สารป้องกันเซลล์และความเข้มข้นที่เหมาะสมในการทำแห้งแบบพ่นฝอยของ *Lactobacillus plantarum* FT35 สำหรับเป็นหัวเชื้อหมักปลาส้ม

นางสาวมธุรส ประเดิมชัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2554

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository(CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the Graduate School.

CELL PROTECTIVE AGENTS AND PROPER CONCENTRATION IN SPRAY DRYING OF *LACTOBACILLUS PLANTARUM* FT35 FOR STARTER CULTURE OF FISH FERMENTATION

Miss Mathuros Pradeamchai

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Biotechnology
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2011

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	สารป้องกันเซลล์และความเข้มข้นที่เหมาะสมในการทำแห้งแบบพ่นฝอยของ *Lactobacillus plantarum* FT35 สำหรับเป็นหัวเชื้อหมักปลาส้ม
โดย	นางสาวมธุรส ประเดิมชัย
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร. สุเมธ ตันตระเธียร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ผู้ช่วยศาสตร์จารย์ ดร. ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

…….. คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ หารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

…… ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รมณี สงวนดีกุล)

……... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุเมธ ตันตระเธียร)

…… อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา)

……กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. จันทร์เพ็ญ จันทร์เจ้า)

…… กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชิดพงศ์ ประดิษฐสุวรรณ)

…… กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์)

มธุรส ประเดิมชัย : สารป้องกันเซลล์และความเข้มข้นที่เหมาะสมในการทำแห้งแบบพ่นฝอยของ *Lactobacillus plantarum* FT35 สำหรับเป็นหัวเชื้อหมักปลาส้ม . (CELL PROTECTIVE AGENTS AND PROPER CONCENTRATION IN SPRAY DRYING OF *Lactobacillus plantarum* FT35 FOR STARTER CULTURE OF FISH FERMENTATION) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: รศ.ดร. สุเมธ ตันตระเธียร , อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : ผศ.ดร. ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา, 85 หน้า.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารป้องกันเซลล์ที่มีอุณหภูมิ glass transition temperature (Tg) แตกต่างกันต่อการรอดชีวิตของ *Lactobacillus plantarum* FT35 ระหว่างการทำแห้งและภาวะการเก็บผลิตภัณฑ์ผง โดยทำการศึกษาสารป้องกันเซลล์กลุ่มคาร์โบไฮเดรต ได้แก่ กลูโคส ซูโครส แลกโตส มอลโตเด็กซ์ทริน และแป้งดัดแปร (soluble starch) สารเหล่านี้มีอุณหภูมิ Tg เท่ากับ 35.33 °C 75.13 °C 119.34 °C 160 °C และ 243 °C ตามลำดับ นำเซลล์ของ *L. plantarum* FT35 อายุ 20 ชั่วโมง มาผสมกับสารป้องกันเซลล์และนำไปทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยกำหนดอุณหภูมิลมเข้า 185 °C อัตราการป้อน 20 ml/min อุณหภูมิลมออก 85±5 °C ควบคุมความหนืดสุดท้ายของสารป้องกันเซลล์เท่ากับ 1.6-1.7 Cp ซึ่งพบว่าสารป้องกันเซลล์ที่มี Tg สูงให้การปกป้องเซลล์จุลินทรีย์ได้ดีกว่าสารป้องกันเซลล์ที่มี Tg ต่ำ และเมื่อใช้ soluble starch เป็นสารป้องกันเซลล์ทำให้การรอดชีวิตของจุลินทรีย์สูงสุดในระหว่างการทำแห้ง เท่ากับ 93.4±0.3% และการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผง แบบสุญญากาศในถุงลามิเนตที่อุณหภูมิห้อง (30 -35°C) เป็นเวลา 4 สัปดาห์มีจำนวนจุลินทรีย์เหลือ 85.6±0.32% ของจำนวนเซลล์เริ่มต้นการเก็บรักษา จึงศึกษาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของ soluble starch โดยแปรระดับความเข้มข้น 1.5% 2.5% 3.5% 4.5% และ 10% พบว่า soluble starch 2.5% ทำให้ *L. plantarum* FT35 รอดชีวิตสูงสุด 93.4±0.3% นำผลิตภัณฑ์ผงมาเก็บรักษาในถุงลามิเนตที่ปิดผนึกแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 4°C และที่อุณหภูมิห้อง (30 -35°C) เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าที่อุณหภูมิ 4°C จุลินทรีย์รอดชีวิตสูงกว่าที่อุณหภูมิห้อง (30 -35°C) โดยมี *L. plantarum* FT35 ลดลง 2.43±0.63 log CFU/g และ 6.28±0.55 log CFU/g ตามลำดับ นำผลิตภัณฑ์ผงที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C นาน 2 เดือนไปใช้เป็นหัวเชื้อหมักปลาส้ม และเมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของหัวเชื้อผงกับหัวเชื้อสดในการหมักปลาส้ม พบว่าหัวเชื้อมีประสิทธิภาพไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่อนิสิต……..……..……

ปีการศึกษา 2554 ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก……..……

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม……..……

##5272491923 : MAJOR BIOTECHNOLOGY
KEYWORDS : SPRAY DRYING/ GLASS TRANSITION TEMPERATURE/ SURVIVAL/ PROTECTIVE AGENT/

MATHUROS PRADEAMCHAI : CELL PROTECTIVE AGENTS AND PROPER CONCENTRATION IN SPRAY DRYING OF *Lactobacillus plantarum* FT35 FOR STARTER CULTURE OF FISH FERMENTATION. ADVISOR : ASSOC. PROF SUMATE TANTRATIAN, Ph.D., CO-ADVISOR: ASST.PROF. CHEUNJIT PRADITCHAIWATTANA, Ph.D., 85 pp.

The objectives of this study were to investigate protective agents with various glass transition temperature (Tg) affecting the survival of *L. plantarum* FT35 during spray drying and storage. The protective agents used in this study were glucose, sucrose, lactose, maltodextrin DE 10, and soluble starch. The Tg of these protective agents were 35.33 ^{o}C , 75.13 ^{o}C, 119.34 ^{o}C, 160 ^{o}C and 243 ^{o}C, respectively. The 20 hours cultured *L. plantarum* FT35 were mixed with solution of protective agent which was adjusted to have 1.6-1.7 Cp. The mixtures were spray dried with inlet temperature at 185 ^{o}C, feed rate of 20 ml/min and outlet temperature of 85$\pm$5 ^{o}C. It was found that protective agents with high Tg provided the protective bacterial cell property greater than protective agents with low Tg. Amoung these protective agents, soluble starch gave the highest of cell survival at 93.4%. The powder-products were vacuum packed in laminate aluminum foil bags (PP/PE/AluPE/PP) and stored at room temperature (30-35^{o}C) for 4 week. The stored products contained viable cells of *L. plantarum* FT35 at 85.6% of the initial amount. To find the proper concentration of soluble starch, the concentration of 1.5% 2.5% 3.5% 4.5% and 10% were varied. It was found that 2.5% soluble starch provided the cell highest survival of *L.plantarum* FT35 at 93.4%. The powder-products of *L. plantarum* FT35 with 2.5% soluble starch were stored at room temperature (30-35^{o}C) and 4^{o}C for 8 weeks, it was found that 6.28$\pm$0.55 log CFU/g and 2.43$\pm$0.63 log CFU/g reduced respectively. The powder product stored 4^{o}C for 8 weeks for starter culture of fish fermentation and comparison efficacy with fresh starter culture, this study did not find a significant difference.

Field of Study: Biotechnology Student's Signature……..……...
Academic Year : 2011 Advisor's Signature…….……
Co-advisor's Signature……..……..

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. สุเมธ ตันตระเธียร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก และผู้ช่วยศาสตราจารย์ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็นที่เป็นประโยชน์ แนวทางในการแก้ปัญหาต่างๆ และความรู้แก่ผู้วิจัยตลอดระยะเวลาที่ดำเนินการทำวิทยานิพนธ์ จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วย ศาสตราจารย์ ด ร. รมณี สงวนดีกุล ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รอง ศาสตราจารย์ ดร. จันทร์เพ็ญ จันทร์เจ้า ผู้ช่วย ศาสตราจารย์ ดร. ชิดพงศ์ ประดิษฐสุวรรณ และรอง ศาสตราจารย์ ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ และตรวจสอบแก้ไขวิทยานิพนธ์นี้ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พาสวดี ประทีปะเสน ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่ง และแนวทางการแก้ไขปัญหาต่างๆ จนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะ วิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ทุกท่านที่กรุณาอบรมสั่งสอน และถ่ายทอดความรู้แก่ผู้ทำวิทยานิพนธ์

วิทยานิพนธ์นี้ได้รับการสนับสนุนด้านทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขอขอบคุณบริษัท เพอร์กินเอลเมอร์ (ประเทศไทย) จำกัด และพนักงาน ที่ให้ ความอนุเคราะห์ให้ใช้เครื่อง Differential scanning calorimeter (DSC) ในการทำงานวิจัย ตลอดจน ให้คำแนะนำ จนประสบความสำเร็จ

ขอขอบคุณพี่ๆ ปริญญาเอกภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารและเพื่อนๆ หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ ที่ให้ความช่วยเหลือ คำแนะนำและเป็นกำลังใจในการทำงานตลอดการวิจัย

ขอบคุณเจ้าหน้าที่หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพและภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือและคำแนะนำในการใช้อุปกรณ์ต่าง ๆ รวมทั้งอำนวยความสะดวกตลอดการวิจัยเป็นอย่างดี

ขอขอบพระคุณบิดา มารดา และทุกคนในครอบครัว ที่ คอยสนับสนุนในทุกๆ ด้าน และคอยเป็นกำลังใจแก่ผู้วิจัยตลอดระยะเวลาการทำวิทยานิพนธ์ จนประสบความสำเร็จ

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย…… ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ…….…... จ

กิตติกรรมประกาศ……....…….... ฉ

สารบัญ……...…..…... ช

สารบัญตาราง…… ญ

สารบัญภาพ……..…. ฎ

บทที่ 1 บทนำ…….…….... 1

1.1 วัตถุประสงค์ของการวิจัย…….....…….... 2

1.2 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ……..…. 2

บทที่ 2 วารสารปริทัศน์……..…..... 3

2.1 ปลาส้ม……...…..……....……... 3

2.1.1 ลักษณะปลาส้มที่ดี……..…..... 3

2.1.2 จุลชีววิทยาของการหมักปลาส้ม……..…… 4

2.1.3 จุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการหมักปลาส้ม…….....…..... 4

2.2 แลคติกแอซิดแบคทีเรีย……....….... 4

2.2.1 *Lactobacillus plantarum* ……..……..…….. 5

2.3 การทำแห้งจุลินทรีย์แบบพ่นฝอย……...……..….. 6

2.4 สารป้องกันเซลล์……..... 7

2.5 สารป้องกันเซลล์ประเภทคาร์โบไฮเดรต.....……...……..... 9

2.6 Glass transition temperature (Tg) ของสารป้องกันเซลล์……..…….. 13

2.7 ปัจจัยที่มีผลต่อการรอดชีวิตของเซลล์จุลินทรีย์ในระหว่างการทำแห้……... 14

2.7.1 อายุของเชื้อจุลินทรีย์…….. 14

2.7.2 จำนวนเชื้อเริ่มต้นก่อนทำแห้ง……... 15

2.7.3 ความเข้มข้นของสารป้องกันเซลล์……...…….. 15

2.7.4 ความหนืดของสารป้องกันเซลล์……..…. 16

2.8 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ผงในระหว่างการเก็บรักษา…….. 16

2.8.1 อุณหภูมิการเก็บรักษา……..….. 16

2.8.2 บรรจุภัณฑ์ที่ใช้เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผง…….. 17

หน้า

บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย……..... 18
3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์……..... 18
3.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง…….. 19
3.3 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง…..……...……..... 20
3.4 การศึกษาลักษณะของ *L. plantarum* FT35……. 20
3.4.1 ความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *Escherichia coli* ATCC 13311 และ *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 ……..…….…….. 20
3.4.1.1 การเตรียมสารละลายส่วนใสของแลคติกแอซิแบคทีเรีย……. 20
3.4.1.2 การเตรียมเชื้อทดสอบ *E. coli* ATCC 25922 และ *S.* Typhimurium ATCC 13311…… 21
3.5 ศึกษา glass transition temperature (Tg) ของสารป้องกันเซลล์ที่เหมาะสมในการทำแห้งแบบพ่นฝอย…….. 21
3.5.1 ศึกษา Tg ของสารป้องกันเซลล์……..... 21
3.6 การเตรียมสารป้องกันเซลล์ในการทำแห้งแบบพ่นฝอย……... 21
3.6.1 การเตรียมสารละลายสารป้องกันเซลล์……..…..... 21
3.7 ศึกษาสารป้องกันเซลล์ที่เหมาะสมในการทำแห้งแบบพ่นฝอย…….. 22
3.7.1 การเตรียมเซลล์จุลินทรีย์…… 22
3.7.2 การทำแห้งแบบพ่นฝอยของ *L. plantarum* FT35……... 22
3.7.3 ศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงหลังการทำแห้งแบบพ่นฝอย……. 23
3.8 ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการทำแห้งแบบพ่นฝอย *L. plantarum* FT35…..... 23
3.8.1 ความเข้มข้นของสารป้องกันเซลล์ที่เหมาะสมในการทำแห้งแบบพ่นฝอย…… 23
3.8.2 ศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงหลังการทำแห้งแบบพ่นฝอย……. 24
3.9 ศึกษาประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ผงของ *L. plantarum* FT35 เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อหมักปลาส้ม……... 24
3.9.1 การหมักปลาส้มแบบไม่ใส่หัวเชื้อ……..... 25
3.9.2 การหมักปลาส้มแบบใส่หัวเชื้อสดของ *L. plantarum* FT35……...……. 25
3.9.3 การหมักปลาส้มแบบใส่หัวเชื้อผงของ *L. plantarum* FT35……. 25
3.9.4 ศึกษาประสิทธิภาพของหัวเชื้อผงหลังการเก็บรักษา……...…… 25
3.9.5 การวิเคราะห์ผลการหมักปลาส้ม……..……. 26

หน้า

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผล…… 27
4.1 ลักษณะของ *L. plantarum* FT35……..…..... 27
4.1.1 การสร้างสารของ *L. plantarum* FT35 เพื่อยับยั้งเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 และ *S.* Typhimurium ATCC 13311 …… 27
4.2 Tg ของสารป้องกันเซลล์กลุ่มคาร์โบไฮเดรต……..…….. 28
4.3 สารป้องกันเซลล์ที่มีผลต่อการรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35 ระหว่างทำแห้งแบบพ่นฝอย…….. 30
4.4 ศึกษาอายุการเก็บรักษา *L. plantarum* FT35 ผงหลังการทำแห้งแบบพ่นฝอย…..……. 34
4.5 ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการทำแห้งแบบพ่นฝอย *L. plantarum*…… 38
4.6 ศึกษาความเข้มข้นของสารป้องกันเซลล์ต่อการรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35 ผงระหว่างการเก็บรักษา ……..……... 43
4.7 ศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ผงของ *L. plantarum* FT35 เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อหมักปลาส้ม…… 47
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง……..…… 55
รายการอ้างอิง……..…… 57
ภาคผนวก……...…… 64
ภาคผนวก ก……..……. 65
ภาคผนวก ข……..……. 72
ภาคผนวก ค……..……. 76
ภาคผนวก ง……..……. 78
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์……..……. 85

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

4.1 ผลของค่า Tg สารป้องกันเซลล์กลุ่มคาร์โบไฮเดรตที่นำมาใช้ในการทดลองนี้…… 29

4.2 จำนวนเซลล์และสมบัติของผลิตภัณฑ์ของ *L. plantarum* FT35 และสารป้องกันเซลล์ที่มี glass transition temperature (Tg) ที่แตกต่างกันหลังการทำแห้งแบบพ่นฝอย เมื่อเจริญบนอาหาร MRS และ MRS ที่มีการเติมเกลือ 5% NaCl……... 33

4.3 ผลของระดับความเข้มข้น soluble starch ค่าความหนืดของ feed in solution และขนาดอนุภาคผงที่มีผลต่ออัตราการรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35 ……... 41

4.4 การเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดระหว่างการหมักปลาส้ม.. 53

4.5 การเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแลคติกแอซิดแบคทีเรียระหว่างการหมักปลาส้ม……..……..……... 53

4.6 การตรวจวิเคราะห์ *E. coli* และ *Salmonella* sp. ระหว่างการหมักปลาส้ม…….. 54

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

2.1 กลไกของสารป้องกันเซลล์ ……..…… 8
2.2 โครงสร้างกลูโคส ……..… 9
2.3 โครงสร้างซูโครส……..…… 10
2.4 โครงสร้างแล็กโทส……...…...… 11
2.5 โครงสร้างมอลโตเดกซ์ตริน……...…… 11
2.6 โครงสร้างสตาร์ช……..……..…… 12
4.1 แสดงบริเวณยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค *E. coli* ATCC 25922……. 28
4.2 แสดงบริเวณยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค *S.* Typhimurium ATCC 13311……..…. 28
4.3 thermograms แสดงค่า Tg ของ glucose 29
4.4 การเปรียบเทียบการรอดชีวิต บนอาหาร MRS และ MRS ที่เติม NaCl 5% ของ *L. plantarum* FT35 หลังการทำแห้งแบบพ่นฝอย ที่มี Tg ต่างๆของสารป้องกันเซลล์…….. 32
4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเชื้อที่รอดชีวิตกับระยะเวลาในการเก็บรักษาของเชื้อผงที่ผลิตโดยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยใช้สารป้องกันเซลล์ คือ glucose, sucrose, lactose, maltodextrin DE 10 และ soluble starch เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (35-37°C) เป็นเวลา 4 สัปดาห์……. 37
4.6 ค่า a_w ของเชื้อผงที่ผลิตด้วยการทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้สารป้องกันเซลล์ คือ glucose, sucrose, lactose, maltodextrin DE 10 และ soluble starch เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (35-37°C) เป็นเวลา 4 สัปดาห์……. 37
4.7 ปริมาณความชื้นของเชื้อผงผลิตด้วยการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยใช้สารป้องกันเซลล์ คือ glucose, sucrose, lactose, maltodextrin DE 10 และ soluble starch เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (35-37°C) เป็นเวลา 4 สัปดาห์……..……. 38
4.8 ระดับความเข้มข้นของ soluble starch ที่มีผลต่อการรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35 ในระหว่างการทำแห้งแบบพ่นฝอยเมื่อเลี้ยงบนอาหาร MRS และ MRS + 5% NaCl.. 40
4.9 อนุภาคผง *L. planrarum* FT35 เมื่อใช้สารป้องกันเซลล์ คือ soluble starch 1.5% (a), 2.5% (b), 3.5% (c), 4.5% (d) และ 10% (e) เมื่อขยาย 200 เท่าด้วยกล้องจุลทรรศน์ (light microscope)……...…….. 42

หน้า

4.10 ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเชื้อที่รอดชีวิตกับเวลาเก็บรักษาของเชื้อผง ที่ผลิตด้วยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยใช้สารป้องกันเซลล์คือ soluble starch 1.5% และ soluble starch 2.5% เมื่อเก็บรักษาที่ 4°C ผลิตภัณฑ์ผงที่ใช้ soluble starch 1.5% และ soluble starch 2.5% เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30-35°C) ระยะเวลาการเก็บรักษา 8 สัปดาห์…….…….. 46

4.11 ค่า a_w ของผลิตภัณฑ์ผงที่ผลิตโดยวิธีการทำแห้งพ่นฝอยโดยใช้สารป้องกันเซลล์ คือ soluble starch 1.5% และ soluble starch 2.5% เมื่อเก็บรักษาที่ 4°C ผลิตภัณฑ์ผงที่ใช้ soluble starch 1.5% และ soluble starch 2.5% เมื่อเก็บรักษา ที่อุณหภูมิห้อง (30-35°C) ระยะเวลาการเก็บรักษา 8 สัปดาห์……..……..... 46

4.12 ปริมาณความชื้นของ ผลิตภัณฑ์ผงที่ผลิตโดยวิธีการทำแห้งพ่นฝอยโดยใช้สารป้องกันเซลล์ คือ soluble starch 1.5% และ soluble starch 2.5% เมื่อเก็บรักษาที่ 4°C ผลิตภัณฑ์ผงที่ใช้ soluble starch 1.5% และ soluble starch 2.5% เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30-35°C) ระยะเวลาการเก็บรักษา 8 สัปดาห์……..…….. 47

4.13 การเปรียบเทียบปริมาณกรดระหว่างการหมักแบบไม่ใช้หัวเชื้อ หัวเชื้อสดและแบบใช้หัวเชื้อผงหัวเชื้อผงหลังการทำแห้งแบบพ่นฝอย หัวเชื้อผงหลังการเก็บรักษา 1 เดือน และหัวเชื้อผงหลังการเก็บรักษา 2 เดือน……..…… 52

4.14 การเปรียบเทียบค่า pH ระหว่างการหมักแบบไม่ใช้หัวเชื้อ หัวเชื้อสดและแบบใช้หัวเชื้อผง หัวเชื้อผงหลังการทำแห้งแบบพ่นฝอย หัวเชื้อผงหลังการเก็บรักษา 1 เดือน และหัวเชื้อผงหลังการเก็บรักษา 2 เดือน……..…… 52

1-ก เครื่องวัดความหนืด…….. 68

2-ก เครื่องวัด water activity……...…….. 70

3-ก เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray dryer)……..…… 71

1-ข petrifilm…… 74

2-ข เครื่องหมักเชื้อ (fermenter)……..…… 75

1-ค thermogram แสดงค่า Tg ที่วัดโดยเครื่อง differential scanning calorimeter (DSC) ของสารป้องกันเซลล์คือ glucose (a), sucrose (b), lactose (c), และ soluble starch (d) 77

บทที่ 1

บทนำ

การทำแห้งจุลินทรีย์แบบพ่นฝอยมีวัตถุประสงค์เพื่อต้องการเก็บรักษาเชื้อให้คงสภาพดีโดยไม่เกิดการสูญเสียกิจกรรมของเชื้อระหว่างการขนส่งและเก็บรักษา แต่อิทธิพลของอุณหภูมิที่ใช้ในการทำแห้ง มีผลทำให้เซลล์ที่มีชีวิตมีจำนวนลดลงในระหว่างการทำแห้ง ซึ่งเกิดจากการที่เซลล์เกิดความเสียหายที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ เนื่องจากความร้อนทำให้เกิดการระเหยน้ำออกจากเซลล์ในระหว่างการทำแห้ง เมื่อโมเลกุลของน้ำเคลื่อนที่ออกจากเยื่อหุ้มเซลล์ ส่งผลทำให้โครงสร้างของ ผนังเซลล์ไม่เสถียร และเกิดการเปลี่ยนแปลง ซึ่งเป็นส่วนสำคัญที่ทำให้เกิดความเสียหายต่อเซลล์ในกระบวนการทำแห้ง ปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ในการทำแห้งคือ สารป้องกันเซลล์ โดยพบว่าสารป้องกันเซลล์สามารถแทนที่โมเลกุลของน้ำที่สูญเสียไป และทำให้โครงสร้างของผนังเซลล์ มีความเสถียรและไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง Sinha และ Ranganathan (1974) รายงานว่า ประสิทธิภาพของสารป้องกันเซลล์แต่ละชนิดมีความสามารถในการปกป้องเซลล์แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับสมบัติทางความร้อนของสาร คือ glass transition temperature (Tg) นอกจากนี้มีรายงานว่า ระดับความเข้มข้นของสารป้องกันเซลล์มีผลต่อการรอดชีวิตของเซลล์จุลินทรีย์ เนื่องจาก มีความสัมพันธ์กับขนาดหยดอนุภาค เพราะใช้ความเข้มข้นของสารป้องกันเซลล์ที่สูงทำให้เกิดหยดอนุภาคขนาด ใหญ่ ส่งผลทำให้เชื้อมีโอกาสถูกทำลายด้วยความร้อนได้มากกว่า นอกจากนี้ การทำแห้งแบบพ่นฝอย lactic acid bacteria ในรูปแบบผง สามารถนำไปใช้เป็นหัวเชื้อหมักปลาส้ม โดย ปลาส้มเป็นอาหารหมักประเภทหนึ่งที่นิยมบริโภคในหลายภูมิภาคของประเทศ แต่การผลิตมักมีข้อจำกัดอยู่ในระดับครัวเรือน ซึ่งทำให้คุณภาพผลิตภัณฑ์มีความไม่สม่ำเสมอ และมักประสบปัญหาด้านคุณภาพของหัวเชื้อหมัก เพราะการผลิตจะขึ้นอยู่กับเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติที่ติดมากับวัตถุดิบ จึงทำให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพแตกต่างกัน ทำให้ยากต่อการควบคุมคุณภาพของหัวเชื้อ ซึ่งการหมักเกิดจากกระบวนการทางชีวเคมีที่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของอินทรียสาร โดยปฏิกิริยาของเอนไซม์ที่สร้างขึ้นโดยเชื้อจุลินทรีย์ lactic acid bacteria ซึ่งมีบทบาทสำคัญในกระบวนการหมัก การพัฒนาหัวเชื้อหมักโดยทำแห้งแบบพ่นฝอย เพื่อทำให้อาหารมีคุณภาพสม่ำเสมอ ลดโอกาสการหมักล้มเหลว ช่วยให้การหมักเกิดขึ้นได้อย่างมีประสิทธิภาพและสามารถควบคุมได้ดีขึ้น ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นในการศึกษาTg ของสารป้องกันเซลล์ และความเข้มข้นที่เหมาะสมต่ออัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ในระหว่างการทำแห้งแบบพ่นฝอยและการเก็บรักษา เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อผงในการทำปลาส้ม

วัตถุประสงค์

1. ศึกษาสารป้องกันเซลล์ที่มี Tg ที่แตกต่างกันต่อการรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35 ในการทำแห้งแบบพ่นฝอย
2. ศึกษาความเข้มข้นสารป้องกันเซลล์ที่มีผลต่อการรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35 ในการทำแห้งแบบพ่นฝอย
3. ศึกษาการรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35 ผงในระหว่างการเก็บรักษา

ผลที่คาดว่าได้รับ

ความเป็นไปได้ในการใช้ Tg เป็นเกณฑ์ในการคัดเลือก สารป้องกันเซลล์และความเข้มข้นของสารป้องกันเซลล์ที่เหมาะสมต่อการรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35 ในระหว่างการทำแห้งแบบพ่นฝอยและการเก็บรักษา เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อหมักปลาส้ม

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 ปลาส้ม

ปลาส้ม จัดเป็นอาหารหมักประเภทหนึ่ง โดยการหมักเกิดจากแลคติกแอซิดแบคทีเรียซึ่งมีบทบาทสำคัญในกระบวนการหมัก โดยแบคทีเรียกลุ่มนี้จะเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตในส่วนประกอบต่างๆ ที่ใช้ในการหมักให้เป็นกรดแลคติก ทำให้ pH ของอาหารลดลง ทำให้เกิดรสเปรี้ยว และทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสชาติและกลิ่นดีขึ้น นอกจากนี้แลคติกแอซิดแบคทีเรียยังจัดเป็นแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้ก่อโรค ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยสูงขึ้น ตลอดจนมีการยืดอายุการเก็บรักษาได้นานขึ้น (Lee และ Kraft, 1984)

ปลาส้มเป็นผลิตภัณฑ์ปลาหมัก กระบวนการผลิตปลาส้มโดยทั่วไปจะเริ่มจากการนำปลาสด เช่น ปลาตะเพียน มาขอดเกล็ด ควักไส้ ตัดแต่ง จากนั้นล้างทำความสะอาด และนำมาคลุกเคล้ากับ ส่วนผสมต่างๆ ได้แก่ ข้าว กระเทียม และเกลือ แล้วทำการหมัก จนเกิดรสเปรี้ยว ปริมาณกรดอยู่ในช่วง 2.1-4% โดยผู้ผลิตส่วนใหญ่จะหมักในถุงพลาสติกแล้วบรรจุในภาชนะ จำพวกปี๊บโลหะ กะละมังเคลือบ หรือถังพลาสติก แล้ววางในพื้นที่ว่างในบริเวณแหล่งผลิต (วิลาวัณย์ ภูมิดอนมิ่ง, 2548)

การเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักปลาส้ม พบว่าค่า pH เริ่มต้นการหมักประมาณ 7.0 และลดลงอย่างรวดเร็วใน 5 วันแรก pH 4.2-4.3 ซึ่งสัมพันธ์กับค่าเปอร์เซ็นกรด โดยช่วงแรกของการหมักพบว่า ช่วงแรกมีปริมาณกรด 0.1% จนกระทั่งวันที่ 5 จะมีกรดประมาณ 2.5-2.8% ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ระยะเริ่มต้น 10^3-10^5 CFU/g จนกระทั่งวันที่ 5 ของการหมักตรวจพบประมาณ $2.5x10^9$-$3.9x10^9$ CFU/g สำหรับระยะเวลาในการหมักปลาจนได้ปลาส้มที่สามารถบริโภคได้จะใช้เวลา 2-3 วัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพอากาศหรืออุณหภูมิในสถานที่ผลิต (วิลาวัณย์ ภูมิดอนมิ่ง , 2548)

2.1.1 ปลาส้มที่ดีควรมีลักษณะดังนี้ (วิลาวัณย์ ภูมิดอนมิ่ง, 2548)

1. ต้องเป็นตัวปลาหรือชิ้นปลาในสภาพสมบูรณ์
2. เนื้อไม่เละและก้างนุ่ม
3. มีรสเปรี้ยว และเค็มพอเหมาะ
4. มีกลิ่นหอม ไม่มีกลิ่นหืนหรือกลิ่นอับ

5. มีสีตามธรรมชาติไม่ปรุงแต่ง

2.1.2 จุลชีววิทยาของการหมักปลาส้ม (โอภาส มั่นคง, 2549)

ในระยะเริ่มต้นของการหมักปลาส้ม มักพบแบคทีเรียรูปกลม แกรมบวก ประมาณ 60-65% ได้แก่กลุ่มของ *Staphylococcus Micrococcus* และ *Pediococcus cerevisiae* แบคทีเรียแกรมบวกรูปแท่ง 30-35% ได้แก่กลุ่มของ *Bacillus, Lactobacillus* และแกรมลบกลุ่ม *Psedomonas* 5%

เมื่อระยะเวลาในการหมักช่วง 3 วันแรกมักพบว่ามี *Lactobacillus* และจุลินทรีย์กลุ่ม *Pediococcus cerevisiae* เพิ่มจำนวนขึ้นมาก ส่วน *Staphylococcus* และ *Micrococcus* จะมีประมาณคงที่และลดลงบ้างเล็กน้อย เพราะทนกรดและเกลือได้ระยะหนึ่ง ส่วนกลุ่ม *Bacillus* และ *Pseudomonas* รวมทั้งจุลินทรีย์ก่อโรคอื่นๆ จะมีปริมาณลดลงมากเนื่องจากสภาวะเป็นกรดและอากาศน้อยไม่เหมาะต่อการเจริญ ทำให้สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคได้

2.1.3 จุลิทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการหมักปลาส้ม (อาภัสรา กอบกัยกิจ, 2537)

1. จุลินทรีย์กลุ่มที่สร้างกรด และกลิ่นรส ได้แก่ *Lactobacillus plantarum lactobacillus brevis* และ *Pediococcus cerevisiae*
2. จุลินทรีย์กลุ่มที่ย่อยสลายโปรตีนได้ดี และสร้างกลิ่นรส ได้แก่ *Staphylococus* sp. และ *Micrococcus* sp.
3. *Bacillus* มีบทบาทในการย่อยโปรตีน และแป้งบ้างเล็กน้อย

2.2 แลคติกแอซิดแบคทีเรีย

แบคทีเรียแลคติกเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างเอนไซม์แคตาเลส ไม่ต้องการอากาศ ลักษณะสัณฐานวิทยา พบว่า มีทั้งรูปร่างแท่งและรูปร่างกลม การจัดเรียงกลุ่มแบคทีเรียแลคติกในสกุลต่างๆ ขึ้นอยู่กับรูปร่างลักษณะรูปแบบของการหมักน้ำตาลกลูโคส การใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ และการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ แบคทีเรียแลคติกสามารถเจริญในที่มีเกลือเข้มข้นสูง และการทนต่อกรดหรือด่าง ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากกระบวนการเมแทบอลลิซึมของแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้จากการใช้น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลแลคโตสเป็นแหล่งคาร์บอนได้ผลิตภัณฑ์หลักเป็นกรดแลคติก เช่น *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* และ *Leuconostoc* เป็นต้น (Wood และ Hodge, 1985)

แบคทีเรียแลคติกกลุ่ม facultative anaerobic ได้แก่ แบคทีเรียในสกุล *Lactobacillus sp.* มีความต้องการสารอาหารพวกสารประกอบอินทรีย์มีโครงสร้างซับซ้อนพบในกระบวนการหมักมีการเจริญได้ดีในสภาพที่ไม่ออกซิเจน แต่ก็มีความสามารถเจริญเพิ่มจำนวนเซลล์ได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจนด้วย น้ำตาลเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญของแบคทีเรียชนิดนี้ กลุ่ม lactic acid bacteria แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มที่หนึ่งเรียกว่า homofermentative จุลินทรีย์กลุ่มนี้จะให้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นกรดแลคติก (lactic Acid) 85-95% สำหรับกลุ่มที่สองเรียกว่า heterofermentative สามารถหมักน้ำตาลได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดแลคติกประมาณ 50% และได้ผลิตภัณฑ์อื่นๆ เช่น กรดอะซิติก กรดฟอร์มิก กลีเซอรอล แอลกอฮอล์ และคาร์บอนไดออกไซด์ นอกจากนี้ยังพบว่าการเจริญของแลคติกแอซิดแบคทีเรียในสภาพที่มีอากาศ จะพบการสร้างสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในระหว่างการเจริญแบบใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอน เนื่องจากแลคติกแอซิดแบคทีเรียไม่มีเอนไซม์ catalase ทำให้มีสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สะสมอยู่ในอาหารของแลคติกแอซิดแบคทีเรีย และสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ (Seppo และ Atte, 1993)

โดยทั่วไปแล้วแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกจะมีอยู่ในสภาพธรรมชาติทั้งในพืชผัก ผลไม้ เนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์นม กรดแลคติกที่ได้นี้มีบทบาทสำคัญในการถนอมอาหารหลายชนิด จุลินทรีย์ดังกล่าวมีความสามารถทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนแปลงไปได้ดี ทนต่อสภาพความเป็นกรดสูง สภาวะความเป็นกรดสูงนี้จะมีผลกระทบต่อการยับยั้งการเพิ่มจำนวนเซลล์หรือกำจัดกลุ่มจุลินทรีย์ที่ก่อนให้เกิดการเน่าเสียของอาหาร และจุลินทรีย์ก่อโรค (Lee และ Kraft, 1984)

2.2.1 *Lactobacillus plantarum*

L. plantarum เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเป็นแท่ง กว้าง 0.9-1.2 ไมโครเมตร ยาว 3-8 ไมโครเมตร พบเป็นเซลล์เดี่ยวๆ คู่หรือสายสั้นๆ จัดเป็น facultative anaerobic โคโลนีมีลักษณะนูน กลม ขอบเรียบ แน่นสีขาว เหลืองอ่อน หรือเหลืองหม่น สามารถผลิต DL-lactic acid อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญอยู่ในช่วง 30-35^{o}C แยกได้จากผลิตภัณฑ์และสิ่งแวดล้อมต่างๆ กัน เช่น หญ้าหมัก แตงกวาดอง กะหล่ำปลีดอง ช่องปากและทางเดินอาหาร เป็นต้น (Hammes และ Tichazeak, 1991)

Nisen และคณะ (2009) รายงานว่า *L. plantarum* จัดเป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติก ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย สามารถอยู่รอดได้ที่ pH ต่ำในกระเพาะอาหาร และน้ำดีในลำไส้เล็ก นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มจำนวนได้ทำให้เกิดความสมดุลของจุลินทรีย์ที่อยู่ ภายในลำไส้ สามารถป้องกันไม่ให้แบคทีเรียที่เป็นอันตรายเจริญได้ และช่วยเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกัน

นอกจากนี้มีการนำจุลินทรีย์โพรไบโอติกไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเช่น ผลิตภัณฑ์ปลาหมัก (fermented fish products) โดยพบว่า ผลิตภัณฑ์ปลาหมักหลายชนิดในแถบเอเชีย และเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ที่เกี่ยวข้องกับแลคติคแอสิดแบคทีเรีย ได้แก่ ปลาร้า (pla-ra) ปลาเจ่า (pla-chao) ปลาส้ม (pla-som) และส้มฟัก (som-fak) ซึ่งผลิตภัณฑ์กลุ่มนี้จัดอยู่ในชนิด fermented fish/salt/carbohydrate products ในระหว่างการหมักปลามีการสลายตัวเองโดยกิจกรรมของเอนไซม์ในตัวปลาได้ผลผลิตเป็นของเหลวสีน้ำตาลออกมาซึ่งของเหลวนี้ประกอบด้วยกรดอะมิโน โปรตีนที่ละลายและนิวคลีโอไทด์ทำให้มีคุณค่าทางโภชนาการมากขึ้น นอกจากนี้กรดแลคติก (lactic acid) ที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นช่วยในการถนอมอาหาร และทำให้อาหารปลอดภัย เพราะกรดที่ได้จากการหมักทำให้ pH ของอาหารลดลง ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย โดยเฉพาะแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค (pathogen) รา (mold) ยีสต์ (yeast) เนื่องจาก H+ จะซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) เข้าสู่ภายในทำให้ไซโตพลาสซึม (cytoplasm) มีสภาวะภายในเซลของจุลินทรีย์เป็นกรดสูง ซึ่งส่งผลให้ electrochemical proton gradient ภายในเซลลจุลินทรีย์เสียไป เซลล์จึงถูกทำลาย และไปยับยั้งการนำเข้ากรดอะมิโน (amino acid uptake) ของเซลจุลินทรีย์ (อาภัสรา กอบกัยกิจ, 2537)

แลคติคแอสิดแบคทีเรียที่พบในผลิตภัณฑ์ปลาหมัก ได้แก่ *L. plantarum, L. pentosus*, *L. farciminis, Lactobacillus* sp. และ *Leuconostoc* sp. จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักมักเป็นกลุ่มที่ทนเกลือได้ สามารถเจริญได้ดีในระหว่างการหมัก นอกจากนี้ยังมีส่วนช่วยเสริมรสชาติของอาหารหมักได้เป็นอย่างดี (โอภาส มั่นคง, 2549)

2.3 การทำแห้งจุลินทรีย์แบบพ่นฝอย (Spray drying)

การทำแห้งแบบพ่นฝอยเป็นวิธีที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพราะต้นทุนการผลิตไม่สูงมาก และสามารถประยุกต์ใช้ร่วมกับสารประกอบอื่นๆ ได้หลายชนิด นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ในรูปแบบผงทำให้สะดวกต่อการ ใช้ประโยชน์ (Dziezak, 1988) วัตถุประสงค์ในการทำแห้งจุลินทรีย์คือต้องการเก็บรักษาเชื้อให้คงสภาพดี โดยไม่เกิดการสูญเสียกิจกรรมของเชื้อระหว่างการขนส่งและการเก็บรักษา การทำแห้งแบบพ่นฝอยเป็นวิธีการทำแห้งโดยฉีดพ่นของเหลวให้เป็นหยดละออง โดยใช้ลมร้อนเพื่อทำให้หยดอนุภาคแห้งและกลายเป็นผงในเวลารวดเร็ว Boza, Barbin และ Scamparini (2004) พบว่าการใช้อุณหภูมิลมเข้า (inlet temperature) สูงในการทำแห้ง

แบบพ่นฝอยทำ ให้น้ำระเหยได้อย่างรวดเร็วและใช้ระยะเวลาสั้น แต่พบว่าการรอดชีวิตของ *Beijerinckia* sp. มีความสัมพันธ์กับอุณหภูมิลมออกมากกว่าการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิลมเข้า ซึ่งพบว่าอุณหภูมิลมออก 80°C ทำให้การรอดชีวิตสูงสุด

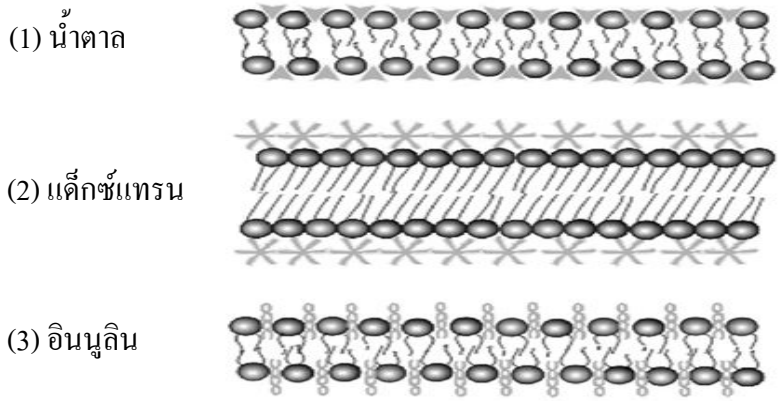
Gardiner และคณะ (2000) รายงานว่า เมื่อทำแห้งแบบพ่นฝอย *Lactobacillus paracasei* NFBC 338 โดยใช้นมผงปราศจากไขมันเป็นสารป้องกันเซลล์ กำหนด อุณหภูมิลมเข้า 170°C พบว่าอุณหภูมิลมออก 80-85°C ทำให้เชื้อรอดชีวิตมากที่สุด 70% ขณะที่อุณหภูมิสูงขึ้นอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์มีปริมาณลดลงตามลำดับ Johnson และ Etzel (1993) รายงานว่า เมื่อศึกษาผลของอุณหภูมิในการทำแห้งแบบพ่นฝอย *Serratia marcescens* และ *Staphylococcus* พบว่า เมื่อลดอุณหภูมิลมออกให้ต่ำลง ทำให้การรอดชีวิตของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น สอดคล้องกับรายงานของ Kim และ Bhowmik (1990) พบว่า การรอดชีวิตของ *S.thermophilus* และ *L. bulgaricus* จะลดลงเมื่ออุณหภูมิลมออกเพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้ Corcoran และคณะ (2004) รายงานว่า การบาดเจ็บที่เกิดขึ้นกับเซลล์ระหว่างการทำแห้งที่สำคัญคือ ความเสียหายที่เกิดขึ้นบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ นอกจากนี้ยังพบความเสียหายที่บริเวณไรโบโซม และ DNA (Koster และคณะ, 2000)

Santivarangkna, Higl และ Foerst (2008) พบว่า ความร้อนในระหว่างการทำแห้ง ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ เกิดการระเหยน้ำออก ซึ่งเป็นการเพิ่มแรง Van der waals ที่มีผลต่อ hydrocarbon chain ทำให้โครงสร้าง phospholipid ไม่เสถียรและเกิดการเปลี่ยนแปลง เนื่องจากโมเลกุลของน้ำที่สูญเสียไปในการทำแห้งมีความสัมพันธ์กับช่องว่างของอะตอมภายในเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งเป็นส่วนสำคัญในการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ ทำให้เซลล์จุลินทรีย์ได้รับบาดเจ็บ และมีผลทำให้ปริมาณเซลล์จุลินทรีย์ลดลงในระหว่างการทำแห้ง (Bryant, Koster และ Wolfe, 2001 และ Cox, 1993)

2.4 สารป้องกันเซลล์

เนื่องจากการทำแห้งแบบพ่นฝอยเชื้อจะต้องผ่านกระบวนการผลิตที่มีปัจจัยของอุณหภูมิเข้ามาเกี่ยวข้องเชื้ออาจถูกทำลายโดยอุณหภูมิสูง มีผลทำให้เซลล์ที่มีชีวิตมีจำนวนลดลงในระหว่างการทำแห้ง Desmond และคณะ(2002) รายงานว่า ในระหว่างการทำแห้งแบบพ่นฝอยการใช้สารป้องกันเซลล์เป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการรอดชีวิตของเซลล์จุลินทรีย์ โดยกลไกของสารป้องกันเซลล์ คือ การเข้าแทนที่โมเลกุลของน้ำที่สูญเสียไป และยึดเกาะกันเป็นโครงสร้างที่มีความแข็งแรงทำให้โครงสร้างของโมเลกุลมีความเสถียร จึงสามารถป้องกันการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ในระหว่างการทำแห้ง

Crowe, Crowe และ Chapman (1984) รายงานว่า สารป้องกันเซลล์กลุ่มคาร์โบไฮเดรต (น้ำตาล) สามารถเข้าแทนที่โมเลกุลของน้ำที่สูญเสีย โดยพันธะไฮโดรเจนระหว่างกลุ่มไฮดรอกซีของน้ำตาลมีความสัมพันธ์กับ phospholipid bilayer ของเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรีย นอกจากนี้ยังพบว่าสารป้องกันเซลล์กลุ่มโพลีแซคคาร์ไรด์ สามารถแทรกเข้าไประหว่าง headgroup ของ phospholipids ส่งผลทำให้โครงสร้างเยื้อหุ้มเซลล์มีความเสถียรและไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง (Vereyken และคณะ, 2001) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Silva และคณะ (2004) พบว่า เมื่อใช้ซูโครสเป็นสารป้องกันเซลล์ *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ในการทำแห้งแบบพ่นฝอย พบว่าจุลินทรีย์สามารถต้านทานความร้อนได้ดีขึ้น ส่งผลต่อการเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์หลังการทำแห้ง



ภาพที่ 2.1 กลไกของสารป้องกันเซลล์
ที่มา: Santivarangkna และคณะ (2008)

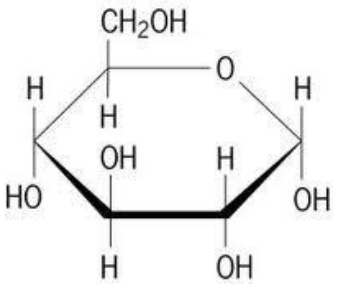
จากภาพที่ 2.1 สมมุติฐานการแทนที่น้ำของสารป้องกันเซลล์กลุ่มคาร์โบไฮเดรต สารป้องกันเซลล์สามารถเข้าแทนที่โมเลกุลของน้ำที่สูญเสีย โดยโมเลกุลของน้ำตาลมีความจำเพาะและมีความสัมพันธ์กับ phospholipid ของเยื่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ ทำให้โครงสร้างโมเลกุลมีความเสถียรและลดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์เมื่อใช้น้ำตาลเป็นสารป้องกันเซลล์ และเมื่อใช้แด็กซ์แทรนเป็นสารป้องกันเซลล์ พบว่า โมเลกุลของสารมีขนาดใหญ่จึงไม่สามารถเข้าแทนที่ช่องว่างระหว่าง phospholipid headgroups ทำให้ไม่สามารถลดการเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ นอกจากนี้ยังพบว่า อินนูลินสามารถลดการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ได้ โดยโมเลกุลของสารมีความยืดหยุ่นและสามารถเข้าแทนที่โมเลกุลของน้ำที่สูญเสียได้ในระหว่างการทำแห้ง (Santivarangkna และคณะ, 2008)

นอกจากนี้ Koster และคณะ (2000) รายงานว่า สารป้องกันเซลล์ที่มีน้ำหนักโมเลกุล (molecular weight) ต่ำกว่า 1000 สามารถเข้าแทนที่ช่องว่างโมเลกุลน้ำที่สูญเสีย นอกจากนี้พบว่า สารป้องกันเซลล์ประเภทพอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลระหว่าง 1000 – 5000 หรือมีขนาดใหญ่กว่า 1-2 นาโนเมตร โมเลกุลของสารที่มีขนาดใหญ่จะไม่สามารถเข้าแทนที่ในบริเวณโมเลกุลน้ำที่สูญเสียระหว่างการทำแห้ง จึงไม่มีผลในการป้องกันการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเยื่อหุ้มเซลล์

แม้ว่าสารป้องกันเซลล์กลุ่มคาร์โบไฮเดรตจะสามารถลดการเกิดการเปลี่ยนแปลงของเยื่อหุ้มเซลล์ในระหว่างการทำแห้งของแบคทีเรียและยีสต์ (Leslie และคณะ, 1995) แต่ยังพบว่า มอลโตส ทรีฮาโลส และซอร์บิทอล ไม่มีผลในการปกป้องเซลล์ *L. plantarum* ในระหว่างการทำแห้ง (Linders และคณะ, 1997)

2.5 สารป้องกันเซลล์ประเภทคาร์โบไฮเดรต

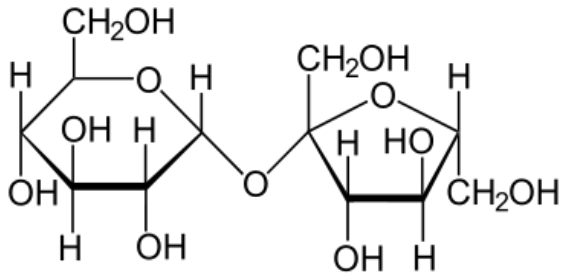
กลูโคส เป็นน้ำตาลประเภทโมโนแซ็กคาไรด์ (monosaccharide) หรือ เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และมีขนาดโมเลกุลที่เล็กที่สุด น้ำหนักโมเลกุล 180 ประกอบด้วย C, O และ H มีสูตรคือ $(CH_2O)_n$ โดยมีอะตอมของ C ต่อกันเป็นสาย และมี carbonyl group และ hydroxy group ต่อกับอะตอมของ C นอกจากนี้น้ำตาลกลูโคสยังเป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของไดแซ็กคาไรด์ โอลิโกแซ็กคาไรด์ และพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดต่าง ๆ เช่น มอลโทส ซูโครส แล็กโทส เด็กซ์ทริน สตาร์ช เซลลูโลส และไกลโคเจน (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2549)



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างกลูโคส
ที่มา : Foodnetwork (2010)

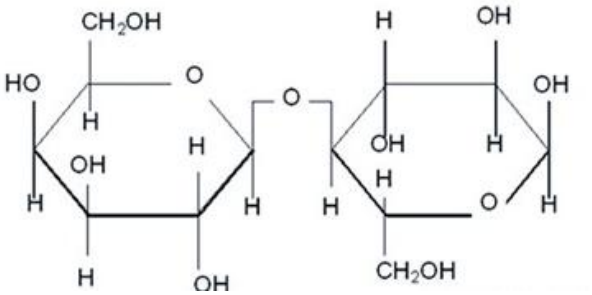
ซูโครส และแล็กโทส เป็นน้ำตาลประเภทไดแซ็กคาไรด์ (disaccharide) สูตรทั่วไปของไดแซ็กคาไรด์คือ $C_{12}(H_2O)_{11}$ น้ำหนักโมเลกุล 342 ประกอบด้วยโมโนแซ็กคาไรด์ 2 โมเลกุล ซึ่งอาจเป็นชนิดเดียวกัน หรือต่างชนิดกันก็ได้ต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก

ซูโครส โมเลกุลประกอบด้วย กลูโคส (glucose) 1 โมเลกุล เชื่อมต่อกับโมเลกุลของฟรักโทส (fructose) 1 โมเลกุล ด้วยโคเวเลนท์บอนด์ ที่ชื่อว่าไกลโคซิดิกบอนด์ (glycosidic bond) ซึ่งน้ำตาลซูโครสมักพบอยู่ทั่วๆ ไปในพืช มีปริมาณตั้งแต่ 0.1-25% โมเลกุลของน้ำตาลซูโครสประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสต่อกับน้ำตาลฟรักโทสด้วยพันธะ α-(1 → 2) ทำให้ไม่มีหมู่แอลดีไฮด์และหมู่คีโตนอิสระ ซึ่งเป็น functional group เหลืออยู่ในโมเลกุล น้ำตาลซูโครสจึงจัดเป็นน้ำตาล non-reducing sugar (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2549)



ภาพที่ 2.3 โครงสร้างซูโครส
ที่มา : Foodnetwork (2010)

แล็กโทส หรือ 4-0-β-D-galactopyranosyl-D-glucopyranose เป็นน้ำตาลที่พบเฉพาะในน้ำนมของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมเท่านั้น จึงเรียกว่า milk sugar น้ำตาลแล็กโทสสามารถถูกไฮโดรไลซ์ได้ด้วยเอนไซม์แล็กเทส (β-D-galactosidase) หรือด้วยกรดแก่ ได้เป็นน้ำตาลกลูโคสและกาแล็กโทส น้ำตาลแล็กโทสโมโนไฮเดรต (แอลฟา -ไอโซเมอร์) มีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 202 องศาเซลเซียส ส่วนน้ำตาลแล็กโทสที่อยู่ในรูปแอนไฮดรัสแอลฟา -แล็กโทสและบีต้า -แล็กโทสมีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 223 และ 252 องศาเซลเซียสตามลำดับ (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2549)



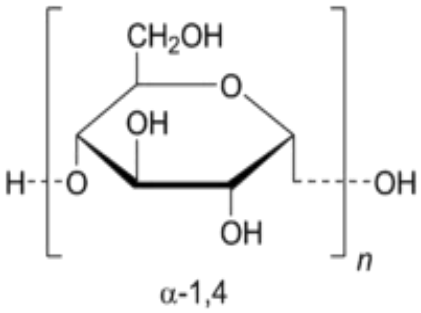
ภาพที่ 2.4 โครงสร้างแล็กโทส

ที่มา : Admin (2010)

มอลโตเดกซ์ตริน (maltodextrin) เป็นสารประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ ที่ได้จากการย่อยโมเลกุลของสตาร์ช (starch) บางส่วนให้เป็นสายสั้นๆ ของน้ำตาลกลูโคส (glucose) โครงสร้างโมเลกุลประกอบด้วยหน่วย D-กลูโคสต่อกันเป็นสายยาวที่เชื่อมต่อด้วยพันธะ α-(1 → 4) ไกลโคซิดิก

มอลโตเดกซ์ตริน แบ่งได้ตามค่าสมมูลเด็กซ์โทรส (Dextrose Equivalent, DE) คือ ปริมาณร้อยละของน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) คิดเป็นปริมาณน้ำตาลเด็กโตรส (dextrose) ที่มีอยู่ในคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด มอลโตเดกซ์ตรินมีค่า dextrose equivalent อยู่ระหว่าง 5-20 นอกจากนี้ยังพบว่า มอลโตเดกซ์ตริน ที่มีค่า DE สูงจะทนต่อความร้อนได้น้อยกว่า มอลโตเดกซ์ตริน ที่มีค่า DE ต่ำ

วัตถุดิบที่ใช้ผลิตมอลโตเดกซ์ตริน คือ แป้ง (starch) จากพืชต่างๆ เช่น แป้งมันสำปะหลัง (tapioca starch) แป้งข้าวโพด (corn starch) แป้งมันฝรั่ง (potato starch) โดยการย่อยด้วยเอนไซม์อะมิเลส (amylase) ชนิด แอลฟา-อะมิเลส มักใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหาร (food additive) มีลักษณะเป็นผงหรือเกล็ดสีขาวไม่มีรส หรือมีรสหวานเล็กน้อย สามารถละลายน้ำได้ดี

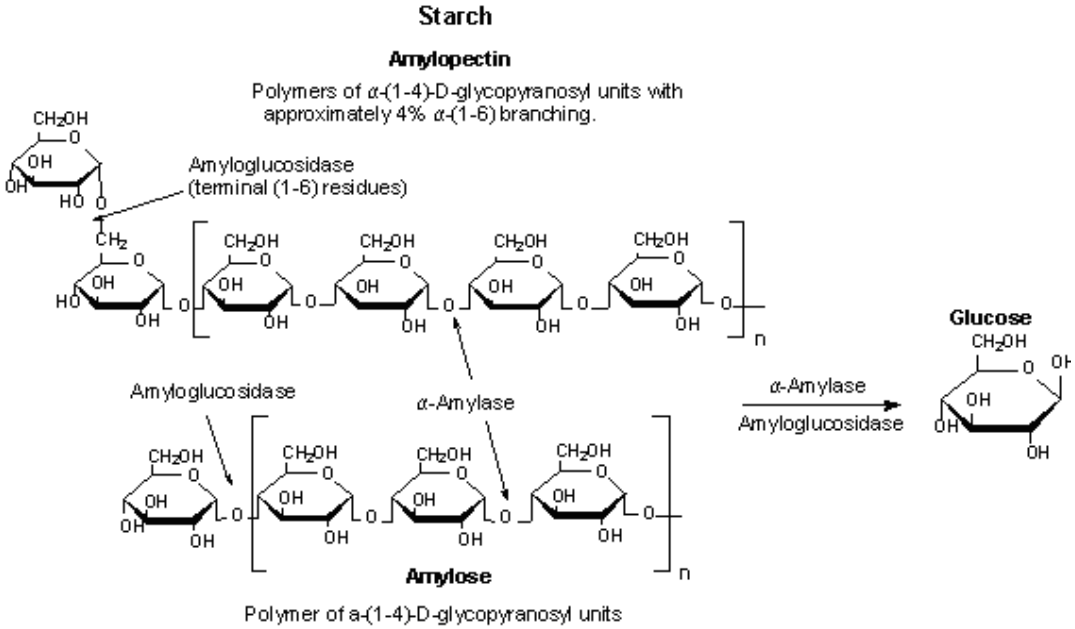


ภาพที่ 2.5 โครงสร้างมอลโตเดกซ์ตริน

ที่มา : Foodnetwork (2010)

soluble starch หรือ แป้งดัดแปร หมายถึง แป้ง (starch) ที่ได้จากการนำแป้งดิบ (native starch) มาผ่านกรรมวิธีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง ทำให้มีสมบัติเปลี่ยนไปตามที่ต้องการ เช่น ความหนืด (viscosity) ลดลง ความคงตัวต่อความร้อน กรด และแรงเฉือน กรรมวิธีการผลิตแป้งดัดแปรโดยวิธีทางเคมี กายภาพ เอนไซม์ หรือโดยจุลินทรีย์ (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2549)

soluble starch จัดเป็นพอลิแซ็กคาไรด์กลุ่มหนึ่งของคาร์โบไฮเดรตที่ในโมเลกุลโมโนแซ็กคาไรด์ ประกอบด้วยอะไมโลสและอะไมโลแพกทิน เป็นโมโนพอลิแซ็กคาไรด์ของน้ำตาลกลูโคส โดยที่อะไมโลส ประกอบด้วยโมเลกุลกลูโคสที่ต่อกันด้วยพันธะ $\alpha(1 \rightarrow 4)$ ไกลโคซิดิก แต่อะไมโลเพกตินประกอบด้วยโมเลกุลกลูโคสที่ต่อกันด้วยพันธะ $\alpha(1 \rightarrow 4)$ และ $\alpha(1 \rightarrow 6)$ ไกลโคซิดิก สตาร์ชที่นำมาใช้แปรรูปเป็นแป้งดัดแปรส่วนใหญ่ได้มาจากแป้งมันสำปะหลัง (tapioca starch) แป้งข้าวโพด แป้งข้าวเจ้า soluble starch มักนิยมใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหาร (food additive) โดยทำหน้าที่เป็นสารเพิ่มความหนืด (thickening agent) ความสามารถในการดูดน้ำของเม็ดแป้งจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น ดังนั้นเมื่อละลายอยู่ในน้ำอุ่นเม็ดแป้งจะค่อยๆ ดูดน้ำและพองตัวออก (swelling) ได้ และการพองตัวนี้สามารถเปลี่ยนกลับไปกลับมาได้ เพราะเม็ดแป้งสามารถหดตัวลงได้เมื่อนำไปอบไล่น้ำออก หรือทำให้แห้ง เมื่อเพิ่มอุณหภูมิของน้ำให้สูงขึ้นเรื่อยๆ เม็ดแป้งจะพองตัวมากขึ้นจนมีขนาดใหญ่และจะแตกออกได้เป็นสารละลายข้นหนืด (starch paste) เรียกกระบวนการนี้ว่า เจลาติไนเซชัน (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2549)



ภาพที่ 2.6 โครงสร้างสตาร์ช

ที่มา : Re (1998)

Lian, Hsiao และ Chou (2002) รายงานว่าเมื่อใช้ soluble starch gum arabic gelatin และ skimmilk เป็นสารป้องกันเซลล์ในการทำแห้งแบบพ่นฝอย *Bifidobacterium longum* B6 พบว่า การรอดชีวิตของจุลินทรีย์เท่ากับ 29.06% 41.16% 63.74% และ 82.59% ตามลำดับ นอกจากนี้ Silva และคณะ (2004) รายงานว่า เมื่อใช้ซูโครสเป็นสารป้องกันเซลล์ *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ในการทำแห้งแบบพ่นฝอย พบว่า จุลินทรีย์สามารถต้านทานความร้อนได้ดีขึ้น

Boza และคณะ (2004) ศึกษาการทำแห้งแบบพ่นฝอย *Beijerinckia* sp. โดยใช้ maltodextrin DE20 เป็นสารป้องกันเซลล์ จำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 1.40×10^9 log CFU/g พบว่า หลังการทำแห้งจำนวนการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ลดลงเหลือ 1.28×10^8 log CFU/g

2.6 Glass transition temperature (Tg) ของสารป้องกันเซลล์

Tg คือสมบัติทางความร้อนของสาร แสดงถึงอุณหภูมิที่สารเกิดการเปลี่ยนแปลงจาก ของแข็งไปเป็นสถานะคล้ายยาง (rubbery state) ซึ่งมีความสัมพันธ์ทางด้านกายภาพและเคมีของ สารBhandari, Datta และ Howes (1997) ปัจจัยที่มีผลต่อค่า Tg ของสารป้องกันเซลล์ขึ้นอยู่กับ องค์ประกอบทางเคมีของสารที่แตกต่างกัน และตัวแปรต่างๆ ของโมเลกุลที่มีความสามารถในการ เคลื่อนที่ของสายโซ่ ได้แก่ การจัดเรียงตัวในระดับโมเลกุล โครงสร้างโมเลกุล (เช่น ความ สมมาตร การมีกิ่งก้านและโครงสร้างแบบร่างแห) ความมีขั้วหรือไม่มีขั้วของโมเลกุล และน้ำหนัก โมเลกุล นอกจากนี้ การเปลี่ยนแปลงทางความร้อนของพอลิเมอร์บางชนิดอาจขึ้นอยู่กับความเป็น อสัณฐานและความเป็นผลึกของพอลิเมอร์แต่ละชนิด รวมทั้ง การเกิด crosslink เป็นโครงสร้าง ร่างแห มีผลทำ ให้ Tg ของ สารประเภท พอลิเมอร์สูงขึ้น เนื่องจาก crosslink point ที่ยึดสายโซ่ พอลิเมอร์เข้าด้วยกันนั้น จำกัดอิสระในการเคลื่อนไหวของสายโซ่ จึงทำให้ Tg สูงขึ้น Buitink และ คณะ (2000) รายงานว่า สารป้องกันเซลล์ประเภทโปรตีน เช่น นมผงปราศจากไขมัน และเวย์มี Tg สูงกว่า สารกลุ่มคาร์โบไฮเดรต เช่น กลูโคส และซูโครส ซึ่งอาจเกิดการสร้างโครงสร้างแบบ ร่างแหของสารประเภทโปรตีน จึงทำให้ Tg สูงกว่าสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรต

Sinha และ Ranganathan (1974) พบว่า ประสิทธิภาพของสารป้องกันเซลล์แต่ละชนิดมีความสามารถในการปกป้องเซลล์แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับสมบัติทางความร้อนของสารคือ glass transition temperature (Tg) สอดคล้องกับรายงานของ Linders และคณะ (1997) พบว่าอุณหภูมิ Tg อาจบ่งชี้ถึงประสิทธิภาพของสารป้องกันเซลล์ในการปกป้องเซลล์จุลินทรีย์ระหว่างการทำแห้ง

Ananta , Volkert และ Knorr (2005) รายงานว่า การทำแห้งแบบพ่นฝอย *Lactobacillus rhamnosus GG* โดยใช้ นมผงปราศจากไขมัน , polydextrose และ raftilose P95 ที่มีอุณหภูมิ glass transition temperature (Tg) เท่ากับ 109°C, 108°C และ 102°C ตามลำดับ พบว่าปริมาณการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ในการทำแห้ง คือ 65%, 62% และ 55% โดยสารป้องกันเซลล์ที่มี Tg สูงจะมีประสิทธิภาพในการปกป้องเซลล์จุลินทรีย์ในการทำแห้งได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสารป้องกันเซลล์ที่มี Tg ต่ำ

2.7 ปัจจัยที่มีผลต่อการรอดชีวิตของเซลล์จุลินทรีย์ในระหว่างการทำแห้งแบบพ่นฝอย

2.7.1 อายุของเชื้อจุลินทรีย์

Foster (1962) พบว่าเซลล์ของเชื้อที่เจริญอยู่ในช่วงต้น stationary phase จะสามารถคงกิจกรรมไว้ได้สูงหลังการทำแห้ง ซึ่งสอดคล้องกับ Heckly (1978) ที่รายงานว่าเชื้อที่มีอายุ 24 ชั่วโมง ซึ่งเจริญเติบโตเต็มที่จะรอดชีวิตจากการทำแห้งสูงกว่าเชื้อที่มีอายุ 3-7 ชั่วโมง Espina และ Packard (1979) ได้ศึกษาการผลิตแลคติกแอซิดแบคทีเรียด้วยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย พบว่าหัวเชื้อที่ใช้ในการทำแห้งจะอยู่ในระยะ stationary phase เชื้อผงที่ผลิตได้จะยังคงมีกิจกรรมต่างๆ เหมือนเดิมและพบว่าเชื้อที่มีอายุในระยะนี้มีความทนทานต่อการทำแห้งแบบพ่นฝอยได้ดีกว่าระยะอื่นๆ

Teixeira, Castro และ Kirby (1995) ได้ศึกษาการทำแห้งเชื้อ *L. bulgaricus* แบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิลมเข้า (inlet air temperature) 200°C และอุณหภูมิลมออก (outlet air temperature) 80°C พบว่า เซลล์ระยะ statioinary phase จะมีความทนทานต่อกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอยได้ดีกว่าเซลล์ระยะ exponential phase นอกจากนี้ ยังพบว่าการทำ heat shock กับเชื้อที่อยู่ในช่วง exponential phase จะช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของเชื้อให้สูงขึ้นกว่าเชื้อที่ไม่ถูก heat shock แต่การทำ heat shock กับเชื้อที่อยู่ในระยะ stationary phase จะไม่มีผลต่อการรอดชีวิตที่เพิ่มขึ้น

2.7.2 จำนวนเชื้อเริ่มต้นก่อนทำแห้ง

ปริมาณเชื้อเริ่มต้นก่อนการทำแห้งนั้นมีผลต่อการรอดชีวิตหลังการทำแห้ง โดย Kilara, Shanhani และ Das (1976) เปรียบเทียบปริมาณเชื้อเริ่มต้นก่อนการทำแห้งแบบพ่นฝอยของ *L. bulgaricus* โดยมีจำนวนเชื้อเริ่มต้น $6x10^5$ CFU/ml กับ $7x10^4$ CFU/ml เมื่อผ่านกระบวนการทำแห้ง พบว่า จำนวนเชื้อที่รอดชีวิตเท่ากับ 75% และ 10% ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่า *L. acidophilus* มีปริมาณเชื้อเริ่มต้น $1.6 x10^5$ CFU/ml กับ $2.6 x10^4$ CFU/ml จำนวนเชื้อที่รอดชีวิตหลังการทำแห้งแบบพ่นฝอยเท่ากับ 63% และ 19% ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Fu และ Etzel (1995) พบว่าจำนวนเชื้อเริ่มต้นก่อนการทำแห้งมากทำให้มีเชื้อรอดชีวิตสูงกว่าการใช้เชื้อเริ่มต้นในปริมาณต่ำ

2.7.3 ความเข้มข้นของสารป้องกันเซลล์

ระดับความเข้มข้นของสารป้องกันเซลล์มีความสัมพันธ์กับการรอดชีวิตของเซลล์จุลินทรีย์ Espina และ Packard (1979) พบว่า การใช้นมผงปราศจากไขมันที่ความเข้มข้น 25% เป็นสารป้องกันเซลล์ในการทำแห้งแบบพ่นฝอย ให้ผลการรอดชีวิตของ *L. acidophilus* สูงกว่าที่ความเข้มข้น 40% สอดคล้องกับรายงานของ Boza และคณะ (2004) พบว่าการใช้ maltodextrin DE20 ที่ระดับความเข้มข้น 25% เป็นสารป้องกันเซลล์ ส่งผลทำให้เซลล์ *Beijerrinckia* sp. ลดลงในระหว่างการทำแห้งต่ำกว่าที่ระดับความเข้มข้น 33% เนื่องจาก การใช้สารป้องกันเซลล์ที่ความเข้มข้นสูงทำให้เกิดหยดอนุภาคขนาดใหญ่ เชื้อมีโอกาสถูกทำลายด้วยความร้อนได้มากกว่าอนุภาคที่มีขนาดเล็ก เพราะอนุภาคขนาดใหญ่ส่งผลให้เชื้อสัมผัสกับความร้อนเป็นเวลานานกว่า และรายงานของ Lian และคณะ (2002) ที่ศึกษาระดับความเข้มข้นที่แตกต่างของสารป้องกันเซลล์ที่ใช้ในการทำแห้งแบบพ่นฝอยของเชื้อ *Bifidobacteria* พบว่า ระดับความเข้มข้น 10% ทำให้เชื้อรอดชีวิตสูงสุด

2.7.4 ความหนืดของสารป้องกันเซลล์

Boza และคณะ (2004) รายงานว่าการใช้ maltodextrin DE20 ที่มีความหนืดเท่ากับ 3.8 cp และ 6.1 cp เป็นสารป้องกันเซลล์ในการทำแห้ง *Beijerrinckia* sp. ซึ่งพบว่า เมื่อเพิ่มค่าความหนืดของสารป้องกันเซลล์ทำให้การรอดชีวิตของจุลินทรีย์ลดลงเท่ากับ 0.97 และ 2.34 log CFU/g ตามลำดับ สอดคล้องกับรายงานของ สุพิชชา วัฒนาประเสริฐ (2550) พบว่า การใช้นมผงปราศจากไขมันที่มีความเข้มข้น 10%, 17.5% และ 20% มีค่าความหนืดเท่ากับ 3.50 cp, 4.76 cp และ 6.1 cp เป็นสารป้องกันเซลล์ *L. acidophilus* ส่งผลให้การรอดชีวิตของจุลินทรีย์เท่ากับ 90.73%, 88.36% และ 81.69% ตามลำดับ โดยพบว่าขนาดอนุภาคใหญ่ขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารป้องกันเซลล์ ซึ่งขนาดอนุภาคที่ใหญ่ขึ้นอาจมีสาเหตุมาจากการเพิ่มความหนืดของสารป้องเซลล์ ส่งผลให้ขนาดอนุภาคที่ออกจาก automizer มีขนาดใหญ่การระเหยน้ำจึงต้องใช้เวลานานขึ้น ซึ่งส่งผลให้มีการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ที่ต่างกัน

2.8 ปัจจัยที่ส่งผลต่อการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ผงในระหว่างการเก็บรักษา

2.8.1 อุณหภูมิการเก็บรักษา

อุณหภูมิการเก็บรักษาเป็นปัจจัยที่สำคัญต่ออายุการเก็บรักษาหัวเชื้อผงให้มีชีวิตนานขึ้น Ananta และคณะ (2005) รายงานว่าเมื่อเก็บรักษาจุลินทรีย์ *L. rhamnosus* GG ที่อุณหภูมิ 25 °C และ 37°C เป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น การเก็บรักษาเชื้อผงที่อุณหภูมิ 25 °C มีจำนวนเชื้อที่รอดชีวิตหลังการเก็บรักษาสูงกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37°C นอกจากนี้การเก็บรักษาจุลินทรีย์ *L. delbrueckii* ssp. Bulagricus ในรูปแบบผงหลังการทำแห้งแบบพ่นฝอย พบว่าการเก็บรักษาเชื้อที่อุณหภูมิต่ำจำนวนเชื้อที่รอดชีวิตจะสูงกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 30°C เนื่องจากที่อุณหภูมิ 30°C นี้เป็นอุณหภูมิที่ใกล้เคียงกับอุณหภูมิ 37°C ซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ทำให้มีกิจกรรมเกิดขึ้นในเซลล์มากกว่าอุณหภูมิต่ำ (Teixeira และคณะ, 1995)

2.8.2 บรรจุภัณฑ์ที่ใช้เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผง

ถุงลามิเนตมีส่วนประกอบของ PP/PE/Alu/PE/LL ซึ่งประกอบด้วยชั้น polypropylene (PP) เป็นพลาสติกประเภทเทอร์โมพลาสติกที่เบาที่สุด มีสมบัติเชิงกลดีมาก เหนียว ทนต่อแรงดึง แรงกระแทกและทรงตัวดี มีจุดหลอมตัวที่ 165°C ไอน้ำและออกซิเจนซึมผ่านได้ต่ำ เป็นฉนวนไฟฟ้าที่ดีมาก ถุงลามิเนตถูกนำมาใช้อย่างกว้างขวางสำหรับการห่อหุ้มผลิตภัณฑ์อาหาร หรือบรรจุอาหารที่ไม่ต้องการให้ออกซิเจนซึมผ่าน มีคุณสมบัติในการป้องกันความชื้นได้ดี และช่วยรักษาอายุของผลิตภัณฑ์ (สมาคมอุตสาหกรรมพลาสติกไทย , 2552) ส่วนชั้น low density polyethylene (PE) เป็นโพลิเอทิลีนความหนาแน่นต่ำ แต่มีข้อเสียคือ สามารถปล่อยให้ไขมันและอากาศซึมผ่านได้ง่าย ทำให้ไวต่ออากาศ ส่วนชั้น (Alu) พบว่ามีน้ำหนักเบา และสามารถป้องกันการซึมผ่านของอากาศ ก๊าซ แสง และกลิ่นรสได้ดี และชั้นของ linear low density polyethylene (LL) นิยมใช้เป็นชั้นป้องกันความชื้น (Lodato, Huergo และ Buera 1999)

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

- กล้องจุลทรรศน์ (microscope) model CH30FF200 บริษัท OLYMPUS เชื่อมต่อกับกล้องวิดีโอ GT-420 panasonic และ PCTV USB2 vision ประเทศญี่ปุ่น
- เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง model pb8001 บริษัท METLER ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง model A200S บริษัท SATORIAS ประเทศเยอรมนี
- เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) model V-530 บริษัท JASCO ประเทศญี่ปุ่น
- เครื่องวัด pH (pH meter) model cyberscan pH 1000 บริษัท EUTECH ประเทศสิงคโปร์
- เครื่องหมักเชื้อ (fermenter) ขนาด 5 ลิตร model B.E. marubishi บริษัท BIOSTAT-B ประเทศเยอรมนี
- เครื่องวัดความหนืด (capilary viscometer) ขนาด 75 บริษัท CANNON ประเทศเยอรมนี
- เครื่องเขย่า (shaker) model gyrotory บริษัท NEW BRUNSWICK ประเทศสหรัฐอเมริกา
- เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray dryer) model DV-2 บริษัท NIRO ประเทศเยอรมนี
- microwave model KOR-63D7 บริษัท DAEWOO ประเทศมาเลเซีย
- stirrer บริษัท SELECTA model agimatic-N ประเทศเยอรมนี
- vortex mixer model 37600 mixer บริษัท THERMOLYNE ประเทศเยอรมนี
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath) model E350 ยี่ห้อ MEMMERT ประเทศเยอรมนี
- เครื่องเหวี่ยงแยก (centrifuge) model royanta centrifugen บริษัท HETTICH ประเทศเยอรมนี
- เครื่องวัดค่า a_w (a_w analyzer) model series 3 บริษัท DECAGON DEVICE model series 3 ประเทศสหรัฐอเมริกา
- เครื่องปิดผนึกถุงแบบสุญญากาศ (vacuum sealer) model DZ 400T บริษัท KING MACHINES ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน

- ตู้บ่มเชื้อ (incubator) model B30 บริษัท MEMMERT ประเทศเยอรมนี
- differential scanning calorimeter (DSC) Model 8000 บริษัท PERKIN ELMER ประเทศสหรัฐอเมริกา
- หม้อนึ่งฆ่าเชื้อควบคุมความดัน (autoclave) model SS-325 บริษัท TOMY ประเทศญี่ปุ่น
- ตู้อบลมร้อน (hot air oven) model E53 บริษัท WTC BINDER ประเทศเยอรมนี
- เครื่องหล่อเย็น (cooling) model ACE CA-1111 บริษัท EYELA ประเทศญี่ปุ่น
- ตู้ชีวานิรภัย (biosafety cabinet) medel II, A2 บริษัท Heal Force ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน
- ตู้เย็นสำหรับเก็บเชื้อจุลินทรีย์ (refrigerator) model SES-3PT (NF) บริษัท MALLORY ประเทศอิตาลี
- อุปกรณ์วัดความถ่วงจำพาะของสาร (pycnometer) model BORO-211 บริษัท WITEG ประเทศเยอรมนี

3.2 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

- น้ำมะพร้าวแก่จากตำบลเหมืองใหม่ อำเภออัมพวา จังหวัดสมุทรสงคราม
- อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar lab grade ยี่ห้อ MERCK ประเทศเยอรมนี
- กลูโคส lab grade ยี่ห้อ UNIVAR ประเทศนิวซีแลนด์
- ซูโครส lab grade ยี่ห้อ UNIVAR ประเทศนิวซีแลนด์
- แลกโตส lab grade ยี่ห้อ UNIVAR ประเทศนิวซีแลนด์
- มอลโตเด็กซ์ทริน food grade ยี่ห้อ BAKERYLANDS ประเทศสาธารณรัฐประชาชนจีน
- แป้งดัดแปลง (soluble starch) lab grade ยี่ห้อ MERCK ประเทศเยอรมนี
- โซเดียมคลอไรด์ lab grade ยี่ห้อ UNIVAR ประเทศนิวซีแลนด์
- สารละลายกรดไฮโดรคลอริก lab grade ยี่ห้อ FISHER CHEMICAL ประเทศอังกฤษ
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ lab grade ยี่ห้อ MERCK ประเทศเยอรมนี
- ไดโพแทสเซียมไฮโดรฟอสเฟต lab grade ยี่ห้อ UNIVAR ประเทศนิวซีแลนด์
- โซเดียมอะซิเตท lab grade ยี่ห้อ UNIVAR ประเทศนิวซีแลนด์

- แอมโมเนียมซิเตรท lab grade ยี่ห้อ FLUKA ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
- ยีสต์สกัด lab grade ยี่ห้อ HI MEDIA ประเทศอินเดีย
- โพแทสเซียมไดไฮโดรฟอสเฟต lab grade ยี่ห้อ UNIVAR ประเทศนิวซีแลนด์
- โพลีซอร์เบท (tween 80) lab grade ยี่ห้อ MERCK ประเทศเยอรมนี
- เปปโตน lab grade ยี่ห้อ MERCK ประเทศเยอรมนี

3.3 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

- *L. plantarum* FT35 ที่คัดแยกจากผลิตภัณฑ์ปลาส้ม จากงานวิจัยของ จริยา เลิศนที, รัชพันธ์ เจริญไทยพานิช และ สิริธร รุจิเกียรติขจร (2551)
- *Escherichia coli* ATCC 25922 จากห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- *Salmonella* Typhimurium ATCC 13311 จากห้องปฏิบัติการวิจัยและทดสอบอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การเก็บรักษาจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง โดย ใช้เข็มเขี่ยเชื้อ *L. plantarum* FT35 นำมา streak บนอาหารวุ้นเอียง MRS ที่มี $CaCO_3$ 0.5% บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C โดย subculture จุลินทรีย์ทุก 2 สัปดาห์เพื่อใช้ใน ระหว่างการทดลอง และเก็บรักษาจุลินทรีย์ใน glycerol stock เพื่อเก็บรักษาสายพันธุ์จุลินทรีย์

3.4 การศึกษาลักษณะของ *L. plantarum* FT35

3.4.1 ความสามารถในการยับยั้งเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 และ *S.* Typhimurium ATCC 13311

3.4.1.1 การเตรียมสารละลายส่วนใสของแลคติกแอซิดแบคทีเรีย

เขี่ย *L. plantarum* FT35 ลงในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 10 ml บ่มที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำแต่ละตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงโดยเครื่อง centrifuge ปั่นเหวี่ยงด้วยแรง 7500 rpm (9400xg) ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 5 นาที เก็บเฉพาะส่วนใส (supernatant) ที่แบคทีเรียสร้างขึ้น จากนั้น กรอง และ ทำให้สภาวะเป็นกลางในช่วง 6.5-7.0 โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มอลเพื่อใช้ในการทดสอบข้อ 3.4.4.2

3.4.1.2 การเตรียมเชื้อทดสอบ *E.coli* ATCC 25922 และ *S.* Typhimurium ATCC 13311

เพาะเลี้ยง *E. coli* ATCC 25922 และ *S.* Typhimurium ATCC 13311 ในอาหารเหลว (NB) ปริมาตร 10 ml บ่มที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นปิเปต *E. coli* ATCC 25922 และ *S.* Typhimurium ATCC 13311 ปริมาตร 0.1 ml ลงในอาหารวุ้น (PCA) ด้วยวิธี spread plate วางแผ่น paper disc ปลอดเชื้อ จำนวน 3 แผ่น ลงบนผิวหน้าอาหาร หยด culture supernatant ของเชื้อแลคติกแอสิดแบคทีเรีย ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงบนแผ่น paper disc ปลอดเชื้อ แผ่นที่ 1 ส่วน paper disc ปลอดเชื้อ แผ่นที่ 2 และแผ่นที่ 3 หยดน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อ และหยด MRS broth ตามลำดับ เพื่อใช้เป็น control นำไปบ่มที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกต inhibition zone ที่เกิดขึ้นรอบๆ แผ่น paper disc (ดัดแปลงจากงานวิจัยของวรายุทธ สุระนรากุล, 2007)

3.5 ศึกษา glass transition temperature (Tg) ของสารป้องกันเซลล์ที่เหมาะสมในการทำแห้งแบบพ่นฝอย

3.5.1 ศึกษา Tg ของสารป้องกันเซลล์

กลูโคส ซูโครส แลกโตส มอลโตเด็กซ์ทริน และแป้งดัดแปลง (soluble starch) ถูกนำมาวิเคราะห์ โดย differential scanning calorimeter (DSC) ตามวิธีของ Ananta และคณะ (2005) โดยนำตัวอย่าง 10-20 มิลลิกรัม บรรจุลงใน aluminum pan ส่วน reference pan (ไม่ใส่ตัวอย่าง) จากนั้นนำไปใส่ในเครื่อง DSC โดยให้ความร้อนด้วยอัตราเร็ว 20 °C/นาที จนมีอุณหภูมิถึง 150 °C (เพื่อกำจัดความชื้นออกจากตัวอย่าง) หลังจากนั้นลดอุณหภูมิอย่างรวดเร็ว จนมีอุณหภูมิเท่ากับ -30°C ด้วยไนโตรเจนเหลว (first scan) และให้ความร้อนอีกครั้งด้วยอัตราเร็ว 20 °C/นาที จนมีอุณหภูมิเท่ากับ 150 °C (second scan) ซึ่ง Tg ของสารป้องกันเซลล์ จะแสดงโดยกราฟ thermogram ของเครื่อง DSC

3.6 การเตรียมสารป้องกันเซลล์ในการทำแห้งแบบพ่นฝอย

3.6.1 การเตรียมสารละลายสารป้องกันเซลล์

เตรียมสารป้องกันเซลล์ คือ กลูโคส ซูโครส แลกโตส ที่ระดับความเข้มข้น 20% มอลโตเด็กซ์ทริน 10% และแป้งดัดแปลง (soluble starch) 2.5% วัดค่าความหนืดโดยใช้ cannon capillary viscometer ขนาด 75 A442 ที่อุณหภูมิ 25°C ดัดแปลงจากงานวิจัยของ Boza และคณะ

(2004) จากนั้นปล่อยให้ตัวอย่างไหลอย่างอิสระภายใต้แรงดึงดูดของโลกผ่านหลอดแก้วเล็ก ๆ โดยเริ่มจับเวลาเมื่อส่วนบน (head level) ของสารตัวอย่างไหลถึงจุดจับเวลาจุดแรก (start mark) และหยุดเมื่อถึงจุดจับเวลาจุดที่สอง (stop mark) นำเวลาที่ได้ไปคำนวณหาค่าความหนืดของสารป้องกันเซลล์ (ภาคผนวก ก- 5) โดยควบคุมความหนืดของสารป้องกันเซลล์ให้ มีค่าเท่ากัน ซึ่งความหนืดของสารป้องกันเซลล์อยู่ในช่วง 1.6-1.7 Cp

3.7 ศึกษาสารป้องกันเซลล์ที่เหมาะสมในการทำแห้งแบบพ่นฝอย

3.7.1 การเตรียมเซลล์จุลินทรีย์

เพาะเลี้ยง *L. plantarum* FT35 ที่ได้คัดแยกจากผลิตภัณฑ์ปลาส้ม ซึ่งเก็บรักษาในอาหารวุ้นเอียง MRS ที่มี $CaCO_3$ 0.5% ในอาหารน้ำมะพร้าวที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาตร 10 มิลลิลิตร (ส่วนประกอบอาหารสูตรน้ำมะพร้าวที่ได้จากงานวิจัยของ เพิ่มพงษ์ ศรีประเสริฐศักดิ์ (2542) (แสดงไว้ในภาคผนวก ข -3) จากนั้นบ่มที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปิเปต *L. plantarum* FT35 ปริมาณ 2% (w/v) ลงในสูตรอาหารน้ำมะพร้าวปริมาตร 100 มิลลิลิตร บ่มที่ 37°C เป็นเวลา 16 ชั่วโมง จนแบคทีเรียเจริญถึงระยะ exponential phase จากนั้นนำ *L. plantarum* FT35 2% ถ่ายลงสูตรอาหารน้ำมะพร้าวที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 3 ลิตร หมักในถังหมัก (fermenter) ขนาด 5 ลิตร ที่อุณหภูมิ 37°C ควบคุมความเร็วใบพัดกวน 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 ชั่วโมง จนแลคติกแอซิดแบคทีเรียเจริญถึงระยะ stationary phase และนับจำนวนเซลล์จุลินทรีย์บนอาหาร MRS ด้วยวิธี spread plate จากนั้นทำการถ่ายเชื้อลงหลอด centrifuge เพื่อนำไปเหวี่ยงแยกเซลล์ที่ควบคุมอุณหภูมิ 4°C ปั่นเหวี่ยงด้วยแรง 7500 rpm (9400xg) เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นล้างเซลล์ด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์พีเอช 7 โดยกำหนดความเข้มข้นของเซลล์ total solid 6% ตามวิธีของ Lian และคณะ (2002) ไปใช้ในการทดลองข้อ 3.7.2 และ 3.8 ต่อไป

3.7.2 การทำแห้งแบบพ่นฝอยของ *L. plantarum* FT35

เตรียมสารป้องกันเซลล์ จากข้อ 3.6.1 แล้วเติม cell paste ของ *L. plantarum* FT35 จากข้อ 3.7.1 ปรับให้สารละลายนี้ มีเซลล์เริ่มต้นประมาณ 10^{10}-10^{11} CFU/ml ผสมให้เข้ากันโดยใช้ magnetic stirrer จากนั้นป้อนตัวอย่างเข้าเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยควบคุมภาวะอุณหภูมิลมเข้า 185°C และอุณหภูมิลมออก 85$\pm$ 5°C อัตราการป้อน 20 ml/min (ดัดแปลงจากวิธีของ Gardiner

และคณะ, 2000) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ หลังจากได้ผลิตภัณฑ์ผงแต่ละตัวอย่าง นำผลิตภัณฑ์ผงเชื้อที่ได้ไปนับจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตบนอาหารวุ้น MRS ด้วยวิธี spread plate และตรวจนับจำนวนเซลล์บาดเจ็บ บนอาหารวุ้น MRS ที่มีการเติม 5% NaCl (ภาคผนวก ก -3) ตามวิธีของ Sunny-Roberts, Ananta และ Knorr (2007) จากนั้นนำอนุภาคผงไปวัดค่าความชื้น (ภาคผนวก ก-1) water activity (a_w) (ภาคผนวก ก -7) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test

3.7.3 ศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงหลังการทำแห้งแบบพ่นฝอย

นำผลิตภัณฑ์ผงที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย จากข้อ 3.7.2 บรรจุในถุง laminate aluminium foil แบบภาวะสุญญากาศ มาศึกษาอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30-35°C) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ นับจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตในแต่ละสัปดาห์ โดยวิธี spread plate บนอาหารวุ้น MRS บ่มที่ 37°C เวลา 48 ชั่วโมง นับเซลล์แสดงในรูปแบบ CFU/g และรายงานการรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35 หลังการเก็บรักษาเป็น log CFU/g และนำผลิตภัณฑ์ผงไปวัดค่าความชื้น (moisture content) (ภาคผนวก ก-1) water activity (a_w) (ภาคผนวก ก-7) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ที่ความเชื่อมั่น 95% และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test

เลือกสารป้องกันเซลล์ที่มี Tg ที่เหมาะสมโดยประเมินจากข้อมูลที่ได้ทำการตรวจสอบในข้อ 3.7.2-3.7.3 ต่อการรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35 สูงสุด เพื่อศึกษาในขั้นตอนต่อไป

3.8 ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการทำแห้งแบบพ่นฝอย *L. plantarum* FT35

3.8.1 ความเข้มข้นของสารป้องกันเซลล์ที่เหมาะสมในการทำแห้งแบบพ่นฝอย

นำสารป้องกันเซลล์ที่เลือกได้จากข้อ 3.7.2 และ 3.7.3 เพื่อศึกษาระดับความเข้มข้นของสารป้องกันเซลล์ โดยเตรียมแป้ง ดัดแปร (soluble starch) ที่ความเข้มข้น 1.5% 2.5% 3.5% 4.5% และ 10% และวัดค่าความหนืดของสารป้องกันเซลล์ เพื่อใช้เป็นสารป้องกันเซลล์ในการทำแห้ง *L. plantarum* FT35 จากนั้นเติม cell paste ของจุลินทรีย์จากข้อ 3.7.1 ซึ่งมีเซลล์เริ่มต้นอยู่ประมาณ

10^{10}-10^{11} CFU/g ผสมให้เข้ากันโดยใช้ magnetic stirrer จากนั้นป้อนตัวอย่างเข้าเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยควบคุมภาวะอุณหภูมิลมเข้า 185°C และอุณหภูมิลมออก 85 ± 5°C อัตราการป้อน 20 ml/min ตามวิธีของ Gardiner และคณะ (2000) หลังจากได้ผลิตภัณฑ์ผงแต่ละตัวอย่าง นำมาตรวจการรอดชีวิตของแลคติคแอซิดแบคทีเรีย และวัดปริมาณเซลล์บาดเจ็บหลังการทำแห้งแบบพ่น ตามวิธีข้อ 3.5.4 ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ที่ความเชื่อมั่น 95% และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test และศึกษาขนาดอนุภาคผงด้วยกล้อง จุลทรรศน์ (ภาคผนวก ก-9) โดยคัดเลือกความเข้มข้นที่เหมาะสมของแป้ง (soluble starch) ที่ทำให้ *L. plantarum* FT35 รอดชีวิตหลังการทำแห้งแบบพ่นฝอยสูงสุดเพื่อใช้ศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงในขั้นตอนต่อไป

3.8.2 ศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงหลังการทำแห้งแบบพ่นฝอย

นำผลิตภัณฑ์ผงที่ผ่านการคัดเลือกจากข้อ 3.8.1 มาศึกษาอายุการเก็บรักษา โดยนำผลิตภัณฑ์ผงที่บรรจุอยู่ในถุงลามิเนตซึ่งประกอบด้วยชั้น PP/PE/Alu/PE/LL ภาวะสุญญากาศเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C และอุณหภูมิห้อง (30-35°C) เป็นเวลา 8 สัปดาห์ นับจำนวนนับจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตในแต่ละสัปดาห์ โดยวิธี spread plate บนอาหารวุ้น MRS ที่เติม bromocresal purple เป็นอินดิเคเตอร์ บ่มที่ 37°C เวลา 48 ชั่วโมง นับเซลล์แสดงในรูปแบบ CFU/g และรายงานการรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35 หลังการเก็บรักษาเป็น log CFU/g และนำผลิตภัณฑ์ผงไปวัดค่าความชื้น (moisture content) (ภาคผนวก ก-1) water activity (a_w) (ภาคผนวก ก-1) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ที่ความเชื่อมั่น 95% และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test

3.9 ศึกษาประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ผงของ *L. plantarum* FT35 เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อหมักปลาส้ม

เลือกผลิตภัณฑ์ผงที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่มีอัตราการรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35 สูงสุดจากข้อ 3.8 และใช้เป็นหัวเชื้อผงในการหมักปลาส้ม โดยเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักปลาส้มที่ใช้หัวเชื้อสดและไม่ใส่หัวเชื้อ

3.9.1 การหมักปลาส้มแบบไม่ใส่หัวเชื้อ

ล้างปลาตะเพียนสดให้สะอาดแล้วแล่ให้เป็นชิ้น ผสมส่วนประกอบตามสูตรหมักปลาส้ม (ภาคผนวก ข-6) ให้เข้ากัน แล้วคลุกเคล้ากับปลาที่ได้ข้างต้น บรรจุลงในถุงพลาสติกแล้วปิดผนึกถุง จากนั้นนำถุงใส่ปลาส้มที่ผ่านการปิดผนึกถุงแล้วเก็บไว้ในอุณหภูมิห้อง (30-35°C) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เพื่อวิเคราะห์ผลทางเคมีและทางจุลชีววิทยา

3.9.2 การหมักปลาส้มแบบใส่หัวเชื้อสดของ *L. plantarum* FT35

ล้างปลาตะเพียนสดให้สะอาดแล้วแล่ให้เป็นชิ้น ผสมส่วนประกอบตามสูตรหมักปลาส้ม (ภาคผนวก ข-6) เติมหัวเชื้อสดของ *L. plantarum* FT35 ที่มีจำนวนเซลล์เท่ากับ 10^8 CFU/ ml จากนั้นนำปลามาคลุกเคล้ากับส่วนผสมที่ได้ข้างต้น บรรจุลงในถุงพลาสติกแล้วปิดผนึกถุง จากนั้นนำถุงใส่ปลาส้มที่ผ่านการปิดผนึกถุงแล้วเก็บไว้ในอุณหภูมิห้อง (30-35°C) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เพื่อวิเคราะห์ผลทางเคมีและทางจุลชีววิทยา

3.9.3 การหมักปลาส้มแบบใส่หัวเชื้อผงของ *L. plantarum* FT35

ล้างปลาตะเพียนสดให้สะอาดแล้วแล่ให้เป็นชิ้น ผสมส่วนประกอบตามสูตรหมักปลาส้ม (ภาคผนวก ข-6) เติมหัวเชื้อผงของ *L. plantarum* FT35 1 กรัม จากนั้นนำปลามาคลุกเคล้ากับส่วนผสมที่ได้ข้างต้น บรรจุลงในถุงพลาสติกแล้วปิดผนึกถุง จากนั้นนำถุงใส่ปลาส้มที่ผ่านการปิดผนึกถุงแล้วเก็บไว้ในอุณหภูมิห้อง (30-35°C) ทำการทดลอง 3 เพื่อวิเคราะห์ผลทางเคมีและทางจุลชีววิทยา

3.9.4 ศึกษาประสิทธิภาพของหัวเชื้อผงหลังการเก็บรักษา

หมักปลาส้มแบบใส่หัวเชื้อผงของ *L. plantarum* FT35 หลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C ระยะเวลา 4 และ 8 สัปดาห์ ตามวิธีข้อ 3.7.3 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ผงที่ใช้เป็นหัวเชื้อหมัก และการเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักปลาส้ม โดยวิเคราะห์ผลการหมักปลาส้มทางเคมีและทางจุลชีววิทยา ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เพื่อวิเคราะห์ผลทางเคมีและทางจุลชีววิทยา

3.9.5 การวิเคราะห์ผลการหมักปลาส้ม

3.9.5.1 การวิเคราะห์ผลการหมักปลาส้มทางเคมี

3.9.5.1.1 การวัดค่าความเป็นกรด- เบส (pH)

3.9.5.1.2 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (ภาคผนวก ก-4)

3.9.5.2 การวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

3.9.5.2.1 การตรวจหาปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (ภาคผนวก ข-1)

3.9.5.2.2 การตรวจหาแบคทีเรียแลคติก (ภาคผนวก ข-2)

3.9.5.2.3 การตรวจหาเชื้อ *Salmonella* (ภาคผนวก ข-3)

3.9.5.2.4 การตรวจหาเชื้อ *E. coli* (ภาคผนวก ข-4)

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ที่ความเชื่อมั่น 95% และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test

บทที่ 4

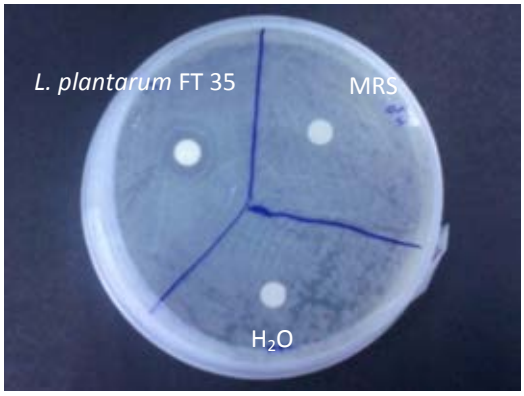
ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

4.1 ลักษณะของ *L. plantarum* FT35

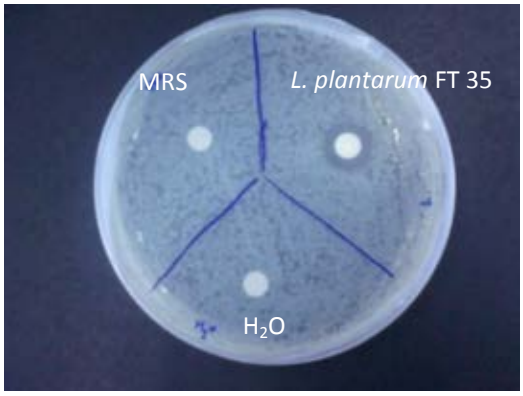
4.1.1 การสร้างสารของ *L. plantarum* FT 35 เพื่อยับยั้งเชื้อ *E. coli* ATCC 25922 และ *S.* Typhimurium ATCC 13311

การทดสอบนี้เพื่อศึกษาว่าสารที่เชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียผลิตขึ้น เป็นสารแบคเทอริโอซินที่สามารถฆ่าหรือยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคได้หรือไม่ Chen และคณะ (2003) รายงานว่าในผลิตภัณฑ์อาหารมัก พบจุลินทรีย์ก่อโรคเช่น *Escherichia coli* VTEC 0157 และ *Salmonella* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ก่อโรคปนเปื้อนอยู่ในผลิตภัณฑ์อาหาร ก่อให้เกิดโรคในมนุษย์และสัตว์ และเป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning) ทำให้เกิดอันตรายต่อการบริโภค การศึกษานี้จึงเลือกจุลินทรีย์ทดสอบคือ *E. coli* ATCC 25922 ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปแท่ง และ *S.* Typhimurium ATCC 13311 เป็นตัวแทนจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อทดสอบผลการสร้างสารยับยั้งของแลคติกแอซิดแบคทีเรียในการยับยั้งเชื้อทดสอบ โดยนำส่วนใสของอาหารเหลว MRS ที่มีเชื้อเจริญของ *L. plantarum* FT 35 บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มาทดสอบกับเชื้อ *E.coli* ATCC 25922 และ *S.* Typhimurium ATCC 13311 โดยนำ supernatant ที่ผ่านการกรอง และปรับพีเอชมาเติมเอนไซม์ catalase ถ้ายับยั้งได้ แสดงว่าการยับยั้งเกิดจากสารแบคทีริโอซิน (Farias, Holgado-Ruiz และ Sesma, 1995)

จากผลการทดลองพบว่าสารยับยั้งที่ *L. plantarum* FT 35 ผลิตขึ้นสามารถยับยั้งเชื้อทดสอบ *E. coli* ATCC 25922 และ *S.* Typhimurium ATCC 13311 ได้โดยสร้างสารชนิดแบคทีริโอซิน ภาพที่ 4.1 และ 4.2 ดังรายงานของ Farias และคณะ (1995) กล่าวว่าแบคเทอริโอซินเป็นสารโปรตีนที่มีความสามารถ ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้อย่างจำเพาะ โดยแบคเทอริโอซินจะไปยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีบริเวณรับจำเพาะ (specific receptor) ต่อแบคเทอริโอซินเท่านั้น จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า แบคทีริโอซินสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคได้



ภาพที่ 4.1 แสดงบริเวณยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค *E. coli* ATCC 25922

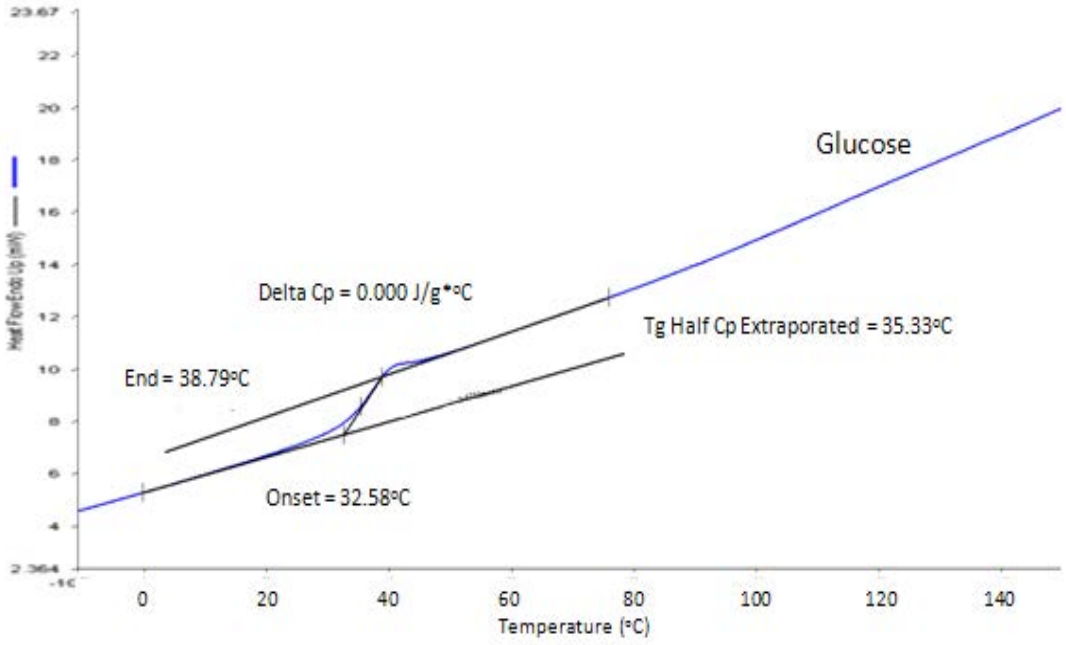


ภาพที่ 4.2 แสดงบริเวณยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค *S.* Typhimurium ATCC 13311

4.2 Glass transition temperature ของสารป้องกันเซลล์กลุ่มคาร์โบไฮเดรต

การวัด Tg ของสารป้องกันเซลล์ โดยใช้ differential scanning calorimeter (DSC) โดยพบว่าเมื่อให้ความร้อนแก่สาร การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นอันดับแรกเป็นแบบดูดความร้อนคือที่อุณหภูมิเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature, Tg) เกิดขึ้นเนื่องจากความจุความร้อนที่เพิ่มขึ้น และเป็นจุดเริ่มต้นของการเคลื่อนที่ในส่วนที่เป็นอสัณฐานของสารที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนสถานะของแข็งคล้ายแก้ว (glassy state) ไปเป็นสถานะคล้ายยาง (rubbery state) เมื่อให้ความร้อนจนสูงกว่า melting point temperature (Tm) จะทำให้สายโซ่สามารถไหลได้จนหลอมเหลว ซึ่งมีความหนืดสูง เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาระหว่างสายโซ่ที่สัมผัส กันในขณะที่เกิดการไหล และเมื่อลดอุณหภูมิลงอย่างรวดเร็วสารจะจับตัวกันเกิดเป็นผลึกที่จุด Tc (crystalline temperature) ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงแบบคายความร้อน (Bhadeshia, 2000)

Tg ขึ้นอยู่กับอัตราการให้ความร้อนและข้อมูลสมบัติทางความร้อน รวมทั้งตัวแปรต่างๆ ของโมเลกุลที่มีผลต่อความสามารถในการต้านทานความร้อนของสารแต่ละชนิด ตัวอย่างดังภาพที่ 4.3 เป็น thermograms แสดงค่า Tg ของ glucose ที่วัดโดยเครื่อง differential scanning calorimeter (DSC) และผลของค่า Tg สารป้องกันเซลล์กลุ่มคาร์โบไฮเดรตที่นำมาใช้ในการทดลอง แสดงดังตารางที่ 4.1 และภาคผนวก ค



ภาพที่ 4.3 thermograms แสดงค่า Tg ของ glucose

ตารางที่ 4.1 ผลของค่า Tg สารป้องกันเซลล์กลุ่มคาร์โบไฮเดรตที่นำมาใช้ในการทดลองนี้

Protective agent	**Glass transition temperature (Tg)**
glucose	35.33 ±1.50 °C
sucrose	75.13±0.95 °C
lactose	119.34 ±1.21 °C
maltodextrin DE10	160.00±1.05 °C [a]
soluble starch	241.80±1.05 °C

[a]เป็นค่าที่อ้างอิงมาจาก Roos (1993)

จากการทดลองวัดอุณหภูมิ Tg ของสารป้องกันเซลล์กลุ่มคาร์โบไฮเดรต เช่น glucose sucrose lactose และ soluble starch โดยใช้ differential scanning calorimeter (DSC) พบว่าสารป้องกันเซลล์แต่ละชนิดมีอุณหภูมิ Tg ที่แตกต่างกัน ซึ่งมีความสัมพันธ์กับสมบัติทางความร้อนของสาร และเมื่อเปรียบเทียบอุณหภูมิ Tg ของสารป้องกันเซลล์ที่วัดได้กับงานวิจัยของ Bhandari และคณะ (1997) พบว่าอุณหภูมิ Tg ของสารป้องกันเซลล์ glucose sucrose lactose maltodextrin DE 10 และ soluble starch มีค่าใกล้เคียงกัน งานวิจัยนี้มีการอ้างอิงอุณหภูมิ Tg ของ maltodextrin DE 10 จากงานวิจัยของ Roos (1993) เนื่องจากไม่สามารถวัด Tg ของ maltodextrin DE 10 อาจมีสาเหตุจาก maltodextrin DE 10 ที่นำมาใช้เป็นแบบ food grade ทำให้พีคแสดงการเปลี่ยนแปลงความร้อนของสาร (thermogram) มีหลายพีคจึงทำให้ไม่สามารถวัดอุณหภูมิ Tg ได้ โดยสารป้องกันเซลล์ glucose sucrose lactose และ soluble starch ที่นำมาใช้ในการวัด Tg ของสารป้องกันเซลล์ในงานวิจัยนี้เป็นแบบ analytical grade

4.3 สารป้องกันเซลล์ที่มีผลต่อการรอดชีวิตของ *L.plantarum* FT35 ระหว่างทำแห้งแบบพ่นฝอย

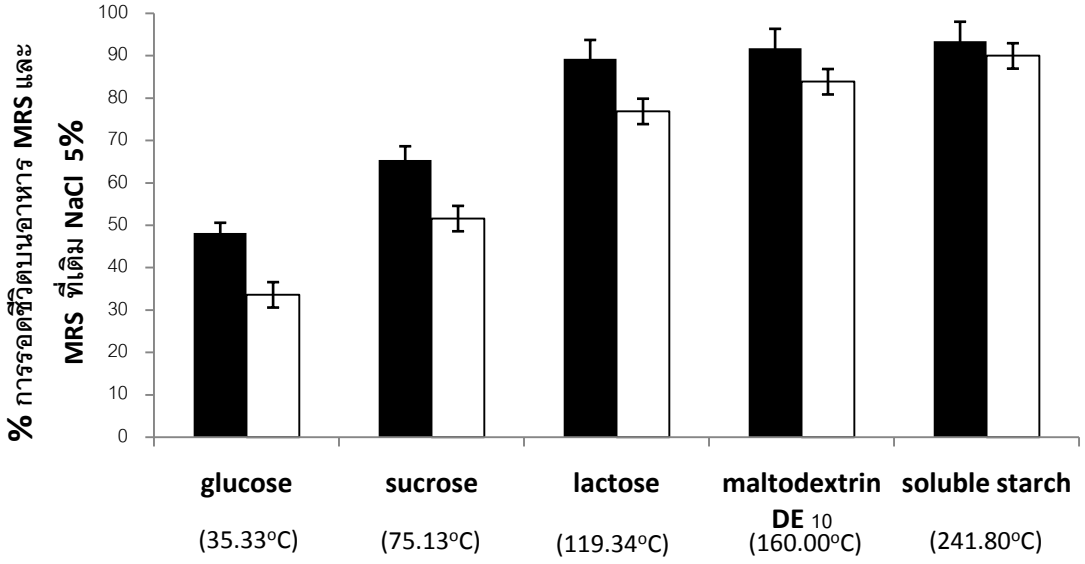
เนื่องจากการทำแห้งแบบพ่นฝอย เชื้อจะต้องผ่านกระบวนการที่มีอุณหภูมิสูงเข้ามาเกี่ยวข้อง มีผลทำให้เซลล์ที่มีชีวิตลดลงในระหว่างการทำแห้ง ซึ่งเกิดจากเซลล์เกิดความเสียหายที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ ปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการรอดชีวิตของเซลล์จุลินทรีย์ในระหว่างการทำแห้งแบบพ่นฝอย คือ สารป้องกันเซลล์ (Desmond และคณะ, 2002) แต่พบว่า ประสิทธิภาพของสารป้องกันเซลล์แต่ละชนิดมีความสามารถในการปกป้องเซลล์แตกต่างกันขึ้นอยู่กับสมบัติทางความร้อนของสาร คือ Tg (Sinha และ Ranganathan, 1974) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกศึกษา Tg ของสารป้องกันเซลล์กลุ่มคาร์โบไฮเดรตที่เหมาะสมต่อการรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35 ด้วยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย นอกจากนี้ยังพบว่าระดับความเข้มข้นของสารป้องกันเซลล์มีความสัมพันธ์กับการอดชีวิตของเซลล์จุลินทรีย์ ตามรายงานของ Ananta และคณะ (2005) ที่แสดงให้เห็นว่าการใช้นมผงปราศจากไขมันเป็นสารป้องกันเซลล์ที่ระดับความเข้มข้น 20% ทำให้การรอดชีวิตของ *L. rhamnosus* GG สูงสุด และงานวิจัยของวรรณธิชา ลาภศิริ และศรีเวียง ทิพกานนท์ (2549) พบว่า ระดับความเข้มข้นของสารป้องกันเซลล์ที่เหมาะสมในการทำแห้ง *L. plantarum* เมื่อใช้ maltodextrin DE 20 เป็นสารป้องกัน เซลล์ คือ ระดับความเข้มข้น 20% ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกศึกษาที่ระดับความเข้มข้นของสารป้องกันเซลล์ที่ระดับ 20% และควบคุมค่าความหนืดของสารป้องกันเซลล์ให้อยู่ในช่วงที่เท่ากัน คือ 1.6-1.7 cp

จากการทดลอง ดังแสดงในรูปที่ 4.4 พบว่า เมื่อใช้สารป้องกันเซลล์ glucose, sucrose, lactose , maltodextrin DE 10 และ soluble starch โดยมีอุณหภูมิ glass transition temperature (Tg) เท่ากับ 35.33°C, 75.13°C, 119.34°C , 160°C และ 243°C ตามลำดับในการปกป้องเซลล์ *L.plantarum* FT 35ในการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยกำหนดอุณหภูมิลมเข้า 185°C อัตราการป้อน 20 ml/นาที อุณหภูมิลมออก 85±5 °C พบว่า อัตราการรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT 35 เท่ากับ 48.2%±0.35, 65.4%±0.37, 89.3%±1.55, 91.8%±0.97 และ 93.4% ±0.84 ตามลำดับ และเมื่อตรวจนับเซลล์ที่รอดชีวิตบนอาหารแข็ง MRS ที่เติมเกลือ 5% NaCl พบว่ามีจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของ *L. plantarum* FT35 ลดลง Santivarangkna และคณะ (2008) รายงานว่า ความร้อนในระหว่างการทำแห้งทำให้เกิดความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งสามารถ ทดสอบความเสียหายของเยื่อหุ้มเซลล์หลังการทำแห้ง โดยการเติมเกลือในอาหารเลี้ยงเชื้อ เพราะหากเซลล์มีการบาดเจ็บบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์จะไม่สามารถเจริญบนอาหารแข็ง MRS ที่มีเติมเกลือได้ จึงเป็นสาเหตุทำให้จำนวนการรอดชีวิตของเซลล์จุลินทรีย์ลดลง (Robert และ Knorr, 2009)

จากการทดลองพบว่า สารป้องกันเซลล์ที่มี Tg สูงขึ้น มีผลทำให้การรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35 เพิ่มขึ้นตามลำดับ และพบว่าสารป้องกันเซลล์ที่มี Tg สูงสามารถปกป้องเซลล์จุลินทรีย์ในระหว่างการทำแห้งได้ดีกว่าสารป้องกันเซลล์ที่มี Tg ต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณเซลล์บาดเจ็บหลังการทำแห้ง (ภาพที่ 4.5) โดย พบว่า สารป้องกันเซลล์ที่มีอุณหภูมิ Tg ต่ำคือ glucose (Tg 35.33°C) และ sucrose (75.13°C) มีการรอดชีวิตของเซลล์จุลินทรีย์ ต่ำที่สุด อาจมีสาเหตุ จากสาร มีความสามารถในการทน ความร้อน ต่ำ จึง ไม่สามารถแทนที่โมเลกุลของน้ำในระหว่างการทำแห้ง ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ ส่งผลทำให้การรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT 35 ลดลงในระหว่างการทำแห้ง นอกจากนี้ Oldenhof, Akin และ Ozer (2005) รายงานว่า การใช้ sucrose เป็นสารป้องกันเซลล์ *L. bulgaricus* ในการทำแห้งแบบพ่นฝอย พบว่า sucrose ไม่สามารถป้องกันการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ จึงทำให้เซลล์ *L. bulgaricus* ลดลงในระหว่างการทำแห้ง

จากการทดลองใช้ lactose (Tg 119.34°C), maltodextrin DE 10 (Tg 160°C) และ soluble starch (Tg 243°C) เป็นสารป้องกันเซลล์ พบว่า อัตราการรอดชีวิตของเซลล์หลังการทำแห้ง เพิ่มสูงขึ้นตามลำดับ Linders และคณะ (1997) รายงานว่า สารป้องกันเซลล์กลุ่มไดแซ็กคาร์ไรด์ เช่น sucrose และ lactose สามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนกับโปรตีนเมื่อโมเลกุลของน้ำเคลื่อนที่ออกจากเซลล์และมีความสัมพันธ์กับ polar headgroup ของ phospholipid แต่พบว่าเมื่อทดลองใช้ sucrose เป็นสารป้องกันเซลล์ทำให้การรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35 ลดลงมากกว่าใช้ lactose เป็นสารป้องกันเซลล์ อาจมีสาเหตุมาจาก Tg ของสารป้องกันเซลล์แตกต่างกัน ซึ่งพบว่า lactose มีTg ของ

สารป้องกันเซลล์สูงกว่า sucrose จึงทำให้ *L. plantarum* FT35 สามารถทนต่อความร้อนได้ดีกว่า จึงทำให้การรอดชีวิตของจุลินทรีย์สูง นอกจากนี้ พบว่า maltodextrin DE 10 และ soluble starch เป็นสารประเภทโพลิแซ็คคาไรด์สามารถสร้างพันธะกับโปรตีนทำให้เกิดโครงสร้างร่างแห มีผลทำให้โครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์มีความเสถียรและไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการทำแห้ง (Morgan และคณะ, 2006) ทำให้การทำแห้งแบบพ่นฝอย *L. plantarum* FT 35 รอดชีวิตมากกว่า 90% จึงทำให้ Tg ของสารป้องกันเซลล์สามารถบ่งชี้ถึงประสิทธิภาพในการปกป้องเซลล์จุลินทรีย์ในการทำแห้ง ได้ (Leslie และคณะ, 1995)



ภาพที่ 4.4 การเปรียบเทียบการรอดชีวิต บนอาหาร MRS ■ และ MRS ที่เติม NaCl 5% □ ของ *L. plantarum* FT35 หลังการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่มี Tg ต่างๆ ของสารป้องกันเซลล์

ตารางที่ 4.3 แสดงการเปรียบเทียบการรอดชีวิตเซลล์ และเซลล์บาดเจ็บโดยใช้สารป้องกันเซลล์ที่มี glass transition temperature (Tg) ที่แตกต่างกันในการทำแห้งแบบพ่นฝอย *L. plantarum* FT35 จากการทดลอง วัดปริมาณเซลล์บาดเจ็บหลังการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยเติม 5% NaCl ตามวิธีของ Sunny-Roberts และคณะ (2007) พบว่า ปริมาณเซลล์ที่รอดชีวิตลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับเซลล์ที่รอดชีวิตที่เจริญในอาหารที่ไม่เติมเกลือ โดยพบว่า glucose มีเซลล์บาดเจ็บ หลังการทำแห้งแบบพ่นฝอยสูงสุด คือ 1.658$\pm$0.12 log CFU/g จำนวนเซลล์รอดชีวิตลดลงเหลือ 36.1% และ soluble starch เซลล์บาดเจ็บต่ำที่สุด คือ 0.449$\pm$0.22 log CFU/g จำนวนเซลล์รอดชีวิตเท่ากับ 90.1% ซึ่งพบว่าสารป้องเซลล์ที่มี glass transition temperature (Tg) สูงสุด มีจำนวนเซลล์บาดเจ็บ

หลังการทำแห้งต่ำ แสดงดังตารางที่ 4.3 โดยอุณหภูมิ Tg ของสารป้องกันเซลล์บ่งชี้ถึงประสิทธิภาพของสารป้องกันเซลล์ ที่สามารถป้องกันการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเยื่อหุ้มเซลล์ในระหว่างการทำแห้ง (Santivarangkna และคณะ, 2008)

ตารางที่ 4.2 จำนวนเซลล์และสมบัติของผลิตภัณฑ์ของ *L. plantarum* FT35 และสารป้องกันเซลล์ที่มี glass transition temperature (Tg) ที่แตกต่างกันหลังการทำแห้งแบบพ่น ฝอย เมื่อเจริญบนอาหาร MRS และ MRS ที่มีการเติมเกลือ 5% NaCl

สารป้องกันเซลล์	ความหนืดสารป้องกันเซลล์ ^{ns} (cp)	การรอดชีวิต log CFU/g	เซลล์บาดเจ็บ[(1)] log CFU/g	ความชื้นผลิตภัณฑ์ผง (%)	water activity ของผลิตภัณฑ์ผง (a_w)
glucose (Tg = 35.33°C)	1.69±0.09	5.49^{a}±0.35	1.65^{a}±0.12	4.51^{a}±0.06	0.39^{a}±0.01
sucrose (Tg = 75.13°C)	1.68±0.05	7.46^{b}±0.37	1.56^{b}±0.14	3.53^{b}±0.04	0.32^{b}±0.02
lactose (Tg = 119.34°C)	1.70±0.04	10.20^{c}±0.25	1.42^{c}±0.23	2.75^{c}±0.09	0.22^{c}±0.01
maltodextrin DE 10 (Tg = 160°C)	1.75±0.08	10.48^{c}±0.23	0.90^{d}±0.31	2.61^{c}±0.05	0.21^{c}±0.02
soluble starch (Tg = 241.8°C)	1.74±0.07	10.65^{c}±0.31	0.38^{e}±0.22	2.52^{c}±0.08	0.21^{c}±0.01

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

ตัวอักษร ns ในคอลัมน์เดียวกันหมายความว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

(1) เซลล์บาดเจ็บคำนวณได้จากจำนวนเซลล์ที่เจริญบน MRS – จำนวนเซลล์ที่เจริญบน MRS+ 5% NaCl

4.4 ศึกษาอายุการเก็บรักษา *L. plantarum* ผงหลังการทำแห้งแบบพ่นฝอย

นำ *L. plantarum* ผงที่ผ่านการทำแห้ง โดยใช้สารป้องกันเซลล์ คือ glucose, sucrose, lactose, maltodextrin DE 10 และ soluble starch ที่ได้จากการทดลองที่ 4.3 มาศึกษาอายุการเก็บรักษาในถุงลามิเนต ที่อุณหภูมิห้อง (30-35^{o}C) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยเปรียบเทียบการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ ความชื้นและค่า a_w

การรอดชีวิตของ *L. plantarum* ผงที่อุณหภูมิห้อง (30-35^{o}C) แสดงดังภาพที่ 4.5 พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงนานขึ้นการรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35 มีแนวโน้มลดลง โดยพบว่า เมื่อใช้ glucose (Tg 35.33^{o}C) และ sucrose (Tg 75.13^{o}C) เป็นสารป้องกันเซลล์ เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงถึงสัปดาห์ที่ 4 มีจำนวน เชื้อเหลือ 3.08$\pm$1.25 log CFU/g และ 3.81$\pm$0.98 log CFU/g ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) โดย การรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35 ลดลงมากกว่าผลิตภัณฑ์ผงที่ใช้ lactose (Tg 119.34^{o}C), maltodextrin DE 10 (Tg 160^{o}C) และ soluble starch (Tg 243^{o}C) เป็นสารป้องกันเซลล์ เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงถึงสัปดาห์ที่ 4 มีเชื้อเหลือ 8.0$\pm$0.21 log CFU/g , 8.33$\pm$0.50 log CFU/g และ 9.12$\pm$0.18 log CFU/g ตามลำดับ ทั้งนี้สารป้องกันเซลล์ lactose (Tg 119.34^{o}C) maltodextrin DE 10 (Tg 160^{o}C) และ soluble starch (Tg 243^{o}C) ให้การรอดชีวิตของ *L. plantarum* หลังการเก็บรักษาสูงกว่าระดับมาตรฐานที่อุตสาหกรรมยอมรับคือ ควรสูงกว่า 5 log CFU/g (WHO/FAO, 2002) และพบว่าการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงที่ใช้ soluble starch (Tg 243^{o}C) เป็นสารป้องกันเซลล์ ที่อุณหภูมิห้อง (30-35^{o}C) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ให้ผลการรอดชีวิตสูงที่สุด จากการทดลองพบว่าสารป้องกันเซลล์แต่ละชนิดให้การรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT 35 หลังการเก็บรักษาแตกต่างกัน อาจมีสาเหตุจากเซลล์ได้รับบาดเจ็บ ในระหว่างการทำแห้ง ทำให้เซลล์ที่มีชีวิตมีจำนวนลดลง ในระยะเวลาการเก็บรักษา จากการทดลองพบว่าปริมาณเซลล์บาดเจ็บมีความสัมพันธ์กับปริมาณเซลล์ที่รอดชีวิตในระหว่างการเก็บรักษา โดย glucose มีปริมาณเซลล์บาดเจ็บสูงที่สุด เท่ากับ 1.65 $\pm$ 0.12 log CFU/g และ sucrose มีปริมาณเซลล์บาดเจ็บรองลงมาเท่ากับ 1.56 $\pm$ 0.14 log CFU/g ส่งผลทำให้จำนวนการรอดชีวิตของเซลล์จุลินทรีย์ หลังการเก็บรักษา เป็นเวลา 4 สัปดาห์ต่ำที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับ soluble starch (Tg 243^{o}C) ที่มีปริมาณเซลล์บาดเจ็บต่ำสุดระหว่างการทำแห้ง เท่ากับ 0.38 $\pm$ 0.22 log CFU/g มีผลทำให้เซลล์รอดชีวิตสูงสุดหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30-35^{o}C) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ Teixeira และคณะ (1995) พบว่า การลดลงของจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของ *L. delbrueckii* ssp ในระหว่างการเก็บรักษา อาจเกิดจากการบาดเจ็บของเยื่อหุ้มเซลล์ จุลินทรีย์ และ DNA ในระหว่างการทำแห้ง

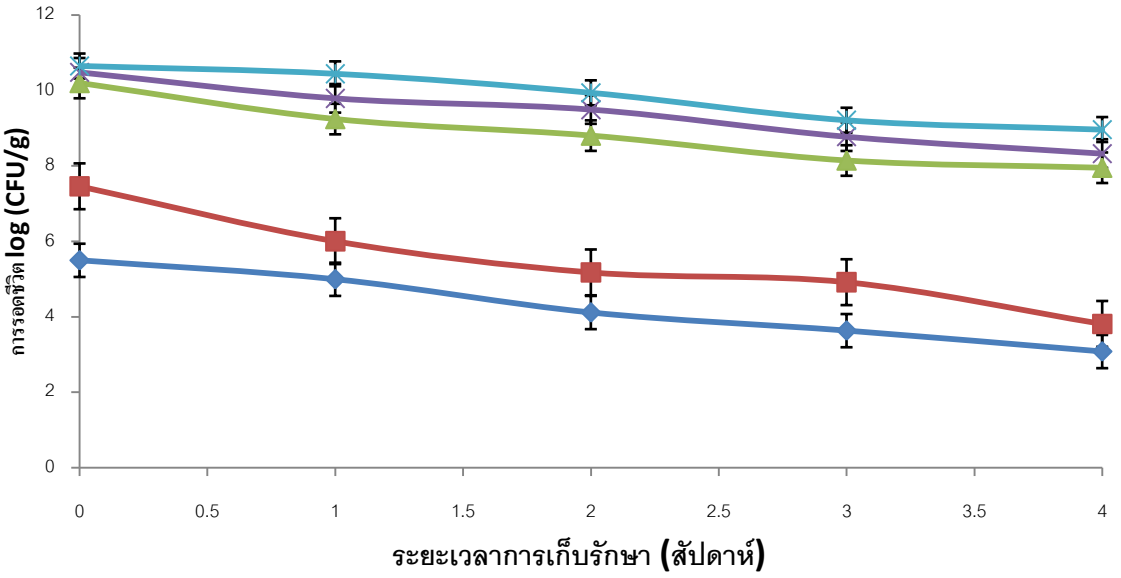
ค่าความชื้นของผลิตภัณฑ์ผงเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30-35°C) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แสดงดังภาพ 4.7 พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงนานขึ้นความชื้นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยที่ผลิตภัณฑ์ผงที่ใช้สารป้องกันเซลล์ คือ glucose, sucrose, lactose, maltodextrin DE10 และ soluble starch มีความชื้นเริ่มต้น 4.51±0.06%, 3.53±0.04%, 2.75±0.09%, 2.61±0.05% และ 2.52±0.08% ตามลำดับ เมื่อเก็บรักษาถึงสัปดาห์ที่ 4 พบว่ามีความชื้นเพิ่มขึ้น 5.34±0.02%, 5.09±0.01%, 3.57±0.03%, 3.39±0.04% และ 3.21±0.01% ตามลำดับ ซึ่งพบว่าเมื่อใช้ glucose และ sucrose เป็นสารป้องกันเซลล์ทำให้ผลิตภัณฑ์ผงมีปริมาณความชื้นสูงในระหว่างการเก็บ รักษา ซึ่งอาจมีสาเหตุมาจาก สาร ป้องกันเซลล์มีคุณสมบัติดูดความชื้นหรือ (hygroscopicity) โดยน้ำตาลทราย (sucrose) มีสมบัติดูดความชื้น และมีรายงานว่า ถ้าบรรยากาศมีความชื้นสัมพัทธ์ (relative humidity) มากกว่าร้อยละ75 สารจะดูดความชื้นได้เร็วและจับตัวกันเป็นก้อน ซึ่งน้ำตาลแต่ละชนิดมีความสามารถในการดูดความชื้นแตกต่างกัน โดยพบว่า fructose ดูดความชื้นได้ดีมาก รองลงมา glucose, sucrose, maltose และ lactose ตามลำดับ (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2549) ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์ผงที่เพิ่มขึ้นโดยพบว่า glucose > sucrose > lactose ตามลำดับ Boza และคณะ (2004) รายงานว่า ปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์ผงไม่ ควรเกิน 4% โดยพบว่าผลิตภัณฑ์ผงที่ใช้ lactose maltodextrin DE10และ soluble starch เป็นสารป้องกันเซลล์ มีปริมาณความชื้นต่ำกว่า 4% จากการทดลองพบว่า สารป้องกันเซลล์แต่ละชนิดมีคุณสมบัติแตกต่างกันทั้งทางด้านกายภาพและเคมี จึงอาจเป็นสาเหตุที่ทำให้ผลิตภัณฑ์ผงหลังการเก็บรักษามีปริมาณความชื้นที่แตกต่างกันแม้เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในสภาวะเดียวกัน

จากการทดลองพบว่าปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์ผงในระหว่างการเก็บรักษามีความสัมพันธ์กับค่า water activity โดยเมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงที่ อุณหภูมิห้อง (30-35°C) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ (แสดงดังภาพที่ 4.6) พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงนานขึ้นค่า a_w มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยผลิตภัณฑ์ผงที่ที่ประกอบด้วยสารป้องกันเซลล์ คือ glucose, sucrose, lactose, maltodextrin DE 10 และ soluble starch มีค่า a_w เริ่มต้น 0.39±0.01, 0.32±0.02, 0.22±0.01, 0.21±0.02 และ 0.21±0.01 ตามลำดับ เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงถึงสัปดาห์ที่ 4 อุณหภูมิห้อง (30-35°C) มีค่า a_w เพิ่มขึ้นเป็น 0.59±0.03, 0.56±0.02, 0.39±0.01, 0.36±0.03 และ 0.34±0.02 ตามลำดับ ซึ่งเมื่อใช้ lactose, maltodextrin DE 10 และ soluble starch เป็นสารป้องกันเซลล์ พบว่าหลังการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ มีค่า a_w อยู่ในช่วง 0.34-0.39 ซึ่งต่ำกว่ามาตรฐานผลิตภัณฑ์ผงที่กำหนดค่า water activity ไม่ควรเกิน 0.5 (กระทรวงอุตสาหกรรม, 2548) โดยค่า water activity เป็นปัจจัยที่สำคัญในการควบคุมและป้องกันการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์อาหาร จึงมีผลโดยตรงต่อการกำหนดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ เนื่องจากค่า water activity เป็นปัจจัยที่ชี้ระดับปริมาณน้ำต่ำสุดในอาหารที่เชื้อจุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโต

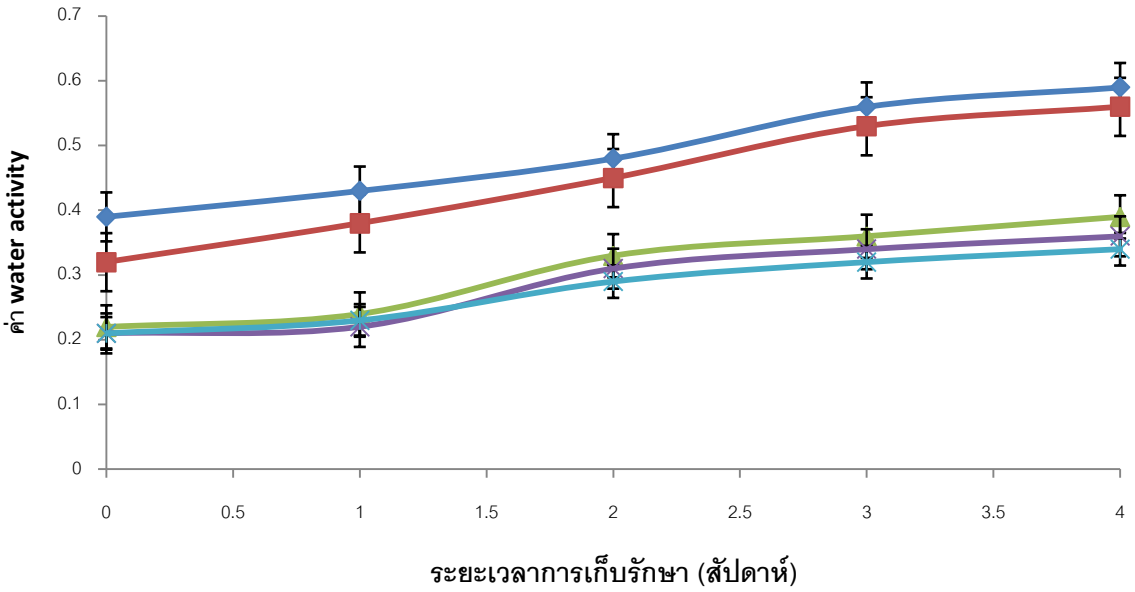
และใช้ในการเกิดปฏิกิริยาเคมีต่าง ๆ ค่า water activity ควรต่ำกว่าที่เชื้อจุลินทรีย์จะเจริญเติบโตได้ ซึ่งแบคทีเรียเกือบทุกชนิดไม่สามารถเจริญเติบโตได้ที่ค่า water activity ต่ำกว่า 0.9 และราส่วนใหญ่จะไม่เจริญเติบโตที่ค่า water activity ต่ำกว่า 0.7 (รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต, 2545)

จากค่าความชื้นและค่า a_w ที่เพิ่มเมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงนานขึ้นอาจเป็นสาเหตุจากขั้นตอนการบรรจุผลิตภัณฑ์ผง โดยในขั้นตอนการบรรจุผลิตภัณฑ์ผงอาจเกิดจากผลิตภัณฑ์ผงดูดความชื้นในอากาศภาวะปกติก่อนการบรรจุลงถุงลามิเนต Desrosier (1959) พบว่าการเปลี่ยนแปลงในระหว่างเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงอาจเกิดจากการเกิดออกซิไดส์เอง (auto-oxidation) เนื่องจากอากาศแม้จะเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในภาชนะปิดสนิท เนื่องจากผลิตภัณฑ์อาจสัมผัสกับอากาศตั้งแต่แรกหรือในภาวะที่ไม่สามารถหลีกเลี่ยงได้ นอกจากนี้ควรหลีกเลี่ยงปัจจัยเสริมปฏิกิริยาคือ แสง และอุณหภูมิสูง

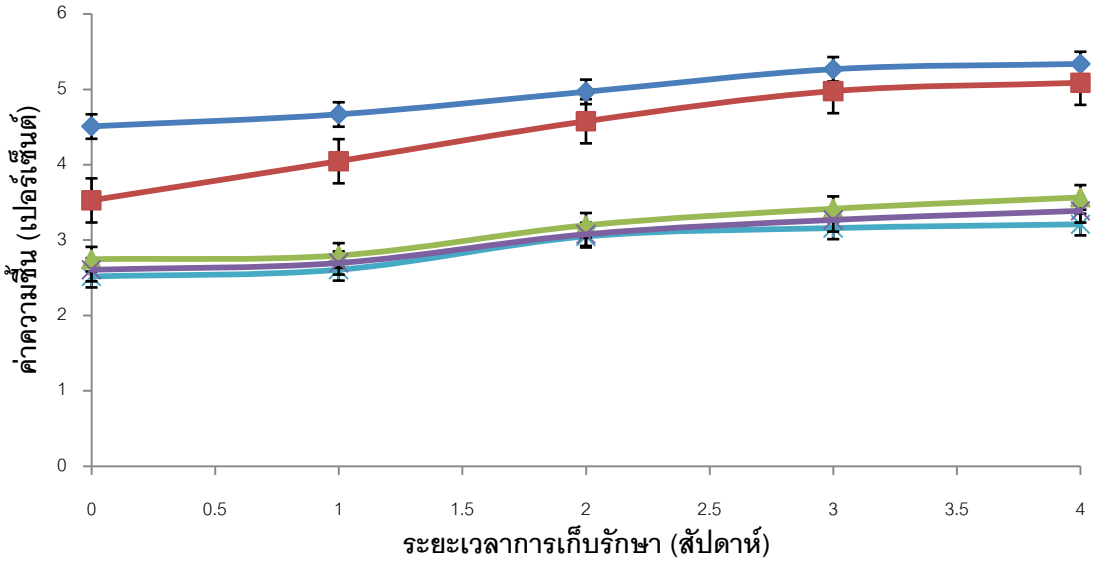
Sunny-Robert และคณะ (2007) ศึกษาการรอดชีวิตของ *L. rhamnosus* ในระหว่างการเก็บรักษา พบว่าเมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงระยะเวลานานขึ้นทำให้มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณความชื้น โดยเมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงนาน 6 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ 25°C ทำให้ปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์ผงสูงถึง 11% เมื่อใช้ trehalose เป็นสารป้องกันเซลล์ ซึ่งเกิดการเซลล์บาดเจ็บบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ในระหว่างการทำแห้ง Teixeira และคณะ (1995) รายงานว่าการลดลงของจำนวนเซลล์จุลินทรีย์ในระหว่างการเก็บรักษา *L. bulgaricus* ที่อุณหภูมิ 25°C และ 37°C มีสาเหตุจากการเกิดปฏิกิริยา lipid oxidation ในระหว่างการเก็บรักษา เมื่อใช้ trehalose เป็นสารป้องกันเซลล์ในการทำแห้งแบบพ่นฝอย



ภาพที่ 4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเชื้อที่รอดชีวิตกับระยะเวลาในการเก็บรักษาของเชื้อผงที่ผลิตโดยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยใช้สารป้องกันเซลล์ คือ glucose ( ) sucrose ( ) lactose ( ) maltodextrin DE 10 ( ) และ soluble starch ( ) เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30-35°C) เป็นเวลา 4 สัปดาห์



ภาพที่ 4.6 ค่า a_w ของเชื้อผงที่ผลิตด้วยการทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้สารป้องกันเซลล์ คือ glucose ( ) sucrose ( ) lactose ( ) maltodextrin DE 10 ( ) และ soluble starch ( ) เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30-35°C) เป็นเวลา 4 สัปดาห์



ภาพที่ 4.7 ปริมาณความชื้น ของเชื้อผงที่ผลิตด้วยการทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้สารป้องกันเซลล์ คือ glucose ( ) sucrose ( ) lactose ( ) maltodextrin DE 10 ( ) และ soluble starch ( ) เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30-35°C) เป็นเวลา 4 สัปดาห์

4.5 ศึกษาความเข้มข้นที่เหมาะสมในการทำแห้งแบบพ่นฝอย *L. plantarum* FT35

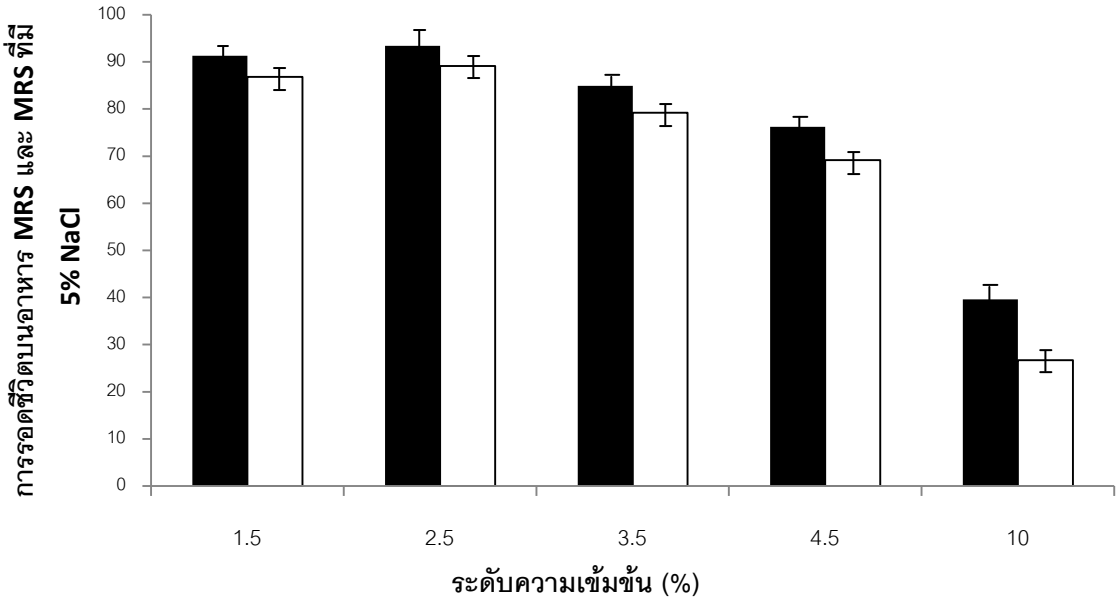
จากการทดลอง 4.3 และ 4.4 พบว่าเมื่อใช้ soluble starch เป็นสารป้องกันเซลล์ทำให้การรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT 35 สูงสุดในระหว่างการทำแห้งและหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 4 สัปดาห์ จึงคัดเลือก soluble starch เพื่อนำมาศึกษาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในการทำแห้งแบบพ่นฝอย เนื่องจากการรอดชีวิตของจุลินทรีย์มีความสัมพันธ์กับระดับความเข้มข้นของสารป้องกันเซลล์ที่ใช้ในการทำแห้งแบบพ่นฝอย Espina และ Packard (1979) รายงานว่า การใช้นมผงปราศจากไขมันที่มีความเข้มข้น 25 % เป็นสารป้องกันเซลล์ในการทำแห้งแบบพ่นฝอย ให้ผลการรอดชีวิตของ *L. acidophilus* สูงกว่าที่ความเข้มข้น 40 % และรายงานของ Lian และคณะ (2002) ศึกษาระดับความเข้มข้นของสารป้องกันเซลล์ 3 ชนิดคือ เจลาติน กัมอาราบิก และสารละลายแป้งในการทำแห้งแบบพ่นฝอย *Bifidobacteria* พบว่า ระดับความเข้มข้น 10 % ทำให้เชื้อรอดชีวิตสูงสุด จากผลการทดลองเมื่อใช้ soluble starch ที่มีระดับความเข้มข้น 1.5%, 2.5%, 3.5%, 4.5% และ 10% ในการทำแห้งแบบพ่นฝอย *L. plantarum* FT35 พบว่าระดับความเข้มข้นของสารป้องกันเซลล์ที่เพิ่มขึ้นให้ผลการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ลดลง แสดงในตารางที่ 4. 3 และภาพที่ 4. 8 นอกจากนี้ พบว่าระดับความเข้มข้นของสารป้องกันเซลล์มีความสัมพันธ์กับขนาดอนุภาคผงหลังการทำแห้ง

แบบพ่นฝอย ซึ่งพบว่า เมื่อระดับความเข้มข้นเพิ่มขึ้นส่งผลให้อนุภาคผงหลังการทำแห้งใหญ่ขึ้นตามลำดับ แสดงในตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.10 จากการทดลองพบว่า soluble starch 2.5% ทำให้การรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35 บนอาหาร MRS และบนอาหาร MRS ที่มีการเติมเกลือ 5% ในระหว่างการทำแห้งสูงสุด โดยมีขนาดอนุภาคผงหลังการทำแห้งเท่ากับ 25.68±1.08 µm และพบว่า soluble starch ระดับความเข้มข้น 10% ให้ผลการรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35 ต่ำที่สุดและมีขนาดอนุภาคผงหลังการทำแห้งใหญ่ที่สุดเท่ากับ 81.22±1.44 µm จากการทดลองพบว่าการเพิ่มขึ้นของระดับความเข้มข้นและความหนืดของสารป้องกันเซลล์ เป็นปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับจำนวนการรอดชีวิตของเซลล์จุลินทรีย์และขนาดอนุภาคผงหลังการทำแห้งแบบพ่นฝอย Elizondo และ Labuza (1974) พบว่า อนุภาคผงที่มีขนาดใหญ่จะมีพื้นที่ผิวต่อปริมาตรในการระบายน้ำออกได้น้อยกว่าอนุภาคผงที่มีขนาดเล็ก จึงต้องใช้เวลาในการดึงน้ำออกจากหยดอนุภาคนานกว่าส่งผลให้การรอดชีวิตจุลินทรีย์ลดลงในระหว่างการทำแห้งแบบพ่นฝอย

Livense และ Karel (1993) พบว่าเมื่อเพิ่มความหนืดของสารป้องกันเซลล์ ส่งผลให้ขนาดอนุภาคมีขนาดใหญ่ โดยการเพิ่มความหนืดของสารป้องกันเซลล์เป็นการเพิ่มปริมาณ total solid ในสารละลาย (feed suspension) จึงทำให้หยดอนุภาคมีขนาดใหญ่ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Re (1998) รายงานว่าการลดลงของเซลล์จุลินทรีย์ในระหว่างการทำแห้งแบบพ่นฝอย มีสาเหตุจากความหนืดที่เพิ่มขึ้นของ feed solution ทำให้ผนังอนุภาคหนาขึ้น จึงทำให้ใช้เวลาในการสัมผัสความร้อนนานในระหว่างการทำแห้ง ส่งผลให้จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตลดลง นอกจากนี้ Boza และคณะ (2004) พบว่า เมื่อความเข้มข้นของสารป้องกันเซลล์เป็นปัจจัยที่มีความสำคัญกับการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ในระหว่างการทำแห้ง โดยพบว่าระดับความเข้มข้นของสารป้องกันเซลล์ 33% ทำให้เซลล์จุลินทรีย์ลดลงมากกว่าระดับความเข้มข้น 25% เนื่องจากผนังของอนุภาคหนาทำให้การระบายความร้อนออกช้ากว่าอนุภาคที่มีผนังบาง ทำให้เซลล์จุลินทรีย์ถูกทำลายจากความร้อนได้มากกว่า ดังนั้นการเลือกความเข้มข้นของสารป้องกันเซลล์ที่เหมาะสมเป็นปัจจัยสำคัญต่อผนังอนุภาคที่เหมาะสมเพื่อการปกป้องเซลล์จุลินทรีย์จากความร้อนได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Lian และคณะ, 2002)

ส่วนผลของปริมาณความชื้นและค่า a_w ของผลิตภัณฑ์หลังการทำแห้งพบว่า ปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์ผงของ soluble starch ที่ระดับความเข้มข้น 1.5%, 2.5%, 3.5%, 4.5% และ 10% มีปริมาณความชื้นเท่ากับ 2.57±0.08%, 2.59±0.12%, 3.01±0.02%, 3.5±0.05% และ

4.96±1.021% ตามลำดับ โดยมีค่า a_w เท่ากับ 0.21±0.01, 0.22±0.02, 0.25±0.01, 0.27±0.01 และ 0.30±0.01 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณความชื้นของ soluble starch 1.5% และ soluble starch 10% เมื่อใช้เป็นสารป้องกันเซลล์ พบว่า มีปริมาณความชื้นเท่ากับ 2.57% และ 4.96% ตามลำดับ โดย soluble starch 1.5% มีปริมาณความชื้นต่ำกว่า ซึ่งอาจเกิดจากความเข้มข้นต่ำของสารป้องกันเซลล์ให้ขนาดอนุภาคที่เล็กกว่าเมื่อควบคุมให้ภาวะการทำแห้งคงที่ อนุภาคที่มีขนาดเล็กสามารถระเหยน้ำออกจากอนุภาคได้ดีกว่า จึงเป็นสาเหตุให้มีค่าความชื้นเหลืออยู่ในอนุภาคผงน้อยกว่าอนุภาคที่มีขนาดใหญ่



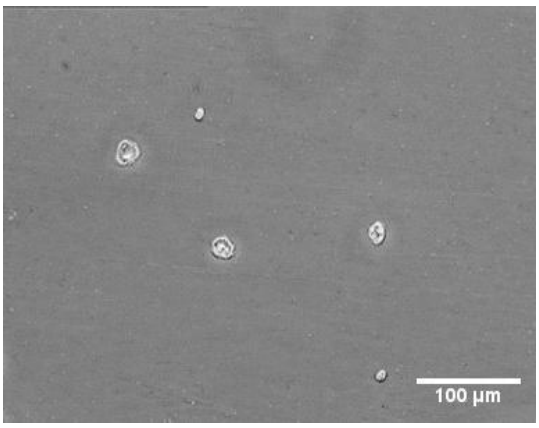
ภาพที่ 4.8 ระดับความเข้มข้นของ soluble starch ที่มีผลต่อการรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35 ในระหว่างการทำแห้งแบบพ่นฝอย เมื่อเลี้ยงบนอาหาร MRS และ MRS + 5% NaCl

ตารางที่ 4.3 ผลของระดับความเข้มข้น soluble starch ค่าความหนืดของ feed in solution และขนาดอนุภาคผงที่มีผลต่ออัตราการรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35

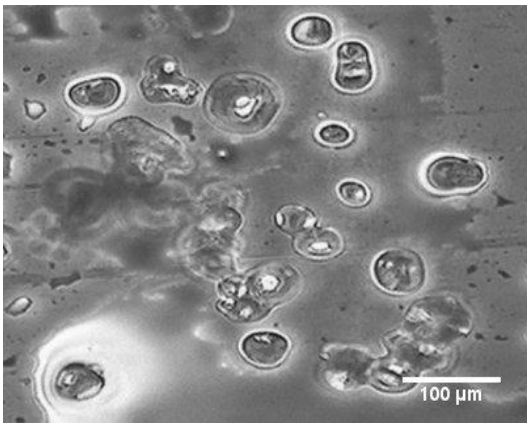
ความเข้มข้น soluble starch (%)	**ค่าความหนืด (cP)**	**การเจริญบน MRS (CFU/g)**	**การเจริญบน MRS+5%NaCl (CFU/g)**	**เส้นผ่านศูนย์กลางอนุภาคผง (*μm*)**
1.5	1.088	$9.49^{b} \pm 0.02$	$9.04^{b} \pm 0.07$	$10.89^{a} \pm 1.23$
2.5	1.753	$9.69^{a} \pm 0.11$	$9.22^{a} \pm 0.05$	$25.68^{b} \pm 1.08$
3.5	2.767	$8.81^{c} \pm 0.15$	$8.24^{c} \pm 0.11$	$37.88^{c} \pm 1.41$
4.5	3.809	$7.92^{d} \pm 0.08$	$7.18^{d} \pm 0.13$	$49.15^{d} \pm 1.38$
10	9.773	$4.18^{e} \pm 0.16$	$2.78^{e} \pm 0.27$	$81.22^{e} \pm 1.44$

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

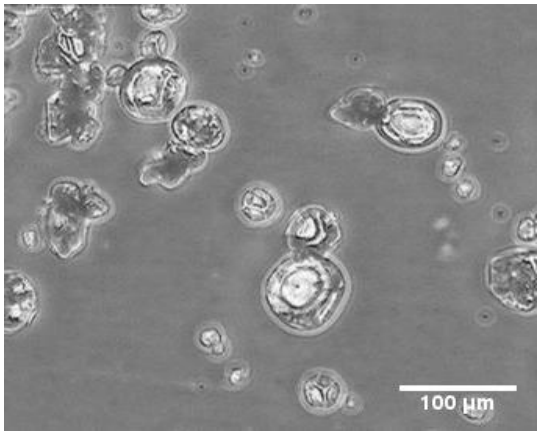
ตัวอักษร ns ในคอลัมน์เดียวกันหมายความว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)



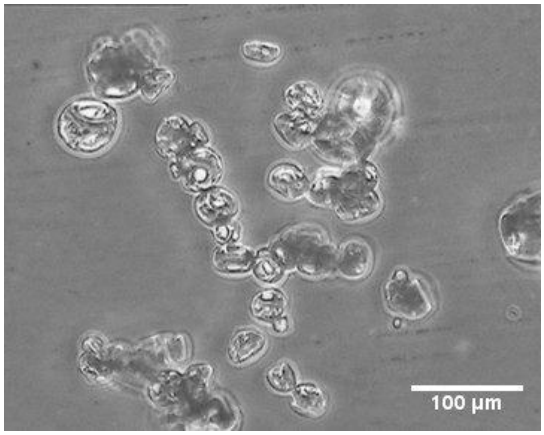
(a)



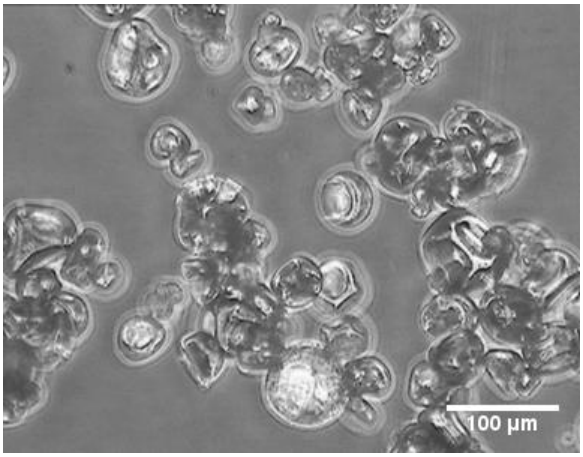
(b)



(c)



(d)



(e)

ภาพที่ 4.9 อนุภาคผง *L. plantarum* FT35 เมื่อใช้สารป้องกันเซลล์ คือ soluble starch 1.5% (a), 2.5% (b), 3.5% (c), 4.5% (d) และ 10% (e) เมื่อขยาย 200 เท่าด้วยกล้องจุลทรรศน์ (light microscope)

4.6 ศึกษาความเข้มข้นของสารป้องกันเซลล์ต่อการรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35 ผงระหว่างการเก็บรักษา

เมื่อนำผลิตภัณฑ์ผง *L. plantarum* FT35 ที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยจากข้อ 4.5 ที่มีจำนวนการรอดชีวิตสูงสุด คือที่ระดับความเข้มข้น 1.5% และ 2.5% มาศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงในถุงลามิเนตบรรจุแบบสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 4°C และอุณหภูมิห้อง (30-35°C) เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ โดยเปรียบเทียบการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ ความชื้นและค่า a_w

Morgan และคณะ (2006) พบว่าปัจจัยที่มีผลต่ออายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผง คือ อากาศ (Oxigen) ความชื้น แสง และอุณหภูมิในการเก็บรักษา ซึ่งในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผง อากาศภายในบรรจุภัณฑ์เป็นสาเหตุที่ทำให้ปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์ผงเพิ่มขึ้น และเป็นสาเหตุที่ทำให้จำนวนเซลล์จุลินทรีย์ลดลงในระหว่างการเก็บรักษา

การรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35 ในผลิตภัณฑ์ผง ระดับความเข้มข้นของแป้งดัดแปร (soluble starch) 1.5% และ 2.5% ที่อุณหภูมิ 4°C และอุณหภูมิห้อง (30-35°C) (แสดงดังภาพ 4.10) พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงนานขึ้นการรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35 มีแนวโน้มลดลง โดยที่ผลิตภัณฑ์ผงที่ใช้ soluble starch 1.5% เป็นสารป้องกันเซลล์ มีเชื้อเริ่มต้น 10.43 $\pm$ 0.09 log CFU/g เมื่อเก็บถึงสัปดาห์ที่ 8 ที่อุณหภูมิ 4°C จำนวนจุลินทรีย์ลดลงเท่ากับ 3.04 CFU/g และมีเชื้อเหลือ 7.39$\pm$0.24 log CFU/g และที่ 30°C จำนวนจุลินทรีย์ลดลงเท่ากับ 7.00 log CFU/g และมีเชื้อเหลือ 3.43$\pm$0.06 log CFU/g ผลิตภัณฑ์ผงที่ใช้ soluble starch 2.5% เป็นสารป้องกันเซลล์ มีเชื้อเริ่มต้น 10.65 $\pm$0.23 log CFU/g เมื่อเก็บถึงสัปดาห์ที่ 8 ที่อุณหภูมิ 4°C จำนวนจุลินทรีย์ลดลงเท่ากับ 2.43 CFU/g มีเชื้อเหลือ 8.22$\pm$0.05 log CFU/g และที่ 30°C จำนวนจุลินทรีย์ลดลงเท่ากับ 6.28 CFU/g มีเชื้อเหลือ 4.37$\pm$0.55 log CFU/g เมื่อเปรียบเทียบเชื้อที่รอดชีวิต พบว่าผลิตภัณฑ์ผงที่ระดับความเข้มข้นของ soluble starch 2.5% ทำให้จำนวน *L. plantarum* FT35 ลดลงน้อยกว่าผลิตภัณฑ์ผงที่ใช้ soluble starch 1.5% ทั้งในการเก็บที่อุณหภูมิ 4°C และที่อุณหภูมิห้อง (30-35°C) จากการทดลองพบว่าการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงที่ระดับความเข้มข้นของ soluble starch 2.5% เป็นเวลา 8 สัปดาห์ที่ 4°C ให้ผลการรอดชีวิตของจุลินทรีย์สูงสุด

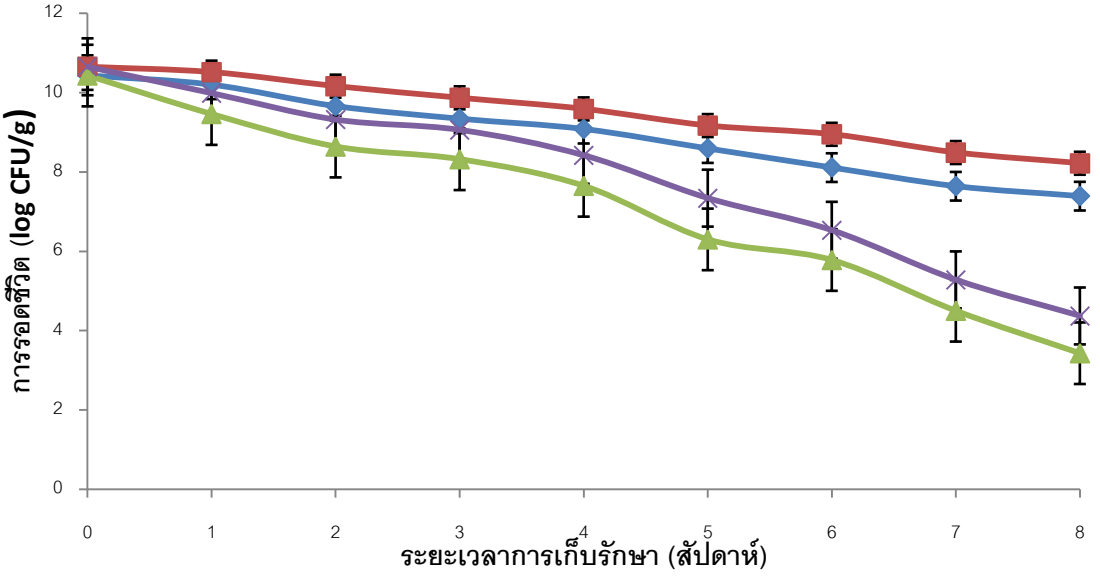
นอกจากนี้ Costa, Teixeira และ Kirby (2002) ศึกษาเปรียบเทียบการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงหลังการทำแห้ง โดยเก็บรักษาในผลิตภัณฑ์ผงในบรรจุภัณฑ์สภาวะปกติ และเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงแบบสภาวะสุญญากาศ พบว่า ผลิตภัณฑ์ผงของ *Pantoea agglomerans* ที่เก็บรักษาในสภาวะปกติมีปริมาณความชื้นสูงกว่าผลิตภัณฑ์ผงที่เก็บรักษาในสภาวะสุญญากาศ และพบว่าอุณหภูมิการเก็บรักษาเป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการรอดชีวิตของ *Pantoea agglomerans* โดยเปรียบเทียบอุณหภูมิในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผง พบว่าจุลินทรีย์ลดลง 0.5 log CFU/g เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 ^{o}C เป็นเวลา 90 วัน และจำนวนจุลินทรีย์ลดลง 3 log CFU/g เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25^{o}C เป็นเวลา 28 วัน

การเปรียบเทียบค่าความชื้นของผลิตภัณฑ์ผงเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4^{o}C และอุณหภูมิห้อง (30-35^{o}C) แสดงดังภาพ 4.12 พบว่า เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงนานขึ้นความชื้นมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น โดยผลิตภัณฑ์ผงที่ใช้ soluble starch 1.5% มีความชื้นเริ่มต้น 2.57$\pm$0.08% เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4^{o}C และอุณหภูมิห้อง (30-35^{o}C) มีความชื้นเพิ่มมากขึ้น 4.47$\pm$0.04% และ 5.41$\pm$0.02% ตามลำดับ เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ส่วนผลิตภัณฑ์ผงที่ใช้ soluble starch 2.5% มีความชื้นเริ่มต้น 2.59$\pm$0.12% เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4^{o}C และอุณหภูมิห้อง (30-35^{o}C) มีความชื้นเพิ่มมากขึ้น 3.91$\pm$0.01% และ 5.05$\pm$0.02% ตามลำดับ เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงเป็นเวลา 8 สัปดาห์ ซึ่งจะเห็นได้ว่าผลิตภัณฑ์ผงที่ใช้ soluble starch 1.5% มีความชื้นสูงกว่าผลิตภัณฑ์ผงที่ใช้ soluble starch 2.5% และยังพบว่า water activity (a_w) ของผลิตภัณฑ์ผงเมื่อเก็บรักษาที่ 4^{o}C และอุณหภูมิห้อง (30-35^{o}C) แสดงดังภาพ 4.11 มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเช่นกันเมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผงนานขึ้น โดยที่ผลิตภัณฑ์ผงที่ใช้ soluble starch 1.5% ที่ 4^{o}C และอุณหภูมิห้อง (30-35^{o}C) มีค่า a_w เพิ่มขึ้น 0.44$\pm$0.01 และ 0.55$\pm$0.03 ตามลำดับ จากค่า a_w เริ่มต้น 0.22$\pm$0.01 เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ส่วนผลิตภัณฑ์ผงที่ใช้ soluble starch 2.5% ที่ 4^{o}C และอุณหภูมิห้อง (30-35^{o}C) มีค่า a_w เพิ่มขึ้น 0.4$\pm$0.01 และ 0.5$\pm$0.02 ตามลำดับ จากค่า a_w เริ่มต้น 0.21$\pm$0.01 เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ซึ่งผลิตภัณฑ์ผงที่ใช้ soluble starch 1.5% มีค่า a_w สูงกว่าผลิตภัณฑ์ผงที่ใช้ soluble starch 2.5% ซึ่งผลิตภัณฑ์ผงที่ใช้ soluble starch 1.5% มีปริมาณความชื้นและค่า a_w สูงกว่าผลิตภัณฑ์ผงที่ใช้ soluble starch 2.5% โดยพบว่าการเพิ่มขึ้นของปริมาณความชื้นและค่า a_w ในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผง อาจมีสาเหตุจากคุณภาพของบรรจุภัณฑ์ซึ่งถุงลามิเนตที่ใช้บรรจุผลิตภัณฑ์ผงเป็นชนิดความหนาแน่นต่ำ (oriented polypylene/ linear low

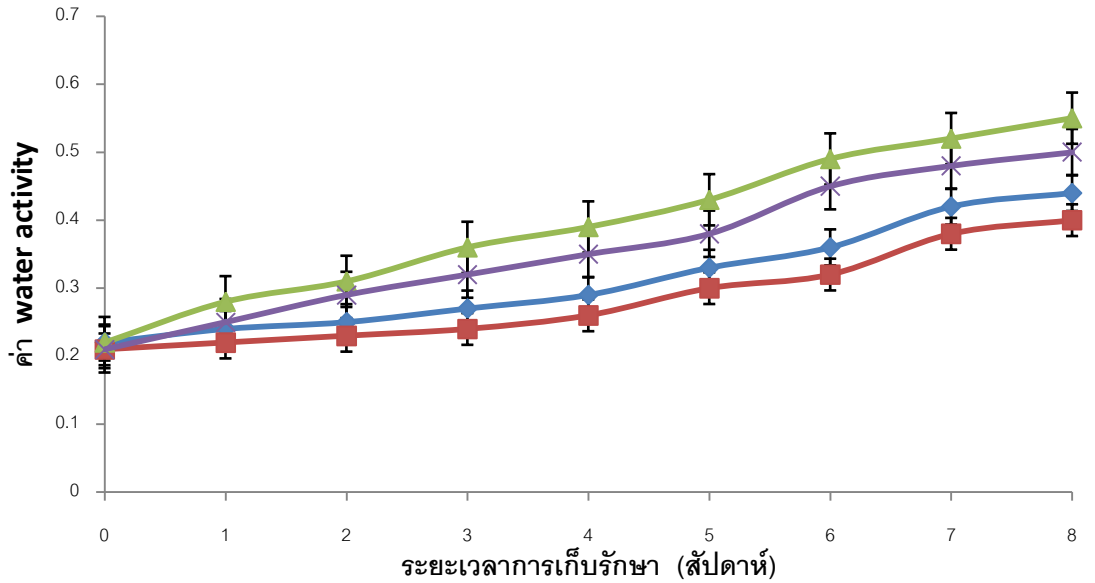
density polyethylene) มีความหนาแน่น 0.910 - 0.925 g/cm^2 โดยมีคุณสมบัติในการปิดผนึกด้วยความร้อนได้ดี ทนต่ออุณหภูมิสูงและสามารถป้องกันความชื้นได้พอสมควร แต่อาจมีการซึมผ่านของอากาศได้เนื่องจากถุงลามิเนตชนิดความหนาแน่นต่ำ หรือถุงลามิเนตชนิดบาง มีโอกาสทำให้เกิดรูเล็ก ๆ หรือที่เรียกว่า pin hole ส่งผลทำให้คุณสมบัติในการต้านทานไอน้ำและอากาศเสียไป โดยพบว่าอัตราการซึมผ่านก๊าซออกซิเจนของฟิล์มลามิเนตอยู่ในช่วง 0.05-2,000 cm ^{3}/m^2.d bar ซึ่งเป็นข้อมูลที่มีความสำคัญสำหรับการเลือกใช้ บรรจุภัณฑ์ให้เหมาะสม เพื่อการยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ผง (กรมวิทยาศาสตร์บริการ, 2552)

นอกจากนี้งานวิจัยของ Bozoglu และคณะ (1987) ทำการศึกษาเปรียบเทียบการรอดชีวิตหลังการเก็บรักษา ของ *L. bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* โดยการเก็บรักษาด้วยไนโตรเจนและแบบสุญญากาศพบว่า การลดลงของจุลินทรีย์ในระหว่างการเก็บรักษาด้วยไนโตรเจนและแบบสุญญากาศมีปริมาณใกล้เคียงกัน และมีปริมาณความชื้นเพิ่มขึ้นหลังการเก็บรักษานานขึ้น ซึ่งเกิดจากผลิตภัณฑ์ดูดซับอากาศและเกิดการแพร่กระจายของออกซิเจนเข้าสู่เซลล์แห้ง ทำให้เกิดการสะสมของ free radical และก่อให้เกิดปฏิกิริยา oxidation ทำให้เกิดความเสียหายของเซลล์จุลินทรีย์ จึงเป็นสาเหตุที่ทำให้จำนวนจุลินทรีย์ลดลงในระหว่างการเก็บรักษา

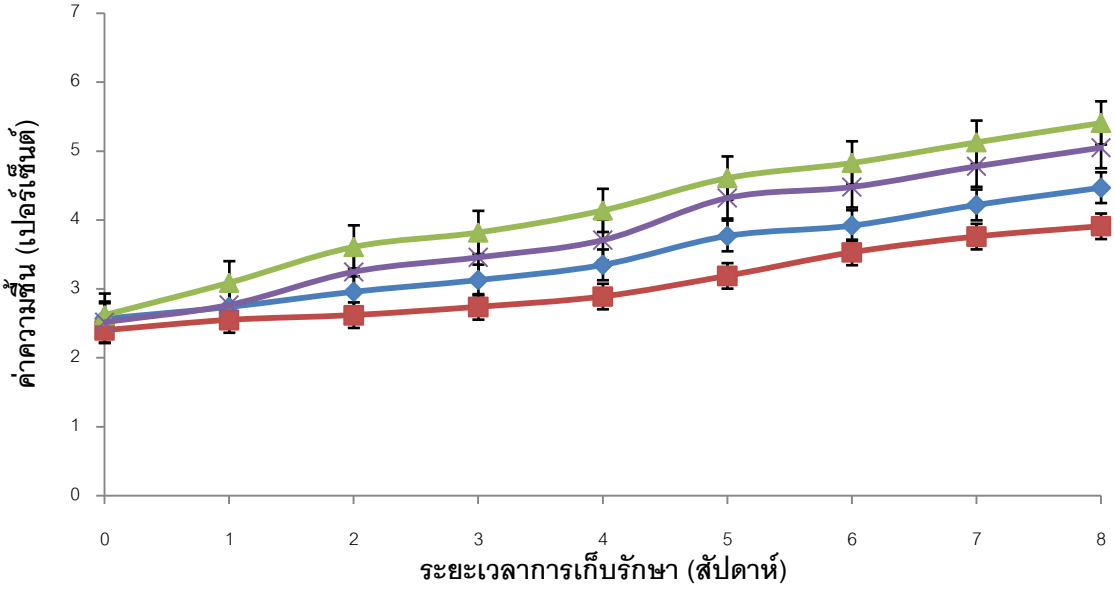
Rodriguez และคณะ (2007) รายงานว่า การเก็บรักษา *Bifidobacterium bifidum* ในระหว่างการเก็บรักษา พบว่า อุณหภูมิและอากาศคือผลกระทบที่ทำให้การรอดชีวิตของจุลินทรีย์ในระหว่างการเก็บรักษาลดลง เนื่องจากทำให้เกิดปฏิกิริยา oxidation ส่งผลให้การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพและเคมีของผลิตภัณฑ์ผง และพบว่าการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในสภาวะสุญญากาศทำให้การรอดชีวิตของจุลินทรีย์หลังการเก็บรักษาดีกว่าภาวะปกติ



ภาพที่ 4.10 ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเชื้อที่รอดชีวิตกับเวลาเก็บรักษาของเชื้อผง ที่ผลิตด้วยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยใช้สารป้องกันเซลล์คือ soluble starch 1.5% ( ) และ soluble starch 2.5% ( ) เมื่อเก็บรักษาที่ 4°C ผลิตภัณฑ์ผงที่ใช้ soluble starch 1.5% ( ) และ soluble starch 2.5% ( ) เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30-35°C) ระยะเวลาการเก็บรักษา 8 สัปดาห์



ภาพที่ 4.11 ค่า a_w ของผลิตภัณฑ์ผงที่ผลิตโดยวิธีการทำแห้งพ่นฝอยโดยใช้สารป้องกันเซลล์ คือ soluble starch 1.5% ( ) และ soluble starch 2.5% ( ) เมื่อเก็บรักษาที่ 4°C ผลิตภัณฑ์ผงที่ใช้ soluble starch 1.5%( ) และ soluble starch 2.5% ( ) เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30-35°C) ระยะเวลาการเก็บรักษา 8 สัปดาห์



ภาพที่ 4.12 ปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์ผงที่ผลิตโดยวิธีการทำแห้งพ่นฝอยโดยใช้สารป้องกันเซลล์ คือ soluble starch 1.5% ( ) และ soluble starch 2.5% ( ) เมื่อเก็บรักษาที่ 4°C ผลิตภัณฑ์ผงที่ใช้ soluble starch 1.5% ( ) และ soluble starch 2.5% ( ) เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30-35°C) ระยะเวลาการเก็บรักษา 8 สัปดาห์

4.7 ศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ผงของ *Lactobacillus plantarum* เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อหมักปลาส้ม

ศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ผงที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่มีอัตราการรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35 สูงสุดจากข้อ 4.6 นำมาใช้เป็นหัวเชื้อผงในการหมักปลาส้ม โดยเปรียบเทียบกับการหมักปลาส้มที่ใช้หัวเชื้อสด และการหมักแบบไม่ใส่หัวเชื้อ นอกจากนี้เปรียบเทียบ activity ของหัวเชื้อผงหลังจากการเก็บรักษาหัวเชื้อผงเป็นระยะเวลา 1 เดือน และ 2 เดือน เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ผงที่ใช้เป็นหัวเชื้อหมักปลาส้ม

จากภาพที่ 4.14-4.15 พบว่าการเปลี่ยนแปลงค่า pH และ ปริมาณกรดในระหว่างการหมักปลาส้มโดยใช้หัวเชื้อสดและหัวเชื้อผง ตั้งแต่วันที่ 0-5 โดยค่า pH เริ่มต้นของการหมักแบบไม่ใช่หัวเชื้อ หัวเชื้อสด และ หัวเชื้อผงมีค่าใกล้เคียงกันประมาณ pH 6.0-6.15 เมื่อระยะเวลาในการหมักนานจนถึงวันที่ 5 ของการหมัก pH ของการหมักแบบไม่ใส่หัวเชื้อ หัวเชื้อสด และหัวเชื้อผง มีค่าลดลงเหลือ 4.75±0.14, 4.15±0.35 และ3.98 ±0.12 ตามลำดับ และมีปริมาณกรดเท่ากับ 1±0.08%

1.7±0.20% และ 1.82±0.22% ตามลำดับ ซึ่งพบว่าเมื่อไม่ใส่หัวเชื้อกระบวนการหมักเกิดช้ากว่าโดยสังเกตจากค่า pH และปริมาณกรดในระหว่างการหมักเมื่อเปรียบเทียบกับการหมักแบบใช้หัวเชื้อ ซึ่งการหมักโดยไม่ใส่หัวเชื้อต้องอาศัยจุลินทรีย์ธรรมชาติที่ติดมาจากวัตถุดิบจึงทำให้ไม่สามารถควบคุมทั้งด้านคุณภาพและปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ และยังอาจส่งผลให้การหมักมีคุณภาพไม่สม่ำเสมอ นอกจากนี้ เมื่อเปรียบเทียบ activity ของหัวเชื้อผงกับหัวเชื้อสดในการหมักปลาส้ม พบว่าการเปลี่ยนแปลงค่า pH และปริมาณกรดในระหว่างการหมัก มีการลดลงของค่า pH และการเพิ่มขึ้นของค่าความเป็นกรดรวดเร็ว ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) จากค่า pH ที่ลดลงมีผลทำให้เกิดกลิ่นหมักและมีรสเปรี้ยว ค่า pH ของปลาส้มตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนของปลาส้มคือ 4.0 - 6.0 (กระทรวงอุตสาหกรรม, 2548) ปริมาณกรดทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการหมัก เนื่องจากจุลินทรีย์จำพวกแบคทีเรียที่สร้างกรดเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตเป็นกรดแลกติกในระหว่างการหมัก ซึ่งแบคทีเรียพวกนี้มีบทบาทสำคัญในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่น (ทองคำ คิมหะมานนท์, 2538)

เมื่อนำหัวเชื้อผงที่มีอายุการเก็บรักษา 1 เดือนและ 2 เดือนมาใช้หมักปลาส้ม พบว่าประสิทธิภาพของหัวเชื้อผงลดลง อาจเกิดจากหัวเชื้อผงมีจำนวนจุลินทรีย์ลดลงหลังระยะเวลาการเก็บรักษา เมื่อนำไปใช้ในการหมักปลาส้มทำให้มีปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นการหมักน้อยกว่าการใช้หัวเชื้อผงหลังการทำแห้งแบบพ่นฝอย (0 เดือน) แต่พบว่าในระหว่างการหมักจุลินทรีย์มีการเพิ่มจำนวนและทำให้กระบวนการหมักเกิดขึ้นได้ดี โดยมีค่า pH เท่ากับ 4.44±0.21 และ 4.61±0.32 และมีปริมาณกรดเท่ากับ 1±0.11% และ 0.75±0.14% ในวันที่ 3 ของการหมัก และเมื่อหมักปลาส้มไปจนถึงวันที่ 5 ค่า pH ลดลงเท่ากับ 4.23±0.13 และ 4.45±0.22 และมีปริมาณกรดเท่ากับ 1.5±0.21% และ 1.2±0.18% ซึ่งพบว่าหัวเชื้อผงหลังการเก็บรักษา 1 เดือนและ 2 เดือนทำให้การลดลงของค่า pH และการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดในกระบวนการหมักปลาส้มช้ากว่าการใช้หัวเชื้อผงหลังการทำแห้ง (0 เดือน) และมีประสิทธิภาพต่ำกว่าการใช้หัวเชื้อสดในการหมักปลาส้ม แต่พบว่าการใช้หัวเชื้อผงที่มีอายุการเก็บรักษา 1 เดือนและ 2 เดือน มีประสิทธิภาพดีกว่าการหมักปลาส้มแบบไม่ใส่หัวเชื้อ และไม่พบการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค *E. coli* และ *Salmonella* ดังแสดงดังตาราง 4.7 การทดลองนี้แสดงให้เห็นถึงบทบาทของแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่ใช้เป็นหัวเชื้อหมักปลาส้ม ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์มีค่า pH ลดลง และค่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้นทำให้ผลิตภัณฑ์ปลาส้มมีรสเปรี้ยว และสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย และจุลินทรีย์ก่อโรค

จากการทดลอง เปรียบเทียบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและแบคทีเรียแลคติกของการหมักปลาส้มแบบไม่ใช้หัวเชื้อ หัวเชื้อสด และหัวเชื้อผง ดังตารางที่ 4.5-4.6 พบว่าเมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและแบคทีเรียแลคติกจะเพิ่มขึ้น โดยปริมาณแลคติกแอซิดแบคทีเรียเริ่มต้นในผลิตภัณฑ์ปลาส้มแบบไม่ใช้หัวเชื้อมีจำนวนเท่ากับ 10^3 CFU/g เนื่องจากติดมากับวัตถุดิบ และจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียเริ่มต้นในผลิตภัณฑ์ปลาส้มแบบใช้หัวเชื้อสด และหัวเชื้อผงมีประมาณ 10^5 CFU/g สอดคล้องกับรายงานของ ยุทธพงศ์ ประชาสิทธิศักดิ์ และคณะ (2552) ที่ศึกษาแลคติกแอซิดแบคทีเรียในระหว่างการหมักปลาส้ม ซึ่งพบว่ามีจำนวน *Lactobacillus* spp. อยู่ในช่วง 10^3 – $1.2x10^9$ log CFU/g ในระหว่างการหมัก และเมื่อระยะเวลาในการหมักนานขึ้น พบว่าแบคทีเรียแลคติกมีจำนวนเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 3 วันแรกของการหมัก เนื่องจากแลคติกแอซิดแบคทีเรียมีการเพิ่มจำนวนในระหว่างการหมัก ส่งผลทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นด้วย (Ostergaard, Akin และ Ozer, 1998)

นอกจากนี้ในระหว่างการหมักปลาส้ม พบว่าในวันที่ 0 ของการหมักตรวจพบ *E. coli* และ *Salmonella* ที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบ เมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้นในช่วงวันที่ 3 พบว่าการใช้หัวเชื้อสด และหัวเชื้อผง ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* และ *Salmonella* นอกจากนี้การใช้หัวเชื้อผงหลังการเก็บรักษา 1-2 เดือนมาใช้เป็นหัวเชื้อหมัก พบว่าแม้ว่าระยะเวลาเก็บรักษานานขึ้น แต่หัวเชื้อผงยังมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้ ดังตารางที่ 4.7 นอกจากนี้การหมักปลาส้มโดยใช้หัวเชื้อ *L. plantarum* FT 35 ซึ่งมีความสามารถในการสร้างแบคเทอริโอซินยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในระหว่างการหมักร่วมกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรด และการลดลงของค่า pH จึงทำให้สามารถทำลาย *E. coli* และ *Salmonella* ได้ในวันที่ 3 ของการหมัก สอดคล้องกับรายงานของ Hiller และ Davision (1991) พบว่าความสามารถในการสร้างแบคเทอริโอซินของ lactic acid bacteria สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ เช่น *Escherichia coli* VTEC 0157, *Campylobacter* และ *Salmonella* ซึ่งพบว่าฤทธิ์ของแบคทีริโอซินจะไม่สามารถทำลายผนังเซลล์ของกลุ่มแกรมลบได้อย่างสมบูรณ์ แต่ความสามารถในการผลิตกรดของ lactic acid bacteria ส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อในกลุ่มแกรมลบ ได้ดีขึ้น โดยพบว่า *Salmonella* Anatum ที่พบมากในแหนม ถูกทำลายได้เร็วขึ้น สอดคล้องกับรายงานของยุทธพงศ์ ประชาสิทธิศักดิ์ และคณะ (2552) พบว่าการลดต่ำลงของค่า pH ในระหว่างการหมักปลาส้มทำให้สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคได้ และพบว่าค่า pH 4.58$\pm$0.17 สามารถ

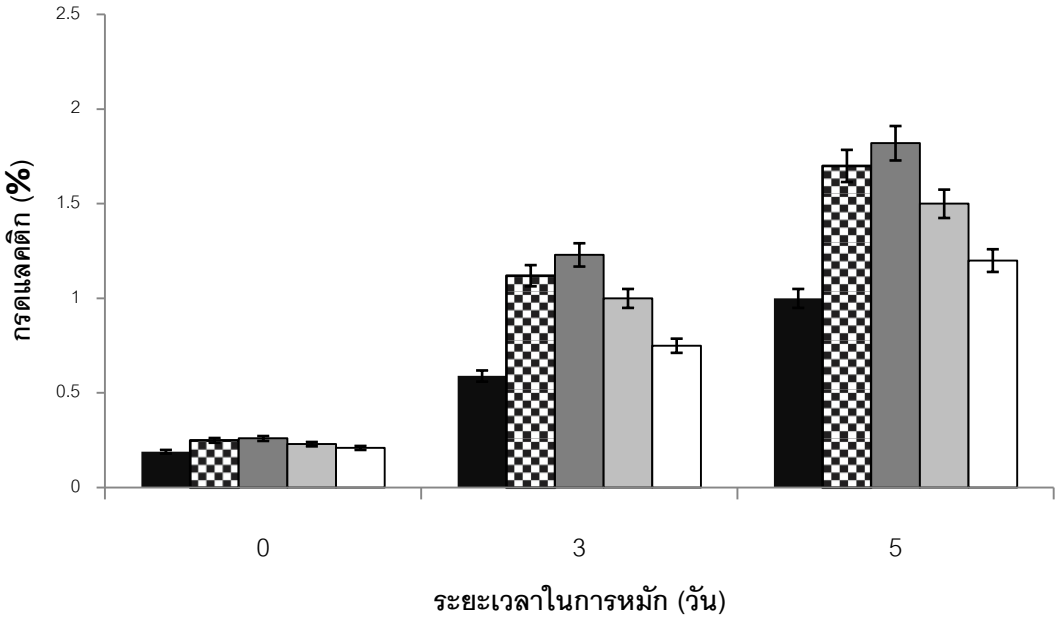
ทำลายเซลล์ของ *Salmonella* และรายงานของ Lin, Jin และ Baidoo (2000) พบว่า *L. plantarum* สามารถยั้บยั้งและทำลายการเจริญของเชื้อ *Salmonella* ได้ เนื่องจากการผลิตกรดและการลดต่ำลงของค่า pH

เมื่อเปรียบเทียบการหมักปลาส้มโดยไม่เติมหัวเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย พบว่าเริ่มต้นของการหมักปลาส้ม และการหมักปลาส้มจนถึงวันที่ 3 ของการหมักตรวจพบ *E. coli* และ *Salmonella* เมื่อหมักปลาส้มจนกระทั่งถึงวันที่ 5 จึงไม่พบเจริญของ *E. coli* และ *Salmonella* ซึ่งพบว่า การหมักปลาส้มโดยไม่เติมหัวเชื้อกระบวนการหมักเกิดขึ้นได้ช้า ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่า pH และปริมาณกรดในผลิตภัณฑ์ ทำให้ไม่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคได้แม้ว่าหมักปลาส้มจนถึงวันที่ 3 และพบว่าตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ปลาส้มที่สามารถรับประทานได้กำหนดให้มีค่า pH อยู่ในช่วง 4.0-6.0 (กระทรวงอุตสาหกรรม , 2548) ซึ่งการหมักปลาส้มโดยไม่เติมหัวเชื้อวันที่ 3 มีค่า pH เท่ากับ 5.2 ผู้บริโภคสามารถรับประทานได้ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน แต่พบว่ามีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรค *E. coli* และ *Salmonella* ซึ่งไม่ปลอดภัยต่อผู้บริโภค เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้หัวเชื้อในการหมักปลาส้ม พบว่าไม่มีการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค *E. coli* และ *Salmonella* จึงทำให้ปลอดภัยต่อผู้บริโภคและลดการเกิดอันตรายจากจุลินทรีย์ก่อโรคซึ่งอาจก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษได้

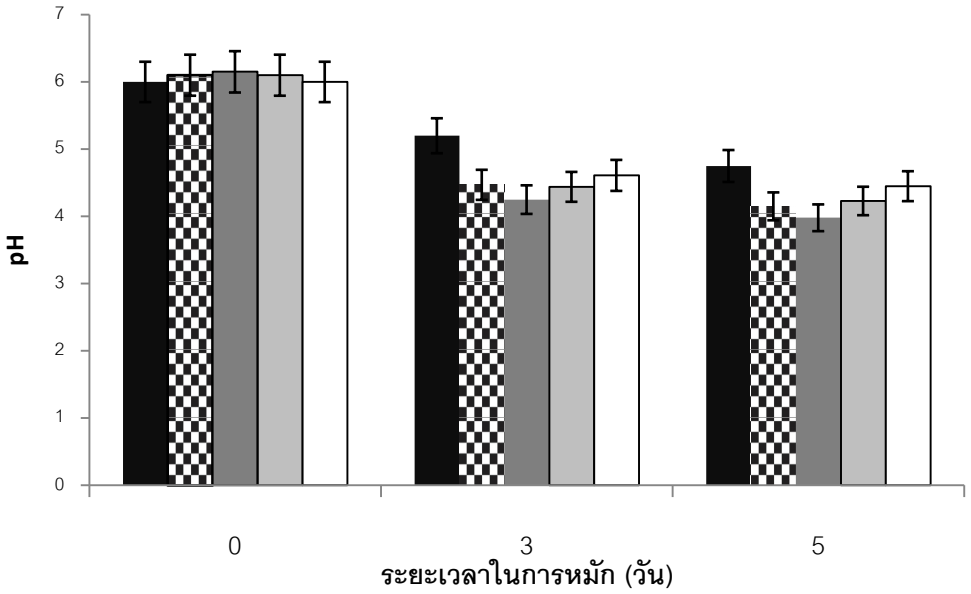
ข้อดีของการใช้หัวเชื้อ ผงของ *L. plantarum* FT35 เพื่อเป็นหัวเชื้อหมักปลาส้ม ทำให้สะดวกและง่ายสำหรับการใช้งานเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้หัวเชื้อสด เพราะการใช้หัวเชื้อสดต้องใช้เวลาในการเลี้ยงเชื้อให้เจริญก่อนนำมาใช้งาน และยากต่อการควบคุมการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ เนื่องจากต้องใช้อุปกรณ์และเครื่องมือที่ปลอดเชื้อสามารถทำได้ในห้องปฏิบัติการเท่านั้น แต่การใช้หัวเชื้อผงสามารถนำมาใช้งานได้ทันที ผู้บริโภคทั่วไปสามารถใช้หัวเชื้อผงในการหมักปลาส้มรับประทานเองที่บ้านได้ หากมีการจำหน่ายจุลินทรีย์รูปแบบหัวเชื้อผง นอกจากนี้หัวเชื้อผงสามารถควบคุมคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ลดโอกาสการหมักล้มเหลว ช่วยให้กระบวนการหมักเกิดได้อย่างมีประสิทธิภาพและควบคุมได้ดีขึ้น นอกจากนี้ยังสามารถทำลายจุลินทรีย์ก่อโรคที่อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคมากขึ้น นอกจากนี้รายงานของทองคำ คิมหะมานนท์ (2538) พบว่าการหมักโดยใช้หัวเชื้อทำให้มีปริมาณเชื้อที่ต้องการมากกว่าเชื้อที่ติดมาในตัวปลาโดยธรรมชาติ (microflora) ทำให้มีปริมาณแลคติกแอซิดแบคทีเรีย

จำนวนมากและสามารถเพิ่มจำนวนได้ ทำให้สามารถควบคุมการหมักและเพิ่มอัตราการเกิดกรดในผลิตภัณฑ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ประกอบกับถ้าใช้กรรมวิธีในการหมักที่เหมาะสมและมีการควบคุมอย่างดี ย่อมประกันได้ถึงความปลอดภัยและคุณภาพของผลิตภัณฑ์สุดท้าย ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคมากขึ้น และพบว่าการเติมหัวเชื้อบริสุทธิ์ในกระบวนการหมักปลาส้มจะช่วยเพิ่มปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการส่งผลให้เกิดการหมัก ที่ดีและใช้เวลาหมักสั้นได้ปลาส้มที่มีคุณภาพดีสม่ำเสมอและปลอดภัย

นอกจากนี้มีรายงานของ Sulivan และคณะ (2002) พบว่าการนำแบคทีเรียแลคติกที่มีชีวิตและสามารถผลิตแบคทีริโอซินได้ไปใช้ในอาหารจะช่วยเป็นสารกันเสียทางชีวภาพในอาหาร และช่วยยืดอายุของอาหารทำให้เพิ่มความปลอดภัยในอาหาร



ภาพที่ 4.13 การเปรียบเทียบปริมาณกรดระหว่างการหมักแบบไม่ใช้หัวเชื้อ ( ) หัวเชื้อสด ( ) และแบบใช้หัวเชื้อผงหลังการทำแห้งแบบพ่นฝอย ( ) หัวเชื้อผงหลังเก็บรักษา 1 เดือน ( ) หัวเชื้อผงหลังการเก็บรักษา 2 เดือน ( )



ภาพที่ 4.14 การเปรียบเทียบค่า pH ระหว่างการหมักแบบไม่ใช้หัวเชื้อ ( ) หัวเชื้อสด ( ) และแบบใช้หัวเชื้อผงหลังการทำแห้งแบบพ่นฝอย ( ) หัวเชื้อผงหลังเก็บรักษา 1 เดือน ( ) หัวเชื้อผงหลังการเก็บรักษา 2 เดือน ( )

ตารางที่ 4.4 การเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดระหว่างการหมักปลาส้ม

	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (log CFU/g)		
	วันที่ 0	วันที่ 3	วันที่ 5
ไม่ใช้หัวเชื้อ	3.21±0.51	6.49±0.21	8.53±0.23
หัวเชื้อสด	5.37±0.14	8.53±0.20	9.32±0.12
หัวเชื้อผง(0 เดือน)	5.42±0.07	8.42±0.17	9.61±0.15
หัวเชื้อผง (1 เดือน)	5.04±0.12	8.04±0.05	9.01±0.07
หัวเชื้อผง (2 เดือน)	4.28±0.22	7.78±0.10	8.96±0.03

ตารางที่ 4.5 การเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแลคติกแอซิดแบคทีเรียระหว่างการหมักปลาส้ม

	ปริมาณแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (log CFU/g)		
	วันที่ 0	วันที่ 3	วันที่ 5
ไม่ใช้หัวเชื้อ	3.05±0.13	6.15±0.16	7.40±0.44
หัวเชื้อสด	5.54±0.07	8.60±0.14	9.72±0.22
หัวเชื้อผง(0 เดือน)	5.67±0.21	8.81±0.08	9.93±0.30
หัวเชื้อผง (1 เดือน)	5.11±0.08	8.21±0.03	9.43±0.05
หัวเชื้อผง (2 เดือน)	4.98±0.22	8.08±0.14	9.08±0.20

ตารางที่ 4.6 การตรวจวิเคราะห์ *E. coli* และ *Salmonella* sp. ระหว่างการหมักปลาส้ม

แบคทีเรีย		ระยะเวลาในการหมัก (วัน)		
		0	3	5
E.coli	แบบไม่ใช้หัวเชื้อ	พบ	พบ	ไม่พบ
	หัวเชื้อสด	พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
	หัวเชื้อผง	พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
	หัวเชื้อผง 1 เดือน	พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
	หัวเชื้อผง 2 เดือน	พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
Salmonella	แบบไม่ใช้หัวเชื้อ	พบ	พบ	ไม่พบ
	หัวเชื้อสด	พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
	หัวเชื้อผง	พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
	หัวเชื้อผง 1 เดือน	พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
	หัวเชื้อผง 2 เดือน	พบ	ไม่พบ	ไม่พบ

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาสารป้องกันเซลล์ที่ใช้ในการปกป้อง *L. plantarum* FT35 ในระหว่างการทำแห้งแบบพ่นฝอย คือ glucose, sucrose, lactose, maltodextrin DE10 และ soluble starch มี glass transition temperature (Tg) ของสารป้องกันเซลล์เท่ากับ 35.33 °C, 75.13 °C, 119.34 °C, 160 °C และ 241.8 °C จากการทดลองพบว่า สารป้องกันเซลล์ที่มี Tg สูงทำให้การรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35 สูงกว่าสารป้องกันเซลล์ที่มี Tg ต่ำ โดยสารป้องกันเซลล์ที่มี Tg สูงสามารถปกป้องเซลล์จุลินทรีย์และทำให้เซลล์สามารถต้านทานความร้อนได้ดีในระหว่างการทำแห้ง ซึ่งพบว่าเมื่อใช้ soluble starch เป็นสารป้องกันเซลล์ ทำให้จำนวนการรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35 สูงที่สุด คือ 93.4% และมีจำนวนเซลล์ที่บาดเจ็บในระหว่างการทำแห้งต่ำที่สุด คือ 0.387±0.22 log CFU/g. เมื่อนำผลิตภัณฑ์ผงหลังการทำแห้งเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30-35°C) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าการใช้ soluble starch เป็นสารป้องกันเซลล์ทำให้การรอดชีวิตของเซลล์จุลินทรีย์ในระหว่างการเก็บรักษาสูงที่สุด คือ 8.96 log CFU/g จึงนำมาศึกษาความเข้มข้นของ soluble starch ที่ระดับความเข้มข้น 1.5% 2.5%, 3.5% 4.5% และ 10% เพื่อใช้เป็นสารป้องกันเซลล์ *L. plantarum* FT35 ในระหว่างการทำแห้ง พบว่าการรอดชีวิตของเซลล์จุลินทรีย์เท่ากับ 91.3%, 93.4%, 84.9%, 76.2% และ 39.6% ตามลำดับ โดยเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารป้องกันเซลล์มีผลทำให้การรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35 ลดลง และพบว่าที่ระดับความเข้มข้นของ soluble starch 2.5% ทำให้การรอดชีวิตของจุลินทรีย์สูงสุด และนำผลิตภัณฑ์ผงที่ได้มาเก็บรักษา พบว่าจากเซลล์เริ่มต้น 10.65±0.23 log CFU/g เมื่อเก็บถึงสัปดาห์ที่ 8 ที่อุณหภูมิ 4°C มีเชื้อเหลือ 8.22±0.05 log CFU/g และที่ 30°C มีเชื้อเหลือ 4.37±0.55 log CFU/g นอกจากนี้ศึกษาประสิทธิภาพของผลิตภัณฑ์ผงหลังการทำแห้งแบบพ่นฝอยเพื่อใช้เป็นหัวเชื้อหมักปลาส้ม พบว่าเมื่อใช้หัวเชื้อผงในการหมักปลาส้มทำให้กระบวนการหมักเกิดได้เร็วขึ้น และเมื่อเปรียบเทียบกับการหมักปลาส้มแบบใช้หัวเชื้อสด พบว่า ประสิทธิภาพของหัวเชื้อไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และพบว่าการใช้หัวเชื้อผงในการหมักปลาส้มมีประสิทธิภาพดีกว่าการหมักแบบไม่เติมหัวเชื้อ โดยพบว่าเมื่อหมักปลาส้มจนถึงวันที่ 5 ทำให้ค่า pH ลดลงเหลือ 3.98 มีปริมาณกรด 1.82% และไม่พบแบคทีเรียก่อโรค *E. coli* และ *Salmonella* นอกจากนี้เมื่อนำหัวเชื้อผงหลังการเก็บรักษา 1 เดือนและ 2 เดือนมาใช้เป็นหัวเชื้อหมักปลาส้ม พบว่าประสิทธิภาพของหัวเชื้อผงลดลง และทำให้การ

เปลี่ยนแปลงค่า pH และปริมาณกรดช้ากว่าการใช้หัวเชื้อผงหลังการทำแห้งแบบพ่นฝอย (0 เดือน) แต่พบว่าหัวเชื้อผงหลังการเก็บรักษา 1 เดือนและ 2 เดือนมีประสิทธิภาพดีกว่าการหมักปลาส้มแบบไม่ใส่หัวเชื้อ และไม่พบการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค *E. coli* และ *Salmonella* โดยพบว่าการใช้หัวเชื้อผงในการหมักปลาส้มทำให้กระบวนการหมักเกิดได้เร็วขึ้น ทำให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพสม่ำเสมอและปลอดภัยต่อผู้บริโภค

ข้อเสนอแนะ

การใช้ Tg เป็นเกณฑ์ในการคัดเลือก สารป้องกันเซลล์ที่ เหมาะสม ต่อการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ในระหว่างการทำแห้งแบบพ่นฝอย จากงานวิจัยได้ทำการศึกษา Tg ของสารป้องกันเซลล์กลุ่มคาร์โบไฮเดรต โดยสารป้องกันเซลล์ที่มีอุณหภูมิ Tg สูงมีผลทำให้การรอดชีวิตของเซลล์จุลินทรีย์ดีกว่าสารป้องกันเซลล์ที่มีอุณหภูมิ Tg ต่ำ แต่งานวิจัยนี้ยังศึกษาไม่ครอบคลุมถึงสารป้องกันเซลล์กลุ่มอื่น เช่น สารประเภทโปรตีน จึงควรมีการศึกษา Tg ของสารป้องกันเซลล์ประเภทโปรตีน เพื่อนำมาใช้เป็นเกณฑ์ในการคัดเลือกสารป้องกันเซลล์ในการปกป้องเซลล์จุลินทรีย์ในระหว่างการทำแห้งแบบพ่นฝอยต่อไป

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กรม วิทยาศาสตร์บริการ. การซึมผ่านของอากาศผ่านฟิล์มพลาสติกเพื่อใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ [ออนไลน์]. 2552. แหล่งที่มา: http://www. lib3.dss.go.th/fulltext/dss_other/content.pdf [14 พฤษภาคม 2554]

จริยา เลิศนที, รัชพันธ์ เจริญไทยพานิช และสิริธร รุจิเกียรติขจร. 2551. การใช้จุลินทรีย์ผลิตกรดแลคติกเป็นหัวเชื้อในการหมักปลาส้ม. โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์, ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ทองคำ คิมหะมานนท์. 2538. การเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ในระหว่างการผลิตปลาหมัก. วิทยานิพนธ์ ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต , สาขาวิชาจุลชีวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

นิธิยา รัตนาปนนท์. 2549. เคมีอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมโอเดียนสโตร์

บวรศักดิ์ ลีนานนท์. 2531. ผลของนมสดต่างชนิดและนมคืนรูปต่อคุณภาพ ของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวเข้มข้น (ยแมร์). วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต , ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

เพิ่มพงษ์ ศรีประเสริฐศักดิ์. 2542. การผลิตและการเก็บเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่ใช้เป็นอาหารเสริมสุกรในรูปเชื้อผง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต , สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาศาสตร์เกษตรศาสตร์.

ยุทธพงศ์ ประชา สิทธิศักดิ์, จารุรัตน์ เอี่ยมศิริ, สุรศักดิ์ สัจบุตร, วิชิต โรจน์กิตติคุณ และสมจิต ภู่บำเพ็ญ. 2552. การปรับปรุงคุณภาพสุขอนามัยของปลาส้มฟักด้วยรังสี แกมมา. ใน การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีนิวเคลียร์ ครั้งที่ 11. หน้า 1-13. 2-3 กรกฎาคม 2552. ณ หอประชุมมหิศร ไทยพาณิชย์ปาร์ค พลาซา กรุงเทพมหานคร.

รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. การประเมินอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร. [ออนไลน์]. 2545. แหล่งที่มา: http://www.phtnet.org/article/view-article. asp?aID=12 [8 มกราคม 2555]

วรรณธิชา ลาภศิริ และ ศรีเวียง ทิพกานนท์. 2549. การแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกจากหน่อไม้เปรี้ยวเพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต , สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ.

วรายุทธ สุระนรากุล. 2550. คุณสมบัติของแบคเทอริโอซินที่สร้างโดยแลคติกแอสิดแบคทีเรียที่แยกได้จากอาหารหมัก. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต, สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

วิลาวัณย์ ภูมิดอนมิ่ง. 2548. การศึกษาและพัฒนาผลิตภัณฑ์ปลาส้ม . ภาควิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร.

ศศิวิมล ภักดี. 2548. การคัดเลือกและศึกษาลักษณะเฉพาะของแบคทีเรียแล คติกที่ผลิตสาร ยับยั้งจุลชีพ. วิทยานิพนธ์ ปริญญามหาบัณฑิต, สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมาคมอุตสาหกรรมพลาสติกไทย. มาตรฐานพลาสติกเพื่อใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ถนอมอาหาร. [ออนไลน์]. 2552. แหล่งที่มา : http://pantavanij.blogspot.com/2009/08/13. html [18 สิงหาคม 2554]

สาธารณสุขกระทรวง. คู่มือการปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง มาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค . [ออนไลน์]. 2553. แหล่งที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/vocab /pathogen [12 สิงหาคม 2554]

สุพิชชา วัฒนะประเสริฐ. 2550. ภาวะที่เหมาะสมในการผลิตจุลินทรีย์โพรไบโอติกผงด้วย กระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย . วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต , สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อาภัสรา กอบกัยกิจ. 2537. การแยกแลคติกแอสิดแบคทีเรียที่ผลิตสารต่อต้านจุลชีพจากอาหารหมัก . วิทยานิพนธ์ ปริญญามหาบัณฑิต, สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกร ณ์ มหาวิทยาลัย.

อุตสาหกรรมกระทรวง . มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนปลาส้ม มผช.26/2548. [ออนไลน์]. 2548. แหล่งที่มา: http://www.tisi.go.th/otop/pdf_file/ [28 กรกฎาคม 2554]

โอภาส มั่นคง. แปรรูปปลาส้มถอดก้าง-ปลาแดดเดียว จากเขื่อนลำปา ง. วารสารวิชาการเทคโนโลยีชาวบ้าน. (มิถุนายน – กรกฎาคม 2549) : 22-23

ภาษาอังกฤษ

A. O. A. C. 1990. Offical Methods of Analysis. 16th ed. Vol. 2. Washington, D. C. : Association Official Analytical Chemist.

A. O. A. C. 1995. Offical Methods of Analysis. 16th ed. Vol. 2. Washington, D. C. : Association Official Analytical Chemist.

A. O. A. C. 2000. Offical Methods of Analysis. 16th ed. Vol. 2. Washington, D. C. : Association Official Analytical Chemist.

Admin, T. A. 2010. Food chemistry of carbohydrate and drying process. Drying Tecnology. 55: 421-433.

Ananta, E., M. Volkert, K., and Knorr, D. 2005. Cellular injuries and storage stability of spray-dried *Lactobacillus rhamnosus* GG. International Dairy Journal. 15: 399-409.

Bhadeshia, H. K. D. H. (2000). Differential Scanning Calorimetry. Materials Science and Metallurgy. University of Cambridge.

Bhandari, B. R., Datta, N., and Howes, T. 1997. Problems associated with spray drying of sugar-rich foods. Drying Tecnology. 15(2): 671-684

Boza, Y., Barbin, D., and Scamparini, A. R. P. 2004. Effect of spray-drying on the quality of encapsulated cells of *Beijerinckia* sp. Process Biochmistry. 39: 1275-1284.

Bryant, G., Koster, K. L., and Wolfe, J. 2001. Membrane behavior in seeds and other systems at low water content : the various effects of solutes. Seed Science Research. 11:17-25

Buitink, J., Van den Dries, I. J., Hoekstra, F. A., Alberda, M., and Hemminga, M. A. 2000. High critical temperature above Tg may contribute to the stability of biological systems. Biophysical Journal. 79: 1119-1128.

Chen, L. S., Gardner, U. T., Gorbach, S. L., Sullivian, D. J., and Chou, L. S. 2003. The freeze-drying of lactic acid bacteria. Journal of Dairy Science. 88: 34-37.

Corcoran, B. M., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., and Stanton, C. 2004. Comparative survival of probiotic *Lactobacillus* spray-dried in the presence of prebiotic substances. Journal of Applied Microbiology. 96: 1024-1039.

Costa, H. P., Teixeira, P., and Kirby, R. 2002. Storage of lyophilized cultures of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. Bulgaricus, Journal of Biotechnology. 20: 248-254.

Cox, C. S. 1993. Roles of water molecules in bacteria and viruses. Origins of Life Evaluation of Biosphere. 23: 29-36.

Crowe, J. H., Crowe, L. M., and Chapman, D. 1984. Infrared spectroscopic studies on interactioms of water and carbohydrates with a biological membrane. Biochemistry and Biophysical research communications. 232: 400-407.

Desmond, C., Ross, R. P., O' Callaghan, E., Fitzgerald, G., and Stanton. C. 2002. Improved survival of *Lactobacillus paracasei* NFCB 338 in spray-dried powders containing gum acacia. Journal of Applied Microbiology. 93: 1003-1011.

Desrosier, N. W. 1959. The Technology of Food Preservation. The AVI Publishing Co. Inc., Westport Connecticut. New York.

Dziezak, J. D. 1988. Microencapsulation and encapsulated ingredients. Journal of Food Technology. 42: 136-151.

Elizondo, H., and Labuza, T. P. V. 1974. Death kinetics of yeast in spray drying. Journal of Biotechnology and Bioengineering. 16: 1245-1259.

Espina, F., and Packard, V. S. 1979. Survival of *Lactobacillus acidophilus* in spray drying process. Journal of Food Protection. 42: 149-152.

Farias, M. E., Holgado-Ruiz, A. A., and Sesma, F. 1995. Bacteriocin production by lactic acid bacteria isolated from regional cheese: inhibition of foodborne pathogens. Journal of Food Protection. 57: 1013-1015.

Faster, M. E. 1995. Spray-dried powders for lnhalation. Doctoral's Thesis, Faculty of pharmacy. University of Uppasly Sweden.

Food network. Carbohydrate chemistry and food technology. Journal of Food Science [online]. 2010. Available from : http://www.foodnetworksolution.com. [2010, August 3]

Foster, E. M. 1962. Symposium on lactic starter culture. Journal of Dairy Science. 45: 1290-1294.

Fu, W. Y., and Etzel, M. R. 1995. Spray drying of *Lactobacillus lactis* spp. lactis C2 and cellular injury. Journal of Food Science. 60: 195-200

Garbutt, J. 1997. Essentials of Food Microbiology. Arnold, London.

Gardiner, G. E., Sullivan, O. E., Kelly, J., Auty, M. A. E., Fitzgerald, G. F., Collins, J. K., Ross, R. P., and Stanton, J. 2000. Comparative survival rates of human-derived probiotic *Lactobacillus paracasei* and *Lactobacillus salivarius* strains during heat treatment and spray drying. Applied and Environmental Microbiology. 66: 2605-2612.

Hammes, O. W., and Tichazeak, K. P. 1991. The potential of lactic acid bacteria for the production of safe and wholesome food. Zeitschrift Fur. Lebensmittel-Untersuchung Und Forschung. 198(3): 193-201.

Heckly, R. J. 1978. Preservation of Microorganisms. Applied of Microbiology. 24: 1-53

Hiller, T. Y., and Davision R. T. 1991. Drying technologies of foods their history and future. Drying Technology. 7(2): 315-369.

Johnson, J. A. C., and Etzel, M. R. 1993. Properties of *Lactobacillus helveticus* CNRZ-32 attenuated by spray-drying, freeze-drying or freezing. Journal of Dairy Science. 78: 761-768.

Kilara, A., Shahani, K. M., and Das, N. K. 1976. Effect of cryoprotective agents on freeze drying and storage on lactic cultures. Journal of Cultured Dairy Products. 11(3): 8-7

Kim, S. S., and Bhowmik, S. R. 1990. Survival of lactic acid bacteria during spray drying of plain yogurt. Journal of Food Science. 55(4): 1008-1010.

Koster, K. L., Lei, Y. P., Anderson, M., Martin, S., and Bryant, G., 2000. Effects of vitrified and nonvitrified sugars on phosphatidylcholine fluid-to-gel phase transitions. Biophysical Journal. 78: 1932-1946.

Koster, K. L., Maddocks, K. J., and Bryant, G. 2003. Exclusion of maltodextrins from phosphatidylcholine multilayers during dehydration : effects on membrane phase behaviour. Journal European Biophysicals. 32: 96-105.

Lawrence, S., and Terence, F. 1979. D-Lactic acidosis due to abnormal gut flora. The New England Journal of Medicine. 306(22): 1344-1348.

Lee, J. S., and. Kraft. A. A. 1984. Compendium of methods for the microbiological examination of Food. American Public Health Association. 2: 155-159.

Leslie, S., Israeli, E., Lighthart, B., Crowe, J., and Crowe, L. 1995. Trehalose and sucrose protect both membranes and proteins in intact bacteria during drying. Applied and Environmental Microbiology. 61: 3592-3597

Lian, W. C., Hsiao, H. C., and Chou, C. C. 2002 Survival of bifidobacteria after spray drying. Journal of Food Microbiology. 74: 79-86.

Lin, L. Z., Jin, M. R. R., and Baidoo, S. K. 2000. Inhibition of enterotoxigenic *Escherichia coli* K88, K99 and 987P by the *Lactobacillus* isolates from porcine intestine. Journal of Science of Food and Agriculture. 80: 619-624.

Linders, L. J. M., Wolkers, W. F., Hoekstra, F. A., and Vantriet, K. 1997. Effect of added carbohydrates on membrane phase behavior and survival of dried *Lactobacillus plantarum*. Cryobiology Journal. 35: 31-40.

Livense, G., and Karel, M. 1993. The effect of phase transitions on release of n-propanol entrapped in carbohydrate glasses. Journal of Food Engineering. 24(1): 1-13

Lodato, P., Huergo, M. S., and Buera, M. P. 1999. Viability and thermal stability of a strain of *Saccharomyces cerevisiae* freez-dried in different sugar and polymer matrices. Applied Microbiology and Biotechnology. 52: 215-220, Cited in Anonymous, D. G., and McKay, L. L. 1991. Simple and rapid method for isolating large plasmid DNA from lactic *Streptococci*. Applied and Environmental Microbiology. 46: 549-552.

Morgan, C. A., Herman, N., White, P. A., and Vesey, G. 2006. Preservation of micro-organisms by drying: A review. Journal of Microbiological Methods. 66: 183-193.

Nisen, T. A., Conway, P. T., Gorbach, S. I., Dahiya, S. R. and Clooins, J. J. 2009. Survival of lactic acid bacteria in the human stomach and adhesion to intestinal cells. Journal of Dairy Science. 60: 2-13.

Oldenhof, H., Wolkers, W. F., Fonseca, F., Passot, S. P., and Marin, M. 2005. Effect of sucrose and maltodextrin on the physical properties and survival of air-dried *Lactobacillus bulgaricus* an in situ fourier transform infrared spectroscopy study. Biotechnology Program. 21: 885-892.

Ostergaard, D., Akin, S., and Ozer, B. 1998. Effect of inulin and lactulose on survival of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium bifidus* BB-02 in acidophlus-bifidus yoghurt. Food Science and Technology International. 11: 19-24.

Polymer Science Learning Center. Differential scanning calorimetry [online]. 2005. Available from : http://pslc.ws/macrog/dsc. [2010, October 9]

Re, M.I. 1998. Microencapsulation by spray-drying. Drying Technology. 16: 413-425.

Robert, R. A., and Knorr, R. H. 2009. Overcoming the technological hurdles in the development of probiotice foods. Journal of Applied Microbiology. 98: 1410-1417.

Rodriguez, T. M., Tsourouflis, S., Flink, J. M., and Karel, M. 2007. Loss of structure in freeze-dried carbohydrates effect of temperature moisture content and composition. Journal of the Science of Food and Agriculture. 27: 509-519.

Roos, B. R. 1993. Melting and glass transition of low molecular weight carbodydrates. Carbohydrate Research. 238: 39-48.

Rozoglu, J. M., Shimada, Y., Roos, Y., and Karel, M. 1987. Oxidation of methyl linoleate encapsulated in amorphous lactose-based food model. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 39: 637-641.

Santivarangkna, C., Higl, B., and Foerst. P. 2008. Protection mechanisms of sugar during different stages opreparation process of dried lactic acid starter cultures. Journal of Food Microbiology. 25: 429-441

Seppo, S., and Atte, W. 1993. Lactic acid bacteria. Journal of Biochemistry. 3: 51-63.

Silva, J., Carvalho, A. S., Pereira, H., Teixeira, P., and Gibbs, P. A. 2004. Induction of stress tolerance in *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* by the addition of sucrose to the growth medium. Journal Dairy Research. 71: 121-125.

Sinha, R. T., and Ranganathan, B. 1974. A Research note: Protective effect of fortified skimmilk is suspending medium of freeze drying of difference lactic acid bacteria. Journal of Food Science. 39: 641-642.

Sulivan, K., Godward, G., Reynolds, N., Arumugaswamy, R., Peiris, P., and Kailasapathy, K. 2002. Encapsulation of probiotic bacteria with alginate-starch and evaluation of survival in simulated gastrointestinal condition and in yoghurt. International Journal of Microbiology. 62: 47-55.

Sullivan, U., and Lucke, F. K. 2007. Antimicrobial activity of *Lactobacillus sake* isolated from meat. Applied and Environmental Microbiology. 55: 1901-1906.

Sunny-Roberts, E. O., Ananta, E., Knorr, D. 2007. Flow cytometry assessment of *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) response to non-eletrolytes stress. Nutrition and Food Science. 37: 184-200.

Teixeria, P., Castro, H., and Kirby, R. 1995. Spray drying as a method for preparing concentrated cultures of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* following spray-drying. Journal Application of Bacterial. 78: 456-462.

Vereyken, I. J., Chupin, V., Demel, R. A., Smeekens, S. C., and Kruijff, B. 2001. Fructans insert between the headgroups of phospholipids. Biochemical and Biophysical Research. 1510: 307-320.

Visessanguan, M., Wanismail, B., Johnson, M. C., and Ray, B. 2007. Cellular damage in dried *Lactobacillis acidophilus*. Journal of Food Protection. 49: 47-53.

WHO/FAO Joint Working Group. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. [online]. 2002. Available from: http://www.moh.govt.nz/foodandnutrition [4 March 2550]

Wood, B. J. B., and Hodge, M. M. 1985. Yeast-lactic acid bacteria interactions and their contribution to fermented foodstuffs. Microbiology of Fermented Foods. 1: 263-293.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์และทดลอง

1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น โดยวิธี A. O. A. C. (1995)

วิธีวิเคราะห์

1.1 อบภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105°C นาน 2-3 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น หลังจากนั้นชั่งหาน้ำหนัก

1.2 ทำข้อ 1.1 ซ้ำจนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

1.3 ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนอย่างละเอียดประมาณ 1-3 กรัม ใส่ในภาชนะที่หาความชื้นซึ่งทราบน้ำหนักแล้ว

1.4 นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าอุณหภูมิ 105°C นาน 4-5 ชั่วโมง

1.5 นำออกจากตู้อบใส่ในโถดูดความชื้นหลังจากนั้นชั่งหาน้ำหนัก

1.6 อบซ้ำอีกครั้งละประมาณ 30 นาทีและกระทำเช่นเดิมจนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

1.7 คำนวณปริมาณความชื้นดังสมการ

$$\text{ปริมาณความชื้น} \quad (\%) = \frac{\text{ผลต่างของน้ำหนักตัวอย่างก่อนอบและหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100$$

หมายเหตุ

ปริมาณความชื้นของเชื้อสดที่ได้จากการหมักเซลล์ 71.9%$\pm$1.21

2. การรอดชีวิต (%)

การรอดชีวิต (%) = $(\log N/\log N_0) \times 100$

กำหนด N = จำนวนเชื้อหลังทำแห้ง (CFU/g)

N_0 = จำนวนเชื้อก่อนทำแห้ง (CFU/g)

3. การวัดปริมาณเซลล์บาดเจ็บ (sensitivity test) ตามวิธีของ Sunny-Robert และคณะ (2007)

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar จากนั้นทำการการฆ่าเชื้อ (autoclave 121°C 15 นาที) และเติม NaCl 5%ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อหลังจากผ่านการฆ่าเชื้อ ตรวจวัดปริมาณเซลล์บาดเจ็บโดยวิธี spread plate บ่มที่อุณหภูมิ 37°C นาน 24-48 ชั่วโมง จากนั้นตรวจนับจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตบนอาหารเลี้ยงเชื้อ log (CFU/g) และคำนวณปริมาณเซลล์บาดเจ็บหลังการทำแห้งแบบพ่นฝอย (ปริมาณเซลล์ที่เจริญบนอาหาร MRS - ปริมาณเซลล์ที่เจริญบนอาหาร MRS ที่เติม 5% NaCl)

4. การหาปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ โดยวิธี A. O. A. C. (1995)

สารเคมี

- สารละลายฟีนอฟธาลีน เตรียมโดยละลายฟีนอฟธาลีน 1 กรัม ในเอทิลแอลกอฮอล์ 95% ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล เจือจางด้วยน้ำกลั่นเป็น 200 มิลลิลิตร
- เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ส่วนที่ไม่ตกตะกอน ใช้สารละลายส่วนใสมาเตรียมสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล โดยใช้ Stock solution ประมาณ 8 มิลลิลิตร ต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร ไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานโปรตัสเซียมไฮโดรเจนพธาเลต (potassium hydrogen phthalate)

วิธีการ

1. นำตัวอย่างปลาส้ม 3 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่นปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ (โดยอุ่นน้ำกลั่นให้มีอุณหภูมิประมาณ 60°C) 3 มิลลิลิตร ต่อตัวอย่าง
2. เติมสารละลายฟีนอฟธาลีน 1-2 หยด
3. ไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล จนถึงจุดยุติ ซึ่งจะได้สีชมพูอ่อน
4. คำนวณหากรดในรูปกรดแลกติกตามสูตร

$$\text{ปริมาณกรด (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{N \times V \times 90.08 \times 100}{1000 \times Wt}$$

กำหนดให้ N = ความเข้มข้นมาตรฐานของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

V = ปริมาตร (ml) ของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

Wt = น้ำหนัก (g) ของปลาส้ม

5. วิธีวัดความหนืดของสารป้องกันเซลล์

เตรียมสารตัวอย่าง (glucose sucrose lactose maltodextrin DE10 และ soluble starch) ใส่ใน viscometer ด้วยปริมาตรที่แน่นอน โดยใช้ viscometer ขนาด 75 A442 ที่อุณหภูมิ 25°C จากนั้นปล่อยให้ตัวอย่างไหลอย่างอิสระภายใต้แรงดึงดูดของโลกผ่านหลอดแก้วเล็กๆ โดยเริ่มจับเวลาเมื่อส่วนบน (head level) ของสารตัวอย่างไหลถึงจุดจับเวลาจุดแรก (start mark) และหยุดเมื่อถึงจุดจับเวลาจุดที่สอง (stop mark) นำเวลาที่ได้ไปคำนวณหาค่าความหนืดของสารป้องกันเซลล์

อุปกรณ์การทดลอง

1. viscometers ซึ่งเป็นหลอดแก้วเล็กๆ ที่ผ่านการตรวจสอบความถูกต้องแล้ว (calibrated glass capillary) และสามารถให้ความแม่นยำได้ตามกำหนด
2. viscometer holder ที่สามารถจับ viscometer ให้อยู่ในแนวดิ่งและอยู่ในลักษณะเหมือนกับตอนที่ทำการ Calibrated
3. viscometer thermostat and bath ใช้ของเหลวที่สามารถมองผ่านได้และให้มีปริมาตรที่สามารถจุ่ม viscometer ในส่วนที่ใส่สารตัวอย่างอยู่ให้ลึกอย่างน้อย 20 มิลลิเมตรจากผิวบนของของเหลว และสูงอย่างน้อย 20 มิลลิเมตรจากก้นของ bath และต้องควบคุมอุณหภูมิให้ได้โดยผิดพลาดไม่เกิน 0.02 °C (0.04°F)
4. นาฬิกาจับเวลา ซึ่งให้ความถูกต้องในการจับเวลาไม่ต่ำกว่า 0.07%

วิธีการ

1. เลือก viscometer ที่แห้งและสะอาด ตามชนิดและขนาดที่เหมาะสมสำหรับการใช้งาน หากความหนืดมาก ๆ ควรจะเลือก viscometer ที่มี capillary กว้าง ส่วนตัวอย่างที่มีความหนืดต่ำควรใช้ viscometer ที่มี capillary แคบ โดยเวลาที่ใช้ในการทดลองในช่วงจับเวลาระหว่างจุดที่หนึ่ง (start mark) และจุดที่สอง(stop mark) ไม่ควรต่ำกว่า 200 วินาที

2. นำตัวอย่างใส่ใน viscometer ตามวิธีที่กำหนด โดยใช้วิธีคว่ำ viscometer ให้ทางด้านที่ไม่มีจุดจับเวลาจุ่มตัวอย่างแล้วใช้ suction ดูดอีกทางหนึ่งจนได้ปริมาณตัวอย่างตามที่ viscometer กำหนด
3. นำ viscometer ไปแขวนใน viscometer bath ที่ตั้งอุณหภูมิไว้แล้วและทิ้งไว้จนมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิตามที่กำหนด
4. ใช้ suction ปรับให้ระดับบน (head level) ของตัวอย่างอยู่สูงกว่าจุดจับเวลาจุดแรก (start mark) ประมาณ 5 มิลลิเมตร ปล่อยให้ตัวอย่างไหลโดยอิสระภายใต้แรงโน้มถ่วงของโลก เริ่มจับเวลาเมื่อระดับบนไหลถึงจุดจับเวลาจุดแรกและหยุดเมื่อถึงจุดจับเวลาจุดที่สอง (stop mark) บันทึกเวลา

การคำนวณและการรายงานผล

1. การคำนวณ

1.1 $V = Ct$

โดยที่ V = kinetic viscosity มีหน่วยเป็น cSt (centristokes)

C = ค่าคงที่ของ viscometer มีหน่วยเป็น cSt/s

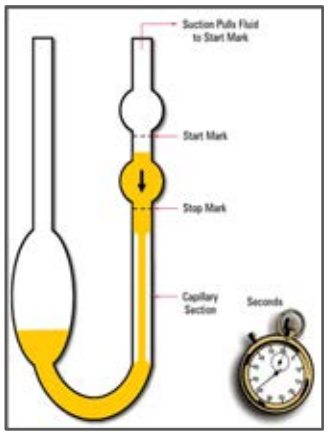
t = flow time ที่ได้จากการจับเวลา มีหน่วยเป็น s (วินาที)

1.2 $\eta = \rho V$

โดยที่ η = dynamic viscosity มีหน่วยเป็น cP (centipoises)

ρ = ความหนาแน่นของของเหลว มีหน่วยเป็น kg/m3

V = kinetic viscosity มีหน่วยเป็น cSt (centristokes)



ภาพที่ 1-ก เครื่องวัดความหนืด

ที่มา: Foodnetwork (2010)

6. การหาความถ่วงจำเพาะของของแข็ง

วิธีการ

1. ใส่ตัวอย่าง(glucose sucrose lactose maltodextrin DE10 และ soluble starch) ในขวดชั่งน้ำหนัก อบให้แห้งในเตาอบที่อุณหภูมิ 105-110^{o}C จนได้น้ำหนักคงที่ นำออกจากเตาอบแล้วปิดขวดทันที
2. ทำความสะอาด pycnometer และจุก อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 105-110^{o}C แล้วใส่ใน desiccator ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นใส่น้ำกลั่นลงใน pycnometer จนเต็มขวด ค่อยๆ ปิดจุกเพื่อไล่อากาศและปริมาณน้ำกลั่นส่วนเกินให้ออกทาง capillary เช็ดจุกและรอบขวดให้แห้ง นำไปชั่งน้ำหนัก (W) บันทึกอุณหภูมิห้อง (t) และนำออกอบให้แห้ง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น (desicator)
3. ใส่ตัวอย่าง (จากข้อ 1) ประมาณ 4-6 กรัม ลงใน pycnometer ชั่งน้ำหนักของ pycnometer + จุก + ตัวอย่าง จดน้ำหนักเป็น W เติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาณครึ่งขวด คนให้ทั่วด้วย glass rod เพื่อกำจัดฟองอากาศที่ติดอยู่ที่ผิวของตัวอย่าง ล้าง glass rod ด้วยน้ำกลั่นปริมาณเล็กน้อยลงใน pycnometer จากนั้นเติมน้ำกลั่นจนเต็มขวด ค่อยๆ ปิดจุก เช็ดน้ำส่วนเกินออก ชั่งน้ำหนัก W_2

การคำนวณ (ทำการทดลองที่อุณหภูมิเท่ากันตลอด และในบรรยากาศที่แห้ง) คำนวณความถ่วงจำเพาะจาก

$$G = \frac{(W-P)}{[(W_1-P)-(W_2-W)]}, \quad \text{absolute density} = [G(d-a)] + a$$

G = specific gravity with respect to water at temperature T

d = absolute density of water at temperature T

a = absolute density of air at temperature T

t = temperature at which all weighings were made

P = weight of the stoppered pycnometer

W = weight of the stoppered pycnometer and specimen

W_1 = weight of the stoppered pycnometer filled with water

W_2 = weight of the stoppered pycnometer, specimen and water

7. การวิเคราะห์ค่า water activity

การวิเคราะห์ค่า water activity คือ การหาค่าของโมเลกุลน้ำที่พร้อมจะเปลี่ยนสภาวะจากของเหลวไปเป็นไอ เป็นส่วนของน้ำอิสระเท่านั้น โดยนำตัวอย่างอนุภาคผงที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอยใส่ในถ้วยบรรจุตัวอย่าง มาวัดค่า water activity ที่อุณหภูมิ 25°C โดยใช้เครื่องวัด water activity model series 3 บริษัท DECAGON DEVICE ประเทศสหรัฐอเมริกา ดังรูปที่ 2-ก

ภาพที่ 2-ก เครื่องวัด water activity

8. การทำแห้งแบบพ่นฝอย

เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying) model DV-2 บริษัท NIRO ประเทศเยอรมนี ข้อมูลประกอบ

component type คือ mobile minor

component size คือ 0.8

identification NO. คือ 3163

year of manufacture คือ 2001

ภาวะที่ใช้อุณหภูมิลมเข้า 185°C และ อุณหภูมิลมออก 85±5 °C

feed rate 20 มิลลิลิตรต่อนาที ดังรูป 3-ข

ภาพที่ 3-ก เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray dryer)

9. ศึกษาขนาดของอนุภาคผงด้วยกล้องจุลทรรศน์

นำตัวอย่างอนุภาคผงที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย มาทดสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์ (light microscope) เพื่อทดสอบลักษณะปรากฏโดยรวมของอนุภาคผงและวัดขนาดของอนุภาคผงหลังการทำแห้งแบบพ่นฝอย ที่กำลังขยาย 200 เท่า

10. การบรรจุผลิตภัณฑ์ผงแบบสภาวะสุญญากาศ

นำตัวอย่างอนุภาคผงที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย มาบรรจุในถุงลามิเนตแบบภาวะสุญญากาศ โดยใช้เครื่องปิดผนึกถุงแบบสุญญากาศ (vacuum sealer)

packing speed : 13 time/min

pressure power : 1 KPa

sealing time : 2.5 second

hot-sealing power : 0.8 KW (middle)

ภาคผนวก ข

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อและวิธีวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

1. การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา โดยวิธี A. O. A. C. (1995)

Plate Count agar (PCA) ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

การเตรียมตัวอย่าง โดยชั่งตัวอย่าง 25 กรัม โดยวิธีปราศจากเชื้อ แล้วเติมสารละลาย normal saline 0.85% ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 225 ml ปั่นตัวอย่างให้เข้ากันด้วยเครื่อง stomacher จะได้สารละลายตัวอย่างที่มีระดับความเจือจาง 1:10 จากนั้นทำ serial dilution จนถึง 10^{-6} ใช้ spread plate technique โดยการปิเปตตัวอย่างที่มีระดับความเจือจางต่างๆ กันปริมาตร 0.1 ml ลงในจานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ทำซ้ำที่ระดับความเจือจางละ 3 ซ้ำ นำไปบ่มที่ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง คัดเลือกจากเพาะเชื้อที่มีโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี แล้วนับจำนวนโคโลนีและหาค่าเฉลี่ยโคโลนีที่นับในแต่ละระดับความเจือจางคูณด้วยค่า dilution factor ของระดับความเจือจางที่นับได้ คำนวณเป็นจำนวนโคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม (CFU/g)

2. วิธีการตรวจหาปริมาณแบคทีเรียแลคติก โดยวิธี A. O. A. C. (1995)

MRS medium ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

การเตรียมตัวอย่าง โดยชั่งตัวอย่าง 25 กรัม โดยวิธีปราศจากเชื้อ แล้วเติมสารละลาย normal saline 0.85% ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 225 ml ปั่นตัวอย่างให้เข้ากันด้วยเครื่อง stomacher จะได้สารละลายตัวอย่างที่มีระดับความเจือจาง 1:10 จากนั้นทำ serial dilution จนถึง 10^{-6} ใช้ spread plate technique โดยการปิเปตตัวอย่างที่มีระดับความเจือจางต่างๆ กันปริมาตร 0.1 ml ลงในจานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ทำซ้ำที่ระดับความเจือจางละ 3 ซ้ำ นำไปบ่มที่ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง คัดเลือกจากเพาะเชื้อที่มีโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี แล้วนับจำนวนโคโลนีและหาค่าเฉลี่ยโคโลนีที่นับในแต่ละระดับความเจือจางคูณด้วยค่า dilution factor ของระดับความเจือจางที่นับได้ คำนวณเป็นจำนวนโคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม (CFU/g)

3. การวิเคราะห์หาเชื้อ *Salmonella* sp. โดยวิธี A. O. A. C. (2000)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

lactose broth (LB) เข้มข้นร้อยละ 0.5

xylose lysine decarboxylase (XLD)

selenite cysteine broth (SCB)

salmonella shigella ager (SSA)

bismuth sulfite agar (BSA)

triple sulfite Iron agar

การเตรียมตัวอย่าง โดยชั่งตัวอย่าง 25 กรัม โดยวิธีปราศจากเชื้อ แล้วเติมสารละลาย lactose broth เข้มข้นร้อยละ 0.5 ปริมาตร 225 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำของผสมที่ได้มาเทใส่ในขวดดูแรนที่ปลอดเชื้อ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำมาบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปิเปตตัวอย่างขึ้นมา 1 ml ลงในอาหาร SCB ปริมาตร 10 ml บ่มที่อุณหภูมิ 35-37°C เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง แล้วเขี่ยเชื้อจาก plate มาเพาะบนอาหาร SSA BSA และ XLD สังเกตโคโลนีและสังเกตการเปลี่ยนแปลงของอาหารเลี้ยงเชื้อ

SSA : โคโลนีของเชื้อ *Salmonella* sp. จะไม่มีสีหรือสีชมพูอ่อน บางโคโลนีมีสีดำตรงกลาง

BSA : โคโลนีของเชื้อ *Salmonella* sp. มีสีน้ำตาลเข้ม หรือสีดำ บางครั้งอาจมีโคโลนีที่สะท้อนแสง อาหารรอบๆ โคโลนีมีสีน้ำตาล

XLD : โคโลนีของเชื้อ *Salmonella* sp. จะมีสีชมพูอ่อน บางโคโลนีมีสีดำตรงกลาง

4. ตรวจเชื้อ *E.coli* โดยใช้ 3M Petrifilm™

วิธีทำ

การเตรียมตัวอย่าง โดยชั่งตัวอย่าง 25 กรัม โดยวิธีปราศจากเชื้อ แล้วเติมสารละลาย normal saline 0.85% ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 225 ml ปั่นตัวอย่างให้เข้ากันด้วยเครื่อง stomacher จะได้สารละลายตัวอย่างที่มีระดับความเจือจาง 1:10 จากนั้นทำ serial dilution จนถึง 10^{-6} ใช้ spread plate technique โดยการปิเปตตัวอย่างที่มีระดับความเจือจางต่างๆ

1) การหยดตัวอย่าง (inoculate) – เปิดแผ่นฟิล์มด้านบนขึ้นเพื่อหยดตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร

2) การบ่มตัวอย่าง (incubate) - บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

3) การนับจำนวน (enumerate) - นับโคโลนีสีแดงและน้ำเงินที่มีฟองแก๊สเป็น coliform และนับโคโลนีสีน้ำเงินที่มีฟองแก๊สเป็น *E. coli* ซึ่งในขณะเดียวกันก็สามารถนำไปอ่านได้ด้วยเครื่องอ่าน 3M petrifilm™ plate reader ซึ่งสามารถอ่านได้ภายใน 4 วินาทีต่อแผ่น

ภาพที่ 1-ข petrifilm

5. สูตรอาหารน้ำมะพร้าว

สูตรอาหารน้ำมะพร้าวนำมาจากงานวิจัยของ (เพิ่มพงษ์ ศรีประเสริฐศักดิ์, 2524) เตรียมน้ำมะพร้าวโดยนำภาชนะรองรับน้ำมะพร้าวจากลูกมะพร้าวโดยตรง แล้วใช้ผ้าขาวบางกรองสิ่งสกปรกออกไป หลังจากนั้นนำน้ำมะพร้าวไปต้มจนเดือดประมาณ 5 นาที ทิ้งให้เย็นนำใส่ภาชนะที่สะอาดเข้าแช่แข็งเพื่อเก็บไว้ใช้งาน

สูตรอาหารน้ำมะพร้าว

peptone	1%
sodium acetate	0.5%
yeast extract	0.5%
ammonium citrate	0.2%
tween 80®	0.1%

น้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตร

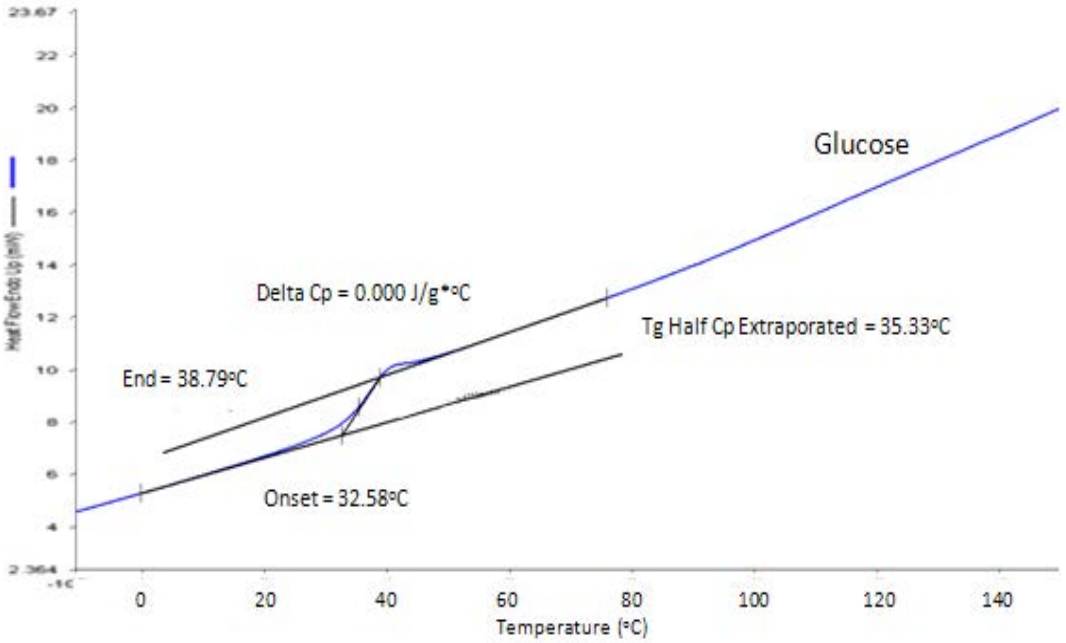
นำใส่เครื่องหมักเชื้อขนาด 5 ลิตร ทำการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที ดังรูป 2-ข

ภาพที่ 2-ข เครื่องหมักเชื้อ (fermenter)

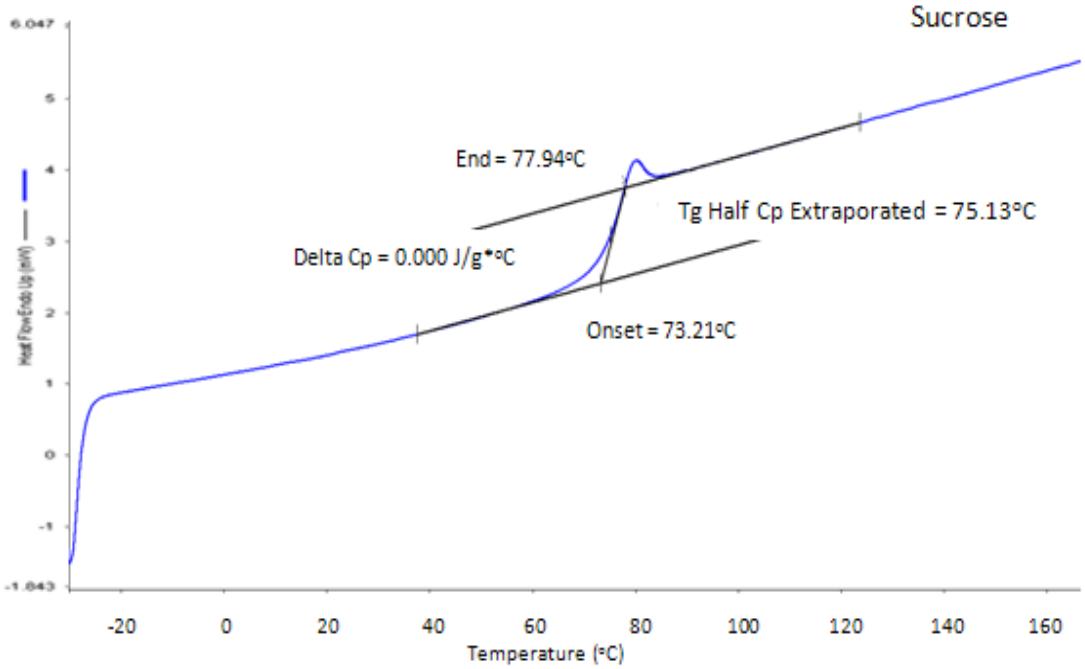
6. ส่วนประกอบทำปลาส้ม สูตร 4

ปลาตะเพียน	100 กรัม
เกลือไอโอดีน	3 กรัม
ผงกระเทียม	10 กรัม
Soluble starch	1.17 กรัม

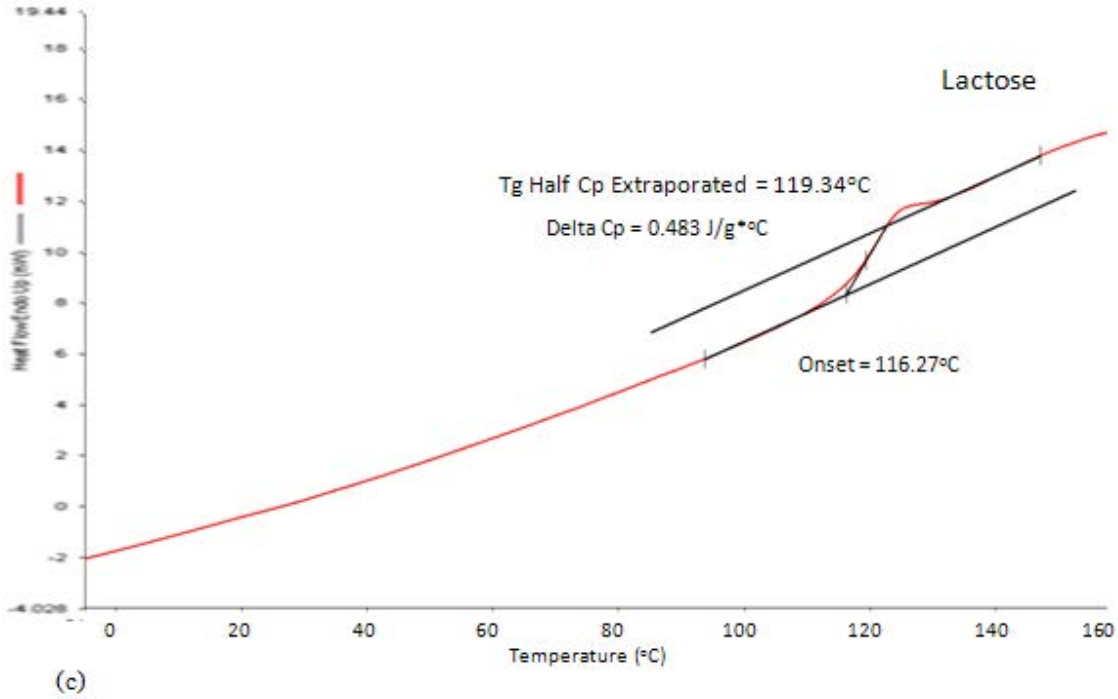
ภาคผนวก ค


Glucose
Delta Cp = 0.000 J/g*°C
Tg Half Cp Extraporated = 35.33°C
End = 38.79°C
Onset = 32.58°C
Temperature (°C)

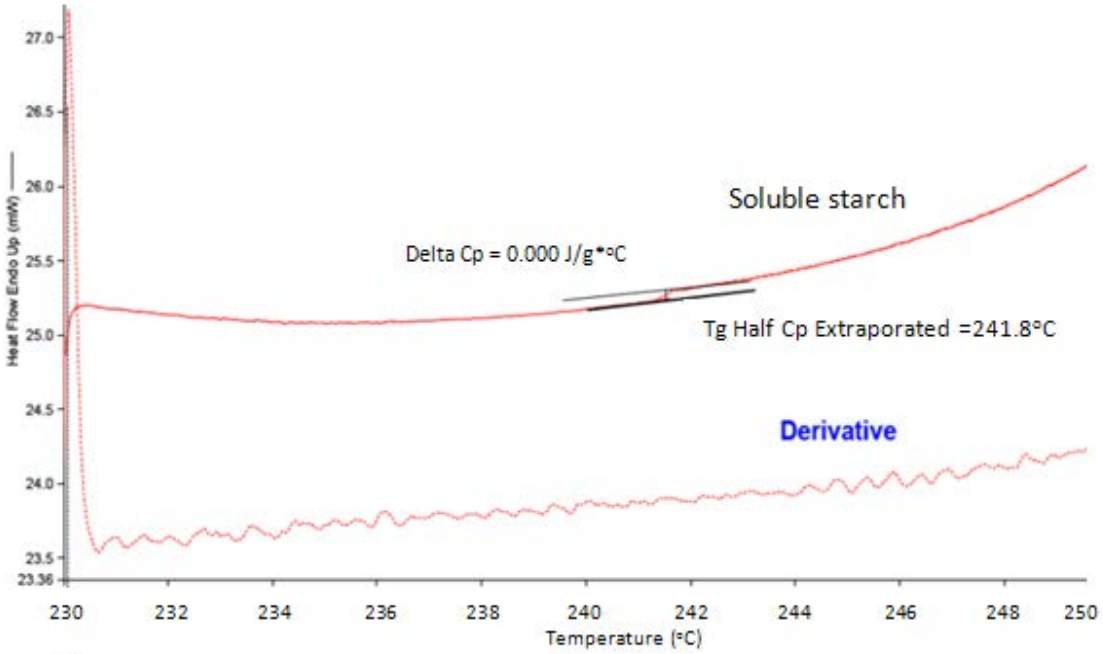
(a)


Sucrose
End = 77.94°C
Tg Half Cp Extraporated = 75.13°C
Delta Cp = 0.000 J/g*°C
Onset = 73.21°C
Temperature (°C)

(b)



(c)



(d)

ภาพที่ 1-ค thermograms แสดงค่า Tg ที่วัดโดยเครื่อง differential scanning calorimeter (DSC) ของสารป้องกันเซลล์คือ glucose (a), sucrose (b), lactose (c) และ soluble starch (d)

ภาคผนวก ง

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ภาคผนวก ค
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางที่ 1-ง ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35 ระหว่างการทำแห้งแบบ พ่นฝอยโดยใช้สารป้องกันเซลล์ที่มี Tg แตกต่างกัน

cell

	Sum of Squares	df	Mean Square	F
Between Groups	129.901	5	25.980	394.123
Within Groups	.791	12	.066	
Total	130.692	17		

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05			
Tg	N	1	2	3	4
fructose	3	3.95558706[a]			
glucose	3		5.48721274[b]		
sucrose	3			7.46092846[c]	
lactose	3				10.20099671[ns]
maltodextrin DE 10	3				10.48360649[ns]
soluble starch	3				10.65303974[ns]

หมายเหตุ ตัวอักษร a, b, c ตัวอักษรกำกับที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงค่าที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ
ทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตัวอักษร ns ในคอลัมน์เดียวกันหมายความว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 2-ง ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35 บนอาหาร MRS ที่มีการเติม NaCl 5% ระหว่างการทำแห้งแบบพ่นฝอยโดยใช้สารป้องกันเซลล์ที่มี Tg แตกต่างกัน

cell

	Sum of Squares	df	Mean Square	F
Between Groups	109.024	5	21.805	313.554
Within Groups	.417	12	.070	
Total	119.441	17		

Duncan[a]

	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
fructose	3	1.507486674[a]					
glucose	3		3.842886914[b]				
sucrose	3			5.882860348[c]			
lactose	3				8.781681882[d]		
maltodextrin DE 10	3					9.582001697[e]	
soluble starch	3						1.027440695[f]

หมายเหตุ ตัวอักษร a, b, c ตัวอักษรกำกับที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงค่าที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 3-ง ผลการวิเคราะห์ทางสถิติระดับความเข้มข้นของ soluble starch 1.5%, 2.5%, 3.5%, 4.5% และ10% ที่มีผลต่อรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35 ระหว่างการทำแห้งแบบพ่นฝอย

cell

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	40.601	4	10.150	3741.437	.000
Within Groups	.014	10	.003		
Total	43.614	14			

Duncan[a]

	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
10%	3	4.187000050[e]				
4.5%	3		7.919405050[d]			
3.5%	3			8.806316200[c]		
1.5%	3				9.491135550[b]	
2.5%	3					9.698012300[a]

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

ตัวอักษร ns ในคอลัมน์เดียวกันหมายความว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 4-ง ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการรอดชีวิตของ *L. plantarum* FT35 บนอาหาร MRS ที่มีการเติมเกลือ 5% NaCl ที่ระดับความเข้มข้นของ soluble starch 1.5%, 2.5%, 3.5%, 4.5% และ10%

cell

	Sum of Squares	df	Mean Square	F
Between Groups	56.137	4	14.034	4013.120
Within Groups	.017	5	.003	
Total	59.155	14		

Duncan[a]

		Subset for alpha = 0.05				
tg	N	1	2	3	4	5
10%	3	2.780000700[e]				
4.5%	3		7.185347100[d]			
3.5%	3			8.241316200[c]		
1.5%	3				9.041135550[b]	
2.5%	3					9.225507250[a]

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

ตารางที่ 5-ง ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการเปลี่ยนแปลงค่า pH ระหว่างการหมักปลาส้มแบบไม่ใช้หัวเชื้อ, หัวเชื้อสด, หัวเชื้อผง และหัวเชื้อผงหลังการเก็บรักษา 1-2 เดือน

	Sum of Squares	df	Mean Square	F
Between Groups	1.191	4	.298	.360
Within Groups	20.667	25	.827	
Total	21.858	29		

Duncan[a]

	N	Subset for alpha = 0.05		
		0	3	5
control	3	6.08 [ns]	5.20[c]	4.50[c]
fresh	3	6.11[ns]	4.24[a]	4.13[a]
dry 0	3	6.10 [ns]	4.25[a]	3.98[a]
dry 1	3	6.10 [ns]	4.44[a,b]	4.23[a,b]
dry 2	3	6.08 [ns]	4.61[b]	4.40[b]

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

ตัวอักษร ns ในคอลัมน์เดียวกันหมายความว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 6-ง ผลการวิเคราะห์ทางสถิติการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดระหว่างการหมักปลาส้มแบบไม่ใช้หัวเชื้อ, หัวเชื้อสด, หัวเชื้อผง และหัวเชื้อผงหลังการเก็บรักษา 1-2 เดือน

	Sum of Squares	df	Mean Square	F
Between Groups	1.191	4	.318	.410
Within Groups	38.667	25	.237	
Total	41.858	29		

Duncan[a]

	N	Subset for alpha = 0.05		
		0	3	5
control	3	0.19[ns]	0.59[d]	1.00[d]
fresh	3	0.25[ns]	1.12[a]	1.70[a]
dry 0	3	0.26[ns]	1.23[a]	1.82[a]
dry 1	3	0.23[ns]	1.00[b]	1.15[b]
dry 2	3	0.21[ns]	0.75[c]	1.20[c]

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

ตัวอักษร ns ในคอลัมน์เดียวกันหมายความว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวมธุรส ประเดิมชัย เกิดวันที่ 3 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2530 ที่จังหวัดราชบุรี ระดับปริญญาตรีสำเร็จปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต เกียรตินิยมอันดับสอง สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเกษตรและชีวภาพ มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม เมื่อปีการศึกษา 2551 จากนั้นได้เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2552 และได้เผยแพร่ผลงานวิจัยในการประชุมในงานประชุมวิชาการ Pure and Applied Chemistry International Conference (PACCON2012) ระหว่างวันที่ 11-13 มกราคม 2555 และได้ตีพิมพ์ฉบับสมบูรณ์ในรายงานการประชุม