเม็ดบีดส์ขึ้นอยู่กับความเร็วรอบในการกวนผสม ชนิดของสารชีวโมเลกุลขนาดใหญ่ และการใช้อิมัลซิไฟเออร์

จากการนำเซลล์มาผ่านการเคลือบด้วยสารชีวโมเลกุลขนาดใหญ่ด้วย hydrocolloid beads มาปรับใช้กับจุลินทรีย์โพรไบโอติคในผลิตภัณฑ์นมหมัก พบว่า ทั้งวิธี extrusion และ emulsion ช่วยให้อัตราการรอดชีวิตของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติคเพิ่มสูงขึ้นถึง 80 – 95 % (Krasaekoopt และคณะ, 2003)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 ผงบุก (Konjac Powder KB1220, CHENGDU XIELI KONJAC SCIENTIFIC PLANTING & PROCESSING COMUNITY CO., LTD, China)

3.1.2 น้ำมันดอกทานตะวัน (ยี่ห้อกุ๊ก)

3.1.3 นมสดพาสเจอไรส์ไขมันต่ำ (low fat) (ยี่ห้อโฟโมสต์)

3.1.4 นมผงขาดมันเนย (skim-milk powder) (N2MP, New Zealand)

3.1.5 เพคติน (Food & Cosmetic System Co.,Ltd)

3.1.6 น้ำตาลทราย (ยี่ห้อมิตรผล)

3.1.7 เชื้อ Bifidobacterium แยกจากเชื้อที่ใช้ผลิตโยเกิร์ต ABT-5 (East Asiatic (Thailand) Plublic company Ltd)

3.1.8 เชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ตทางการค้าที่ใช้ในการผลิตโยเกิร์ต YC 380 (East Asiatic (Thailand) Plublic company Ltd)

3.2 สารเคมี

3.2.1 สารเคมี

3.2.1.1 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (0.1 N NaOH)

3.2.1.2 ฟีนอล์ฟทาลีน (phenolphthalein) 1.0 %

3.2.1.3 กรดไฮโดรคลอริก (0.5 N HCl)

3.2.1.4 แอลกอฮอล์ 70%

3.2.1.5 แอลกอฮอล์ 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.2 สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.2.2.1 Tryptone (Oxoid L42, Australia)

3.2.2.2 Yeast extract (Oxoid L42, Australia)

3.2.2.3 Tween 80 (APS Finechem)

3.2.2.4 di – Potassium hydrogen phosphate (Merck No. 5104, Germany)

3.2.2.5 Sodium acetate, $3H_2O$ (Merck No. 6267, Germany)

3.2.2.6 di -Ammonium hydrogen citrate (Merck No. 1154, Germany)

3.2.2.7 Magnesium sulphate, 7 H_2O (Merck No. 5882, Germany)

3.2.2.8 Manganese(II) – sulphate, H_2O (Merck No. 5960, Germany)

3.2.2.9 Agar (SO-BI-GEL)

3.2.2.10 Glucose (Merck, Germany)

3.2.2.11 Dichloxallin (Sigma D-9016, Germany)

3.2.2.12 LiCl (Merck No. 5679, Germany)

3.2.2.13 Cystein hydrochloride (Merck, Germany)

3.2.2.14 peptone 0.1 %

3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.3.1 เครื่องชั่งไฟฟ้า (ARC 120, USA.)

3.3.2 ขวดบรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.3.3 จานเพาะเชื้อ

3.3.4 หลอดทดลอง

3.3.5 หม้อสแตนเลส

3.3.6 กล้องจุลทรรศน์ (Nikon ECLIPSE E200, China)

3.3.7 กล้องถ่ายรูป (Nikon E995, Japan)

3.3.8 ชุดกรองเชื้อ

3.3.9 เครื่องบ่มโยเกิร์ต

3.3.10 เทอร์โมมิเตอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.11 ตู้บ่มเชื้อจุลินทรีย์ (Kendo Laboratory Products, Germany)

3.3.12 ตู้อบลมร้อน

3.3.13 เตาอบไมโครเวฟ

3.3.14 เครื่องปั่นอาหาร (blender) (NEWHARTFORD, CONN. U.S.A.)

3.3.15 เครื่องตีป่นอาหาร (AES Laboratory, France)

3.3.16 เครื่องวัด pH (LISTED 8F93 Laboratory Equipment, Germany)

3.3.17 เครื่องหมุนเหวี่ยง (Jouan, France)

3.3.18 หม้อนึ่งความดัน (SS-325 Tomy, Japan)

3.3.19 anaerobic jar

3.3.20 anaerocult (Merck, Germany)

3.3.21 hot plate

3.3.22 Pipette

3.3.23 volumetric flask

3.3.24 vortex mixer (G-560E, USA.)

3.4 วิธีการทดลอง

3.4.1 ขั้นตอนการเตรียมเจล (Perols และคณะ, 1997)

ละลายบุก 0.51 กรัม ลงในน้ำกลั่นปริมาตร 33.3 มิลลิลิตร นำสารละลายบุกมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 ^{0}C เป็นเวลา 60 นาที เติม K_2CO_3 ในปริมาณ 10 % ของผงบุก ซึ่งเท่ากับ 0.051 กรัม ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 ^{0}C ต่อไปเป็นเวลา 20 นาที นำไปแช่ในอ่างน้ำแข็งเป็นเวลาอย่างน้อย 4 ชั่วโมง

3.4.2 ขั้นตอนการเตรียม Bifidobacterium culture

นำโคโลนีของเชื้อบิฟีโดแบคทีเรีย 2-3 โคโลนีใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MRS–IM ที่มีสารละลายกลูโคส + A + B + C (ภาคผนวก) ปริมาตร 12 มิลลิลิตร ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 2 วัน จะได้เชื้อบิฟีโดแบคทีเรียที่มีความเข้มข้นอยู่ในช่วง 10^{8} cfu/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.3 ขั้นตอนการเคลือบเซลล์ (Encapsulation) (Perols และคณะ, 1997)

3.4.3.1 นำสารละลายบุก (จากข้อ 3.4.1) มา 33.3 มิลลิลิตร ทำการปรับค่า pH ให้ได้ 7.0 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก (0.5 M HCl) ปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร

3.4.3.2 ทำการถ่ายเชื้อจุลินทรีย์บิฟิโดแบคทีเรียปริมาตร 6.7 มิลลิลิตร

3.4.3.3 ค่อยๆเติมน้ำมันดอกทานตะวันปริมาตร 160 มิลลิลิตรลงในส่วนผสม

3.4.3.3.1 นำส่วนผสมที่ได้มาเทลงในบีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร (ที่มี tween 80 ปริมาณ 0.2%)

3.4.3.3.2 นำส่วนผสมที่ได้มาเทลงในบีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร (ที่ไม่มี tween 80 ปริมาณ 0.2%)

3.4.3.4 ทำการกวนผสมเป็นเวลา 15 นาที

3.4.3.4.1 กวนผสมด้วยความเร็วต่ำ

3.4.3.4.2 กวนผสมด้วยความเร็วสูง

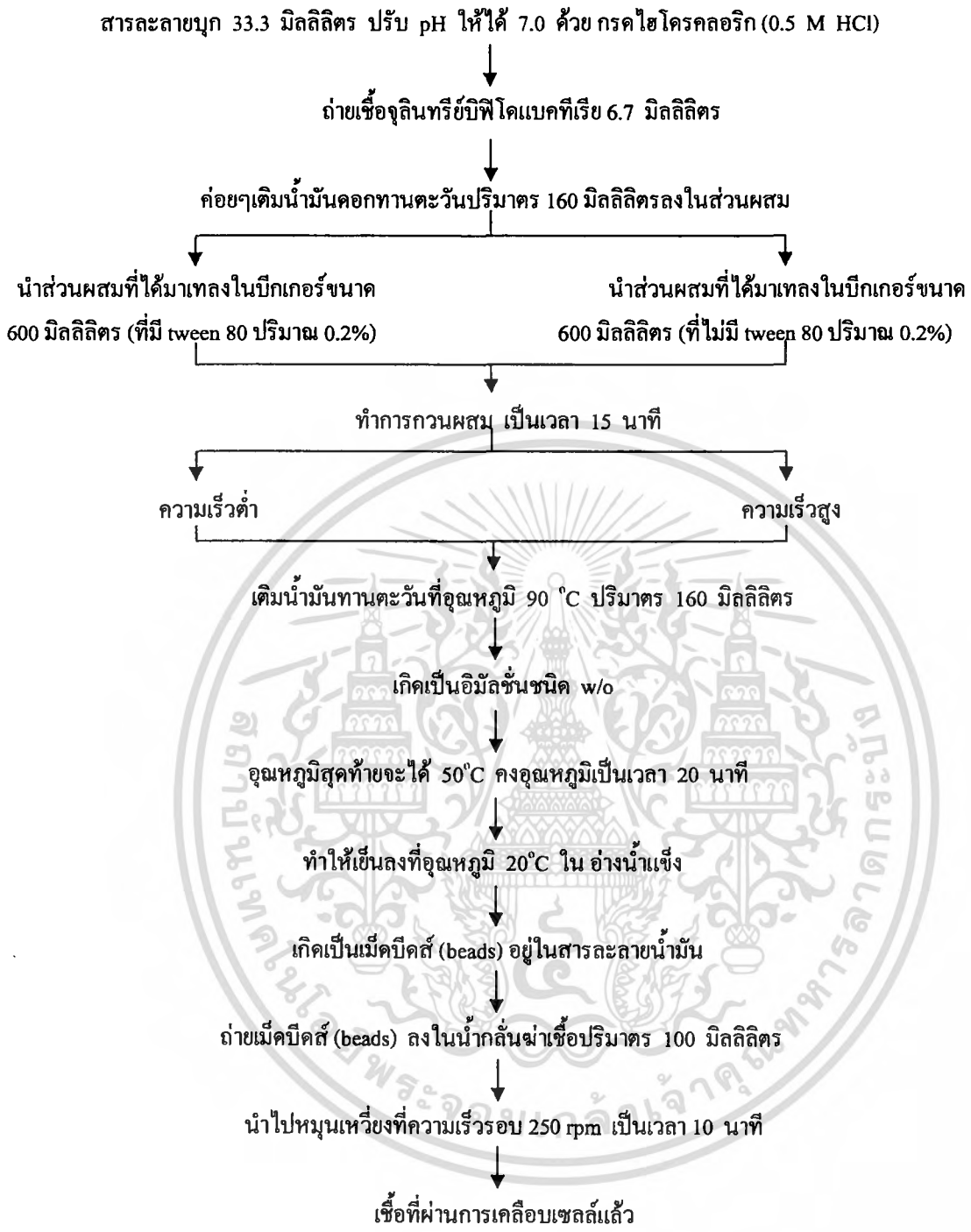
3.4.3.5 เติมน้ำมันดอกทานตะวันปริมาตร 160 มิลลิลิตร ที่มีอุณหภูมิ 90 ^{0}C หลังจากนั้น จะเกิดเป็นอิมัลชั่นชนิด w/o (water in oil emulsion) จะได้อุณหภูมิสุดท้ายเท่ากับ 50 ^{0}C และทำการคงอุณหภูมิไว้เป็นเวลา 20 นาที

3.4.3.6 ทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 20 ^{0}C ในอ่างน้ำแข็ง

3.4.3.7 ส่วนผสมที่ได้จะเกิดเป็นเม็ดบีดส์ที่อยู่ในสารละลายน้ำมัน ทำการแยกเม็ดบีดส์ออกจากสารละลายน้ำมันด้วยการถ่ายเม็ดบีดส์ลงในน้ำกลั่นฆ่าเชื้อปริมาตร 100 มิลลิลิตร

3.4.3.8 นำส่วนผสมทั้งหมดไปทำการหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 250 rpm เป็นเวลา 10 นาที เพื่อแยกเม็ดบีดส์ออกจากสารละลายน้ำมัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.1 ขั้นตอนการเคลือบเซลล์บิฟิโดแบคทีเรียใน cold – melting hydrogel beads ตามวิธีการของ Perols และคณะ, 1997

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.4 การเตรียมโยเกิร์ต

3.4.4.1 นำนมไขมันต่ำมาปรับปริมาตรของแข็งทั้งหมดให้ได้ 18 %

3.4.4.2 ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 – 90 ^{0}C เป็นเวลา 10 นาที

3.4.4.3 ทำให้อุณหภูมิเย็นลงที่ 45^{0}C

3.4.4.4 ถ่ายเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ต YC380 ปริมาณ 0.025 % ลงในโยเกิร์ต

3.4.4.5 แบ่งโยเกิร์ตใส่ลงในขวดบ่มโยเกิร์ต

3.4.4.6 ทำการบ่มโยเกิร์ตไว้ที่อุณหภูมิ 42 – 43^{0}C จะได้เป็น set yoghurt

3.4.4.7 เติมน้ำเชื่อมที่มีน้ำตาล 24 % เทลงใน set yoghurt ในอัตราส่วน 1:1 (ปั่นผสมใน blender เป็นเวลา 5 นาที) จะได้เป็นโยเกิร์ตพร้อมดื่ม

3.4.4.8 แบ่งโยเกิร์ตพร้อมดื่มออกเป็น 4 ส่วน คือ

3.4.4.8.1 ส่วนแรกทำการถ่ายเชื้อบิฟีโดแบคทีเรียที่ไม่ผ่านการเคลือบเซลล์ (ปริมาตร 6.7 มิลลิลิตร) ลงในโยเกิร์ตพร้อมดื่มโดยไม่นำไปพาสเจอไรส์ หลังจากนั้นทำการเก็บไว้ที่อุณหภูมิตู้เย็น

3.4.4.8.2 ส่วนที่สองทำการถ่ายเชื้อบิฟีโดแบคทีเรียที่ไม่ผ่านการเคลือบเซลล์ (ปริมาตร 6.7 มิลลิลิตร) ลงในโยเกิร์ตพร้อมดื่ม จากนั้นนำโยเกิร์ตพร้อมดื่มไปผ่านการพาสเจอไรส์ใน water bath ที่อุณหภูมิ 72 ^{0}C เป็นเวลา 15 วินาที หลังจากนั้นทำการเก็บไว้ที่อุณหภูมิตู้เย็น

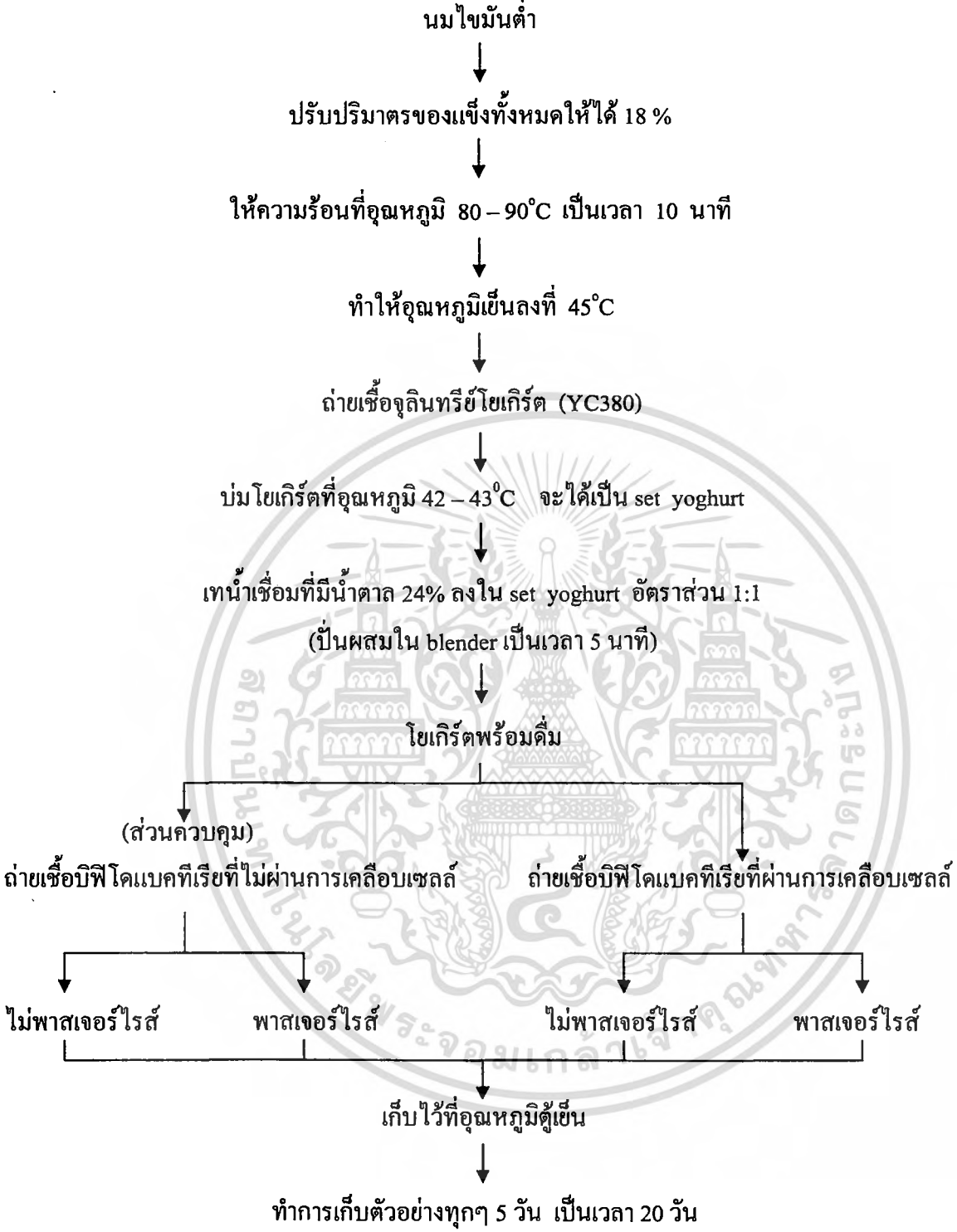
3.4.4.8.3 ส่วนที่สามทำการถ่ายเชื้อบิฟีโดแบคทีเรียที่ผ่านการเคลือบเซลล์ลงในโยเกิร์ตพร้อมดื่มโดยไม่นำไปพาสเจอไรส์ หลังจากนั้นทำการเก็บไว้ที่อุณหภูมิตู้เย็น

3.4.4.8.4 ส่วนที่สี่ทำการถ่ายเชื้อบิฟีโดแบคทีเรียที่ผ่านการเคลือบเซลล์ลงในโยเกิร์ตพร้อมดื่ม ต่อจากนั้นนำโยเกิร์ตพร้อมดื่มไปผ่านพาสเจอไรส์ใน water bath ที่อุณหภูมิ 72 ^{0}C เป็นเวลา 15 วินาที หลังจากนั้นทำการเก็บไว้ที่อุณหภูมิตู้เย็น

3.4.4.9 ทำการเก็บตัวอย่างทั้ง 4 ส่วน เพื่อนำไปทดสอบหาอัตราการรอดชีวิตของเชื้อบิฟีโดแบคทีเรีย ปริมาณกรดแลกติกและค่าพีเอช

หมายเหตุ : การพาสเจอไรส์ทำได้โดยการนำภาชนะบรรจุโยเกิร์ตพร้อมดื่มใส่ลงใน water bath พร้อมทั้งคนตลอดเวลา เพื่อให้เกิดการแลกเปลี่ยนความร้อนระหว่างโยเกิร์ตพร้อมดื่มกับน้ำร้อน โดยเริ่มจับเวลาเมื่อโยเกิร์ตพร้อมดื่มมีอุณหภูมิเท่ากับ 72 ^{0}C เป็นระยะเวลา 15 วินาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



<u>รูปที่ 3.2</u> ขั้นตอนการเตรียมโยเกิร์ต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

96981

3.4.4 การตรวจนับปริมาณเชื้อที่มีชีวิตหลังผ่านการเคลือบเซลล์ด้วยบุก

3.4.4.1 ปิเปตโยเกิร์ตพร้อมดื่มปริมาตร 1 มิลลิลิตร มาผ่านการ homogenize ด้วย stomacher เป็นเวลา 3 นาที

3.4.4.2 นำเซลล์จุลินทรีย์ที่ได้มาเจือจางในสารละลาย 0.1 % peptone solution

3.4.4.3 ดูดตัวอย่างที่ระดับการเจือจางตั้งแต่ 10^{-4} - 10^{-6} มา 1 มิลลิลิตร ใส่บนจานเพาะเชื้อ แล้วทำการ pour plate ด้วย MRS-IM agar + สารละลาย A, B, C + สารละลายกลูโคส 20% (ภาคผนวก)

3.4.4.4 ทำการบ่มในสภาวะไร้อากาศ (anaerobic jar) ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 2 วัน

3.4.4.5 ตรวจสอบจำนวนเชื้อ โดยนับโคโลนีของเชื้อที่เกิดขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและการวิจารณ์

4.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเคลือบเซลล์บิฟิโดแบคทีเรียโดยวิธีอิมัลชัน (Emulsion method)

การเคลือบเซลล์บิฟิโดแบคทีเรียด้วยสภาวะที่แตกต่างกัน พบว่า สภาวะที่ไม่เติม tween 80 และกวนผสมด้วยความเร็วรอบต่ำทำให้ได้เจลบีดส์ที่มีขนาดใหญ่กว่าการกวนผสมด้วยความเร็วรอบสูงและตกตะกอนอย่างรวดเร็ว ส่วนการเติม tween 80 และกวนผสมด้วยความเร็วรอบต่ำทำให้ได้เม็ดบีดส์ที่มีขนาดใหญ่และไม่สม่ำเสมอ ซึ่งต่างจากการกวนผสมด้วยความเร็วรอบสูงที่ให้เม็ดบีดส์ขนาดเล็กและสม่ำเสมอ การเติม tween 80 ที่สภาวะการกวนผสมต่ำทำให้เจลบีดส์ที่ได้มีขนาดใหญ่และไม่สม่ำเสมอ เนื่องจาก tween 80 และความเร็วรอบในการกวนผสมมีอิทธิพลต่อลักษณะของสารละลายอิมัลชัน โดย tween 80 ช่วยลดแรงตึงผิวของสารละลายอิมัลชัน จึงทำให้ได้เจลบีดส์ที่มีขนาดเล็ก (ตารางที่ 4.1)

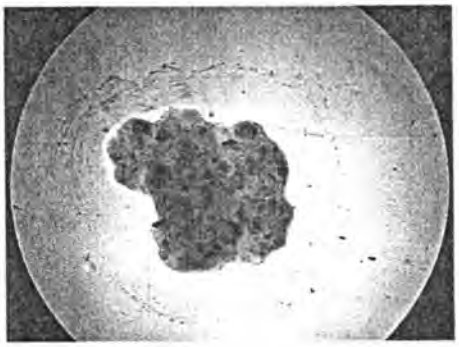
จากการศึกษาสภาวะเพื่อใช้ในการเคลือบเซลล์บิฟิโดแบคทีเรียด้วยบุก โดยวิธีอิมัลชั่น (Emulsion method) พบว่า การเคลือบเซลล์บิฟิโดแบคทีเรียด้วยบุก ภายใต้สภาวะที่มีการเติม tween 80 และกวนผสมด้วยความเร็วรอบสูง ทำให้เจลบีดส์ที่ได้มีขนาดเล็กและแยกตัวออกจากสารละลายอิมัลชั่นได้ดีกว่าสภาวะที่ไม่มีการเติม tween 80

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

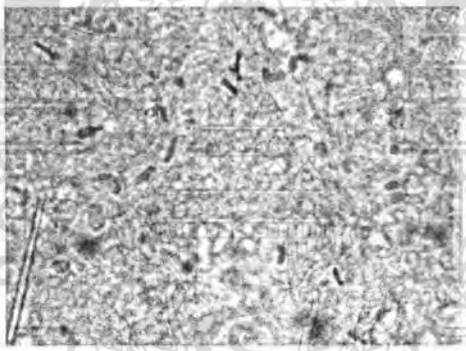
ตารางที่ 4.1 คุณลักษณะของเจลบีดส์ที่ได้จากสภาวะต่างๆที่ใช้ในการเคลือบเซลล์บิฟีโดแบคทีเรียโดยวิธีอิมัลชั่น (Emulsion method)

ความเร็วที่ใช้กวนผสม	อิมัลซิไฟเออร์	ลักษณะของสารละลายอิมัลชัน	ลักษณะของเจลบีดส์และการตกตะกอนของเจลบีดส์
ความเร็วต่ำ	1.) tween 80 (ปริมาณ 0.2%)	- เป็นของเหลวขุ่น - เมื่อมองด้วยตาเปล่า ลักษณะของของเหลวรวมเป็นเนื้อเดียวกัน	- เจลบีดส์มีขนาดใหญ่ และไม่สม่ำเสมอ - เจลบีดส์แยกตัวออกจากสารละลายอิมัลชันอย่างรวดเร็ว
	2.) ไม่ใส่ tween 80	- เป็นของเหลวขุ่น - เมื่อมองด้วยตาเปล่า ลักษณะของของเหลวไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกัน แต่ไม่เกิดการแยกชั้น	- เจลบีดส์มีขนาดใหญ่กว่าที่สภาวะที่มีการเติมtween 80 และกวนผสมด้วยความเร็วรอบต่ำ - เจลบีดส์แยกตัวออกจากสารละลายอิมัลชันได้ค่อนข้างช้า
ความเร็วสูง	1.) tween 80 (ปริมาณ 0.2%)	- เป็นของเหลวขุ่น - เมื่อมองด้วยตาเปล่า ลักษณะของของเหลวรวมเป็นเนื้อเดียวกัน	- เจลบีดส์มีขนาดเล็กกว่าสภาวะที่มีการเติมและไม่เติม tween 80 และกวนผสมด้วยความเร็วรอบต่ำ - เจลบีดส์ค่อยๆ แยกตัวออกจากสารละลายอิมัลชัน
	2.) ไม่ใส่ tween 80	- เป็นของเหลวขุ่น - เมื่อมองด้วยตาเปล่า ลักษณะของของเหลวไม่รวมเป็นเนื้อเดียวกัน แต่ไม่เกิดการแยกชั้น	- เจลบีดส์มีขนาดใหญ่กว่าสภาวะที่มีการเติม tween 80 และกวนผสมด้วยความเร็วรอบสูง - เจลบีดส์แยกตัวออกจากสารละลายอิมัลชันได้ค่อนข้างช้า

20419



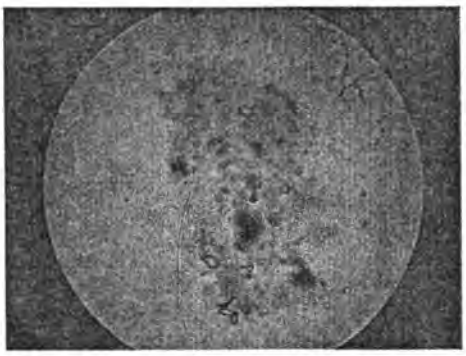
รูปที่ 4.1ก การเคลือบเซลล์บิฟีโดแบคทีเรียด้วยบุก (กำลังขยาย 40x) โดยวิธีอิมัลชั่น (Emulsion method) ภายใต้สภาวะที่มีการเติม tween 80 และกวนผสมด้วยความเร็วรอบสูง



รูปที่ 4.1ข องค์ประกอบภายในของการเคลือบเซลล์บิฟีโดแบคทีเรียด้วยบุก (กำลังขยาย 1000x) โดยวิธีอิมัลชั่น (Emulsion method) ภายใต้สภาวะที่มีการเติม tween 80 และกวนผสมด้วยความเร็วรอบสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง



<u>รูปที่ 4.2ก</u> การเคลือบเซลล์บิฟีโดแบคทีเรียด้วยบุก (กำลังขยาย 40x) โดยวิธีอิมัลชั่น (Emulsion method) ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเติม tween 80 และกวนผสมด้วยความเร็วรอบสูง

<u>รูปที่ 4.2ข</u> องค์ประกอบภายในของการเคลือบเซลล์บิฟีโดแบคทีเรียด้วยบุก (กำลังขยาย 1000x) โดยวิธีอิมัลชั่น (Emulsion method) ภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเติม tween 80 และกวนผสมด้วยความเร็วรอบสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ศึกษาอัตราการรอดชีวิตของเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียที่ผ่านการเคลือบเซลล์ด้วยบุกในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตพร้อมดื่มพาสเจอไรส์

ตารางที่ 4.2 เปรียบเทียบปริมาณเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียที่ไม่ผ่านการเคลือบเซลล์และที่ผ่านการเคลือบเซลล์ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ไม่ผ่านการพาสเจอไรส์ ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 20 วัน

ระยะเวลาในการเก็บรักษา (วัน)	ปริมาณเชื้อ (log cfu/ml)		
	ไม่เคลือบเซลล์และไม่พาสเจอไรส์	เคลือบเซลล์และไม่พาสเจอไรส์	
		เซลล์ทั้งหมด	เซลล์ที่รั่วออกจากบุก
0	5.81 ± 0.04	5.91 ± 0.04	> 6.48
5	5.71 ± 0.01	4.98 ± 0.01	5.01 ± 0.07
10	7.32 ± 0.09	7.09 ± 0.06	> 6.48
15	7.36 ± 0.05	6.60 ± 0.06	> 6.48
20	7.41 ± 0.07	6.96 ± 0.10	7.50 ± 0.47

หมายเหตุ : ข้อมูลจากการทดลอง 2 ซ้ำ

จากตารางที่ 4.2 แสดงให้เห็นว่า ในระหว่างการเก็บรักษาโยเกิร์ตพร้อมดื่มไม่พาสเจอไรส์ที่อุณหภูมิตู้เย็น เชื้อบิฟิโดแบคทีเรียที่ไม่ผ่านการเคลือบเซลล์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในช่วงระยะเวลา 0-10 วัน หลังจากนั้นมีปริมาณค่อนข้างคงที่ ประมาณ 7 log cfu/ml เช่นเดียวกันกับเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียที่ผ่านการเคลือบเซลล์ที่มีปริมาณเพิ่มขึ้นในช่วงระยะเวลา 0-10 วัน และมีปริมาณคงที่หลังจากการเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 15 - 20 นอกจากนี้ ปริมาณเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียที่ผ่านการเคลือบเซลล์มีแนวโน้มลดลงในช่วง 5 วันแรก ซึ่งอาจเนื่องมาจากแรงเฉือนและความร้อนที่เกิดขึ้นจากการกวนผสมในขั้นตอนการเคลือบเซลล์ส่งผลกระทบให้เซลล์เกิดการบาดเจ็บและถูกทำลาย (Picot และ Lacroix, 2004) และเห็นได้จาก ปริมาณของเชื้อที่ผ่านการเคลือบเซลล์มีแนวโน้มที่ต่ำกว่าเชื้อที่ไม่ผ่านการเคลือบเซลล์ นอกจากนี้ พบว่าปริมาณเซลล์ทั้งหมดและเซลล์ที่รั่วออกจากบุกมีค่าใกล้เคียงกัน ซึ่งอาจเนื่องมาจากคุณสมบัติ cold-melting ของบุก (Perols และคณะ, 1997) กล่าวคือ บุกที่ทำหน้าที่เป็นสารเคลือบเซลล์เกิดการละลายและปลดปล่อยเซลล์ที่อยู่ภายในออกมาได้ที่อุณหภูมิต่ำ และเมื่อทำการเก็บรักษาโยเกิร์ต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พร้อมดื่มไว้เป็นระยะเวลา 15-20 วัน ปริมาณเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการฟื้นตัวของเชื้อ

ตารางที่ 4.3 เปรียบเทียบปริมาณเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียที่ไม่ผ่านการเคลือบเซลล์และที่ผ่านการเคลือบเซลล์ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ผ่านการพาสเจอไรส์ ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 20 วัน

ระยะเวลาในการเก็บรักษา (วัน)	ปริมาณเชื้อ (log cfu/ml)		
	ไม่เคลือบเซลล์และพาสเจอไรส์	เคลือบเซลล์และพาสเจอไรส์	
		เซลล์ทั้งหมด	เซลล์ที่รั่วออกจากบุก
0	1.57 ± 0.02	< 1	< 1
5	2.40 ± 0.14	< 1	1.58 ± 0.11
10	3.69	< 1	< 1
15	2.61	1.35 ± 0.35	1.42 ± 0.43
20	1.09 ± 0.06	2.04 ± 0.19	1.99 ± 0.09

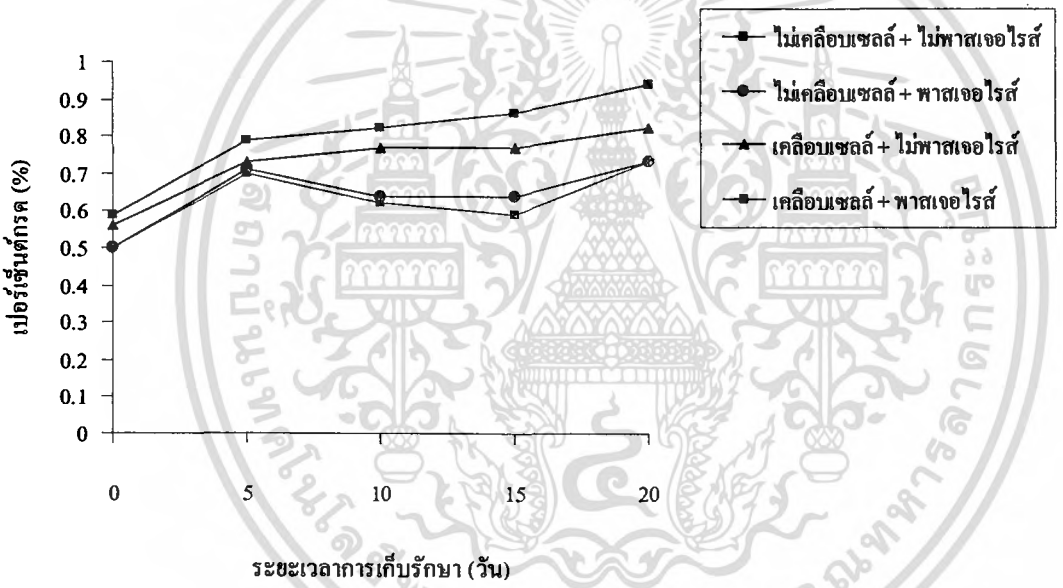
หมายเหตุ : ข้อมูลจากการทดลอง 2 ซ้ำ

จากตารางที่ 4.3 เป็นการเปรียบเทียบปริมาณเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียที่ไม่ผ่านการเคลือบเซลล์และที่ผ่านการเคลือบเซลล์ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ผ่านการพาสเจอไรส์ โดยหลังจากเติมเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียลงในโยเกิร์ต และนำไปพาสเจอไรส์ที่อุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 15 วินาที พบว่า เชื้อบิฟิโดแบคทีเรียทั้งที่ผ่านการเคลือบเซลล์และไม่เคลือบเซลล์มีปริมาณเชื้อที่มีชีวิตลดลงเหลือน้อยกว่า 1 cfu/ml และประมาณ 1.57 log cfu/ml ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ปริมาณเชื้อมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาและจะเห็นได้ว่า เชื้อที่ผ่านการเคลือบเซลล์มีอัตราการรอดชีวิตที่ต่ำกว่าเชื้อที่ไม่ได้ผ่านการเคลือบเซลล์ ซึ่งอาจมีผลมาจากการที่เชื้อได้รับผลกระทบจากสภาวะที่รุนแรงซ้ำซ้อนทั้งในขั้นตอนของการเคลือบเซลล์และการพาสเจอไรส์ อุณหภูมิและระยะเวลาในการพาสเจอไรส์ในการทดลองนี้ ไม่สามารถทำลายเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียทั้งหมดได้ทำให้เชื้อที่ไม่ผ่านการเคลือบเซลล์ยังคงมีปริมาณเหลืออยู่ ซึ่งอาจบาดเจ็บและสามารถฟื้นตัวในโยเกิร์ตพร้อมดื่มพาสเจอไรส์ได้ ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าเซลล์ที่รั่วออกจากบุกมีปริมาณเพิ่มขึ้นในช่วงระยะเวลาการเก็บรักษา 15-20 วัน อาจเนื่องมาจากเซลล์ที่ได้รับบาดเจ็บจากขั้นตอนการเคลือบเซลล์และการพาสเจอไรส์ฟื้นตัวและเพิ่มจำนวนขึ้นภายหลัง โดย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาณเซลล์ทั้งหมดกับปริมาณเซลล์ที่รั่วออกจากบุกมีจำนวนใกล้เคียงกัน ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจากสมบัติในการ cold-melting ของบุก ดังที่ได้กล่าวมาแล้วข้างต้น

จากผลการทดลองจึงสรุปได้ว่า การพาสเจอไรส์โยเกิร์ตพร้อมดื่มที่อุณหภูมิ 72°C เป็นระยะเวลา 15 วินาที ส่งผลกระทบโดยตรงต่ออัตราการรอดชีวิตของเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียทั้งที่ผ่านการเคลือบเซลล์และไม่ผ่านการเคลือบเซลล์ การเคลือบเซลล์บิฟิโดแบคทีเรียด้วยบุกไม่สามารถเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียในโยเกิร์ตพร้อมดื่มพาสเจอไรส์ได้ และพบว่ามีเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียที่รอดชีวิตน้อยกว่าในกรณีของโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ไม่ผ่านการพาสเจอไรส์ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากเชื้อได้รับผลกระทบจากสภาวะที่รุนแรงซ้ำซ้อนในขั้นตอนการเคลือบเซลล์ร่วมกับการพาสเจอไรส์

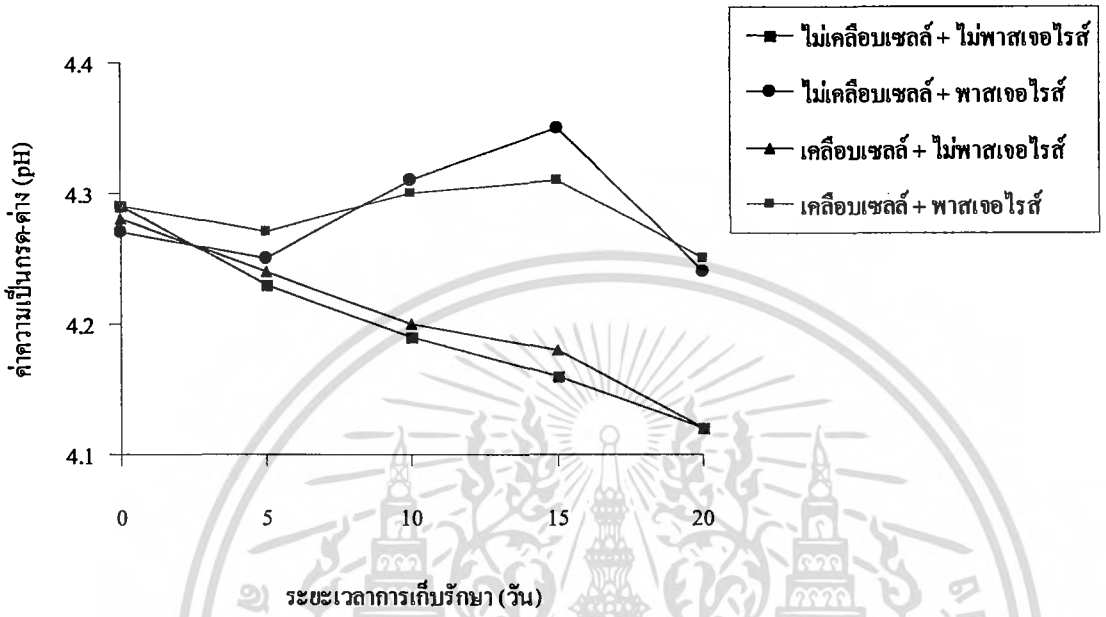


<u>รูปที่ 4.5</u> การเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกในระหว่างการเก็บรักษาโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่อุณหภูมิตู้เย็น ในช่วงระยะเวลา 0 – 20 วัน

รูปที่ 4.6 แสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรด (% titratable acidity) ในระหว่างการเก็บรักษาโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่อุณหภูมิตู้เย็น เป็นระยะเวลา 20 วัน ซึ่งจะเห็นว่า เปอร์เซ็นต์กรดของโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ไม่ผ่านการพาสเจอไรส์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจาก 0.59% เป็น 0.94% สำหรับเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียที่ไม่ผ่านการเคลือบเซลล์ และจาก 0.56% เป็น 0.82% สำหรับเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียที่ผ่านการเคลือบเซลล์ตามลำดับ ซึ่งอาจเป็นผลมาจากกิจกรรมของเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียและจุลินทรีย์โยเกิร์ตที่มีชีวิต ส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปอร์เซ็นต์กรดในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ผ่านการพาสเจอไรส์ที่ทำการเก็บรักษาในช่วงระยะเวลา 0 - 5 วัน มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และค่อนข้างคงที่ในช่วง 5-15 วัน จากนั้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลงและปริมาณเชื้อบิฟีโดแบคทีรียที่เพิ่มขึ้น (รูปที่ 4.6)



รูปที่ 4.6 การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในระหว่างการเก็บรักษาโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่อุณหภูมิตู้เย็น ในช่วงระยะเวลา 0 – 20 วัน

การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง (ค่า pH) ในระหว่างการเก็บรักษาโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่อุณหภูมิตู้เย็น เป็นระยะเวลา 20 วัน พบว่า โยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ไม่ผ่านการพาสเจอไรส์มีค่าความเป็นกรด - ด่างลดลงอย่างต่อเนื่อง ซึ่งน่าจะเป็นผลจากกิจกรรมของเชื้อบิฟีโดแบคทีเรียและเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ตที่มีชีวิต อย่างไรก็ตามพบว่าในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ผ่านการพาสเจอไรส์ที่ทำการเก็บรักษาในช่วงระยะเวลา 5 - 15 วัน มีแนวโน้มของค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้นเล็กน้อยถึงคงที่ ในช่วง 0-15 วัน แต่มีแนวโน้มลดลงในช่วง 15-20 วัน ของการเก็บรักษา ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณกรด (รูปที่ 4.6)และปริมาณเชื้อบิฟีโดแบคทีเรียที่เพิ่มขึ้น (ตารางที่ 4.2 และ 4.3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

5.1.1. จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเคลือบเซลล์บิฟิโดแบคทีเรียโดยวิธีอิมัลชัน (emulsion method) ชนิดน้ำในน้ำมัน (water in oil) พบว่า สภาวะที่ไม่เติม tween 80 และกวนผสมด้วยความเร็วรอบต่ำทำให้ได้เจลบีดส์ที่มีขนาดใหญ่กว่าการกวนผสมด้วยความเร็วรอบสูง และตกตะกอนอย่างรวดเร็ว ส่วนการเติม tween 80 และกวนผสมด้วยความเร็วรอบต่ำทำให้ได้เม็ดบีดส์ที่มีขนาดใหญ่และไม่สม่ำเสมอ ซึ่งต่างจากการกวนผสมด้วยความเร็วรอบสูงที่ให้เม็ดบีดส์ขนาดเล็กและสม่ำเสมอ ดังนั้นอาจสรุปได้ว่า ความเร็วรอบที่ใช้ในการกวนผสม และการเติม tween 80 นั้นมีอิทธิพลต่อขนาดของเจลบีดส์ โดยส่งผลต่อการเกิดอิมัลชั่นที่ดีกว่าสภาวะที่ไม่มีการเติม tween 80 เนื่องจาก tween 80 ช่วยลดแรงตึงผิวของสารละลายอิมัลชั่นจึงทำให้ได้เจลบีดส์ที่มีขนาดเล็ก

5.1.2. จากการศึกษาอัตราการรอดชีวิตของเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียที่ผ่านการเคลือบเซลล์ด้วยบุกและเก็บรักษาในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตพร้อมดื่ม พบว่า การเคลือบเซลล์ด้วยบุกไม่มีอิทธิพลต่ออัตราการรอดชีวิตของเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียในโยเกิร์ตพร้อมดื่มพาสเจอไรส์ ที่อุณหภูมิ 72 °C เป็นเวลา 15 วินาที นอกจากนี้ สภาวะที่ใช้ในขั้นตอนการเคลือบเซลล์ด้วยวิธีอิมัลชัน (emulsion method) เช่น อุณหภูมิ และแรงเฉือน อาจทำให้เซลล์ได้รับบาดเจ็บและส่งผลกระทบต่ออัตราการรอดชีวิตของเซลล์บิฟิโดแบคทีเรียในโยเกิร์ตพร้อมดื่มทั้งที่ผ่านการพาสเจอไรส์และไม่พาสเจอไรส์

5.1.3 เมื่อเก็บรักษาโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่อุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 20 วัน พบว่า เปอร์เซ็นต์กรดที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นสอดคล้องกับค่าความเป็นกรด-ด่างที่มีแนวโน้มลดลง และปริมาณเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียที่เพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1. เพื่อเป็นการเพิ่มความแข็งแรงให้แก่เจลและเพิ่มประสิทธิภาพของการรักษาอัตราการรอดชีวิตของเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียควรมีการศึกษาและทดลองการเพิ่มสารชีวโมเลกุลอื่น เช่น แป้งข้าวโพดที่มีอะไมโลสสูง (high amylose corn starch) เพคติน (pectin) เป็นต้น

5.2.2. ควรมีการวิเคราะห์ปริมาณเซลล์จุลินทรีย์โยเกิร์ต เพื่อทราบถึงสาเหตุการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด – ด่าง(pH) และ เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก ว่าเป็นผลมาจากกิจกรรมของเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ตหรือเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียที่มีอยู่ในโยเกิร์ตพร้อมดื่ม

5.2.3. ควรมีการตรวจสอบและควบคุมอุณหภูมิ รวมถึงปรับปรุงอุปกรณ์ที่ใช้ในการกวนผสมในระหว่างขั้นตอนการเคลือบเซลล์

5.2.4. การนำโยเกิร์ตพร้อมดื่มผ่านกระบวนการพาสเจอไรส์ควรใช้เครื่อง Plate Heat Exchanger แทนการพาสเจอไรส์ผ่านหม้ออังน้ำเดือด เพราะว่า ทำให้เกิดการถ่ายเทความร้อนได้ดีและใช้ระยะเวลาในการเพิ่มอุณหภูมิสั้นกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

นรินทร์ ทองศิริ . 2528. เทคโนโลยีนม. นำอักษรการพิมพ์. กรุงเทพมหานคร.

วราวุฒิ ครูส่ง และ รุ่งนภา พงสวัสดิ์มานิต. 2532. "โยเกิร์ต." เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม. น. 189 – 192.

ดร.ศศิวิมล ชื่นอิ่ม อาเหมีด. 2547. "โยเกิร์ต Yogurt/Yoghurt." เอกสารประกอบการสอนวิชาอาหารหมักพื้นบ้าน. โครงการจัดตั้งคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. น. 3 – 4.

อภิญญา เจริญกุล. 2542. เอกสารประกอบคำสอนวิชานมและผลิตภัณฑ์นม. คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย.กรุงเทพมหานคร.น. 96.

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

Krasaekoopt W., Bhandari B. and Deeth H. 2003. "Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt." International Dairy Journal. 13 : 3-13.

Perols C., Piffaut B., Scher J., Ramet J.P. and Poncelet D. 1997. "The potential of enzyme entrapment in konjac cold – melting gel beads." Enzyme and Microbial Technology 20 : 57 – 60.

Picot, A. and Lacroix C. 2004. "Encapsulation of bifidobacteria in whey protein – based microcapsules and survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt." International Dairy Journal. 14, 505 – 515.

Scadovi, V. 1986. "Genus Bifidobacterium Oral – Jensen 1924, 472AL." Page 1423 in Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol. 2. Williams & Wilkins, Baltimore, MD.

Sgorbati, B., Biavati, B. and Palenzona, D. 1995. "The Genus Bifidobacterium." In The Genera of Lactic Acid Bacteria. (Eds B.J.B Wood and W.H. Holzapfel). Blackie Academic. London. pp 279 – 306.

Shah, N.P. 2000. "Functional foods from probiotic and prebiotics." Food Technology. 55(10) : 46 – 53.

Sheu, T.Y. and Marshall, R.T. 1991. "Microencapsulation of Lactobacilli in calcium alginate gels." Journal of Food Science. 74 (supplement 1), 107.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tamine,A.Y. and Robinson, R.K.1985. Yoghurt Science and Technology. Pergamon Press Ltd. Exeter, Great Britain.

"ลักษณะของบิฟีโดแบคทีเรีย" [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://biology.kenyon.edu/Microbial_Biorealm/bacteria/grampositive/bifidobacterium/Bifidobacterium.htm

"ลักษณะของบิฟีโดแบคทีเรีย จากกล้อง Scanning Electron Microscopy x 5000" [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://catalog.cmsp.com/datav3/im010005.htm

"แหล่ง dietary fiber" [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.glucomannan.com/gum.htm

"องค์ประกอบทางเคมีของบุก และ โครงสร้างทางเคมีของ KGM" [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.acroyali.com/KONJACAC%20POWDER.htm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

การวิเคราะห์ทางจุลชีวิทยาและการวิเคราะห์ทางเคมี

1. การวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

การวิเคราะห์จำนวนเชื้อบิฟิโดแบคทีเรีย

อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS – IM agar ที่ประกอบไปด้วยสารละลายกลูโคส 20 % สารละลาย A B และ C

การเตรียม MRS – IM agar

Tryptone	10	กรัม
Yeast extract	5	กรัม
Tween 80	1	กรัม
di – Potassium hydrogen phosphate	2.6	กรัม
Sodium acetate,$3H_2O$	5	กรัม
di – Ammonium hydrogen citrate	2	กรัม
Manganese(ll) – sulphate, H_2O	0.05	กรัม
Magnesium sulphate, $7H_2O$	0.2	กรัม
Agar	13	กรัม

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดให้เข้ากัน แล้วนำไปต้มจนได้สารละลายใส ระวังอย่าให้วุ้นจับตัวกันเป็นก้อน ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร เก็บใส่ภาชนะแล้วนำไปผ่านการฆ่าเชื้อภายใต้ความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

การเตรียมสารละลายกลูโคส 20 %

กลูโคส 20 กรัม

น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำสารละลายกลูโคสที่เตรียมได้มาผ่านการฆ่าเชื้อภายใต้ความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาทีและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส

<u>การเตรียมสารละลาย A</u>

Dichloxallin 10 มิลลิกรัม
น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

นำสารละลาย A ที่เตรียมได้มากรองโดย Sterilize by filtration (0.45 ไมครอน) เก็บในภาชนะที่ผ่านการฆ่าเชื้อ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส (ห้ามเก็บเกิน 2 สัปดาห์)

<u>การเตรียมสารละลาย B</u>

LiCl 2 กรัม
น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

นำสารละลาย B ที่เตรียมได้มากรองโดย Sterilize by filtration (0.45 ไมครอน) เก็บในภาชนะที่ผ่านการฆ่าเชื้อ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส (ห้ามเก็บเกิน 2 สัปดาห์)

<u>การเตรียมสารละลาย C</u>

Cysteine hydrochloride 10 กรัม
น้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

นำสารละลาย C ที่เตรียมได้มาผ่านการฆ่าเชื้อภายใต้ความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาทีและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส

<u>0.1% Peptone solution</u>

เตรียมโดยละลาย peptone 1.0 กรัม แล้วนำไปละลายลงในน้ำกลั่น แล้วทำการปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร แบ่งใส่หลอดทดลองหลอดละ 9 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อภายใต้ความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS – IM agar ที่มีสารละลายกลูโคส และสารละลาย A, B และ C

นำอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS – IM agar 1000 มิลลิลิตร ที่เตรียมไว้มาทำให้ละลาย แล้วรอให้อุณหภูมิประมาณ 47 องศาเซลเซียสจึงเติม 20 % glucose ปริมาตร 100 มิลลิลิตร สารละลาย A ปริมาตร 5 มิลลิลิตร สารละลาย B ปริมาตร 10 มิลลิลิตร สารละลาย C ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

วิธีวิเคราะห์

1. การตรวจนับปริมาณเชื้อที่มีชีวิตที่ไม่ผ่านการเคลือบเซลล์โดยวิธี Plate count

ปิเปตตัวอย่างจากขวดบ่มโยเกิร์ตพร้อมดื่มมา 1 มิลลิลิตร ทำ ten fold dilution(10^{-1} - 10^{-6}) ในสารละลายเปปโตน 0.1% ดูดตัวอย่างที่ระดับการเจือจางตั้งแต่ 10^{-4} - 10^{-6} มา 1 มิลลิลิตร ใส่บนจานเพาะเชื้อ แล้วทำการ pour plate ด้วย MRS-IM agar + สารละลาย A, B, C + สารละลายกลูโคส 20% ทำการบ่มในสภาวะไร้อากาศ ใน anaerobic jar ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 2 วัน
ตรวจสอบจำนวนเชื้อ โดยนับโคโลนีของเชื้อที่เกิดขึ้น

2. การตรวจนับปริมาณเชื้อที่มีชีวิตหลังจากผ่านการเคลือบเซลล์โดยวิธี Plate count

2.1 การตรวจนับปริมาณเชื้อที่รั่วออกจากสารเคลือบ(บุก)ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตพร้อมดื่ม

ปิเปตตัวอย่างจากขวดบ่มโยเกิร์ตพร้อมดื่มมา 1 มิลลิลิตร ทำ ten fold dilution(10^{-1} - 10^{-6}) ในสารละลายเปปโตน 0.1% ดูดตัวอย่างที่ระดับการเจือจางตั้งแต่ 10^{-4} - 10^{-6} มา 1 มิลลิลิตร ใส่บนจานเพาะเชื้อ แล้วทำการ pour plate ด้วย MRS-IM agar + สารละลาย A, B, C + สารละลายกลูโคส 20% ทำการบ่มในสภาวะไร้อากาศ (anaerobic jar) ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 2 วัน ตรวจสอบจำนวนเชื้อโดยนับโคโลนีของเชื้อที่เกิดขึ้น

2.2 การตรวจนับปริมาณเชื้อที่มีชีวิตหลังจากผ่านการเคลือบเซลล์โดยวิธี Plate count

นำเซลล์ที่ผ่านการเคลือบเซลล์ด้วยบุก 1 กรัม มาละลายลงในสารละลายเปปโตน 0.1 % ปริมาตร 9 มิลลิลิตร นำมา Homogenizing ด้วยเครื่อง stomacher เป็นเวลา 3 นาที ทำ dilution ตั้งแต่ 10^{-2} - 10^{-6} ดูดตัวอย่างที่ระดับการเจือจางตั้งแต่ 10^{-4} - 10^{-6} มา 1 มิลลิลิตร ใส่บนจานเพาะเชื้อ แล้วทำการ pour plate ด้วย MRS-IM agar + สารละลาย A, B, C + สารละลายกลูโคส 20% ทำการบ่มในสภาวะไร้อากาศ ใน anaerobic jar ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 2 วัน
ตรวจสอบจำนวนเชื้อ โดยนับโคโลนีของเชื้อที่เกิดขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การวิเคราะห์ทางเคมี

การวิเคราะห์ปริมาณเปอร์เซ็นต์กรด

การเตรียมสารเคมีสำหรับวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์กรด

1. โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 Normal

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตร

หมายเหตุ : การหาความเข้มข้นที่แน่นอน (Standardization) ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ทำได้โดยนำโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร แล้วไทเทรตกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์

2. ฟีนอล์ฟทาลีน 1 เปอร์เซ็นต์

ชั่งฟีนอล์ฟทาลีน 1 กรัม ละลายในเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ 50 มิลลิลิตรแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร

วิธีวิเคราะห์

ดูดตัวอย่างจากขวดบ่มโยเกิร์ตมา 1 ml. หยดฟีนอล์ฟทาลีน(อินดิเคเตอร์) 2-3 หยด ไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH (ได้สารละลายสีชมพู) บันทึกปริมาตรของ 0.1 N NaOH ที่ใช้ในการไทเทรต และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์กรดแลคติค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

การคำนวณการเจริญและพฤติกรรมการผลิตกรดของเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียทั้งที่ไม่ผ่านการเคลือบเซลล์ และที่ผ่านการเคลือบเซลล์ในระหว่างการเก็บรักษาโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่อุณหภูมิตู้เย็น

ตารางแสดงผลการนับเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียโดยวิธี standard plate count

ตารางที่ ข1. ปริมาณเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียที่ไม่ผ่านการเคลือบเซลล์ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ไม่ผ่านการพาสเจอไรส์

ระยะเวลา (วัน)	ซ้ำที่1 (log cfu/ml)	ซ้ำที่ 2 (log cfu/ml)	ค่าเฉลี่ย (log cfu/ml)
0	5.71	5.78	5.75±0.04
5	5.86	5.72	5.79±0.07
10	7.23	7.41	7.32±0.09
15	7.41	7.32	7.36±0.05
20	7.34	7.48	7.41±0.07

ตารางที่ ข2. ปริมาณเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียที่ไม่ผ่านการเคลือบเซลล์ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ผ่านการพาสเจอไรส์

ระยะเวลา (วัน)	ซ้ำที่1 (log cfu/ml)	ซ้ำที่ 2 (log cfu/ml)	ค่าเฉลี่ย (log cfu/ml)
0	1.56	1.59	1.57±0.02
5	2.26	2.54	2.40±0.14
10	3.69	3.69	3.69
15	2.61	2.61	2.61
20	1.15	1.04	1.09±0.06

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข3. ปริมาณเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียที่ผ่านการเคลือบเซลล์ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ไม่ผ่านการพาสเจอไรส์ (ปริมาณเชื้อที่รั่วออกจากบุก ; leakage)

ระยะเวลา (วัน)	ซ้ำที่1 (log cfu/ml)	ซ้ำที่ 2 (log cfu/ml)	ค่าเฉลี่ย (log cfu/ml)
0	6.48	6.48	6.48
5	4.95	5.08	5.01±0.07
10	6.48	6.48	6.48
15	6.48	6.48	6.48
20	7.04	7.97	7.50±0.47

ตารางที่ ข4. ปริมาณเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียที่ผ่านการเคลือบเซลล์ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ไม่ผ่านการพาสเจอไรส์ (ปริมาณเชื้อที่ผ่านการเคลือบเซลล์ ภายหลังการนำไปตีป่นด้วย stomacher)

ระยะเวลา (วัน)	ซ้ำที่1 (log cfu/ml)	ซ้ำที่ 2 (log cfu/ml)	ค่าเฉลี่ย (log cfu/ml)
0	5.88	5.95	5.91±0.04
5	4.97	4.99	4.98±0.01
10	7.04	7.15	7.09±0.06
15	6.54	6.66	6.60±0.06
20	7.06	6.86	6.96±0.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข5. ปริมาณเชื้อบิฟีโดแบคทีเรียที่ผ่านการเคลือบเซลล์ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ผ่านการพาสเจอไรส์ (ปริมาณเชื้อที่รั่วออกจากบุก ; leakage)

ระยะเวลา (วัน)	ซ้ำที่1 (log cfu/ml)	ซ้ำที่ 2 (log cfu/ml)	ค่าเฉลี่ย (log cfu/ml)
0	< 1	< 1	< 1
5	1.69	1.48	1.58±0.11
10	< 1	< 1	< 1
15	1	1.85	1.42±0.43
20	1.90	2.08	1.99±0.09

ตารางที่ ข6. ปริมาณเชื้อบิฟีโดแบคทีเรียที่ผ่านการเคลือบเซลล์ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ผ่านการพาสเจอไรส์ (ปริมาณเชื้อที่ผ่านการเคลือบเซลล์ ภายหลังการนำไปตีป่นด้วย stomacher)

ระยะเวลา (วัน)	ซ้ำที่1 (logcfu/ml)	ซ้ำที่ 2 (logcfu/ml)	ค่าเฉลี่ย (logcfu/ml)
0	< 1	< 1	< 1
5	< 1	< 1	< 1
10	< 1	< 1	< 1
15	1	1.69	1.35±0.35
20	1.85	2.23	2.04±0.19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข7. การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด – ด่าง ของการเก็บรักษาโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่อุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 20 วัน

สภาวะ / ระยะเวลา(วัน)	ไม่เคลือบเซลล์ + ไม่พาสเจอไรส์	ไม่เคลือบเซลล์ + พาสเจอไรส์	เคลือบเซลล์ + ไม่พาสเจอไรส์	เคลือบเซลล์ + พาสเจอไรส์
0	4.29	4.27	4.28	4.29
5	4.23	4.25	4.24	4.27
10	4.19	4.31	4.20	4.30
15	4.16	4.35	4.18	4.31
20	4.12	4.24	4.12	4.25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข8. ปริมาณโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรทหาปริมาณกรดแลคติกในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ถ่ายเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียที่ไม่ผ่านการเคลือบเซลล์และที่ผ่านการเคลือบเซลล์ ทั้งที่ไม่มีการนำไปผ่านการพาสเจอไรส์และผ่านการพาสเจอไรส์

สภาวะ / ระยะเวลา (วัน)	เชื้อบิฟิโดแบคทีเรีย ที่ไม่ผ่านการเคลือบเซลล์ลงในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ไม่นำไปพาสเจอไรส์				เชื้อบิฟิโดแบคทีเรียที่ไม่ผ่านการเคลือบเซลล์ลงในโยเกิร์ตพร้อมดื่มและนำไปพาสเจอไรส์				เชื้อบิฟิโดแบคเรียที่ผ่านการเคลือบเซลล์ลงในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ไม่นำไปพาสเจอไรส์				เชื้อบิฟิโดแบคทีเรียที่ผ่านการเคลือบเซลล์ลงในโยเกิร์ตพร้อมดื่มและนำไปพาสเจอไรส์			
	ซ้ำที่ 1 (ml)	ซ้ำที่ 2 (ml)	ซ้ำที่ 3 (ml)	เฉลี่ย (ml)	ซ้ำที่ 1 (ml)	ซ้ำที่ 2 (ml)	ซ้ำที่ 3 (ml)	เฉลี่ย (ml)	ซ้ำที่ 1 (ml)	ซ้ำที่ 2 (ml)	ซ้ำที่ 3 (ml)	เฉลี่ย (ml)	ซ้ำที่ 1 (ml)	ซ้ำที่ 2 (ml)	ซ้ำที่ 3 (ml)	เฉลี่ย (ml)
0	0.60	0.67	0.67	0.67	0.60	0.60	0.50	0.57	0.70	0.60	0.60	0.63	0.70	0.50	0.50	0.57
5	0.90	0.90	0.90	0.90	0.70	0.80	0.90	0.80	0.80	0.90	0.80	0.83	0.70	0.90	0.80	0.80
10	1.00	0.90	0.90	0.93	0.80	0.70	0.70	0.73	0.90	0.80	0.90	0.87	0.70	0.70	0.70	0.70
15	0.90	1.00	1.00	0.97	0.70	0.70	0.80	0.73	0.80	0.80	1.00	0.87	0.70	0.70	0.60	0.67
20	1.2	0.8	1.2	1.07	0.70	0.80	0.70	0.83	0.90	0.90	1.00	0.93	0.90	0.80	0.80	0.83

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

1. การคำนวณปริมาณเซลล์ที่มีชีวิต

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

2. การคำนวณเปอร์เซ็นต์กรด

$$\text{เปอร์เซ็นกรด} = \frac{\text{ml. (NaOH) x N.(NaOH) x (Eq.Wt. lactic acid) x 100}}{\text{1000 x ml. (sample)}}$$

<u>ตัวอย่าง</u> การคำนวณเปอร์เซ็นต์กรดของเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียที่ไม่ผ่านการเคลือบเซลล์ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาโยเกิร์ตพร้อมดื่มไม่พาสเจอไรส์ที่อุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 0 วัน

$$\text{เปอร์เซ็นกรด} = \frac{0.67 \times 0.098 \times 90 \times 100}{1000 \times 1}$$

$$= 0.59\ \%$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.

การปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดในโยเกิร์ตและการเตรียมน้ำเชื่อม

การคำนวณ

<u>การปรับปริมาตรของแข็งทั้งหมด</u>

<u>รูปที่ ค1.</u> การปรับปริมาตรของแข็งทั้งหมด

ถ้า นมผงขาดมันเนยมีปริมาณของแข็งทั้งหมด = 95%

นมพร่องมันเนยมีปริมาณของแข็งทั้งหมด = 9 %

ดังนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาตรของนมพร่องมันเนย = 77 มิลลิลิตร

ปริมาณของนมผงขาดมันเนย = 9 กรัม

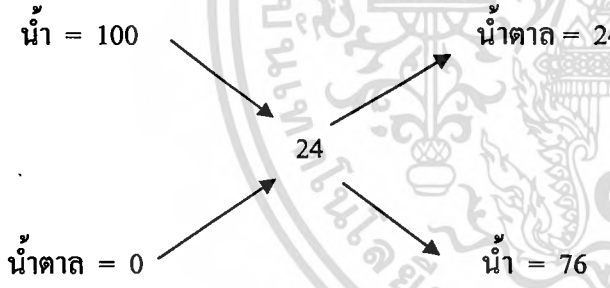
ในการเตรียมน้ำนมทั้งหมด 1000 มิลลิลิตร จะต้องใช้ ปริมาณน้ำนมสดและนมผงขาดมันเนย ดังนี้

ปริมาณน้ำนมทั้งหมด 86 ml. ใช้น้ำนมสด 77 ml.
ปริมาณน้ำนมทั้งหมด 1000 ml. ดังนั้น ใช้น้ำนมสด 895.35 ml.

ปริมาณน้ำนมทั้งหมด 86 ml. ใช้หางนมผงขาดมันเนย 9 g
ปริมาณน้ำนมทั้งหมด 1000 ml. ดังนั้น ใช้หางนมผงขาดมันเนย 104.65 g

<u>การเตรียมน้ำเชื่อม</u>

ในการทดลองต้องการเตรียมน้ำเชื่อมที่มีความหวาน 24 % ดังนั้น



เพราะฉะนั้น ในการเตรียมน้ำเชื่อมให้มีความหวาน 24% จะมีปริมาณน้ำและน้ำตาล ดังนี้

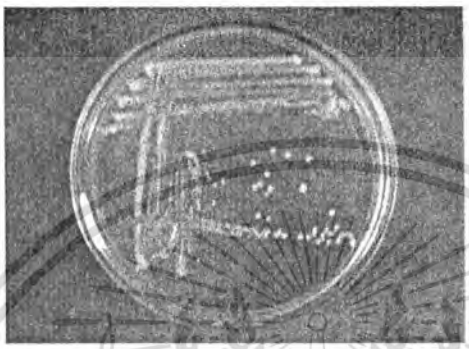
ปริมาณน้ำเชื่อม 100 ml. ใช้น้ำ 76 ml.
ปริมาณน้ำเชื่อม 1000 ml. ใช้น้ำ 760 ml.

ปริมาณน้ำเชื่อม 100 ml. น้ำตาล 24 g
ปริมาณน้ำเชื่อม 1000 ml. น้ำตาล 240 g

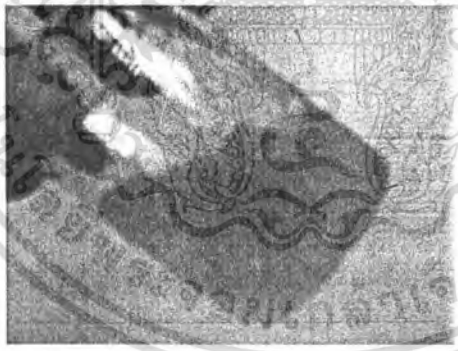
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง.

รูปภาพผลิตภัณฑ์ และเชื้อจุลินทรีย์

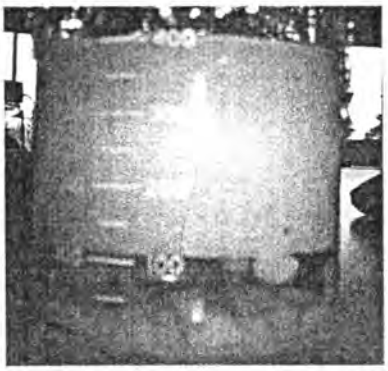


รูปที่ ง1. ลักษณะโคโลนีของเชื้อบิฟิโดแบคทีเรีย

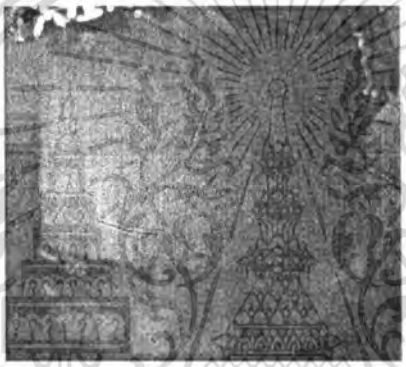


รูปที่ ง2. เจลของบุก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



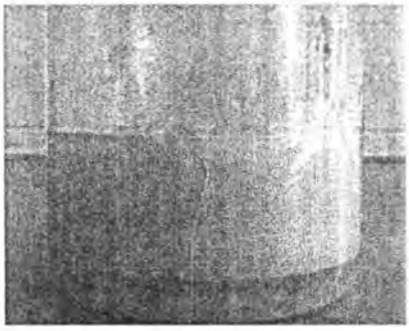
รูปที่ ง3. ลักษณะและขนาดของเม็ดบีดส์จากสภาวะที่ไม่มีการเติม tween 80 และกวนผสมด้วยความเร็วรอบต่ำสุด



รูปที่ ง4. ลักษณะและขนาดของเม็ดบีดส์จากสภาวะที่เติม tween 80 และกวนผสมด้วย ความเร็วรอบต่ำสุด

รูปที่ ง5. ลักษณะและขนาดของเม็ดบีดส์จากสภาวะที่ไม่มีการเติม tween 80 และกวนผสมด้วยความเร็วรอบสูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ง6. ลักษณะและขนาดของเม็ดบีดส์จากสภาวะที่เติม tween 80 และกวนผสมด้วย ความเร็วรอบสูงสุด

รูปที่ ง7. ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตพร้อมดื่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้