

การพัฒนาฟิล์มอิมัลชันบริโกลด์ได้จากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่มีสมบัติซึนไปโอดิก



นางสาวกมลชนก อาชายะนะ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)

เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย

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 University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2559

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

DEVELOPMENT OF EDIBLE EMULSION FILM FROM SOY PROTEIN ISOLATE

WITH SYNBIOTIC PROPERTY

Miss Kamolchanok Archayana



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 2016

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การพัฒนาฟิล์มอิมัลชันบรีโภาคได้จากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่มีสมบัติขึ้นไบโอดีค
โดย	นางสาวกมลชนก อาชาขณะนะ
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธนจันทร์ มหาวนิช
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร.ชื่นจิต ประภิตชัยวัฒนา

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่ง
ของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ ดร.พลกฤษณ์ แสงวณิช)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.อุบลรัตน์ สิริภัทราวรรณ)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธนจันทร์ มหาวนิช)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร.ชื่นจิต ประภิตชัยวัฒนา)

.....กรรมการ
(ดร.กิติพงษ์ อัครกุล)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(รองศาสตราจารย์ ดร.วาณี ชนเห็นชอบ)

กมลชนก อาชาขณะ : การพัฒนาฟิล์มอิมัลชันบริโภาคได้จากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่มีสมบัติซินไบโอติก (DEVELOPMENT OF EDIBLE EMULSION FILM FROM SOY PROTEIN ISOLATE WITH SYMBIOTIC PROPERTY) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผศ. ดร.ธนจันทร์ มหาวนิช, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: รศ. ดร.ชื่นจิต ประกิจชัยวัฒนา, 114 หน้า.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของชนิดและความเข้มข้นของลิพิดต่อสมบัติของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัด รวมทั้งพัฒนาฟิล์มอิมัลชันบริโภาคได้จากโปรตีนถั่วเหลืองที่มีสมบัติซินไบโอติก ซึ่งแนวคิดของซินไบโอติกคือการใช้พรีไบโอติกที่เหมาะสมร่วมกับการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติก สำหรับการศึกษาผลของชนิดและความเข้มข้นของลิพิดต่อสมบัติของฟิล์มอิมัลชัน ในงานวิจัยนี้ได้แปรชนิดของลิพิดเป็น 2 ชนิด ได้แก่ น้ำมันรำข้าวและไขรำข้าว และแปรความเข้มข้นของลิพิดเป็น 4 ระดับ ได้แก่ 5, 10, 15 และ 20% โดยน้ำหนักของของแข็งโดยรวม พบว่าฟิล์มอิมัลชันมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ (water vapor permeability) และความสามารถในการละลายน้ำ (water solubility) ต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมลิพิด และโดยทั่วไปพบว่าตัวอย่างที่เติมน้ำมันรำข้าวมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำที่ต่ำกว่าในขณะที่มีความสามารถในการละลายน้ำที่สูงกว่าตัวอย่างที่เติมไขรำข้าวที่ปริมาณเท่ากัน ด้านสมบัติเชิงกลพบว่าการเติมลิพิดส่งผลให้ฟิล์มมีความต้านทานแรงดึงขาด (tensile strength) และการยืดตัวถึงจุดขาด (elongation at break) ลดต่ำลง นอกจากนี้ฟิล์มอิมัลชันที่ไต่ยังมีค่าความโปร่งแสงลดลงจากการที่ฟิล์มที่เติมน้ำมันรำข้าวเข้มข้น 15% มีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำต่ำที่สุดจึงถูกคัดเลือกเพื่อนำมาพัฒนาเป็นฟิล์มบริโภาคได้ที่มีสมบัติซินไบโอติกในขั้นตอนต่อไป ในการพัฒนาฟิล์มที่มีสมบัติซินไบโอติก ขั้นตอนแรกเป็นการศึกษาความสามารถในการใช้พรีไบโอติกของโพรไบโอติก จุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ใช้ในการทดลองเป็นจุลินทรีย์ทางการค้า 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Lactobacillus paracasei* Lpc-37 และ *Bifidobacterium animalis* BB-12 พรีไบโอติกที่ศึกษาประกอบด้วยพรีไบโอติกทางการค้า 3 ชนิด ได้แก่ อินูลิน ออลิโกฟรุคโทส และพอลิเด็คซ์โทรส และสารสกัดจากพืชที่มีพรีไบโอติก (prebiotic-containing plant extract) 2 ชนิด ได้แก่ สารสกัดจากแก่นตะวันและกล้วยน้ำว้า พบว่าคู่ของโพรไบโอติกและพรีไบโอติกทางการค้าที่มีค่า prebiotic activity score สูงที่สุด ได้แก่ *L. paracasei* Lpc-37 และออลิโกฟรุคโทส ส่วนคู่ของโพรไบโอติกและสารสกัดจากพืชที่มีพรีไบโอติกที่มีค่า prebiotic activity score สูงที่สุด ได้แก่ *L. paracasei* Lpc-37 และสารสกัดจากแก่นตะวัน ขั้นตอนสุดท้ายเป็นการพัฒนาฟิล์มอิมัลชันบริโภาคได้จากโปรตีนถั่วเหลืองที่มีสมบัติซินไบโอติก สำหรับฟิล์มอิมัลชันที่เติมพรีไบโอติก (ออลิโกฟรุคโทสและสารสกัดจากแก่นตะวัน) เข้มข้น 1% และ 2% ซึ่งมีจุลินทรีย์โพรไบโอติกเริ่มต้น $11 \log_{10}\text{CFU/g}$ พบว่าฟิล์มที่เติมพรีไบโอติกมีการอยู่รอดของจุลินทรีย์สูงกว่าฟิล์มที่ไม่เติมพรีไบโอติก อย่างไรก็ตามการอยู่รอดของจุลินทรีย์ไม่ขึ้นกับความเข้มข้นของพรีไบโอติกที่เติม โดยจุลินทรีย์โพรไบโอติกมีชีวิตรอดในฟิล์มที่ไม่เติมพรีไบโอติกเป็นระยะเวลา 11 วัน และ 15 วัน สำหรับฟิล์มที่เติมพรีไบโอติก ปริมาณเริ่มต้นของเชื้อ คือ $11 \log_{10}\text{CFU/g}$ ซึ่งในช่วงระยะเวลาการเก็บพบว่าฟิล์มมีปริมาณเชื้อลดลงเรื่อยๆ จากการทดสอบทางสถิติจะเห็นได้ชัดว่า ฟิล์มที่เติมสารพรีไบโอติกมีการอยู่รอดของเชื้อโพรไบโอติกสูงกว่าฟิล์มที่ไม่มีสารพรีไบโอติกในระยะเวลาที่เท่ากัน อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ภาควิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร	ลายมือชื่อนิสิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก
ปีการศึกษา	2559	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม

5771906323 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEYWORDS: EDIBLE FILM / EMULSION FILM / PROTEIN FILM / SYNBIOTIC FILM

KAMOLCHANOK ARCHAYANA: DEVELOPMENT OF EDIBLE EMULSION FILM FROM SOY PROTEIN ISOLATE WITH SYNBIOTIC PROPERTY. ADVISOR: ASST. PROF.THANACHAN MAHAWANICH, Ph.D., CO-ADVISOR: ASSOC. PROF.CHEUNJIT PRAKITCHAIWATTANA, Ph.D., 114 pp.

This study aimed to investigate the effect of rice bran oil (RBO) and rice bran wax (RBW) on properties of soy protein emulsion film. Either RBO or RBW (5 to 20% of total solids) was added to a film-forming solution containing 5% soy protein isolate and 55% glycerol by weight. An improvement in moisture barrier property was signified upon lipid incorporation. For instance, the films containing 15% RBO and 15% RBW exhibited 27 and 16% decrease in water vapor permeability as compared to the soy protein control film. Both emulsion films also demonstrated lower water solubility than the control. In terms of mechanical properties, a reduction in tensile strength was revealed with increasing lipid concentration. For example, the films containing 15% RBO and 15% RBW exhibited 34 and 43% decrease in tensile strength as compared to the control. The emulsion films also exhibited a decrease in transparency and an increase in yellowness. Scanning electron micrographs revealed a less homogeneous film matrix for the films containing RBW as compared to those containing RBO. Secondly, the determination of prebiotic activity score was conducted and it was shown that in the case of commercial prebiotics, the highest prebiotic activity score was demonstrated for *Lactobacillus paracasei* Lpc-37 with oligofructose and in the case of prebiotic-containing plant extracts, the highest prebiotic activity score was demonstrated for *L. paracasei* Lpc-37 with Jerusalem artichoke extract. Thirdly, the next step is the development of edible emulsion film from soy protein with synbiotic property. The film bases that will be used were chosen from the first part of this study in which the soy protein film with 15% rice bran oil was found to possess the lowest water vapor permeability. The prebiotics which had the highest prebiotic activity score were added in the concentration up to 2% of the film-forming solution. For probiotic, *L. paracasei* LPC-37 was incorporated after cooling step prior to casting film. The film then was then analyzed the properties as well as %viability of the probiotic. The result was indicated that the film drying step led to a significant decrease in the viability of *L. paracasei* Lpc-37, especially when no prebiotics were included in the films. Furthermore, The concentration of prebiotic did not place a significant effect on the viability of *L. paracasei* Lpc-37.

Department: Food Technology

Student's Signature

Field of Study: Food Technology

Advisor's Signature

Academic Year: 2016

Co-Advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดีโดยได้รับความกรุณาและความช่วยเหลืออันดียิ่งจาก ผศ.ดร. ธนจันทร์ มหาวนิช อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ รศ.ดร. ชื่นจิต ประกิจชัยวัฒนา อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่ได้สละเวลาอันมีค่าในการให้คำปรึกษา แนะนำแนวทางในการแก้ปัญหา ตลอดจนให้การดูแลเอาใจใส่และช่วยเหลือมาโดยตลอด รวมถึงแก้ไขวิทยานิพนธ์จนสำเร็จลุล่วง

ขอขอบพระคุณคณะกรรมการสอบป้องกันวิทยานิพนธ์ประกอบด้วย รศ.ดร. อุบลรัตน์ สิริภัทรารวรรณ ดร. กิติพงศ์ อัครสกุล และรศ. ดร. วาณี ชนเห็นชอบ ที่ให้คำแนะนำ และข้อเสนอแนะต่างๆ อันมีค่า เพื่อให้วิทยานิพนธ์เล่มนี้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. อุบลรัตน์ สิริภัทรารวรรณ ที่ให้ความอนุเคราะห์การใช้ตู้ควบคุมความชื้นสัมพัทธ์

ขอขอบพระคุณคณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สำหรับความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือวัดมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม

ขอขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. ศานต์ เศรษฐชัยมงคล คุณกาญจนา ลาภานิภรณ์ และบริษัทพีไอ (ประเทศไทย) จำกัด สำหรับความอนุเคราะห์ให้วัสดุดิบและเชื้อจุลินทรีย์ในงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณ คุณธีรภัทร์ ตั้งสมบูรณ์ คุณบัณฑิตา จิตตประไพ คุณสุพิชชา คุณารยกุล และคุณจุฑารัตน์ จันทร์เพชร สำหรับการให้คำแนะนำในการดำเนินการวิจัยจนสำเร็จลุล่วง อีกทั้งความช่วยเหลือและการประสานงานต่าง ๆ ตลอดมา รวมถึงพี่ น้อง และเพื่อนนิสิตภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารที่ให้คำแนะนำและกำลังใจมาโดยตลอด ตลอดจนเจ้าหน้าที่ของภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่าน สำหรับความช่วยเหลือและการอำนวยความสะดวกตลอดระยะเวลาการทำวิจัยนี้

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณคุณพ่อเฉลิมชัย อาชายะนะ คุณแม่ณัฐชนก อาชายะนะ และคุณณัฐกวิน อาชายะนะ สำหรับการสนับสนุน กำลังใจ และความช่วยเหลือตลอดมาจนประสบความสำเร็จในการศึกษา

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
กิตติกรรมประกาศ.....	ฉ
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฅ
สารบัญรูป.....	ฉ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
บทที่ 2 วารสารปริทัศน์.....	3
2.1 फिल्मและสารเคลือบบริโภคได้ (edible film and coating).....	3
2.2 โปรตีนถั่วเหลือง.....	6
2.2.1 องค์ประกอบของโปรตีนถั่วเหลือง.....	6
2.2.2 การเกิดเป็นฟิล์มของโปรตีนถั่วเหลือง.....	10
2.3 การปรับปรุงสมบัติความไม่ชอบน้ำของฟิล์ม.....	12
2.4 พรีไบโอติก.....	16
2.4.1 อินูลินและอลิโกฟรุคโตส.....	17
2.4.2 พอลิเดกซ์โทรส.....	19
2.4.3 พรีไบโอติกในกล้วย.....	20
2.4.4 พรีไบโอติกในแก่นตะวัน.....	20
2.5 โพรไบโอติก.....	21
2.6 งานวิจัยเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ฟิล์มและสารเคลือบบริโภคได้ที่มีสมบัติโพรไบโอติกและ/หรือพรีไบโอติก.....	22
2.6.1 โครงสร้างของฟิล์มและสารเคลือบบริโภคได้ที่มีสมบัติโพรไบโอติกและ/หรือพรีไบโอติก.....	22

2.6.3 การรอดชีวิตของโพรไบโอติกในฟิล์มและสารเคลือบบริโภาคได้	24
บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการดำเนินงานวิจัย	26
3.1 วัตถุดิบ สารเคมี และอาหารเลี้ยงเชื้อ.....	26
3.1.1 วัตถุดิบ	26
3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ.....	28
3.2 อุปกรณ์.....	28
3.3 เชื้อจุลินทรีย์	30
3.4 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย.....	31
3.4.1 ผลของชนิดและความเข้มข้นของลิพิดต่อสมบัติของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีน ถั่วเหลืองสกัด	31
3.4.1.2 ความหนา.....	33
3.4.1.3 สมบัติเชิงกล.....	33
3.4.1.4 ความโปร่งแสง (transparency).....	34
3.4.1.5 สี.....	34
3.4.1.6 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ.....	35
3.4.1.7 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม (contact angle).....	36
3.4.1.8 ความสามารถในการละลายน้ำ (water solubility).....	36
3.4.1.9 ลักษณะพื้นผิวและลักษณะภาคตัดขวาง	37
3.4.2 การทดสอบความสามารถการใช้พรีไบโอติกของโพรไบโอติก.....	38
3.4.2.1 การเตรียมจุลินทรีย์	38
3.4.2.2 การเตรียมสารสกัดจากพืชตัวอย่าง.....	39
3.2.2.3 การประเมินความสามารถในการใช้สารพรีไบโอติกและ prebiotic activity score	39

3.4.3 การพัฒนาฟิล์มอิมัลชันบริโภาคได้จากโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมโพรไบโอติกและ พรีไบโอติก.....	41
3.4.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....	43
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง.....	44
4.1 ผลของชนิดและความเข้มข้นของลิพิดต่อสมบัติของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่ว เหลืองสกัด.....	44
4.1.1 ความหนา.....	44
4.1.2 สมบัติเชิงกล.....	46
4.1.3 ความโปร่งแสง.....	49
4.1.4 ค่าสี.....	50
4.1.5 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ.....	52
4.1.6 ความสามารถในการละลายน้ำ.....	54
4.1.7 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม.....	56
4.1.8 ลักษณะพื้นผิวและลักษณะภาคตัดขวาง.....	57
4.2 ความสามารถการใช้พรีไบโอติกของโพรไบโอติก.....	61
4.3 การพัฒนาฟิล์มอิมัลชันบริโภาคได้จากโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมโพรไบโอติกและพรีไบโอติก.....	70
4.3.1 ความหนา.....	70
4.3.2 สมบัติเชิงกล.....	71
4.3.3 ความโปร่งแสง.....	74
4.3.4 ค่าสี.....	75
4.3.5 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ.....	76
4.3.6 ความสามารถในการละลายน้ำ.....	78
4.3.7 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม.....	79
4.3.8 ลักษณะพื้นผิวและลักษณะภาคตัดขวาง.....	81

4.3.9 ปริมาณจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่รอดชีวิต	85
4.3.9.1 ปริมาณจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่รอดชีวิตก่อนและหลังการอบแห้งฟิล์ม	85
4.3.9.2 ปริมาณจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่รอดชีวิตระหว่างการเก็บรักษาฟิล์ม	86
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	89
รายการอ้างอิง	92
ภาคผนวก	102
ภาคผนวก ก ข้อมูลเฉพาะของผลิตภัณฑ์	103
ภาคผนวก ข การตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์	104
ภาคผนวก ค ข้อมูลผลการทดลอง	108
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์	114

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 4.1 ค่าสีของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) หรือไขรำข้าว (RBW) ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มที่ไม่เติมลิปิด	51
ตารางที่ 4.2 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมน้ำมันรำข้าวหรือไขรำข้าว.....	56
ตารางที่ 4.3 จำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติก (\log_{10} CF/mL) ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง ในอาหารที่เติมกลูโคส โพรไบโอติกทางการค้า และสารสกัดจากพืชที่มีโพรไบโอติก	61
ตารางที่ 4.4 ค่าสีของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิปิดและที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) เข้มข้น 15% ซึ่งเติมโพรไบโอติกออลิโกพรุคโทส (FOS) และสารสกัดจากแก่นตะวัน (Artichoke)...	76
ตารางที่ 4.5 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิปิดและที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) เข้มข้น 15% ซึ่งเติมโพรไบโอติกออลิโกพรุคโทส (FOS) และสารสกัดจากแก่นตะวัน (Artichoke).....	80
ตารางที่ 4.6 ปริมาณจุลินทรีย์ <i>L. paracasei</i> LPC-37 (\log_{10} CFU /g) ของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมโพรไบโอติกและโพรไบโอติกที่ความเข้มข้นต่างกัน.....	88
ตารางที่ 4.6 ปริมาณจุลินทรีย์ <i>L. paracasei</i> LPC-37 (\log_{10} CFU/g) ของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมโพรไบโอติกและโพรไบโอติกที่ความเข้มข้นต่างกัน.....	88
ตารางที่ ค.1 ความหนาของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมไขรำข้าว (Wax) และน้ำมันรำข้าว (Oil) เข้มข้น 5, 10, 15 และ 20% โดยน้ำหนักของของแข็งโดยรวม	108
ตารางที่ ค.2 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมไขรำข้าว (Wax) และน้ำมันรำข้าว (Oil) เข้มข้น 5, 10, 15 และ 20% โดยน้ำหนักของของแข็งโดยรวม.....	108
ตารางที่ ค.3 การยึดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมไขรำข้าว (Wax) และน้ำมันรำข้าว (Oil) เข้มข้น 5, 10, 15 และ 20% โดยน้ำหนักของของแข็งโดยรวม	109

ตารางที่ ค.4 ร้อยละของแสงส่องผ่านของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมไขรำข้าว (Wax) และน้ำมันรำข้าว (Oil) เข้มข้น 5, 10, 15 และ 20% โดยน้ำหนักของของแข็ง โดยรวม	109
ตารางที่ ค.5 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมไขรำข้าว (Wax) และน้ำมันรำข้าว (Oil) เข้มข้น 5, 10, 15 และ 20% โดยน้ำหนักของของแข็ง โดยรวม	110
ตารางที่ ค.6 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมไขรำข้าว (Wax) และน้ำมันรำข้าว (Oil) เข้มข้น 5, 10, 15 และ 20% โดยน้ำหนักของ ของแข็งโดยรวม	110
ตารางที่ ค.7 ความหนาของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมโพโรไปโอติกและพรีไปโอติกเข้มข้น 0, 1 และ 2% โดยน้ำหนักของสารละลาย	111
ตารางที่ ค.8 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมโพโรไปโอติกและพรีไปโอติกเข้มข้น 0, 1 และ 2% โดยน้ำหนักของสารละลาย	111
ตารางที่ ค.9 การยึดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมโพโรไปโอติกและพรีไปโอติกเข้มข้น 0, 1 และ 2% โดยน้ำหนักของสารละลาย	112
ตารางที่ ค.10 ร้อยละของแสงส่องผ่านของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมโพโรไปโอติกและพรีไปโอติกเข้มข้น 0, 1 และ 2% โดยน้ำหนักของสารละลาย	112
ตารางที่ ค.11 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมโพโรไปโอติกและพรีไปโอติกเข้มข้น 0, 1 และ 2% โดยน้ำหนักของสารละลาย	113
ตารางที่ ค.12 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมโพโรไปโอติกและพรีไปโอติกเข้มข้น 0, 1 และ 2% โดยน้ำหนักของสารละลาย	113

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
รูปที่ 2.1 โมเลกุลเบต้า-คอนไกลซินินของถั่วเหลือง ประกอบหน่วยย่อย 3 หน่วย	7
รูปที่ 2.2 โมเลกุลไกลซินินของถั่วเหลือง โดยโปรโตเมอร์ทั้งหกของโครงสร้างเฮกซาเมอร์ แสดงเป็นสีที่ต่างกัน ได้แก่ สีส้ม (A1) สีชมพู (A2) สีแดง (A3) สีเขียว (B1) สีฟ้าอมเขียว (B2) และสีม่วง (B3) รูป A แสดงมุมมองจากแกนแนวตั้ง (vertical axis) (▲) และรูป B เป็นมุมมองที่ตั้งฉากกับแกนแนวตั้ง	8
รูปที่ 2.3 โครงสร้างของอินูลิน	18
รูปที่ 2.4 ออลิโกฟรุกโตส แสดงโครงสร้างแบบสายโซ่ฟรุกโตสที่มีหน่วยปลายเป็นกลูโคส (fructose chain with terminal glucose unit, GF _n) (ซ้าย) และโครงสร้างแบบสายโซ่ฟรุกโตส (fructose chain, F _m) (ขวา)	19
รูปที่ 3.1 ขั้นตอนการผลิตฟิล์มอิมัลชันของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด	32
รูปที่ 3.2 ขั้นตอนการผลิตฟิล์มอิมัลชันของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่มีพรีไบโอติกและโพรไบโอติก	43
รูปที่ 4.1 ความหนาของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) หรือไขรำข้าว (RBW) ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มที่ไม่เติมลิพิด	45
รูปที่ 4.2 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) หรือไขรำข้าว (RBW) ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มที่ไม่เติมลิพิด	47
รูปที่ 4.3 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) หรือไขรำข้าว (RBW) ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มที่ไม่เติมลิพิด	48
รูปที่ 4.4 ความโปร่งแสง (แสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน) ของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) หรือไขรำข้าว (RBW) ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มที่ไม่เติมลิพิด	50
รูปที่ 4.5 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) หรือไขรำข้าว (RBW) ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มที่ไม่เติมลิพิด	53
รูปที่ 4.6 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) หรือไขรำข้าว (RBW) ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มที่ไม่เติมลิพิด	54

รูปที่ 4.7 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) หรือไซราข้าว (RBW) ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มที่ไม่เติมลิพิด	57
รูปที่ 4.8 ลักษณะพื้นผิวของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) หรือไซราข้าว (RBW) ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มที่ไม่เติมลิพิด ถ่ายที่กำลังขยาย 750 เท่า	58
รูปที่ 4.9 ลักษณะภาคตัดขวางของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) หรือไซราข้าว (RBW) ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มที่ไม่เติมลิพิด ถ่ายที่กำลังขยาย 750 เท่า	59
รูปที่ 4.10 Prebiotic activity score ของจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่เจริญในอาหาร MRS ที่เติมพรีไบโอติกทางการค้า (อลิโกฟรุคโทส อินูลิน และพอลิเด็คซ์โทรส) และอาหาร MRS ที่เติมสารสกัดจากพืชที่มีพรีไบโอติก (สารสกัดจากแก่นตะวันและกล้วยน้ำว้า) Lpc-37 คือ <i>L. paracasei</i> Lpc-37 และ BB-12 คือ <i>B. animalis</i> BB-12 [®]	66
รูปที่ 4.11 ความหนาของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิพิดและที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) เข้มข้น 15% ซึ่งเติมพรีไบโอติกอลิโกฟรุคโทส (FOS) และสารสกัดจากแก่นตะวัน (Artichoke) ...	71
รูปที่ 4.12 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิพิดและที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) เข้มข้น 15% ซึ่งเติมพรีไบโอติกอลิโกฟรุคโทส (FOS) และสารสกัดจากแก่นตะวัน (Artichoke)	73
รูปที่ 4.13 การยึดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิพิดและที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) เข้มข้น 15% ซึ่งเติมพรีไบโอติกอลิโกฟรุคโทส (FOS) และสารสกัดจากแก่นตะวัน (Artichoke)	73
รูปที่ 4.14 ความโปร่งแสง (แสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน) ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิพิดและที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) เข้มข้น 15% ซึ่งเติมพรีไบโอติกอลิโกฟรุคโทส (FOS) และสารสกัดจากแก่นตะวัน (Artichoke)	75
รูปที่ 4.15 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิพิดและที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) เข้มข้น 15% ซึ่งเติมพรีไบโอติกอลิโกฟรุคโทส (FOS) และสารสกัดจากแก่นตะวัน (Artichoke)	77
รูปที่ 4.16 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิพิดและที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) เข้มข้น 15% ซึ่งเติมพรีไบโอติกอลิโกฟรุคโทส (FOS) และสารสกัดจากแก่นตะวัน (Artichoke)	79

- รูปที่ 4.17 มุมสัมผัสของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิปิดและที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) เข้มข้น 15% ซึ่งเติมพรีไบโอติกออลิโกฟรุคโทส (FOS) และสารสกัดจากแก่นตะวัน (Artichoke) ... 81
- รูปที่ 4.18 ลักษณะพื้นผิวของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิปิดและที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) เข้มข้น 15% ซึ่งเติมพรีไบโอติกออลิโกฟรุคโทส (FOS) และสารสกัดจากแก่นตะวัน (Artichoke) ถ่ายที่กำลังขยาย 750 เท่า..... 83
- รูปที่ 4.19 ลักษณะภาคตัดขวางของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิปิดและที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) เข้มข้น 15% ซึ่งเติมพรีไบโอติกออลิโกฟรุคโทส (FOS) และสารสกัดจากแก่นตะวัน (Artichoke) ถ่ายที่กำลังขยาย 750 เท่า..... 84
- รูปที่ 4.20 ปริมาณ *L. paracasei* Lpc-37 ที่มีชีวิตก่อนและหลังการอบแห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิปิดและที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) เข้มข้น 15% ซึ่งเติมพรีไบโอติกออลิโกฟรุคโทส (FOS) และสารสกัดจากแก่นตะวัน (ATC).. 86



บทที่ 1

บทนำ

โปรตีนถั่วเหลืองเป็นโปรตีนอาหารชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพในการนำมาพัฒนาเป็นฟิล์มบริโภคได้ (edible film) อย่างไรก็ตามฟิล์มบริโภคได้จากโปรตีนถั่วเหลืองยังไม่มีนำมาใช้แพร่หลายนัก โดยข้อจำกัดสำคัญประการหนึ่งของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองคือมีสมบัติชอบน้ำ (hydrophilic) ทำให้มีความสามารถในการต้านทานการซึมผ่านของไอน้ำที่ต่ำ การปรับปรุงสมบัติด้านการต้านทานการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มโปรตีนสามารถทำได้โดยเติมองค์ประกอบที่มีสมบัติไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) เช่น ลิพิด อย่างไรก็ตามลิพิดที่มีสมบัติต่างกันอาจส่งผลให้ฟิล์มคอมพอสิต (composite film) ที่ได้มีสมบัติที่แตกต่างกัน

ฟิล์มบริโภคได้นอกจากจะใช้เพื่อให้ความคงตัว (integrity) แก่ผลิตภัณฑ์และทำหน้าที่ด้านการต้านทานการซึมผ่านของสารต่างๆ แล้ว ฟิล์มบริโภคได้ยังมีศักยภาพในการนำมาพัฒนาเป็นฟิล์มที่มีสมบัติเชิงหน้าที่หลายด้าน (multi-function) โดยสามารถทำหน้าที่เป็นตัวพา (carrier) ของสารต่างๆ เช่น สารให้กลิ่นรส สารยับยั้งออกซิเดชัน สารยับยั้งจุลินทรีย์ รวมถึงจุลินทรีย์โพรไบโอติกและสารพรีไบโอติก

Lopez-Rubio, Gavara and Lagaron (2006) ให้คำนิยามวัสดุบรรจุภัณฑ์ที่มีหน้าที่เฉพาะหรือวัสดุบรรจุภัณฑ์ที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (functional or bioactive packaging material) ไว้ว่า หมายถึง วัสดุบรรจุภัณฑ์ที่สามารถทำหน้าที่รักษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพไว้ภายใต้ภาวะที่เหมาะสม จนกระทั่งสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพนั้นถูกปลดปล่อยสู่ผลิตภัณฑ์อาหาร ซึ่งการปลดปล่อยนั้นอาจเป็นการปลดปล่อยแบบควบคุม (controlled release) หรือการปลดปล่อยแบบรวดเร็ว (fast release) ระหว่างการเก็บรักษาหรือขณะบริโภคอาหารนั้นๆ

ตลาดของโพรไบโอติกและพรีไบโอติกกำลังเติบโตอย่างรวดเร็ว โดย 90% ของโพรไบโอติกและพรีไบโอติกถูกนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่มฟังก์ชัน (functional food and beverage) (Berry, 2014) ปัจจุบันการนำโพรไบโอติกและพรีไบโอติกมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารมักเป็นการเติมลงในผลิตภัณฑ์โดยตรง ซึ่งจำเป็นต้องพัฒนาสูตร (formulation) ขึ้นมาใหม่ การใช้ฟิล์มหรือสารเคลือบ (coating) ที่มีโพรไบโอติกและพรีไบโอติกจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการเติมโพรไบโอติกและพรีไบโอติกลงในผลิตภัณฑ์อาหารโดยไม่ต้องปรับเปลี่ยนสูตรอาหารนั้นๆ

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาฟิล์มอิมัลชันบริโภาคได้จากโปรตีนถั่วเหลืองสกัด โดยศึกษาผลของชนิดและความเข้มข้นของลิปิตต่อสมบัติของฟิล์มอิมัลชัน รวมทั้งพัฒนาฟิล์มอิมัลชันบริโภาคได้จากโปรตีนถั่วเหลืองที่เป็นซินไบโอติก (synbiotic) ซึ่งมีทั้งสมบัติพรีไบโอติกและโพรไบโอติก

บทที่ 2 วารสารปริทัศน์

2.1 ฟิล์มและสารเคลือบบริโภคได้ (edible film and coating)

ฟิล์มหมายถึงวัสดุแผ่นบางที่ขึ้นรูปแยกต่างหากจากผลิตภัณฑ์ที่ต้องการนำไปใช้ร่วมด้วย ในขณะที่สารเคลือบหมายถึงวัสดุแผ่นบางที่ขึ้นรูปโดยตรงลงบนผิวของผลิตภัณฑ์ (Gennadios and Weller, 1990) บางครั้งทั้งสองคำนี้อาจใช้แทนกันได้ (interchangeable) ฟิล์มบริโภคได้ผลิตจากพอลิเมอร์ชีวภาพและวัตถุเจือปนที่ใช้สำหรับอาหาร (food grade) ซึ่งพอลิเมอร์ที่นำมาใช้อาจเป็นได้ทั้ง โปรตีน พอลิแซ็กคาไรด์ ลิพิด รวมทั้งของผสมของสารเหล่านี้ (Gennadios et al., 1997) นอกจากนี้ ในการเตรียมสารละลายฟิล์มมักมีการเติมพลาสติกไซเซอร์และวัตถุเจือปนอื่นๆ เพื่อปรับปรุงสมบัติเชิงกลและสมบัติเชิงหน้าที่ของฟิล์ม ในกระบวนการเกิดเป็นฟิล์มมีอันตรกิริยาทางเคมีหลายชนิดที่มีบทบาททำให้เกิดเป็นโครงร่างแหของพอลิเมอร์ชีวภาพซึ่งจำเป็นต่อเสถียรภาพของโครงสร้างเนื้อฟิล์ม (film matrix) ได้แก่ พันธะโควาเลนต์ และอันตรกิริยานอน-โควาเลนต์ (พันธะไฮโดรเจน อันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก อันตรกิริยาไอออนิก และแรงแวนเดอร์วาลส์) โดยภาวะต่างๆ ที่ใช้ในระหว่างขั้นตอนการเตรียมฟิล์มนั้นมีความสำคัญอย่างมาก เนื่องจากอาจส่งผลต่อชนิดและปริมาณของอันตรกิริยาที่จะเกิดขึ้นในระบบได้ (Guilbert et al., 1996; Han, 2014)

ฟิล์มบริโภคได้สามารถนำมาใช้เพื่อปรับปรุงคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหาร ปกป้องผลิตภัณฑ์จากการถูกทำลายทั้งทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ (Kester and Fennema, 1986) นอกจากนี้ที่เชิงการปกป้องผลิตภัณฑ์ภายในหรือป้องกันการผ่านเข้าออกของสารต่างๆ แล้ว ฟิล์มบริโภคได้ยังสามารถทำหน้าที่เป็นตัวพา (carrier) ของสารหลายชนิด เช่น สี สารให้กลิ่นรส วิตามิน สารยับยั้งออกซิเดชัน สารยับยั้งจุลินทรีย์ รวมถึงจุลินทรีย์โพรไบโอติกและสารพรีไบโอติก (Gennadios and

Weller, 1990; Guilbert and Gontard, 1995; Kester and Fennema, 1986; Krochta and De Mulder-Johnston, 1997; Miller et al., 1998) นอกจากนี้การนำฟิล์มบรีโภาคได้ไปใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารสามารถทดแทนและช่วยลดการใช้บรรจุภัณฑ์บางประเภทได้ (Krochta and De Mulder-Johnston, 1997; Petersen et al., 1999) เช่น ผลิตภัณฑ์คุกกี้ที่บรรจุห่อพลาสติกแล้วบรรจุในกล่องกระดาษ สามารถประยุกต์ได้ด้วยการเคลือบคุกกี้ด้วยฟิล์มบรีโภาคได้ เพื่อลดการใช้ห่อพลาสติกอีกชั้นหนึ่ง (Han, 2014)

ตัวอย่างหนึ่งของฟิล์มบรีโภาคได้ที่มีการใช้มาแต่โบราณ คือ ฟองเต้าหู้ (yuba) ซึ่งมีการผลิตอย่างแพร่หลายในแถบเอเชียตั้งแต่ศตวรรษที่ 15 (Park et al., 2002; Wu and Bates, 1972) ฟองเต้าหู้สดมีลักษณะที่ยืดหยุ่นได้เนื่องจากมีน้ำที่ทำหน้าที่เป็นพลาสติกไฮเซออร์ อย่างไรก็ตามหากน้ำระเหยออกไป ฟองเต้าหู้จะแห้ง และมีลักษณะที่แข็ง เปราะ และขาดความยืดหยุ่นซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะตัวของฟิล์มไป อีกตัวอย่างหนึ่งของสารเคลือบบรีโภาคได้ที่มีการใช้อย่างแพร่หลาย ได้แก่ การใช้ไข (wax) เคลือบผิวผลไม้ ซึ่งมีการใช้มาตั้งแต่ศตวรรษที่ 12 โดยมักใช้กับผลไม้ตระกูลซิตรีส แอปเปิล และแพร์ (Baldwin, 1994; Park, 2000) นอกจากนี้ยังมีการใช้ลิตพิตเป็นสารเคลือบเพื่อการลดการหดตัวของเนื้อสัตว์และเนยแข็ง ซึ่งมีการปฏิบัติมาตั้งแต่สมัยยุคกลาง (Han, 2014) จะเห็นได้ว่าการประยุกต์ฟิล์มบรีโภาคได้กับผลิตภัณฑ์อาหารนั้นมีการใช้มาอย่างยาวนาน ผลิตภัณฑ์ที่นิยมใช้ร่วมกับฟิล์มบรีโภาคได้ ได้แก่ ผลไม้ ผัก ลูกกวาด และถั่วบางชนิด (Krochta and De Mulder-Johnston, 1997; Petersen et al., 1999) ฟิล์มบรีโภาคได้บางชนิดอาจนิยมใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารที่จำเพาะ เช่น ฟิล์มคอลลาเจนมักใช้ในการขึ้นรูปไส้กรอก ฟิล์มเซลแลกนิยมใช้ในการเคลือบผักและผลไม้ ฟิล์มโปรตีนข้าวโพดมีการนำมาใช้กับผลิตภัณฑ์ลูกกวาดและผลิตภัณฑ์น้ำตาลต่างๆ (Krochta and De Mulder-Johnston, 1997) ฟิล์มเจลาตินนิยมใช้ในการเคลือบยา (Gennadios, 2002; Krochta,

2002) รวมทั้งฟิล์มจากอนุพันธ์เซลลูโลสที่มีการนำมาใช้เพื่อเคลือบผัก ผลไม้ เนื้อสัตว์ ปลา ถั่ว ลูกกวาด และผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ (Nussinovitch, 2003)

พอลิเมอร์ชีวภาพถือเป็นส่วนประกอบหลักอย่างหนึ่งของฟิล์มบิโภาคได้ ตัวอย่างของพอลิเมอร์ชีวภาพที่มีการนำมาใช้ ได้แก่ โปรตีน พอลิแซ็กคาไรด์ และลิพิด ซึ่งสามารถใช้แบบเดี่ยวหรือใช้ร่วมกันก็ได้ โดยสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของพอลิเมอร์ชีวภาพมีอิทธิพลอย่างมากต่อสมบัติของฟิล์มที่ได้ (Sothornvit and Krochta, 2000) โปรตีนหลายชนิดรวมถึงโปรตีนอาหารเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพประเภทหนึ่งที่ยิมนำมาใช้ในการผลิตฟิล์ม เนื่องจากโปรตีนเป็นสารโมเลกุลใหญ่ (macromolecule) ประกอบด้วยกรดอะมิโนและมีโครงสร้างโมเลกุลที่จำเพาะเจาะจงซึ่งสามารถเกิดอันตรกิริยาระหว่างหมู่เคมีต่างๆ ด้วยพันธะโควาเลนต์และอันตรกิริยานีออน-โควาเลนต์ชนิดต่างๆ เกิดเป็นโครงร่างแหของโปรตีนที่มีเสถียรภาพ ลักษณะพิเศษที่สำคัญของโปรตีนเมื่อเปรียบเทียบกับพอลิเมอร์ชีวภาพประเภทอื่น ได้แก่ ความสามารถในการเปลี่ยนแปลงโครงร่าง (conformation) อันเนื่องมาจากการเสียสภาพธรรมชาติของโปรตีน การเปลี่ยนแปลงประจุทางไฟฟ้า สมบัติแอมฟิพาธิก (amphipathic) รวมทั้งความสามารถของโครงสร้างในการถูกตัดแปรได้โดยปัจจัยต่างๆ เช่น ความร้อน ความดัน พีเอช เกลือ สารเคมี รวมทั้งเอนไซม์ ซึ่งทำให้ได้ฟิล์มที่มีสมบัติตามที่ต้องการ โปรตีนอาหารที่ยิมนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตฟิล์มบิโภาคได้มีหลายชนิด ทั้งโปรตีนจากพืช (เช่น ข้าวโพด ถั่วเหลือง เมล็ดฝ้าย กากถั่วเหลือง ข้าวสาลี ถั่วลิสง ข้าว ถั่วพี และข้าวฟ่าง) และโปรตีนจากสัตว์ (เช่น เวย์โปรตีน เคซีน โปรตีนไมโอไฟบริลลาร์ ไข่ขาว เคราติน คอลลาเจนและเจลาติน) (Han, 2014; Krochta, 2002)

2.2 โปรตีนถั่วเหลือง

2.2.1 องค์ประกอบของโปรตีนถั่วเหลือง

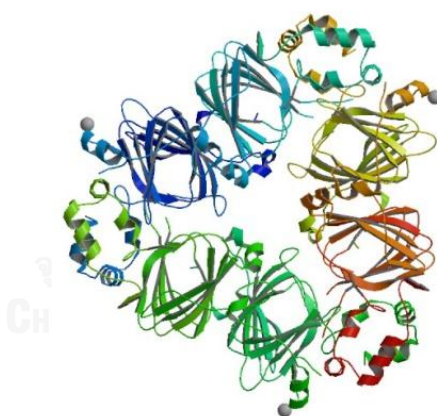
เมล็ดถั่วเหลืองประกอบด้วยโปรตีนประมาณ 40% และไขมันประมาณ 20% โดยน้ำหนักแห้ง โปรตีนถั่วเหลืองประกอบด้วยโปรตีนหลายชนิด ซึ่งสามารถจำแนกได้ตามอัตราการตกตะกอน (sedimentation rate) เป็น 4 ส่วน (fraction) ได้แก่ 2S 7S 11S และ 15S โดยส่วน 2S และ 7S ประกอบด้วยโปรตีนหลายชนิด ในขณะที่ส่วน 11S และ 15S เป็นโปรตีนเพียงชนิดเดียว (Wijeratne, 1993)

ส่วน 2S มีปริมาณประมาณ 22% ของโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดได้ด้วยน้ำ (water extractable soybean proteins) ทั้งหมด มีองค์ประกอบได้แก่ สารยับยั้งทริปซิน (trypsin inhibitor) (น้ำหนักโมเลกุล 8,000-21,500 ดาลตัน) โซโตโครม-ซี (น้ำหนักโมเลกุล 12,000 ดาลตัน) และโปรตีนอื่นที่ยังไม่สามารถระบุชนิดได้ (unidentified proteins)

ส่วน 7S มีปริมาณประมาณ 37% ของโปรตีนถั่วเหลืองที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด ประกอบด้วย ฮีมากลูทีนิน (น้ำหนักโมเลกุล 110,000 ดาลตัน) ไลพอกซีจีเนส (น้ำหนักโมเลกุล 102,000 ดาลตัน) เบต้า-แอมิเลส (น้ำหนักโมเลกุล 61,000 ดาลตัน) และ 7-เอส โกลบูลิน (7S globulin) หรือเบต้า-คอนโกลูซิโนน (น้ำหนักโมเลกุล 180,000-210,000 ดาลตัน) เบต้า-คอนโกลูซิโนนนี้เป็นไกลโคโปรตีนและมีปริมาณประมาณครึ่งหนึ่งของส่วน 7S

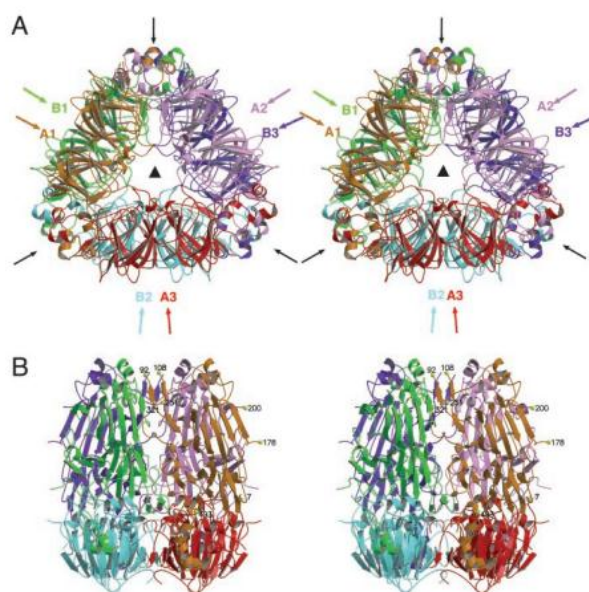
ส่วน 11S มีสัดส่วนประมาณ 31% ของโปรตีนถั่วเหลืองที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด เป็นโปรตีนเพียงชนิดเดียว คือ 11-เอส โกลบูลิน (11S globulin) หรือโกลูซิโนน (น้ำหนักโมเลกุล 350,000 ดาลตัน) ในขณะที่ส่วน 15S มีปริมาณประมาณ 11% ของโปรตีนถั่วเหลืองที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด เป็นโปรตีนเพียงชนิดเดียวเช่นเดียวกัน มีน้ำหนักโมเลกุล 600,000 ดาลตัน

จะเห็นว่าเบต้า-คอนไกลซินินและไกลซินินเป็นโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบหลักของโปรตีนถั่วเหลือง เบต้า-คอนไกลซินินและไกลซินินมีโครงสร้างถึงระดับจตุรภูมิ (quaternary structure) โดยเบต้า-คอนไกลซินินมีโครงสร้างที่ประกอบด้วยหน่วยย่อย (subunit) 3 หน่วย ได้แก่ หน่วยย่อยแอลฟา (67 กิโลดาลตัน) หน่วยย่อยแอลฟาไพรม์ (71 กิโลดาลตัน) และหน่วยย่อยเบต้า (50 กิโลดาลตัน) ส่วนไกลซินินมีโครงสร้างเป็นเฮกซะเมอร์ (hexamer) ที่ประกอบด้วยไตรเมอร์ (trimer) 2 ชุด ในไตรเมอร์แต่ละชุดประกอบด้วยโซ่พอลิเพปไทด์ที่เป็นกรด (acidic polypeptide chain) 3 หน่วย และโซ่พอลิเพปไทด์ที่เป็นเบส (basic polypeptide chain) 3 หน่วย โซ่พอลิเพปไทด์เหล่านี้เกิดอันตรกิริยาระหว่างกันด้วยพันธะไดซัลไฟด์และพันธะไฮโดรเจน รูปที่ 2.1 และ 2.2 แสดงโครงสร้างของเบต้า-คอนไกลซินินและไกลซินินของถั่วเหลือง ตามลำดับ



รูปที่ 2.1 โมเลกุลเบต้า-คอนไกลซินินของถั่วเหลือง ประกอบด้วยหน่วยย่อย 3 หน่วย

ที่มา: Maruyama et al. (2001)



รูปที่ 2.2 โมเลกุลไกลซีนินของถั่วเหลือง โดยโปรโตเมอร์ทั้งหกของโครงสร้างเฮกซาเมอร์ แสดงเป็นสีที่ต่างกัน ได้แก่ สีส้ม (A1) สีชมพู (A2) สีแดง (A3) สีเขียว (B1) สีฟ้าอมเขียว (B2) และสีม่วง (B3) รูป A แสดงมุมมองจากแกนแนวตั้ง (vertical axis) (▲) และรูป B เป็นมุมมองที่ตั้งฉากกับแกนแนวตั้ง
ที่มา: Adachi et al. (2003)

ตัวแปรต่างๆ ในกระบวนการแปรรูป เช่น พีเอช ความแรงไอออน (ionic strength) และอุณหภูมิ มีผลอย่างมากต่อโครงสร้างระดับตติยภูมิ (tertiary structure) และโครงสร้างระดับจตุรภูมิของโปรตีนโกลบูลินของถั่วเหลือง และส่งผลถึงสมบัติเชิงหน้าที่ของโปรตีนเหล่านี้ด้วย Ren et al. (2009) ศึกษาการรวมตัวกันของโปรตีนในนมถั่วเหลืองที่ให้ความร้อน พบว่าโปรตีนรวมตัวกันด้วยอันตรกิริยานีออน-โควาเลนต์ โดยอันตรกิริยาหลัก ได้แก่ อันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก และพันธะไฮโดรเจน

สำหรับโปรตีนถั่วเหลืองที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ได้แก่ โปรตีนถั่วเหลืองสกัด (soy protein isolate) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำแป้งถั่วเหลืองสกัดไขมัน (defatted soybean flour) หรือกากถั่วเหลืองจากการสกัดน้ำมัน (soybean meal) มาละลายน้ำ แล้วปรับให้มีพีเอชอยู่ในช่วง 8.0-8.5 โดยใช้สารละลายต่างเจือจาง จากนั้นให้ความร้อนจนถึงอุณหภูมิประมาณ 50-55 องศาเซลเซียส แยกส่วนที่ไม่ละลายน้ำซึ่งได้แก่ พอลิแซ็กคาไรด์และโปรตีนบางส่วนออก นำส่วนสารละลายมาปรับพีเอชให้อยู่ในช่วงไอโซอิเล็กทริกของโปรตีนถั่วเหลือง (พีเอชประมาณ 4.5) ซึ่งทำให้โปรตีนส่วนใหญ่ตกตะกอน จากนั้นจึงกรองตะกอนออกแล้วล้างด้วยน้ำ หากนำตะกอนที่ได้ไปอบแห้งทันที ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะเรียกว่า isoelectric soy protein isolate ซึ่งมีข้อจำกัดคือละลายน้ำได้ต่ำ แต่หากนำมาปรับพีเอชให้เป็นกลางก่อนอบแห้งจะได้ neutralized soy protein isolate ซึ่งละลายน้ำได้ดีกว่าจึงสะดวกต่อการนำไปใช้งานมากกว่า (Wolf, 1997)

2.2.2 การเกิดเป็นฟิล์มของโปรตีนถั่วเหลือง

ในการเกิดเป็นฟิล์มของโปรตีนถั่วเหลือง จำเป็นต้องทำให้โปรตีนถั่วเหลืองเกิดการเสียสภาพธรรมชาติบางส่วน (partially denatured) เนื่องจากโปรตีนในสภาพธรรมชาติซึ่งอยู่ในภาวะแวดล้อมที่เป็นน้ำ (aqueous environment) จะมีการจัดเรียงตัวของสายพอลิเพปไทด์ในแบบที่หมู่เคมีที่มีสมบัติชอบน้ำ (hydrophilic group) จัดเรียงตัวอยู่ด้านนอกของโครงสร้าง ในขณะที่หมู่เคมีที่มีสมบัติไม่ชอบน้ำ (hydrophobic group) และหมู่ซัลไฟไฮดริลจัดเรียงตัวอยู่ที่ตำแหน่งด้านในของโครงสร้าง เมื่อโปรตีนถั่วเหลืองเสียสภาพธรรมชาติจะเกิดการคลายตัวของสายพอลิเพปไทด์ ทำให้หมู่ที่ไม่ชอบน้ำและหมู่ซัลไฟไฮดริลที่เดิมอยู่ด้านในของโครงสร้างปรากฏออกมา และสามารถเกิดอันตรกิริยาซึ่งจำเป็นต่อเสถียรภาพของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองได้ (Gennadios et al., 1994; Subirade et al., 1998)

ในด้านเทคโนโลยีการผลิตสำหรับฟิล์มโปรตีนในปัจจุบันมีอยู่ 2 รูปแบบ ได้แก่ กระบวนการผลิตแบบเปียก (wet or solvent process) และกระบวนการผลิตแบบแห้ง (dry process) (Garrido et al., 2013; Guerrero and de la Caba, 2010)

สำหรับกระบวนการผลิตแบบเปียก หรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่ากระบวนการขึ้นรูปสารละลายฟิล์ม (solvent film-forming process) คือ การทำให้โปรตีนละลายหรือกระจายตัวในสารละลาย (dissolution or dispersion) ก่อนที่จะนำสารละลายฟิล์มไปขึ้นรูปบนพื้นผิวที่เรียบ จากนั้นจึงทำให้แห้งเพื่อให้ได้เป็นแผ่นฟิล์ม (Guerrero et al., 2013)

ในส่วนกระบวนการผลิตแบบแห้ง เป็นกระบวนการผลิตที่ใช้พื้นฐานของสมบัติการเป็นเทอร์โมพลาสติกของโปรตีนในภาวะที่มีความชื้นต่ำ โดยสมบัติเทอร์โมพลาสติกของโปรตีนสามารถอธิบายได้โดยใช้ทฤษฎีการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (glass transition theory) วัสดุที่มี

อุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature) จะมีสมบัติคล้ายยาง (rubbery) ซึ่งสามารถขึ้นรูปเป็นแบบต่างๆ ได้ เช่น ขึ้นรูปเป็นฟิล์ม และเมื่อนำวัสดุดังกล่าวมาทำให้เย็นลงจนมีอุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว วัสดุนั้นจะมีสถานะคล้ายแก้ว (glassy) ซึ่งมีความแข็งตัว (rigid) มากกว่าจึงสามารถผลิตเป็นฟิล์มที่เสถียรเชิงโครงสร้างได้ กระบวนการผลิตแบบแห่งนี้สามารถใช้เทคโนโลยีที่อาศัยหลักการหลอมเหลว (melt processing technology) ที่มีใช้อยู่ในปัจจุบัน เช่น เอ็กซ์ทรูชัน และการรีด (rolling mill process) เป็นต้น (Cuq, 2002)

อันตรกิริยาทางเคมีที่สามารถเกิดขึ้นระหว่างโมเลกุลโปรตีน ได้แก่ พันธะไดซัลไฟด์ พันธะไฮโดรเจน อันตรกิริยาไฮโดรโฟบิก อันตรกิริยาไอออนิก และแรงแวนเดอร์วาลส์ ซึ่งแม้จะสำคัญต่อเสถียรภาพของโครงสร้างของฟิล์ม แต่โครงสร้างที่เกิดขึ้นจะมีลักษณะที่เปราะ แตกหักง่าย (Mekonnen et al., 2013) เพื่อเพิ่มความยืดหยุ่นของฟิล์ม ในการผลิตฟิล์มโปรตีนโดยทั่วไปจึงมักเติมพลาสติกไซเซอร์ (Gurgel et al., 2011) ซึ่งเป็นการเพิ่มปริมาตรอิสระ (free volume) ทำให้ความสามารถในการเคลื่อนไหวของสายพอลิเมอร์เพิ่มขึ้น พลาสติกไซเซอร์ที่นิยมใช้ในการผลิตฟิล์มโปรตีน ได้แก่ กลีเซอรอล เนื่องจากมีขนาดโมเลกุลที่เล็กและมีสมบัติชอบน้ำที่สามารถทำให้เข้ากับโมเลกุลของโปรตีนได้เป็นอย่างดี (Ortega-Toro et al., 2014) (Zolfi et al., 2014) รายงานว่าฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองที่ประกอบด้วยกลีเซอรอลในปริมาณต่ำกว่า 25% โดยน้ำหนักจะมีความเปราะ แตกหักง่าย และไม่สามารถนำมาทดสอบแรงดึง (tensile test) ได้ อย่างไรก็ตามปริมาณพลาสติกไซเซอร์ที่เติมมีผลต่อสมบัติเชิงกลของฟิล์ม โดย (Guerrero et al., 2014) รายงานว่าฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองมีความต้านทานแรงดึงขาด (tensile strength) ลดลง ในขณะที่มีการยืดตัวถึงจุดขาด (elongation at break) เพิ่มขึ้น เมื่อปริมาณกลีเซอรอลเพิ่มขึ้น

2.3 การปรับปรุงสมบัติความไม่ชอบน้ำของฟิล์ม

ที่ผ่านมาฟิล์มโพรตีนถั่วเหลืองยังมีการนำมาใช้งานไม่มากนัก เนื่องจากข้อจำกัดสำคัญประการหนึ่งคือความสามารถในการต้านทานการซึมผ่านของไอน้ำที่ต่ำซึ่งเป็นผลมาจากสมบัติความชอบน้ำตามธรรมชาติของโพรตีน

สำหรับความพยายามในการปรับปรุงสมบัติความไม่ชอบน้ำของฟิล์มที่ผลิตจากพอลิเมอร์ที่ชอบน้ำ เช่น โพรตีน และคาร์โบไฮเดรต วิธีการที่เป็นที่นิยมมากที่สุดคือการเติมองค์ประกอบที่ไม่ชอบน้ำ เช่น ลิพิด (Avena-Bustillos and Krochta, 1993) เพื่อผลิตเป็นฟิล์มคอมพอสิต อย่างไรก็ตาม ลิพิดที่มีสมบัติต่างกันส่งผลให้ฟิล์มคอมพอสิตที่ได้มีสมบัติที่ต่างกัน ตัวอย่างเช่น (McHugh and Krochta, 1994) ศึกษาผลของชนิดของลิพิดต่อสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ (water vapor permeability) ของฟิล์มเวย์โพรตีน โดยแปรชนิดของลิพิด ได้แก่ ไข 1 ชนิด (ไขผึ้ง) กรดไขมัน 2 ชนิด (กรดพาล์มมิกและกรดไมริสติก) และแพตตีแอลกอฮอล์ 3 ชนิด (สเตียริลแอลกอฮอล์ เฮกซาเดคานอล และเททราเดคานอล) พบว่าฟิล์มเวย์โพรตีนที่เติมไขผึ้งหรือกรดไขมันมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำต่ำกว่าฟิล์มที่เติมแพตตีแอลกอฮอล์อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ผู้วิจัยเสนอว่าสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มอิมัลชันสัมพันธ์กับอุณหภูมิหลอมเหลวของลิพิดที่เป็นองค์ประกอบ โดยลิพิดที่มีอุณหภูมิหลอมเหลวสูงจะมีอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลที่แข็งแรงและมีความสามารถในการละลายที่ต่ำ จึงส่งผลให้ไอน้ำสามารถซึมผ่านได้น้อยกว่า

Fernandez et al. (2006) ศึกษาผลของความเข้มข้นและระดับความไม่อิ่มตัวของกรดไขมัน ต่อสมบัติต้านทานการซึมผ่านของไอน้ำและสมบัติอื่นๆ ของฟิล์มเวียโปรตีน โดยกรดไขมันที่ศึกษา ได้แก่ กรดสเตียริก กรดโอเลอิก และกรดลิโนเลอิก พบว่าฟิล์มที่เติมกรดสเตียริกซึ่งเป็นกรดไขมัน อิ่มตัวมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำต่ำกว่าฟิล์มที่เติมกรดโอเลอิกและกรดลิโนเลอิกซึ่งเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) อย่างไรก็ตามพบว่า การเติมลิพิดส่งผลถึงสมบัติด้านอื่นๆ ของฟิล์ม ด้วย โดยในงานวิจัยดังกล่าวพบว่าฟิล์มที่เติมกรดสเตียริกมีความทนสูงกว่าฟิล์มที่เติมกรดโอเลอิกและ กรดลิโนเลอิก นอกจากนี้ผู้วิจัยยังรายงานว่าฟิล์มที่เติมกรดสเตียริกมีความต้านทานแรงดึงขาดเพิ่มขึ้น ในขณะที่มีการยืดตัวถึงจุดขาดลดลง เมื่อความเข้มข้นของกรดสเตียริกเพิ่มขึ้นในช่วง 0-40%

สำหรับเทคนิคการผลิตฟิล์มคอมพอสิตที่เติมองค์ประกอบที่ไม่ชอบน้ำสามารถแบ่งได้เป็น 2 ประเภทหลัก ได้แก่ การผลิตเป็นฟิล์มสองชั้นหรือหลายชั้น (bilayer or multi-layer film) และการ ผลิตเป็นฟิล์มอิมัลชัน (emulsion film)

ฟิล์มสองชั้นหรือหลายชั้นผลิตโดยใช้เทคนิคการเคลือบ (coating technique) โดยฟิล์มที่ได้ จะเป็นชั้นของลิพิด สลับกับชั้นของเนื้อฟิล์มที่มีฐานเป็น พอลิแซกคาไรด์หรือโปรตีน (polysaccharide- or protein-based) ในขณะที่ฟิล์มอิมัลชัน ลิพิดจะถูกทำให้กระจายตัวอยู่ในเมทริกซ์ของพอลิแซกคาไรด์หรือโปรตีน (Pérez-Gago and Krochta, 2005) ฟิล์มอิมัลชันมีข้อดีเหนือ ฟิล์มสองชั้นหรือหลายชั้นกล่าวคือในการผลิตมีเพียงการขึ้นรูปเพียงหนึ่งชั้นตอนและการทำให้แห้ง เพียงหนึ่งชั้นตอน นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์ฟิล์มที่ได้ยังไม่มีปัญหาเกี่ยวกับการลอกของชั้นฟิล์ม (delamination) อย่างไรก็ตาม ฟิล์มสองชั้นหรือหลายชั้นโดยทั่วไปมักมีประสิทธิภาพในการต้านทาน การซึมผ่านของไอน้ำดีกว่าฟิล์มอิมัลชัน ซึ่งเนื่องมาจากการมีชั้นของลิพิดขวางกั้นอยู่ แต่การผลิตฟิล์ม สองชั้นหรือหลายชั้นมีความยุ่งยากในการขึ้นรูปฟิล์มมากกว่า โดยในกระบวนการผลิตต้องมีขั้นตอน

การขึ้นรูปและขั้นตอนการทำให้แห้งหลายขั้นตอน (Greener and Fennema, 1989; Pérez-Gago and Krochta, 2005)

ตัวอย่างงานวิจัยเกี่ยวกับฟิล์มสองชั้นที่มีชั้นหนึ่งเป็นชั้นของลิติด ได้แก่ งานวิจัยของ Kester and Fennema (1989) ซึ่งศึกษาการปรับปรุงสมบัติความไม่ชอบน้ำของฟิล์มเมทิลเซลลูโลสและฟิล์มไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลสโดยการทำเป็นฟิล์มสองชั้นร่วมกับชั้นของไขมัน พบว่าฟิล์มสองชั้นมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำลดลง 79% เมื่อเทียบกับฟิล์มที่ไม่เคลือบด้วยชั้นของไขมัน

Kristo et al. (2007) ปรับปรุงสมบัติการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์มพอลิแลน-โซเดียมเคซีเนตด้วยไขมัน โดยผลิตเป็นฟิล์มสองชั้นและฟิล์มอิมัลชัน พบว่าฟิล์มสองชั้นมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำลดลง 69 เท่า ในขณะที่ฟิล์มอิมัลชันมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำลดลง 136 เท่า เมื่อเทียบกับฟิล์มพอลิแลน-โซเดียมเคซีเนตที่ไม่เติมไขมัน

Phan The et al. (2008) พัฒนาฟิล์มสองชั้นที่ประกอบด้วยชั้นของอะการ์-แป้งมันสำปะหลังและชั้นของเซลแลก พบว่าฟิล์มสองชั้นที่พัฒนาขึ้นมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำลดลงจากฟิล์มที่ไม่เคลือบด้วยเซลแลก 75-92% ทั้งนี้ขึ้นกับความหนาของชั้นเซลแลก อย่างไรก็ตามพบว่าฟิล์มสองชั้นที่ได้มีคุณภาพด้อยลงในแง่สมบัติเชิงกล กล่าวคือฟิล์มที่ได้มีความเปราะและไม่สม่ำเสมอ ผู้วิจัยจึงทดลองใช้พลาสติกไฮเซอรร่วมด้วย พบว่าการใช้พลาสติกไฮเซอรสามารถช่วยปรับปรุงความยืดหยุ่นของฟิล์ม รวมทั้งช่วยในการยึดติดของชั้นฟิล์มทั้งสองอีกด้วย

สำหรับตัวอย่างงานวิจัยเกี่ยวกับฟิล์มอิมัลชัน ได้แก่ งานวิจัยของ Shellhammer and Krochta (1997) ซึ่งศึกษาการปรับปรุงสมบัติความไม่ชอบน้ำของฟิล์มเวย์โปรตีนโดยการผลิตเป็นฟิล์มอิมัลชันร่วมกับไขแคนเดลิลา (candelilla wax) พบว่าฟิล์มอิมัลชันที่ได้มีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำลดลง 40-50% ผู้วิจัยเสนอว่าสมบัติความไม่ชอบน้ำของฟิล์มมีความสัมพันธ์กับสมบัติความ

หยุ่นเหนียว (viscoelasticity) ของลิวพิดที่เติมลงไป นอกจากนี้ลิวพิดที่มีความหยุ่นเหนียวสูงยังสามารถช่วยป้องกันการแตกหักของฟิล์มที่ความเข้มข้นของลิวพิดสูงๆ ได้

อย่างไรก็ตาม มีบางการศึกษาที่พบว่าการผลิตเป็นฟิล์มอิมัลชันไม่ได้มีผลต่อสมบัติความไม่ชอบน้ำของฟิล์ม เช่น Khwaldia et al. (2004) ศึกษาการผลิตฟิล์มอิมัลชันจากโซเดียมเคซีเนตและไขมันนมปราศจากน้ำ (hard anhydrous milk fat fraction, HAMFF) พบว่าการเติม HAMFF เข้มข้น 10-20% ไม่มีผลต่อสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์ม และเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ HAMFF เป็น 30% ฟิล์มอิมัลชันที่ได้กลับมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำเพิ่มขึ้น ผู้วิจัยได้อธิบายว่าสาเหตุที่เป็นเช่นนี้เกิดจากการที่ลิวพิดและโปรตีนเกิดอันตรกิริยากัน ทำให้เกิดการลดลงของความคดเคี้ยว (tortuosity) ของรูพรุนในเมทริกซ์ของฟิล์ม ไอน้ำจึงสามารถผ่านไปได้ง่ายขึ้น

2.4 พรึไบโอดิก

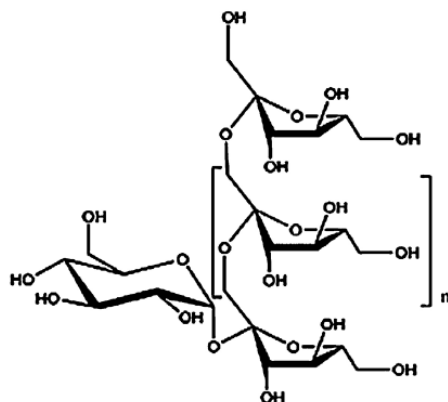
พรึไบโอดิก หมายถึง สารอาหารซึ่งร่างกายมนุษย์ไม่สามารถย่อยได้ จึงไม่ถูกดูดซึมในระบบทางเดินอาหารส่วนบนซึ่งได้แก่กระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก และเมื่อสารดังกล่าวผ่านไปยังลำไส้ใหญ่จะสามารถถูกหมักได้โดยแบคทีเรียที่มีอยู่ตามธรรมชาติในลำไส้ใหญ่ ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดไขมันสายสั้น เช่น แอซิติก โพรพิโอนิก แลคติก และบิวทีริก เป็นต้น (Anadón et al., 2016; Coussement, 1999) พรึไบโอดิกจะกระตุ้นการทำงานและส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์พรึไบโอดิกมีประโยชน์ต่อสุขภาพ (Gibson and Roberfroid, 1995) สารอาหารที่เป็นพรึไบโอดิกส่วนใหญ่ได้แก่คาร์โบไฮเดรตที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำถึงปานกลาง สามารถพบได้ตามธรรมชาติในอาหารหลายชนิด โดยเฉพาะผักผลไม้ เช่น รากชิคอรี (chicory root) แก่นตะวัน (Jerusalem artichoke) กระเทียม หัวหอมใหญ่ หน่อไม้ฝรั่ง กัลฉ่าย และแอปเปิล นอกจากนี้ยังพบในเมล็ดพืชและพืชหัวบางชนิด เช่น ข้าวโอ๊ต ข้าวสาลี ถั่วเหลือง และมันฝรั่ง (Van Loo et al., 1995; Connolly, Touhy and Lovegrove, 2012; Slavin, 2013) ตัวอย่างของพรึไบโอดิกที่มีการผลิตทางการค้าได้แก่ อินูลิน ออลิโกฟรุกโตสหรือฟรุกโตออลิโกแซคคาไรด์ (FOS) กลูโคออลิโกแซคคาไรด์ กาแลกโทออลิโกแซคคาไรด์ (GOS) (Carpiné et al.) แทรนส์กาแลกโทออลิโกแซคคาไรด์ (TOS) มอลโทออลิโกแซคคาไรด์ ไอโซมอลโทออลิโกแซคคาไรด์ (Wang et al.) แมนโนออลิโกแซคคาไรด์ (MOS) ไฮโลออลิโกแซคคาไรด์ (XOS) อะราบิโนไฮโลออลิโกแซคคาไรด์ (AXOS) นิโออะกาโรออลิโกแซคคาไรด์ (NAOS) ออลิโกแซคคาไรด์จากถั่วเหลือง (แรฟฟิโนสและสตาซีโอส) พอลิเด็กซ์โทรส แลคทูโลส และแลคโทซูโครส (Femia et al., 2010; Patel and Goyal, 2012; Samal and Behura, 2015)

สำหรับพรีไบโอติกที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ได้แก่ พรีไบโอติกทางการค้า 3 ชนิด ได้แก่ อินูลิน ออลิโกฟรุคโทส และพอลิเด็คซ์โทรส รวมทั้งสารสกัดที่มีพรีไบโอติก (prebiotic-containing extract) จากแก่นตะวัน และกล้วยน้ำว้า

2.4.1 อินูลินและออลิโกฟรุคโทส

อินูลินเป็นของผสมของพอลิเมอร์ของน้ำตาลฟรุคโทสซึ่งประกอบด้วยพอลิเมอร์เชิงเส้นของฟรุคโทส (linear fructose polymer) และพอลิเมอร์เชิงกิ่งของฟรุคโทส (branched fructose polymer) ซึ่งมีระดับการเกิดพอลิเมอร์ไรเซชัน (degree of polymerization, DP) ในช่วง 2-60 (DP เฉลี่ยเท่ากับ 10) พบตามธรรมชาติในอาหาร โดยพบในพืชมากกว่า 36,000 สปีชีส์ (Carpita et al., 1989; Shoab et al., 2016) โดยอินูลินในพืชทำหน้าที่เป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่เป็นอาหารสะสม (storage polysaccharide) พบในพืชหลายชนิด เช่น ข้าวสาลี กล้วย หัวหอมใหญ่ กระเทียม และรากชิคอร์รี ส่วนออลิโกฟรุคโทสหรือฟรุคโตออลิโกแซ็กคาไรด์เป็นกลุ่มย่อยของอินูลินเป็นออลิโกแซ็กคาไรด์ของน้ำตาลฟรุคโทส ซึ่งมี DP ไม่เกิน 10 การผลิตอินูลินเชิงอุตสาหกรรมส่วนใหญ่สกัดจากรากชิคอร์รี ซึ่งมีอินูลินสูงถึง 15-20% และออลิโกฟรุคโทส 5-10% นอกจากนี้ออลิโกฟรุคโทสยังสามารถสังเคราะห์ได้จากซูโครสด้วย

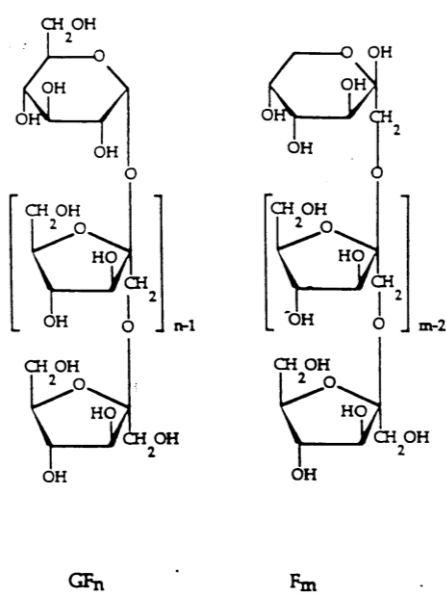
อินูลินมีโครงสร้างเป็นหน่วยย่อยฟรุคโทสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ $\beta(2-1)$ และมักมีกลูโคสเป็นหน่วยปลาย (terminal unit) ซึ่งเชื่อมต่อด้วยพันธะ $\alpha(2-1)$ เหมือนในซูโครส (รูปที่ 2.3) ส่วนที่สำคัญของโครงสร้างอินูลินคือพันธะ $\beta(2-1)$ ซึ่งทำให้อินูลินไม่ถูกย่อยโดยเอนไซม์ในทางเดินอาหารส่วนบนของมนุษย์



รูปที่ 2.3 โครงสร้างของอินูลิน

ที่มา: Shoaib et al. (2016)

ส่วนออลิโกฟรุกโตสเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำอินูลินมาไฮโดรไลส์บางส่วน (partial hydrolysis) ออลิโกฟรุกโตสที่ผลิตโดยการสกัดจากรากชิโครีมีโครงสร้างโมเลกุลเป็นทั้งแบบสายโซ่ฟรุกโตส (fructose chain, F_m) และแบบสายโซ่ฟรุกโตสที่มีหน่วยปลายเป็นกลูโคส (fructose chain with terminal glucose unit, GF_n) ส่วนออลิโกฟรุกโตสที่ผลิตจากการสังเคราะห์ประกอบด้วย GF_n เพียงอย่างเดียว ในทั้ง F_m และ GF_n พันธะที่เชื่อมระหว่างหน่วยย่อยฟรุกโตสเป็นพันธะ $\beta(2-1)$ (รูปที่ 2.4)



รูปที่ 2.4 ออลิโกฟรุกโตส แสดงโครงสร้างแบบสายโซ่ฟรุกโตสที่มีหน่วยปลายเป็นกลูโคส (fructose chain with terminal glucose unit, GF_n) (ซ้าย) และโครงสร้างแบบสายโซ่ฟรุกโตส (fructose chain, F_m) (ขวา)

ที่มา: Roberfroid et al. (1996)

2.4.2 พอลิเด็กซ์โทรส

พอลิเด็กซ์โทรส เป็นพอลิเมอร์ของหน่วยย่อยกลูโคสที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิกชนิด $\alpha(1-6)$ จึงไม่ถูกย่อยโดยเอนไซม์ในทางเดินอาหารส่วนบนของมนุษย์และสามารถถูกหมักได้ โดยแบคทีเรียที่มีอยู่ตามธรรมชาติในลำไส้ใหญ่ ลักษณะทางกายภาพเป็นผงสีขาว ละลายในน้ำได้ง่าย สามารถใช้เป็นสารทดแทนไขมันได้ (Mitchell et al., 2001) มี DP เฉลี่ยเท่ากับ 12 (Judprasong et al.) น้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 162-20,000 (Aidoo et al., 2013) ปัจจุบันมีการนำไปใช้ในอาหารหลากหลายชนิด เช่น ผลิตภัณฑ์ขนมอบ ขนมหวาน และเครื่องดื่ม เพื่อให้เนื้อสัมผัสและสมบัติทางกายภาพที่เหมาะสม (Aidoo et al., 2014)

2.4.3 พรีไบโอติกในกล้วย

กล้วย รวมทั้งกล้วยน้ำว้า *Musa x paradisiaca*, ABB Group เป็นแหล่งของพรีไบโอติกตามธรรมชาติ มีรายงานว่ากล้วยน้ำว้าหนัก 1 กรัม ประกอบด้วยอินูลิน 3-7 มิลลิกรัม (Coussement, 1999; Judprasong et al., 2011) และอลิโกฟรุกโตสประมาณ 1 มิลลิกรัม (Judprasong et al., 2011) ซึ่งสามารถส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกได้

2.4.4 พรีไบโอติกในแก่นตะวัน

แก่นตะวัน *Helianthus tuberosus* เป็นพืชหัว (tuber crop) ถิ่นเดิมพบในแถบทวีปอเมริกาเหนือ (Rogerset al., 1982; Kays and Nottingham, 2007) ประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต 13-18% ซึ่งมีอินูลินมากถึง 80% ซูโครส 10-13% น้ำตาลรีดิทซ์ 3.5-5% โปรตีน 10-17% และแร่ธาตุ 0.8-0.9% แร่ธาตุที่สำคัญ ได้แก่ แคลเซียม ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม เหล็ก สังกะสี และโซเดียม (Németh and Izsáki, 2006) (Moshfegh et al., 1999; Tiengtam et al., 2015) รายงานว่าแก่นตะวันเป็นแหล่งที่ดีของพรีไบโอติก โดยในแก่นตะวัน 1 กิโลกรัม ประกอบด้วยอินูลินมากถึง 160-200 กรัม และอลิโกฟรุกโตสมากถึง 120-150 กรัม

2.5 โพรไบโอติก

โพรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิต เมื่อมีปริมาณที่เหมาะสมจะช่วยส่งเสริมสุขภาพลำไส้ของเจ้าบ้าน (host) โพรไบโอติก ได้แก่ แบคทีเรียในกลุ่ม Lactobacilli และ Bifidobacteria เป็นหลัก จุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่จะใช้สารอาหารที่ไม่ถูกย่อยในกระเพาะและลำไส้เล็กของเจ้าบ้านเป็นสับสเตรท การย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตและโปรตีนจะได้กรดอินทรีย์ เช่น กรดไขมันสายโซ่สั้น เป็นผลิตภัณฑ์ ซึ่งกรดไขมันสายโซ่สั้นนี้จะช่วยกระตุ้นการแบ่งเซลล์ชั้นผิวของลำไส้ใหญ่และมีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค (Anadón et al., 2016)

ปัจจุบันมีการนำโพรไบโอติกมาใช้ในการบำบัดโรคทางเดินอาหารอย่างแพร่หลาย โดยมีรายงานวิจัยทางการแพทย์ยืนยัน อาทิ การใช้ *Lactobacillus rhamnosus* GG ในการบรรเทาและป้องกันอาการท้องร่วงในทารก การใช้ Bifidobacteria และ Lactobacilli ร่วมกันในการรักษาอาการท้องร่วงอย่างรุนแรง รวมทั้งช่วยลดอัตราการเจ็บป่วยด้วยโรคทางเดินอาหารและการเสียชีวิตในทารกที่คลอดก่อนกำหนด และยังสามารถใช้ Bifidobacteria ในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันในร่างกายได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Anadón et al., 2016; Rautio et al., 1999; Reid et al., 2001; Turnbaugh et al., 2007)

นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าโพรไบโอติกสามารถช่วยลดระดับคอเลสเตอรอล ฟอสโฟลิพิด และไตรกลีเซอไรด์ในเลือด โดยโพรไบโอติกจะช่วยย่อยสลายและชะลอการดูดซึมของคอเลสเตอรอลผ่านผนังลำไส้ รวมทั้งยังช่วยในการทำงานของลำไส้ ลดอาการท้องผูกได้ เนื่องจากกรดอินทรีย์ที่ผลิตขึ้นจะกระตุ้นการบีบตัวของลำไส้และช่วยเพิ่มความชื้นของอุจจาระ ทำให้สามารถขับถ่ายได้สะดวกมากขึ้น และยังช่วยเพิ่มการดูดซึมแคลเซียม นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าโพรไบโอติกอาจมีความสามารถผลิตวิตามิน ได้แก่ วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 วิตามินบี 6 วิตามินบี 12 ไบโอดีน กรดนิโคตินิก และ

กรดโพลี (Altamirano-Fortoul et al., 2012; Anadón et al., 2016; Soukoulis et al., 2014a; Soukoulis et al., 2014b)

2.6 งานวิจัยเกี่ยวกับผลิตภัณฑ์ฟิล์มและสารเคลือบบริโภคได้ที่มีสมบัติโพรไบโอติกและ/หรือ โพรไบโอติก

2.6.1 โครงสร้างของฟิล์มและสารเคลือบบริโภคได้ที่มีสมบัติโพรไบโอติกและ/หรือโพรไบโอติก

Soukoulis et al. (2014a) ศึกษาผลของการเติมโพรไบโอติกและโพรไบโอติกต่อสมบัติของฟิล์มเจลาติน โพรไบโอติกที่ใช้ในงานวิจัยนี้คือ *Lactobacillus rhamnosus* GG ส่วนโพรไบโอติกที่ใช้ได้แก่ อินูลิน พอลิเดกซ์โทรส กลูโคอลิโกแซคคาไรด์ และเด็กซ์ทรินจากข้าวสาลี (wheat dextrin) พบว่าการเติมโพรไบโอติกไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างของฟิล์ม ในขณะที่การเติมโพรไบโอติกส่งผลต่อโครงสร้างของฟิล์ม โดยฟิล์มที่ได้จะมีความแน่นเนื้อและมีโครงสร้างที่สม่ำเสมอมากขึ้น โดยไม่พบช่องว่างหรือรูพรุนในเมทริกซ์ของฟิล์มที่เติมโพรไบโอติก ผู้วิจัยเสนอว่าโพรไบโอติกที่เติมลงไปทำหน้าที่ลดช่องว่างระหว่างโครงร่างแหของเจลาตินทำให้เมทริกซ์ของฟิล์มมีความแน่นมากขึ้น

Romano et al. (2014) พัฒนาฟิล์มบริโภคได้จากเมทิลเซลลูโลสที่เติมพรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ และเติมโพรไบโอติกที่เป็นแลคติกแอซิดแบคทีเรีย 2 ชนิด ได้แก่ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CIDCA 333 และ *Lactobacillus plantarum* CIDCA 83114 พบว่าโพรไบโอติกได้ถูกรวมลงไปเมทริกซ์ของฟิล์มอย่างสมบูรณ์และสม่ำเสมอ และการเติมโพรไบโอติกไม่มีผลต่อโครงสร้างของเมทริกซ์ของฟิล์ม

2.6.2 ผลต่อลักษณะของอาหารที่ใช้ร่วมกับฟิล์มหรือสารเคลือบบริโภคน้ำได้

Soukoulis et al. (2014b) ศึกษาการประยุกต์ฟิล์มบริโภคน้ำได้ที่เติมโพรไบโอติกกับขนมปังแถว (pan bread) โดยฟิล์มที่ใช้ในการวิจัยนี้เตรียมจากโซเดียมแอลจีเนตและเวย์โปรตีนเข้มข้น (whey protein concentrate) โพรไบโอติกที่ใช้ คือ *Lactobacillus rhamnosus* GG พบว่าการเคลือบขนมปังแถวด้วยฟิล์มบริโภคน้ำได้ที่เติมโพรไบโอติกไม่ได้มีผลต่อโครงสร้างของเปลือกขนมปัง (crust) โดยปรากฏเป็นชั้นของฟิล์มที่เกิดขึ้นแยกออกจากชั้นของเปลือกขนมปัง

Altamirano-Fortoul et al. (2012) ศึกษาการใช้สารเคลือบโพรไบโอติกต่อคุณภาพของขนมปัง โดยในงานวิจัยดังกล่าวใช้สารเคลือบที่มีไมโครแคปซูลของ *Lactobacillus acidophilus* ซึ่งในการศึกษาดังกล่าวผู้วิจัยแปรเทคนิคการเคลือบที่แตกต่างกัน ได้แก่ การเคลือบแบบหลายชั้น (sandwich treatment) และเตรียมสารละลายสารเคลือบในแบบสารแขวนลอยของไมโครแคปซูลของโพรไบโอติก (dispersion treatment) ในงานวิจัยดังกล่าวกำหนดให้ขนมปังที่ไม่เคลือบด้วยสารเคลือบเป็นตัวอย่างควบคุม ทริตเมนต์ที่ศึกษามี 3 ทริตเมนต์ โดยทริตเมนต์ที่ 1 ได้แก่ ขนมปังที่มีสารเคลือบจากสารละลายแป้ง 5% ที่เติมไมโครแคปซูลของโพรไบโอติกในปริมาณ 1% ทริตเมนต์ที่ 2 ได้แก่ ขนมปังที่มีสารเคลือบจากสารละลายแป้ง 5% ที่เติมไมโครแคปซูลของโพรไบโอติกในปริมาณ 1% และเคลือบทับด้วยสารละลายแป้ง 5% อีกชั้นหนึ่ง และทริตเมนต์ที่ 3 ได้แก่ ขนมปังที่มีสารเคลือบจากสารละลายแป้ง 5% ที่เติมไมโครแคปซูลของโพรไบโอติกในปริมาณ 2% และเคลือบทับด้วยสารละลายแป้ง 5% อีกชั้นหนึ่ง จากการศึกษาพบว่าการเคลือบผิวขนมปังด้วยสารเคลือบส่งผลต่อสมบัติเชิงเคมีกายภาพของขนมปัง ขนมปังที่ได้มีการเพิ่มขึ้นของวอเตอร์แอกทิวิตีและการลดลงของแรงกดที่ทำให้ตัวอย่างเสียหาย (failure force) อย่างไรก็ตามจากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสพบว่าขนมปังที่เคลือบด้วยสารเคลือบได้รับการยอมรับจากผู้ประเมิน

2.6.3 การรอดชีวิตของโพรไบโอติกในฟิล์มและสารเคลือบบริโภคน้ำได้

Soukoulis et al. (2014a) ประเมินการรอดชีวิตของ *Lactobacillus rhamnosus* GG ที่เติมในฟิล์มโซเดียมแอลจีเนต และฟิล์มโซเดียมแอลจีเนต-เวย์โปรตีน พบว่าองค์ประกอบของสารละลายฟิล์มมีความสัมพันธ์กับการรอดชีวิตของโพรไบโอติก โดยพบว่าโพรไบโอติกในฟิล์มโซเดียมแอลจีเนตมีการรอดชีวิตที่ต่ำกว่าโพรไบโอติกในฟิล์มโซเดียมแอลจีเนต-เวย์โปรตีน

Altamirano-Fortoul et al. (2012) ประเมินการรอดชีวิตของ *Lactobacillus acidophilus* ในสารเคลือบขนมปังเมื่อเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าโพรไบโอติกสามารถรอดชีวิตได้เมื่อขนมปังผ่านขั้นตอนการอบและในระหว่างการเก็บรักษา ทั้งในการเตรียมสารเคลือบแบบหลายชั้น และเตรียมสารละลายฟิล์มในแบบสารแขวนลอยของไมโครแคปซูลของโพรไบโอติก

สำหรับผลของการเติมโพรไบโอติกที่มีต่อการรอดชีวิตของโพรไบโอติก Soukoulis et al. (2014a) ประเมินการรอดชีวิตของ *Lactobacillus rhamnosus* GG ในฟิล์มเจลาตินที่เติมโพรไบโอติก (อินูลิน พอลิเด็กซ์โทรส เด็กซ์ทรินจากข้าวสาลี และกลูโคโอลิโกแซ็กคาไรด์) หลังผ่านการทำแห้งที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง พบว่าโพรไบโอติกต่างชนิดมีผลในการปกป้องโพรไบโอติกที่ต่างกัน ตัวอย่างเช่น ฟิล์มที่เติมกลูโคโอลิโกแซ็กคาไรด์และฟิล์มที่เติมพอลิเด็กซ์โทรสมีการอยู่รอดของโพรไบโอติกเมื่อเทียบระหว่างก่อนและหลังอบแห้งเท่ากับ 60.68 และ 26.36% ตามลำดับ

Romano et al. (2014) ติดตามการรอดชีวิตของ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CIDCA 333 และ *Lactobacillus plantarum* CIDCA 83114 ในฟิล์มเมทิลเซลลูโลสที่เติมฟรุกโตโอลิโกแซกคาไรด์ในปริมาณที่ต่างกัน สำหรับ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CIDCA 333 พบว่ามีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญในฟิล์มที่ไม่เติมฟรุกโตโอลิโกแซกคาไรด์ และเมื่อความเข้มข้นของฟรุกโตโอลิโกแซกคาไรด์เพิ่มขึ้น อัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์มีค่ามากขึ้น ในขณะที่ *L. plantarum* CIDCA 83114 ซึ่งมีความทนทานต่อกระบวนการขึ้นรูปฟิล์มมากกว่าเมื่อเทียบกับ *L. delbrueckii* พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของฟรุกโตโอลิโกแซกคาไรด์จนถึง 5% ไม่มีผลต่ออัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์

จากการศึกษาเหล่านี้จะเห็นได้ว่านักวิจัยประสบความสำเร็จในการเติมพรีไบโอติกและโพรไบโอติกลงในฟิล์มและสารเคลือบบริโภคได้ โดยการเติมพรีไบโอติกนอกจากจะช่วยส่งเสริมโครงสร้างของฟิล์มและสารเคลือบให้มีความแน่นมากขึ้นแล้ว ยังช่วยปกป้องจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่เติมลงไป แต่อย่างไรก็ตามภาวะที่ใช้ในระหว่างกระบวนการผลิตฟิล์มและสารเคลือบอาจส่งผลต่อการรอดชีวิตของโพรไบโอติกได้

บทที่ 3

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัตถุดิบ สารเคมี และอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1.1 วัตถุดิบ

โปรตีนถั่วเหลืองสกัด, เกรดอาหาร (ปริมาณโปรตีน 92.0% โดยฐานเปียก) (บริษัท ไมท์ดี อินเทอร์เน็ตเนชั่นแนล จำกัด, กรุงเทพฯ)

กลีเซอรอล, เกรดอาหาร (บริษัท สยาม แอ็บโซลูท เคมีคอล จำกัด, กรุงเทพฯ)

น้ำมันรำข้าว (rice bran oil) ตราคิง, เกรดอาหาร (บริษัท น้ำมันบริโภคไทย จำกัด, กรุงเทพฯ)

ไขรำข้าว (rice bran wax), เกรดอาหาร (Strahl & Pitsch, West Babylon, NY, USA)

อินูลิน (Orafti® GR, Tienen, Belgium) ซื้อจากบริษัทดีพีโอ (ประเทศไทย) จำกัด

อลิโกฟรุกโตส (Orafti® P95, Tienen, Belgium) ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท ดีพีโอ (ประเทศไทย) จำกัด

พอลิเด็กซ์โทรส (Litesse® , Danisco, Surrey, UK) ได้รับความอนุเคราะห์จาก บริษัทราม่าโปรดักชั่น จำกัด

แก่นตะวัน ซื้อจากตลาดสดวัดกลาง, กรุงเทพฯ

กล้วยน้ำว้า ซื้อจากตลาดสดวัดกลาง, กรุงเทพฯ

3.1.2 สารเคมี

Ammonium chloride, AR grade (Ajax Finechem, New South Wales, Australia)

Calcium chloride, AR grade (Ajax Finechem, New South Wales, Australia)

Disodium hydrogen phosphate, AR grade (Ajax Finechem, New South Wales, Australia)

Hydrochloric acid, AR grade (Ajax Finechem, New South Wales, Australia)

Magnesium sulfate, AR grade (Ajax Finechem, New South Wales, Australia)

Potassium dihydrogen phosphate, AR grade (Fisher Scientific, Leicestershire, UK)

Sodium chloride, AR grade (Ajax Finechem, New South Wales, Australia)

Sodium hydroxide, AR grade (Ajax Finechem, New South Wales, Australia)

Thiamine hydrochloric, AR grade (Ajax Finechem, New South Wales, Australia)

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

D (+)-glucose anhydrous (Merck, Darmstadt, Germany)

Lactobacilli de Man Rogosa Sharpe broth (Lactobacilli MRS broth)
(Difco, Detroit, MI, USA)

Lactobacilli MRS agar (Difco, Detroit, MI, USA)

Tryptic soy broth (Difco, Detroit, MI, USA)

Tryptic soy agar (Difco, Detroit, MI, USA)

3.2 อุปกรณ์

Anaerobic jar for microbiology, Anaerocult[®] (Merck, Darmstadt, Germany)

Autoclave, Tomy[®], model SS-320 (Tomy Seiko, Tokyo, Japan)

Biomedical freezer, model MDF-136 (Sanyo Electric Biomedical, Osaka, Japan)

Biosafety Cabinet, model BioUltra 4 (TelStar, Spain)

Contact angle measuring instrument, model OCA15EC (DataPhysics
Instruments, Filderstadt, Germany)

Digital thickness gauge, model 7301 (Mitutoyo, Tokyo, Japan)

Electronic balance, 2-digit, model AG285 (Mettler-Toledo, Greifensee, Zürich,
Switzerland)

Electronic balance, 4-digit, Denver Instruments[®], model SI-234 (Fisher Scientific, Loughborough, UK)

Homogenizer, model X10/25 (Ystral, Ballrechten-Dottingen, Germany)

Incubator, Heraeus[®], model B5042 (Thermo Fisher Scientific, Dreieich, Germany)

Incubator, Binder[®], model BD400 (Binder, Bohemia, NY, USA)

Laboratory hot air oven, model 600 (Mettler, Schwabach, Germany)

Micro pipette, Pipetman[®] (Gilson, Villiers le Bel, France)

Platform shaker, Innova[®], model 2050 (New Brunswick Scientific, Edison, NJ, USA)

Platform shaker, Gyrotory[®], model G-2 (New Brunswick Scientific, Edison, NJ, USA)

Refrigerated centrifuge, model Z36HK (Hermle Labortechnik, Wehingen, Germany)

Shaking water bath, model SW23 (JulaboLabortechnik, Seelbach, Germany)

Ultrasonic bath, Ultrasonik[™], model 136H (Fisher Scientific, Schwerte, Germany)

Universal materials testing machine, Instron[®], model 5565 (Instron, Norwood, MA, USA)

UV/Vis spectrophotometer, model V-530 (Jasco, Easton, MD, USA)

Vortex mixer, Genie 2[®], model G-560E (Scientific Industries, Bohemia, NY, USA)

3.3 เชื้อจุลินทรีย์

Lactobacillus paracasei subsp. *paracasei* (FD-DVS Lpc-37, Chr Hansen, Horsholm, Denmark, freeze dried pellets 5.0 g) ได้รับความอนุเคราะห์จากอาจารย์ ดร. ศานต์ เศรษฐชัยมงคล ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Bifidobacterium animalis subsp. *lactis* (FD-DVS BB-12[®], Chr Hansen, Horsholm, Denmark, freeze dried pellets 5.0 g) ได้รับความอนุเคราะห์จากอาจารย์ ดร. ศานต์ เศรษฐชัยมงคล ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Escherichia coli (073 & 074) ได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

3.4 ขั้นตอนและวิธีการดำเนินงานวิจัย

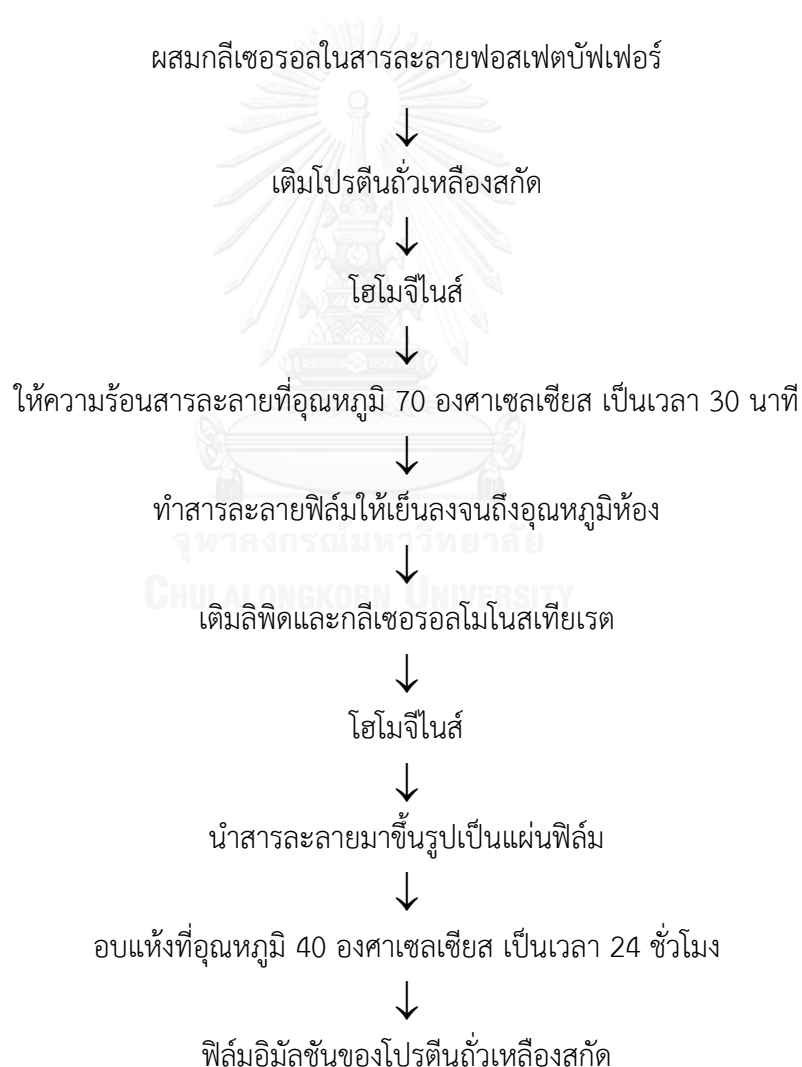
3.4.1 ผลของชนิดและความเข้มข้นของลิพิดต่อสมบัติของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีน

ถั่วเหลืองสกัด

เตรียมฟิล์มอิมัลชันของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและลิพิดโดยดัดแปลงจากวิธีของ Khongkaew et al. (2012) (รูปที่ 3.1) แปรชนิดของลิพิดเป็น 2 ชนิด ได้แก่ น้ำมันรำข้าว และไขรำข้าว และแปรความเข้มข้นของลิพิดเป็น 4 ระดับ ได้แก่ 5, 10, 15 และ 20% โดยน้ำหนักของของแข็ง โดยรวม วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design) ทดลอง 3 ซ้ำ

ในขั้นแรกเตรียมสารละลายโปรตีนถั่วเหลืองสกัดเข้มข้น 5% โดยน้ำหนักในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่มีค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 7.0 กวนผสมด้วยความเร็ว 500 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 5 นาที เพื่อให้โปรตีนถั่วเหลืองสกัดกระจายตัวอย่างสมบูรณ์ เติมกลีเซอรอลปริมาณ 55% โดยน้ำหนักของโปรตีนถั่วเหลืองสกัด (กลีเซอรอลทำหน้าที่เป็นพลาสติกไซเซอร์) นำของผสมที่ได้มากวนผสมด้วยความเร็ว 500 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 10 นาที แล้วจึงนำสารละลายที่ได้มาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้โปรตีนถั่วเหลืองเกิดการเสียสภาพธรรมชาติบางส่วน (partly denatured) หลังจากทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) จึงเติมลิพิดในปริมาณที่กำหนดและเติมกลีเซอรอลโมโนสเตียเรตปริมาณ 10% โดยน้ำหนักของลิพิด (กลีเซอรอลโมโนสเตียเรตทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์) นำสารละลายฟิล์มมาโฮโมจีไนส์โดยใช้ Ystral homogenizer (10/25 series, Ystral, Ballrechten-Dottingen, Germany) กำจัดฟองอากาศโดยแช่บีกเกอร์บรรจุสารละลายฟิล์มในอ่างอัลตราโซนิก Ultrasonik™ (model 136H, Fisher Scientific, Schwerte, Germany) เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำสารละลายฟิล์มที่ได้มาขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์มโดยวิธีหล่อสารละลายฟิล์ม (solution casting) โดยเปิดเต้สารละลายฟิล์มปริมาตร

40 มิลลิลิตร บรรจุลงในพิมพ์อะลูมิเนียมขนาด 190 มิลลิเมตร × 95 มิลลิเมตร ออบฟิล์มให้แห้งโดยใช้
 ตู้อบ (model 600, Memmert, Schwabach, Germany) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา
 24 ชั่วโมง ทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง (25 องศาเซลเซียส) แล้วจึงลอกแผ่นฟิล์มออกจากพิมพ์ นำ
 ตัวอย่างฟิล์มที่ได้มาทำให้สมดุลกับภาวะที่มีความชื้นสัมพัทธ์เท่ากับ 50% เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ก่อน
 นำมาวิเคราะห์สมบัติดังต่อไปนี้เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมลิพิด



รูปที่ 3.1 ขั้นตอนการผลิตฟิล์มอิมัลชันของโพรตีนถั่วเหลืองสกัด

3.4.1.2 ความหนา

ตัดตัวอย่างแผ่นฟิล์มเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 30 มิลลิเมตร × 10 มิลลิเมตร วัดความหนาของแผ่นฟิล์มโดยใช้ digital thickness gauge (model 7301, Mitutoyo, Tokyo, Japan) สุ่มวัดตัวอย่างชั้นละ 15 จุด นับเป็น 1 ซ้ำ

3.4.1.3 สมบัติเชิงกล

วิเคราะห์สมบัติเชิงกลโดยการทดสอบแรงดึง (tensile test) โดยใช้เครื่อง Instron[®] universal materials testing machine (รุ่น 5565, Instron, Norwood, MA, USA) ซึ่งติดตั้งด้วยโหลดเซลล์ (load cell) ขนาด 5 กิโลกรัม ใช้หัววัด pneumatic side-action grips ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 30 มิลลิเมตร × 10 มิลลิเมตร ติดตั้งลงบนส่วนยึดจับ (grip) ทั้งสองด้าน กำหนดระยะห่างของส่วนยึดจับเท่ากับ 30 มิลลิเมตร ดึงตัวอย่างฟิล์มด้วยความเร็ว 5.0 มิลลิเมตร/วินาที จนกระทั่งตัวอย่างขาดออกจากกัน ได้ผลการวัดในรูปของแรงที่ใช้ในการดึงขึ้นตัวอย่างให้ขาดออกจากกัน (หน่วยเป็นกรัม-แรง) และระยะทางที่สามารถดึงขึ้นตัวอย่างให้ยืดออกมาได้มากที่สุด ก่อนที่จะขาดออกจากกัน (หน่วยเป็นมิลลิเมตร) คำนวณความต้านทานแรงดึงขาด (tensile strength, TS) และการยืดตัวถึงจุดขาด (elongation at break, EB) โดยใช้สมการที่ 3.1 และ 3.2 ตามลำดับ วัดตัวอย่างละ 4 ซ้ำ นับเป็น 1 ซ้ำ

$$TS \text{ (MPa)} = [F \times 0.009807 \times 10^{-6}] / [w \times d] \quad (3.1)$$

เมื่อ F คือ แรงที่ใช้ในการดึงตัวอย่างให้ขาด (กรัม-แรง)

w คือ ความกว้างของตัวอย่างฟิล์ม (เมตร)

d คือ ความยาวของตัวอย่างฟิล์มที่อยู่ระหว่างส่วนยึดจับ (เมตร)

$$EB (\%) = [d_f \times 100]/d_i \quad (3.2)$$

เมื่อ d_f คือ ความยาวของตัวอย่างที่ยืดออกมาได้มากที่สุดก่อนที่จะขาดออกจากกัน (มิลลิเมตร)

d_i คือ ความยาวของตัวอย่างฟิล์มที่อยู่ระหว่างส่วนยึดจับก่อนดึง (มิลลิเมตร)

3.4.1.4 ความโปร่งแสง (transparency)

วิเคราะห์ความโปร่งแสงของตัวอย่างฟิล์มโดยตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 10 มิลลิเมตร × 40 มิลลิเมตร ติดตั้งตัวอย่างฟิล์มลงบนผิวด้านในของคิวเวตต์แก้ว (ด้านที่แสงส่องผ่านด้านใดด้านหนึ่ง) แล้วนำไปวัดค่าร้อยละของแสงส่องผ่าน (%transmittance) ด้วย UV/Vis spectrophotometer (รุ่น V-530, Jasco, Easton, MD, USA) ที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร โดยใช้คิวเวตต์เปล่าเป็นแบล็ก และกำหนดให้แบล็กมีร้อยละของแสงส่องผ่านกับ 100

3.4.1.5 สี

วัดค่า L^* , a^* และ b^* ในระบบ CIELAB ด้วยเครื่อง chroma meter (รุ่น CR-400, Konica Minolta Sensing, Osaka, Japan) ภายใต้แหล่งกำเนิดแสง D65 มุมมอง 10 องศา วัดสีของตัวอย่างด้วยวิธีการสุ่มขึ้นละ 4 จุด นับเป็น 1 ซ้ำ คำนวณมุมสี (hue angle) และความเข้มสี (chroma) ตามสมการที่ 3.3 และ 3.4

$$\text{Hue angle } (^\circ) = \arctan (b^*/a^*) \quad (3.3)$$

$$\text{Chroma} = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2} \quad (3.4)$$

3.4.1.6 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ

วิเคราะห์ตามวิธีมาตรฐาน ASTM E96-95 (ASTM, 1999) เตรียมตัวอย่าง โดยตัดแผ่นฟิล์มให้มีขนาด 60 มิลลิเมตร × 60 มิลลิเมตร โดยตัวอย่างฟิล์มที่นำมาใช้ต้องปราศจากรอยขาดหรือรูรั่ว เตรียมขวดทดสอบ (permeation cup) (เส้นผ่านศูนย์กลาง 30 มิลลิเมตร และสูง 90 มิลลิเมตร) ที่ภายในบรรจุซิลิกาที่อบแห้งแล้วประมาณ 20 กรัม นำแผ่นฟิล์มไปติดตั้งบนปากขวด ในลักษณะให้ฟิล์มซึ่งตั้งโดยใช้ยางวงแหวนและพาราฟิล์มพันโดยรอบให้แน่น ซึ่งน้ำหนักขวดที่ซึ่งด้วยแผ่นฟิล์มแล้ว บรรจุขวดที่ติดตั้งฟิล์มแล้วในภาชนะปิดสนิทที่อิมมัวไปด้วยไอน้ำซึ่งเก็บรักษาไว้ที่ อุณหภูมิห้อง ติดตามการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักของขวดทดสอบทุก 2 ชั่วโมง จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ คำนวณสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำโดยใช้สมการที่ 3.5

$$\text{สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ (mg mm/Pa h m}^2\text{)} = W L/A t (P_2-P_1) \quad (3.5)$$

เมื่อ	W	คือ	น้ำหนักที่เปลี่ยนแปลง (mg)
	L	คือ	ความหนาของฟิล์ม (mm)
	A	คือ	พื้นที่หน้าตัดของฟิล์ม (m^2)
	t	คือ	เวลาที่ใช้ในการทดลอง (h)
	(P_2-P_1)	คือ	ความแตกต่างของความดันไอน้ำที่ด้านทั้งสองของฟิล์ม (Pa)

3.4.1.7 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม (contact angle)

วิเคราะห์มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มโดยดัดแปลงจากวิธีของ Tang et al. (2005) โดยใช้ contact angle measuring instrument (รุ่น OCA15CE, Data Physics Instruments, Filderstadt, Germany) เตรียมตัวอย่างฟิล์มโดยตัดให้มีขนาด 20 มิลลิเมตร × 50 มิลลิเมตร แล้วนำแผ่นฟิล์มไปวางบนแท่นสำหรับวางตัวอย่าง หยดน้ำกลั่นปริมาณ 4 ไมโครลิตร ลงบนผิวหน้าของแผ่นฟิล์ม วัดมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มโดยวัดตัวอย่างละ 4 ชิ้น นับเป็น 1 ซ้ำ

3.4.1.8 ความสามารถในการละลายน้ำ (water solubility)

วิเคราะห์ความสามารถในการละลายน้ำของตัวอย่างฟิล์มโดยดัดแปลงจากวิธีของ Perez-gago and Krochta (2001) ตัดตัวอย่างฟิล์มให้มีขนาด 20 มิลลิเมตร × 20 มิลลิเมตร แล้วนำไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (model 600, Memmert, Schwabach, Germany) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้องในโถดูดความชื้นแล้วนำมาชั่งน้ำหนัก บันทึกเป็นน้ำหนักเริ่มต้นของตัวอย่างฟิล์ม จากนั้นบรรจุตัวอย่างฟิล์มที่ชั่งน้ำหนักแล้วลงในหลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร ที่บรรจุน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร นำไปเขย่าอย่างต่อเนื่องด้วยเครื่องเขย่า (model INNOVA 2050, New Brunswick Scientific, Edison, NJ, USA) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อเขย่าตัวอย่างฟิล์มในน้ำกลั่นครบตามเวลาที่กำหนดแล้ว นำตัวอย่างที่ได้มากรองผ่านกระดาษกรองที่อบแห้งแล้ว และชะด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วจึงนำตัวอย่างฟิล์มที่ไม่ละลายพร้อมกับกระดาษกรองไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (model 600, Memmert, Schwabach, Germany) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นลง

จนถึงอุณหภูมิห้องในโถดูดความชื้นแล้วนำมาชั่งน้ำหนัก เมื่อหักน้ำหนักกระดาษกรองออกแล้วได้เป็น น้ำหนักของตัวอย่างฟิล์มที่ไม่ละลาย คำนวณความสามารถในการละลายน้ำโดยใช้สมการที่ 3.6

$$\text{ความสามารถในการละลายน้ำ (\%)} = (W_i - W_f) \times 100/W_i \quad (3.6)$$

เมื่อ W_i คือ น้ำหนักของตัวอย่างฟิล์มเริ่มต้น (กรัม)

W_f คือ น้ำหนักของตัวอย่างฟิล์มที่ไม่ละลาย (กรัม)

3.4.1.9 ลักษณะพื้นผิวและลักษณะภาคตัดขวาง

ศึกษาลักษณะพื้นผิวและลักษณะภาคตัดขวางของตัวอย่างฟิล์มด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (model JSM-6610LV, JEOL, Tokyo, Japan) เตรียมตัวอย่างฟิล์มสำหรับการศึกษาลักษณะพื้นผิวโดยติดเทปกาวสองหน้าแบบบางลงบนแท่งทองเหลืองสำหรับวางตัวอย่างแล้ววางตัวอย่างฟิล์มลงไป และตัดแต่งขอบให้เรียบโดยใช้กรรไกร สำหรับการศึกษาลักษณะภาคตัดขวาง เตรียมตัวอย่างฟิล์มด้วยการแช่แผ่นฟิล์มลงในไนโตรเจนเหลวจนกระทั่งแผ่นฟิล์มแข็งตัวแล้วใช้คีมจับที่ด้านตรงข้ามของแผ่นฟิล์มและหักแผ่นฟิล์ม จากนั้นติดตั้งแผ่นฟิล์มที่หักแล้วลงบนแท่งทองเหลืองบริเวณที่เป็นร่องที่ตั้งฉากด้วยเทปกาวสองหน้าแบบบาง โดยให้ปลายแผ่นฟิล์มด้านที่หักสูงขึ้นจากแท่งทองเหลืองประมาณ 1 มิลลิเมตร นำตัวอย่างไปฉาบด้วยทอง ศึกษาลักษณะพื้นผิวและลักษณะภาคตัดขวางของตัวอย่างฟิล์มโดยใช้กำลังขยาย 750 เท่า

คัดเลือกตัวอย่างฟิล์มที่มีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำต่ำที่สุดมาพัฒนาเป็นฟิล์มบริโภาคได้จากโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมโพรไบโอติกและพรีไบโอติกในขั้นตอนต่อไป

3.4.2 การทดสอบความสามารถการใช้พรีไบโอติกของโพรไบโอติก

จุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ใช้ในการทดลองเป็นจุลินทรีย์ทางการค้า 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Lactobacillus paracasei* subsp. *Paracasei* FD-DVS Lpc-37 และ *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* FD-DVS BB-12[®] พรีไบโอติกที่ศึกษาประกอบด้วยพรีไบโอติกทางการค้า 3 ชนิด ได้แก่ อินูลิน ออลิโกฟรุกโทส และพอลิเด็กซ์โทรส รวมทั้งสารสกัดที่มีพรีไบโอติก (prebiotic-containing extract) จากแก่นตะวัน (Jerusalem artichoke) และกลั้วน้ำว่า ส่วนจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นตัวแทนของจุลินทรีย์ที่อยู่ในระบบทางเดินอาหารเพื่อใช้ในการประเมิน prebiotic activity score ได้แก่ *Escherichia coli* ในรูปแบบของ bacterial cocktail

3.4.2.1 การเตรียมจุลินทรีย์

นำจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่แอคติเวทโดยการเลี้ยงในอาหารเหลวแล้วมาซัดบนอาหาร MRS แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในภาชนะบ่มจุลินทรีย์ชนิดไม่ต้องการออกซิเจน นาน 72 ชั่วโมง ใช้ลูปแตะโคโลนีเดี่ยวส่วนบนเพื่อถ่ายเชื้อมาเพาะเลี้ยงในหลอดอาหารเหลว MRS 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในภาชนะบ่มจุลินทรีย์ชนิดไม่ต้องการออกซิเจน เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ตรวจวัดจำนวนประชากรโดยการวัดค่า optical density (O.D.) ที่ความยาวช่วงคลื่น 600 นาโนเมตร เทียบกับกราฟมาตรฐาน (standard curve) ปรับคัลเจอร์ให้มีปริมาณเซลล์เริ่มต้น $8 \log_{10}$ CFU ต่อมิลลิลิตร สำหรับใช้เป็นกล้าเชื้อเริ่มต้นสำหรับการประเมินความสามารถในการใช้สารพรีไบโอติกและการประเมิน prebiotic activity score

ส่วน *E. coli* ที่ใช้ตั้งแต่สายพันธุ์ นำมา streak ลงบนอาหาร TSA แล้ว บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ใช้ลูปแตะโคโลนีเดี่ยวส่วนบนเพื่อถ่ายเชื้อมาเพาะเลี้ยงใน หลอดอาหารเหลว TSB 5 มิลลิลิตร ให้อากาศโดยการเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง เตรียม cocktail ของ *E. coli* โดยการปิเปตกล้าเชื้อจากทั้งสอง สายพันธุ์ในอัตราส่วน 1:1 ปรับค่าเจอรี่ให้มีปริมาณเซลล์เริ่มต้น $8 \log_{10} \text{CFU}$ ต่อ มิลลิลิตร สำหรับใช้เป็นกล้าเชื้อเริ่มต้นในการประเมิน prebiotic activity score

3.4.2.2 การเตรียมสารสกัดจากพืชตัวอย่าง

สารสกัดหยาบ (crude extract) จากแก่นตะวันและกล้วยน้ำว้า เตรียมโดย นำแก่นตะวันหรือกล้วยน้ำว้ามาหั่นเป็นแผ่นบาง (slice) ให้มีความหนาประมาณ 5 มิลลิเมตร นำไป ลวกโดยใช้ไอน้ำที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำมาสกัดโดยบดผสมกับน้ำ กลั่นที่อุณหภูมิห้องในอัตราส่วนของแก่นตะวันหรือกล้วยน้ำว้าต่อน้ำกลั่นเท่ากับ 1:1 โดยน้ำหนัก กรองเอาส่วนที่ไม่ละลายน้ำออก และนำสารสกัดที่ได้ไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ผงสาร สกัดที่ได้มีปริมาณความชื้นประมาณ 12% โดยน้ำหนักสด

3.2.2.3 การประเมินความสามารถในการใช้สารพรีไบโอติกและ prebiotic

activity score

การประเมินความสามารถในการใช้สารพรีไบโอติกโดยการเตรียมอาหาร MRS ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติมกลูโคส พรีไบโอติกทางการค้า หรือสารสกัดจากพืชที่มีพรีไบโอติก เข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร นึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็น เวลา 15 นาที นำกล้าเชื้อจุลินทรีย์พรีไบโอติกแต่ละชนิดที่เตรียมจากข้อ 3.4.2.1 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มาเพาะเลี้ยงในหลอดอาหารที่เตรียมข้างต้น (โดยปรับให้มีเซลล์เริ่มต้น $6 \log_{10} \text{CFU}$ ต่อ

มิลลิลิตร) ตรวจนับจุลินทรีย์เริ่มต้น แล้วนำหลอดอาหาร MRS มาเพาะเลี้ยงในภาชนะบ่มจุลินทรีย์ ชนิดไม่ต้องการอากาศเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์และคำนวณหาจำนวนที่เพิ่มขึ้น

การประเมิน prebiotic activity score โดยเตรียมอาหาร MRS และ M9 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เต็มกลูโคส พรไบโอติกทางการค้า หรือสารสกัดจากพืชที่มีพรไบโอติกเข้มข้น ร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร นึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) นำกล้าเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกแต่ละชนิด และ cocktail *E. coli* ที่เตรียมจากข้อ 3.4.2.1 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มาเพาะเลี้ยงในหลอดอาหารที่เตรียมข้างต้น (โดยปรับให้มีเซลล์เริ่มต้น $6 \log_{10}$ CFU ต่อมิลลิลิตร) ตรวจนับจุลินทรีย์เริ่มต้น แล้วนำหลอดอาหาร MRS มาเพาะเลี้ยงในภาชนะบ่มจุลินทรีย์ชนิดไม่ต้องการอากาศ และหลอดอาหาร M9 มาเพาะเลี้ยงในบรรยากาศปกติที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจนับจุลินทรีย์ หลังบ่ม 24 ชั่วโมง โดยการวัดค่า O.D หลังจากการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติก และ *E. coli* ที่เจริญในอาหาร MRS และ M9 ที่เติมสารอาหารต่างชนิดที่เวลา 0 และ 24 ชั่วโมงแล้ว ประเมินค่า prebiotic activity score ตามวิธีของ Huebner et al. (2008) โดยเปรียบเทียบจำนวนจุลินทรีย์ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมกลูโคสกับอาหารที่เติมพรไบโอติกทางการค้า และสารสกัดจากพืชที่มีพรไบโอติก คัดเลือกคู่ของโพรไบโอติกและพรไบโอติกทางการค้าที่มีค่า prebiotic activity score สูงที่สุด และคู่ของโพรไบโอติกและสารสกัดจากพืชที่มีค่า prebiotic activity score สูงที่สุดสำหรับใช้ในการพัฒนาฟิล์มบรีโอบคได้จากโปรตีนถั่วเหลืองที่มีสมบัติเป็นซินไบโอติกต่อไป

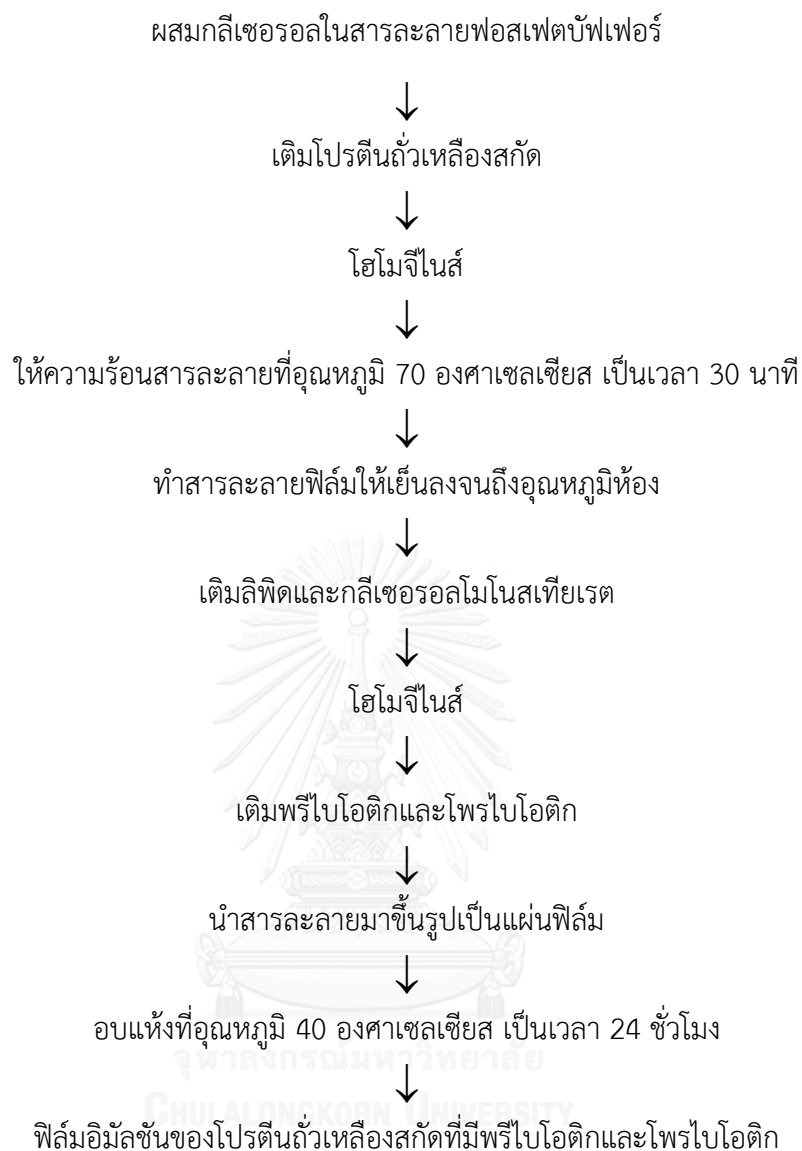
3.4.3 การพัฒนาฟิล์มอิมัลชันบริโภคได้จากโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมโพรไบโอติกและ พรีไบโอติก

ในการทดลองขั้นตอนนี้จะใช้ฟิล์มฐาน (film base) 2 ชนิด คือ ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิพิดและฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมลิพิดที่มีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำต่ำที่สุดซึ่งคัดเลือกมาในหัวข้อ 3.4.1 วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ ทดลอง 3 ซ้ำ เตรียมฟิล์มตามวิธีในหัวข้อ 3.4.1 สำหรับการเติมพรีไบโอติกและโพรไบโอติกจะทำหลังจากการให้ความร้อนแก่สารละลายฟิล์มที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที แล้วลดอุณหภูมิสารละลายลงจนถึงอุณหภูมิห้อง แปรความเข้มข้นของพรีไบโอติกเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 0, 1 และ 2% โดยน้ำหนักของสารละลาย แล้วจึงเติมโพรไบโอติก กำจัดฟองอากาศ แล้วขึ้นรูปเป็นแผ่นฟิล์ม วิเคราะห์สมบัติของฟิล์มและตรวจวัดจำนวนเซลล์โพรไบโอติกที่รอดชีวิต

การเตรียมโพรไบโอติกสำหรับใส่ลงในสารละลายฟิล์ม จะใช้เซลล์สด (fresh culture) โดยการนำจุลินทรีย์ *Lactobacillus paracasei* subsp. *Paracasei* FD-DVS Lpc-37 ที่แอคติเวทโดยการเลี้ยงในอาหารเหลวแล้วมาซัดบนอาหาร MRS แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในภาชนะบ่มจุลินทรีย์ชนิดไม่ต้องการอากาศ นาน 72 ชั่วโมง ใช้ลูปตะเคาะโคลนนี้เพียงส่วนบนเพื่อถ่ายเชื้อมาเพาะเลี้ยงในหลอดอาหารเหลว MRS 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในภาชนะบ่มจุลินทรีย์ชนิดไม่ต้องการอากาศ เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ตรวจวัดจำนวนประชากรโดยการวัดค่า optical density (O.D.) ที่ความยาวช่วงคลื่น 600 นาโนเมตร เทียบกับกราฟมาตรฐาน (standard curve) ปรับค่าเจอร์รี่ให้มีปริมาณเซลล์เริ่มต้น $11 \log_{10} \text{CFU}$ ต่อ มิลลิลิตร จากนั้นนำเซลล์ไปล้างด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 7.0) แล้วจึงใส่ลงในสารละลายฟิล์ม

สำหรับการนับจำนวนโพรไบโอติกที่รอดชีวิตในแผ่นฟิล์มดัดแปลงจากวิธีของ Soukoulis et al. (2014a) โดยละลายตัวอย่างฟิล์มน้ำหนัก 1 กรัม ในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (ค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 7.0) ปริมาตร 9 มิลลิลิตร นำไปกวนผสมที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมงเพื่อให้ฟิล์มละลายอย่างสมบูรณ์ แล้วจึงเจือจางด้วยวิธี serial dilution โดยใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ จากนั้นเพาะเชื้อด้วยอาหารแข็ง MRS บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ภายใต้ภาวะไม่มีอากาศ จากนั้นนับจำนวนจุลินทรีย์เพื่อนำมาคำนวณหาปริมาณโพรไบโอติกที่รอดชีวิต ทำการทดลอง 3 ซ้ำ





รูปที่ 3.2 ขั้นตอนการผลิตฟิล์มอิมัลชันของโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่มีพรีไบโอติกและโพรไบโอติก

3.4.4 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้ analysis of variance (ANOVA) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้ Duncan's new multiple range test

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลของชนิดและความเข้มข้นของลิตติดต่อสมบัติของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัด

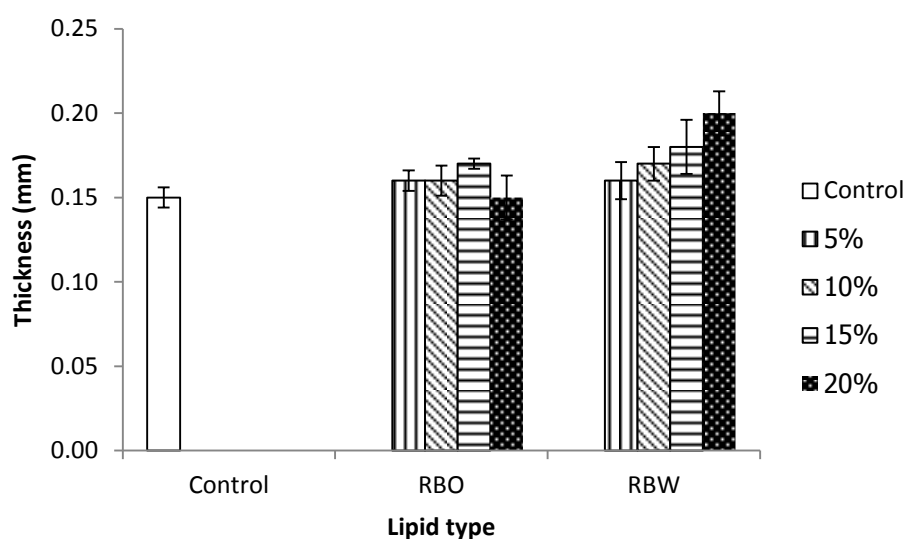
4.1.1 ความหนา

ความหนาของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดแสดงในรูปที่ 4.1 (ตารางที่ ค.

1) พบว่าฟิล์มที่เติมลิตติดมีความหนามากกว่าตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมลิตติด โดยฟิล์มที่เติมลิตติดมีความหนาอยู่ในช่วง 0.150-0.200 มิลลิเมตร ในขณะที่ตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมลิตติดมีความหนา 0.150 มิลลิเมตร เมื่อพิจารณาแยกตามประเภทของลิตติด พบว่าฟิล์มที่เติมไขมันรำข้าวมีความหนาเฉลี่ยสูงกว่าฟิล์มที่เติมน้ำมันรำข้าว ปริมาณไขมันรำข้าวที่มากขึ้นส่งผลให้ฟิล์มที่ได้มีความหนามากขึ้นตามไปด้วย ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับรายงานของ Shi et al. (2016) ที่พบว่าความหนาของฟิล์มโคโคซานแปรผันตามความเข้มข้นของน้ำมันข้าวโพดที่เพิ่มขึ้นในช่วง 0-50% ของน้ำหนักของแข็ง ในอีกงานวิจัยหนึ่ง Han et al. (2006) ศึกษาผลของการเติมไขมัน (0-40% โดยน้ำหนัก) ต่อสมบัติทางกายภาพของฟิล์มอิมัลชันบริโภคได้จากแป้งถั่วพีและไข่ผึ้ง พบว่าฟิล์มที่ได้มีความหนามากขึ้นเมื่อปริมาณไขมันเพิ่มขึ้น

Cuq et al. (1997) และ Mahmoud and Savello (1992) เสนอว่าปริมาณของแข็งและภาวะที่ใช้ในการผลิตฟิล์มมีผลต่อความหนาของฟิล์ม อย่างไรก็ตาม สำหรับตัวอย่างที่เติมน้ำมันรำข้าว พบว่าปริมาณของน้ำมันรำข้าวที่เติมลงไปไม่มีผลต่อความหนาของฟิล์มที่ได้ ($p>0.05$) การที่การเติมไขมันรำข้าวมีผลต่อความหนา ในขณะที่การเติมน้ำมันรำข้าวไม่มีผลต่อความหนาของฟิล์มอาจเนื่องมาจากสถานะที่ต่างกัน ณ อุณหภูมิที่ใช้ในการผลิตฟิล์ม (อบแห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส) ซึ่งน้ำมันรำข้าวที่มีสถานะเป็นของเหลวสามารถแทรกเข้าไปในเมทริกซ์ของฟิล์มได้ดีจึงไม่มี

ผลต่อความหนาของฟิล์มอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ไซรับข้าวมีจุดหลอมเหลวที่ประมาณ 78 องศาเซลเซียส (Dassanayake et al., 2009) ทำให้มีสถานะเป็นของแข็งที่อุณหภูมิในการผลิตฟิล์มจึงรวมตัวเข้าไปในเมทริกซ์ของฟิล์มได้ไม่ดีเท่าน้ำมันรำข้าวและอาจเป็นสาเหตุให้มีผลต่อความหนาของฟิล์ม สอดคล้องกับผลของการศึกษาลักษณะพื้นผิวและภาคตัดขวางที่จะกล่าวถึงต่อไปในหัวข้อ 4.1.8 ก่อนหน้านี้ Hopkins et al. (2015) ศึกษาผลของการเติมน้ำมันเมล็ดป่าน (flaxseed) ต่อสมบัติของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดและรายงานว่าความเข้มข้นของน้ำมันเมล็ดป่านที่เติมลงไปไม่มีผลต่อความหนาของฟิล์มอิมัลชันที่ได้ ส่วน Han et al. (2006) ซึ่งศึกษาผลของการเติมไขมันในฟิล์มสตาร์ชจากแคนาดาเดียนเยลโลฟิลด์พี (Canadian yellow field pea) พบว่าเมื่อปริมาณไขมันเพิ่มขึ้น ฟิล์มที่ได้มีความหนาเพิ่มขึ้น

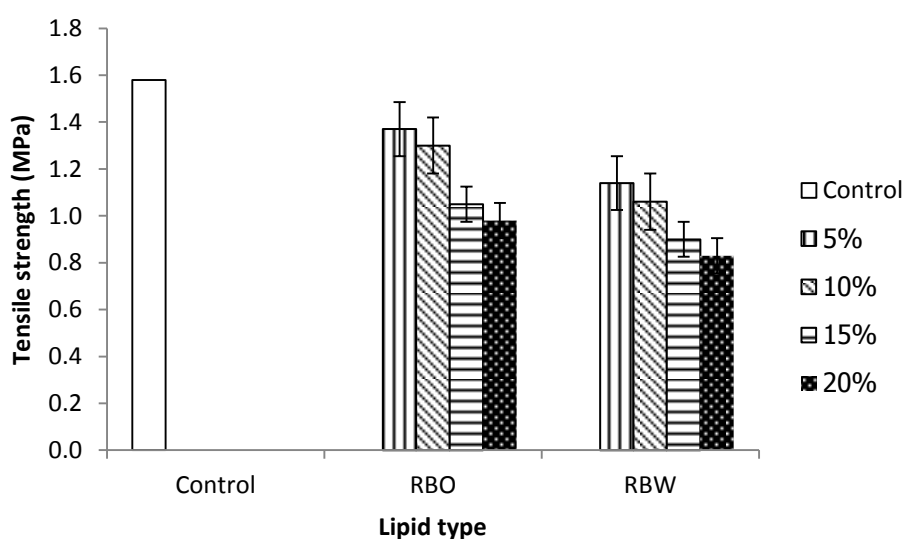


รูปที่ 4.1 ความหนาของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) หรือไซรับข้าว (RBW) ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มที่ไม่เติมลิพิด

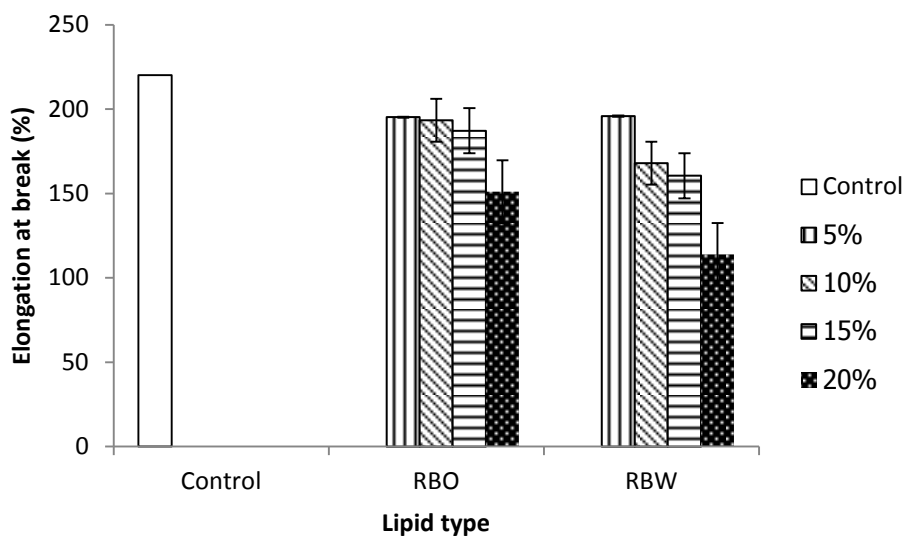
4.1.2 สมบัติเชิงกล

สมบัติเชิงกลถือเป็นอีกปัจจัยที่สำคัญต่อการพิจารณานำฟิล์มไปใช้งาน ซึ่งบ่งบอกถึงความสามารถในการรักษาความคงตัวของฟิล์มทั้งในระหว่างการทำหุ้มผลิตภัณฑ์ การเก็บรักษา และการขนส่ง ความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดของตัวอย่างฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดแสดงดังรูปที่ 4.2 และ 4.3 (ตารางที่ ค.2 และ ค.3) ตามลำดับ พบว่าฟิล์มที่เติมลิปิดมีความต้านทานแรงดึงขาดอยู่ในช่วง 0.83-1.37 เมกะพาสคาล และการยืดตัวถึงจุดขาดอยู่ในช่วง 113.98-195.83% ตามลำดับ ในขณะที่ตัวอย่างควบคุมซึ่งไม่เติมลิปิดมีความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดเท่ากับ 1.58 เมกะพาสคาล และ 220.12% ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าทั้งความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดมีค่าต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม โดยเมื่อความเข้มข้นของลิปิดเพิ่มขึ้น ฟิล์มที่ได้มีความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากลิปิดที่เติมลงมีผลขัดขวางการเกิดอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลโปรตีน ทำให้โครงสร้างฟิล์มที่ได้มีความแข็งแรงและความยืดหยุ่นลดลง ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Valenzuela et al. (2013) ที่พบว่าฟิล์มอิมัลชันจากโคโคซานและน้ำมันดอกทานตะวันมีความต้านทานแรงดึงขาดลดลงเมื่อความเข้มข้นของน้ำมันดอกทานตะวันเพิ่มขึ้นในช่วง 2.9-34.7% ในทำนองเดียวกัน Han et al. (2006) ศึกษาผลของการเติมไขมันต่อสมบัติของฟิล์มสตาร์ชจากแคนาเดียนเยลโลฟิลด์พีและรายงานว่ามีผลให้ความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อความเข้มข้นของไขมันเพิ่มขึ้นจาก 0 เป็น 40%

อย่างไรก็ตาม มีงานวิจัยบางชิ้นที่รายงานผลที่ขัดแย้งกับงานวิจัยนี้ เช่น Fernandez et al. (2006) ศึกษาผลของความเข้มข้นของกรดสเตียริกต่อสมบัติเชิงกลของฟิล์มเวียโปรตีนและพบว่าเมื่อความเข้มข้นของกรดสเตียริกเพิ่มขึ้นในช่วง 0-40% ฟิล์มที่ได้มีความต้านทานแรงดึงขาดเพิ่มขึ้น ในขณะที่การยืดตัวถึงจุดขาดมีค่าลดลง ในขณะที่ Ataréz et al. (2010) ศึกษาผลของการเติมน้ำมันอบเชยต่อสมบัติของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลือง พบว่าเมื่อความเข้มข้นของน้ำมันอบเชยเพิ่มขึ้น ฟิล์มที่ได้มีความยืดหยุ่นมากขึ้น ซึ่งในกรณีนี้ผู้วิจัยเสนอน้ำมันอาจส่งผลให้โปรตีนบางชนิดมีการจัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบมากยิ่งขึ้น ด้วยเหตุนี้จึงมีความเป็นไปได้ว่าอาจมีปัจจัยหลายประการที่ส่งผลต่อสมบัติเชิงกลของฟิล์มอิมัลชัน เช่น สมบัติของวัตถุดิบ ความเข้มข้นของลิพิดที่เติมลงไป รวมทั้งกระบวนการผลิตฟิล์ม



รูปที่ 4.2 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) หรือไขรำข้าว (RBW) ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มที่ไม่เติมลิพิด



รูปที่ 4.3 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) หรือไขรำข้าว (RBW) ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มที่ไม่เติมลิพิด

เมื่อเปรียบเทียบการเติมลิพิดต่างชนิด โดยทั่วไปพบว่าที่ความเข้มข้นของลิพิดเท่ากัน ฟิล์มที่เติมไขรำข้าวมีความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดต่ำกว่าฟิล์มที่เติมน้ำมันรำข้าว (รูปที่ 4.2 และ 4.3) นลินทิพย์ คงแก้ว (2554) เสนอว่าลิพิดที่มีความเป็นของแข็งมากกว่ามีการกระจายตัวที่ไม่สม่ำเสมอในอิมัลชันและอาจรวมตัวกันเป็นอนุภาคลิพิดที่มีขนาดใหญ่ ทำให้เมทริกซ์ของฟิล์มอิมัลชันไม่เป็นเนื้อเดียวกัน (inhomogeneous) ซึ่งตำแหน่งที่มีอนุภาคลิพิดขนาดใหญ่นี้อาจเป็นจุดอ่อน (weak spot) ที่ทำให้ฟิล์มเกิดการฉีกขาดได้ง่ายเมื่อถูกดึง Fernandez et al. (2006) ศึกษาผลของระดับความไม่อิ่มตัวของกรดไขมันต่อสมบัติของฟิล์มเวย์โปรตีน ลิพิดที่ศึกษาได้แก่ กรดสเตียริก กรดโอเลอิก และกรดลิโนเลอิก รายงานว่าฟิล์มที่เติมกรดสเตียริกซึ่งเป็นกรดไขมันอิ่มตัวและมีความเป็นของแข็งสูงกว่ามีความยืดหยุ่นต่ำกว่าฟิล์มที่เติมกรดโอเลอิกและกรดลิโนเลอิกซึ่งเป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

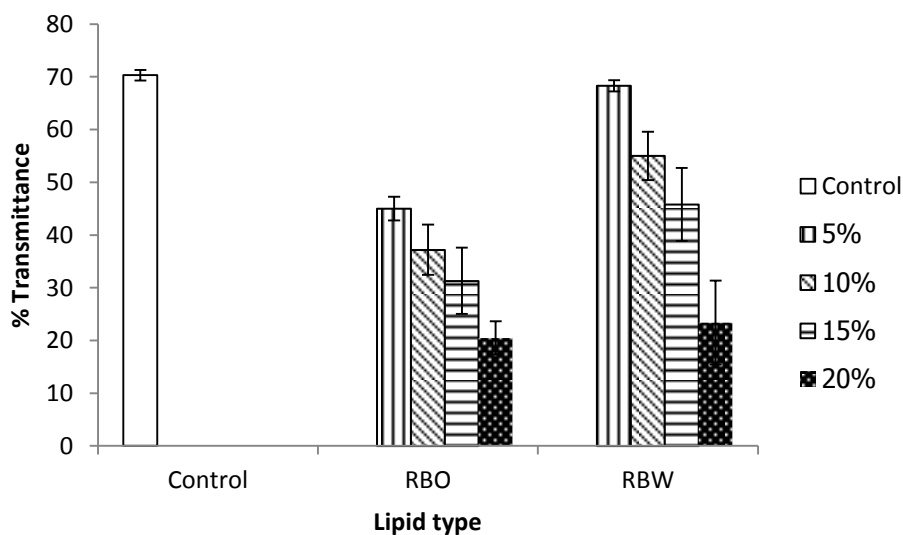
4.1.3 ความโปร่งแสง

รูปที่ 4.4 (ตารางที่ ค.4) แสดงความโปร่งแสงของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลือง สกัดในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน พบว่าฟิล์มที่เติมลิพิดมีความโปร่งแสงต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมซึ่งไม่เติมลิพิดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยฟิล์มที่เติมลิพิดมีค่าร้อยละของแสงส่องผ่านอยู่ในช่วง 20.5-68.3 ในขณะที่ตัวอย่างควบคุมมีค่าร้อยละของแสงส่องผ่านเท่ากับ 70.3 ความขุ่นของอิมัลชันเกิดจากความแตกต่างของดัชนีหักเหของแสง (refractive index) ของวัสดุที่ต่างกัน (Morse, 1936) ในกรณีนี้ได้แก่เม็ดลิพิด (lipid droplet) ซึ่งเป็นวัสดุกระจาย (dispersed phase) และเอเควียสมเทริกซ์ (aqueous matrix) ของโปรตีนและพลาสติไซเซอร์ซึ่งเป็นวัสดุต่อเนื่อง (continuous phase) เมื่อความเข้มข้นของไขมันหรือน้ำมันไขมันเพิ่มขึ้น ความโปร่งแสงของฟิล์มอิมัลชันมีค่าลดลง ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Limpisophon et al. (2010) ซึ่งศึกษาสมบัติของฟิล์มอิมัลชันจากเจลาตินของหนังฉลามสีน้ำเงิน (blue shark) โดยแปรความเข้มข้นของลิพิด (กรดสเตียริก และกรดโอเลอิก) ในช่วง 0-100% ของปริมาณโปรตีน พบว่าเมื่อความเข้มข้นของลิพิดเพิ่มขึ้น ความโปร่งแสงของฟิล์มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ในทำนองเดียวกัน Shi et al. (2016) รายงานว่าเมื่อความเข้มข้นของไขมันข้าวโพดเพิ่มขึ้นในช่วง 0-50% ของน้ำหนักของแข็ง ความโปร่งแสงของฟิล์มอิมัลชันจากโคโตซานมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

เมื่อพิจารณาผลของชนิดลิพิดที่มีต่อความโปร่งแสง พบว่าฟิล์มที่เติมน้ำมันรำข้าวมีความโปร่งแสงต่ำกว่าฟิล์มที่เติมไขมันที่ความเข้มข้นเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากน้ำมันรำข้าวที่มีสถานะเป็นของเหลวจึงเกิดเป็นวัสดุที่กระจายตัวอย่างสม่ำเสมอทั่วเมทริกซ์ของฟิล์ม ในขณะที่ไขมันที่มีสถานะเป็นของแข็งที่อุณหภูมิในการผลิตฟิล์มจึงกระจายตัวในเมทริกซ์ของฟิล์มได้ไม่ดีเท่าไขมันรำข้าว ซึ่งทำให้มีผลต่อความขุ่นของฟิล์มอิมัลชันน้อยกว่าน้ำมันรำข้าว

ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาลักษณะพื้นผิวและภาคตัดขวางของตัวอย่างฟิล์มที่จะกล่าวถึงต่อไปใน

หัวข้อ 4.1.8



รูปที่ 4.4 ความโปร่งแสง (แสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน) ของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) หรือไข่รำข้าว (RBW) ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มที่ไม่เติมลิพิด

4.1.4 ค่าสี

ค่าสีของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่วัดในระบบ CIELAB แสดงดังตาราง

ที่ 4.1 พบว่าการเติมลิพิดทำให้ค่า L^* ของตัวอย่างฟิล์มมีแนวโน้มลดลง ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการลดลงของ L^* อาจเป็นความหนาของฟิล์มที่เพิ่มขึ้นเมื่อเติมลิพิดหรือสมบัติด้านสีตามธรรมชาติของลิพิดที่เติมลงไป ในขณะเดียวกันพบว่า $+a^*$ (สีแดง) และ $+b^*$ (สีเหลือง) มีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของลิพิดเพิ่มขึ้น ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับรายงานของ Hopkins et al. (2015) ที่พบว่าการเติมน้ำมันเมล็ดป่านในฟิล์มโปรตีนถั่วเหลือง ทำให้ฟิล์มอิมัลชันที่ได้มีค่า Hunter L ลดลง ในขณะที่ค่า Hunter a และ b มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของน้ำมันเมล็ดป่านเพิ่มขึ้น สำหรับผลของลิพิดต่างชนิดกัน ใน

งานวิจัยนี้โดยทั่วไปพบว่าตัวอย่างฟิล์มที่เติมน้ำมันรำข้าวมีค่า $+a^*$ และ $+b^*$ สูงกว่าตัวอย่างฟิล์มที่เติมไขมันที่ความเข้มข้นเท่ากัน

ตารางที่ 4.1 ค่าสีของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) หรือไขมันรำข้าว (RBW) ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มที่ไม่เติมลิปิต

ตัวอย่าง	ค่าสี			มุมสี (องศา)	ความเข้มสี
	L^*	a^*	b^*		
Control	85.8±0.63 ^a	-0.74±0.23 ^d	5.21±0.14 ^d	85.56±1.51 ^c	9.59±0.09 ^d
5%RBO	83.51±0.97 ^a	0.32±0.18 ^c	12.87±0.43 ^b	87.77±23.81 ^b	9.81±1.50 ^d
10%RBO	83.05±1.04 ^b	0.45±0.19 ^c	13.54±0.05 ^{ab}	87.66±40.83 ^b	12.42±0.13 ^c
15%RBO	82.11±0.69 ^b	1.45±0.10 ^a	14.93±1.11 ^a	87.10±39.31 ^b	12.95±0.07 ^c
20%RBO	80.2±1.40 ^c	1.53±0.10 ^a	14.51±0.96 ^a	87.78±73.84 ^b	14.52±0.13 ^b
5%RBW	85.37±0.64 ^a	0.34±0.12 ^c	9.58±0.08 ^c	88.99±69.08 ^a	12.52±0.25 ^c
10%RBW	82.95±0.68 ^b	0.52±0.07 ^b	12.94±1.53 ^b	88.78±27.99 ^a	12.54±0.29 ^c
15%RBW	82.89±1.08 ^b	0.63±0.11 ^b	12.40±1.68 ^b	83.32±33.81 ^d	14.50±0.29 ^b
20%RBW	81.84±1.21 ^c	0.67±0.12 ^b	14.51±2.53 ^a	83.94±44.88 ^d	17.75±0.15 ^a

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

มุมสีของตัวอย่างฟิล์มทั้งตัวอย่างควบคุมและตัวอย่างที่เติมลิปิตมีค่าอยู่ช่วง 83-88 องศา ซึ่งเป็นค่ามุมของสีเหลือง (McGuire, 1992) ซึ่งทั้งโปรตีนถั่วเหลืองสกัดเองรวมทั้งน้ำมันรำข้าวและไขมันรำข้าวมีสีเหลือง มุมสีของทุกตัวอย่างจึงมีค่าอยู่ในช่วงเดียวกัน ในด้านความเข้มสี โดยทั่วไปพบว่าตัวอย่างที่เติมน้ำมันรำข้าวหรือไขมันรำข้าวมีความเข้มสีสูงกว่าตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และความเข้มสีมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อความเข้มข้นของลิปิตเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากการเพิ่มปริมาณขององค์ประกอบที่มีสี (น้ำมันรำข้าวหรือไขมันรำข้าว)

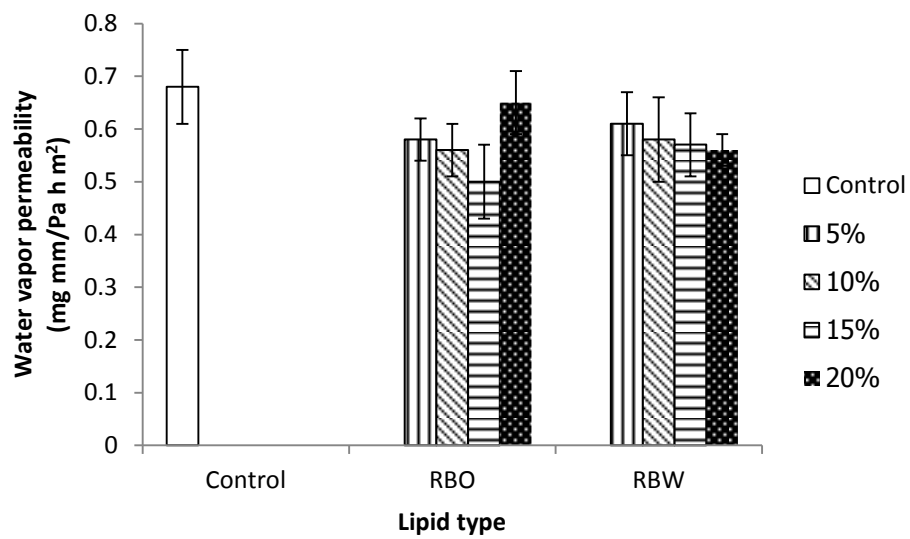
4.1.5 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ

สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดแสดงดังรูปที่ 4.5 (ตารางที่ ค.5) พบว่าฟิล์มที่เติมน้ำมันรำข้าวหรือไซราข้าวมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมซึ่งไม่เติมลิพิด โดยตัวอย่างควบคุมมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำเท่ากับ $0.68 \text{ mg mm/Pa h m}^2$ ในขณะที่ฟิล์มที่เติมลิพิดมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำอยู่ในช่วง $0.50-0.65 \text{ mg mm/Pa h m}^2$ โดยทั่วไปสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มอิมัลชันมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของลิพิดเพิ่มขึ้น ยกเว้นฟิล์มที่เติมน้ำมันรำข้าวเข้มข้น 20% ที่มีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำเท่ากับ $0.65 \text{ mg mm/Pa h m}^2$ ซึ่งสูงกว่าฟิล์มที่เติมน้ำมันรำข้าวเข้มข้น 5, 10 และ 15% ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากการเติมลิพิดในระดับความเข้มข้นสูง อาจมีผลขัดขวางการเกิดอันตรกิริยาระหว่างโปรตีน ทำให้ความสม่ำเสมอของเมทริกซ์ของฟิล์มลดลง ไอน้ำจึงสามารถซึมผ่านได้มากขึ้น Shi et al. (2016) ศึกษาผลของการเติมน้ำมันข้าวโพดต่อสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มโคโตซาน โดยแปรความเข้มข้นของน้ำมันข้าวโพดในช่วง 0-50% โดยน้ำหนักของโคโตซาน พบว่าฟิล์มที่เติมน้ำมันข้าวโพดเข้มข้น 10% มีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำต่ำที่สุด อย่างไรก็ตามที่ความเข้มข้นของน้ำมันข้าวโพดสูงกว่า 10% ฟิล์มที่ได้กลับมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำเพิ่มขึ้น

สำหรับผลของชนิดของลิพิด โดยทั่วไปพบว่าฟิล์มที่เติมน้ำมันรำข้าวมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำต่ำกว่าฟิล์มที่เติมไซราข้าวที่ความเข้มข้นเท่ากัน ยกเว้นฟิล์มที่เติมน้ำมันรำข้าว 20% ซึ่งมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำสูงกว่าฟิล์มอิมัลชันตัวอย่างอื่นๆ ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากไซราข้าวมีความเป็นของแข็งมากกว่าน้ำมันรำข้าว ทำให้มีการกระจายตัวที่ไม่สม่ำเสมอในอิมัลชัน เป็นผลให้เมทริกซ์ของฟิล์มอิมัลชันไม่เป็นเนื้อเดียวกัน ไอน้ำอาจสามารถซึมผ่านบริเวณที่ไม่มีลิพิดเป็นตัว

ขวางกันได้ ซึ่งสอดคล้องกับผลของการศึกษาลักษณะพื้นผิวและภาคตัดขวางที่จะกล่าวถึงต่อไปใน

หัวข้อ 4.1.8



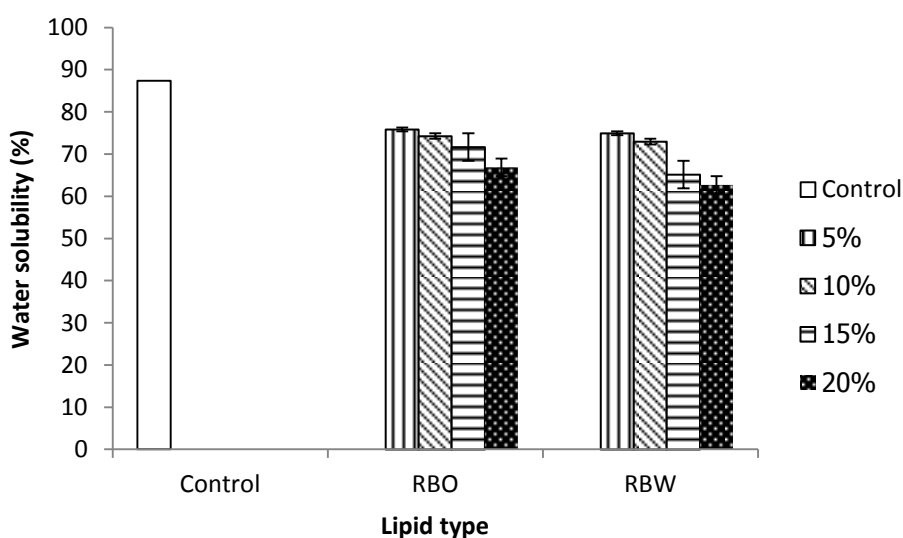
รูปที่ 4.5 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมน้ำมันรำข้าว

(RBO) หรือไขรำข้าว (RBW) ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มที่ไม่เติมลิพิด

CHULALONGKORN UNIVERSITY

4.1.6 ความสามารถในการละลายน้ำ

ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดแสดงดังรูปที่ 4.6 (ตารางที่ ค.6) จากงานวิจัยนี้พบว่าความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มอิมัลชันมีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นของลิพิดเพิ่มขึ้น แม้ว่าความสามารถในการละลายน้ำของตัวอย่างฟิล์มที่เติมน้ำมันรำข้าว 5 และ 10% และตัวอย่างฟิล์มที่เติมไซรัข้าว 5% ไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) (ตารางที่ ค.6) โดยฟิล์มที่เติมลิพิดมีความสามารถในการละลายน้ำอยู่ในช่วง 75.83-62.72 % ในขณะที่ตัวอย่างควบคุมซึ่งไม่เติมลิพิดมีความสามารถในการละลายน้ำเท่ากับ 87.36% อย่างไรก็ตามพบว่าชนิดของลิพิดไม่มีผลต่อความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มอิมัลชัน โดยตัวอย่างที่เติมน้ำมันรำข้าวและตัวอย่างที่เติมไซรัข้าวในความเข้มข้นที่เท่ากันมีความสามารถในการละลายน้ำที่ไม่ต่างกัน ($p>0.05$)



รูปที่ 4.6 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) หรือไซรัข้าว (RBW) ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มที่ไม่เติมลิพิด

Pérez-Mateos (2009) ศึกษาความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มที่ผลิตจากเจลาตินปลาคอดและน้ำมันเมล็ดดอกทานตะวัน โดยแปรความเข้มข้นของน้ำมันเป็น 0, 0.3, 0.6 และ 1% พบว่าเมื่อความเข้มข้นของน้ำมันเพิ่มขึ้น ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มมีค่าลดลง Kim and Ustunol (2001) รายงานว่าการเติมไขมันเนย (butterfat) และไขแคนเดลิลาามีผลให้ฟิล์มจากเวย์โปรตีนมีความสามารถในการละลายน้ำลดลง ในทำนองเดียวกัน Soazo et al. (2011) รายงานว่าฟิล์มจากเวย์โปรตีนมีความสามารถในการละลายน้ำลดลงเมื่อเติมไขมัน ทั้งนี้เนื่องจากการเติมองค์ประกอบที่มีสมบัติไม่มีขั้วหรือมีขั้วต่ำเป็นการปรับปรุงสมบัติความไม่ชอบน้ำของฟิล์ม



4.1.7 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม

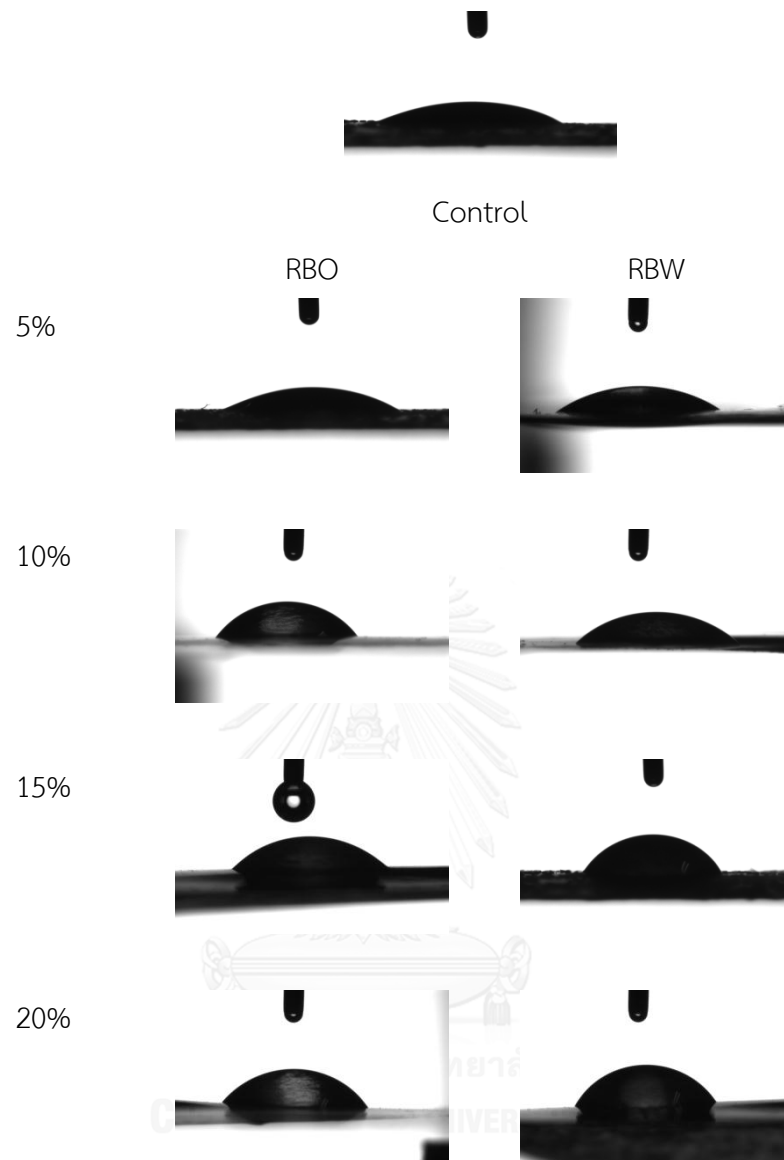
มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดแสดงในตารางที่ 4.2 และ รูปที่ 4.7 พบว่าความเข้มข้นของน้ำมันรำข้าวหรือไซราข้าวที่เพิ่มขึ้นทำให้มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แสดงถึงความไม่ชอบน้ำที่เพิ่มขึ้นของผิวฟิล์มเมื่อเติมลิปิต ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Zhang et al. (2014) ซึ่งรายงานว่าเมื่อความเข้มข้นของไขมันเพิ่มขึ้น ฟิล์มโคโตซานที่ได้มีมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มเพิ่มขึ้น โดยเป็นผลมาจากการเพิ่มขึ้นขององค์ประกอบที่ไม่ชอบน้ำของฟิล์ม ในด้านผลของชนิดของลิปิต พบว่าตัวอย่างฟิล์มที่เติมไซราข้าวมีมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มสูงกว่าตัวอย่างฟิล์มที่เติมน้ำมันรำข้าว

ตารางที่ 4.2 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมน้ำมันรำข้าวหรือไซราข้าว

ความเข้มข้นของลิปิต (%)	มุมสัมผัส (องศา)	
	น้ำมันรำข้าว	ไซราข้าว
0	12.25±1.74 ^h	12.25±1.74 ^h
5	23.21±1.62 ^g	33.86±3.30 ^f
10	43.64±2.70 ^e	45.78±5.74 ^e
15	53.95±3.53 ^d	61.89±6.59 ^c
20	73.96±2.09 ^b	82.60±3.04 ^a

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

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

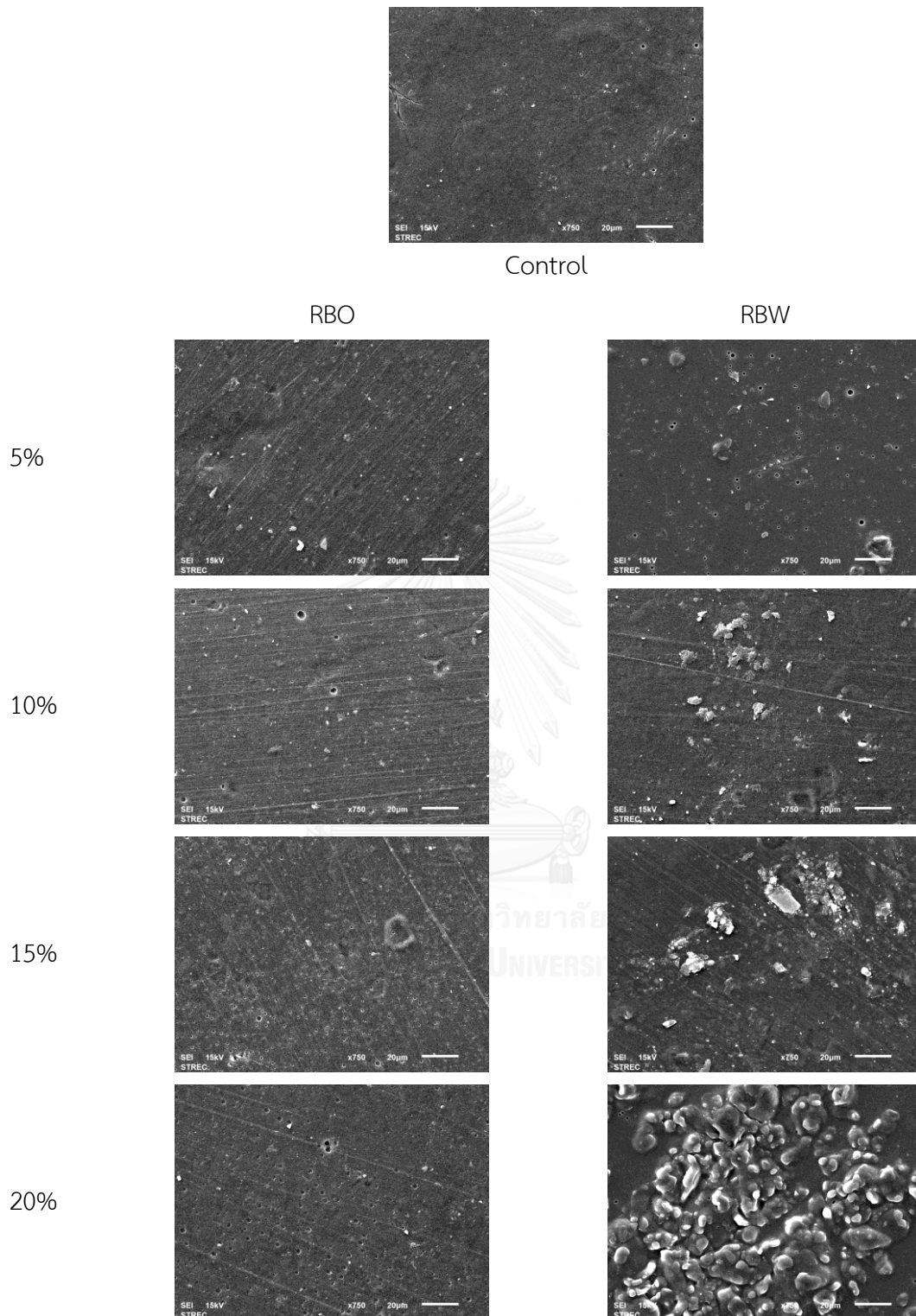


รูปที่ 4.7 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) หรือไขรำข้าว (RBW) ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มที่ไม่เติมลิพิด

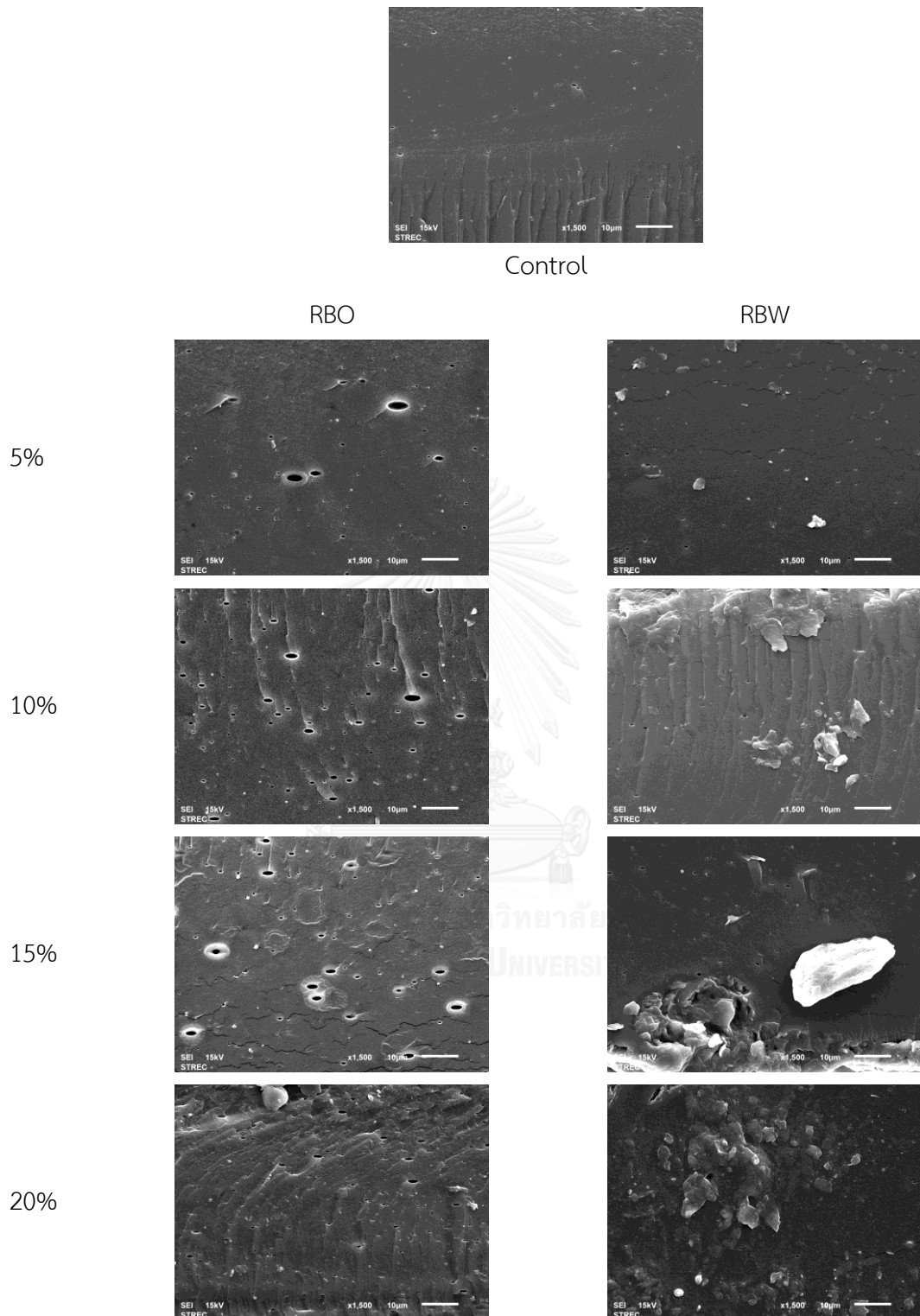
4.1.8 ลักษณะพื้นผิวและลักษณะภาคตัดขวาง

ลักษณะพื้นผิวและลักษณะภาคตัดขวางของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดแสดงดัง

รูปที่ 4.8 และ 4.9 ตามลำดับ



รูปที่ 4.8 ลักษณะพื้นผิวของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) หรือไขรำข้าว (RBW) ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มที่ไม่เติมลิพิด ถ่ายที่กำลังขยาย 750 เท่า



รูปที่ 4.9 ลักษณะภาคตัดขวางของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO)

หรือไขรำข้าว (RBW) ตัวอย่างควบคุมคือฟิล์มที่ไม่เติมลิพิด ถ่ายที่กำลังขยาย 750 เท่า

จากรูปที่ 4.8 และ 4.9 พบว่าตัวอย่างควบคุมซึ่งไม่เติมลิพิดมีลักษณะพื้นผิวและลักษณะภาคตัดขวางที่เรียบและสม่ำเสมอกว่าตัวอย่างฟิล์มที่เติมลิพิด ในขณะที่ฟิล์มที่เติมน้ำมันรำข้าวและไขรำข้าวมีลักษณะของเม็ดลิพิดปรากฏอยู่ทั่วทั้งเนื้อฟิล์ม ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Shi et al. (2016) ซึ่งรายงานว่าฟิล์มไคโตซานที่ไม่เติมน้ำมันข้าวโพดมีเนื้อฟิล์มที่เรียบและสม่ำเสมอกว่าฟิล์มที่เติมน้ำมันข้าวโพด นอกจากนี้ลักษณะพื้นผิวและลักษณะภาคตัดขวางที่ศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดยังแสดงให้เห็นว่าน้ำมันรำข้าวซึ่งเป็นของเหลวสามารถกระจายตัวในเนื้อฟิล์มอิมัลชันได้สม่ำเสมอเมื่อเทียบกับไขรำข้าวซึ่งเป็น ผลการศึกษาลักษณะพื้นผิวและลักษณะภาคตัดขวางนี้ยังสนับสนุนผลการศึกษาด้านสมบัติเชิงกล ความโปร่งแสง และสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ ซึ่งได้กล่าวถึงในหัวข้อ 4.1.2, 4.1.3 และ 4.1.5 ตามลำดับ

ดังนั้นจากการทดลองนี้พบว่าฟิล์มอิมัลชันที่มีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำต่ำที่สุด คือ ฟิล์มที่เติมน้ำมันรำข้าวเข้มข้น 15% จึงคัดเลือกตัวอย่างฟิล์มดังกล่าวไปใช้ในการพัฒนาฟิล์มอิมัลชันบริโภคได้ที่มีสมบัติขึ้นไบโอติกในขั้นต่อไป

4.2 ความสามารถในการใช้พรีไบโอติกของโพรไบโอติก

ความสามารถการใช้พรีไบโอติกของโพรไบโอติกประเมินจาก prebiotic activity score ซึ่งคำนวณได้จากการวัดการเจริญของโพรไบโอติกในอาหารพรีไบโอติกเทียบกับกลูโคส โดยเติมกล้าเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกให้มีปริมาณเริ่มต้น $6 \log_{10}$ CFU/mL ในอาหาร MRS ที่เติมกลูโคส อินูลิน ออลิโกฟรุกโทส พอลิเด็กซ์โทรส รวมทั้งสารสกัดที่มีพรีไบโอติกจากแก่นตะวันและกล้วยน้ำว้า แล้วตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 จำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติก (\log_{10} CFU/mL) ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง ในอาหารที่เติมกลูโคส พรีไบโอติกทางการค้า และสารสกัดจากพืชที่มีพรีไบโอติก

โพรไบโอติก	พรีไบโอติกทางการค้า				สารสกัดจากพืช	
	กลูโคส	อินูลิน	ออลิโกฟรุกโทส	พอลิเด็กซ์โทรส	แก่นตะวัน	กล้วยน้ำว้า
Lpc-37	2.93±0.11 ^{Aa}	2.62±0.07 ^{Ab}	2.84±0.09 ^{Aa}	2.08±0.02 ^{Ad}	2.36±0.04 ^{Ac}	1.71±0.02 ^{Ac}
BB-12 [®]	2.67±0.12 ^{Ba}	2.20±0.03 ^{Bc}	2.35±0.01 ^{Bb}	1.64±0.00 ^{Bd}	1.73±0.04 ^{Bd}	1.02±0.03 ^{Be}

Lpc-37: *L. paracasei* Lpc-37; BB12: *B. animalis* BB-12[®]

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

A, B ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 4.3 จะเห็นได้ว่าการเติมพรีไบโอติกแต่ละชนิด *L. paracasei* Lpc-37 สามารถเจริญได้ดีกว่า *B. animalis* BB-12[®] โดย *L. paracasei* Lpc-37 สามารถเพิ่มจำนวนได้ในช่วง 1.71-2.93 \log_{10} CFU/mL ในขณะที่ *B. animalis* BB-12[®] สามารถเพิ่มจำนวนได้ในช่วง 1.02-2.67 \log_{10} CFU/mL นอกจากนี้ยังพบว่าโพรไบโอติกทั้งสองชนิดที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MRS ที่

เติมกลูโคสสามารถเพิ่มจำนวนได้สูงที่สุด (2.67-2.93 \log_{10} CFU/mL) สำหรับจุลินทรีย์ *L. paracasei* Lpc-37 ที่เพาะเลี้ยงด้วยพรไบโอดีททางการค้า พบว่าจุลินทรีย์สามารถเพิ่มจำนวนในอาหาร MRS ที่เติมอลิโกพริกโทสได้สูงที่สุด (2.84 \log_{10} CFU/mL) รองลงมา ได้แก่ อินูลิน (2.62 \log_{10} CFU/mL) และพอลิเด็กซ์โทรส (2.08 \log_{10} CFU/mL) ตามลำดับ ส่วนพรไบโอดีทจากสารสกัดจากพืช พบว่า *L. paracasei* Lpc-37 สามารถเพิ่มจำนวนในอาหาร MRS ที่เติมสารสกัดจากแก่นตะวัน (2.36 \log_{10} CFU/mL) ได้สูงกว่าในอาหาร MRS ที่เติมสารสกัดจากกล้วยน้ำว้า (1.71 \log_{10} CFU/mL)

สำหรับจุลินทรีย์ *B. animalis* BB-12[®] ที่เพาะเลี้ยงด้วยพรไบโอดีททางการค้า พบว่าจุลินทรีย์สามารถเพิ่มจำนวนในอาหาร MRS ที่เติมอลิโกพริกโทสได้สูงที่สุด (2.35 \log_{10} CFU/mL) รองลงมา ได้แก่ อินูลิน (2.20 \log_{10} CFU/mL) และพอลิเด็กซ์โทรส (1.64 \log_{10} CFU/mL) ตามลำดับ ส่วนพรไบโอดีทจากสารสกัดจากพืช พบว่า *B. animalis* BB-12[®] สามารถเพิ่มจำนวนในอาหาร MRS ที่เติมสารสกัดจากแก่นตะวัน (1.73 \log_{10} CFU/mL) ได้สูงกว่าในอาหาร MRS ที่เติมสารสกัดจากกล้วยน้ำว้า (1.02 \log_{10} CFU/mL)

จากผลการทดลองจะเห็นว่าชนิดของพรไบโอดีทมีผลต่อการเจริญของพรไบโอดีท ซึ่งความสามารถในการเจริญของจุลินทรีย์สามารถวัดได้จากค่า generation time หรือเวลาที่จุลินทรีย์ใช้ในการแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนเป็น 2 เท่า จากการทดลองนี้ เมื่อคำนวณค่า generation time พบว่ามีค่าประมาณ 2.4 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ที่พบว่า *Lactobacillus* spp. ที่เจริญในอาหาร MRS มีค่า generation time อยู่ในช่วง 0.3-2.4 ชั่วโมง (Charteris et al., 2001; Srisuvor et al., 2013) จึงบ่งชี้ให้เห็นว่าจุลินทรีย์พรไบโอดีททั้งสองชนิดสามารถใช้สารพรไบโอดีททางการค้ารวมถึงสารสกัดจากพืชที่ใช้ในการทดลองได้ดี

สำหรับความสามารถในการใช้พรีไบโอติกทางการค้าของทั้ง *L. paracasei* Lpc-37 และ *B. animalis* BB-12[®] พบว่าส่วนใหญ่จะใช้โอลิโกฟรุคโทสได้ดี เนื่องจากเป็นโอลิโกเมอร์ที่มีโมเลกุลที่ไม่ใหญ่มากนัก โดยโอลิโกฟรุคโทสมีระดับพอลิเมอร์ไรเซชัน (degree of polymerization) ในช่วง 2-6 (Judprasong et al.) Hernor (2009) รายงานว่า bifidobacteria มีความสามารถในการใช้อลิโกแซ็กคาไรด์สายสั้นได้ดีกว่าโอลิโกแซ็กคาไรด์สายยาว นอกจากนี้ในการทดลองนี้พบว่าอินูลินเป็นพรีไบโอติกทางการค้าที่ *L. paracasei* Lpc-37 และ *B. animalis* BB-12[®] ใช้ได้ดีรองลงมาจากโอลิโกฟรุคโทส โดยอินูลินมีระดับพอลิเมอร์ไรเซชันในช่วง 2-60 (Judprasong et al.) นับว่ามีขนาดโมเลกุลเฉลี่ยใหญ่กว่าโอลิโกฟรุคโทส ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ (Pompei et al., 2008) ที่พบว่า *Bifidobacterium* sp. และ *Lactobacillus* sp. สามารถใช้อลิโกฟรุคโทสได้เร็วกว่าอินูลินในช่วงการหมัก 0-24 ชั่วโมง และงานวิจัยของ (Van der Meulen et al., 2004) ที่รายงานว่า *Bifidobacterium animalis* DN-173 010 มีความสามารถในการเจริญในโอลิโกฟรุคโทสได้ดีกว่าอินูลิน ส่วนพรีไบโอติกทางการค้าที่โพรไบโอติกทั้งสองชนิดสามารถใช้ได้ดีที่สุด ได้แก่ พอลิเด็กซ์โทรส ซึ่งก่อนหน้านี้ Moore (2011) รายงานว่า *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 64, *Lactobacillus acidophilus* 14, *Lactobacillus rhamnosus* 32 และ *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* 044 สามารถใช้อลิโกฟรุคโทสและอินูลินได้ดีกว่าพอลิเด็กซ์โทรส

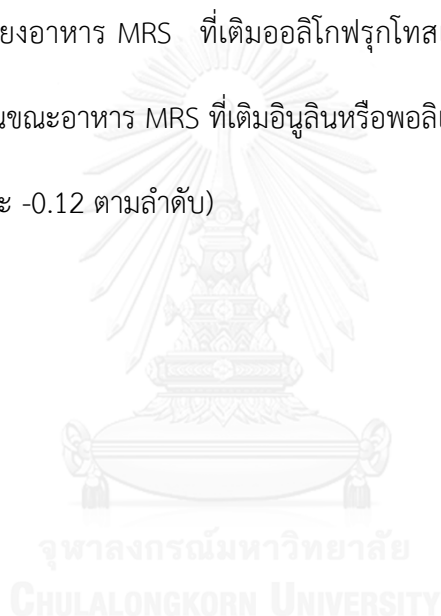
ในส่วนของการสกัดจากพืชที่มีพรีไบโอติก พบว่า *L. paracasei* Lpc-37 และ *B. animalis* BB-12[®] สามารถเพิ่มจำนวนได้มากกว่าในอาหาร MRS ที่เติมสารสกัดจากแก่นตะวัน (2.36 และ 1.73 log₁₀CFU/mL ตามลำดับ) ในขณะที่อาหาร MRS ที่เติมสารสกัดจากกล้วยน้ำว้าพบว่าภายใน 24 ชั่วโมง *L. paracasei* Lpc-37 และ *B. animalis* BB-12[®] มีจำนวนเพิ่มขึ้นเป็น 1.71 และ 1.02 log₁₀CFU/mL ตามลำดับ เมื่อพิจารณาถึงองค์ประกอบทางเคมี แก่นตะวันมีสารอาหารที่สำคัญ

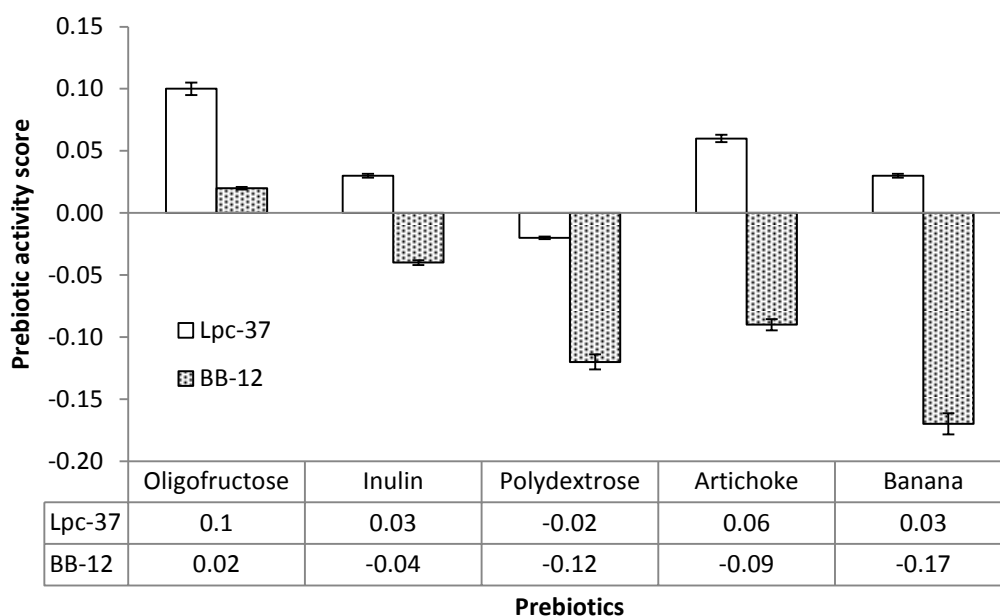
ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต กลีโคแร (แคลเซียม เหล็ก ซีลีเนียม โพแทสเซียม และฟอสฟอรัส) และวิตามิน (วิตามินบี วิตามินซี และเบตาแคโรทีน) รวมทั้งพรีไบโอติก ได้แก่ อินูลิน (160-200 มิลลิกรัม/กรัม) และอลิโกฟรุกโทส (120-150 มิลลิกรัม/กรัม) (Moshfegh et al., 1999; Tiengtam et al., 2015) ในทำนองเดียวกับกล้วยที่ประกอบด้วยสารอาหารที่จุลินทรีย์สามารถนำมาใช้ได้ (Srisuvor et al., 2013) หากแต่กล้วยมีปริมาณพรีไบโอติกต่ำกว่า (อินูลิน 3-7 มิลลิกรัม/กรัม และอลิโกฟรุกโทส 1 มิลลิกรัม/กรัม) จึงเป็นไปได้ว่าจุลินทรีย์สามารถใช้สารสกัดจากแก่นตะวันเป็นแหล่งอาหารในการเจริญได้ดีกว่าสารสกัดจากกล้วยน้ำว่า

การตรวจวัดค่า prebiotic activity score ทำได้โดยการนำสารอาหารที่ต้องการทดสอบมาเติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลว และติดตามการเปลี่ยนแปลงจำนวนของจุลินทรีย์โพรไบโอติกในระยะเวลา 24 ชั่วโมงเทียบกับ *E. coli* ซึ่งหากจุลินทรีย์โพรไบโอติกสามารถใช้สารอาหารชนิดนั้นได้ดีกว่า *E. coli* แสดงว่าสารอาหารชนิดนั้นมีสมบัติการเป็นพรีไบโอติก (Huebner et al., 2008) สำหรับงานวิจัยนี้ได้ประเมินสมบัติการเป็นพรีไบโอติกของพรีไบโอติกทางการค้า 3 ชนิด และสารสกัดที่มีพรีไบโอติกจากแก่นตะวันและกล้วยน้ำว่าโดยเปรียบเทียบกับผลการเจริญของ *E. coli* ในรูปแบบของ bacterial cocktail และรายงานความสามารถในการใช้พรีไบโอติกของโพรไบโอติกในรูปแบบของ prebiotic activity score ซึ่งถ้าค่าเป็นบวกแสดงว่าสารอาหารนั้นมีแนวโน้มที่มีสมบัติเป็นพรีไบโอติก ในขณะที่ค่าเป็นลบแสดงว่าสารอาหารนั้นไม่มีสมบัติเป็นพรีไบโอติกสำหรับจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ใช้ทดสอบ

การประเมินความสามารถในการใช้พรีไบโอติกของโพรไบโอติกในรูปแบบของ prebiotic activity score โดยเปรียบเทียบจำนวนจุลินทรีย์ในอาหาร MRS ที่เติมกลูโคส กับอาหาร MRS ที่เติมพรีไบโอติกทางการค้าหรือสารสกัดจากพืชที่มีพรีไบโอติกแสดงดังรูปที่ 4.10 พบว่าค่า prebiotic activity

score ของสารที่ประเมินกับจุลินทรีย์โพรไบโอติกแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) สำหรับโพรไบโอติกทางการค้า พบว่าเมื่อเปรียบเทียบในโพรไบโอติกชนิดเดียวกัน prebiotic activity score ของ *L. paracasei* Lpc-37 มีค่าสูงกว่า *B. animalis* BB-12[®] สำหรับ *L. paracasei* Lpc-37 ที่เลี้ยงในอาหาร MRS ที่เติมอลิโกฟรุกโทสหรืออินูลิน พบว่ามีค่า prebiotic activity score เป็นบวก (0.1 และ 0.03 ตามลำดับ) ในขณะที่ *L. paracasei* Lpc-37 ที่เลี้ยงในอาหาร MRS ที่เติมพอลิเดกซ์โทรสมีค่า prebiotic activity score เป็นลบ (-0.02) ในส่วนของ *B. animalis* BB-12[®] มีเพียงอาหาร MRS ที่เติมอลิโกฟรุกโทสเท่านั้นที่มีค่า prebiotic activity score เป็นบวก (0.02) ในขณะอาหาร MRS ที่เติมอินูลินหรือพอลิเดกซ์โทรสมีค่า prebiotic activity score เป็นลบ (-0.04 และ -0.12 ตามลำดับ)





รูปที่ 4.10 Prebiotic activity score ของจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่เจริญในอาหาร MRS ที่เติมพรีไบโอติกทางการค้า (โอลิโกฟรุคโทส อินูลิน และพอลิเด็กซ์โทรส) และอาหาร MRS ที่เติมสารสกัดจากพืชที่มีพรีไบโอติก (สารสกัดจากแก่นตะวันและกล้วยน้ำว้า) Lpc-37 คือ *L. paracasei* Lpc-37 และ BB-12 คือ *B. animalis* BB-12[®]

ในกรณีอาหาร MRS ที่เติมสารสกัดจากพืชที่มีพรีไบโอติก (รูปที่ 4.10) พบว่าเมื่อเปรียบเทียบสารสกัดชนิดเดียวกัน prebiotic activity score ของ *L. paracasei* Lpc-37 มีค่าสูงกว่า *B. animalis* BB-12[®] อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) สำหรับ *L. paracasei* Lpc-37 พบว่าอาหาร MRS ที่เติมสารสกัดจากแก่นตะวันหรือสารสกัดจากกล้วยน้ำว้ามีค่า prebiotic activity score เป็นบวก (0.06 และ 0.03 ตามลำดับ) ในขณะที่ *B. animalis* BB-12[®] ค่า prebiotic activity score ของอาหาร MRS ที่เติมสารสกัดจากแก่นตะวันและสารสกัดจากกล้วยน้ำว้ามีค่าเป็นลบ (-0.09 และ -0.17 ตามลำดับ)

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างจุลินทรีย์โพรไบโอติก พบว่า *L. paracasei* Lpc-37 มีค่า prebiotic activity score เป็นบวกในอาหาร MRS ที่เติมแหล่งโพรไบโอติกทุกชนิด ยกเว้นพอลิเด็คซ์ไทรอส สำหรับโพรไบโอติกทางการค้าพบว่า prebiotic activity score มีค่าเป็นบวกสูงที่สุดในอาหารที่เติม ออลิโกฟรุคโทส (0.1) ส่วนสารสกัดจากพืชที่มีโพรไบโอติกพบว่า prebiotic activity score มีค่าเป็นบวกสูงที่สุดในอาหารที่เติมสารสกัดจากแก่นตะวัน (0.06) ในส่วนของ *B. animalis* BB-12[®] มีค่า prebiotic activity score เป็นบวกในอาหาร MRS ที่เติมออลิโกฟรุคโทสเท่านั้น (0.02)

จากการทดสอบความสามารถการใช้โพรไบโอติกของโพรไบโอติกด้วยการประเมินจากค่า prebiotic activity score จะเห็นได้ว่า *L. paracasei* Lpc-37 มีค่า prebiotic activity score สูงกว่า *B. animalis* BB-12[®] สอดคล้องกับงานวิจัยของ Srisuvor et al. (2013) ซึ่งติดตามการเจริญของ *L. paracasei* Lpc-37 และ *B. animalis* BB-12[®] ที่เลี้ยงในอาหารที่เติมออลิโกฟรุคโทส อินูลิน สายกลาง อินูลินสายยาว พิวเร (puree) กล้วยหอม และพิวเรกล้วยไข่ และรายงานค่า prebiotic activity score ของ *L. paracasei* Lpc-37 สูงกว่า *B. animalis* BB-12[®] ในส่วนของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมโพรไบโอติกทางการค้าพบว่าออลิโกฟรุคโทสให้ค่า prebiotic activity score สูงที่สุดทั้งสำหรับ *L. paracasei* Lpc-37 และ *B. animalis* BB-12[®] ผู้วิจัยเสนอว่าที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากออลิโกฟรุคโทสเป็นโมเลกุลที่มีโครงสร้างไม่ซับซ้อน ทำให้จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ได้ง่าย อาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมโพรไบโอติกทางการค้าที่มี prebiotic activity score สูงรองลงมา ได้แก่ อินูลิน ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากอินูลินมีขนาดใหญ่กว่าออลิโกฟรุคโทส (Makras et al., 2005; Paseephol and Sherkat, 2009) รายงานว่าออลิโกฟรุคโทสมี DP อยู่ในช่วง 2-8 ในขณะที่อินูลินสายกลางมี DP มากกว่าหรือเท่ากับ 10 และอินูลินสายยาวมี DP มากกว่าหรือเท่ากับ 23 และในงานวิจัยดังกล่าวพบว่าพอลิเด็คซ์ไทรอสให้ค่า prebiotic activity score ต่ำที่สุดทั้งสำหรับ *L. paracasei* Lpc-37

และ *B. animalis* BB-12[®] นอกจากนี้ Moore (2011) รายงานว่า *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 64, *Lactobacillus acidophilus* 14, *Lactobacillus rhamnosus* 32 และ *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* 044 สามารถใช้ออลิโกฟรุกโทสและอินูลินได้ดีกว่าพอลิเด็คซ์โทรส โดยผู้วิจัยเสนอว่าอาจเป็นผลจากโครงสร้างของพอลิเด็คซ์โทรสซึ่งเป็นพอลิเมอร์ของกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิกชนิด α -(1→6) ประกอบกับมี DP ประมาณ 12 และน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยประมาณ 2,000 ทำให้ยากต่อการนำไปใช้ของจุลินทรีย์ (Craig et al., 1998; Figdor and Bianchine, 1983; Figdor and Rennhard, 1981)

สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมสารสกัดจากพืชที่มีพรีไบโอติก พบว่าอาหารที่เติมสารสกัดจากแก่นตะวันให้ค่า prebiotic activity score สูงกว่าอาหารที่เติมสารสกัดจากกล้วยน้ำว้าทั้งสำหรับ *L. paracasei* Lpc-37 และ *B. animalis* BB-12[®] เนื่องจากในแก่นตะวันมีอินูลินและออลิโกฟรุกโทสในปริมาณที่สูงกว่ากล้วยน้ำว้า (Lingyun et al., 2007)

อาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมพรีไบโอติกทางการค้าส่วนใหญ่พบว่ามีความ prebiotic activity score สูงกว่าอาหารที่เติมสารสกัดจากพืชที่มีพรีไบโอติก (รูปที่ 4.10) ผลที่ได้นี้ต่างจากงานวิจัยของ Srisuvor et al. (2013) ซึ่งพบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมพรีไบโอติกทางการค้ามีความ prebiotic activity score ต่ำกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมพืชรากกล้วยหอมและพืชรากกล้วยไข่ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในงานวิจัยของ Srisuvor et al. (2013) ใช้พืชรากที่เตรียมจากกล้วยสด ซึ่งมีสารอาหารที่สามารถช่วยส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (Coussement, 1999) อีกทั้งพืชรากกล้วยสดยังมีกรดอินทรีย์และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compound) ซึ่งอาจช่วยยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ได้ (Kantachote et al., 2008; Scott et al., 1949) ในขณะที่ในการทดลองนี้ใช้สารสกัดจากพืชที่ผ่านกระบวนการทำให้

เป็นผง ซึ่งอาจสูญเสียสารบางอย่างไป จึงทำให้ prebiotic activity score ของอาหารที่เติมสารสกัดจากพืชมีค่าต่ำ

ดังนั้นจากการทดลองนี้เมื่อพิจารณาค่า prebiotic activity score พบว่าคู่ของโพรไบติกและพรีไบโอติกทางการค้าที่มีค่า prebiotic activity score สูงที่สุด ได้แก่ *L. paracasei* Lpc-37 กับออลิโกฟรุกโทส และคู่ของโพรไบติกและสารสกัดจากพืชที่มีพรีไบโอติกที่มีค่า prebiotic activity score สูงที่สุด ได้แก่ *L. paracasei* Lpc-37 กับสารสกัดจากแก่นตะวัน จึงคัดเลือกคู่ของโพรไบโอติกและพรีไบโอติกดังกล่าวไปใช้ในการพัฒนาฟิล์มอิมัลชันบริโภาคได้ที่มีสมบัติขึ้นไบโอติกในชั้นตอนต่อไป

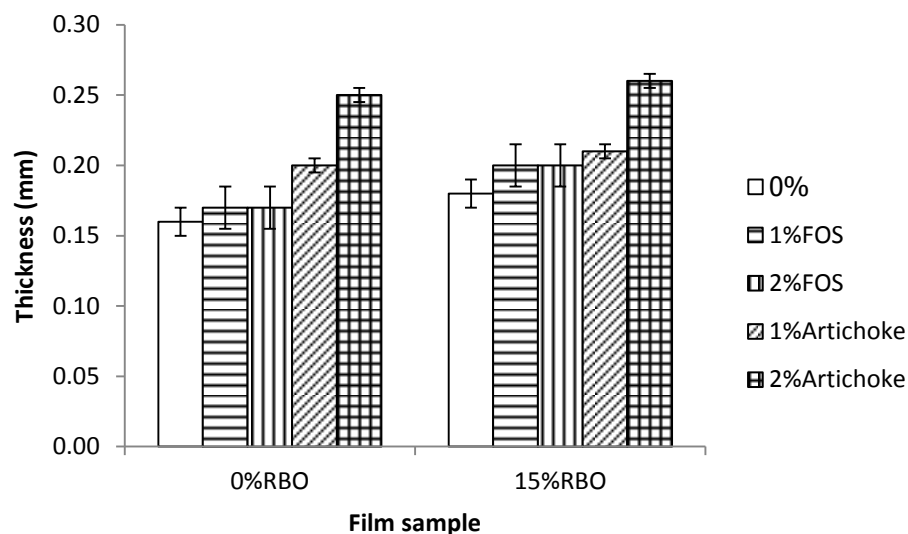


4.3 การพัฒนาฟิล์มอิมัลชันบริโภาคได้จากโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมโพรไบโอติกและพรีไบโอติก

การศึกษาในขั้นตอนนี้ใช้ฟิล์มฐาน 2 ชนิด คือ ฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิพิดและฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมน้ำมันรำข้าวเข้มชั้น 15% ซึ่งเป็นตัวอย่างฟิล์มอิมัลชันที่มีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำต่ำที่สุด นำตัวอย่างฟิล์มดังกล่าวมาพัฒนาให้เป็นฟิล์มบริโภาคได้ที่มีสมบัติซินไบโอติก โดยเติมคู่ของโพรไบโอติกและพรีไบโอติกที่มี prebiotic activity score สูงที่สุด ได้แก่ *L. paracasei* Lpc-37 กับออลิโกฟรุคโทส และ *L. paracasei* Lpc-37 กับสารสกัดจากแก่นตะวัน แปรความเข้มข้นของพรีไบโอติกเป็น 3 ระดับ ได้แก่ 0, 1 และ 2% โดยน้ำหนักของสารละลาย ผลการวิเคราะห์สมบัติของฟิล์มมีดังนี้

4.3.1 ความหนา

ความหนาของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดแสดงในรูปที่ 4.11 (ตารางที่ ค. 7) พบว่าการเติมออลิโกฟรุคโทสไม่มีผลต่อความหนาของฟิล์ม โดยฟิล์มที่ได้มีความหนาในช่วง 0.170-0.200 มิลลิเมตร ในขณะที่ฟิล์มที่เติมพรีไบโอติกมีความหนาอยู่ในช่วง 0.160-0.180 มิลลิเมตร Soukoulis et al. (2014a) รายงานในทำนองเดียวกันว่าการเติมอินูลิน พอลิเด็กซ์โทรส กลูโคออลิโกแซกคาไรด์ และเด็กซ์ทรินจากข้าวสาลี ไม่มีผลต่อความหนาของฟิล์มเจลาติน ผู้วิจัยอธิบายว่าเป็นเช่นนี้เนื่องจากโมเลกุลของพรีไบโอติกจะสามารถแทรกเข้าไปในเมทริกซ์ของฟิล์ม ทำให้ไม่ส่งผลต่อความหนา อย่างไรก็ตามในงานวิจัยนี้ สำหรับสารสกัดจากแก่นตะวันพบว่าความหนาของฟิล์มมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อปริมาณสารสกัดเพิ่มขึ้น ($p \leq 0.05$) โดยฟิล์มที่เติมสารสกัดจากแก่นตะวันมีความหนาอยู่ในช่วง 0.200-0.260 มิลลิเมตร ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารสกัดที่ใช้เป็นสารสกัดหยาบ (crude extract) ซึ่งมีสารอื่นนอกเหนือจากพรีไบโอติกซึ่งอาจส่งผลต่อความหนาของฟิล์มได้



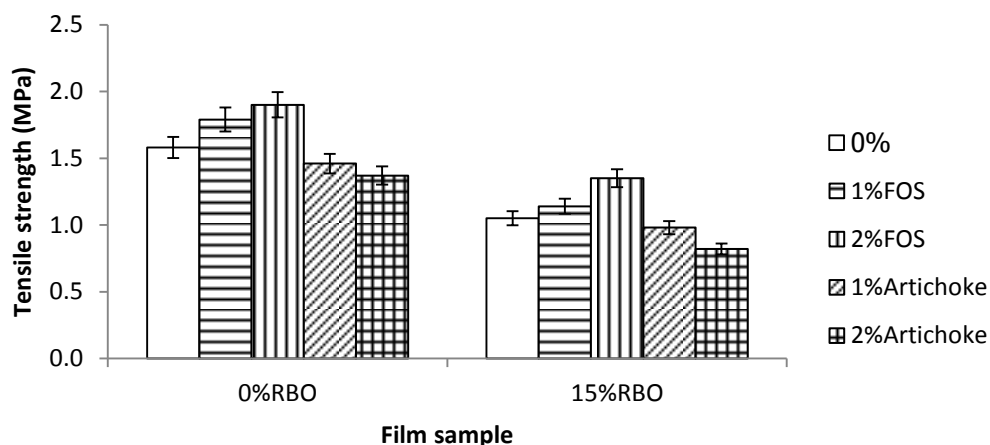
รูปที่ 4.11 ความหนาของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิพิดและที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) เข้มข้น 15% ซึ่งเติมพรีไบโอติกออลิโกฟรุคโทส (FOS) และสารสกัดจากแก่นตะวัน (Artichoke)

4.3.2 สมบัติเชิงกล

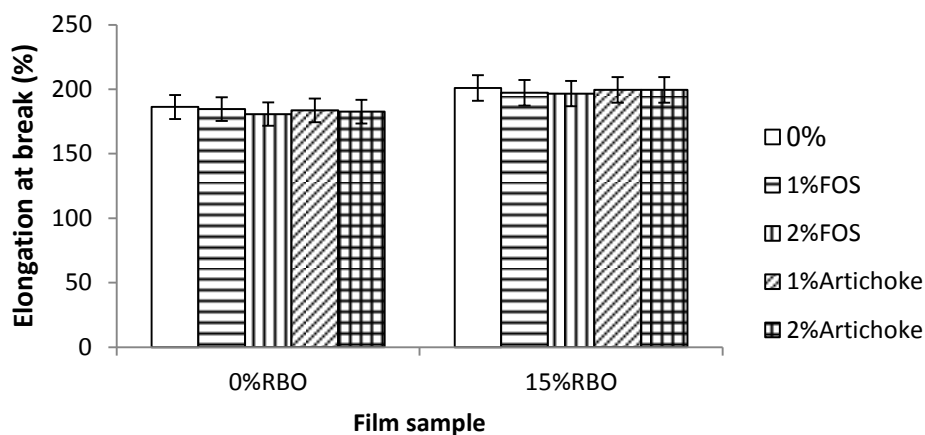
สมบัติเชิงกลของฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมพรีไบโอติกและพรีไบโอติกแสดงในรูปความต้านทานแรงดึงขาดและการยืดตัวถึงจุดขาดดังรูปที่ 4.12 และ 4.13 ตามลำดับ (ตาราง ค.8 และ ค.9) พบว่าความเข้มข้นของออลิโกฟรุคโทสที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ฟิล์มที่ได้มีความต้านทานแรงดึงขาดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่การยืดตัวถึงจุดขาดไม่เปลี่ยนแปลง โดยฟิล์มที่เติมออลิโกฟรุคโทสมีความต้านทานแรงดึงขาดในช่วง 1.35-1.90 เมกะพาสคาล และการยืดตัวถึงจุดขาดในช่วง 180.74-197.26% เปรียบเทียบกับฟิล์มที่ไม่เติมพรีไบโอติกซึ่งมีความต้านทานแรงดึงขาดอยู่ในช่วง 1.05-1.58 เมกะพาสคาล และการยืดตัวถึงจุดขาดในช่วง 186.29-200.98% ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Costa et al. (2015) ที่รายงานว่า การเติมพรีไบโอติกอะราบิโนไซแลนลงในฟิล์มไคโตซานทำให้ฟิล์มที่ได้มีความต้านทานแรงดึงขาดเพิ่มมากขึ้น ในขณะที่ไม่ส่งผลต่อการยืดตัวถึงจุดขาด ความต้านทานแรงดึงขาดที่เพิ่มขึ้นเมื่อเติมออลิโกฟรุคโทสนี้ อาจเนื่องมาจากออลิ

โกฟรุทโทสสามารถแทรกเข้าไปในเมทริกซ์ของฟิล์มและเกิดอันตรกิริยา โดยเฉพาะอย่างยิ่งพันธะไฮโดรเจน ได้กับโปรตีนแก้วเหลืองที่เป็นพอลิเมอร์หลักของฟิล์ม จึงทำให้โครงร่างตาข่ายของโปรตีนมีความแข็งแรงยิ่งขึ้น

อย่างไรก็ตามในทางกลับกันพบว่าการเติมสารสกัดจากแก่นตะวันส่งผลให้ฟิล์มมีความต้านทานแรงดึงขาดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่ไม่มีผลต่อการยืดตัวถึงจุดขาด โดยฟิล์มที่ได้มีความต้านทานแรงดึงขาดในช่วง 0.82-1.46 เมกะพาสคาล และการยืดตัวถึงจุดขาดในช่วง 182.63-199.53% เปรียบเทียบกับฟิล์มที่ไม่เติมพรีไบโอติกซึ่งมีความต้านทานแรงดึงขาดในช่วง 1.05-1.58 เมกะพาสคาล และการยืดตัวถึงจุดขาดในช่วง 186.29-200.98% การที่การเติมสารสกัดจากแก่นตะวันมีผลเชิงลบต่อความแข็งแรงเชิงกลของฟิล์ม อาจเนื่องมาจากสารสกัดที่ใช้เป็นสารสกัดหยาบซึ่งมีสารอื่นนอกเหนือจากพรีไบโอติก (พรีไบโอติกหลักในแก่นตะวัน ได้แก่ อินูลินและอลิโกฟรุทโทส) ซึ่งอาจส่งผลต่อความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์ม เช่น โปรตีน และเฮมิเซลลูโลส ซึ่ง Kays and Nottingham (2008) รายงานว่าแก่นตะวันมีโปรตีนประมาณ 7.0-29.4% และเฮมิเซลลูโลสประมาณ 4.3-21.0% โดยน้ำหนักแห้ง



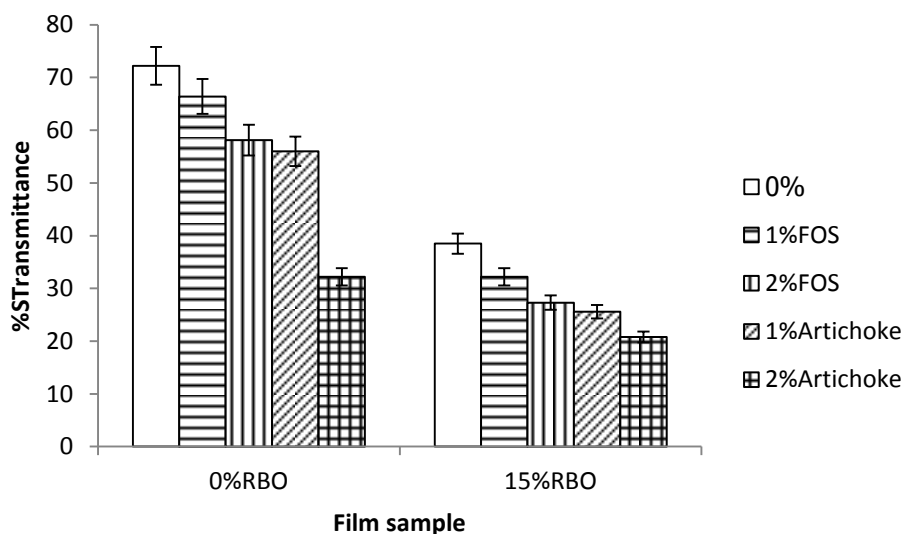
รูปที่ 4.12 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มโพรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิพิดและที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) เข้มข้น 15% ซึ่งเติมพรีไบโอติกออลิโกฟรุคโทส (FOS) และสารสกัดจากแก่นตะวัน (Artichoke)



รูปที่ 4.13 การยืดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มโพรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิพิดและที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) เข้มข้น 15% ซึ่งเติมพรีไบโอติกออลิโกฟรุคโทส (FOS) และสารสกัดจากแก่นตะวัน (Artichoke)

4.3.3 ความโปร่งแสง

ความโปร่งแสงของตัวอย่างฟิล์มแสดงดังรูปที่ 4.14 (ตารางที่ ค.10) โดยความโปร่งแสงแสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน พบว่าการเติมออลิโกฟรุกโทสมีผลต่อความโปร่งแสงของฟิล์ม โดยฟิล์มที่เติมออลิโกฟรุกโทสมีร้อยละของแสงส่องผ่านในช่วง 27.3-66.4 ในขณะที่ฟิล์มที่ไม่เติมพรีไบโอติกมีร้อยละของแสงส่องผ่านในช่วง 38.5-72.2 สำหรับฟิล์มที่เติมสารสกัดจากแก่นตะวันพบว่าเมื่อความเข้มข้นของสารสกัดเพิ่มขึ้น ฟิล์มที่ได้มีร้อยละของแสงส่องผ่านลดลง โดยฟิล์มที่เติมสารสกัดจากแก่นตะวันมีร้อยละของแสงส่องผ่านในช่วง 20.8-56.0 ความโปร่งแสงที่ลดลงนี้น่าจะเป็นผลเนื่องจากอนุภาคพรีไบโอติกและโพรไบโอติกที่เติมลงไปมีผลขัดขวางการส่องผ่านของแสง ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Costa et al. (2015) ที่ศึกษาผลของการเติมพรีไบโอติกอะราบิโนไซแลนจากรำข้าวสาลีต่อสมบัติของฟิล์มไคโตซาน และรายงานว่าการเติมอะราบิโนไซแลนเพิ่มขึ้น ฟิล์มที่ได้มีความขุ่นมากขึ้น และก่อนหน้านี้นี้ Soukoulis et al. (2014a) รายงานว่าการเติมอินูลิน พอลิเด็กซ์โทรส กลูโคออลิโกแซคคาไรด์ และเด็กซ์ทรินจากข้าวสาลี ส่งผลให้ฟิล์มเจลลาตินมีค่าความขุ่นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) นอกจากพรีไบโอติกแล้ว โพรไบโอติกที่เติมลงไปก็อาจมีผลทำให้ฟิล์มมีความขุ่นเพิ่มมากขึ้น โดย (Kanmani and Lim, 2013) รายงานว่าการเติมโพรไบโอติก *Lactobacillus plantarum* GG ATCC53103, *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 และ *Lactobacillus acidophilus* DSM 20079 ในฟิล์มคอมพอสิตของพุลลูแลนและสตาร์ชมีผลทำให้ฟิล์มที่ได้มีความขุ่นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)



รูปที่ 4.14 ความโปร่งแสง (แสดงในรูปร้อยละของแสงส่องผ่าน) ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิพิดและที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) เข้มข้น 15% ซึ่งเติมพรีไบโอติกอลิโกฟรุกโทส (FOS) และสารสกัดจากแก่นตะวัน (Artichoke)

4.3.4 ค่าสี

ค่าสีของตัวอย่างฟิล์มซึ่งวัดในระบบ CIELAB แสดงดังตารางที่ 4.4 พบว่าการเติมออลิโกฟรุกโทสลงในฟิล์มทำให้ค่า L^* มีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย ในขณะที่การเติมสารสกัดจากแก่นตะวันทำให้ค่า L^* ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในขณะเดียวกันพบว่าการเติมออลิโกฟรุกโทสหรือสารสกัดจากแก่นตะวันมีผลค่อนข้างน้อยต่อค่า a^* และ b^* รวมทั้งค่ามุมสีและความเข้มสีของทั้งฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิพิดและฟิล์มที่เติมน้ำมันรำข้าว 15%

ตารางที่ 4.4 ค่าสีของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิปิดและที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) เข้มข้น 15% ซึ่งเติมพรีไบโอติกออลิโกฟรุคโทส (FOS) และสารสกัดจากแก่นตะวัน (Artichoke)

ตัวอย่าง		ค่าสี			มุมสี (องศา)	ความเข้มสี
RBO (%)	Prebiotic (%)	L^*	a^*	b^*		
0	0	85.62±0.23 ^a	-0.74±1.50 ^d	5.26±0.17 ^d	81.91±1.65 ^b	5.31±0.62 ^d
0	1%FOS	84.06±3.06 ^{ab}	-0.73±0.10 ^d	5.13±0.24 ^d	81.96±0.91 ^b	5.18±0.24 ^d
0	2%FOS	82.31±3.12 ^b	-0.64±0.12 ^d	5.10±0.68 ^d	82.70±1.58 ^b	5.15±0.68 ^d
0	1%Artichoke	75.76±4.05 ^d	-0.72±0.16 ^d	5.15±0.07 ^d	82.06±1.54 ^b	5.20±0.10 ^d
0	2%Artichoke	60.75±1.53 ^f	-0.70±0.18 ^d	5.13±0.12 ^d	82.29±1.96 ^b	5.18±0.12 ^d
15	0	81.82±1.57 ^{bc}	1.47±0.14 ^{ab}	14.93±0.31 ^{bc}	84.36±0.52 ^a	14.66±2.05 ^c
15	1%FOS	80.44±2.63 ^c	1.40±0.12 ^{bc}	14.66±0.66 ^c	84.55±0.43 ^a	14.73±0.66 ^{bc}
15	2%FOS	79.54±0.90 ^c	1.34±0.22 ^c	14.42±0.93 ^c	84.71±0.75 ^a	14.49±0.94 ^c
15	1%Artichoke	71.36±5.37 ^e	1.54±0.11 ^a	15.38±0.91 ^b	84.27±0.46 ^a	15.45±0.91 ^b
15	2%Artichoke	60.42±3.52 ^f	1.59±0.12 ^a	16.81±1.14 ^a	84.54±0.43 ^a	16.89±1.14 ^a

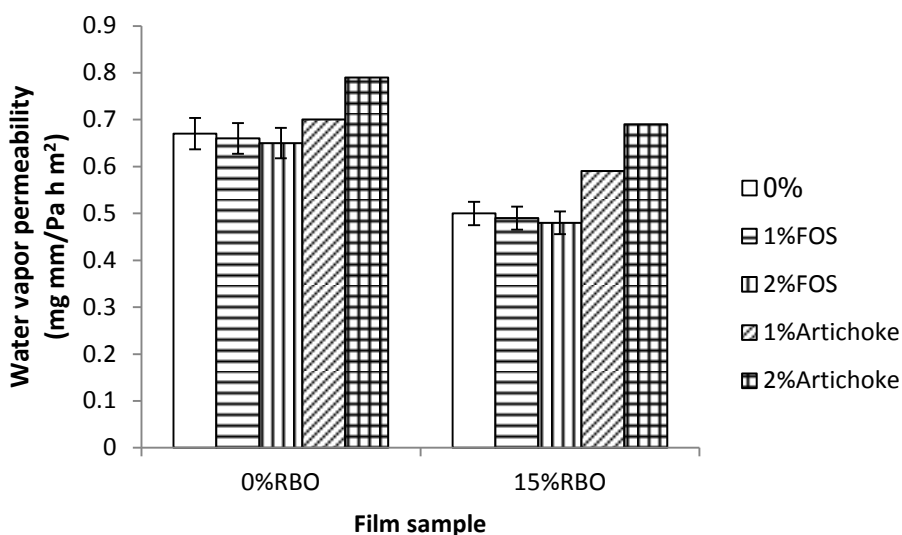
ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

a, b, c, ... ค่าเฉลี่ยในสดมภ์เดียวกันที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05)

4.3.5 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ

สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของตัวอย่างฟิล์มที่เติมพรีไบโอติกและโพรไบโอติก แสดงดังรูปที่ 4.15 (ตารางที่ ค.11) พบว่าการเติมออลิโกฟรุคโทสไม่มีผลต่อสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของทั้งฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิปิดและฟิล์มที่เติมน้ำมันรำข้าว 15% โดยฟิล์มที่ได้มีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำอยู่ในช่วง 0.48-0.66 mg mm/Pa h m² ในขณะที่ฟิล์มที่ไม่เติมพรีไบโอติกมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำในช่วง 0.50-0.67 mg mm/Pa h m² สาเหตุที่ออลิโกฟรุคโทสที่เติมลงไปไม่มีผลต่อสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำอาจเนื่องมาจากออลิโกฟรุคโทสประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซิลจำนวนมาก ออลิโกฟรุคโตสจึงมีสมบัติชอบน้ำเช่นเดียวกับโปรตีนถั่วเหลืองและกลีเซอรอลที่ใช้เป็นพลาสติกไซเซอร์ ความชอบน้ำโดยรวมของระบบจึงไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก จึงไม่มีผลสำคัญต่อ

สมบัติการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์ม Costa et al. (2015) รายงานว่าการเติมพรีไบโอติกอะราบิโนไซแลนไม่มีผลต่อสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มโคโคซาน



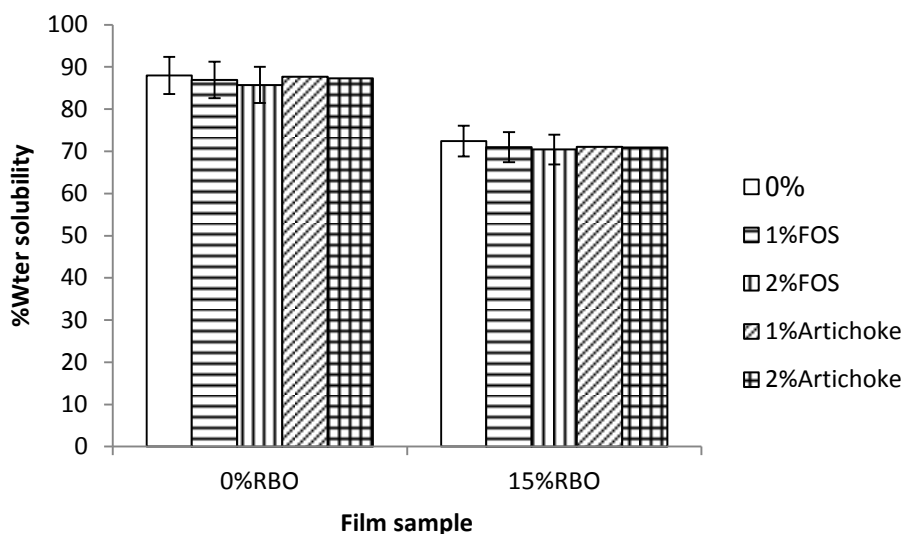
รูปที่ 4.15 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิพิดและที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) เข้มข้น 15% ซึ่งเติมพรีไบโอติกออลิโกฟรุคโทส (FOS) และสารสกัดจากแก่นตะวัน (Artichoke)

ในทางกลับกันพบว่าการเติมสารสกัดจากแก่นตะวันส่งผลให้สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยฟิล์มที่เติมสารสกัดจากแก่นตะวันมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำในช่วง $0.59-0.79 \text{ mg mm/Pa h m}^2$ ในขณะที่ฟิล์มที่ไม่เติมสารสกัดมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำในช่วง $0.50-0.67 \text{ mg mm/Pa h m}^2$ การที่การเติมสารสกัดจากแก่นตะวันมีผลเชิงลบต่อสมบัติการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำของฟิล์ม อาจเนื่องมาจากสารสกัดที่ใช้เป็นสารสกัดน้ำ (aqueous extract) ซึ่งนอกเหนือจากพรีไบโอติก ได้แก่ อินูลิน และออลิโกฟรุคโทส แล้ว ยังมีสารอื่นๆ ที่ละลายได้ในน้ำถูกสกัดออกมาด้วย เช่น โปรตีน และเฮมิเซลลูโลส สารเหล่านี้นอกจากจะมีสมบัติชอบน้ำแล้ว ยังอาจส่งผลต่อโครงสร้างเมทริกซ์ของฟิล์ม สอดคล้องกับลักษณะพื้นผิวและ

ลักษณะภาคตัดขวางของฟิล์มที่ศึกษาโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (ซึ่งจะกล่าวถึงต่อไปในหัวข้อ 4.3.8) พบว่าฟิล์มที่เติมสารสกัดจากแก่นตะวันมีโครงสร้างที่ไม่สม่ำเสมอ ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน และมีร่องขนาดใหญ่ซึ่งอาจทำให้อิออนน้ำผ่านเข้าออกได้ง่ายขึ้น

4.3.6 ความสามารถในการละลายน้ำ

ความสามารถในการละลายน้ำของตัวอย่างฟิล์มที่เติมพรีไบโอติกและโพรไบโอติก แสดงดังรูปที่ 4.16 (ตารางที่ ค.12) พบว่าการเติมออลิโกฟรุคโทสและสารสกัดจากแก่นตะวันไม่มีผลต่อความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์ม สำหรับตัวอย่างฟิล์มที่ไม่เติมลิพิด พบว่าฟิล์มที่เติมพรีไบโอติกมีความสามารถในการละลายน้ำในช่วง 85.71-87.68% เทียบกับฟิล์มที่ไม่เติมพรีไบโอติกซึ่งมีความสามารถในการละลายน้ำเท่ากับ 88.01% ในทำนองเดียวกัน สำหรับตัวอย่างฟิล์มที่เติมน้ำมันรำข้าวเข้มข้น 15% พบว่าฟิล์มที่เติมพรีไบโอติกมีความสามารถในการละลายน้ำในช่วง 70.44-71.05% เทียบกับฟิล์มที่ไม่เติมพรีไบโอติกซึ่งมีความสามารถในการละลายน้ำเท่ากับ 72.41% ทั้งนี้เนื่องมาจากออลิโกฟรุคโทสและสารต่างๆที่เป็นองค์ประกอบของสารสกัดจากแก่นตะวันเนื่องจากออลิโกฟรุคโทสและอินูลินซึ่งเป็นส่วนประกอบหลักในแก่นตะวันต่างก็มีความสามารถในการละลายน้ำสูงเช่นเดียวกับโพรตีนถั่วเหลืองสกัดและกลีเซอรอล ในส่วนของจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่เติมลงในฟิล์มมีรายงานว่า การเติมโพรไบโอติกไม่มีผลต่อความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์ม (Kanmani and Lim, 2013)



รูปที่ 4.16 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิพิดและที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) เข้มข้น 15% ซึ่งเติมพรีไบโอติกออลิโกฟรุกโทส (FOS) และสารสกัดจากแก่นตะวัน (Artichoke)

4.3.7 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม

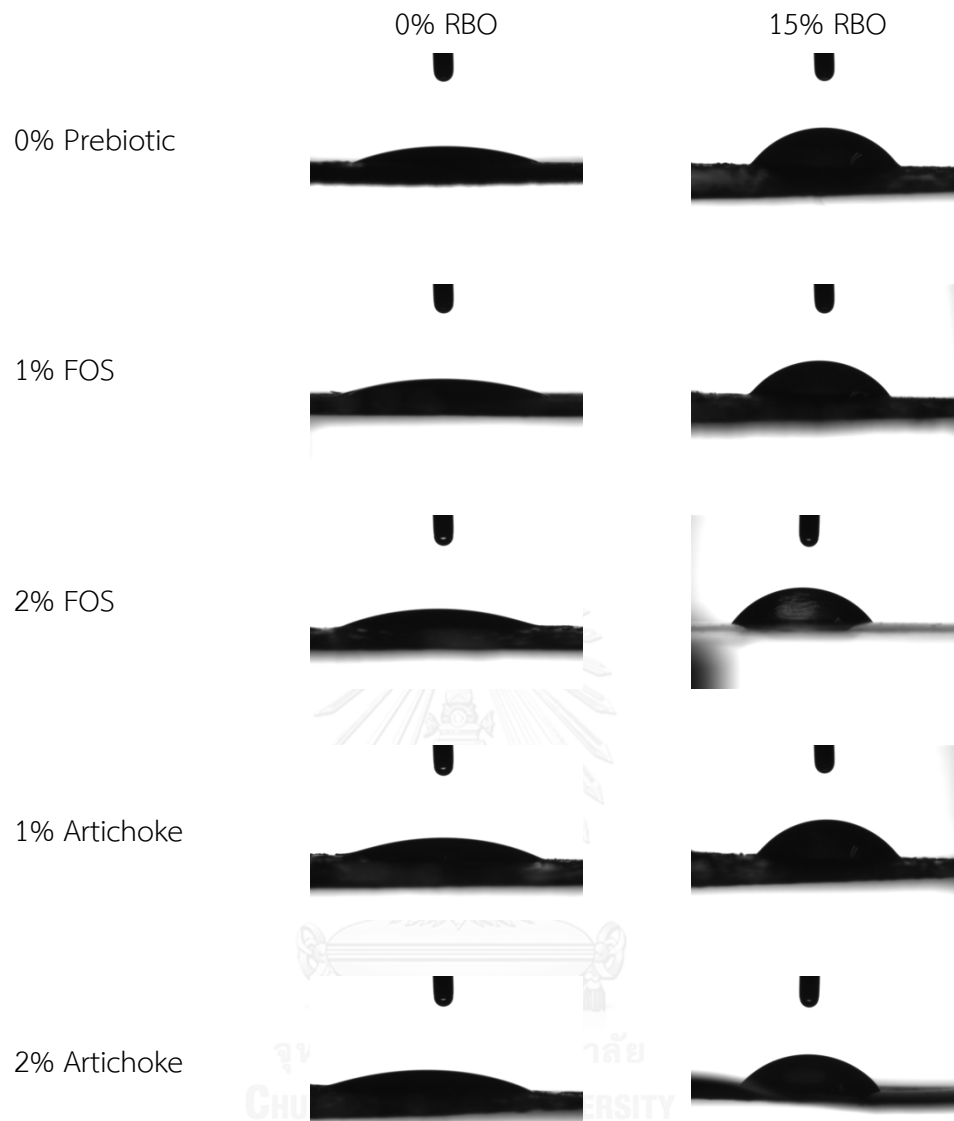
มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวของตัวอย่างฟิล์มที่เติมโพรไบโอติกและพรีไบโอติก แสดงดังตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.17 พบว่าการเติมพรีไบโอติกไม่มีผลต่อมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม โดยฟิล์มที่ไม่เติมลิพิดซึ่งเติมหรือไม่เติมพรีไบโอติกก็ตามมีมุมสัมผัสไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 12.88-15.60 องศา ในทำนองเดียวกัน ฟิล์มที่เติมน้ำมันรำข้าวเข้มข้น 15% ซึ่งเติมหรือไม่เติมพรีไบโอติกก็ตามมีมุมสัมผัสไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) โดยมีค่าอยู่ในช่วง 51.26-54.40 องศา

ตารางที่ 4.5 มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวของฟิล์มโพรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิปิดและที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) เข้มข้น 15% ซึ่งเติมพรีไบโอติกออลิโกฟรุคโทส (FOS) และสารสกัดจากแก่นตะวัน (Artichoke)

ตัวอย่าง	มุมสัมผัส (องศา)	
	0% RBO	15% RBO
0% FOS	15.60±3.36 ^b	54.40±2.70 ^a
1% FOS	13.61±3.24 ^b	54.05±2.72 ^a
2% FOS	15.12±1.01 ^b	51.26±1.45 ^a
0% Artichoke	15.60±3.36 ^b	54.40±2.70 ^a
1% Artichoke	12.88±1.89 ^b	52.69±2.64 ^a
2% Artichoke	14.49±3.37 ^b	51.71±2.71 ^a

ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

a, b ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

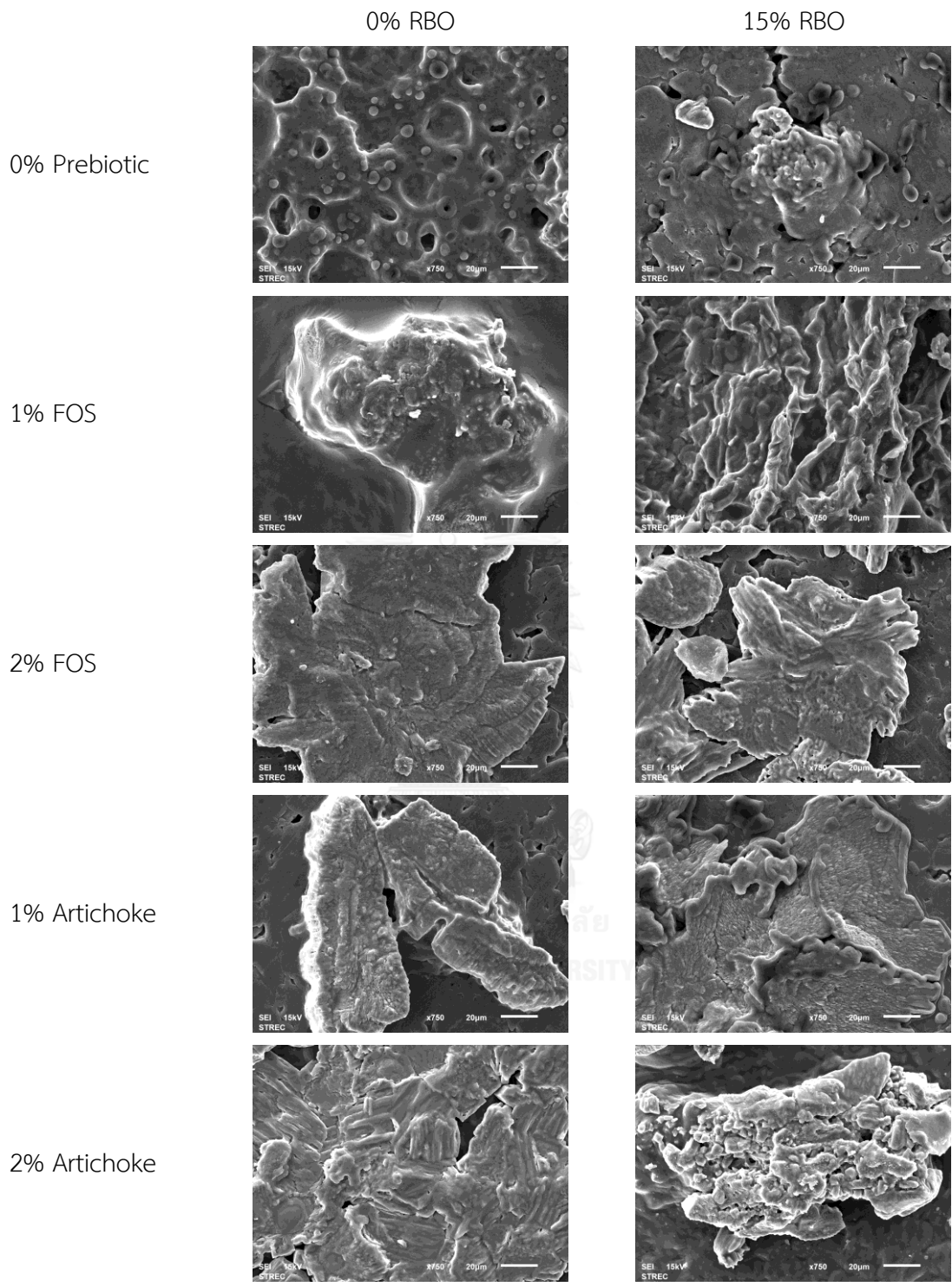


รูปที่ 4.17 มุมสัมผัสของฟิล์มโพรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิพิดและที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) เข้มข้น 15% ซึ่งเติมพรีไบโอติกออลิโกฟรุกโทส (FOS) และสารสกัดจากแก่นตะวัน (Artichoke)

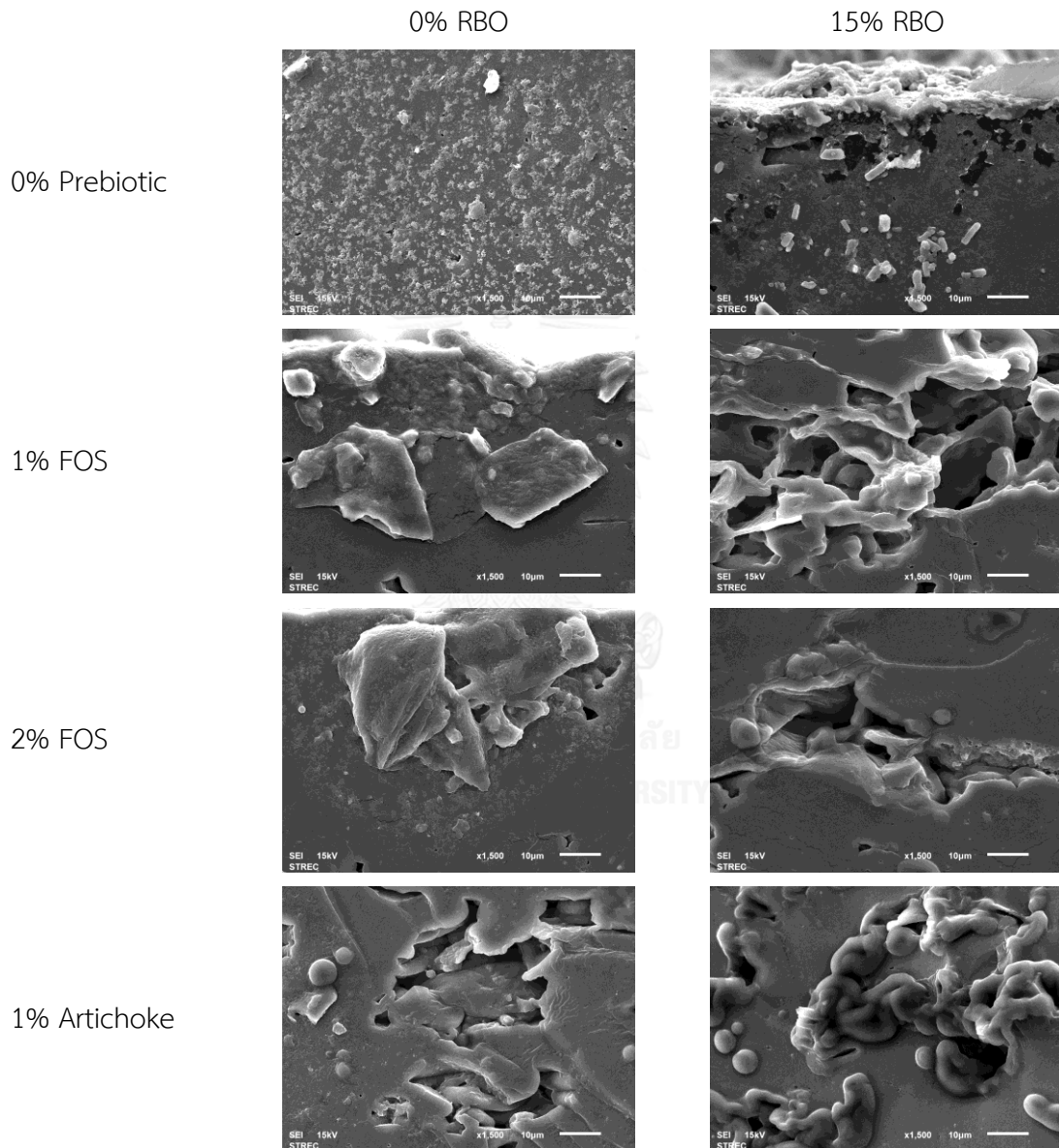
4.3.8 ลักษณะพื้นผิวและลักษณะภาคตัดขวาง

ลักษณะพื้นผิวและลักษณะภาคตัดขวางของตัวอย่างฟิล์ม แสดงดังรูปที่ 4.18 และ 4.19

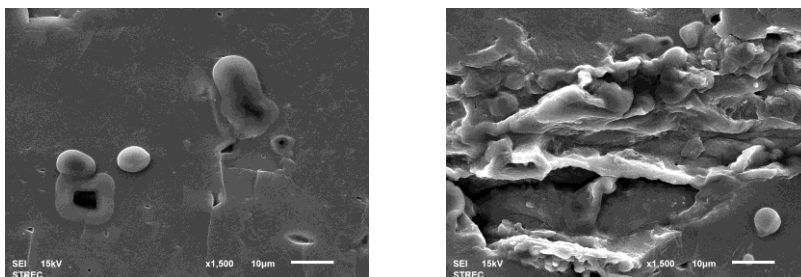
ตามลำดับ



รูปที่ 4.18 ลักษณะพื้นผิวของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิพิดและที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) เข้มข้น 15% ซึ่งเติมพรีไบโอติกโอลิโกฟรุคโทส (FOS) และสารสกัดจากแก่นตะวัน (Artichoke) ถ่ายที่กำลังขยาย 750 เท่า



2% Artichoke



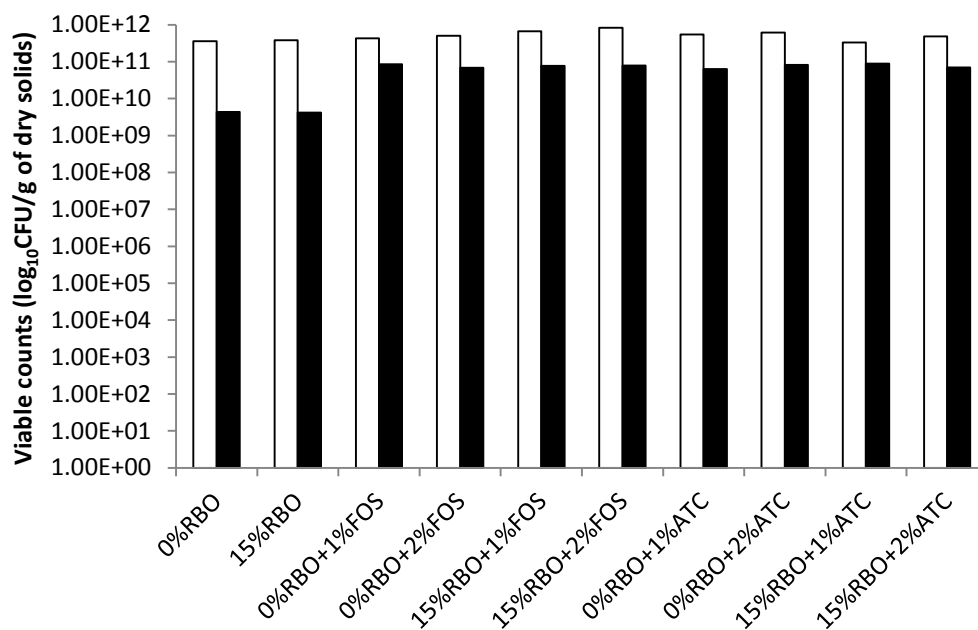
รูปที่ 4.19 ลักษณะภาคตัดขวางของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิพิดและที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) เข้มข้น 15% ซึ่งเติมพรีไบโอติกออลิโกฟรุคโทส (FOS) และสารสกัดจากแก่นตะวัน (Artichoke) ถ่ายที่กำลังขยาย 750 เท่า

จากลักษณะพื้นผิวและลักษณะภาคตัดขวางของฟิล์มที่เติมพรีไบโอติกและโพรไบโอติก (รูปที่ 4.18 และ 4.19) พบว่าการเติมพรีไบโอติกมีผลอย่างมากต่อลักษณะโครงสร้างของเนื้อฟิล์ม โดยพบว่าฟิล์มที่เติมออลิโกฟรุคโทสหรือสารสกัดจากแก่นตะวันมีเนื้อฟิล์มที่หยาบและไม่สม่ำเสมอ เป็นเนื้อเดียวกัน อย่างไรก็ตามฟิล์มที่เติมออลิโกฟรุคโทสและฟิล์มที่เติมสารสกัดจากแก่นตะวันมีลักษณะพื้นผิวและลักษณะภาคตัดขวางที่ใกล้เคียงกัน Soukoulis et al. (2014a) รายงานว่าการเติมพรีไบโอติก ได้แก่ อินูลิน พอลิเด็คซ์โทรส กลูโคออลิโกแซกคาไรด์ และเด็กซ์ทรินจากข้าวสาลี ไม่ทำให้ฟิล์มมีความแตกต่างกันด้านโครงสร้างที่ศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด แต่ที่กำลังขยายดังกล่าวยังไม่สามารถสังเกตเห็นเซลล์จุลินทรีย์ที่เติมลงไปบนแผ่นฟิล์มได้อย่างชัดเจน อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าในกรณีฟิล์มที่เติมพรีไบโอติกอาจสังเกตเห็นจุลินทรีย์โพรไบโอติกได้ยากกว่า นอกจากนี้ Romano et al. (2014) ยังรายงานว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่เติมลงไปบนฟิล์มจะแทรกตัวอยู่ในเนื้อฟิล์มและไม่พบการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเซลล์

4.3.9 ปริมาณจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่รอดชีวิต

4.3.9.1 ปริมาณจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่รอดชีวิตก่อนและหลังการอบแห้งฟิล์ม

ในงานวิจัยนี้เซลล์ที่ผสมในฟิล์มใช้วิธีการเตรียมในรูปแบบของเซลล์สด ทั้งนี้เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับใช้เป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมจริงในประเด็นของการลดต้นทุนการผลิต โดยรูปที่ 4.20 แสดงปริมาณจุลินทรีย์ *L. paracasei* Lpc-37 ในสารละลายฟิล์ม (ก่อนการอบแห้งฟิล์ม) และในแผ่นฟิล์มหลังจากอบแห้งที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าการอบแห้งมีผลให้ปริมาณโพรไบโอติกลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) อย่างไรก็ตามการเติมพรีไบโอติกมีส่วนช่วยในการอยู่รอดของจุลินทรีย์ ซึ่งจะเห็นได้จากการที่มีปริมาณจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตสูงกว่าตัวอย่างที่ไม่เติมพรีไบโอติก โดยฟิล์มที่ไม่เติมพรีไบโอติกมีปริมาณเชื้อที่รอดชีวิต $9 \log_{10}\text{CFU/g}$ ในขณะที่ฟิล์มที่เติมอลิโกพรุคโทสหรือสารสกัดจากแก่นตะวันมีปริมาณเชื้อที่รอดชีวิตใกล้เคียงกันคือประมาณ $10 \log_{10}\text{CFU/g}$ ก่อนหน้านี้ Soukoulis et al. (2014a) รายงานว่าฟิล์มเจลาตินที่เติมพรีไบโอติกชนิดต่างกันมีปริมาณจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตหลังการทำแห้งต่างกัน โดยพบว่า *Lactobacillus rhamnosus* GG มีการรอดชีวิตสูงกว่าในตัวอย่างที่เติมกลูโค ออลิโกแซคคาไรด์หรือพอลิเด็กซ์โทรส และมีการรอดชีวิตต่ำกว่าในตัวอย่างที่เติมอินูลินหรือเด็กซ์ทริน จากข้าวสาลี นอกจากนี้ในงานวิจัยนี้ยังพบว่าความเข้มข้นของพรีไบโอติกที่ใช้ไม่มีผลต่อการรอดชีวิตของโพรไบโอติก โดยตัวอย่างที่เติมพรีไบโอติกในปริมาณ 1 และ 2% มีปริมาณเชื้อที่รอดชีวิตใกล้เคียงกัน โดยในขั้นตอนการเตรียมฟิล์มที่มีจุลินทรีย์โพรไบโอติกนั้นมี 2 สาเหตุหลักที่อาจมีผลทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ลดลง ได้แก่ ผลจากแรงดันออสโมติกของสารละลายฟิล์ม และภาวะที่ใช้ในการอบแห้งสารละลายฟิล์ม นอกจากนี้ความสามารถในการเคลื่อนที่ของตัวทำละลายซึ่งเป็นผลจากลักษณะทางกายภาพของฟิล์มยังอาจมีอิทธิพลต่อการรอดชีวิตของจุลินทรีย์โพรไบโอติกด้วย



รูปที่ 4.20 ปริมาณ *L. paracasei* Lpc-37 ที่มีชีวิตก่อนและหลังการอบแห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ของฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิปิดและที่เติมน้ำมันรำข้าว (RBO) เข้มข้น 15% ซึ่งเติมพรีไบโอติกออลิโกฟรุกโทส (FOS) และสารสกัดจากแก่นตะวัน (ATC)

4.3.9.2 ปริมาณจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่รอดชีวิตระหว่างการเก็บรักษาฟิล์ม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การรอดชีวิตของ *L. paracasei* Lpc-37 ในตัวอย่างฟิล์มระหว่างการเก็บ

รักษาที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลา 10 วัน แสดงดังตารางที่ 4.6 สำหรับงานวิจัยนี้กำหนดให้ปริมาณโพรไบโอติกเริ่มต้นในสารละลายฟิล์มมีค่าเท่ากับ $11 \log_{10} \text{CFU/g}$ พบว่าตัวอย่างฟิล์มมีปริมาณจุลินทรีย์โพรไบโอติกลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น โดยที่ระยะเวลาการเก็บรักษาหนึ่งๆ ฟิล์มที่เติมพรีไบโอติกมีปริมาณจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่รอดชีวิตสูงกว่าฟิล์มที่ไม่เติมพรีไบโอติก และภายใต้สภาวะการเก็บดังกล่าวเซลล์ที่มีชีวิตของจุลินทรีย์โพรไบโอติกฟิล์มที่เติมสารพรีไบโอติกใน 3 วันแรกมีการลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญ หลังจากนั้นจะเริ่มลดจำนวนลงวันละ 1 log cycle ไปจนถึงวันที่ 10 ของการเก็บ โดยความเข้มข้นของน้ำมันรำข้าวและความเข้มข้นของพรีไบโอติกไม่มี

ผลต่อการรอดชีวิตของโพรไบโอติก โดยมีรายงานว่าออลิโกฟรุกโทสเป็นสารที่นิยมใช้ในการปกป้อง จุลินทรีย์ lactobacilli ในกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง โดยน้ำตาลที่เป็นหน่วยย่อยใน โมเลกุลฟรุโทสสามารถเกิดอันตรกิริยากับหมู่ฟอสเฟตของเมมเบรนลิพิด ช่วยให้เซลล์จุลินทรีย์มี เสถียรภาพในภาวะที่แห้ง โดยเซลล์เมมเบรนจะยังคงรักษาวัฏภาคผลึกเหลว (liquid crystalline phase) แม้ว่าจะถูกทำแห้งก็ตาม (Hincha et al., 2003) Soukoulis et al. (2014a) รายงานผลใน ทำนองเดียวกันว่าฟิล์มเจลลาตินที่เติมโพรไบโอติกมีปริมาณเชื้อลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษา เพิ่มขึ้น โดยมีปัจจัยหลายประการที่ส่งผลต่อการรอดชีวิตของโพรไบโอติก ได้แก่ อุณหภูมิการเก็บ รักษาฟิล์ม และสถานะของจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ใช้ Altamirano-Fortoul et al. (2012) รายงาน ว่าสถานะของโพรไบโอติกที่ต่างกันสามารถส่งผลการรอดชีวิตของเชื้อในฟิล์ม สำหรับงานวิจัยนี้ใช้ เชื้อสดเติมลงในสารละลายฟิล์มซึ่งทำให้เชื้อต้องปรับตัวมากขึ้นจากภาวะที่เปลี่ยนแปลงไปว่าการใช้ เชื้อที่อยู่ในภาวะแห้ง โดยจะเห็นได้ว่า แม้สภาวะของฟิล์มที่เตรียมได้จะทำให้มีปริมาณน้ำอิสระน้อย จนจุลินทรีย์ไม่สามารถใช้ในการดำเนินกิจกรรมการเจริญได้ แต่สภาวะภายในของเซลล์สดนั้นจะยังคง มีการดำเนินกิจกรรมอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากเอนไซม์ภายในเซลล์ยังคงทำงาน (เนื่องจากไม่ถูกยับยั้ง ด้วยอุณหภูมิอบแห้ง 40 องศาเซลเซียส) ดังนั้นเซลล์จึงมีการเสื่อมสลายและลดจำนวนลงไปใน ระหว่างการเก็บดังกล่าวได้ อย่างไรก็ตามข้อมูลที่ได้สามารถใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาต่อไป โดย หากต้องการเพิ่มอัตราการรอดของจุลินทรีย์โพรไบโอติกในฟิล์มอาจทำได้โดยการเก็บรักษาฟิล์ม ภายใต้อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส เพื่อลดกิจกรรมต่างๆ ของเซลล์ และ/หรือเพิ่ม อุณหภูมิทำแห้งที่สามารถยับยั้งเอนไซม์ในเซลล์ไปพร้อมกับการทำแห้งฟิล์มได้

ตารางที่ 4.6 ปริมาณจุลินทรีย์ *L. paracasei* LPC-37 (\log_{10} CFU/g) ของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมโพรไบโอติกและพรีไบโอติกที่ความเข้มข้นต่างกัน

Treatment	Solution ^{ns}	Day 1	Day 2	Day 3	Day 4	Day 5	Day 6	Day 7	Day 8 ¹	Day 9 ¹	Day 10 ¹
0%RBO	11.55	9.64 ^b	8.83 ^b	7.59 ^b	5.65 ^b	4.73 ^b	3.83 ^b	1.76 ^b	< 10	< 10	< 10
15%RBO	11.58	9.62 ^b	8.56 ^b	7.82 ^b	5.84 ^b	4.71 ^b	3.75 ^b	1.71 ^b	< 10	< 10	< 10
0%RBO+1%FOS	11.63	10.93 ^a	10.58 ^a	9.74 ^a	8.74 ^a	7.77 ^a	5.76 ^a	4.68 ^a	3.45	1.84	< 10
0%RBO+2%FOS	11.70	10.83 ^a	10.68 ^a	9.73 ^a	8.87 ^a	7.81 ^a	5.84 ^a	4.74 ^a	2.70	1.81	< 10
15%RBO+1%FOS	11.83	10.88 ^a	10.75 ^a	9.81 ^a	8.78 ^a	7.68 ^a	5.87 ^a	4.75 ^a	2.93	1.78	< 10
15%RBO+2%FOS	11.92	10.89 ^a	10.65 ^a	9.75 ^a	8.83 ^a	7.77 ^a	5.93 ^a	4.83 ^a	2.85	1.82	< 10
0%RBO+1%ATC	11.73	10.80 ^a	10.64 ^a	9.81 ^a	8.83 ^a	7.75 ^a	5.81 ^a	4.84 ^a	2.88	1.76	< 10
0%RBO+2%ATC	11.79	10.91 ^a	10.68 ^a	9.80 ^a	8.75 ^a	7.84 ^a	5.92 ^a	4.75 ^a	3.21	1.79	< 10
15%RBO+1%ATC	11.52	10.94 ^a	10.55 ^a	9.71 ^a	8.81 ^a	7.85 ^a	5.72 ^a	4.77 ^a	3.43	1.68	< 10
15%RBO+2%ATC	11.68	10.84 ^a	10.72 ^a	9.74 ^a	8.75 ^a	7.86 ^a	5.75 ^a	4.67 ^a	3.23	1.77	< 10

a, b... อักษรตัวพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างสายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก ($p \leq 0.05$)

^{ns} 1 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$)

¹ ค่าเฉลี่ยไม่ได้วิเคราะห์ทางสถิติ

Lpc-37 = *L. paracasei* LPC-37, RBO = น้ำมันรำข้าว (Rice bran oil), FOS = ออลิโกฟรุคโทส และ ATC = แก่นตะวัน

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาผลของชนิดและความเข้มข้นของลิพิดต่อสมบัติของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัด พบว่า การเติมลิพิดมีผลต่อคุณสมบัติของฟิล์ม โดยฟิล์มที่ได้จะมีความหนา มากกว่าฟิล์มที่ไม่เติมลิพิด เมื่อเปรียบเทียบระหว่างชนิดของลิพิด พบว่าฟิล์มที่เติมไขรำข้าวมีความหนาเฉลี่ยสูงกว่าฟิล์มที่เติมน้ำมันรำข้าว ซึ่งปริมาณไขรำข้าวที่มากขึ้นส่งผลให้ฟิล์มที่ได้มีความหนา มากขึ้นตามไปด้วย สำหรับคุณสมบัติด้านความต้านทานแรงดึงขาดและการยึดตัวถึงจุดขาด พบว่า ฟิล์มอิมัลชันจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดมีค่าต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม โดยเมื่อความเข้มข้นของลิพิด เพิ่มขึ้น ฟิล์มที่ได้มีความต้านทานแรงดึงขาดและการยึดตัวถึงจุดขาดลดลง เมื่อเปรียบเทียบ ระหว่างชนิดของลิพิด พบว่าฟิล์มที่เติมไขรำข้าวมีความต้านทานแรงดึงขาดและการยึดตัวถึงจุดขาดต่ำ กว่าฟิล์มที่เติมน้ำมันรำข้าว ด้านความโปร่งแสงของฟิล์ม พบว่า การเติมลิพิดมีผลต่อความโปร่งแสง ของฟิล์ม โดยฟิล์มที่เติมน้ำมันรำข้าวมีความโปร่งแสงต่ำกว่าฟิล์มที่เติมไขรำข้าวที่ความเข้มข้น เดียวกัน นอกจากนี้การเติมลิพิดทำให้ค่า L^* ของตัวอย่างฟิล์มมีแนวโน้มลดลง ซึ่งพบว่า $+a^*$ (สีแดง) และ $+b^*$ (สีเหลือง) มีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของลิพิดเพิ่มขึ้น สำหรับคุณสมบัติของสภาพให้ ซึมผ่านได้ของไอน้ำ พบว่า ฟิล์มที่เติมน้ำมันรำข้าวหรือไขรำข้าวมีสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำต่ำกว่า ฟิล์มที่ไม่เติมลิพิด เมื่อเปรียบเทียบชนิดของลิพิด พบว่า การเติมน้ำมันรำข้าวทำให้ฟิล์มที่ได้มีสภาพให้ ซึมผ่านได้ของไอน้ำต่ำกว่าการเติมไขรำข้าวที่ความเข้มข้นเท่ากัน ยกเว้นฟิล์มที่เติมน้ำมันรำข้าว 20% ด้านความสามารถในการละลายน้ำ พบว่า ฟิล์มอิมัลชันมีความสามารถในการละลายน้ำลดลงเมื่อ ความเข้มข้นของลิพิดเพิ่มขึ้น โดยชนิดของลิพิดไม่มีผลต่อความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์ม อิมัลชัน สำหรับมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม พบว่า การเพิ่มความเข้มข้นของน้ำมันรำข้าวหรือ

ไขรำข้าว ทำให้มุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์มมีค่าเพิ่มขึ้นตามไปด้วย นอกจากนี้ เมื่อพิจารณาถึงลักษณะพื้นผิวและลักษณะภาคตัดขวาง พบว่า การเติมลิวพิดิทำให้ฟิล์มปรากฏลักษณะของเม็ดลิวพิดิอยู่ทั่วทั้งเนื้อฟิล์ม

ในการทดสอบความสามารถการใช้พรีไบโอติกของโพรไบโอติกด้วยการประเมินจาก prebiotic activity score พบว่าคู่ของโพรไบติกและพรีไบโอติกทางการค้าที่มีค่า prebiotic activity score สูงที่สุด ได้แก่ *L. paracasei* Lpc-37 กับออลิโกฟรุคโทส และคู่ของโพรไบติกและสารสกัดจากพืชที่มีพรีไบโอติกที่มีค่า prebiotic activity score สูงที่สุด ได้แก่ *L. paracasei* Lpc-37 กับสารสกัดจากแก่นตะวัน

การพัฒนาฟิล์มอิมัลชันบริโภคน้ำได้จากโปรตีนถั่วเหลืองที่เติมคู่ของโพรไบโอติกและพรีไบโอติกที่มี prebiotic activity score สูงที่สุด พบว่าการเติมออลิโกฟรุคโทสไม่มีผลต่อความหนาของฟิล์ม ขณะที่สารสกัดจากแก่นตะวันส่งผลให้ฟิล์มมีความหนาเพิ่มขึ้น สำหรับความต้านทานแรงดึงขาด พบว่าเมื่อความเข้มข้นของออลิโกฟรุคโทสเพิ่มขึ้น ฟิล์มที่ได้จะมีความต้านทานแรงดึงขาดเพิ่มขึ้น แต่เมื่อเติมสารสกัดจากแก่นตะวัน พบว่าฟิล์มมีความต้านทานแรงดึงขาดลดลง แต่ไม่มีผลต่อการยึดตัวถึงจุดขาด ด้านคุณสมบัติความโปร่งแสงของฟิล์ม พบว่า การเติมสารพรีไบโอติก ทำให้ฟิล์มที่ได้มีร้อยละของแสงส่องผ่านลดลง นอกจากนี้การเติมออลิโกฟรุคโทสลงในฟิล์มทำให้ค่า L^* มีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย ในขณะที่การเติมสารสกัดจากแก่นตะวันทำให้ค่า L^* ลดลง ในขณะเดียวกันพบว่าการเติมออลิโกฟรุคโทสหรือสารสกัดจากแก่นตะวันมีผลค่อนข้างน้อยต่อค่า a^* และ b^* รวมทั้งค่ามุมสีและความเข้มสีของทั้งฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิวพิดิและฟิล์มที่เติมน้ำมันรำข้าว 15% ในส่วนของสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ พบว่าการเติมออลิโกฟรุคโทสไม่มีผลต่อสภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของทั้งฟิล์มโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่ไม่เติมลิวพิดิและฟิล์มที่เติมน้ำมันรำข้าว 15% ขณะที่การเติมสารสกัด

จากแก่นตะวันส่งผลให้สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มเพิ่มขึ้น ด้านคุณสมบัติการละลายน้ำ จากการศึกษาพบว่า ทั้งการเติมออลิโกฟรุคโทสและสารสกัดจากแก่นตะวันไม่มีผลต่อความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์ม เช่นเดียวกับมุมสัมผัสระหว่างหยดน้ำกับผิวฟิล์ม สำหรับโครงสร้างของเนื้อฟิล์ม พบว่าการเติมพรีไบโอติกมีผลอย่างมากต่อลักษณะเนื้อฟิล์ม โดยพบว่าฟิล์มที่เติมออลิโกฟรุคโทสหรือสารสกัดจากแก่นตะวันมีเนื้อฟิล์มที่หยาบและไม่สม่ำเสมอเป็นเนื้อเดียวกัน

สำหรับการศึกษาปริมาณจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่รอดชีวิต พบว่าการอบแห้งมีผลให้ปริมาณโพรไบโอติกลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) อย่างไรก็ตามการเติมพรีไบโอติกมีส่วนช่วยในการอยู่รอดของจุลินทรีย์ ซึ่งจะเห็นได้จากการที่มีปริมาณจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตสูงกว่าตัวอย่างที่ไม่เติมพรีไบโอติก โดยฟิล์มที่ไม่เติมพรีไบโอติกมีปริมาณเชื้อที่รอดชีวิต $9 \log_{10} \text{CFU/g}$ ในขณะที่ฟิล์มที่เติมออลิโกฟรุคโทสหรือสารสกัดจากแก่นตะวันมีปริมาณเชื้อที่รอดชีวิตใกล้เคียงกันคือประมาณ $10 \log_{10} \text{CFU/g}$

เมื่อพิจารณาถึงปริมาณจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่รอดชีวิตระหว่างการเก็บรักษาฟิล์มที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) เป็นระยะเวลา 10 วัน พบว่าตัวอย่างฟิล์มมีปริมาณจุลินทรีย์โพรไบโอติกลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น โดยที่ระยะเวลาการเก็บรักษาหนึ่งๆ ฟิล์มที่เติมพรีไบโอติกมีปริมาณจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่รอดชีวิตสูงกว่าฟิล์มที่ไม่เติมพรีไบโอติกซึ่งความเข้มข้นของน้ำมันรำข้าวและความเข้มข้นของพรีไบโอติกไม่มีผลต่อการรอดชีวิตของโพรไบโอติก

รายการอ้างอิง

- Aidoo, R. P., Afoakwa, E. O., and Dewettinck, K. (2014). Optimization of inulin and polydextrose mixtures as sucrose replacers during sugar-free chocolate manufacture – Rheological, microstructure and physical quality characteristics. *Journal of Food Engineering* **126**, 35-42.
- Aidoo, R. P., Depypere, F., Afoakwa, E. O., and Dewettinck, K. (2013). Industrial manufacture of sugar-free chocolates – Applicability of alternative sweeteners and carbohydrate polymers as raw materials in product development. *Trends in Food Science & Technology* **32**, 84-96.
- Altamirano-Fortoul, R., Moreno-Terrazas, R., Quezada-Gallo, A., and Rosell, C. M. (2012). Viability of some probiotic coatings in bread and its effect on the crust mechanical properties. *Food Hydrocolloids* **29**, 166-174.
- Anadón, A., Martínez-Larrañaga, M. R., Arés, I., and Martínez, M. A. (2016). Chapter 1 - Prebiotics and Probiotics: An Assessment of Their Safety and Health Benefits A2 - Watson, Ronald Ross. In "Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics" (V. R. Preedy, ed.), pp. 3-23. Academic Press.
- ASTM (1999). "Annual Book of ASTM Standards," American Society for Testing and Materials, Philadelphia.
- Avena-Bustillos, R. J., and Krochta, J. M. (1993). Water Vapor Permeability of Caseinate-Based Edible Films as Affected by pH, Calcium Crosslinking and Lipid Content. *Journal of Food Science* **58**, 904-907.
- Baldwin, E. A. (1994). Edible coatings for fresh fruits and vegetables: past, present and future. In: Krochta, J.M., Baldwin, E.A., Nisperos-Carriedo, M. (Eds.), *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality.*, 25-64.
- Carpiné, D., Dagostin, J. L. A., de Andrade, E. F., Bertan, L. C., and Mafra, M. R. (2016). Effect of the natural surfactant *Yucca schidigera* extract on the properties of biodegradable emulsified films produced from soy protein isolate and coconut oil. *Industrial Crops and Products* **83**, 364-371.

- Charteris, W. P., Kelly, P. M., Morelli, L., and Collins, J. K. (2001). Antibacterial activity associated with *Lactobacillus gasseri* ATCC 9857 from the human female genitourinary tract. *World Journal of Microbiology & Biotechnology* **17**, 615-625.
- Costa, M. J., Cerqueira, M. A., Ruiz, H. A., Fougnyes, C., Richel, A., Vicente, A. A., Teixeira, J. A., and Aguedo, M. (2015). Use of wheat bran arabinoxylans in chitosan-based films: Effect on physicochemical properties. *Industrial Crops and Products* **66**, 305-311.
- Coussement, P. (1999). Inulin and oligofructose as dietary fiber: Analytical, nutritional and legal aspects. *Carbohydrates in Foods*, 203-227.
- Craig, S. A. S., Helden, J. F., Troup, J. P., Auerbach, M. H., and Frier, H. I. (1998). Polydextrose as soluble fiber: Physiological and analytical aspects. *Cereal Food World* **43**, 370-376.
- Cuq, B., Gontard, N., Cuq, J. L., and Guilbert, S. (1997). Selected functional of fish myofibrillar protein-based films as affected by hydrophilic plasticizers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **45**, 622-626.
- Dassanayake, L. S. K., Kodali, D. R., Ueno, S., and Sato, K. (2009). Physical Properties of Rice Bran Wax in Bulk and Organogels. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **86**, 1163-1173
- Figdor, S. K., and Bianchine, J. R. (1983). Caloric utilization and disposition of [¹⁴C]polydextrose in man. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **31**, 389-393.
- Figdor, S. K., and Rennhard, H. H. (1981). Caloric utilization and disposition of [¹⁴C]polydextrose in rat. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **29**, 118-1189.
- Garrido, T., Etxabide, A., Peñalba, M., de la Caba, K., and Guerrero, P. (2013). Preparation and characterization of soy protein thin films: Processing-properties correlation. *Materials Letters* **105**, 110-112.
- Gennadios, A. (2002). Soft gelation capsules *Protein-Based Films and Coatings*, 393-443.

- Gennadios, A., Hanna, M. A., and Kurth, L. B. (1997). Application of Edible Coatings on Meats, Poultry and Seafoods: A Review. *LWT - Food Science and Technology* **30**, 337-350.
- Gennadios, A., McHugh, T. H., Weller, C. L., and Krochta, J. M. (1994). Edible coating and films based on protein. *Edible Coatings and Films to Improve Food Quality*, 201-277.
- Gennadios, A., and Weller, C. L. (1990). Edible films and coatings from wheat and corn proteins. *Food Technology* **44**, 63-69.
- Gibson, G. R., and Roberfroid, M. B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition* **125**, 1401-1412.
- Greener, I. K., and Fennema, O. (1989). Barrier Properties and Surface Characteristics of Edible, Bilayer Films. *Journal of Food Science* **54**, 1393-1399.
- Guerrero, P., and de la Caba, K. (2010). Thermal and mechanical properties of soy protein films processed at different pH by compression. *Journal of Food Engineering* **100**, 261-269.
- Guerrero, P., Garrido, T., Leceta, I., and de la Caba, K. (2013). Films based on proteins and polysaccharides: Preparation and physical–chemical characterization. *European Polymer Journal* **49**, 3713-3721.
- Guerrero, P., Leceta, I., Peñalba, M., and de la Caba, K. (2014). Optical and mechanical properties of thin films based on proteins. *Materials Letters* **124**, 286-288.
- Guilbert, S., and Gontard, N. (1995). Edible and biodegradable food packaging. In: *Ackermann, P., Jaegerstad, M., Ohlsson, T. (Eds.), Foods and Packaging Materials—Chemical Interactions. The Royal Society of Chemistry, Cambridge, U.K*, 159-168.
- Guilbert, S., Gontard, N., and Gorris, L. G. M. (1996). Prolongation of the Shelf-life of Perishable Food Products using Biodegradable Films and Coatings. *LWT - Food Science and Technology* **29**, 10-17.

- Gurgel, M., Vieira, A., Altenhofen, M., Oliveira, L., and Beppu, M. M. (2011). Natural based plasticizers and biopolymer films: a review. *European Polymer Journal* **47**, 254-263.
- Han, J. H. (2014). Chapter 9 - Edible Films and Coatings: A Review. In "Innovations in Food Packaging (Second Edition)", pp. 213-255. Academic Press, San Diego.
- Han, J. H., Seo, G. H., Park, I. M., Kim, G. N., and Lee, D. S. (2006). Physical and Mechanical Properties of Pea Starch Edible Films Containing Beeswax Emulsions. *Journal of Food Science* **71**, E290-E296.
- Hincha, D. K., Zuther, E., and Heyer, A. G. (2003). The preservation of liposomes by raffinose family oligosaccharides during drying is mediated by effects on fusion and lipid phase transitions. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes* **1612**, 172-177.
- Hopkins, E. J., Chang, C., Lam, R. S. H., and Nickerson, M. T. (2015). Effects of flaxseed oil concentration on the performance of a soy protein isolate-based emulsion-type film. *Food Research International* **67**, 418-425.
- Huebner, J., Wehling, R. L., Parkhurst, A., and Hutkins, R. W. (2008). Effect of processing conditions on the prebiotic activity of commercial prebiotics. *International Dairy Journal* **18**, 287-293.
- Judprasong, K., Tanjor, S., Puwastien, P., and Sungpuag, P. (2011). Investigation of Thai plants for potential sources of inulin-type fructans. *Journal of Food Composition and Analysis* **24**, 642-649.
- Kanmani, P., and Lim, S. T. (2013). Development and characterization of novel probiotic-residing pullulan/starch edible films. *Food Chemistry* **141**, 1041-1049.
- Kantachote, D., Chareunjiratrakul, W., and Umsakul, K. (2008). Antibacterial activities of fermented plant beverages collected in southern Thailand. *Journal of Biological Sciences* **8**, 1280-1288.
- Kester, J. J., and Fennema, O. (1989). An Edible Film of Lipids and Cellulose Ethers: Barrier Properties to Moisture Vapor Transmission and Structural Evaluation. *Journal of Food Science* **54**, 1383-1389.

- Kester, J. J., and Fennema, O. R. (1986). Edible films and coatings: A review. *Food Technology*. **40**, 47-59.
- Khongkaew, N., Duangmal, K., and Mahawanich, T. (2012). Effect of lipid hydrogenation on moisture barrier and mechanical properties of emulsion film from soy protein. *In "The Pure and Applied Chemistry International Conference 2012"*, The Empress Hotel, Chiang Mai, Thailand.
- Khwalidia, K., Banon, S., Desobry, S., and Hardy, J. (2004). Mechanical and barrier properties of sodium caseinate–anhydrous milk fat edible films. *International Journal of Food Science & Technology* **39**, 403-411.
- Kim, S. J., and Ustunol, Z. (2001). Solubility and Moisture Sorption Isotherms of Whey-Protein-Based Edible Films as Influenced by Lipid and Plasticizer Incorporation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49**, 4388-4391.
- Kristo, E., Biliaderis, C. G., and Zampraka, A. (2007). Water vapour barrier and tensile properties of composite caseinate-pullulan films: Biopolymer composition effects and impact of beeswax lamination. *Food Chemistry* **101**, 753-764.
- Krochta, J. M. (2002). Proteins as raw materials for films and coatings: definitions, current status, and opportunities. *In: Gennadios, A. (Ed.), Protein-Based Films and Coatings*, CRC Press, Boca Raton, 141.
- Krochta, J. M., and De Mulder-Johnston, C. (1997). Edible and biodegradable polymer films: challenges and opportunities. *Food Technology* **51**, 61-74.
- Lingyun, W., Jianhua, W., Xiaodong, Z., Da, T., Yalin, Y., Chenggang, C., Tianhua, F., and Fan, Z. (2007). Studies on the extracting technical conditions of inulin from Jerusalem artichoke tubers. *Journal of Food Engineering* **79**, 1087-1093.
- Mahmoud, R., and Savello, P. A. (1992). Mechanical Properties of and Water Vapor Transferability Through Whey Protein Films. *Journal of Dairy Science* **75**, 942-946.
- Makras, L., Van Acker, G., and De Vuyst, L. (2005). *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* 8700:2 degrades inulin-types fructans exhibiting different degrees of polymerization. *Applied and Environmental Microbiology* **71**, 6531-6537.

- McHugh, T. H., and Krochta, J. M. (1994). Water vapor permeability properties of edible whey protein-lipid emulsion films. *Journal of the American Oil Chemists' Society* **71**, 307-312.
- Mekonnen, T., Mussone, P., Khalil, H., and Bressler, D. (2013). Progress in bio-based plastics and plasticizing modifications. *Journal of Materials Chemistry A* **1**, 13379-13398.
- Miller, K. S., Upadhyaya, S. K., and Krochta, J. M. (1998). Permeability of D-limonene in whey protein films. *J. Food. Sci.* **63**, 244-247.
- Mitchell, H., Auerbach, M. H., and Moppett, F. K. (2001). Polydextrose. In L. O. Nabors (Ed.). *Alternative sweeteners 3 rd ed*, 499-518.
- Moore, K. E. (2011). Biological Analysis of Prebiotics in Various Processed Food Matrices, University of Nebraska-Lincoln.
- Moshfegh, A. J., Friday, J. E., Goldman, J. P., and Chugahuja, J. K. (1999). Presence of inulin and oligofructose in the diets of Americans. *journal of Nutrition* **129**, 1470S-1411S.
- Németh, G., and Izsáki, Z. (2006). Macro- and micro-element content and uptake of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L). *Cereal Res Community* **34**, 567-600.
- Nussinovitch, A. (2003). Water-Soluble Polymer Applications in Foods. *Blackwell Science*, 29-69.
- Ortega-Toro, R., Jiménez, A., Talens, P., and Chiralt, A. (2014). Effect of the incorporation of surfactants on the physical properties of corn starch films. *Food Hydrocolloids* **38**, 66-75.
- Park, H. J. (2000). Development of advanced edible coatings for fruits. *Trends Food Sci. Technol.* **10**, 254-260.
- Park, S. K., Hettiarachchy, N. S., Ju, Z. Y., and Gennadios, A. (2002). Formation and properties of soy protein films and coatings. In: Gennadios, A. (Ed.), Protein-Based Films and Coatings. *CRC Press, Boca Raton, FL*, 123-137.
- Paseephol, T., and Sherkat, F. (2009). Probiotic stability of yogurts containing Jerusalem artichoke inulins during refrigerated storage. *Journal of Functional Foods* **1**, 311-318.

- Perez-gago, M. B., and Krochta, J. M. (2001). Denaturation Time and Temperature Effects on Solubility, Tensile Properties, and Oxygen Permeability of Whey Protein Edible Films. *Journal of Food Science* **66**, 705-710.
- Pérez-Gago, M. B., and Krochta, J. M. (2005). Emulsion and bi-layer edible films. In "Innovations in Food Packaging", pp. 384-402. Academic Press, London.
- Petersen, K., Væggemose Nielsen, P., Bertelsen, G., Lawther, M., Olsen, M. B., Nilsson, N. H., and Mortensen, G. (1999). Potential of biobased materials for food packaging. *Trends in Food Science & Technology* **10**, 52-68.
- Phan The, D., Debeaufort, F., Luu, D., and Voilley, A. (2008). Moisture barrier, wetting and mechanical properties of shellac/agar or shellac/cassava starch bilayer bio-membrane for food applications. *Journal of Membrane Science* **325**, 277-283.
- Pompei, A., Cordisco, L., Raimondi, S., Amaretti, A., Pagnoni, U. M., Matteuzzi, D., and Rossi, M. (2008). In vitro comparison of the prebiotic effects of two inulin-type fructans. *Anaerobe* **14**, 280-286.
- Rautio, M., Jousimies-Somer, H., Kauma, H., Pietarinen, I., Saxelin, M., Tynkkynen, S., and Koskela, M. (1999). Liver Abscess Due to a *Lactobacillus rhamnosus* Strain Indistinguishable from *L. rhamnosus* Strain GG. *Clinical Infectious Diseases* **28**, 1159-1160.
- Reid, G., Bruce, A. W., Fraser, N., Heinemann, C., Owen, J., and Henning, B. (2001). Oral probiotics can resolve urogenital infections. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* **30**, 49-52.
- Ren, C., Tang, L., Zhang, M., and Guo, S. (2009). Structural Characterization of Heat-Induced Protein Particles in Soy Milk. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **57**, 1921-1926.
- Roberfroid, M., Van, L. J., Delzenne, N., and Coussement, P. (1996). Composition containing inulin or oligofructose for use in cancer treatment. Google Patents.
- Romano, N., Tavera-Quiroz, M. J., Bertola, N., Mobili, P., Pinotti, A., and Gómez-Zavaglia, A. (2014). Edible methylcellulose-based films containing fructo-oligosaccharides as vehicles for lactic acid bacteria. *Food Research International* **64**, 560-566.

- Scott, W. E., McKay, H. H., and Schaffer, P. S. (1949). The partial purification and properties of antibiotic substances from the banana (*Musa sapientum*). *The Journal of Clinical Investigation* **28**, 899-902.
- Shellhammer, T. H., and Krochta, J. M. (1997). Whey Protein Emulsion Film Performance as Affected by Lipid Type and Amount. *Journal of Food Science* **62**, 390-394.
- Shi, W.-J., Tang, C.-H., Yin, S.-W., Yin, Y., Yang, X.-Q., Wu, L.-Y., and Zhao, Z.-G. (2016). Development and characterization of novel chitosan emulsion films via pickering emulsions incorporation approach. *Food Hydrocolloids* **52**, 253-264.
- Shoib, M., Shehzad, A., Omar, M., Rakha, A., Raza, H., Sharif, H. R., Shakeel, A., Ansari, A., and Niazi, S. (2016). Inulin: Properties, health benefits and food applications. *Carbohydrate Polymers* **147**, 444-454.
- Soazo, M., Rubiolo, A. C., and Verdini, R. A. (2011). Effect of drying temperature and beeswax content on physical properties of whey protein emulsion films. *Food Hydrocolloids* **25**, 1251-1255.
- Sothornvit, R., and Krochta, J. M. (2000). Plasticizer Effect on Oxygen Permeability of β -Lactoglobulin Films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **48**, 6298-6302.
- Soukoulis, C., Behboudi-Jobbehdar, S., Yonekura, L., Parmenter, C., and Fisk, I. D. (2014a). Stability of *Lactobacillus rhamnosus* GG in prebiotic edible films. *Food Chemistry* **159**, 302-308.
- Soukoulis, C., Yonekura, L., Gan, H.-H., Behboudi-Jobbehdar, S., Parmenter, C., and Fisk, I. (2014b). Probiotic edible films as a new strategy for developing functional bakery products: The case of pan bread. *Food Hydrocolloids* **39**, 231-242.
- Srisuvor, N. (2010). Production of set-type low-fat yoghurt supplemented with prebiotics and banana puree mixed with probiotic cultures, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand.
- Srisuvor, N., Prakitchaiwattana, C., Chinprahast, N., and Subhimaros, S. (2013). Use of banana purée from three indigenous Thai cultivars as food matrices for

- probiotics and application in bio-set-type yoghurt production. *International Journal of Food Science & Technology* **48**, 1640-1648.
- Subirade, M., Kelly, I., Gueguen, J., and Pezolet, M. (1998). Molecular basis of film formation from a soybean protein: Comparison between the conformation of glycinin in aqueous solution and in films. *International Journal of Biological Macromolecules* **23**, 241-249.
- Tang, C.-H., Jiang, Y., Wen, Q.-B., and Yang, X.-Q. (2005). Effect of transglutaminase treatment on the properties of cast films of soy protein isolates. *Journal of Biotechnology* **120**, 296-307.
- Tientam, N., Khempaka, S., Paengkoum, P., and Boonanuntanasarn, S. (2015). Effects of inulin and Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus*) as prebiotic ingredients in the diet of juvenile Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Animal Feed Science and Technology* **207**, 120-129.
- Turnbaugh, P. J., Ley, R. E., Hamady, M., Fraser-Liggett, C. M., Knight, R., and Gordon, J. I. (2007). The Human Microbiome Project. *Nature* **449**, 804-810.
- Valenzuela, C., Abugoch, L., and Tapia, C. (2013). Quinoa protein–chitosan–sunflower oil edible film: Mechanical, barrier and structural properties. *LWT - Food Science and Technology* **50**, 531-537.
- Van der Meulen, R., Avonts, L., and De Vuyst, L. (2004). Short fractions of oligofructose are preferentially metabolized by *Bifidobacterium animalis* DN-173 010. *Applied and Environmental Microbiology* **70**, 1923-1930.
- Wang, S., Marcone, M., Barbut, S., and Lim, L.-T. (2012). The Impact of Anthocyanin-Rich Red Raspberry Extract (ARRE) on the Properties of Edible Soy Protein Isolate (SPI) Films. *Journal of Food Science* **77**, C497-C505.
- Wu, L. C., and Bates, R. P. (1972). SOY PROTEIN-LIPID FILMS. 1. Studies on the Film Formation Phenomenon. *Journal of Food Science* **37**, 36-39.
- Zhang, W., Xiao, H., and Qian, L. (2014). Beeswax–chitosan emulsion coated paper with enhanced water vapor barrier efficiency. *Applied Surface Science* **300**, 80-85.

Zolfi, M., Khodaiyan, F., Mousavi, M., and Hashemi, M. (2014). The improvement of characteristics of biodegradable films made from kefiran–whey protein by nanoparticle incorporation. *Carbohydrate Polymers* **109**, 118-125.





ภาคผนวก

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ภาคผนวก ก

ข้อมูลเฉพาะของผลิตภัณฑ์

ก.1 โปรตีนถั่วเหลืองสกัด

ผลิตภัณฑ์ของ: บริษัท ไมท์ตี้ อินเตอร์เนชั่นแนล จำกัด, กรุงเทพฯ

ข้อมูลวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์:

ความชื้น	5.36%
โปรตีน	92.0%
ค่าความเป็นกรดต่าง	7.01
Sieve test (ผ่านตะแกรงขนาด 100 ไมโครเมตร)	ไม่ต่ำกว่า 90%

ข้อมูลวิเคราะห์จุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์:

Standard plate count	<100 CFU/g
<i>Salmonella</i>	Negative
<i>Escherichia coli</i>	Negative

ภาคผนวก ข

การตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์

ข. 1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ M9 minimal medium (Srisuvor, 2010)

สารละลายกลูโคส

ผสมกลูโคส 20.0 กรัม ลงในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ผสมให้สารละลายเข้ากันดีแล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

สารละลาย $MgSO_4 \cdot 7H_2O$

ผสม $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 24.65 กรัม ลงในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ผสมให้สารละลายเข้ากันดีแล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

สารละลาย Thiamine HCl

ผสม Thiamine HCl 1.0 กรัม ลงในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ผสมให้สารละลายเข้ากันดีแล้วนำไปกรองด้วย 0.45 ไมโครเมตร sterile membrane filters Whatman®

สารละลาย CaCl₂

ผสม CaCl₂ 1.5 กรัม ลงในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ผสมให้สารละลายเข้ากันดีแล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

M9 minimal medium (ปริมาตรต่อ 1 ลิตร)

Na ₂ HPO ₄	6.0	กรัม
KH ₂ PO ₄	3.0	กรัม
NH ₄ Cl	1.0	กรัม
NaCl	0.5	กรัม
สารละลายกลูโคส	10.0	มิลลิลิตร
MgSO ₄ •7H ₂ O	1.0	มิลลิลิตร
สารละลาย Thiamine HCl	1.0	มิลลิลิตร
สารละลาย CaCl ₂	1.0	มิลลิลิตร

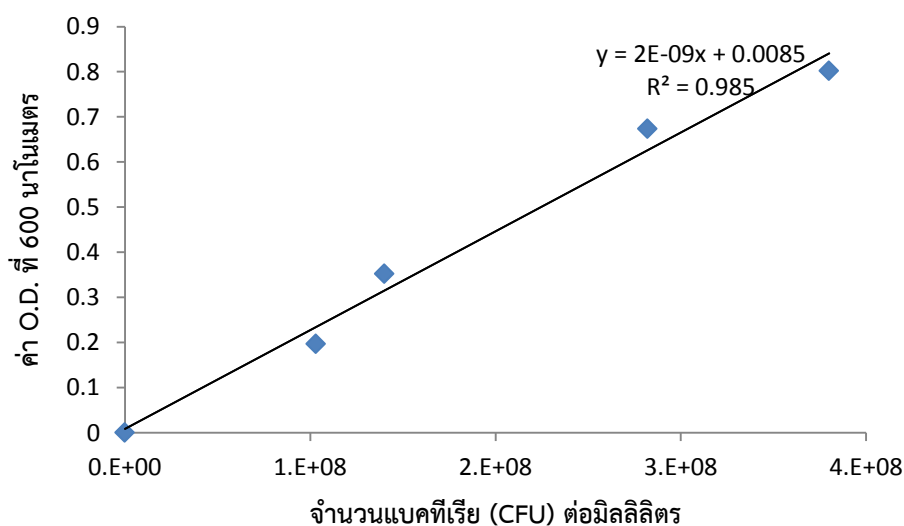
ผสมสารเคมีลงในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 987 มิลลิลิตร pH 7.0 ผสมให้สารละลายเข้ากันดีแล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เมื่อสารละลายเย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้อง เติมสารละลายที่เตรียมไว้ในข้างต้น (สารละลายกลูโคส, สารละลาย MgSO₄•7H₂O, สารละลาย Thiamine HCl และสารละลาย CaCl₂) ผสมให้สารละลายเข้ากัน

ข. 2 การสร้างกราฟมาตรฐานของจำนวนแบคทีเรีย

1. เพาะเลี้ยงจุลินทรีย์บนอาหารแข็ง สำหรับจุลินทรีย์โพรไบโอติกจะใช้อาหารแข็ง MRS บ่มในภาชนะบ่มจุลินทรีย์ชนิดไม่ต้องการอากาศเป็นเวลา 72 ชั่วโมง และสำหรับ *E. coli* จะใช้อาหารแข็ง TSA บ่ม ในบรรยากาศปกติที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2. เลือกโคโลนีเดี่ยวแล้วใช้ลูบเขี่ยเชื่อมมาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MRS และ M9 10 มิลลิลิตรที่บรรจุในหลอดทดลอง แล้วนำหลอดอาหาร MRS มาเพาะเลี้ยงในภาชนะบ่มจุลินทรีย์ชนิดไม่ต้องการอากาศ และหลอดอาหาร M9 มาเพาะเลี้ยงในบรรยากาศปกติที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3. นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้มาตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์ และค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร แล้วนำมาสร้างกราฟมาตรฐานดังแสดงในภาพที่ ข. 1



ภาพที่ ข 1 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนแบคทีเรียกับค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร

ข. 3 การประเมินค่า prebiotic activity score (Huebner et al., 2008)

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตรของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เพาะเลี้ยงในสภาวะต่างๆ มาคำนวณค่า prebiotic activity score ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{Prebiotic activity score} = [(A-B) / (C-D)] - [(E-F) / (G-H)]$$

โดย A = ค่าการดูดกลืนแสงของโพรไบโอติกในอาหาร MRS ที่เติมสารอาหารต่างๆ บ่ม 24 ชั่วโมง

B = ค่าการดูดกลืนแสงของโพรไบโอติกในอาหาร MRS ที่เติมสารอาหารต่างๆ บ่ม 0 ชั่วโมง

C = ค่าการดูดกลืนแสงของโพรไบโอติกในอาหาร MRS ที่เติมกลูโคส บ่ม 24 ชั่วโมง

D = ค่าการดูดกลืนแสงของโพรไบโอติกในอาหาร MRS ที่เติมกลูโคส บ่ม 0 ชั่วโมง

E = ค่าการดูดกลืนแสงของ *E. coli* ในอาหาร M9 ที่เติมสารอาหารต่างๆ บ่ม 24 ชั่วโมง

F = ค่าการดูดกลืนแสงของ *E. coli* ในอาหาร M9 ที่เติมสารอาหารต่างๆ บ่ม 0 ชั่วโมง

G = ค่าการดูดกลืนแสงของ *E. coli* ในอาหาร M9 ที่เติมกลูโคส บ่ม 24 ชั่วโมง

H = ค่าการดูดกลืนแสงของ *E. coli* ในอาหาร M9 ที่เติมกลูโคส บ่ม 0 ชั่วโมง

ภาคผนวก ค

ข้อมูลผลการทดลอง

ตารางที่ ค.1 ความหนาของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมไขรำข้าว (Wax) และน้ำมันรำข้าว (Oil) เข้มข้น 5, 10, 15 และ 20% โดยน้ำหนักของของแข็งโดยรวม

ความเข้มข้นของลิพิด (%)	ความหนา (มิลลิเมตร)	
	น้ำมันรำข้าว	ไขรำข้าว
0	0.150±0.006 ^{de}	0.150±0.006 ^{de}
5	0.160±0.006 ^{de}	0.160±0.011 ^{cd}
10	0.160±0.009 ^{de}	0.170±0.010 ^c
15	0.170±0.003 ^c	0.180±0.016 ^b
20	0.150±0.013 ^e	0.200±0.013 ^a

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

a, b, c, d, e ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ค.2 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมไขรำข้าว (Wax) และน้ำมันรำข้าว (Oil) เข้มข้น 5, 10, 15 และ 20% โดยน้ำหนักของของแข็งโดยรวม

ความเข้มข้นของลิพิด (%)	ความต้านทานแรงดึงขาด (MPa)	
	น้ำมันรำข้าว	ไขรำข้าว
0	1.58±0.25 ^a	1.58±0.25 ^a
5	1.37±0.02 ^b	1.14±0.17 ^c
10	1.30±0.16 ^b	1.06±0.12 ^{cd}
15	1.05±0.19 ^{cd}	0.90±0.17 ^{ef}
20	0.98±0.20 ^{de}	0.83±0.19 ^f

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

a, b, c, d, e, f ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ค.3 การยึดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมไขรำข้าว (Wax) และน้ำมันรำข้าว (Oil) เข้มข้น 5, 10, 15 และ 20% โดยน้ำหนักของของแข็งโดยรวม

ความเข้มข้นของลิพิด (%)	การยึดตัวถึงจุดขาด (%)	
	น้ำมันรำข้าว	ไขรำข้าว
0	220.12±1.32 ^a	220.12±1.32 ^a
5	195.20±74.37 ^{ab}	195.83±21.42 ^{ab}
10	193.32±1.32 ^{ab}	167.89±25.00 ^{ab}
15	187.19±7.32 ^a	160.52±48.71 ^{ab}
20	151.05±69.09 ^{bc}	113.98±72.91 ^c

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

a, b, c ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ค.4 ร้อยละของแสงส่องผ่านของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมไขรำข้าว (Wax) และน้ำมันรำข้าว (Oil) เข้มข้น 5, 10, 15 และ 20% โดยน้ำหนักของของแข็งโดยรวม

ความเข้มข้นของลิพิด (%)	ร้อยละของแสงส่องผ่าน	
	น้ำมันรำข้าว	ไขรำข้าว
0	70.3±4.27 ^a	70.3±4.27 ^a
5	45.0±2.25 ^c	68.3±1.05 ^a
10	37.2±4.76 ^d	55.0±4.56 ^b
15	31.3±6.29 ^e	45.8±6.92 ^c
20	20.5±3.15 ^f	23.4±7.94 ^f

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

a, b, c ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ค.5 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมไขรำข้าว (Wax) และน้ำมันรำข้าว (Oil) เข้มข้น 5, 10, 15 และ 20% โดยน้ำหนักของของแข็งโดยรวม

ความเข้มข้นของลิพิด (%)	สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ($\text{mg mm Pa}^{-1} \text{h}^{-1} \text{m}^{-2}$)	
	น้ำมันรำข้าว	ไขรำข้าว
0	0.68 ± 0.07^a	0.68 ± 0.07^a
5	0.58 ± 0.04^c	0.61 ± 0.06^{bc}
10	0.56 ± 0.05^c	0.58 ± 0.08^c
15	0.50 ± 0.07^d	0.57 ± 0.06^c
20	0.65 ± 0.06^{ab}	0.56 ± 0.03^c

ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

a, b, c, d ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ค.6 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมไขรำข้าว (Wax) และน้ำมันรำข้าว (Oil) เข้มข้น 5, 10, 15 และ 20% โดยน้ำหนักของของแข็งโดยรวม

ความเข้มข้นของลิพิด (%)	การละลาย(%)	
	น้ำมันรำข้าว	ไขรำข้าว
0	87.36 ± 4.73^a	87.36 ± 4.73^a
5	75.83 ± 18.15^{ab}	74.94 ± 18.62^{ab}
10	74.28 ± 17.01^{ab}	72.95 ± 14.14^b
15	71.67 ± 16.06^b	65.13 ± 9.30^b
20	66.86 ± 21.95^b	62.72 ± 11.15^b

ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

a, b ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ค.7 ความหนาของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมโพรไบโอติกและพรีไบโอติกเข้มข้น 0, 1 และ 2% โดยน้ำหนักของสารละลาย

ความเข้มข้นของพรีไบโอติก (%)	ความหนา (มิลลิเมตร)	
	0% น้ำมันรำข้าว	15% น้ำมันรำข้าว
0% ออลิโกฟรุกโทส	0.160±0.011 ^c	0.180±0.014 ^b
1% ออลิโกฟรุกโทส	0.170±0.010 ^c	0.200±0.013 ^b
2% ออลิโกฟรุกโทส	0.170±0.026 ^c	0.200±0.012 ^b
0% แก่นตะวัน	0.160±0.011 ^c	0.180±0.014 ^b
1% แก่นตะวัน	0.200±0.031 ^b	0.210±0.011 ^b
2% แก่นตะวัน	0.250±0.010 ^a	0.260±0.038 ^a

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

a, b, c, d, e ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ตารางที่ ค.8 ความต้านทานแรงดึงขาดของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมโพรไบโอติกและพรีไบโอติกเข้มข้น 0, 1 และ 2% โดยน้ำหนักของสารละลาย

ความเข้มข้นของพรีไบโอติก (%)	ความต้านทานแรงดึงขาด (MPa)	
	0% น้ำมันรำข้าว	15% น้ำมันรำข้าว
0% ออลิโกฟรุกโทส	1.58±0.22 ^b	1.05±0.09 ^{de}
1% ออลิโกฟรุกโทส	1.79±0.13 ^a	1.14±0.11 ^d
2% ออลิโกฟรุกโทส	1.90±0.12 ^a	1.35±0.19 ^c
0% แก่นตะวัน	1.58±0.22 ^b	1.05±0.09 ^{de}
1% แก่นตะวัน	1.46±0.12 ^c	0.98±0.11 ^e
2% แก่นตะวัน	1.37±0.10 ^c	0.82±0.10 ^f

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

a, b, c, d, e ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ตารางที่ ค.9 การยึดตัวถึงจุดขาดของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมโพรไบโอติก และพรีไบโอติกเข้มข้น 0, 1 และ 2% โดยน้ำหนักของสารละลาย

ความเข้มข้นของพรีไบโอติก (%)	การยึดตัวถึงจุดขาด (%)	
	0% น้ำมันรำข้าว	15% น้ำมันรำข้าว
0% ออลิโกฟรุกโทส	186.29±9.89 ^b	200.98±8.09 ^{ab}
1% ออลิโกฟรุกโทส	184.56±11.70 ^b	197.26±28.17 ^{ab}
2% ออลิโกฟรุกโทส	180.74±13.01 ^b	196.55±68.51 ^a
0% แก่นตะวัน	186.29±9.89 ^b	200.98±8.09 ^{ab}
1% แก่นตะวัน	183.55±43.17 ^b	199.53±21.46 ^{ab}
2% แก่นตะวัน	182.63±14.07 ^b	199.51±13.75 ^{ab}

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

a, b, c, d, e ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ตารางที่ ค.10 ร้อยละของแสงส่องผ่านของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมโพรไบโอติกและพรีไบโอติกเข้มข้น 0, 1 และ 2% โดยน้ำหนักของสารละลาย

ความเข้มข้นของพรีไบโอติก (%)	ร้อยละของแสงส่องผ่าน	
	0% น้ำมันรำข้าว	15% น้ำมันรำข้าว
0% ออลิโกฟรุกโทส	72.2±2.3 ^a	38.5±2.2 ^e
1% ออลิโกฟรุกโทส	66.4±3.4 ^b	32.2±2.0 ^f
2% ออลิโกฟรุกโทส	59.1±2.0 ^c	27.3±2.7 ^g
0% แก่นตะวัน	72.2±2.3 ^a	38.5±2.2 ^e
1% แก่นตะวัน	56.0±3.7 ^d	25.6±4.9 ^g
2% แก่นตะวัน	32.2±2.4 ^f	20.8±3.1 ^h

ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

a, b, c, d, e ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ตารางที่ ค.11 สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติมโพ
ไโปรไบโอติกและพรีไบโอติกเข้มข้น 0, 1 และ 2% โดยน้ำหนักของสารละลาย

ความเข้มข้นของพรีไบโอติก (%)	สภาพให้ซึมผ่านได้ของไอน้ำ ($\text{mg mm Pa}^{-1} \text{h}^{-1} \text{m}^{-2}$)	
	0% น้ำมันรำข้าว	15% น้ำมันรำข้าว
0% ออลิโกฟรุคโทส	0.67 ± 0.04^b	0.50 ± 0.04^d
1% ออลิโกฟรุคโทส	0.66 ± 0.06^b	0.49 ± 0.05^d
2% ออลิโกฟรุคโทส	0.65 ± 0.07^{bc}	0.48 ± 0.05^d
0% แก่นตะวัน	0.67 ± 0.04^b	0.50 ± 0.04^d
1% แก่นตะวัน	0.70 ± 0.08^b	0.59 ± 0.09^c
2% แก่นตะวัน	0.79 ± 0.11^a	0.69 ± 0.08^b

ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

a, b, c, d, e ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ตารางที่ ค.12 ความสามารถในการละลายน้ำของฟิล์มอิมัลชันที่ผลิตจากโปรตีนถั่วเหลืองสกัดที่เติม
โพโรไบโอติกและพรีไบโอติกเข้มข้น 0, 1 และ 2% โดยน้ำหนักของสารละลาย

ความเข้มข้นของพรีไบโอติก (%)	ความสามารถในการละลายน้ำ (%)	
	0% น้ำมันรำข้าว	15% น้ำมันรำข้าว
0% ออลิโกฟรุคโทส	88.01 ± 3.14^a	72.41 ± 10.97^b
1% ออลิโกฟรุคโทส	86.92 ± 2.42^a	70.98 ± 7.12^b
2% ออลิโกฟรุคโทส	85.71 ± 4.65^a	70.44 ± 4.46^b
0% แก่นตะวัน	88.01 ± 3.14^a	72.41 ± 10.97^b
1% แก่นตะวัน	87.68 ± 2.89^a	71.05 ± 15.59^b
2% แก่นตะวัน	87.32 ± 8.25^a	70.94 ± 9.38^b

ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

a, b, c, d, e ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวกมลชนก อาชาขณะนะ เกิดเมื่อวันที่ 16 กันยายน พ.ศ. 2534 ที่จังหวัด กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จากมหาวิทยาลัยมหิดล เมื่อปีการศึกษา 2555 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และหลักสูตรบริหารธุรกิจมหาบัณฑิต สาขาวิชาการจัดการโรงแรมและภัตตาคาร วิทยาลัยดุสิตธานี เมื่อปีการศึกษา 2557

นางสาวกมลชนก อาชาขณะนะ ได้นำเสนอผลงานภาคโปสเตอร์ในหัวข้อ Effect of Oil and Wax from Rice Bran on Barrier, Mechanical and Optical Properties of Soy Protein Emulsion Film ในการประชุมวิชาการ Food Innovation Asia Conference 2016 ณ ศูนย์นิทรรศการและการประชุมไบเทค บางนา กรุงเทพมหานคร ระหว่างวันที่ 16-18 มิถุนายน พ.ศ. 2559 โดยได้รับรางวัล Honorable Mention The Poster Presentation Award in Food Innovation Asia Conference 2016 by Agro-Industry Academic Council Association (AIAC)