

ผลของการทำแห้งแบบหลายชั้นต่อนต์อัตรการรอดชีวิต
และกิจกรรมของ *Bacillus* spp.

นายกานต์ กลิ่นสกุล

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2554

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย



5 0 7 2 6 4 3 8 2 3

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.

EFFECTS OF MULTISTAGE DRYING ON SURVIVAL RATE
AND ACTIVITY OF *Bacillus* spp.

Mr. Kant Klinsakul

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Food Technology

Department of Food Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2011

Copyright of Chulalongkorn University

กานต์ กลิ่นสกุล : ผลของการทำแห้งแบบหลายขั้นตอนต่ออัตราการรอดชีวิตและ
กิจกรรมของ *Bacillus* spp. (EFFECTS OF MULTISTAGE DRYING ON
SURVIVAL RATE AND ACTIVITY OF *Bacillus* spp.)

อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : อ. ดร. ชาลีดา บรมพิชัยชาติกุล, 75 หน้า.

งานวิจัยนี้ มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำแห้ง *Bacillus* spp. ที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสีย โดยการทำแห้งแบบหลายขั้นตอน และศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเก็บรักษา รวมถึงอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ผง *Bacillus* spp. โดยใช้ตัวกลางผสมกับจุลินทรีย์ในการทำแห้ง จากการศึกษาจลนพลศาสตร์การทำแห้งและคุณภาพของจุลินทรีย์ในระหว่างการทำแห้ง พบว่าการทำแห้งจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Bacillus* spp. ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการทำแห้งสั้นที่สุด โดยตัวกลาง A หลังจากผ่านการทำแห้งแล้วมีความชื้นลดลงมากกว่าตัวกลาง B เมื่อกำหนดค่าความชื้นสุดท้ายของผงจุลินทรีย์ที่ 1.5-3.6 % (w.b.) พบว่าจุลินทรีย์ที่ผสมกับตัวกลาง A ทำแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จนมีปริมาณความชื้นที่ 1.78 % (w.b.) ให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงที่สุดที่ 99.5% และตัวกลาง A ใช้เวลาในการทำแห้งสั้นกว่าและให้เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตที่สูงกว่าตัวกลาง B ในทุกอุณหภูมิการทำแห้ง ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำแห้งแบบหลายขั้นตอน พบว่าสภาวะการทำแห้งที่ 70 องศาเซลเซียส 30 นาที แล้วตามด้วย 60 องศาเซลเซียส 65 นาที ใช้เวลาในการทำแห้งสั้นที่สุด (95 นาที) และให้ผลการรอดชีวิตไม่แตกต่างกับสภาวะการทำแห้งแบบหลายขั้นตอนที่สภาวะอื่นๆ ($p > 0.05$) การศึกษาอัตราส่วนระหว่างตัวกลางและ *Bacillus* spp. ที่เหมาะสมในการทำแห้ง พบว่าการใช้ปริมาณตัวกลางที่ 1000-1300 กรัมผสมกับสารแขวนลอย *Bacillus* spp. 150 มิลลิลิตร ให้การรอดชีวิตสูงที่สุด (98.60-99.53%) จากศึกษา moisture sorption isotherms (MSI) ของผง *Bacillus* spp. พบว่าผงจุลินทรีย์ที่ผ่านการทำแห้งแล้วมีความสามารถในการดูดกลับน้ำต่ำ ดังนั้นการใช้บรรจุภัณฑ์จึงไม่จำเป็นต้องมีค่าป้องกันความชื้นของน้ำที่ดีมาก การทดลองหาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมลามิเนต (PET/AL/CPE) พบว่าผงจุลินทรีย์ที่ผ่านการทำแห้ง โดยใช้ตัวกลางที่ 1000 กรัม ต่อจุลินทรีย์ 150 มิลลิลิตรสามารถเก็บรักษาได้ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 267 วัน

ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร.....ลายมือชื่อ.....
สาขาวิชา เทคโนโลยีทางอาหาร.....ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....
ปีการศึกษา.....2554.....

5072643823 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEYWORDS : multistage drying / *Bacillus* spp. / wastewater treatment / survival rate / biological wastewater treatment

KANT KLINSAKUL : EFFECTS OF MULTISTAGE DRYING ON SURVIVAL RATE AND ACTIVITY OF *Bacillus* spp.

ADVISOR : CHALEEDA BOROMPICHAHAICHARTKUL, Ph.D., 75 pp.

The objectives of this research are to determine the optimum condition for drying *Bacillus* spp. which used for wastewater treatment by multistage drying method and to determine suitable condition for storage and shelf life of *Bacillus* spp. powder. There are two media (A and B) used for mixing *Bacillus* spp. during drying process. The study of drying kinetics and quality of *Bacillus* spp. during drying showed that at drying temperature of 70 °C drying time was shorter than other drying temperatures. After drying, media A had lower moisture content than media B. When the level of moisture content of the *Bacillus* spp. powder was fixed at 1.5-3.6 %(w.b.), the result indicated that *Bacillus* spp. mixed with media A drying at 60°C had moisture content of 1.78 %(w.b.) and %SR was highest at 99.5%. Media A required shorter drying time and yielded higher survival rate than media B at all drying temperatures. The study of effect of multistage drying on quality of *Bacillus* spp. powder showed that drying at 70°C for 30 minutes, followed by at 60°C for 65 minutes, gave the shortest drying time (95 minutes), and the survival rate was not significantly different from other multistage drying conditions ($p>0.05$). The optimum ratio between amount of media and *Bacillus* spp. for drying process was 1,000-1,300 g of media mixed with 150 ml of *Bacillus* spp. gave the highest %SR (98.60-99.53%). Moisture sorption isotherms (MSI) of *Bacillus* spp. powder indicated that the *Bacillus* spp. powder had low water absorption during storage at 35 °C, Therefore, packaging material used for *Bacillus* spp. powder could be moderate resistance. to water permeability. Shelf life of *Bacillus* spp. powder (media A 1,000 g mixed with 150 ml of *Bacillus* spp.) in aluminium laminated bag (PET/AL/CPE) was 267 days when stored at 35°C.

Department : Food Technology..... Student's Signature

Field of Study : Food Technology..... Advisor's Signature

Academic Year : 2011.....

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณอาจารย์ ดร.ชาลีดา บรมพิชัยชาติกุล อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำชี้แนะและข้อคิดเห็นอันเป็นประโยชน์ ตลอดจนมอบกำลังใจให้แก่ผู้วิจัยจนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

กราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รมณี สงวนดีกุล ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. สุเมธ ตันตระเธียร ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชื่นจิต ประกิจชัยวัฒน์ และอาจารย์ ดร. วีระเชษฐ จิตตานิษฐ์ ผู้ให้ความกรุณาสละเวลามาร่วมเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ อีกทั้งมอบคำแนะนำอันเป็นประโยชน์และแนวทางปรับปรุงแก้ไขให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ประสิทธิ์ประสาทความรู้ทั้งในด้านวิชาการ คุณธรรม และจริยธรรม ซึ่งเป็นรากฐานในการศึกษาค้นคว้างานวิจัยและการดำเนินชีวิต

ขอขอบคุณบริษัทห้างหุ้นส่วนจำกัด นิวทรีชั่น และคุณพัชร เอกปัญญาสกุล ที่สนับสนุนวัตถุดิบทั้งตัวกลาง จุลินทรีย์ และข้อมูลต่างๆ ที่ใช้ตลอดการวิจัย

ขอขอบคุณสำนักประสานงาน ชุดโครงการทุนวิจัยมหาบัณฑิต สกว. สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (TRF-MAG) ที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำในการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับทำการวิจัย

ขอขอบคุณเพื่อนและน้องนิสิตในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่านที่เป็นกำลังใจ พร้อมทั้งคอยให้คำปรึกษาและความช่วยเหลือตลอดมาจนกระทั่งงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วง

ท้ายที่สุดแล้วงานวิจัยฉบับนี้คงไม่สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้หากผู้วิจัยไม่ได้รับการสนับสนุนจากบิดา มารดา พี่สาว พี่ชาย และญาติมิตร ที่คอยให้ความช่วยเหลือตลอดจนมอบกำลังใจอันมีค่ายิ่งใหญ่เสมอมา ผู้วิจัยมีความศรัทธาอย่างแรงกล้าในงานวิจัยนี้ว่าจะมีประโยชน์แก่ผู้ที่ต้องการศึกษาหาความรู้ต่อไป

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญภาพ.....	ฉ
บทที่	
1. บทนำ	1
2. วารสารปริทัศน์	2
2.1 กระบวนการบำบัดน้ำเสีย.....	2
2.2 จุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการบำบัดน้ำเสีย.....	5
2.3 กระบวนการทำแท่งจุลินทรีย์.....	8
2.4 กระบวนการทำแท่งแบบหลายชั้นตอน.....	15
2.5 มอยส์เจอร์ซอร์พชั่นไอโซเทอร์ม.....	16
2.6 บรรจุภัณฑ์และการเก็บรักษामลิตภัณฑ์แห้ง.....	20
2.7 อายุการเก็บ (shelf life) ของผลิตภัณฑ์.....	21
3. อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย	23
3.1 วัตถุประสงค์ที่ใช้ในงานวิจัย.....	23
3.2 สารเคมี.....	23
3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ.....	23
3.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในงานวิจัย.....	23
3.5 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย.....	24
3.5.1 ศึกษาจลนพลศาสตร์การทำแท่งและคุณภาพของจุลินทรีย์ในระหว่าง การทำแท่ง.....	24
3.5.2 ศึกษาจุดเหมาะสมของการทำแท่ง และชนิดของตัวกลางที่ใช้ในการทำ	

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	จุลินทรีย์ที่ใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในการบำบัดน้ำเสีย.....	6
2.2	โลหะที่รับอิเล็กทรอนิกส์จากการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจน.....	7
4.1	จำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตหลังผ่านการทำแห้งที่อุณหภูมิต่างๆ.....	31
4.2	ความสัมพันธ์ของเวลา และ%การรอดชีวิต เมื่อกำหนดให้ค่าความชื้นที่ 1.5-3.6 %(w.b.) ที่อุณหภูมิต่างๆ ในการทำแห้ง <i>Bacillus</i> spp. กับตัวกลาง A และ B.....	35
4.3	ความชื้น และ %การรอดชีวิต ของ <i>Bacillus</i> spp.จากการทำแห้งแบบหลาย ขั้นตอนที่ภาวะต่างๆ.....	37
4.4	ความสัมพันธ์ความชื้น และ%การรอดชีวิต ของ <i>Bacillus</i> spp. เมื่อแปร ปริมาณของตัวกลาง A ที่ 500-1500 กรัม ต่อปริมาณจุลินทรีย์ 150 มิลลิลิตร ..	38
4.5	ค่าคงที่ใน GAB model ของผงจุลินทรีย์แห้ง.....	43
4.6	สมการความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์กับเวลาในการ เก็บรักษา ค่า R ² ของผงจุลินทรีย์แห้งที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส..	48
4.7	การทำนายอายุการเก็บของผงจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส โดยใช้ ปริมาณตัวกลาง A ที่ 2 ระดับ.....	48
ข.1	ค่าความชื้นเริ่มต้นของ <i>Bacillus</i> spp. และตัวกลางทั้ง 2 ชนิด.....	64
ข.2	จำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตของจุลินทรีย์หลังผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิต่างๆ.....	64
ข.3	ปริมาณความชื้นของผสมระหว่างตัวกลาง A และจุลินทรีย์โดยการทำแห้งด้วย ตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ.....	65
ข.4	ปริมาณความชื้นของผสมระหว่างตัวกลาง B และจุลินทรีย์โดยการทำแห้งด้วย ตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ.....	67
ข.5	คุณภาพของผง <i>Bacillus</i> spp. ที่ได้จาก การทำแห้ง โดยใช้ตู้อบลมร้อนที่ ช่วงเวลาและอุณหภูมิต่างกัน.....	69
ข.6	ความชื้นสมดุลและ RSS ที่ปริมาณตัวกลาง 1000 กรัมต่อจุลินทรีย์ 150 มิลลิลิตร.....	71

ตารางที่		หน้า
ข.7	ความชื้นสมดุลและ RSS ที่ปริมาณตัวกลาง 1000 กรัมต่อจุลินทรีย์ 150 มิลลิลิตร.....	71
ค.1	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณความชื้นของผง <i>Bacillus</i> spp. ใน การศึกษาจลนพลศาสตร์ของการทำแห้ง <i>Bacillus</i> spp.	73
ค.2	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณ <i>Bacillus</i> spp. ของผง <i>Bacillus</i> spp. ในการศึกษาจลนพลศาสตร์ของการทำแห้ง <i>Bacillus</i> spp.	73
ค.3	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณความชื้นของผง <i>Bacillus</i> spp. ใน การศึกษาการทำแห้งแบบหลายขั้นตอน.....	73
ค.4	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณ <i>Bacillus</i> spp. ของผง <i>Bacillus</i> spp. ในการศึกษาการทำแห้งแบบหลายขั้นตอน.....	74
ค.5	การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณความชื้นของผง <i>Bacillus</i> spp. ใน การศึกษาการแปรอัตราส่วนตัวกลาง A.....	74

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1	9
2.2	10
2.3	11
2.4	17
2.5	18
4.1a	27
4.1b	28
4.2a	30
4.2b	30
4.3a	33
4.3b	33
4.4a	34
4.4b	34
4.5	40

ภาพที่	หน้า
4.6	MSI ของผงจุลินทรีย์แห้งโดยใช้ค่า EMC จาก GAB model..... 43
4.7	การเปลี่ยนแปลงความชื้นของผง <i>Bacillus</i> spp. ในการเก็บรักษาโดยใช้ อุณหภูมิเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส โดยใช้ปริมาณตัวกลางที่ 2 ระดับคือ 1000 กรัมต่อจุลินทรีย์ 150 มิลลิลิตร และ 1200 กรัมต่อจุลินทรีย์ 150 มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับวันที่เก็บรักษา..... 45
4.8	การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ในการเก็บรักษาผงจุลินทรีย์แห้งโดยใช้ อุณหภูมิเก็บรักษาที่ 35 องศาเซลเซียส โดยใช้ปริมาณตัวกลางที่ 2 ระดับคือ 1000 กรัมต่อจุลินทรีย์ 150 มิลลิลิตร และ 1200 กรัมต่อจุลินทรีย์ 150 มิลลิลิตร..... 46
4.9	%การรอดชีวิตของ <i>Bacillus</i> spp. ในการเก็บรักษาผงจุลินทรีย์แห้งโดยใช้ อุณหภูมิเก็บรักษาที่ 35 องศาเซลเซียส โดยใช้ปริมาณตัวกลางที่ 2 ระดับคือ 1000 กรัมต่อจุลินทรีย์ 150 มิลลิลิตร และ 1200 กรัมต่อจุลินทรีย์ 150 มิลลิลิตร..... 47
ก.1	วิธีการทดลองหาความชื้นสมดุลโดยการควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ของ สารละลายเกลืออิ่มตัวในโถแก้ว..... 63
ข.1	MSI ของผงจุลินทรีย์แห้งจากการทดลองและ GAB model ที่จุลินทรีย์ 150 มิลลิลิตร กับ (A) ตัวกลาง 1000 กรัม และ (B) ตัวกลาง 1200 กรัม..... 72

บทที่ 1

บทนำ

ในปัจจุบันความต้องการสินค้าทั้งด้านอุปโภคและบริโภคเพิ่มขึ้น จึงส่งผลให้การเจริญเติบโตทางด้านอุตสาหกรรมเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมากและรวดเร็ว ทำให้เกิดปัญหาเกี่ยวกับน้ำเสียจากอุตสาหกรรมต่างๆเพิ่มขึ้น ซึ่งการบำบัดน้ำเสียในอุตสาหกรรมบางแห่งไม่สามารถทำได้ อย่างมีประสิทธิภาพหรือไม่มีมาตรฐานที่ดีพอ ส่งผลให้เกิดปัญหามลพิษขึ้นเมื่อปล่อยน้ำเสียเหล่านั้นลงสู่แหล่งน้ำ การบำบัดน้ำเสียโดยใช้วิธีทางชีวภาพเป็นการบำบัดน้ำเสียที่ใช้จุลินทรีย์ซึ่งทำให้ไม่เกิดความเป็นพิษตกค้างในธรรมชาติทั้งจากน้ำเสียและจากการใช้สารเคมีในการบำบัด จุลินทรีย์ที่นิยมนำมาใช้ในการบำบัดน้ำเสีย เช่น จุลินทรีย์ในกลุ่ม *Bacillus* spp. ซึ่งมีการผลิตและจำหน่ายในรูปแบบของculture ของจุลินทรีย์ในรูปแบบของเหลว แต่ปัญหาที่เกิดขึ้นคือการขนส่งที่ไม่สะดวกและมีอายุการเก็บรักษาที่สั้น งานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดในการแปรรูปculture ของจุลินทรีย์ในรูปแบบของเหลวให้อยู่ในรูปแบบผงที่มีลักษณะที่แห้ง เพื่อให้เก็บรักษาได้นานและสะดวกต่อการขนส่ง การทำแห้งจุลินทรีย์ส่วนมากนิยมใช้การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze drying) ซึ่งมีค่าใช้จ่ายในการลงทุนสูง ซึ่งไม่เหมาะในการนำมาใช้ในการทำแห้งจุลินทรีย์ที่นำมาจำหน่ายในท้องตลาด โดยเฉพาะการบำบัดน้ำเสียซึ่งต้องมีค่าใช้จ่ายในการลงทุนต่ำ จึงมีงานวิจัยที่ผ่านมาศึกษาการทำแห้งจุลินทรีย์บางชนิดด้วยวิธีการอบแห้งภายใต้สุญญากาศ (vacuum drying) และการทำแห้งภายใต้อุณหภูมิต่ำ แต่เนื่องจาก *Bacillus* เป็นจุลินทรีย์ที่สปอร์ทนความร้อนได้ บางชนิดสามารถทนได้ถึง 115 องศาเซลเซียส จึงมีความเป็นไปได้ที่สามารถนำมาทำแห้งด้วยลมร้อน โดยศึกษากระบวนการทำแห้งแบบหลายขั้นตอน ซึ่งเป็นการผสมผสานวิธีการทำแห้งและสภาวะการทำแห้งที่หลากหลายเข้าด้วยกัน การทำแห้งแบบหลายขั้นตอนส่งผลให้ใช้เวลาในการทำแห้งสั้น สามารถรักษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์และลดค่าใช้จ่ายด้านพลังงาน ผลงานวิจัยนี้สามารถนำมาใช้เป็นแนวทางในการนำไปประยุกต์ใช้ในการทำแห้งและเก็บรักษาจุลินทรีย์อื่นๆ ที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์หรือจุลินทรีย์ที่มีลักษณะใกล้เคียงกับ *Bacillus* spp. ให้สามารถเก็บรักษาไว้ได้นานเหมาะแก่การขนส่งและจัดจำหน่าย

วัตถุประสงค์

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำแห้ง culture ของ *Bacillus* spp. ที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสีย โดยการทำแห้งแบบหลายขั้นตอน และศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเก็บรักษาจนถึงอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ผง *Bacillus* spp. ที่ได้

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 กระบวนการบำบัดน้ำเสีย

ปัจจุบันจะพบแหล่งน้ำที่เน่าสกปรกอยู่ทั่วไป ก่อให้เกิดผลกระทบที่เป็นอันตราย และความเสียหายต่อการประมง การเกษตร การสาธารณสุข และประการสำคัญคือ ทำให้ระบบนิเวศธรรมชาติถูกทำลายหรือเสื่อมคุณภาพ จนไม่เหมาะที่สิ่งมีชีวิตจะอาศัยอยู่ได้ เกิดการตายของสัตว์ และพืชน้ำเป็นจำนวนมาก รวมทั้งแหล่งน้ำที่มีคราบน้ำมันปกคลุม และโรงงานอุตสาหกรรมต่างๆ ที่ปล่อยสารพิษ และความร้อนลงสู่แหล่งน้ำ จึงต้องมีการบำบัดน้ำเสียขึ้น

เกรียงศักดิ์ อุดมสินโรจน์ (2539) อธิบายการบำบัดน้ำเสียว่า การกำจัดหรือทำลายสิ่งปนเปื้อนในน้ำเสียให้หมดไป หรือเหลือน้อยที่สุด ให้ได้มาตรฐานที่กำหนดและไม่ทำให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม น้ำเสียจากแหล่งต่างกันจะมีคุณสมบัติไม่เหมือนกันดังนั้นกระบวนการบำบัดน้ำจึงมีหลายวิธี โดยระบบบำบัดน้ำเสียทั่วไปมี 3 วิธีคือ

2.1.1 กระบวนการทางเคมี (chemical process) เป็นวิธีการบำบัดน้ำเสียโดยการแยกสารต่างๆ หรือสิ่งปนเปื้อนในน้ำเสียที่บำบัด เช่น โลหะหนัก สารพิษ สภาพความเป็นกรด ต่างสูงๆ ที่ปนเปื้อนอยู่ด้วยการเติมสารเคมีต่าง ๆ ลงไปเพื่อให้เข้าไปทำปฏิกิริยาซึ่งจะมีประโยชน์ในการแยกสาร แต่วิธีนี้มีข้อเสียคือ เมื่อเติมสารเคมีลงในน้ำเสียแล้ว ทำให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม และวิธีนี้จะมีค่าใช้จ่ายสำหรับสารเคมีค่อนข้างสูง ดังนั้นกระบวนการทางเคมีจะเลือกใช้ก็ต่อเมื่อน้ำเสียไม่สามารถบำบัดได้ด้วยกระบวนการทางกายภาพหรือชีวภาพ

2.1.2 กระบวนการทางกายภาพ (physical process) กระบวนการทางกายภาพ (physical process) เป็นการบำบัดน้ำเสียอย่างง่ายซึ่งจะแยกของแข็งที่ไม่ละลายน้ำออก วิธีนี้จะแยกตะกอนได้ประมาณ 50-65% การแยกความสกปรกในรูปของสารอินทรีย์ (BOD_5) ได้ประมาณ 20-30% เท่านั้น วิธีการต่างๆ ในกระบวนการนี้มีหลายวิธี เช่น การดักด้วยตะแกรง (screening) เป็นการแยกเศษขยะต่างๆ ที่มากับน้ำเสีย เช่น เศษไม้ ถูพลาสติก กระดาษ ตะแกรงมีหลายขนาด การดักด้วยตะแกรงจึงเป็นการแยกขั้นต้นแรกในการบำบัดน้ำเสีย การตัดย่อย (combination) คือ การใช้เครื่องตัดทำลายเศษขยะขนาดใหญ่ให้มีขนาดเล็กลง การกวาด (skimming) เป็นการ

กำจัดน้ำมันและไขมันโดยทำการดักหรือกวาดออกจากร่องน้ำเสีย การทำให้ลอย (floating) จะใช้กับตะกอนที่มีความถ่วงจำเพาะน้อยกว่าน้ำ การตกตะกอน (sedimentation) เป็นการแยกตะกอนออกจากน้ำเสียโดยอาศัยหลักการเรื่องแรงโน้มถ่วง ซึ่งจะใช้กับตะกอนที่มีความถ่วงจำเพาะมากกว่าน้ำ

2.1.3 กระบวนการทางชีววิทยา (Biological Process) กระบวนการทางชีววิทยา (biological process) เป็นการอาศัยหลักการใช้จุลินทรีย์ต่างๆ มาย่อยสลายเปลี่ยนอินทรีย์สารไปเป็นแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์และแอมโมเนีย เป็นการบำบัดน้ำเสียที่ดีที่สุดในแง่ของการลดปริมาณสารอินทรีย์ในแหล่งน้ำ แต่หลักการนี้ต้องเลือกสภาวะแวดล้อมให้เหมาะกับการทำงานของจุลินทรีย์ ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณของจุลินทรีย์ และเวลาที่ใช้ในการย่อยสลาย

ดังนั้นการใช้กระบวนการทางชีวภาพจึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจในการบำบัดน้ำเสีย กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน (2550) ได้อธิบายกระบวนการบำบัดน้ำเสียด้วยวิธีทางชีวภาพแบ่งเป็น 2 กระบวนการ ดังนี้

2.1.3.1 กระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบแอโรบิก (aerobic wastewater treatment)

ในการบำบัดน้ำเสียแบบแอโรบิกจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ต้องใช้อากาศในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสียและผลิตแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำขึ้น จากนั้นจุลินทรีย์จะแบ่งตัวและสร้างเซลล์จุลินทรีย์ขึ้นจำนวนมาก และประมาณร้อยละ 50 ของสารอินทรีย์ในน้ำเสียจะถูกเปลี่ยนเป็นเซลล์ของจุลินทรีย์ ตามปฏิกิริยาในการย่อยสลาย ดังนี้

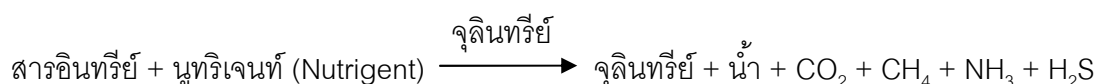


Lens และคณะ (1994) ได้นำแอโรบิกไบโอฟิล์ม (aerobic biofilm) ซึ่งประกอบด้วยแบคทีเรียที่ผลิตมีเทน (Methane Producing Bacteria : MPB) และแบคทีเรียที่ลดปริมาณซัลเฟต (Sulfate reducing bacteria : SRB) มาใช้ในการบำบัดน้ำเสีย โดยพบว่าไบโอฟิล์มสามารถลดปริมาณของซัลเฟตในน้ำเสียลง Joss และคณะ (2004) ใช้วิธีการบำบัดน้ำเสียแบบแอโรบิกในการกำจัดสารในกลุ่มเอสโตรเจน (estrone (E1), estradiol (E2) และ ethinylestradiol (EE2)) โดยสามารถกำจัดเอสโตรเจนได้ถึง 90% ด้วยกระบวนการตกตะกอน

Ivanov และ Wang (2005) ศึกษาความสามารถในการตกตะกอนของจุลินทรีย์ในการบำบัดน้ำเสียแบบแอโรบิก โดยการแยกจุลินทรีย์จากตะกอนของน้ำเสียได้ออกมา 2 สายพันธุ์ คือ *Klebsiella pneumonia* สายพันธุ์ B และ *Pseudomonas veronii* สายพันธุ์ F ซึ่งมีค่าการรวมตัว (self-aggregation indexes) อยู่ที่ 65 และ 51% ตามลำดับ และมีค่าร่วมในการรวมตัว (coaggregation indexes) อยู่ที่ 58% ดังนั้นจึงเลือกใช้จุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิดผสมกันในการตกตะกอนแบบใช้ออกซิเจน โดยเกิดตะกอนขนาด 446 ± 76 ไมโครเมตร หลังจากผ่านไป 8 วัน แต่จุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิดยังไม่ได้ศึกษาถึงความปลอดภัยในการนำมาใช้

2.1.3.2 กระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบแอนแอโรบิก (anaerobic wastewater treatment) หรือการผลิตแก๊สชีวภาพจากน้ำเสีย

McCarty และ Smith (1986) ได้กล่าวว่า ในกระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบแอนแอโรบิกนี้ จุลินทรีย์ไม่ต้องใช้ออกซิเจนในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในน้ำเสีย (ประมาณร้อยละ 80-90) สามารถเปลี่ยนสารอินทรีย์เป็นแก๊สมีเทนและคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งรวมเรียกว่า แก๊สชีวภาพ (Biogas) โดยมีปฏิกิริยาในการย่อยสลายสารอินทรีย์ดังนี้



Lettinga, Rebac และ Zeeman (2001) นำ Psychrophilic anaerobic มาใช้ในการบำบัดน้ำเสีย ซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มนี้สามารถทำงานได้ที่อุณหภูมิต่ำ ที่ 10-12 องศาเซลเซียส และพบว่าค่า Chemical Oxygen Demand (COD) ของระบบลดลงได้ถึง 90%

Gallert และ Winter (2005) ได้อธิบายหลักการในการพิจารณาเลือกใช้กระบวนการบำบัดน้ำเสียแบบแอโรบิกและแบบแอนแอโรบิก ดังนี้

- การบำบัดน้ำเสียแบบแอนแอโรบิกเป็นการบำบัดขั้นต้นในการลดค่าความต้องการออกซิเจนในน้ำและการทำให้เกิดการตกตะกอน ซึ่งในขั้นตอนนี้ไม่สามารถใช้ลดค่า COD (Chemical Oxygen Demand) BOD (Biological Oxygen Demand) และ TOC (Total Organic Carbon) ให้ได้ตามมาตรฐานความเป็นพิษที่ต่ำสุด ต้องนำน้ำไปบำบัดน้ำเสียแบบแอโรบิกต่อ เพื่อให้สามารถวัดค่า COD BOD และ TOC ให้ได้ตามมาตรฐาน

- การบำบัดน้ำเสียที่มีความเข้มข้นสูงมักใช้วิธีการแบบแอนแอโรบิก เนื่องจากมีความเป็นไปได้ที่จะได้แก๊สชีวภาพ และมีการเกิดตะกอนน้อยกว่าการบำบัดแบบแอโรบิกที่ต้องใช้อากาศในการบำบัดจากปฏิกิริยา aerosol formation
- ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในการลดค่า COD ในน้ำเสียที่มีความเข้มข้นสูงในการบำบัดน้ำเสียทั้งแบบแอโรบิกและแบบแอนแอโรบิกมีค่าที่ไม่แตกต่างกัน แต่ขั้นตอนการบำบัดน้ำเสียแบบแอโรบิกสามารถลดค่า COD ลงได้เร็วกว่าในขั้นตอนการบำบัดน้ำเสียแบบแอนแอโรบิก
- ในน้ำเสียที่มีความเข้มข้นของสารอินทรีย์ที่มีมลพิษต่ำ ควรใช้การบำบัดแบบแอโรบิก เนื่องจากมีความเสถียรสูงกว่าการบำบัดแบบแอนแอโรบิก แต่ก็มีค่าใช้จ่ายที่สูงและตะกอนที่เกิดขึ้นด้วย
- ระบบการบำบัดน้ำเสียแบบแอนแอโรบิกมีค่าใช้จ่ายในการก่อสร้างสูงกว่าแบบแอโรบิก แต่มีค่าใช้จ่ายในการดำเนินงานต่ำกว่าระบบการบำบัดน้ำเสียแบบแอโรบิก

2.2 จุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการบำบัดน้ำเสีย

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสียมีหลายชนิด (Gallert and Winter, 2005) โดยแบ่งออกเป็น (1)กลุ่มที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสียแบบแอโรบิก ได้แก่ จุลินทรีย์พวก Heterotrophic จะเจริญเกาะเป็นฟิล์มบริเวณชั้นบนของน้ำเสีย เช่น *Pseudomonas* และ *Zoogloea* สำหรับเชื้อราเป็นพวก *Fusarium*, *Ascoidea* และ *Trisporon* สำหรับจุลินทรีย์ที่เจริญในชั้นล่างของน้ำเสียส่วนใหญ่จะเป็นพวกจุลินทรีย์ที่สร้างเมือก (slime - forming bacteria) คือ *Zoogloea ramigera* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์สำคัญในการย่อยสลายสารอินทรีย์ เมื่อจุลินทรีย์ในชั้นล่างของน้ำเสียเจริญขึ้นจะจับตัวกันเป็นตะกอน (2)กลุ่มที่ใช้ในการบำบัดน้ำเสียแบบแอนแอโรบิก ได้แก่ *Methanobacterium*, *Methanobacillus* และ *Methanococcus* จุลินทรีย์ในกลุ่มนี้จะสามารถเปลี่ยนอะซิเตตไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ ให้เป็น มีเทน (CH_4) ตารางที่ 2.1 แสดงชนิดของจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยสลายสารต่างๆ

ตารางที่ 2.1 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในการบำบัดน้ำเสีย

Reaction Substance		Microorganisms				
cellulose	aerobic	Fungi	<i>Trichoderma</i> <i>Phanaerochaete</i>			
		bacteria	<i>Cellulomonas</i> <i>Pseudomonas</i> <i>Thermomonospora</i>			
		anaerobic	Fungi	<i>Neocallimastix</i> <i>Piromyces</i>		
	bacteria		<i>Clostridium</i> <i>Fibrobacter</i> <i>Bacteroides</i> <i>Ruminococcus</i>			
	glucose		produce CO ₂	<i>Ruminococcus</i> sp. <i>Clostridium</i> sp. <i>Eubacterium</i> sp.		
				Ammonia	nitrification	<i>Nitrosomonas</i> <i>Nitrosococcus</i> <i>Nitrosolobus</i> <i>Nitrospira</i> <i>Nitrovibrio</i>
						nitration

ที่มา : ดัดแปลงจาก Gallert and Winter (2005)

มีแบคทีเรียหลายชนิดที่ใช้ไฮโดรเจนของโลหะหนักเพื่อรีดิวซ์โลหะหนักในขั้นตอนของการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจน (แอนแอโรบิก) (ตารางที่ 2.2) ดังนั้นการลดปริมาณของโลหะหนักในน้ำเสียจึงสามารถใช้แบคทีเรียได้

ตารางที่ 2.2 โลหะที่รีดิวซ์จากกระบวนการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจน

Reaction	Microorganism
$2\text{Fe}^{3+} + \text{H}_2 \leftrightarrow 2\text{Fe}^{2+} + 2\text{H}^+$	<i>Geobacter metallireducens</i> <i>Pelobacter carbinolicus</i>
$\text{Mn}^{4+} + \text{H}_2 \leftrightarrow \text{Mn}^{2+} + 2\text{H}^+$	<i>Geobacter metallireducens</i> mixed culture
$2\text{Cr}^{6+} + 3 \text{H}_2 \leftrightarrow 2\text{Cr}^{3+} + 6\text{H}^+$	<i>Desulfovibrio vulgaris</i> <i>Bacillus</i> strain QC1-2
$\text{Se}^{6+} + \text{H}_2 \leftrightarrow \text{Se}^{4+} + 2\text{H}^+$	<i>Thauera selenatis</i> strains SES-1; SES-3
$\text{Se}^{6+} + 3\text{H}_2 \leftrightarrow \text{Se}^0 + 6\text{H}^+$	
$\text{Te}^{4+} + 2\text{H}_2 \leftrightarrow \text{Te}^0 + 4\text{H}^+$	<i>Schizosaccharomyces pombe</i>
$\text{Pb}^{2+} + \text{H}_2 \leftrightarrow \text{Pb}^0 + 2\text{H}^+$	<i>Pseudomonas maltophila</i>
$\text{As}^{5+} + \text{H}_2 \leftrightarrow \text{As}^{3+} + 2\text{H}^+$	<i>Geospirillum arsenophilus</i>
$\text{Hg}^{2+} + \text{H}_2 \leftrightarrow \text{Hg}^0 + 2\text{H}^+$	<i>Escherichia coli</i> <i>Thiobacillus ferrooxidans</i>
$\text{U}^{6+} + \text{H}_2 \leftrightarrow \text{U}^{4+} + 2\text{H}^+$	<i>Shewanella putrefaciens</i>

ที่มา : Gallert and Winter (2005)

Bacillus เป็นแบคทีเรียที่มีลักษณะเป็นรูปท่อน ดิเดสแกรมบวก เคลื่อนที่โดยใช้แฟลกเจลลา ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต สามารถสร้างเอนโดสปอร์ ที่ทนความร้อนสูงและทนความแห้งได้ดี ส่วนใหญ่ชอบเติบโตในที่มีอุณหภูมิ 35-75 องศาเซลเซียส (บุษกร อุตรรักษาติ, 2550) *Bacillus* spp. จัดเป็นจุลินทรีย์ที่พบได้ทั่วไปทั้งในดิน แหล่งน้ำ และสิ่งแวดล้อม ในบางชนิดก็มีโทษต่อมนุษย์ เช่น *Bacillus anthracis* เป็นเชื้อที่เป็นสาเหตุของโรคแอนแทรกซ์ (anthrax) และ *Bacillus cereus* ที่เป็นสาเหตุของอาการอาหารเป็นพิษเมื่อมีการปนเปื้อนในอาหาร แต่ยังมี การนำ *Bacillus* มาใช้ประโยชน์ได้ เช่น นำมาสกัดเอนไซม์ subtilisin จาก *B. amyloliquefaciens* มาใช้ในการย่อยสลายโปรตีนเช่นเดียวกับเอนไซม์ทริปซิน (Peng et al., 2003) หรือการนำสารสกัด Cry toxin ที่ได้จาก *Bacillus thuringiensis* ที่มีความสามารถในการกำจัดแมลงศัตรูพืชมา ใช้ในการปรับปรุงพันธุ์พืชตัดแต่งพันธุกรรม (Genetic Modified Crops : GMOs) ให้มีความสามารถในการทนทานต่อแมลงศัตรูพืชมากขึ้น (Schroder et al., 2007)

การนำ *Bacillus* spp. มาใช้บำบัดน้ำเสียมีหลายแนวทาง เช่น จากงานวิจัยของ Nourbakhsh และคณะ (2002) พบว่า *Bacillus* spp. มีความสามารถในการจับไอออน Cr^{6+} , Pb^{2+} และ Cu^{2+} โดยสามารถจับไอออนของโลหะได้ที่ pH 4.0 และ 7.0 ซึ่งเป็นค่าที่พบได้ในน้ำเสียที่เกิดจากโรงงานอุตสาหกรรมทั่วไป

Deng และคณะ (2003) นำสาร MBFA9 ซึ่งผลิตขึ้นมาจาก *Bacillus mucilaginosus* ระหว่างการเจริญเติบโต มาใช้ในการบำบัดน้ำเสียจากแหล่งน้ำที่มีแ่งเป็นองค์ประกอบ โดยทำให้แ่งกลายเป็น polysaccharide flocculants พบว่าสามารถใช้ MBFA9 ในปริมาณที่ต่ำเพื่อตกตะกอนแ่งได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยใช้ MBFA9 เพียง 0.1 ml/l สามารถตกตะกอนแ่งได้ถึง 99.6%

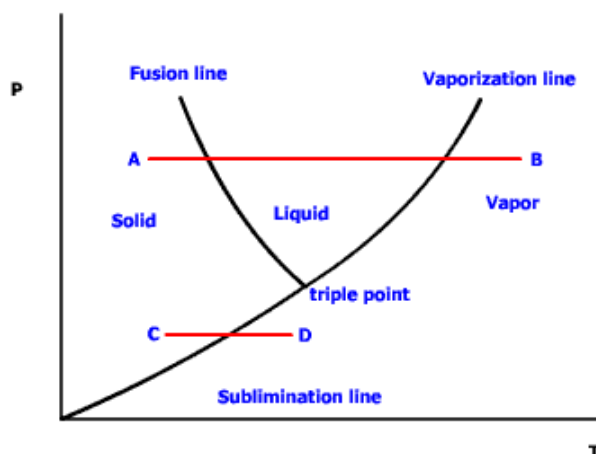
2.3 กระบวนการทำแ่งจุลินทรีย์

หลักการของการทำแ่งวัสดุ คือ การลดค่าความชื้น (moisture) หรือลดค่ากิจกรรมของน้ำ (water activity; a_w) ซึ่งหมายถึงปริมาณน้ำอิสระ (free water) ที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้ (Brennan, 2006) และเป็นการขจัดน้ำออกจากวัสดุ ซึ่งน้ำส่วนใหญ่ในวัสดุจะระเหยออกจากวัสดุด้วยความร้อนแฝง ดังนั้นจึงควรมีการควบคุมปัจจัยสำคัญในการทำแ่งดังต่อไปนี้

- การถ่ายโอนความร้อนจะต้องครอบคลุมปริมาณความร้อนแฝงในการระเหย

- การเคลื่อนที่ของน้ำและเปลี่ยนสถานะไปเป็นไอผ่านวัสดุ และผลจากการที่น้ำถูกขจัดออกไปจากวัสดุ

น้ำบริสุทธิ์สามารถเปลี่ยนแปลงสถานะได้ 3 สถานะ ได้แก่ ของแข็ง ของเหลว และแก๊ส โดยอุณหภูมิและความดันจะเป็นตัวกำหนดสถานะที่ต่างของน้ำ ดังแสดงในภาพที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 วัฏภาคของน้ำ

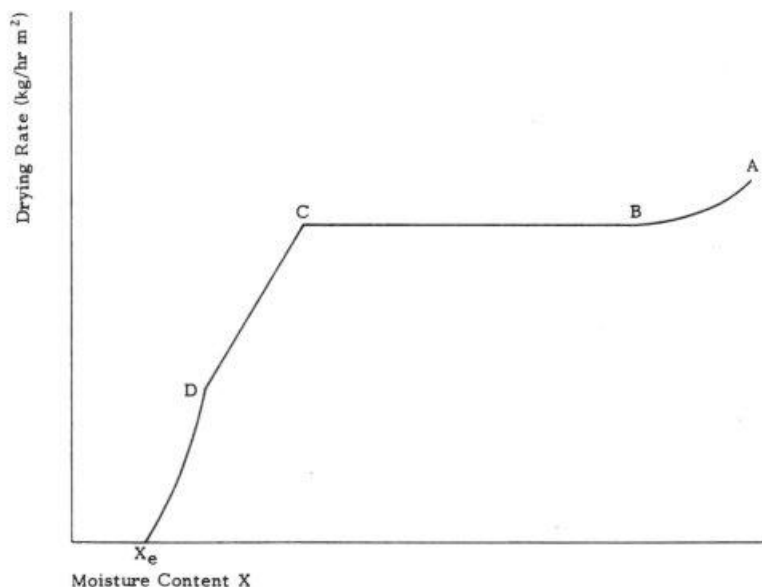
ที่มา : มนทล สุกใส (2548)

(http://pirun.ku.ac.th/~g4765306/mass_transfer/basic_drying.htm)

ทั้งอุณหภูมิและความดันมีผลต่อสถานะของน้ำดังรูปที่ 2.1 เมื่อพิจารณาจาก AB พบว่าน้ำมี 3 สถานะ คือ ของแข็ง ของเหลว และแก๊ส ที่ความดัน 1 บรรยากาศ น้ำเปลี่ยนสถานะจากของแข็งที่อุณหภูมิต่ำ องศาเซลเซียส เกิดการละลายและเปลี่ยนสถานะเป็นของเหลว และมีการเปลี่ยนสถานะจากของเหลวเป็นแก๊สเมื่ออุณหภูมิเปลี่ยนเป็น 100 องศาเซลเซียส โดยการเปลี่ยนสถานะเกิดขึ้น เมื่อมีการคายหรือรับเอาพลังงานความร้อนแฝงเข้ามา แต่เมื่อพิจารณาเส้นตรง CD พบว่า น้ำสามารถเปลี่ยนสถานะจากของแข็งไปเป็นไอได้โดยไม่ผ่านการเปลี่ยนแปลงสถานะเป็นของเหลวการเปลี่ยนแปลงนี้เรียกว่า การระเหิด

ในการเปลี่ยนแปลงสถานะของน้ำในวัสดุให้กลายเป็นไอ เพื่อที่ขจัดน้ำออกไปจากวัสดุไม่ว่าจะที่อุณหภูมิต่ำ จำเป็นต้องอาศัยพลังงานความร้อนเทียบต่อหนึ่งหน่วยของน้ำที่ระเหย เรียกว่า ความร้อนแฝงในการกลายเป็นไอ (latent heat of vaporization) ซึ่งการทำแห้งของวัสดุโดยการใช้ความร้อนทำให้น้ำในเนื้อวัสดุระเหยออกไป ซึ่งเป็นลักษณะของการทำแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อน เมื่อมีการลดความดันลงส่งผลให้จุดเดือดของน้ำลดลง เกิดการระเหยของน้ำจากผิววัสดุได้ที่อุณหภูมิต่ำ ซึ่งเป็นลักษณะการทำแห้งแบบสุญญากาศ ส่วนในการเปลี่ยนสถานะจากของแข็งไป

เป็นไอน้ำนั้น ใช้ความร้อนแฝงในการระเหิด (latent heat of sublimation) โดยการลดความดันและอุณหภูมิลง ทำให้เกิดการระเหิดของน้ำที่อยู่ในสถานะของแข็งให้กลายเป็นไอ ซึ่งเป็นลักษณะการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง



ภาพที่ 2.2 กราฟอัตราการทำแห้งภายใต้ภาวะการทำแห้งที่คงที่
ที่มา : Attwood และ Blackburn (1984)

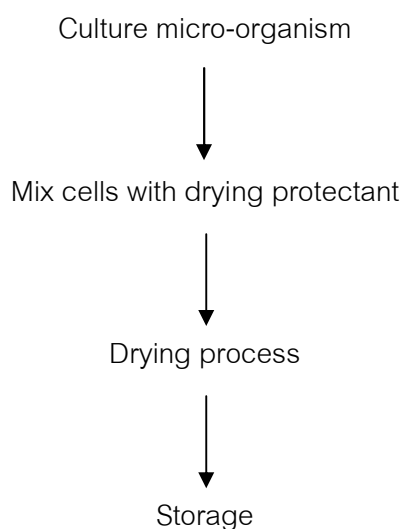
Mujumdar (1997) อธิบายภาพที่ 2.2 ว่าอัตราการทำแห้งของวัสดุโดยทั่วไปแบ่งออกได้เป็น 3 ช่วง คือ

(i) ช่วงการปรับสภาวะเบื้องต้น (initial adjustment period, AB) เป็นช่วงเริ่มต้นที่วัสดุมีความชื้นสูง เกิดการถ่ายเทความร้อนระหว่างตัวกลางกับวัสดุ ทำให้วัสดุมีอุณหภูมิสูงขึ้นจนอุณหภูมิเท่ากับตัวกลาง อัตราการทำแห้งค่อยๆ เพิ่มขึ้น จนถึงช่วงอัตราทำแห้งคงที่

(ii) ช่วงอัตราการทำแห้งคงที่ (constant rate period, BC) เป็นช่วงของการทำแห้งที่ความชื้นในวัสดุเคลื่อนที่มาบริเวณผิวหน้าของวัสดุจะถูกระเหยออกไปและน้ำที่อยู่ภายในชั้นวัสดุก็เคลื่อนขึ้นมาทดแทนที่ผิวหน้า ซึ่งการระเหยของน้ำในช่วงนี้เกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วและคงที่ จากนั้นอัตราการทำแห้งจะดำเนินต่อไปจนถึงจุดวิกฤต (W_C) ซึ่งเป็นจุดที่อัตราการทำแห้งเปลี่ยนจากอัตราการทำแห้งคงที่ไปเป็นอัตราการทำแห้งลดลง

(iii) ช่วงอัตราการทำแห้งลดลง (falling rate period, CD และ DE) เป็นช่วงการทำแห้งหลังจากผ่านจุดความชื้นวิกฤต ในช่วงนี้อัตราการทำแห้งจะลดลงเนื่องจากความชื้นในวัสดุเหลือน้อยจนแพร่ไปยังผิวหน้าวัสดุเกิดขึ้นช้าลง เพราะปริมาณน้ำอิสระในวัสดุระเหยออกไปเกือบหมดแล้ว เหลือแต่น้ำส่วนที่เป็น bound water ซึ่งจับอยู่กับองค์ประกอบต่างๆ ภายในวัสดุ ทำให้การระเหยออกของน้ำเป็นไปได้ยากขึ้น อัตราการทำแห้งจึงลดลง

Adamiec (2009) กล่าวว่า การใช้จุลินทรีย์ในเชิงพาณิชย์เริ่มต้นนั้นได้จัดทำในรูป culture ของจุลินทรีย์ในรูปของเหลว แต่ด้วยเหตุผลหลายประการ เช่น ความก้าวหน้าและการพัฒนาของกระบวนการทางเทคโนโลยีชีวภาพ กระบวนการทางวิศวกรรม อุปกรณ์และการควบคุมที่ดีขึ้น และความต้องการสำหรับปริมาณจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้น การเก็บรักษา culture ของจุลินทรีย์ในรูปของเหลวได้เปลี่ยนให้อยู่ในรูปแบบของแข็ง



ภาพที่ 2.3 ขั้นตอนการทำแห้งจุลินทรีย์เบื้องต้น

ที่มา : ดัดแปลงจาก Morgan และคณะ (2006)

ในการทำแห้ง culture ของจุลินทรีย์นิยมใช้ตัวกลาง (growth media) หรือสารป้องกัน (protective agent) สามารถเติมได้ทั้งในช่วงการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ก่อนการแช่แข็ง หรือการทำแห้ง ประเภทของ Protectant ส่วนใหญ่ขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ เช่น นมที่ไม่มีไขมัน, เซรั่ม, ทรีฮาโลส (trehalose), น้ำตาลซูโครส, น้ำตาลแลคโตส, กลีเซอรอล (Hubálek, 2003) โดยการรอดชีวิตของจุลินทรีย์หลังการทำแห้งขึ้นกับสายพันธุ์ของจุลินทรีย์และตัวกลางที่ป้องกันระหว่างการทำแห้ง โดยการใช้ตัวกลางในการทำแห้งจุลินทรีย์สามารถแบ่งออกเป็น 2 รูปแบบ คือ

-amorphous glass forming เป็นการรวมตัวของเมทริกซ์กับสารอื่น เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และโพลีเมอร์ โดยรูปแบบนี้มีความเสถียรกับอุณหภูมิช่วงต่างๆ ได้ดี และเป็นรูปแบบที่เหมาะสมกับการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Linders *et al*, 1997; Lodato, Segovia de Huergo and Buera, 1999) -eutectic crystallizing salts เป็นรูปแบบของตัวกลางที่แยกเอา สารละลายออกจากโครงสร้างผลึกที่ภายใต้จุดเยือกแข็ง โดยที่ตัวถูกละลายเป็นส่วนผลึก แต่การ ก่อตัวของผลึกนี้อาจเกิดบาดเจ็บของเยื่อหุ้มเซลล์ได้ (Orndorff และ MacKenzie, 1973)

สำหรับการทำแห้งจุลินทรีย์เพื่อเก็บรักษาจุลินทรีย์มีขั้นตอนเบื้องต้นดังภาพที่ 2.3 รวมถึง สามารถนำไปใช้ได้ทั้งในทางอุตสาหกรรม โดยสมบุญ ธินาศุภวัฒน์ (2544) Morgan และคณะ (2006) และ Hays และคณะ (2005) ได้รายงานว่าการทำแห้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้รับความนิยม ได้แก่

2.3.1 การทำแห้งเชื้อจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิต่ำ (Low-temperature drying) โดยใช้ เครื่องอบลมร้อน (tray dryer) ภายใต้อุณหภูมิต่ำ ซึ่งมีค่าใช้จ่ายที่ถูกกว่าวิธีอื่นๆ เช่น การทำแห้ง จุลินทรีย์ในวิธีแบบแช่เยือกแข็ง และแบบพ่นกระจาย แต่ยังไม่แพร่หลายในทางอุตสาหกรรม

de Benito Armas และคณะ (2007) ศึกษาถึงผลของการให้ความร้อนกับสปอร์ของเชื้อ *Bacillus subtilis* โดยเตรียมสปอร์ในอาหาร 2x SG ที่ 37 องศาเซลเซียส และนับจำนวนสปอร์ให้ มีมากกว่า 98% ด้วยการส่องกล้องจุลทรรศน์ ระบุพบว่าสปอร์ของ *Bacillus subtilis* สามารถทน ความร้อนได้ถึง 105-115 องศาเซลเซียส และสามารถอยู่รอดได้ถึง 80-85 % ของจำนวนสปอร์ ภายหลังจากการให้ความร้อนแล้ว ความสามารถในการทนความร้อนของสปอร์เชื้อในกลุ่ม *Bacillus* เป็นข้อดีที่สามารถใช้วิธีการทำแห้งโดยใช้ลมร้อนทำแห้งเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งอาจปรับเปลี่ยน กระบวนการทำแห้งเป็นแบบหลายขั้นตอน ซึ่งอาจลดระยะเวลาในการทำแห้ง และลดค่าใช้จ่าย ด้านพลังงานลงได้

Tsaousi, Dimitrellou และ Koutinas (2008) ศึกษาการทำแห้ง *Saccharomyces cerevisiae* โดยใช้อุณหภูมิต่ำในการทำแห้งที่ 32 องศาเซลเซียส จากนั้นวัดความสามารถในการหมัก ของน้ำตาลกลูโคสของ *S. cerevisiae* แต่พบว่าประสิทธิภาพการหมักน้ำตาลกลูโคสด้วย *S. cerevisiae* ที่ไม่ได้ผ่านการทำแห้งให้ผลไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับ *S. cerevisiae* ที่ผ่านการ ทำแห้งที่อุณหภูมิต่ำ (32 องศาเซลเซียส) ซึ่งพบว่ามีผลดีกว่าการใช้ *S. cerevisiae* ที่ผ่านการทำ แห้งแบบแช่เยือกแข็ง แต่เมื่อเก็บรักษาหลังการทำแห้งเป็นระยะเวลา 1 เดือน ความสามารถในการ หมักน้ำตาลกลูโคสของ *S. cerevisiae* ลดลง

2.3.2 การทำแห้งจุลินทรีย์โดยใช้เครื่องทำแห้งแบบพ่นกระจาย (spray drying) ได้รับความนิยมนำมาใช้ในการทำแห้งจุลินทรีย์พวกโปรไบโอติก (Probiotic) แต่วิธีการนี้มีข้อจำกัดคือ จุลินทรีย์ ที่นำมาทำแห้งต้องสามารถทนต่อความร้อนสูงได้ เนื่องจากวิธีการนี้ใช้ความร้อนในการทำแห้งสูงมากกว่า 100 องศาเซลเซียส และเครื่องทำแห้งแบบพ่นกระจาย (spray dryer) มีราคาแพง

Lian Hsiao และ Chou (2001) ทำแห้งจุลินทรีย์โปรไบโอติกในกลุ่ม bifidobacteria (*B. infantis*, *B. longum*, *B. longum* and *B. longum*) โดยวิธีการทำแห้งแบบพ่นกระจาย ใช้เจลาตินกัมอารบิก และสารละลายแป้งที่มีความเข้มข้นอย่างละ 10% (w/w) เป็นตัวกลางเพื่อป้องกันจุลินทรีย์ พบว่าการรอดชีวิตของ bifidobacteria หลังจากผ่านการทำแห้งแบบพ่นกระจายขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และชนิดของตัวกลางที่ใช้ และพบว่า *B. longum* ในตัวกลางที่เป็นสารละลายแป้งมีการรอดชีวิตที่ต่ำกว่า bifidobacteria และตัวกลางอื่นๆ

Sunny-Roberts และ Knorr (2009) ได้ศึกษาผลของการทำแห้งแบบพ่นกระจายต่อจุลินทรีย์โปรไบโอติก *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) และ *L. rhamnosus* E-97800 (E800) โดยใช้อากาศร้อนที่มีอัตราการไหลคงที่ที่ 5 มิลลิเมตรต่อนาที ที่อุณหภูมิ 102 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิขาออกของอากาศ 60-75 องศาเซลเซียส รวมกับการใช้น้ำตาลทรีฮาโลส (trehalose) และน้ำตาล ทรีฮาโลสร่วมกับโมโนโซเดียมกลูตาเมตเป็นสารป้องกัน หลังจากทำแห้งแบบพ่นกระจายพบว่าอัตราการรอดชีวิตของ LGG ลดลงจาก 1.80×10^9 cfumL⁻¹ เหลือเพียง 3.80×10^3 cfumL⁻¹ ในขณะที่ E800 มีอัตราการรอดชีวิตที่ลดลงจาก 1.80×10^9 cfumL⁻¹ เหลือเพียง 1.90×10^6 cfumL⁻¹ อัตราการรอดชีวิตของ LGG และ E800 ในทรีฮาโลสร่วมกับโมโนโซเดียมกลูตาเมตมีค่าอัตราการรอดชีวิตที่มากกว่าในน้ำตาลทรีฮาโลสเป็นสารป้องกัน

2.3.3 การทำแห้งจุลินทรีย์โดยการใช้เครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศ (vacuum drying) สำหรับการทำแห้ง culture ของจุลินทรีย์ในรูปของเหลวภายใต้สภาวะสุญญากาศ โดยใช้ตัวกลางและการป้องกันจุลินทรีย์ร่วมด้วยในระหว่างการทำแห้ง

Tymczynyn และคณะ (2008) ศึกษาการทำแห้ง *Lactobacillus bulgaricus* ด้วยสุญญากาศที่อุณหภูมิในการทำแห้งที่ 30, 45 และ 70 องศาเซลเซียส จากนั้นวัดการบาดเจ็บของเยื่อเซลล์ของ *Lactobacillus bulgaricus* ต่อเวลาในการทำแห้งและค่ากิจกรรมของน้ำ (a_w) และระยะเวลาที่ใช้ในช่วง lag time ของจุลินทรีย์ จากการทดลองพบว่าในช่วง 10 นาทีแรกของการทำแห้ง การบาดเจ็บของเยื่อเซลล์และระยะเวลาที่ใช้ในช่วง lag time ของ *Lactobacillus*

bulgaricus ไม่มีความแตกต่างกันที่อุณหภูมิใดๆ (30-70 องศาเซลเซียส) แต่หลังจากการทำแห้งผ่านไป 10 นาที ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ระยะเวลาที่จุลินทรีย์อยู่ในช่วง lag time มากขึ้น แตกต่างจากจุลินทรีย์ที่ผ่านการทำแห้งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อค่า a_w ไม่ต่ำกว่า 0.7 เวลาที่ *Lactobacillus bulgaricus* ใช้ในช่วง lag time ไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อค่า a_w ต่ำกว่า 0.5 การทำแห้งที่ 70 องศาเซลเซียส ให้เวลาที่อยู่ในช่วง lag time แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับการทำแห้งที่ 30 องศาเซลเซียส

เวลาในการทำแห้งมีผลต่อการบาดเจ็บของ *L. Bulgaricus* ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ใช้เวลาเพียง 10 นาทีส่งผลต่อการบาดเจ็บของเซลล์เกือบ 100% ส่วนการใช้อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ส่งผลต่อการบาดเจ็บได้มากเมื่อเวลาผ่านไป 20 นาที ส่วนผลของค่ากิจกรรมของน้ำที่มีต่อการบาดเจ็บของเซลล์มีค่าไม่แตกต่างกันที่ a_w 0.8 แต่เมื่อค่ากิจกรรมของน้ำต่ำลงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ส่งผลต่อการบาดเจ็บที่สูงกว่าที่ 70 องศาเซลเซียส และเมื่อค่ากิจกรรมของน้ำต่ำกว่า 0.5 การบาดเจ็บสูงเกือบถึง 100 เปอร์เซ็นต์ ทั้ง 2 อุณหภูมิ

2.3.4 การทำแห้งจุลินทรีย์แบบแช่เยือกแข็ง (freeze drying) เป็นการทำแห้งจุลินทรีย์ที่นิยมมากที่สุด เพราะสามารถรักษาระบบทางชีววิทยาของจุลินทรีย์ไว้ได้ในระยะยาว ทำให้ผงจุลินทรีย์ที่ได้มีค่าการรอดชีวิตและสามารถทำกิจกรรมอื่นๆ ได้ดีกว่าการทำแห้งแบบอื่น แต่การทำแห้งโดยวิธีแช่เยือกแข็งมีข้อเสีย คือมีค่าใช้จ่ายที่สูง ทั้งในด้านของอุปกรณ์และพลังงานที่ใช้ในการทำแห้ง

Miyamoto-Shinohara และคณะ (2000) ได้ศึกษาการทำแห้งโดยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งต่อการรอดชีวิตของจุลินทรีย์แกรมบวก (*Brevibacterium flavum*, *Brevibacterium lactofermentum*, *Corynebacterium acetoaci-dophilum*, *Corynebacterium gultamicum* และ *Streptococcus mutans*) จุลินทรีย์แกรมลบ (*Escherichia coli*, *Pseudomonas putida*, *Serratia marcescens* และ *Alcaligenes faecalis*) และยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) รวม 10 สายพันธุ์ โดยใช้อุณหภูมิในการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่ -60 องศาเซลเซียส และความดันน้อยกว่า 0.1 Pa. ตัวกลางที่ใช้ให้จุลินทรีย์เกาะ คือ นมไขมันต่ำและโซเดียมกลูตาเมต หลังการทำแห้งเก็บรักษาผงจุลินทรีย์ภายใต้สภาวะสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส จากนั้นตรวจวัดอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์โดยวิธีการ total plate count โดยพบว่า จุลินทรีย์แกรมบวกมีอัตราการรอดชีวิตที่สูงกว่าจุลินทรีย์แกรมลบ

Abadias และคณะ (2000) ทำแห้งยีสต์ *Candida sake* แบบแช่เยือกแข็ง โดยอุณหภูมิในการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่ -20 องศาเซลเซียส และใช้น้ำมันดำที่ความเข้มข้น 10% เป็นตัวกลาง วิธีนี้พบว่าการบาดเจ็บของเซลล์หลังการทำแห้ง มีค่าน้อยกว่า 10%

2.4 กระบวนการทำแห้งแบบหลายขั้นตอน (Multistage drying)

แนวโน้มของเทคโนโลยีในการทำแห้งใหม่ๆ มีแนวทางในการลดการสูญเสียคุณภาพของผลิตภัณฑ์ทั้งในด้านเคมีและกายภาพ ลดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและใช้พลังงานน้อยที่สุด อัตราการทำแห้งขึ้นอยู่กับความชื้นและอุณหภูมิ ดังนั้นการลดปริมาณความชื้นให้มากและเร็ว จำเป็นต้องใช้อุณหภูมิที่สูงขึ้นในระหว่างการทำแห้งต่อวัตุดิบ ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมี รวมถึงส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางกายภาพ และใช้พลังงานมากขึ้น (Strumiłło, Markowski and Adamiec, 1991; Adamiec *et al*, 1995.) การทำแห้งหลายขั้นตอนเป็นการทำแห้งที่มีวัตถุประสงค์เพื่อให้การทำแห้งมีค่าใช้จ่ายด้านพลังงานลดลง โดยใช้เครื่องมือในการทำแห้งที่เหมาะสมสำหรับสภาวะของการทำแห้ง ซึ่งนิยมใช้เครื่องมือในการทำแห้งที่แตกต่างกัน โดยดูจากความสามารถในการทำแห้งของเครื่องมือและสภาวะในการทำแห้งของเครื่องทำแห้ง หรือปรับอุณหภูมิและเวลาให้แตกต่างกันในแต่ละสภาวะการทำแห้ง แต่ในอุตสาหกรรมต้องคำนึงถึงความเหมาะสมในเรื่องของค่าใช้จ่ายและเวลาของแต่ละสภาวะ เนื่องจากการใช้เครื่องมือ 2 ชนิดต้องมีค่าใช้จ่ายในการลงทุนที่สูงขึ้น ดังนั้นควรเลือกให้ขึ้นอยู่กับลักษณะทางเศรษฐกิจ รวมทั้งราคาสินค้าเป็นสำคัญ (Kudra and Mujumdar, 2009)

การทำแห้งแบบไฮบริด (Hybrid drying) เป็นวิธีการที่ประกอบด้วยเทคนิคการทำแห้งที่ใช้การถ่ายโอนความร้อน หรือการทำแห้งจากเครื่องมือการทำแห้งหลายวิธีประกอบกัน ซึ่งอาจใช้เป็นการทำแห้งสองขั้นตอนหรือมากกว่านั้น โดยวิธีการทำแห้งอาจเป็นการทำแห้งชนิดเดียวกันหรือแตกต่างกัน โดยการทำแห้งแบบไฮบริดประกอบด้วย (1) การทำแห้งแบบการผสมรูปแบบของการถ่ายโอนความร้อน (Combined mode of heat transfer) (2) การทำแห้งแบบหลายขั้นตอน (Multistage drying) (3) การทำแห้งแบบหลายกระบวนการ (Multiprocessing drying) โดยการทำแห้งแบบหลายขั้นตอนสามารถแบ่งออกเป็น (1) การทำโดยใช้เครื่องมือในการทำแห้งชนิดเดียว แต่ใช้สภาวะในการทำแห้งสองสภาวะหรือมากกว่านั้น (2) การใช้เครื่องมือในการทำแห้งรวมกัน ตั้งแต่ 2 ชนิด ขึ้นไป เช่น การใช้เครื่องทำแห้งแบบไมโครเวฟ-สุญญากาศ (microwave-vacuum dryer) หรือการใช้เครื่องทำแห้งแบบไมโครเวฟ-ลมร้อน (microwave-hot air dryer) (3) การใช้

เครื่องมือในการทำแห้ง 2 ชนิดต่อเนื่องกันในการทำแห้ง เช่น การใช้เครื่องทำแห้งแบบไอน้ำยวดยิ่ง (superheated steam) ตามด้วยการใช้เครื่องทำแห้งแบบตู้อบลมร้อน (hot air)

Namsanguan และคณะ (2004) ศึกษาการทำแห้งแบบ 2 ขั้นตอน ในการทำแห้งกุ้ง โดยการใช้เครื่องมือในการทำแห้ง 2 ชนิดคือ เครื่องทำแห้งแบบไอน้ำร้อนยวดยิ่ง (superheated steam dryer) ที่อุณหภูมิ 140 องศาเซลเซียส แล้วตามด้วยเครื่องทำแห้งแบบตู้อบลมร้อน (hot air dryer) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จนได้ความชื้นอยู่ระหว่าง 30-40 % (w.b.) กุ้งผ่านการทำแห้งแบบ 2 ขั้นตอน แล้วพบว่า คุณภาพของกุ้ง (ความหืดตัว, สี และโครงสร้างของกุ้ง) มีค่าที่ดีมากกว่าการทำแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อนเพียงอย่างเดียว

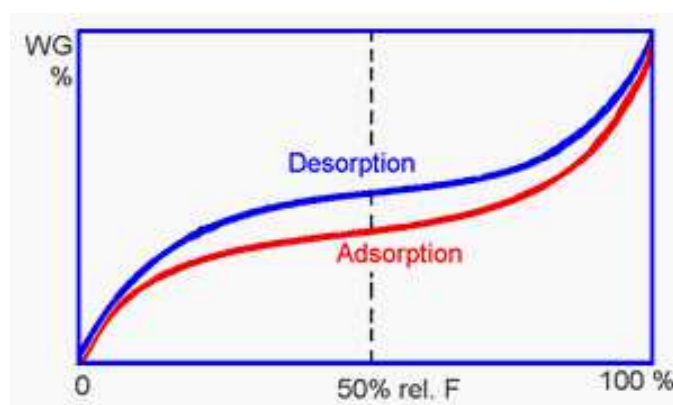
Borompichaichartkul และคณะ (2009) ศึกษาการทำแห้งถั่วแมคคาเดเมีย โดยการใช้การทำแห้งแบบหลายขั้นตอน (hybrid drying) โดยการใช้เครื่องทำแห้งแบบปั๊มความร้อน (heat pump drying) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ตามด้วยการใช้ตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 50-70 องศาเซลเซียส วิเคราะห์คุณภาพของถั่วแมคคาเดเมียแห้งจาก ปริมาณความชื้น, ค่ากิจกรรมของน้ำ (a_w), สี, ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar content) และค่าเปอร์ออกไซด์ (peroxide value) พบว่าการใช้เครื่องทำแห้งถั่วแมคคาเดเมียแบบปั๊มความร้อนตามด้วยการใช้ตู้อบลมร้อนลดความชื้นถั่วแมคคาเดเมียจนเหลือที่ 11.1 % (d.b.) ในเวลาสั้นที่ 15-45.5 ชั่วโมง โดยปริมาณความชื้นและอุณหภูมิในการทำแห้งมีผลต่อค่าเปอร์ออกไซด์อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) คือเมื่อใช้อุณหภูมิในการทำแห้งที่สูงส่งผลต่อค่าเปอร์ออกไซด์ให้สูงขึ้นด้วย แต่ปริมาณความชื้นและอุณหภูมิในการทำแห้งไม่มีผลต่อสีทั้งภายในและภายนอกของถั่วแมคคาเดเมีย รวมถึงไม่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วย ($p > 0.05$)

2.5 มอยส์เจอร์ซอปชันไอโซเทอร์ม (Moisture Sorption Isotherm, MSI)

Labuza (1968) อธิบายว่า MSI คือ กราฟแสดงปริมาณน้ำที่ถูกดูดซับไว้ ซึ่งเป็นฟังก์ชันของความชื้นสัมพัทธ์สมดุลกับปริมาณความชื้นที่จุดสมดุลที่อุณหภูมิคงที่หนึ่ง MSI มีประโยชน์ในการตรวจสอบความเสถียรของผลิตภัณฑ์ที่ทำแห้งในรูปของส่วนประกอบของอาหารและบรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสม ความเสถียรทางเคมี เนื้อสัมผัส และทางชีวภาพ (Rahman, 1995) MSI ช่วยในการเลือกบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์แห้ง

MSI แบ่งได้เป็น 2 ส่วน คือ (1) การดูดความชื้น (adsorption) คือ การวางตัวอย่างแห้งไว้ในสภาพแวดล้อมต่างๆ แล้วน้ำหนักของตัวอย่างมีการเพิ่มขึ้น เนื่องจากการดูดซึมน้ำของตัวอย่าง (2) การคายความชื้น (desorption) คือ การวางตัวอย่างเปียกที่มีความชื้นสูงกว่าความชื้นสัมพัทธ์

สมดุลแล้วน้ำหนักของตัวอย่างมีการลดลงจากน้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น (Al-Muhtaseb, McMinn and Magee, 2002) เนื่องจากการคายน้ำของตัวอย่าง ปกติแล้วกระบวนการทั้ง 2 ไม่สามารถย้อนกลับ (irreversible) ทำให้เกิดปรากฏการณ์ ฮิสเทอริซิส (hysteresis) ดังรูปที่ 2.4



ภาพที่ 2.4 มอยส์เจอร์ซอร์พชันไอโซเทอรัมของวัสดุทั่วไปที่แสดงถึงช่วงการดูดและคายความชื้น
ที่มา : Anonymous (2011)

(http://www.tis-gdv.de/tis_e/ls/containertransport/inhalt.htm)

จากรูปที่ 2.4 MSI สามารถแบ่งออกเป็น 3 โซน (zone) (ตรี วาทกิจ, ไม่ระบุปี)

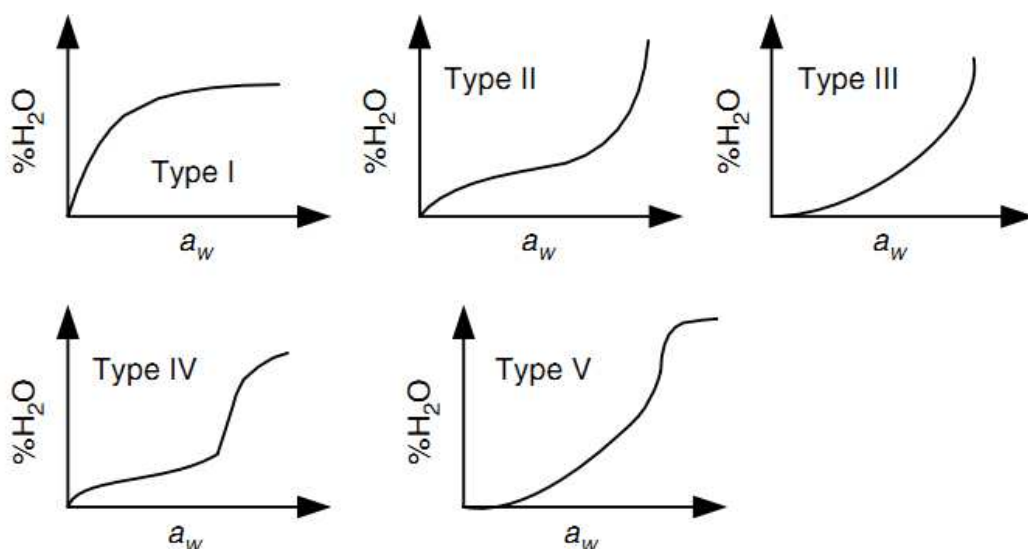
Zone I เป็นน้ำที่ถูกดูดซับแน่นหนามากที่สุด ด้วยแรง water dipole น้ำในกลุ่มนี้ไม่แข็งตัวที่ -40 องศาเซลเซียส และไม่มีคุณสมบัติในการทำละลาย มีพฤติกรรมคล้ายของแข็ง

Zone II เป็นน้ำหนาหลายชั้นโมเลกุล (multimolecular layer) จะเกิดแรงกระทำกับโมเลกุลน้ำข้างเคียง ด้วยพันธะไฮโดรเจน น้ำส่วนนี้มีการเคลื่อนไหวน้อย ไม่แข็งตัวที่ -40 องศาเซลเซียส แต่มีผลต่อคุณสมบัติของตัวถูกละลาย ช่วยลดความแข็งเปราะเพราะมีการละลายเกิดขึ้นนำไปสู่การเร่งปฏิกิริยาเป็นส่วนใหญ่

Zone III เป็นน้ำที่ถูกจับอยู่ในเซลล์ เช่น น้ำในเจล น้ำส่วนนี้เป็นน้ำอิสระ ไหลได้ แข็งได้ เป็นตัวทำละลาย และแหล่งเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ ปริมาณน้ำโซนนี้มากกว่า 95 % ของน้ำทั้งหมดในอาหารหรือวัสดุชีวภาพที่มีความชื้นสูง

2.5.1 ลักษณะของกราฟ MSI

โดยทั่วไปที่ค่าความชื้นสัมพัทธ์หนึ่งๆ MSI ช่วงการคายความชื้น (desorption) จะสูงกว่าช่วงการดูดความชื้น (adsorption) ซึ่งส่งผลให้ลักษณะกราฟ MSI แบ่งได้เป็น 5 รูปแบบ (Bhandari and Adhikari, 2008) ดังที่แสดงในรูปที่ 2.5



ภาพที่ 2.5 รูปแบบของกราฟ MSI ที่พบในอาหาร

ที่มา : Bhandari and Adhikari (2008)

Type I Langmuir isotherm ได้มาโดยการดูดซับน้ำของแข็งที่มีรูพรุนขนาดเล็ก และพิจารณาการดูดซับน้ำได้จากปริมาตรของรูที่น้ำผ่านเข้าไป เป็นรูปแบบกราฟของอาหารผง

Type II Sigmoid isotherm เป็นรูปแบบการดูดซับน้ำทั่วไปของวัสดุที่มีรูพรุน ซึ่งพบได้ในผลิตภัณฑ์ที่ละลายน้ำได้ และแสดงให้เห็นแนวโน้มเชิงเส้นที่เพิ่มขึ้นในทิศทางเดียวกับค่า a_w ที่เพิ่มขึ้น

Type III Flory – Huggins isotherm เป็นการดูดซับของตัวทำละลายหรือ plasticizer หรือตัวอย่างที่มีการเปลี่ยนแปลงของ glass-transition temperature โดยน้ำตาลจัดอยู่ใน MSI ประเภทนี้

Type IV เป็นการดูดซับของของแข็งที่ชอบน้ำจนถึงจุดสูงสุดที่สามารถทำการดูดซับน้ำไว้ได้

Type V คือรูปแบบของ BET (Brunauer, Emmett and Teller, 1938 อ้างใน Bhandari และ Adhikari (2008)) เป็น multi-layer adsorption isotherm ซึ่งพบจากการดูดซับของไอน้ำบนถ่าน มีความสัมพันธ์กับไอโซเทอร์ม Type II และ Type III

2.5.2 สมการที่ใช้ในการทำนาย MSI

มีแบบจำลองทางคณิตศาสตร์หลายชนิด เพื่อใช้คาดการณ์ในการอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างความชื้นสัมพัทธ์และความชื้นสมดุลของ MSI โดยแบ่งออกเป็น 2 แบบ คือแบบจำลอง 2 ตัวแปร และ 3 ตัวแปร

2-parameter model

- **Langmuir equation** สมการของ Langmuir (Langmuir, 1918 อ้างใน Bhandari และ Adhikari (2008)) เป็นสมการที่เปรียบเทียบระหว่างค่า a_w กับปริมาณความชื้น ที่กล่าวถึงในกราฟ MSI type I ดังสมการ (2.1)

$$\frac{m}{M_0} = \frac{Ca_w}{1 + Ca_w} \quad (2.1)$$

เมื่อ C และ M_0 เป็นค่าคงที่

- M_0 - Monolayer moisture content
- m - ความชื้นของผลิตภัณฑ์ที่ภาวะใด ๆ
- a_w - water activity

- **BET equation** เป็นสมการใช้กันอย่างแพร่หลาย โดยสามารถใช้ในวัสดุหลากหลายชนิด ข้อมูลที่ใช้อยู่ในช่วง $0.05 < a_w < 0.45$ ความสัมพันธ์นี้ไม่สามารถใช้ได้ในช่วง a_w ทั้งหมดในวัสดุ โดยใช้ค่า monolayer moisture content (M_0) มาใช้ในการคำนวณ ดังสมการที่ (2.2) และ (2.3)

$$\frac{m}{M_0} = \frac{Ca_w}{(1 - a_w)[1 + (C - 1)a_w]} \quad (2.2)$$

หรือ

$$\frac{a_w}{(1 - a_w)m} = \frac{1}{M_0C} + \frac{(C-1)a_w}{M_0C} \quad (2.3)$$

- ที่ M_0 - Monolayer moisture content
 C - เป็นค่าคงที่ที่สัมพันธ์กับ net heat of sorption
 m - ความชื้นของผลิตภัณฑ์ที่ภาวะใดๆ
 a_w - water activity

3-parameter model

GAB (Guggenheim-Anderson-de Boer) model เป็นสมการแบบ 3 ตัวแปร โดยเป็นสมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างการดูดและคายความชื้นแบบหลายโมเลกุล ซึ่งสมการนี้เหมาะแก่การใช้อธิบายพฤติกรรมของการดูดและคายความชื้นของอาหารและวัสดุชีวภาพได้ในช่วงของ a_w ที่กว้าง ซึ่งแสดงในสมการ (2.4)

$$EMC = \frac{MKCa_w}{(1 - Ka_w)[1 - Ka_w + KCa_w]} \quad (2.4)$$

- โดย K, C - equation constants
 EMC - equilibrium moisture content, % (dry basis)
 M - monolayer moisture content

2.6 บรรจุภัณฑ์และการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์แห้ง

มีการศึกษาในการใช้บรรจุภัณฑ์น้อยมากในการเก็บรักษาจุลินทรีย์ โดยทั่วไปเป็นการประเมินและทดสอบทางอุตสาหกรรมและภาคเอกชนมักเป็นความลับทางการค้า โดย Bozoglu Ozilgen และ Bakir (1987) ศึกษาการเก็บรักษา *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* โดยใช้อากาศ แก๊สไนโตรเจน และสภาวะสุญญากาศในขวดแก้วปิดผนึก พบว่าการใช้แก๊สไนโตรเจนและสภาวะสุญญากาศให้ผลดีกว่าที่เก็บรักษาโดยมีอากาศ เพราะเซลล์ที่บาดเจ็บสามารถฟื้นตัวได้เนื่องจากการดูดซึ่มออกซิเจนกลับสู่ภายในเซลล์ตลอดการเก็บรักษาทำให้เกิดการสะสมของอนุมูลอิสระ (free radical) ของออกซิเจนภายในเซลล์ทำให้ไม่

สามารถเกิดการเมทาบอลิซึมหรือ active transport ของ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ให้ออกมาภายนอกเซลล์ได้

Costa และคณะ (2002) เปรียบเทียบการเก็บรักษาโดยใช้บรรจุภัณฑ์แก้ว พลาสติกชนิดป้องกันการซึมผ่านได้สูง (high barrier plastic, HBP) และชนิดป้องกันการซึมผ่านได้ต่ำ (low barrier plastic, LBP) การเก็บรักษา *Pantoea agglomerans* ใน HBP มีประสิทธิภาพที่ดีกว่า LBP ในสภาวะเดียวกัน เมื่อให้ระดับของการซึมผ่านของออกซิเจนและความชื้นที่สูงขึ้น และพบว่าเมื่อเก็บรักษา *Pantoea agglomerans* ที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 วัน พบการลดลงของปริมาณจุลินทรีย์ 0.5 log cfu/g แต่เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วันการลดลงของจุลินทรีย์เท่ากับ 3 log cfu/g

Morgan และคณะ (2006) กล่าวว่าวิธีการเก็บรักษาและบรรจุภัณฑ์มีผลต่ออายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์แห้ง โดยเฉพาะการหลีกเลี่ยงการเกิดปฏิกิริยากับออกซิเจน ความชื้น แสง การปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่น และอุณหภูมิที่สูง จากเหตุผลข้างต้นจึงเป็นที่มาของการเลือกใช้บรรจุภัณฑ์ที่มีความแตกต่างกันสำหรับผลิตภัณฑ์ต่างชนิดกัน โดยทั่วไปผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งจะเก็บรักษาด้วยหลอดแก้วหรือขวดแก้วเนื่องจากมีความไวต่อการดูดความชื้นกลับ และผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการทำแห้งแบบอื่นนิยมเก็บด้วยบรรจุภัณฑ์พลาสติกที่ป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำได้ในระดับหนึ่ง

2.7 อายุการเก็บ (shelf life) ของผลิตภัณฑ์

ผงจุลินทรีย์มีการเสื่อมเสียตามธรรมชาติ นอกจากการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการผลิตและเก็บรักษา ดังนั้นสภาวะที่ใช้ในการผลิตและการเก็บรักษาจึงมีอิทธิพลต่อลักษณะต่างๆ ที่เกี่ยวกับคุณภาพของจุลินทรีย์ ในช่วงเวลาการเก็บรักษานั้นอาจมีเพียงหนึ่งหรือมากกว่าหนึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของจุลินทรีย์ จนเข้าสู่ระดับที่ทำให้เกิดสภาวะที่ยอมรับไม่ได้ ซึ่งที่ระดับดังกล่าวนี้เรียกได้ว่าจุลินทรีย์นั้นหมดอายุ (Singh, 1994)

Ananta และคณะ (2004) ทำแห้งจุลินทรีย์โปรไบโอติก (*Lactobacillus acidophilus*) โดยใช้การทำแห้งแบบพ่นกระจายที่อุณหภูมิที่ไม่รุนแรง เพื่อหลีกเลี่ยงการเสื่อมสภาพของจุลินทรีย์ ผลิตผงจุลินทรีย์ให้มีความชื้นต่ำกว่า 4% ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมในการเก็บรักษา พบว่า ภายหลังจากการทำแห้งและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สามารถเก็บรักษาได้ 42 วัน

Chávez และ Ledebøer (2007) อธิบายถึงวิธีการทำแห้งจุลินทรีย์โปรไบโอติก (probiotic) โดยใช้การทำแห้ง 2 ขั้นตอนที่คุณสมบัติต่ำ คือ การทำแห้งแบบพ่นกระจายและการทำแห้งแบบสุญญากาศ รวมถึงศึกษาตัวกลางที่เหมาะสม เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการอยู่รอดของจุลินทรีย์โปรไบโอติกที่มีปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นประมาณ $8 \log \text{ cfu/g}$ เพื่อเก็บรักษาผงจุลินทรีย์โปรไบโอติกให้ได้นานมากกว่า 3 เดือน ที่ 30 องศาเซลเซียส โดยใช้ตัวกลางผสมระหว่างโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในการป้องกันจุลินทรีย์ระหว่างการทำแห้ง พบว่า การใช้โปรตีนจากถั่วเหลืองและมอลโตเดกตริน หรือใช้หางนมและกัมอาราบิก (arabic gum) ส่งผลให้อัตราการอยู่รอดของจุลินทรีย์โปรไบโอติกระหว่างการเก็บรักษาที่คุณสมบัติ 30 องศาเซลเซียส เมื่อผ่านไป 3 เดือน มีค่าสูงที่สุด ($\sim 8 \log \text{ cfu/g}$) เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้โปรตีนจากถั่วเหลืองผสมกับแลคโตส (lactose) และใช้โปรตีนจากถั่วเหลืองผสมกับซูโครส (sucrose) ที่เมื่อผ่านไป 3 เดือน มีปริมาณจุลินทรีย์ลดลงเหลือต่ำกว่า $6 \log \text{ cfu/g}$

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุที่ใช้ในการวิจัย

culture ของจุลินทรีย์ในรูปของเหลว *Bacillus* spp. ตัวกลาง อินนินทรีย์ (A) และตัวกลาง อินนินทรีย์ (B) ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ได้รับความอนุเคราะห์จาก ห้างหุ้นส่วน จำกัด นวัตกรรมชั้น เกือบculture ของจุลินทรีย์ในรูปของเหลว *Bacillus* spp. ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตลอดการทดลอง

3.2 สารเคมี

Potassium Chloride (KCl)	(AR grade, RFCL, India)
Sodium Bromide (NaBr)	(Lab grade, RFCL, India)
Lithium Chloride (LiCl)	(Lab grade, Ajax Finechem, Austria)
Magnesium Chloride (MgCl ₂)	(AR grade, RFCL, India)
Potassium Nitrate (KNO ₃)	(Lab grade, RFCL, India)
Sodium Nitrate (NaNO ₃)	(Lab grade, Loba Chemie, India)
Potassium Carbonate (K ₂ CO ₃)	(Lab grade, Ajax Finechem, Austria)
Sodium Chloride (NaCl)	(AR grade, Loba Chemie, India)
Potassium Acetate (CH ₃ COOK)	(Lab grade, RFCL, India)

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

Nutrient Agar	(Merck Laboratories, Darmstadt, Germany)
Peptone	(Merck Laboratories, Darmstadt, Germany)

3.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

- ตู้อบลมร้อน (HA-100s, Yeo Heng, ประเทศไทย)
- ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) (600, Memmert, Germany)
- เครื่องชั่งน้ำหนัก ทศนิยม 2 ตำแหน่ง (BP3100S, Sartorius, Germany)
- เครื่องชั่งน้ำหนัก ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (A2005, Sartorius, Germany)

เครื่อง Vortex (VX 100, Labnet, USA)

เครื่อง Autoclave (SS-320, TOMY Autoclave, Japan)

ตู้บ่มเชื้อ Incubator (B6, Heraeus instrument)

เครื่อง Colony counters (Suntex, Taiwan)

ตู้ Laminar flow cabinet (BVT-123, ประเทศไทย)

เครื่องแก้วและอุปกรณ์ต่างๆที่จำเป็น

3.5 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

3.5.1 ศึกษาจลนพลศาสตร์การทำแห้งและคุณภาพของจุลินทรีย์ในระหว่างการทำแห้ง

3.5.1.1 การเตรียมตัวกลางและจุลินทรีย์

นำธาตุที่ใช้ใส่ตัวอย่างสำหรับอบแห้งมาอบไล่ความชื้น และฆ่าเชื้อธาตุด้วย 95% ethanol นำตัวกลาง 1 กิโลกรัมใส่ในธาตุ จากนั้นผสม culture ของจุลินทรีย์ในรูปของเหลว *Bacillus* spp. 150 มิลลิลิตร (ใช้ตามอัตราส่วนของทางบริษัทนิวทริชั่น) ลงไปในตัวกลางผสมให้เข้ากันและเกลี่ยตัวอย่างที่ผสมแล้วให้สม่ำเสมอในธาตุ โดยให้ของผสมมีความสูง 0.5 เซนติเมตร แบ่งตัวอย่างที่ผสมแล้วมา 60 กรัม เพื่อหาความชื้นเริ่มต้นตามวิธีของ AOAC (2006) (ภาคผนวก ก.1) และปริมาณจุลินทรีย์แบบใช้ออกซิเจน (ภาคผนวก ก.2)

3.5.1.2 การอบแห้งและการหาความชื้นระหว่างการอบ

เตรียมตัวอย่างตามวิธีข้อ 3.5.1.1 ใส่ในตู้อบลมร้อนที่ตั้งอุณหภูมิลมร้อนในการทำแห้งที่ 40 องศาเซลเซียส ชั่งน้ำหนักและบันทึกผลทุกช่วงเวลาที่กำหนด จนน้ำหนักตัวอย่างคงที่ คือมีค่าเปลี่ยนแปลงระหว่างน้ำหนัก 2 ค่าต่อเนื่องกันไม่เกิน 0.05% ของน้ำหนักเริ่มต้น จึงหยุดการทำแห้ง นำตัวอย่างที่ผ่านการทำแห้งแล้วไปหาความชื้นสุดท้ายตามวิธีของ AOAC (2006) (ภาคผนวก ก.1) และปริมาณจุลินทรีย์สุดท้ายภายหลังการทำแห้งตามวิธีของ BAM (2001) (ภาคผนวก ก.2) จากนั้นเตรียมตัวอย่างตามวิธีข้อ 3.5.1.1 แปรอุณหภูมิลมร้อนในการทำแห้งที่ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส บันทึกน้ำหนักแต่ละช่วงเวลาเช่นเดียวกันทดลองซ้ำ 2 ครั้ง ในแต่ละอุณหภูมิ คำนวณค่าเฉลี่ยความชื้นของตัวอย่าง จากนั้นนำมาพล็อตกราฟระหว่างเวลา กับความชื้นที่ใช้ในการทำแห้งในแต่ละอุณหภูมิการอบแห้ง วิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติของปริมาณจุลินทรีย์หลังผ่านการทำแห้งโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT)

3.5.2 ศึกษาจุดเหมาะสมของการทำแห้ง และชนิดของตัวกลางที่ใช้ในการทำแห้ง

Bacillus spp.

จากขั้นตอนที่ 3.5.1.2 จะได้กราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลากับความชื้นของจุลินทรีย์ที่ผสมตัวกลางในแต่ละอุณหภูมิ จากนั้นนำกราฟมาพิจารณา และแบ่งช่วงเวลาในกราฟออกเป็น 5 ช่วงเวลา เพื่อสุ่มตัวอย่างออกมาตรวจสอบความชื้นและปริมาณจุลินทรีย์ที่เหลืออยู่ เพื่อที่จะสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลาในการทำแห้งและคุณภาพของจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิต่างๆ เพื่อนำมาใช้ในการคัดเลือกจุดที่เหมาะสมในการทำแห้งแบบหลายขั้นตอนในแต่ละช่วง โดยแบ่งกราฟจลนพลศาสตร์การทำแห้งของแต่ละอุณหภูมิออกเป็น 5 ช่วงเท่าๆกัน โดยเริ่มตั้งแต่ก่อนทำแห้งจนถึงความชื้นคงที่ ทดลองซ้ำโดยแปรอุณหภูมิในการทำแห้งที่ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส บันทึกผลทั้ง 5 ช่วง ทดลองซ้ำ 2 ครั้ง คำนวณค่า %การรอดชีวิตของ *Bacillus* spp. (%SR) ในแต่ละช่วงเวลาของแต่ละอุณหภูมิของการทำแห้งดังสมการที่ (3.1) ในการทดลองนี้จะใช้ตัวกลาง 2 ชนิด เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวกลางทั้ง 2 ชนิด ที่ค่าความชื้นของผงจุลินทรีย์ที่ 1.5-3.6 % (w.b.) ซึ่งเป็นความชื้นของผงจุลินทรีย์แห้งโดยทั่วไป

$$\%SR = (\text{ปริมาณจุลินทรีย์หลังการทำแห้ง} / \text{ปริมาณจุลินทรีย์ก่อนการทำแห้ง}) \times 100 \quad (3.1)$$

3.5.3 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำแห้งแบบหลายขั้นตอน

นำข้อมูลผลการทดลองที่ได้จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลาและ %การรอดชีวิตของจุลินทรีย์ในแต่ละอุณหภูมิในข้อ 3.5.2 ออกแบบการทำแห้งแบบหลายขั้นตอนขึ้นมา 3 สภาวะ โดยใช้ %การรอดชีวิตที่สูงที่สุดในแต่ละอุณหภูมิการทำแห้ง เป็นเกณฑ์ในการกำหนดอุณหภูมิและเวลาในการทำแห้งเตรียมตัวอย่างตามหัวข้อ 3.5.1.1 ทำแห้งตามสภาวะที่ออกแบบไว้ หากค่าความชื้นสุดท้าย %การรอดชีวิต และเวลาที่ใช้ในการทำแห้ง ของทั้ง 3 สภาวะ ทดลองซ้ำ 2 ครั้ง วิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติของปริมาณจุลินทรีย์หลังผ่านการทำแห้งโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT)

3.5.4 ศึกษาอัตราส่วนระหว่างตัวกลางและ *Bacillus* spp. ที่เหมาะสมในการทำแห้ง

เตรียมตัวอย่างตามข้อ 3.5.1.1 แปรอัตราส่วนของตัวกลางต่อจุลินทรีย์ที่ปริมาณของตัวกลางในช่วง 0.5-1 กิโลกรัม ต่อปริมาณจุลินทรีย์ 150 มิลลิลิตร ใช้สภาวะของการทำแห้งแบบหลายขั้นตอนที่เลือกได้จากขั้นตอนที่ 3.5.3 มาทำแห้งตัวอย่างในทุกอัตราส่วน หาความชื้นสุดท้ายและ %SR ทดลองซ้ำ 2 ครั้ง วิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติของปริมาณจุลินทรีย์หลังผ่านการทำแห้งโดยใช้วิธี Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT)

3.5.5 ศึกษา moisture sorption isotherms (MSI) ของผง *Bacillus* spp.

นำผง *Bacillus* spp. ที่ผ่านวิธีการทำแห้งที่ได้จากวิธีในขั้นตอนที่ 3.5.3 ที่อัตราส่วนของตัวกลางกับจุลินทรีย์ที่เหมาะสมในขั้นตอนที่ 3.5.4 มาหา moisture sorption isotherms โดยใช้วิธี static gravimetric (ภาคผนวก ก.3) ใช้สารละลายเกลือเป็นสารควบคุมความชื้นสัมพัทธ์สมดุลของอากาศ เก็บไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส บันทึกน้ำหนักตัวอย่างทุก 3 วัน จนค่าน้ำหนักตัวอย่างคงที่ เปลี่ยนแปลงไม่เกิน 0.05% ของน้ำหนักเริ่มต้น นำข้อมูลที่ได้มาสร้างแบบจำลองของ MSI เพื่อใช้ในการศึกษาชนิดของบรรจุภัณฑ์และสภาวะในการเก็บรักษาที่เหมาะสม ทดลองซ้ำ 3 ครั้ง

3.5.6 ทดลองหาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ที่เลือก

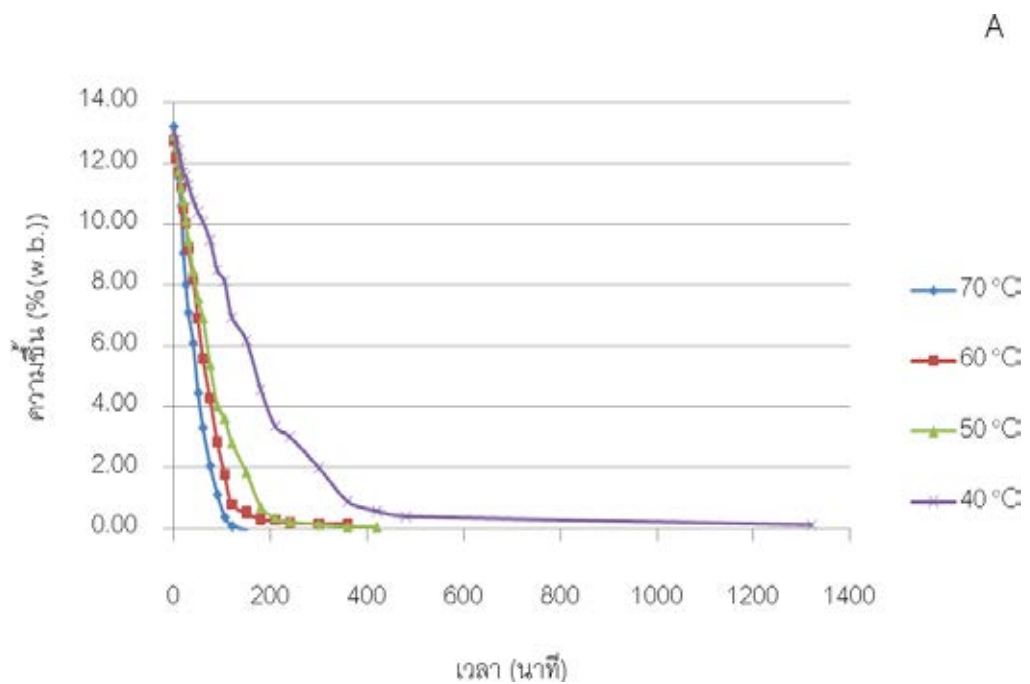
นำผง *Bacillus* spp. ที่ได้จากขั้นตอน 3.5.3 และ 3.5.4 เก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ที่ได้เลือกมาจากขั้นตอนที่ 3.5.5 และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส วัด %รอดชีวิตของ *Bacillus* spp. ตรวจสอบค่าความชื้น และปริมาณจุลินทรีย์ เก็บผลการทดลองทุก 3 วัน หากปริมาณจุลินทรีย์มีน้อยกว่า 6 log cfu/g ถือว่าผลิตภัณฑ์ผง *Bacillus* spp. หมดอายุ

บทที่ 4

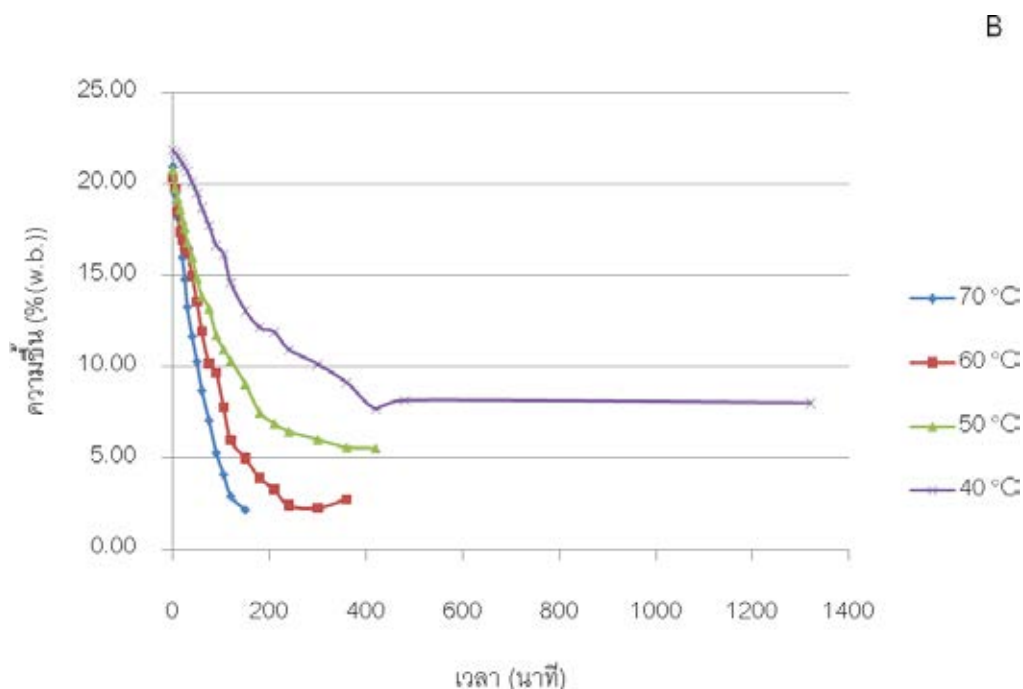
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ศึกษาจลนพลศาสตร์การทำแห้งและคุณภาพของจุลินทรีย์ในระหว่างการทำแห้ง

จลนพลศาสตร์การทำแห้งของ *Bacillus* spp. ที่อุณหภูมิ 4 ระดับ คือ 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส ในตัวอย่าง 2 ชนิด คือ ตัวอย่างที่เป็นสารอินทรีย์ (A) และ ตัวอย่างที่เป็นสารอนินทรีย์ (B) แสดงด้วยกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลาที่ใช้ในการทำแห้งตัวอย่างและ *Bacillus* spp. กับค่าความชื้น (MC) ที่หาได้จากสมการ (ก.1) แสดงดังภาพที่ 4.1



ภาพที่ 4.1a จลนพลศาสตร์การทำแห้งที่อุณหภูมิ 40-70 องศาเซลเซียส ของ *Bacillus* spp. ที่ผสมกับตัวอย่าง A ที่เวลาในการทำแห้งต่างกัน



ภาพที่ 4.1b จลนพลศาสตร์การทำแห้งที่อุณหภูมิ 40-70 องศาเซลเซียส ของ *Bacillus* spp. ที่ผสมกับตัวกลาง B ที่เวลาในการทำแห้งต่างกัน

จากภาพที่ 4.1 พบว่าความชื้นของของผสมระหว่างตัวกลาง (A, B) กับ culture *Bacillus* spp. ที่การทำแห้งที่อุณหภูมิต่างๆ (40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส) มีค่าลดลงอย่างต่อเนื่องจนน้ำหนักของตัวอย่างคงที่ และการทำแห้ง culture *Bacillus* spp. ที่ผสมตัวกลางทั้ง 2 ชนิดที่อุณหภูมิสูง 70 องศาเซลเซียสส่งผลให้ความชื้นระหว่างการทำแห้งมีค่าลดลงเร็วกว่าการทำแห้งที่ใช้อุณหภูมิต่ำกว่า (40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส)

Sharma และ Prasad (2001) ได้ศึกษาการทำแห้งกระเทียมโดยใช้ตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส และความเร็วลมที่ 2 เมตรต่อวินาที พบว่าการใช้อุณหภูมิในการทำแห้งที่ 70 องศาเซลเซียส ทำแห้งจนน้ำหนักของกระเทียมคงที่ใช้เวลาสั้นกว่าที่อุณหภูมิต่ำกว่า (40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Vega และคณะ (2007) ที่ได้ศึกษาจลนพลศาสตร์การทำแห้งของพริกหวานสีแดง โดยใช้อุณหภูมิในการทำแห้งที่ 50, 60, 70 และ 80 องศาเซลเซียส และใช้ความเร็วลมที่ 2.5 เมตรต่อวินาที พบว่าที่อุณหภูมิในการทำแห้งพริกหวานสีแดงที่ 80 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการทำแห้งสั้นที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับการทำแห้งพริกหวานสีแดงที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส

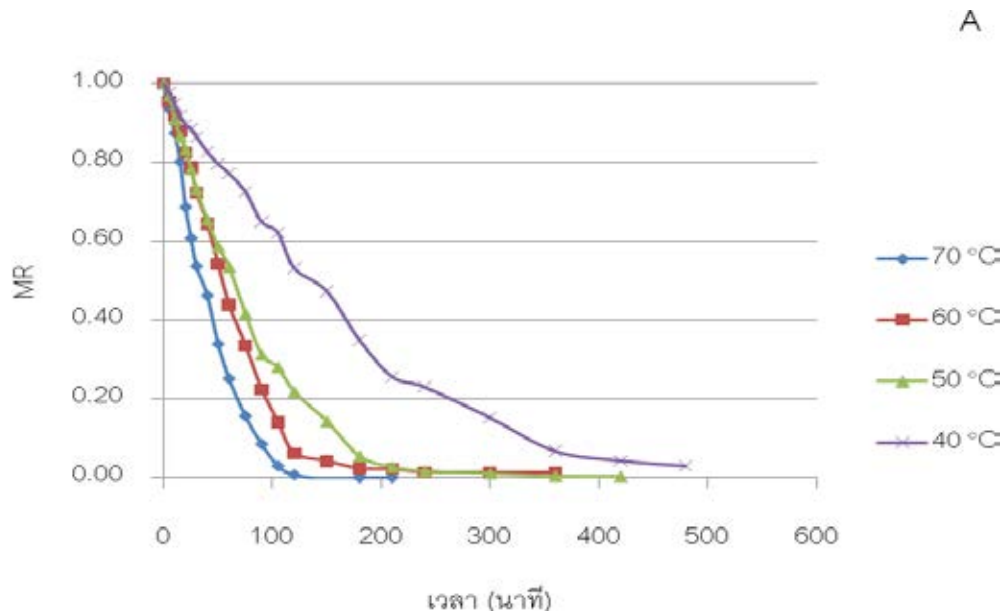
Wang และคณะ (2007) ทำแห้งกากแอปเปิ้ลที่ได้จากการทำน้ำแอปเปิ้ลด้วยตู้อบลมร้อน โดยใช้อุณหภูมิในการทำแห้งที่ 75, 85, 95 และ 105 องศาเซลเซียส และความเร็วลม 1.2 ± 0.03 เมตรต่อวินาที พบว่าที่อุณหภูมิในการทำแห้งกากแอปเปิ้ลที่ 105 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการทำแห้งสั้นที่สุด

การทำแห้งที่อุณหภูมิสูงส่งผลให้มีการถ่ายโอนความร้อนของตัวกลางในการให้ความร้อนไปยังวัสดุที่นำมาทำแห้งได้มากกว่าอุณหภูมิการทำแห้งต่ำ จึงทำให้ความชื้นของวัสดุลดลงอย่างรวดเร็ว แต่เนื่องจากความชื้นเริ่มต้นของตัวอย่างระหว่าง culture *Bacillus* spp. และตัวกลางทั้ง 2 ชนิด มีค่าไม่เท่ากัน โดยความชื้นเริ่มต้นของตัวอย่าง culture *Bacillus* spp. ผสมในตัวกลาง A มีค่า 13 % (w.b.) และความชื้นเริ่มต้นของตัวอย่าง culture *Bacillus* spp. ผสมในตัวกลาง B มีค่า 20 % (w.b.) ดังนั้นจึงนำค่าความชื้นของแต่ละการทดลองไปคำนวณหาค่าอัตราส่วนความชื้น (moisture ratio, MR) แบบย่อตามสมการ (4.2) เพื่อใช้ในการเปรียบเทียบอัตราการแห้งของทั้ง 2 ตัวกลาง

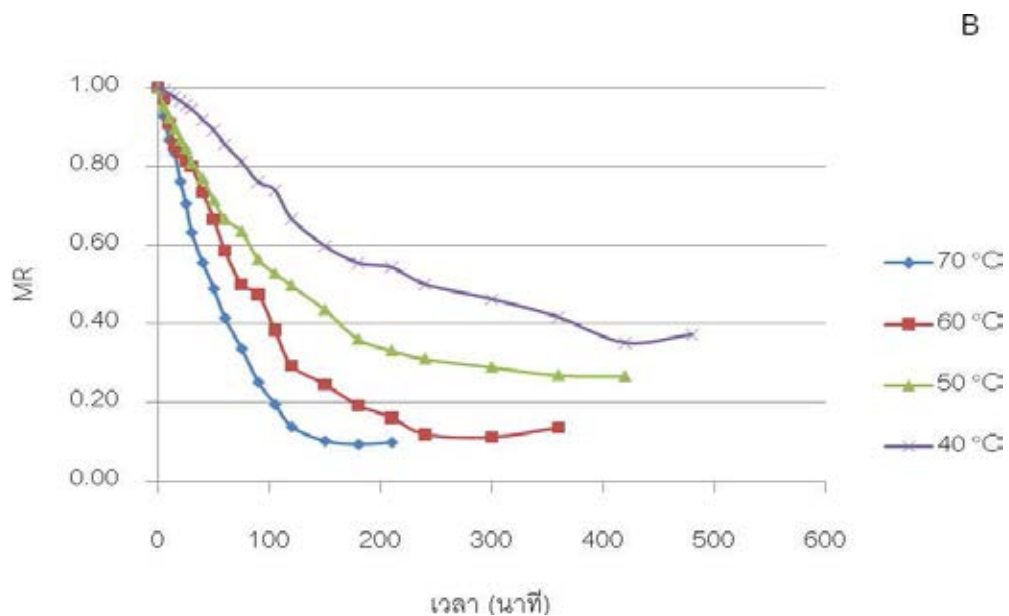
$$MR = \frac{M_t}{M_i} \quad (4.2)$$

โดย MR = Moisture ratio
 M_t = ความชื้นที่เวลาใดๆ (%(w.b.))
 M_i = ความชื้นเริ่มต้น (%(w.b.))

สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง MR ที่เวลาใดๆ ในแต่ละอุณหภูมิมาแสดง ดังภาพที่ 4.2 และหา %การรอดชีวิต (%SR) จากสมการที่ (3.1) หลังจากการทำแห้งที่ความชื้นคงที่



ภาพที่ 4.2a กราฟความสัมพันธ์ของอัตราส่วนความชื้น (MR) ที่อุณหภูมิ 40-70 องศาเซลเซียสของ *Bacillus* spp. ที่ผสมกับตัวกลางชนิดที่ A ที่เวลาในการทำแห้งต่างกัน



ภาพที่ 4.2b กราฟความสัมพันธ์ของอัตราส่วนความชื้น (MR) ที่อุณหภูมิ 40-70 องศาเซลเซียสของ *Bacillus* spp. ที่ผสมกับตัวกลางชนิดที่ B ที่เวลาในการทำแห้งต่างกัน

จากภาพที่ 4.2 พบว่าการเปลี่ยนแปลงของอัตราส่วนความชื้นในตัวอย่างของ culture *Bacillus* spp. ผสมในตัวกลางทั้ง 2 ชนิดมีค่าไม่เท่ากัน โดยตัวกลาง A มีอัตราการระเหยของน้ำได้ดีกว่า ตัวกลาง B ที่อุณหภูมิในการทำแห้งเดียวกันที่ระยะเวลาในการทำแห้งเท่ากัน ความชื้นในตัวกลาง A ลดลงเร็วกว่า ตัวกลาง B ทำให้เวลาในการทำแห้ง culture *Bacillus* spp. ผสมในตัวกลาง A สั้นกว่าการทำแห้งเดียวกัน เมื่อนำ culture *Bacillus* spp. ผสมในตัวกลางทั้ง 2 ชนิดที่ผ่านการทำแห้งแล้วในแต่ละอุณหภูมิมาหาความชื้นสุดท้าย และจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิต (ภาคผนวก ก.2) ได้ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 จำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตหลังผ่านการทำแห้งที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิ	ชนิดตัวกลาง	ค่าความชื้นสุดท้าย (%(w.b.))	% การรอดชีวิต
40 °C	A	0.10 ^a ± 0.06	65.37 ± 1.59
	B	8.01 ^d ± 1.39	68.38 ± 1.02
50 °C	A	0.04 ^a ± 0.06	63.02 ± 0.38
	B	5.54 ^c ± 0.88	67.25 ± 0.20
60 °C	A	0.15 ^a ± 0.22	64.48 ± 1.92
	B	2.75 ^b ± 0.22	65.82 ± 0.50
70 °C	A	0.09 ^a ± 0.11	64.88 ± 0.29
	B	2.13 ^b ± 0.37	67.08 ± 0.82

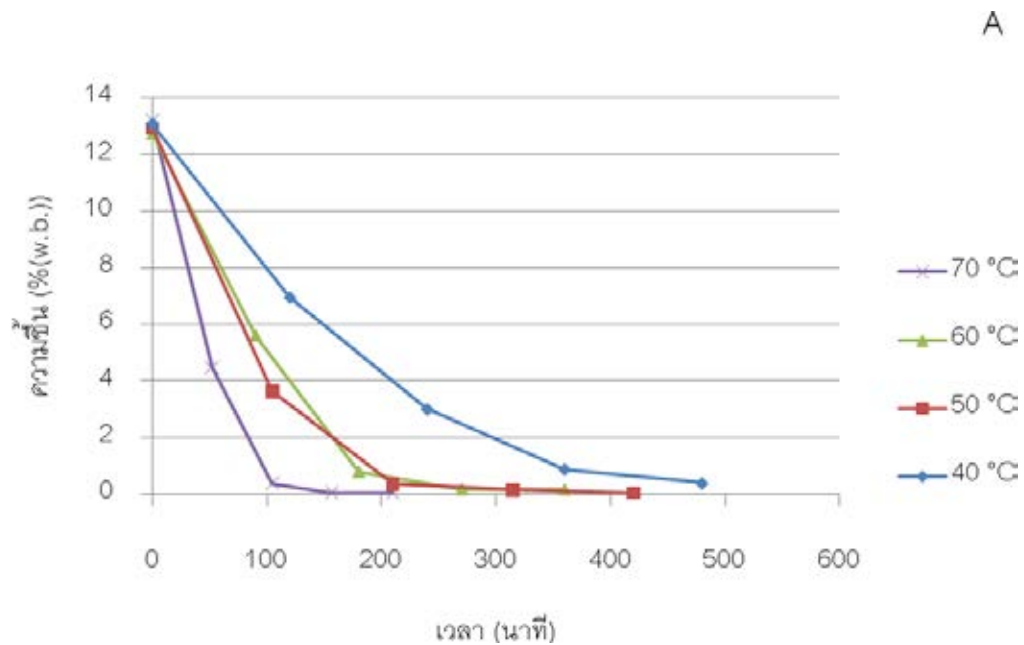
a, b, c, ... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 4.1 พบว่าที่อุณหภูมิในการทำแห้งที่ 70 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นสภาวะการทำแห้งที่รุนแรงที่สุด ตัวอย่างผง *Bacillus* spp. มีค่าความชื้นต่ำสุด และพบว่าค่าความชื้นสุดท้ายเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิในการทำแห้งต่ำลง เนื่องจากความชื้นสัมพัทธ์สมดุลของอากาศร้อนจะสูงกว่าอากาศเย็น ดังนั้นที่อุณหภูมิสูงจึงส่งผลให้ค่าความชื้นสุดท้ายต่ำกว่าการทำแห้งที่อุณหภูมิต่ำ ตัวกลางที่เป็นสื่อให้ *Bacillus* spp. เกาะมีผลต่อความชื้นสุดท้ายของผง *Bacillus* spp. โดยพบว่าตัวกลาง A มีความชื้นสุดท้ายต่ำกว่าตัวกลาง B เมื่อทำแห้งจนน้ำหนักคงที่ในทุกสภาวะ %การรอดชีวิตของ *Bacillus* spp. มีค่าใกล้เคียงกัน แต่จะสังเกตว่า %การรอดชีวิตของ *Bacillus* spp. ในตัวกลาง B มีมากกว่าตัวกลาง A เนื่องจากตัวกลาง B ที่เป็นสารอินทรีย์มีลักษณะอนุภาคที่

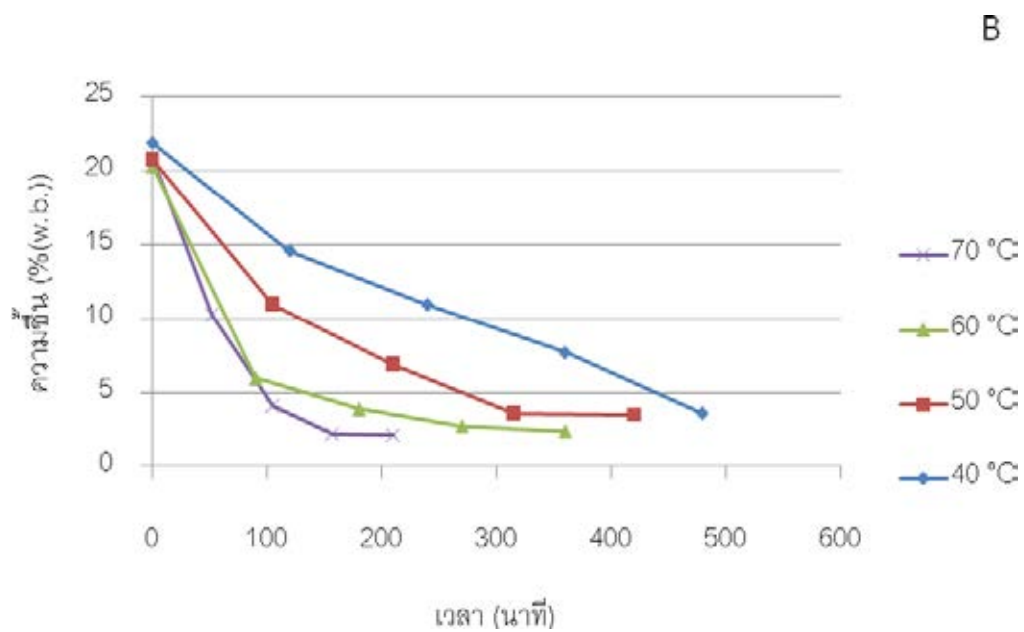
หยาบเกาะกันแบบหลวมๆ จุลินทรีย์จึงสามารถยึดเกาะและช่วยป้องกันความร้อนจากการทำแห้ง และไม่เกิดการบาดเจ็บของเซลล์ *Bacillus* spp. จึงทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตมีค่าสูงขึ้น แต่อย่างไรก็ตามเนื่องจากความชื้นเริ่มต้นของตัวกลางมีค่าไม่เท่ากันและการที่มีองค์ประกอบต่างกัน จึงส่งผลให้ได้ค่าความชื้นสมดุลของตัวกลางนั้นแตกต่างกันไปด้วย ซึ่งปริมาณความชื้นของตัวกลางมีผลต่อการรอดชีวิตและการบาดเจ็บของเซลล์ ปริมาณน้ำที่เหลืออยู่มากกว่าส่งผลให้การรอดชีวิตมากขึ้น น้ำช่วยป้องกันและลดการบาดเจ็บของเซลล์ในขณะการทำแห้ง

4.2 ศึกษาจุดเหมาะสมของการทำแห้ง และชนิดของตัวกลางที่ใช้ในการทำแห้ง *Bacillus* spp.

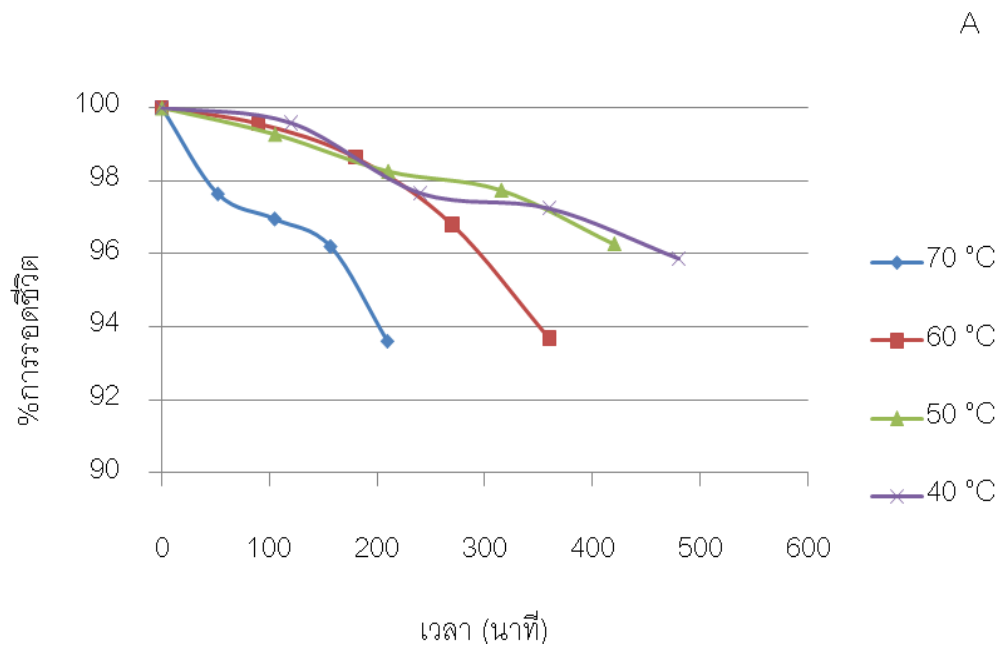
จากผลการทดลองในข้อ 4.1 ได้เจลาโนพลศาสตร์การทำแห้งที่อุณหภูมิต่างๆ (40-70 องศาเซลเซียส) นำกราฟที่ได้มาหาจุดในการเก็บตัวอย่าง เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงความชื้นและการรอดชีวิตของ *Bacillus* spp. ที่ได้จากการทำแห้ง *Bacillus* spp. และตัวกลางทั้ง 2 ชนิด (ตัวกลาง A และ ตัวกลาง B) โดยใช้ตู้อบลมร้อนในการทำแห้งที่อุณหภูมิต่างๆ กัน 4 ระดับ คือ 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส โดยแบ่งช่วงเวลาในการเก็บตัวอย่างตลอดการทำแห้งแต่ละอุณหภูมิที่ใช้เป็น 5 ช่วง ช่วงแรกของการเก็บตัวอย่างเริ่มที่ก่อนการทำแห้งจนน้ำหนักตัวอย่างคงที่ นำตัวอย่างแต่ละช่วงมาหาความชื้น (MC) สร้างความสัมพันธ์ระหว่าง MC กับเวลาแสดงในภาพที่ 4.3 หา % การรอดชีวิต (%SR) ของแต่ละจุดหลังจากผ่านการทำแห้งในช่วงเวลาต่างๆ จากตัวกลางทั้ง 2 ชนิด ที่ผสมกับ *Bacillus* spp. จากสมการที่ (3.1) ความสัมพันธ์ระหว่าง %SR และเวลาในการทำแห้งแสดงดังภาพที่ 4.4



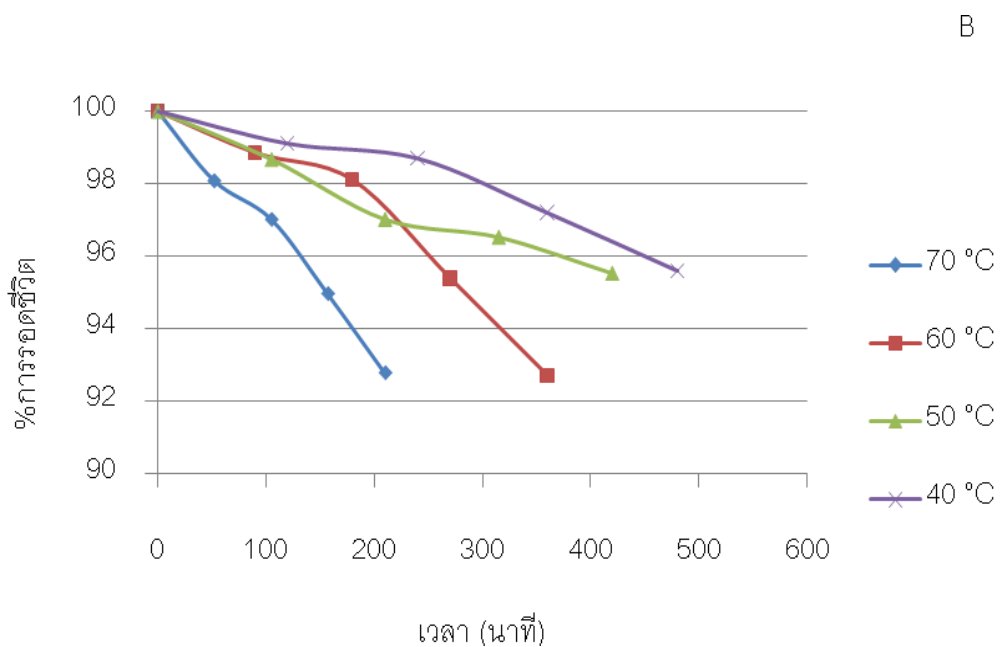
ภาพที่ 4.3a ความชื้นของตัวกลางชนิดที่ A ที่ผสม *Bacillus* spp. แล้วที่เวลาในการทำแห้งและอุณหภูมิต่างกัน



ภาพที่ 4.3b ความชื้นของตัวกลางชนิดที่ B ที่ผสม *Bacillus* spp. แล้วที่เวลาในการทำแห้งและอุณหภูมิต่างกัน



ภาพที่ 4.4a %การรอดชีวิตของ *Bacillus* spp. ในตัวกลางชนิดที่ A หลังผ่านการทำแห้งที่เวลาและอุณหภูมิต่างกัน



ภาพที่ 4.4b %การรอดชีวิตของ *Bacillus* spp. ในตัวกลางชนิดที่ B หลังผ่านการทำแห้งที่เวลาและอุณหภูมิต่างกัน

จากผลการทดลองพบว่า *Bacillus* spp. ที่รอดชีวิตจากการทำแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40 – 70 องศาเซลเซียส เปรียบเทียบกับปริมาณ *Bacillus* spp. เริ่มต้น (%การรอดชีวิต; ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่เวลาใดๆ/ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น) ในตัวกลาง A ให้ %การรอดชีวิตสูงกว่าตัวกลาง B (ภาพที่ 4.4) ในทุกสภาวะการทำแห้ง สภาวะการทำแห้งที่ 40 และ 50 องศาเซลเซียส ให้ %การรอดชีวิตสูงกว่าที่ 60 และ 70 องศาเซลเซียส แต่ที่อุณหภูมิ 60 และ 70 องศาเซลเซียส ให้ %การรอดชีวิตไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และใช้เวลาในการทำแห้งสั้นกว่าที่ 40 และ 50 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 เท่า สอดคล้องกับการทดลองของ Sunny-Roberts และ Knorr (2009) ที่ทำแห้งจุลินทรีย์โปรไบโอติก *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) และ *L. rhamnosus* E-97800 (E800) ได้รายงานเวลาที่อุณหภูมิสูงใช้เวลาในการทำแห้งสั้นกว่าที่อุณหภูมิต่ำกว่าแต่ %การรอดชีวิตไม่แตกต่างกันมากอย่างมีนัยสำคัญ

ความชื้นสุดท้ายของตัวอย่างที่ได้จากการทดลองการศึกษาหาจุดเหมาะสมของการทำแห้งมีค่าแตกต่างจากการทดลองจลนพลศาสตร์การทำแห้ง เนื่องจากสภาพอากาศที่แตกต่างกันจะส่งผลต่อความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศและความชื้นสมดุลของตัวอย่างด้วย

ดังนั้นเมื่อกำหนดให้ปริมาณความชื้นสุดท้ายของผง *Bacillus* spp. อยู่ในช่วง 1.78-3.6 % (w.b.) จะได้เวลาในการทำแห้งของแต่ละอุณหภูมิ และ %การรอดชีวิตของของ *Bacillus* spp. ดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ความสัมพันธ์ของเวลา และ %การรอดชีวิต เมื่อกำหนดให้ค่าความชื้นที่ 1.78-3.6 % (w.b.) ที่อุณหภูมิต่างๆ ในการทำแห้ง *Bacillus* spp. กับตัวกลาง A และ B

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ตัวกลาง A			ตัวกลาง B		
	เวลา (นาทีก)	MC (% (w.b.))	%การรอดชีวิต	เวลา (นาทีก)	MC (% (w.b.))	%การรอดชีวิต
70	75	2.06	97.3	150	2.13	95.0
60	105	1.78	99.5	300	2.26	94.5
50	150	1.85	98.8	420	3.47	95.5
40	300	1.99	97.5	480	3.60	95.6

จากตารางที่ 4.2 พบว่า %การรอดชีวิตของ *Bacillus* spp. ที่ความชื้น 1.78-3.6 %(w.b.) มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) โดย culture *Bacillus* spp. ที่ผสมระหว่างกับ ตัวกลาง A ความชื้น 1.78 %(w.b.) มี %การรอดชีวิตที่สูงที่สุด คือ 99.5% ในการทำแห้งที่ อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 105 นาที และเวลาในการทำแห้ง culture *Bacillus* spp. ที่ ผสมกับตัวกลาง A ในแต่ละอุณหภูมิใช้เวลาทำแห้งสั้นกว่าการผสมในตัวกลาง B ดังนั้นการใช้ ตัวกลาง A ผสมกับ culture *Bacillus* spp. ในการทำแห้งให้ %การรอดชีวิตสูงกว่าการใช้ตัวกลาง B ผสมกับ culture *Bacillus* spp. และใช้เวลาในการทำแห้งสั้นกว่าในทุกสภาวะการทำแห้ง ดังนั้น จากการทดลองนี้จึงเลือกตัวกลาง A ไปใช้ในการทดลองขั้นตอนต่อไป

การที่ตัวกลาง B ให้การรอดชีวิตของ *Bacillus* spp. ที่ต่ำกว่าตัวกลาง A และใช้เวลาใน การทำแห้งที่นานกว่าตัวกลาง A เป็นเพราะตัวกลาง B มีองค์ประกอบที่แตกต่างจากตัวกลาง A และมีความชื้นเริ่มต้นสูงกว่าจึงใช้เวลาในการทำแห้งนานกว่าตัวกลาง A ซึ่งส่งผลให้การรอดชีวิต ของ *Bacillus* spp. ลดลง ลักษณะของตัวกลาง B ที่เป็นสารอินทรีย์ไม่มีความสม่ำเสมอเหมือน ตัวกลาง A ซึ่งเป็นสารอนินทรีย์ ตัวอย่าง B มีองค์ประกอบมากกว่า 3 ชนิด ดังนั้นการระเหยของ ความชื้นในตัวกลาง B ซับซ้อนมากกว่าตัวกลาง A

4.3 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการทำแห้งแบบหลายขั้นตอน

การเลือกสภาวะการทำแห้งแบบหลายขั้นตอนที่เหมาะสมสำหรับการทำแห้ง culture *Bacillus* spp. ใช้ข้อมูลจากขั้นตอนที่ 4.2 เพื่อออกแบบสภาวะที่เหมาะสม ผลการทดลองจาก ขั้นตอนที่ 4.2 (ตารางที่ 4.2) พบว่าการทำแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 105 นาที เป็นสภาวะที่ทำให้ %การรอดชีวิตสูงตามด้วย 50, 40 และ 70 องศาเซลเซียสตามลำดับ เมื่อ ออกแบบสภาวะการทำแห้งแบบหลายขั้นตอนจึงออกแบบ 3 สภาวะ ให้อุณหภูมิในการทำแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส 105 นาที เป็นฐานในการเลือกเนื่องจากมี %การรอดชีวิตที่สูง และการให้ความ ร้อนในการทำแห้งที่ 70 องศาเซลเซียส สามารถกระตุ้นการสร้างสปอร์ของ *Bacillus* spp. ได้ ซึ่ง เมื่อ *Bacillus* spp. สร้างสปอร์แล้วสามารถทนอยู่ในสภาวะที่รุนแรงและส่งผลให้การรอดชีวิต สูงขึ้น สภาวะการทำแห้งแบบหลายขั้นตอนที่ออกแบบ ได้แก่

- สภาวะที่ 1 70 องศาเซลเซียส 30 นาที ตามด้วย 60 องศาเซลเซียส 65 นาที รวม 95 นาที
- สภาวะที่ 2 70 องศาเซลเซียส 30 นาที ตามด้วย 60 องศาเซลเซียส 30 นาที และ 50 องศาเซลเซียส 50 นาที รวม 110 นาที

- สภาวะที่ 3 60 องศาเซลเซียส 60 นาที ตามด้วย 50 องศาเซลเซียส 60 นาที รวม 120 นาที

การใช้อุณหภูมิในการทำแห้งสูงก่อนเพื่อกระตุ้นให้ *Bacillus* spp. สร้างสปอร์จากนั้นจึงลดอุณหภูมิลง เพื่อรักษาคุณภาพการรอดชีวิตของจุลินทรีย์

หลังจากทำแห้งจุลินทรีย์ในแต่ละสภาวะแล้วนำผง *Bacillus* spp. ที่ได้จากแต่ละสภาวะการทำแห้งแบบหลายขั้นตอน วัดค่าความชื้นสุดท้าย และ %การรอดชีวิตของ *Bacillus* spp. ที่ผสมในตัวกลาง A ในการทำแห้งแต่ละสภาวะ ผลการวิเคราะห์ค่าความชื้นเริ่มต้น ความชื้นสุดท้าย และ %การรอดชีวิตของ *Bacillus* spp. ของแต่ละสภาวะในการทำแห้งแบบหลายขั้นตอน แสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ความชื้น และ %การรอดชีวิต ของ *Bacillus* spp. จากการทำแห้งแบบหลายขั้นตอนที่สภาวะต่างๆ

สภาวะที่ใช้ในการทำแห้ง	ความชื้นเริ่มต้น (%(w.b.))	ความชื้นสุดท้าย (%(w.b.)) ^{N.S.}	%การรอดชีวิต ^{N.S.}	เวลา (นาที)
สภาวะที่ 1	11.41 ± 0.16	0.01 ± 0.004	98.85 ± 0.07	95
สภาวะที่ 2	13.36 ± 0.26	0.02 ± 0.001	97.85 ± 1.65	110
สภาวะที่ 3	12.23 ± 1.16	0.01 ± 0.002	97.95 ± 0.17	120

N.S. ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

จากตารางที่ 4.3 พบว่าที่สภาวะในการทำแห้งแบบสองขั้นตอนที่ 70 องศาเซลเซียส 30 นาที ตามด้วย 60 องศาเซลเซียส 65 นาที มี %การรอดชีวิตของ *Bacillus* spp. สูงสุด ที่ 98.85% และใช้เวลาสั้นที่สุดเพียง 95 นาที แต่ %การรอดชีวิตที่ได้ในแต่ละสภาวะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) และปริมาณความชื้นสุดท้ายของผง *Bacillus* spp. ที่ได้จากทั้ง 3 สภาวะการทำแห้งแบบหลายขั้นตอนไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) และมีปริมาณความชื้นที่ต่ำกว่า 2%(w.b.) เนื่องจากผลของการทำแห้งต่อเนื่อง และ *Bacillus* spp. เป็นจุลินทรีย์ทนความร้อนและสามารถสร้างสปอร์ได้ โดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นกระตุ้นให้ *Bacillus* spp. สร้างสปอร์ขึ้นและจากนั้นทำแห้งต่อที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เพื่อลดสภาวะในการทำ

แห้งให้รุนแรงน้อยลงไม่เกิดการบาดเจ็บของเซลล์ *Bacillus* spp. ขึ้นมากเกินไป ดังนั้นการทำแห้งแบบหลายขั้นตอนสภาวะที่ 1 กับ *Bacillus* spp. ผสมกับตัวกลาง A ใช้เวลาในการทำแห้งสั้นที่สุด (95 นาที) ส่งผลให้มี %การรอดชีวิตสูงจึงเป็นสภาวะการทำแห้งแบบหลายขั้นตอนที่เหมาะสมในการนำมาใช้ศึกษาต่อไป

4.4 ศึกษาอัตราส่วนระหว่างตัวกลางและ *Bacillus* spp.

เมื่อได้สภาวะการทำแห้งแบบหลายขั้นตอนจากขั้นตอนที่ 4.3 แล้ว จึงศึกษาอัตราส่วนของปริมาณของตัวกลาง A ที่ 500-1500 กรัม ต่อปริมาณจุลินทรีย์ 150 มิลลิลิตร เพื่อหาอัตราส่วนในการผสมระหว่างตัวกลางและจุลินทรีย์ที่เหมาะสม โดยแบ่งสภาวะที่ศึกษาทั้งสิ้น 11 สภาวะ ตามภาคผนวก ก.3

จากนั้นหา %การรอดชีวิตและความชื้นสุดท้ายของผงจุลินทรีย์หลังจากผ่านการทำแห้ง (ตารางที่ 4.4) และเปรียบเทียบอัตราส่วนของตัวกลาง ความชื้นสุดท้าย และ%การรอดชีวิต

ตารางที่ 4.4 ความสัมพันธ์ความชื้น และ%การรอดชีวิต ของ *Bacillus* spp. เมื่อแปรปริมาณของตัวกลาง A ที่ 500-1500 กรัม ต่อปริมาณจุลินทรีย์ 150 มิลลิลิตร

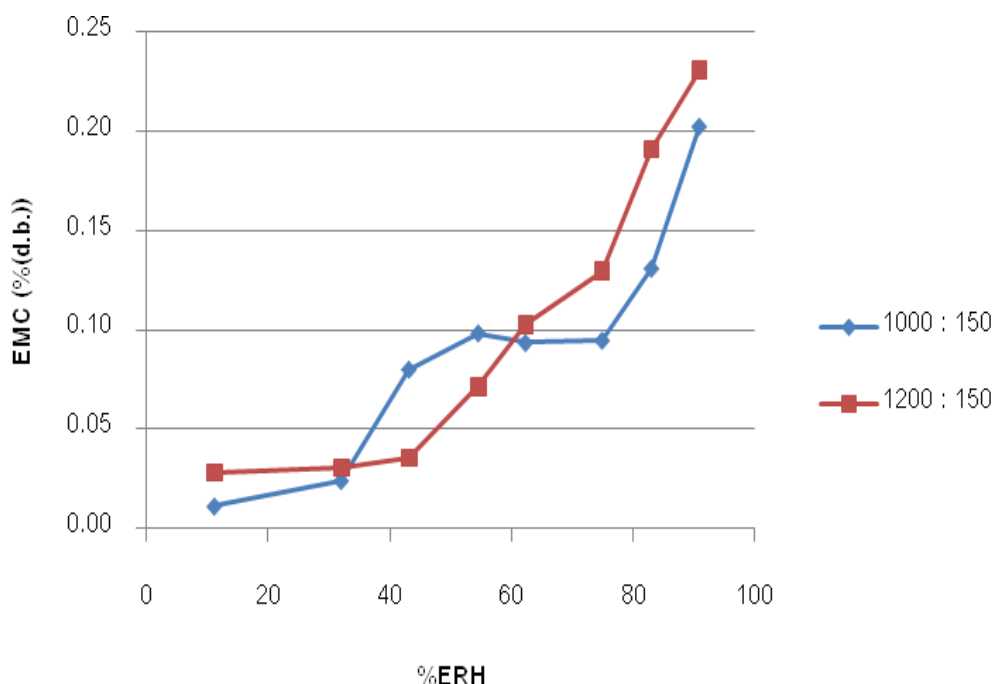
สัดส่วน	ความชื้น (%(w.b.))	%การรอดชีวิต
1500	0.02 ^a ± 0.00	88.84 ± 1.45
1400	0.05 ^{bc} ± 0.01	96.72 ± 1.67
1300	0.03 ^a ± 0.01	99.16 ± 1.77
1200	0.04 ^b ± 0.00	99.53 ± 0.92
1100	0.04 ^b ± 0.00	98.60 ± 0.53
1000	0.04 ^b ± 0.00	98.90 ± 0.28
900	0.06 ^{cd} ± 0.00	96.20 ± 2.46
800	0.06 ^d ± 0.00	98.19 ± 1.07
700	0.05 ^{cd} ± 0.00	98.32 ± 0.13
600	0.06 ^{cd} ± 0.00	96.85 ± 0.55
500	0.09 ^e ± 0.00	98.04 ± 0.53

a, b, c, ... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 4.4 พบว่าปริมาณความชื้นสุดท้ายหลังจากผ่านการทำแห้งแบบหลายขั้นตอนของตัวอย่าง A กับ culture *Bacillus* spp. มีค่าแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) ในทุกสัดส่วนของการผสม ปริมาณความชื้นของตัวอย่าง A 500 กรัม ผสมกับ culture *Bacillus* spp. 150 มิลลิลิตร มีค่าสูงที่สุดและความชื้นสุดท้ายลดลงตามลำดับ เมื่อปริมาณของตัวอย่างเพิ่มขึ้น %การรอดชีวิตของตัวอย่าง A 1500 กรัม ผสมกับ culture *Bacillus* spp. 150 มิลลิลิตร มีค่าต่ำที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับอัตราส่วนของปริมาณตัวอย่าง A ที่ระดับอื่นๆ %การรอดชีวิต ของ culture *Bacillus* spp. ที่ผสมในตัวอย่าง A ในช่วง 1000-1300 กรัม หลังจากทำแห้งแบบสองขั้นตอนให้ค่าสูงที่สุด ดังนั้นปริมาณตัวอย่าง A ในช่วง 1000-1300 กรัม ที่นำมาผสมกับ culture *Bacillus* spp. สามารถป้องกัน *Bacillus* spp. จากความร้อนในการทำแห้งได้ดีที่สุด

4.5 ศึกษา moisture sorption isotherms ของผง *Bacillus* spp.

Moisture sorption isotherms (MSI) ใช้อธิบายความสามารถในการคายและดูดกลับของน้ำในตัวอย่าง เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการเลือกบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาผงจุลินทรีย์ ในการทดลองนี้ศึกษา MSI ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ใช้วิธี static gravimetric โดยใช้สารละลายเกลือ 8 ชนิด ได้แก่ Potassium Chloride (KCl, 82.95), Sodium Bromide (NaBr, 54.55), Lithium Chloride (LiCl, 11.25), Magnesium Chloride ($MgCl_2$, 32.05), Potassium Nitrate (KNO_3 , 90.79), Sodium Nitrate ($NaNO_3$, 62.30), Potassium Carbonate (K_2CO_3 , 43.17) และ Sodium Chloride (NaCl, 74.87) จากนั้นสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความชื้นสมดุล (Equilibrium moisture content, EMC) ของตัวอย่างกับค่าความชื้นสัมพัทธ์สมดุล (Equilibrium relative humidity, ERH) ของเกลือแต่ละชนิด แสดงในภาพที่ 4.5



ภาพที่ 4.5 moisture sorption isotherm ของผงจุลินทรีย์ที่ใช้อัตราส่วนระหว่างตัวกลาง 1000 และ 1200 กรัม ต่อจุลินทรีย์ 150 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

จากภาพที่ 4.5 MSI ของผง *Bacillus* spp. แห่งที่ได้มีลักษณะคล้ายตัว “S” (sigmoid in shape) แสดงว่าการดูดกลืนน้ำของผง *Bacillus* spp. มีการดูดกลืนน้ำได้เร็วขึ้นเมื่อมี %ERH สูงขึ้น โดยค่า EMC ของปริมาณตัวกลางทั้ง 2 ระดับมีค่าที่ใกล้เคียงกัน โดยในช่วง %ERH ที่ 11.25 - 54.55 ที่ปริมาณตัวกลาง 1000 กรัม ต่อ *Bacillus* spp. 150 มิลลิลิตร มีค่า EMC สูงกว่า ปริมาณตัวกลางที่ 1200 กรัม ต่อ *Bacillus* spp. 150 มิลลิลิตร แต่ในช่วง %ERH ที่ 62.30-90.79 ปริมาณตัวกลางที่ 1200 กรัม ต่อ *Bacillus* spp. 150 มิลลิลิตร มีค่า EMC สูงกว่า ปริมาณตัวกลางที่ 1000 กรัม ต่อ *Bacillus* spp. 150 มิลลิลิตร ดังนั้นเมื่อปริมาณตัวกลางเพิ่มมากขึ้น สามารถดูดกลืนน้ำสูงจุลินทรีย์ได้ดีกว่าการใช้ปริมาณตัวกลางที่น้อยกว่า ปริมาณตัวกลาง 1000 กรัม ต่อ *Bacillus* spp. 150 มิลลิลิตร จึงเป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมในการทำแห้ง *Bacillus* spp. และในช่วงของ MSI ที่ 62.30-90.79 เป็นช่วงที่มีการดูดน้ำกลับของผง *Bacillus* spp. ได้ดี ดังนั้น การเก็บรักษาผง *Bacillus* spp. ควรเก็บไว้ในที่มีความชื้นสัมพัทธ์ไม่เกิน 60% เพื่อป้องกันการดูดน้ำกลับของผง *Bacillus* spp.

Costa และคณะ (2002) เปรียบเทียบการเก็บรักษา *Pantoea agglomerans* โดยใช้บรรจุภัณฑ์แก้ว พลาสติกชนิดป้องกันการซึมผ่านได้สูง (high barrier plastic, HBP) และชนิดป้องกันการซึมผ่านได้ต่ำ (low barrier plastic, LBP) การเก็บรักษา *Pantoea agglomerans* โดยแก้ว HBP มีประสิทธิภาพในการเก็บรักษาจุลินทรีย์แห้งที่ดีกว่า LBP ในสภาวะเดียวกัน เนื่องจากจุลินทรีย์แห้งสามารถดูดน้ำกลับได้ดี และส่งผลให้เซลล์ที่บาดเจ็บสามารถฟื้นตัวได้จากการดูดซึมน้ำออกซิเจนและน้ำกลับสู่ภายในเซลล์ตลอดการเก็บรักษา ทำให้จุลินทรีย์มีอายุการเก็บที่สั้นด้วย

การทำนาย MSI โดยใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์

แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ช่วยในการทำนาย MSI การทดลองนี้เลือกแบบจำลองแบบ GAB model เป็นสมการแบบ 3 ตัวแปรที่รู้จักและยอมรับโดยทั่วไป สมการนี้เหมาะแก่การใช้อธิบายผลิตภัณฑ์แห้งได้หลากหลายในช่วงของ a_w ที่กว้าง โดยค่าที่ได้จากการทดลองเพื่อนำมาใช้ใน GAB model คือ ความชื้นสมดุล (EMC) ร่วมกับความชื้นสัมพัทธ์ หรือ water activity (a_w) เพื่อคำนวณค่าคงที่ใน GAB model และค่าคงที่ดังแสดงในตารางที่ 4.5

GAB model

$$EMC = \frac{MKCa_w}{(1 - Ka_w)[1 - Ka_w + KCa_w]} \quad (4.1)$$

โดย K, C – equation constants
EMC – equilibrium moisture content, %(dry basis)
M – monolayer moisture content

ค่า K และ C สามารถหาได้จากสมการ (4.2) และ (4.3) ตามลำดับ

$$C = C_o \exp\left(\frac{H_m - H_n}{RT}\right) \quad (4.2)$$

$$K = K_0 \exp\left(\frac{H_n - H_l}{RT}\right) \quad (4.3)$$

โดย	C_0 และ K_0	-	parameters
	R	-	universal gas constant [J/mol K]
	T	-	air temperature [K]
	H_m	-	heat of sorption of monomolecular layer of water [J/mol K]
	H_n	-	heat of sorption of multimolecular layer of water [J/mol K]
	H_l	-	heat of condensation of water vapour [J/mol K]

แต่ในการทดลองนี้ใช้ฟังก์ชัน Solver ในโปรแกรม Microsoft® Excel 2003 คัดเลือกแบบจำลองคณิตศาสตร์ที่มีความเหมาะสมในการหาค่า C และ K กับผลการทดลองเพื่อใช้เป็นแบบจำลองในการทำนายลักษณะการดูดกลับความชื้นของผลิตภัณฑ์ผง *Bacillus* spp. โดยเกณฑ์ในการคัดเลือกแบบจำลองจะพิจารณาจากค่า Residual Sum of Square (RSS) (สมการที่ (4.4)) โดยการทำนายที่ดีค่า RSS ที่ได้ต้องมีค่าต่ำ

เมื่อได้ค่าคงที่แทนลงใน GAB model แล้วจะได้ค่า EMC ซึ่งสามารถหาค่าความแตกต่างกำลังสองระหว่างค่าจากการทดลองกับค่า EMC ที่ได้จาก model (residual sum of square : RSS) (สมการที่ (4.4)) ของ EMC ในแต่ละปริมาณตัวกลาง ข้อมูลผลการทดลองแสดงในตารางที่ ข.6 และ ข.7

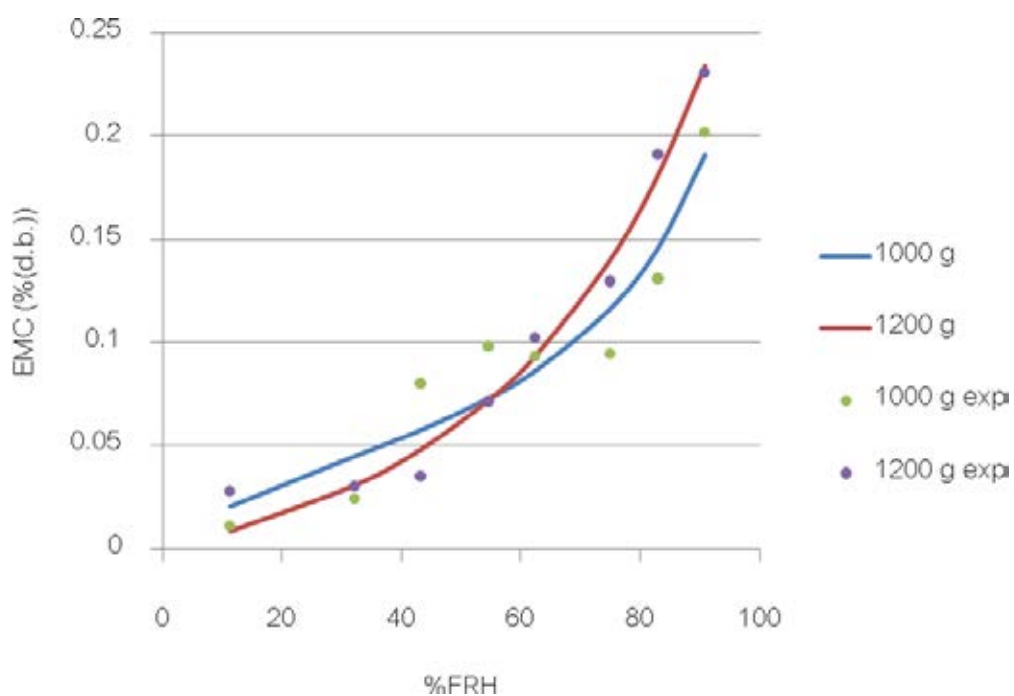
$$RSS = \frac{\sum_{i=1}^N (MR_{exp,i} - MR_{pre,i})^2}{N - 1} \quad (4.4)$$

เมื่อ	RSS	=	Residual of sum square
	$MR_{exp,i}$	=	MR ที่ได้จากการทดลองของข้อมูลชุดที่ i
	$MR_{pre,i}$	=	MR ที่ได้จากแบบจำลองของข้อมูลชุดที่ i

ตารางที่ 4.5 ค่าคงที่ใน GAB model ของผงจุลินทรีย์แห้ง

ปริมาณตัวกลาง (g) ต่อจุลินทรีย์ 150 ml	M	K	C	RSS
1000 g	0.0468	0.8445	6.2680	0.0025
1200 g	2.0286	0.5658	0.0569	0.0008

การเปรียบเทียบระหว่างค่า EMC ที่ได้จากการสมการและผลการทดลองของผง *Bacillus* spp. จากการผสม culture *Bacillus* spp. ในตัวกลาง A ที่อัตราส่วน 1000 และ 1200 กรัม ต่อ *Bacillus* spp. 150 มิลลิลิตร แสดงในภาพที่ 4.6



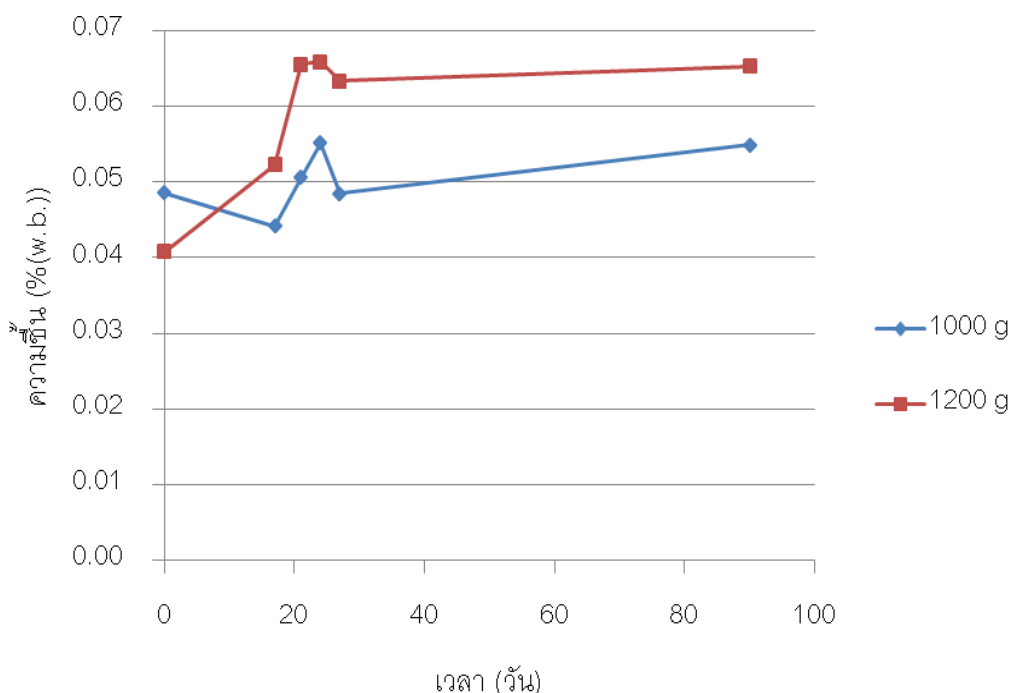
ภาพที่ 4.6 MSI ของผงจุลินทรีย์แห้งโดยใช้ค่า EMC จาก GAB model

จากตารางที่ 4.5 ค่า RSS ของปริมาณตัวกลาง A ที่ 1000 กรัม ต่อ *Bacillus* spp. 150 มิลลิเมตร มีค่าสูงกว่าที่ใช้ปริมาณตัวกลาง A ที่ 1200 กรัม ต่อ *Bacillus* spp. 150 มิลลิเมตร ซึ่งแสดงว่าสมการ GAB model สามารถทำนายการเปลี่ยนแปลง EMC ของผง *Bacillus* spp. ที่ความชื้นสัมพัทธ์ต่างๆ ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ของการใช้ปริมาณตัวกลาง A ที่ 1200 กรัม ต่อ culture *Bacillus* spp. 150 มิลลิเมตร ได้แม่นยำกว่าการใช้ตัวกลางที่ A 1000 กรัม ต่อ culture *Bacillus* spp. 150 มิลลิเมตร

4.6 การทดลองหาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ที่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ที่เลือก

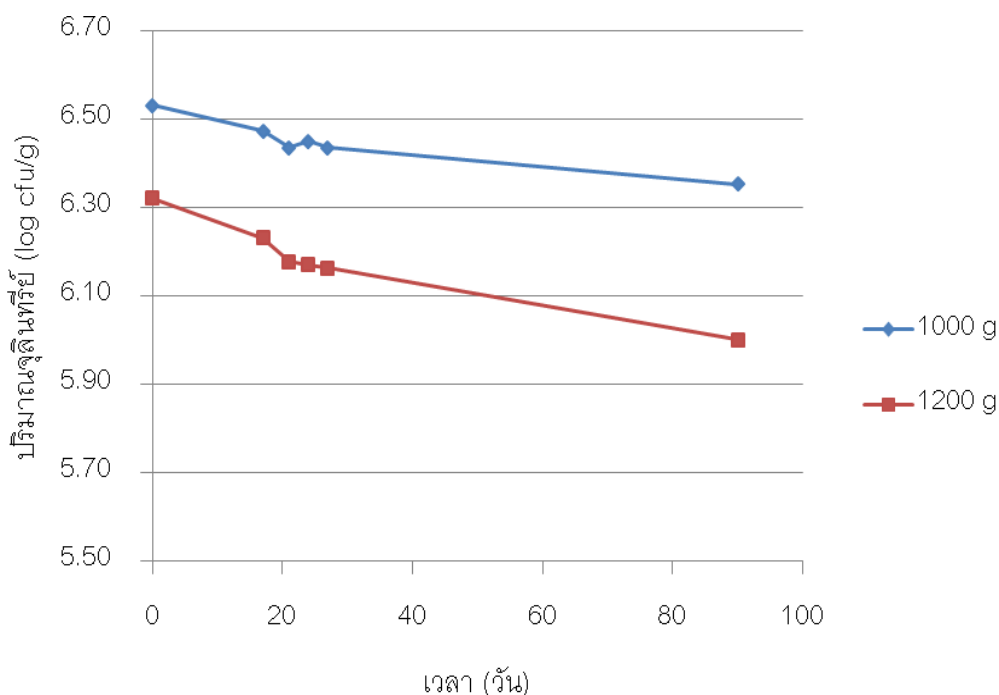
ผง *Bacillus* spp. แห่งอาจดูความชื้นได้เร็วแต่ดูจากกราฟ MSI ที่ได้จากขั้นตอนที่ 4.5 พบว่าที่เกือบ 100%ERH ความชื้นสมดุลสูงสุดคือ 0.24 %(d.b.) ซึ่งน้อยกว่า 2%(d.b.) แสดงว่าผง *Bacillus* spp. ที่ได้มีการดูความชื้นกลับที่ต่ำจึงไม่จำเป็นต้องเก็บในบรรจุภัณฑ์ที่สามารถป้องกันการซึมผ่านของน้ำที่ดีมาก แต่อย่างไรก็ตามในการศึกษาอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์จะสร้างสภาวะการเก็บรักษาให้ดีที่สุด เพื่อทดสอบหาอายุการเก็บของผง *Bacillus* spp. แห่งให้ได้ผลที่ดีที่สุดโดยการใช้ถุงอะลูมิเนียมลามิเนตที่มีความสามารถในการป้องกันการซึมผ่านของน้ำได้ดี

ดังนั้นเมื่อได้สภาวะในการทำแห้งแบบหลายขั้นตอนจากข้อที่ 4.3 คือสภาวะที่ 1 ทำแห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส 30 นาที ตามด้วย 60 องศาเซลเซียส 65 นาที จากนั้นนำผงจุลินทรีย์ที่ได้มาบรรจุใส่ถุงอะลูมิเนียมลามิเนต (PET/AL/CPE) โดยใช้อัตราส่วนจากขั้นตอนที่ 4.4 คือตัวกลาง 1000 กรัม ต่อปริมาณ culture *Bacillus* spp. 150 มิลลิเมตร และตัวกลาง 1200 กรัม ต่อปริมาณ culture *Bacillus* spp. 150 มิลลิเมตร โดยเก็บที่ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส บันทึกผลปริมาณจุลินทรีย์ที่รอดชีวิต และความชื้นที่เปลี่ยนแปลง โดยบันทึกผลทุก 3 วัน จนจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตต่ำกว่า 6 log cfu/g ผลการทดลองแสดงในภาพที่ 4.7 และ 4.8



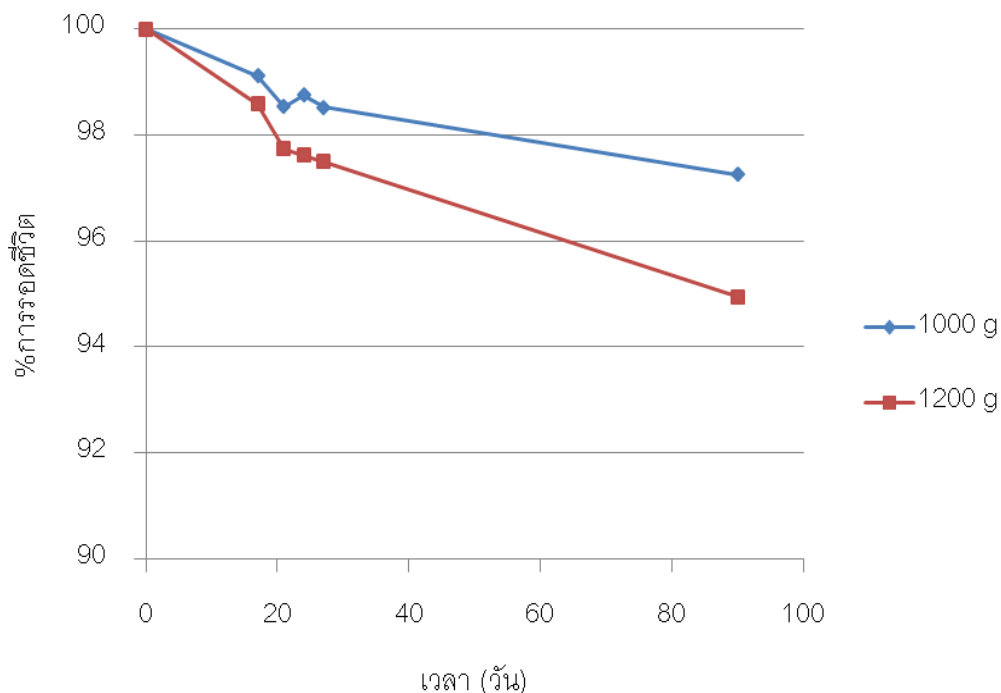
ภาพที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงความชื้นของผง *Bacillus* spp. ในการเก็บรักษาโดยใช้อุณหภูมิเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส โดยใช้ปริมาณตัวกลางที่ 2 ระดับคือ 1000 กรัมต่อจุลินทรีย์ 150 มิลลิลิตร และ 1200 กรัมต่อจุลินทรีย์ 150 มิลลิลิตร เปรียบเทียบกับวันที่เก็บรักษา

จากภาพที่ 4.7 พบว่าความชื้นของผง *Bacillus* spp. ในช่วงอายุการเก็บรักษาของถุงที่ถูกเปิดใช้แล้วที่เวลา 90 วัน ของการใช้ตัวกลาง A ที่ 1000 กรัม และ 1200 กรัม ผสมกับ culture *Bacillus* spp. 150 มิลลิลิตร มีความชื้นเพิ่มขึ้นในผง *Bacillus* spp. เนื่องจากในระหว่างการเก็บรักษามีการเปิดบรรจุภัณฑ์ เพื่อนำมาทำการตรวจสอบคุณภาพจึงส่งผลให้มีปริมาณความชื้นเพิ่มมีแนวโน้มที่สูงขึ้นเล็กน้อยตลอดระยะเวลาเก็บรักษาเป็นเวลา 90 วัน



ภาพที่ 4.8 การเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ในการเก็บรักษาผงจุลินทรีย์แห้งโดยใช้อุณหภูมิเก็บรักษาที่ 35 องศาเซลเซียส โดยใช้ปริมาณตัวกลางที่ 2 ระดับคือ 1000 กรัมต่อจุลินทรีย์ 150 มิลลิลิตร และ 1200 กรัมต่อจุลินทรีย์ 150 มิลลิลิตร

จากภาพที่ 4.8 พบว่าปริมาณจุลินทรีย์เมื่อผ่านการเก็บรักษาในถุงอะลูมิเนียมลามิเนตที่มีการเปิดเพื่อนำมาทำการตรวจวัดคุณภาพมีปริมาณลดลง โดยการใช้ตัวกลาง A 1200 กรัม ผสมกับ culture *Bacillus* spp. 150 มิลลิลิตร มีค่าลดลงถึง 6.0 log cfu/g ที่เวลาในการเก็บรักษาที่ 90 วัน และการใช้ตัวกลาง A 1200 กรัม ผสมกับ culture *Bacillus* spp. 150 มิลลิลิตร มีค่ามากกว่า 6.3 log cfu/g แต่เนื่องจากปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นของอัตราส่วนทั้ง 2 สภาวะ มีค่าไม่เท่ากันดังนั้นจึงได้คำนวณออกมาในรูปแบบของ %การรอดชีวิต ดังภาพที่ 4.9



ภาพที่ 4.9 %การรอดชีวิตของ *Bacillus* spp. ในการเก็บรักษาผงจุลินทรีย์แห้งที่ใช้อุณหภูมิก่อนเก็บรักษาที่ 35 องศาเซลเซียส โดยใช้ปริมาณตัวกลางที่ 2 ระดับคือ 1000 กรัมต่อจุลินทรีย์ 150 มิลลิลิตร และ 1200 กรัมต่อจุลินทรีย์ 150 มิลลิลิตร

จากภาพที่ 4.9 พบว่าปริมาณจุลินทรีย์จากการเก็บรักษาผง *Bacillus* spp. ในถุงอะลูมิเนียมลามิเนตที่มีการเปิดใช้แล้วที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส มีแนวโน้มที่ลดลงทั้งการใช้ตัวกลาง A ที่ 1000 และ 1200 กรัม กับ culture *Bacillus* spp. การใช้ตัวกลาง A 1200 กรัม ผสมกับ culture *Bacillus* spp. เมื่อผ่านการเก็บรักษาไป 90 วัน ยังมีปริมาณจุลินทรีย์ที่มากกว่า ซึ่งการใช้ตัวกลาง A 1200 กรัม ผสมกับ culture *Bacillus* spp. มี %การรอดชีวิตลดลงมากกว่า 5% ในวันที่ 90 จากนั้นจึงหาสมการ และค่า R^2 (สมการ (4.5)) จากภาพที่ 4.8 เพื่อหาอายุการเก็บรักษาจุลินทรีย์แห้งที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ของการใช้ตัวกลาง A ที่ 1000 และ 1200 กรัม กับ culture *Bacillus* spp. แสดงในตารางที่ 4.6

$$R^2 = \frac{\beta \sum xy}{\sum y^2} \quad (4.5)$$

$$\beta^2 = \frac{\sum xy}{\sum x^2} \quad (4.6)$$

โดย x, y = ค่าแกน x, y จากกราฟในการทดลอง

ตารางที่ 4.6 สมการความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์กับเวลาในการเก็บรักษา ค่า R^2 ของผงจุลินทรีย์แห้งที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส

ปริมาณตัวกลาง A	สมการความสัมพันธ์	R^2
1000 g	$y = -0.0019x + 6.5083$	0.88
1200 g	$y = -0.0034x + 6.2787$	0.90

จากตารางที่ 4.6 พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างการเปลี่ยนแปลงของปริมาณจุลินทรีย์กับเวลาในการเก็บรักษาของสมการเชิงเส้นที่ได้มีค่า R^2 จากการทดลองใกล้เคียงกัน ดังนั้นจึงใช้สมการที่ได้มาทำนายอายุการเก็บ (x) โดยให้ปริมาณจุลินทรีย์ (y) ไม่ต่ำกว่า 6 log cfu/g ดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 การทำนายอายุการเก็บของผงจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส โดยใช้ปริมาณตัวกลาง A ที่ 2 ระดับ

ปริมาณตัวกลาง	อายุการเก็บ (วัน)
1000 g	267
1200 g	82

จากตารางที่ 4.7 พบว่าการใช้ปริมาณตัวกลาง A ที่ 1000 กรัม สามารถทำนายการเก็บรักษาผง *Bacillus* spp. ได้ 267 วัน หรือประมาณ 9 เดือน แต่การใช้ปริมาณตัวกลาง A ที่ 1200 กรัม สามารถทำนายการเก็บรักษาผง *Bacillus* spp. ได้ 82 วัน หรือประมาณ 3 เดือน ซึ่งอายุการเก็บนี้ เป็นอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ที่มีการเปิดใช้แล้ว ดังนั้นการใช้ปริมาณตัวกลาง A 1000 กรัม ผสมกับ culture *Bacillus* spp. มีอายุการเก็บที่ปริมาณจุลินทรีย์ไม่ต่ำกว่า 6 log cfu/g ได้นานกว่าใช้ปริมาณตัวกลาง A 1200 กรัม

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการทำแห้งจุลินทรีย์ในกลุ่ม *Bacillus* spp. พบว่าจุลินทรีย์และตัวกลางทั้ง 2 ชนิด (A และ B) ใช้เวลาในการทำแห้งสั้นที่สุดที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เมื่อเปรียบเทียบกับ การทำแห้งที่อุณหภูมิต่ำกว่าที่ 40, 50 และ 60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ในระหว่างการทำแห้ง ตัวกลาง A มีค่าความชื้นลดลงมากกว่าตัวกลาง B ในทุกอุณหภูมิการทำแห้ง เมื่อกำหนดให้ค่า ความชื้นของการทำแห้งจุลินทรีย์และตัวกลางทั้ง 2 ชนิด ที่ 1.78-3.6 % (w.b.) พบว่าการทำแห้ง จุลินทรีย์ผสมในตัวกลาง A ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (ความชื้น 1.78 % (w.b.)) ให้ค่า %การ รอดชีวิตสูงที่สุดที่ 99.5% และตัวกลาง A ใช้เวลาในการทำแห้งสั้นกว่าและให้ %การรอดชีวิตของ *Bacillus* spp. ที่สูงกว่าตัวกลาง B ในทุกอุณหภูมิการทำแห้งที่ความชื้นเท่ากัน

การทำแห้ง *Bacillus* spp. ผสมในตัวกลาง A แบบหลายขั้นตอน โดยใช้สภาวะการทำ แห้งที่ 70 องศาเซลเซียส 30 นาที แล้วตามด้วย 60 องศาเซลเซียส 65 นาที ใช้เวลาในการทำแห้ง เร็วที่สุดที่ 95 นาที และให้ %การรอดชีวิตไม่แตกต่างกับสภาวะการทำแห้งจุลินทรีย์และตัวกลาง A ที่สภาวะอื่นๆ ((1)สภาวะการทำแห้งที่ 70 องศาเซลเซียส 30 นาที 60 องศาเซลเซียส 30 นาที และ 50 องศาเซลเซียส 50 นาที รวม 110 นาที (2)สภาวะการทำแห้งที่ 60 องศาเซลเซียส 60 นาที และ 50 องศาเซลเซียส 60 นาที รวม 120 นาที) และจากการแปรปริมาณตัวกลาง A กับจุลินทรีย์พบว่าการใช้ปริมาณตัวกลาง A ที่ 1000-1300 กรัมผสมกับจุลินทรีย์ 150 มิลลิลิตร ให้อัตราการ รอดชีวิตสูงที่สุด

ผงจุลินทรีย์ที่ผ่านการทำแห้งหลังจากเปิดใช้แล้ว ที่ใช้ตัวกลาง A ที่ 1000 กรัม ต่อ จุลินทรีย์ 150 มิลลิลิตรสามารถเก็บรักษาได้ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 267 วัน แต่การใช้ตัวกลางที่ 1200 กรัมต่อจุลินทรีย์ 150 มิลลิลิตร สามารถเก็บรักษาได้ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 82 วัน จาก MSI ผงจุลินทรีย์ที่ผ่านการทำแห้งแล้วสามารถดูดน้ำ กลับได้ซ้ำ ดังนั้นบรรจุภัณฑ์ที่ใช้จึงไม่จำเป็นต้องมีค่าป้องกันการผ่านของน้ำที่ดีมาก

5.2 ข้อเสนอแนะ

ข้อมูลที่ได้จากการศึกษาการทำแห้ง *Bacillus* spp. แบบหลายขั้นตอนเพื่อใช้ในการบำบัดน้ำเสียสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ผงจุลินทรีย์แห้งชนิดอื่นที่สามารถทนความร้อนสูงได้ ซึ่งการทำแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อน จัดเป็นการแปรรูปผลิตภัณฑ์ที่มีต้นทุนต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับการทำแห้งจุลินทรีย์แบบอื่นๆ เช่น การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และการทำแห้งแบบพ่นกระจายที่มีค่าใช้จ่ายในการผลิตสูง แต่หากจะศึกษากับกลุ่มจุลินทรีย์ที่ไม่สามารถทนความร้อนได้ อาจจะศึกษาการทำแห้งแบบสุญญากาศซึ่งสามารถทำแห้งที่อุณหภูมิต่ำในสภาวะสุญญากาศ เพื่อที่จะสามารถทำให้อัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

- กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน (พพ.). 2550. www.dede.go.th/dede/index.php?id=421. กระทรวงพลังงาน : กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน.
- เกรียงศักดิ์ อุดมสินโรจน์. 2539. การบำบัดน้ำเสีย. กรุงเทพมหานคร : มิตรนราการพิมพ์.
- ตรี วาทกิจ. ม.ป.ป. [202.143.172.194/publication/Aj.TREE/food%20chem/water in food.ppt](http://202.143.172.194/publication/Aj.TREE/food%20chem/water%20in%20food.ppt). นครพนม : วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีนครพนม.
- บุษกร อุตระภีชาติ. 2550. จุลชีววิทยาทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 3. มหาวิทยาลัยทักษิณ : โครงการส่งเสริมการผลิตเอกสารวิชาการ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์.
- มณฑล สุกใส. 2548. http://pirun.ku.ac.th/~g4765306/mass_transfer/basic_drying.htm. ภาควิชาวิศวกรรมอาหาร : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สมบุญ ธนาสุวัฒน์. 2544. เทคนิคการเก็บรักษาจุลินทรีย์. พิมพ์ครั้งที่ 2. โรงพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย : สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาษาอังกฤษ

- Abadias, M., Benabarre, A., Teixidó, N., Usall, J. and Viñas, I. 2000. Effect of freeze drying and protectants on viability of the biocontrol yeast *Candida sake*. International Journal of Food Microbiology. 65 : 173-182.
- Adamiec, J., Kamiński, W., Markowski, A.S. and Strumiłło, C.. 1995. Drying of biotechnological products. Mujumdar, A.S., Handbook of Industrial Drying. Vol. II, 775-808. New York, USA : Marcel Dekker .
- Adamiec, J. 2009. Drying of microorganisms for food applications. in Ratti, C. (editor), Advances in Food Dehydration. 315-354. Boca Raton : CRC Press Taylor & Francis Group.
- Al-Muhtaseb, A. H., McMinn, W. A. M. and Magee, T. R. A. 2002. Moisture sorption isotherm characteristics of food products: A Review. Food and Bioprocess Processing. 80 : 118-128.

- Ananta, E., Birkeland, S.-E., Corcoran, B., Fitzgerald, G., Hinz, S., Klijn, A., Mättö, J., Mercernier, A., Nilsson, U., Nyman, M., O'Sullivan, E., Parche, S., Rautonen, N., Ross, R. P., Saarela, M., Stanton, C., Stahl, U., Suomalainen, T., Vincken, J.-P., Virkajärvi, I., Voragen, F., Wesenfeld, J., Wouters, R. and Knorr, D. 2004. Processing effects on the nutritional advancement of probiotics and prebiotics. Taylor & Francis. Microbial Ecology in Health and Disease. 16 (Jul 2004) : 113-124.
- Anonymous. 2011. Transport Information Service. http://www.tis-gdv.de/tis_e/ls/containertransport/inhalt.htm. Berlin : Gesamtverband der Deutschen Versicherungswirtschaft.
- AOAC. 2006. Official Methods of Analysis of AOAC International. Association of Official Analytical Chemists. 17th ed. Maryland.
- Attwood, R. and Blackburn, H. 1984. Predicted moisture loss from brown coal during transportation by overland belt conveyor. Paper presented to Institution of Engineers Transport Conference, Perth.
- BAM. 2001. Bacteria Analytical Manual. U.S. Food & Drug Administration. 8th ed. New Hampshire.
- Bhandari, B.R. and Adhikari, B.P. 2008. Water activity in food processing and preservation. Chen, X.D. and Mujumdar, A.S. (editor), Drying Technologies in Food Processing, 55-86. United Kingdom : Blackwell Publishing Ltd.
- Borompichaichartkul, C., Luengsode, K., Chinprahast, N. and Devahastin, S. 2009. Improving quality of macadamia nut (*Macadamia integrifolia*) through the use of hybrid drying process. Journal of Food Engineering. 93 : 348-353.
- Bozoglu, T.F., Ozilgen, M. and Bakir, U. 1987. Survival kinetics of lactic acid starter cultures during and after freeze drying. Enzyme Microbiology Technology. 9 : 531-537.
- Brennan, J. G. 2006. Food Processing Handbook. Wiley, Weinheim, Germany.
- Brunauer, S., Emmett, P. H. and Teller, E. 1938. Adsorption of gases in multimolecular layers. Journal of the American Chemical Society. 60 : 309-319.

- Chávez, B. E. and Ledebøer, A. M. 2007. Drying of probiotics: optimization of formulation and process to enhance storage survival. Drying Technology. 25 : 1193-1201.
- Costa, E., Usall, J., Teixido, N., Torres, R. and Vinas, I. 2002. Effect of package and storage conditions on viability and efficacy of the freeze-dried biocontrol agent *Pantoea agglomerans* strain CPA-2. Journal of Applied Microbiology. 92 : 873 – 878.
- de Benito Armas, A., Padula, N. L., Setlow, B. and Setlow, P. 2007. Sensitization of *Bacillus subtilis* spores to dry heat and desiccation by pretreatment with oxidizing agents. Microbiology. 46 : 492-497.
- Deng, S. B., Bai, R. B., Hu, X. M. and Luo, Q. 2003. Characteristics of a bioflocculant produced by *Bacillus mucilaginosus* and its use in starch wastewater treatment. Applied Microbiology and Biotechnology. 60 : 588–593.
- Gallert, C. and Winter, J. 2005. Bacterial Metabolism in Wastewater Treatment Systems. Jördening, H.-J., and Winter, J. (editor), Environmental Biotechnology. 1-48. Weinheim : Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Hays, H. C. W., Millner, P. A., Jones, J. K. and Rayner-Brandes, M. H. 2005. A novel and convenient self-drying system for bacterial preservation. Journal of Microbiological Methods. 63 : 29-35.
- Hubálek, Z. 2003. Protectants used in the cryopreservation of microorganisms. Cryobiology 46(2003) : 205-229.
- Ivanov, V. and Wang, X. H. 2005. Bioaugmentation and enhanced formation of microbial granules used in aerobic wastewater treatment. Applied Microbiology and Biotechnology. 70 : 374-381.

- Joss, A., Andersen, H., Ternes, T., Richle, P.R. and Siegrist, H. 2004. Removal of estrogens in municipal wastewater treatment under aerobic and anaerobic conditions: Consequences for Plant Optimization. Environmental Science & Technology. 38 (11) : 3047-3055.
- Kudra, T. and Mujumdar, A. S. 2009. Advance Drying Technologies. 2nd. Boca Raton : CRC Press Taylor & Francis Group.
- Labuza, T. P. 1968. Sorption phenomena in foods. Food Technology 22 : 15-24
- Langmuir, I. 1918. The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum. Journal of the American Chemical Society. 40 : 1361–1402.
- Lens, P. N., de Poorter, M. P., Cronenberg, C. C. and Verstraete, W. H. 1994. Sulfate reducing and methane producing bacteria in aerobic wastewater treatment systems. Water Research. vol.29 No.3 : 871-880.
- Lettinga, G., Rebac, S. and Zeeman, G. 2001. Challenge of psychrophilic anaerobic wastewater treatment. Trends in Biotechnology. Vol.19 No.9 : 363-370.
- Lian, W. C., Hsiao, H. C. and Chou, C. C. 2001. Survival of bifidobacteria after spray-drying. International Journal of Food Microbiology. 74 : 79-86.
- Linders, J.M., Wolkers, W.F., Hoekstra, F.A. and van't Riet, K. 1997. Effect of added carbohydrates on membrane phase behavior and survival of dried *Lactobacillus plantarum*. Cryobiology. 35 : 31-40.
- Lodato, P., Segovia de Huergo, M. and Buera, M.P.. 1999. Viability and thermal stability of a strain of *Saccharomyces cerevisiae* freeze-dried in different sugar and polymer matrices. Applied Microbiology and Biotechnology. 52 : 215-220.
- McCarty, P. L. and Smith, D. P. 1986. Anaerobic wastewater treatment. Environmental Science & Technology. 20 No.12 : 1200-1206.
- Miyamoto-Shinohara, Y., Imaizumi, T., Sukenobe, J., Murakami, Y., Kawamura, S. and Komatsu Y. 2000. Survival rate of microbes after freeze-drying and long-term storage. Cryobiology. 41 : 251-255.

- 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.
- Mujumdar, A. S. 1997. Drying Fundamentals. In C. G. Baker (editor), Industrial Drying of Foods. 7-30. London : Blackie Academic & Professional.
- Namsanguan, Y., Tia, W., Devahastin, S. and Soponronnarit, S. 2004. Drying kinetics and quality of shrimp undergoing different two-stage drying processes. Drying Technology. Vol.22 No.4 : 759-778.
- Nourbakhsh, M. N., Kiliçarslan, S., İlhan, S. and Ozdag, H. 2002. Biosorption of Cr⁶⁺, Pb²⁺ and Cu²⁺ ions in industrial waste water on *Bacillus* sp. Chemical Engineering Journal. 85 : 351–355.
- Orndorff, G .R. and MacKenzie, A.P. 1973. The function of the suspending medium during the freeze-drying preservation of *Escherichia coli*. Cryobiolog. 10 : 475–487.
- Peng, Y., Huang, Q., Zhang, R. and Zhang, Y. 2003. Purification and characterization of a fibrinolytic enzyme produced by *Bacillus amyloliquefaciens* DC-4 screened from douchi, a traditional Chinese soybean food. Comparative Biochemistry and Physiology. Part B 134 : 45-52.
- Rahman, S. Md. 1995. Food Properties Handbook. New York : CRC Press.
- Sharma, G. P. and Prasad, S. 2001. Drying of garlic (*Allium sativum*) cloves by microwave-hot air combination. Journal of Food Engineering. 50 : 99-105.
- Schrøder, M., Poulsen, M., Wilcks, A., Kroghsbo, S., Miller, A., Frenzel, T., Danier, J., Rychlik, M., Emami, K., Gatehouse, A., Shu, Q., Engel, K.-H., Altosaar, I. and Knudsen, I. 2007. A 90-day safety study of genetically modified rice expressing Cry1Ab protein (*Bacillus thuringiensis* toxin) in Wistar rats. Food and Chemical Toxicology. 45 : 339-349.
- Singh, R. P. 1994. Scientific principles of shelf-life evaluation. in Man, C.M.D., Jones, A. (editor), Shelf-Life Evaluation of Foods. 3-20. Mary land : Aspen Publisher, inc.

- Strumillo, C., Markowski, A. S. and Adamiec, J. 1991. Selected aspects of drying of biotechnological products. in Mujumdar, A.S. (editor), Drying, 36-55. Amsterdam : Elsevier Science Publishers BV.
- Sunny-Roberts, E. O. and Knorr, D. 2009. The protective effect of monosodium glutamate on survival of *Lactobacillus rhamnosus* E-97800 (E800) strains during spray-drying and storage in trehalose-containing powders. International Dairy Journal. 19 : 209-214.
- Tsaousi, K., Dimitrellou, D. and Koutinas, A. A. 2008. Low-temperature thermal drying of *Saccharomyces cerevisiae* starter culture for food production. Food Chemistry. 110 : 547-553.
- Tymczyszyn, E. E., Díaz, R., Pataro, A., Sandonato, N., Gómez-Zavaglia, A. and Disalvo, E. A. 2008. Critical water activity for the preservation of *Lactobacillus bulgaricus* by vacuum drying. International Journal of Food Microbiology. 128 : 342-347.
- Vega, A., Fito, P., Andrés, A. and Lemus, R. 2007. Mathematical modeling of hot-air drying kinetics of red bell pepper (var. Lamuyo). Journal of Food Engineering. 79 : 1460-1466.
- Wang, Z., Sun, J., Liao, X., Chen, F., Zhao, G., Wu, J. and Hu, X. 2007. Mathematical modeling on hot air drying of thin layer apple pomace. Food Research International. 40 : 39-46.

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์

ก. 1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 2006)

วัสดุอุปกรณ์

1. ถ้วยอะลูมิเนียม
2. Desiccators
3. Hot air oven

วิธีทดลอง

1. นำภาชนะอะลูมิเนียมพร้อมฝาไปอบในตู้ที่อุณหภูมิ 105 ± 2 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที หรือจนน้ำหนักคงที่ แล้วทิ้งไว้ให้เย็นใน Desiccator จากนั้นชั่งน้ำหนักถ้วยอะลูมิเนียมเปล่า
2. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่แน่นอนประมาณ 10 กรัม ด้วยเครื่องชั่งละเอียดใส่ภาชนะอะลูมิเนียมที่ชั่งน้ำหนักไว้แล้ว
3. นำตัวอย่างที่ชั่งน้ำหนักเรียบร้อยแล้วไปอบในตู้อบ ที่อุณหภูมิอยู่ที่ 105 ± 2 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชั่วโมง
4. นำออกจากตู้อบใส่ไว้ใน Desiccator ทิ้งไว้ให้เย็น
5. ชั่งน้ำหนักของถ้วยอะลูมิเนียมที่บรรจุตัวอย่างที่อบแล้ว
6. นำไปอบต่อเป็นเวลา 20 นาที แล้วนำออกจากตู้อบใส่ไว้ใน Desiccator ทิ้งไว้ให้เย็น
7. ชั่งน้ำหนักของถ้วยอะลูมิเนียมที่บรรจุตัวอย่างที่อบแล้วจนน้ำหนักคงที่
8. คำนวณหาปริมาณความชื้น ดังนี้

$$MC = \frac{\text{น้ำ}}{\text{น้ำหนักเปียก}} \times 100 = \frac{W_t - W_s}{W_t} \times 100 \quad (\text{ก.1})$$

โดย	MC	=	mosistur content (%(w.b.))
	W_t	=	น้ำหนักที่เวลาใดๆ
	W_s	=	น้ำหนักของแข็ง

ก. 2 การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์แบบใช้ออกซิเจน (BAM, 2001)

สารเคมีและวัสดุอุปกรณ์

1. Peptone water
2. Nutrient agar (NA)
3. จานเลี้ยงเชื้อพลาสติก

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

- เตรียมสารละลาย peptone 0.1%(w/v) โดยละลาย peptone water 1 กรัม ในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร แบ่งสารละลายที่ได้ใส่หลอดทดลอง 9 มิลลิลิตร และใส่ขวดรูปชมพู่ 225 มิลลิลิตร ปิดฝาหลอดทดลอง ปิดขวดรูปชมพู่ด้วยสำลี และปิดทับด้วยอะลูมิเนียมฟลอยด์
- เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยใช้ NA 28 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ปิดขวดรูปชมพู่ด้วยสำลี และปิดทับด้วยอะลูมิเนียมฟลอยด์ นำเข้า auto clave ที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ตั้งอาหารเลี้ยงเชื้อทิ้งไว้ให้อุ่น แล้วเทลงในจานเลี้ยงเชื้อตั้งอาหารทิ้งให้แห้ง และแห้งประมาณ 1 วัน

2. การนับเชื้อจุลินทรีย์

- 2.1 ชั่งตัวอย่างที่ผสมจุลินทรีย์กับตัวกลาง 25 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ที่มีสารละลาย peptone 0.1%(w/v) 225 มิลลิลิตร
- 2.2 ผสมตัวอย่างและสารละลาย peptone 0.1%(w/v) ให้เข้ากัน
- 2.3 ดูดมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีสารละลาย peptone 0.1%(w/v) ด้วย auto pipette
- 2.4 ดูดต่อเนื่องจากหลอดที่ 1 ไปหลอดที่ 2 เป็น serial dilution จนถึงหลอดที่ 5
- 2.5 ใช้ปิเปตดูดสารละลายปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่แห้งแล้ว ใช้แท่งแก้วสเปรดเกลี่ยเชื้อให้มีการกระจายตัวของตัวอย่างให้ทั่วอาหารเลี้ยงเชื้อทำซ้ำ 3 ครั้ง
- 2.6 ทดลองตามขั้นตอนที่ 2.5 จากหลอดทดลองที่ได้ทำ serial dilution ไว้แล้ว จนครบทั้ง 5 หลอด

2.7 ป่มเชื้อจุลินทรีย์ในตู้ป่มเชื้อที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12-18 ชั่วโมง

2.8 นับจำนวนโคโลนีเดียวที่เกิดขึ้น แล้วคำนวณหาปริมาณจุลินทรีย์ ดังสมการ

(ก.2)

$$\text{จำนวนจุลินทรีย์ (log cfu/g)} = \log (\text{จำนวนโคโลนีที่นับได้} \times 10^{n+1}) \quad (\text{ก.2})$$

โดย n = ลำดับของหลอดทดลองในการทำ serial dilution

ก. 3 อัตราส่วนระหว่างตัวกลางและ *Bacillus* spp.

ใช้อัตราส่วนตัวกลางต่อจุลินทรีย์ที่ 11 สภาวะ ดังนี้

- 1) ตัวกลาง 1500 กรัม ต่อปริมาณ culture *Bacillus* spp. 150 มิลลิลิตร
- 2) ตัวกลาง 1400 กรัม ต่อปริมาณ culture *Bacillus* spp. 150 มิลลิลิตร
- 3) ตัวกลาง 1300 กรัม ต่อปริมาณ culture *Bacillus* spp. 150 มิลลิลิตร
- 4) ตัวกลาง 1200 กรัม ต่อปริมาณ culture *Bacillus* spp. 150 มิลลิลิตร
- 5) ตัวกลาง 1100 กรัม ต่อปริมาณ culture *Bacillus* spp. 150 มิลลิลิตร
- 6) ตัวกลาง 1000 กรัม ต่อปริมาณ culture *Bacillus* spp. 150 มิลลิลิตร
- 7) ตัวกลาง 900 กรัม ต่อปริมาณ culture *Bacillus* spp. 150 มิลลิลิตร
- 8) ตัวกลาง 800 กรัม ต่อปริมาณ culture *Bacillus* spp. 150 มิลลิลิตร
- 9) ตัวกลาง 700 กรัม ต่อปริมาณ culture *Bacillus* spp. 150 มิลลิลิตร
- 10) ตัวกลาง 600 กรัม ต่อปริมาณ culture *Bacillus* spp. 150 มิลลิลิตร
- 11) ตัวกลาง 500 กรัม ต่อปริมาณ culture *Bacillus* spp. 150 มิลลิลิตร

ก. 4 การเตรียมสารละลายเกลืออิมิตัวที่ใช้ในการทดลอง Moisture Sorption Isotherm

สารเคมีและวัสดุอุปกรณ์

1. Potassium Chloride (KCl)
2. Sodium Bromide (NaBr)
3. Lithium Chloride (LiCl)
4. Magnesium Chloride ($MgCl_2$)
5. Potassium Nitrate (KNO_3)
6. Sodium Nitrate ($NaNO_3$)
7. Potassium Carbonate (K_2CO_3)
8. Sodium Chloride (NaCl)
9. Potassium Acetate (CH_3COOK)
10. บีกเกอร์ 1000 มิลลิลิตร
11. Magnetic stirrer

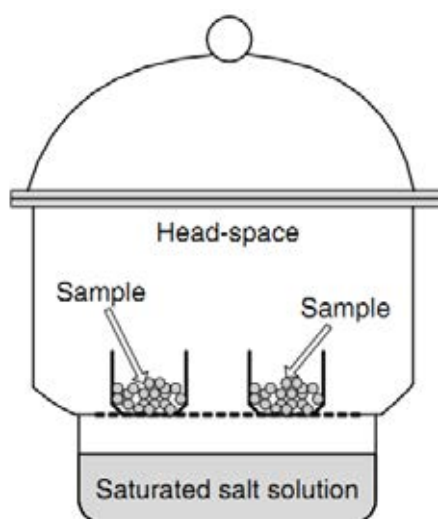
วิธีการทดลอง

1. นำเกลือทั้ง 9 ชนิดมาละลายด้วยน้ำกลั่นในบีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร กวนต่อเนื่องตลอดเวลาด้วยเครื่อง magnetic stirrer
2. เติมเกลือจนกระทั่งได้สารละลายเกลืออิมิตัว สังเกตได้จากมีผลึกของเกลือเหลืออยู่ที่ก้นบีกเกอร์
3. เทสารละลายลงในโถแก้ว ตั้งทิ้งไว้ 1 วัน สังเกตดูว่ามีผลึกของเกลือหลงเหลืออยู่หรือไม่ ถ้าละลายหมดให้เติมเกลือลงไปอีก ทำซ้ำ 3 วัน เพื่อให้แน่ใจว่าสารละลายที่ได้เป็นสารละลายเกลืออิมิตัว แล้วนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

ก. 5 การหาความชื้นสมดุล

วิธีการทดลอง

1. นำผงจุลินทรีย์ที่ผ่านการทำให้แห้งแล้ว ใส่ในจานรองแก้ว 2 กรัม โดยบันทึกน้ำหนักจานรองแก้ว ผงจุลินทรีย์ และน้ำหนักรวมไว้ ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
2. วางจานรองแก้วที่ใส่ผงจุลินทรีย์ลงบนก้นแก้วที่วางคว่ำในโถที่บรรจุสารละลายเกลืออิ่มตัว
3. นำสำลีสุบสารละลายโทลูอีน (toluene) และใช้เทปกาวติดที่ฝาโถด้านใน เพื่อป้องกันการเจริญของเชื้อรา
4. ปิดฝาโถ โดยที่ก่อนปิดนำเทปยางมาพันเพื่อป้องกันการผ่านเข้าออกของอากาศ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส
5. ชั่งน้ำหนักรวมของผงจุลินทรีย์และจานรองแก้ว ทุกๆ 3 วัน จนน้ำหนักคงที่
6. เมื่อน้ำหนักคงที่แล้ว นำผงจุลินทรีย์ไปหาค่าความชื้นตามวิธี AOAC (2006) จากนั้นคำนวณหาค่าความชื้นสมดุล
7. นำค่าความชื้นสมดุลที่ได้ไปสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าความชื้นสมดุลกับความชื้นสัมพัทธ์สมดุลจากสารละลายเกลือแต่ละชนิด



ภาพที่ ก.1 วิธีการทดลองหาความชื้นสมดุลโดยการควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ของสารละลายเกลืออิ่มตัวในโถแก้ว

ที่มา : Bhandari and Adhikari (2008)

ภาคผนวก ข

ข้อมูลผลการทดลองเพิ่มเติม

ตารางที่ ข.1 ค่าความชื้นเริ่มต้นของ *Bacillus* spp. และตัวกลางทั้ง 2 ชนิด

ตัวอย่าง	จุลินทรีย์	ตัวกลาง A	ตัวกลาง B
ความชื้น (%(w.b.))	99.21 ± 0.06	0.04 ± 0.001	5.81 ± 0.120

ตารางที่ ข.2 จำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตของจุลินทรีย์หลังผ่านการอบแห้งที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิ	ชนิด	จำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิต (cfu/g)
	ตัวกลาง	
40 °C	1	4.25 ± 0.10
	2	4.44 ± 0.07
50 °C	1	4.10 ± 0.02
	2	4.37 ± 0.01
60 °C	1	3.87 ± 0.12
	2	4.28 ± 0.03
70 °C	1	4.22 ± 0.02
	2	4.36 ± 0.05

ตารางที่ ข.3 ปริมาณความชื้นของผสมระหว่างตัวกลาง A และจุลินทรีย์โดยการทำแห้งด้วย
ตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิ เวลา (นาที)	ความชื้น (%(w.b.))	
	70 °C	60 °C
0	13.20 ± 0.05	12.75 ± 0.38
5	12.35 ± 0.25	12.18 ± 0.24
10	11.55 ± 0.24	11.70 ± 0.39
15	10.59 ± 0.37	11.20 ± 0.38
20	9.06 ± 0.06	10.52 ± 0.58
25	8.03 ± 0.24	10.05 ± 0.46
30	7.08 ± 0.40	9.22 ± 0.64
40	6.10 ± 0.30	8.22 ± 0.62
50	4.47 ± 0.54	6.90 ± 0.90
60	3.32 ± 0.44	5.60 ± 0.57
75	2.06 ± 0.49	4.28 ± 0.38
90	1.12 ± 0.42	2.85 ± 0.26
105	0.38 ± 0.29	1.78 ± 0.28
120	0.09 ± 0.11	0.78 ± 0.32
150		0.52 ± 0.23
180		0.28 ± 0.40
210		0.26 ± 0.37
240		0.17 ± 0.24
300		0.16 ± 0.22
360		0.15 ± 0.22

±ค่าเฉลี่ย จากการทดลอง 2 ซ้ำ

ตารางที่ ข.3 (ต่อ) ปริมาณความชื้นของผสมระหว่างตัวกลาง A และจุลินทรีย์โดยการทำแห้งด้วย
ตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิ เวลา (นาที)	ความชื้น (%(w.b.))	
	50 °C	40 °C
0	12.94 ± 0.33	13.07 ± 0.64
5	12.55 ± 0.34	12.78 ± 0.37
10	11.76 ± 0.30	12.42 ± 0.30
15	11.21 ± 0.48	12.01 ± 0.05
20	10.77 ± 0.32	11.70 ± 0.24
25	10.13 ± 0.08	11.58 ± 0.30
30	9.48 ± 0.07	11.31 ± 0.35
40	8.46 ± 0.28	10.80 ± 0.03
50	7.57 ± 0.25	10.41 ± 0.13
60	6.92 ± 0.30	10.09 ± 0.05
75	5.39 ± 0.03	9.48 ± 0.07
90	4.03 ± 0.15	8.49 ± 0.36
105	3.63 ± 0.14	8.13 ± 0.53
120	2.82 ± 0.12	6.95 ± 0.71
150	1.85 ± 0.31	6.18 ± 1.46
180	0.70 ± 0.51	4.57 ± 1.19
210	0.35 ± 0.49	3.35 ± 0.39
240	0.21 ± 0.30	3.00 ± 0.53
300	0.14 ± 0.19	1.99 ± 0.21
360	0.05 ± 0.07	0.88 ± 0.16
420	0.04 ± 0.06	0.56 ± 0.12
480		0.39 ± 0.12
1320		0.10 ± 0.06

±ค่าเฉลี่ย จากการทดลอง 2 ซ้ำ

ตารางที่ ข.4 ปริมาณความชื้นของผสมระหว่างตัวกลาง B และจุลินทรีย์โดยการทำแห้งด้วย
ตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิ เวลา (นาที)	ความชื้น (%(w.b.))	
	70 °C	60 °C
0	20.97 ± 0.85	20.37 ± 1.40
5	19.47 ± 0.84	19.77 ± 1.10
10	18.19 ± 0.40	18.53 ± 0.20
15	17.47 ± 0.08	17.40 ± 0.14
20	15.98 ± 0.10	16.99 ± 0.15
25	14.79 ± 0.32	16.57 ± 0.55
30	13.26 ± 0.07	16.30 ± 0.52
40	11.65 ± 0.15	14.97 ± 0.84
50	10.26 ± 0.14	13.57 ± 1.63
60	8.69 ± 0.24	11.94 ± 2.25
75	7.05 ± 0.23	10.18 ± 1.21
90	5.26 ± 0.05	9.66 ± 0.03
105	4.08 ± 0.09	7.81 ± 1.40
120	2.89 ± 0.38	5.98 ± 0.77
150	2.13 ± 0.37	5.00 ± 0.29
180		3.91 ± 0.42
210		3.29 ± 0.12
240		2.41 ± 1.07
300		2.26 ± 0.94
360		2.75 ± 0.22

±ค่าเฉลี่ย จากการทดลอง 2 ซ้ำ

ตารางที่ ข.4 (ต่อ) ปริมาณความชื้นของผสมระหว่างตัวกลาง B และจุลินทรีย์โดยการทำให้แห้งด้วย
ตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิ เวลา (นาที)	ความชื้น (%(w.b.))	
	50 °C	40 °C
0	20.77 ± 0.19	21.87 ± 0.71
5	19.78 ± 0.45	21.73 ± 0.64
10	19.19 ± 0.46	21.54 ± 0.57
15	18.62 ± 0.36	21.35 ± 0.56
20	18.03 ± 0.19	21.15 ± 0.57
25	17.58 ± 0.23	20.91 ± 0.59
30	16.81 ± 0.51	20.71 ± 0.68
40	16.00 ± 0.07	20.10 ± 0.70
50	14.85 ± 1.05	19.52 ± 0.30
60	13.84 ± 1.01	18.71 ± 0.45
75	13.19 ± 0.89	17.75 ± 0.02
90	11.71 ± 0.32	16.64 ± 0.77
105	10.97 ± 0.55	16.18 ± 0.98
120	10.33 ± 0.23	14.59 ± 2.33
150	9.05 ± 0.57	13.07 ± 2.07
180	7.50 ± 0.40	12.14 ± 1.71
210	6.89 ± 0.52	11.89 ± 2.14
240	6.46 ± 0.25	10.94 ± 1.10
300	6.02 ± 0.50	10.12 ± 1.18
360	5.59 ± 0.87	9.11 ± 0.79
420	5.54 ± 0.88	7.69 ± 0.76
480		8.16 ± 0.59
1320		8.01 ± 1.39

±ค่าเฉลี่ย จากการทดลอง 2 ซ้ำ

ตารางที่ ข.5 คุณภาพของผง *Bacillus* spp. ที่ได้จากการทำแห้ง โดยใช้ตู้อบลมร้อนที่ช่วงเวลา และอุณหภูมิต่างกัน

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ชนิด ตัวกลาง	เวลา (นาที)	ความชื้น (%w.b.)	ปริมาณ <i>Bacillus</i> spp. ที่รอดชีวิต (log cfu/g)
40	A	0	13.07 ± 0.64	6.67 ± 0.01
		120	6.95 ± 0.71	6.72 ± 0.02
		240	3.00 ± 0.53	6.59 ± 0.03
		360	0.88 ± 0.16	6.56 ± 0.01
		480	0.39 ± 0.12	6.47 ± 0.01
	B	0	21.87 ± 0.71	6.71 ± 0.04
		120	14.59 ± 2.33	6.65 ± 0.40
		240	10.94 ± 1.10	6.62 ± 0.12
		360	7.69 ± 0.76	6.52 ± 0.10
		480	3.60 ± 0.03	6.41 ± 0.07
50	A	0	12.94 ± 0.64	6.63 ± 0.01
		105	3.63 ± 0.14	6.59 ± 0.01
		210	0.35 ± 0.49	6.52 ± 0.02
		315	0.14 ± 0.19	6.48 ± 0.01
		420	0.04 ± 0.06	6.39 ± 0.06
	B	0	20.77 ± 0.20	6.73 ± 0.01
		105	10.97 ± 0.55	6.64 ± 0.03
		210	6.89 ± 0.52	6.53 ± 0.02
		315	3.62 ± 0.03	6.50 ± 0.01
		420	3.47 ± 0.40	6.43 ± 0.03

± ค่าเฉลี่ย จากการทดลอง 2 ซ้ำ

ตารางที่ ข.5(ต่อ) คุณภาพของผง *Bacillus* spp. ที่ได้จากการทำแห้ง โดยใช้ตู้อบลมร้อนที่
ช่วงเวลาและอุณหภูมิต่างกัน

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ชนิด ตัวกลาง	เวลา (นาที)	ปริมาณ ความชื้น (%w.b.)	ปริมาณ <i>Bacillus</i> spp. ที่รอดชีวิต (log cfu/g)
60	A	0	12.75 ± 0.38	6.50 ± 0.01
		90	5.60 ± 0.57	6.47 ± 0.01
		180	0.78 ± 0.32	6.41 ± 0.10
		270	0.17 ± 0.24	6.29 ± 0.02
		360	0.15 ± 0.22	6.09 ± 0.02
	B	0	20.37 ± 1.41	6.66 ± 0.06
		90	5.98 ± 1.10	6.58 ± 0.02
		180	3.91 ± 0.42	6.53 ± 0.05
		270	2.75 ± 0.22	6.35 ± 0.07
		360	2.41 ± 0.41	6.17 ± 0.04
70	A	0	13.20 ± 0.05	6.56 ± 0.04
		52	4.47 ± 0.54	6.41 ± 0.01
		105	0.38 ± 0.29	6.36 ± 0.03
		157	0.05 ± 0.00	6.31 ± 0.02
		210	0.05 ± 0.00	6.14 ± 0.03
	B	0	20.97 ± 0.85	6.74 ± 0.01
		52	10.26 ± 0.14	6.61 ± 0.01
		105	4.08 ± 0.09	6.54 ± 0.06
		157	2.20 ± 0.02	6.40 ± 0.02
		210	2.13 ± 0.37	6.25 ± 0.01

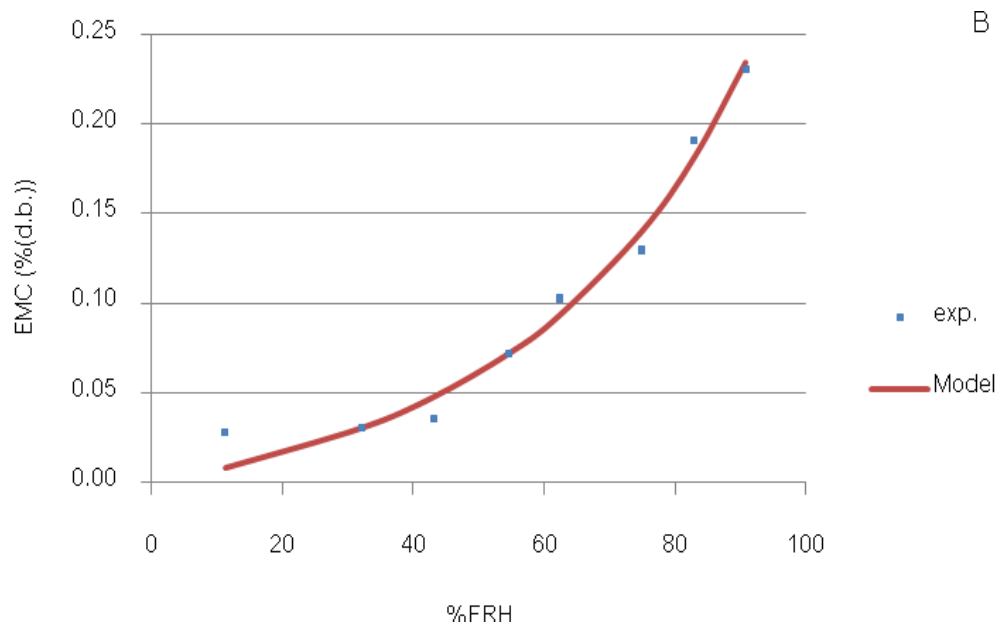
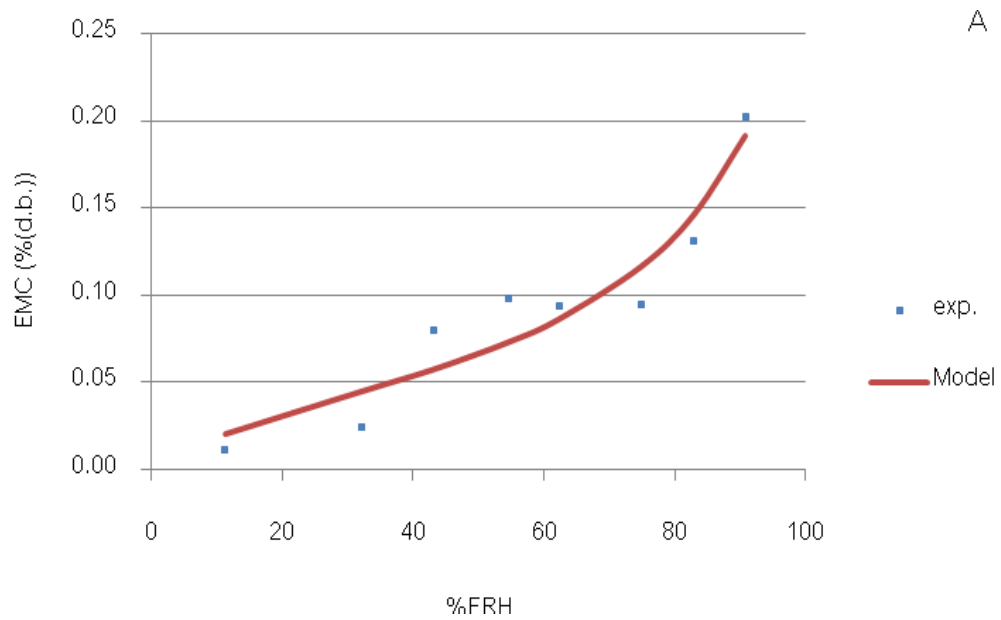
± ค่าเฉลี่ย จากการทดลอง 2 ซ้ำ

ตารางที่ ข.6 ความชื้นสมดุลและ RSS ที่ปริมาณตัวกลาง 1000 กรัมต่อจุลินทรีย์ 150 มิลลิลิตร

%RH	a_w	%EMC (w.b.)	%EMC (d.b.)	%EMC _m (d.b.)	RSS
11.25	0.1125	0.0113	0.0113	0.0205	0.00008
32.05	0.3205	0.0242	0.0242	0.0448	0.00043
43.17	0.4317	0.0801	0.0802	0.0575	0.00051
54.55	0.5455	0.0983	0.0984	0.0730	0.00064
62.30	0.623	0.0934	0.0935	0.0862	0.00005
74.87	0.7487	0.0946	0.0947	0.1163	0.00047
82.95	0.8295	0.1307	0.1309	0.1461	0.00023
90.79	0.9079	0.2018	0.2022	0.1911	0.00012
Total					0.00254

ตารางที่ ข.7 ความชื้นสมดุลและ RSS ที่ปริมาณตัวกลาง 1200 กรัมต่อจุลินทรีย์ 150 มิลลิลิตร

%RH	a_w	%EMC (w.b.)	%EMC (d.b.)	%EMC _m (d.b.)	RSS
11.25	0.1125	0.0279	0.0279	0.0082	0.00039
32.05	0.3205	0.0305	0.0305	0.0305	0.00000
43.17	0.4317	0.0353	0.0353	0.0480	0.00016
54.55	0.5455	0.0714	0.0715	0.0719	0.00000
62.30	0.623	0.1025	0.1026	0.0931	0.00008
74.87	0.7487	0.1295	0.1297	0.1398	0.00010
82.95	0.8295	0.1908	0.1912	0.1813	0.00010
90.79	0.9079	0.2302	0.2307	0.2341	0.00001
Total					0.00085



ภาพที่ ข.1 MSI ของผงจุลินทรีย์แห้งจากการทดลองและ GAB model ที่จุลินทรีย์ 150 มิลลิลิตร กับ (A) ตัวกลาง 1000 กรัม และ (B) ตัวกลาง 1200 กรัม

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ตารางที่ ค.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณความชื้นของผง *Bacillus* spp. ใน
การศึกษาด้านผลศาสตร์ของการทำแห้ง *Bacillus* spp.

SOV		df	MS
ปริมาณความชื้น	Trt	7	17.936*
	Error	8	0.494

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ค.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณ *Bacillus* spp. ของผง *Bacillus* spp. ใน
การศึกษาด้านผลศาสตร์ของการทำแห้ง *Bacillus* spp.

SOV		df	MS
ปริมาณ <i>Bacillus</i> spp.	Trt	7	0.067*
	Error	8	0.004

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ค.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณความชื้นของผง *Bacillus* spp. ใน
การศึกษากการทำแห้งแบบหลายชั้นต่อน

SOV		df	MS
ปริมาณความชื้น	Trt	5	0.000*
	Error	6	0.000

* ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ ค.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณ *Bacillus* spp. ของผง *Bacillus* spp. ใน การศึกษาการทำแห้งแบบหลายขั้นต่อน

SOV		df	MS
ปริมาณ <i>Bacillus</i> spp.	Trt	5	0.006*
	error	6	0.015

* ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ ค.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณความชื้นของผง *Bacillus* spp. ใน การศึกษาการแปรอัตราส่วนตัวกลาง A

SOV		df	MS
ปริมาณความชื้น	Trt	10	0.001*
	error	22	0.000

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นายกานต์ กลิ่นสกุล เกิดวันที่ 2 ธันวาคม 2526 ที่กรุงเทพมหานคร ภูมิลำเนาอยู่ที่ กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาสัตววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เมื่อปีการศึกษา 2548 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2550

ผลงานวิจัย

นำเสนอผลงานในการประชุมวิชาการ วิทยาศาสตร์วิจัย ครั้งที่ 3 ในหัวข้อเรื่อง “ผลของการอบแห้งต่อการรอดชีวิตของ *Bacillus* spp.” ในระหว่างวันที่ 14-15 มีนาคม 2554 ณ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร