คณิบันทนาการ

สำนักหอสมุด

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การรอดชีวิตของแบคทีเรียโปรไบโอติกที่ถูกตรึงในผลไม้แท่งเปลี่ยนรูป

โดย

สำนักหอสมุด มหาวิทยาลัยนเรศวร
วันลงทะเบียน 17 ส.ค. 2559
เลขทะเบียน 1699441
เลขเรียกหนังสือ 2 TX
612
.F7
ช632ร
2558

รองศาสตราจารย์ ดร. ธีรพร กงบังเกิด
รองศาสตราจารย์ กมลวรรณ โรจน์สุนทรกิตติ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นิติพงศ์ จิตรีโภชน์

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร
คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม
มหาวิทยาลัยนเรศวร

พฤษภาคม 2558

สัญญาเลขที่ R2557B096

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การรอดชีวิตของแบคทีเรียโปรไบโอติกที่ถูกตรึงในผลไม้แท่งเปลี่ยนรูป

โดย

รองศาสตราจารย์ ดร. ธีรพร กงบังเกิด
รองศาสตราจารย์ กมลวรรณ โรจน์สุนทรกิตติ
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นิติพงศ์ จิตรีโภชน์

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร
คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม
มหาวิทยาลัยนเรศวร
พฤษภาคม 2558

สนับสนุนโดยกองทุนวิจัยมหาวิทยาลัยนเรศวร

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณมหาวิทยาลัยนเรศวร ที่สนับสนุนโครงการวิจัยด้วยเงินงบประมาณแผ่นดินของมหาวิทยาลัยประจำปี พ.ศ. 2557 ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการของภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร ได้แก่ คุณเพชรรุ้ง เสนานุช คุณศิริวงษ์ นิ่มนงค์ คุณทรงวุฒิ ทิอ่อน ที่อำนวยความสะดวกแก่นักวิจัยและขอขอบคุณภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่ให้การสนับสนุนเครื่องมือและอุปกรณ์ในการดำเนินการวิจัย

คณะผู้วิจัย
พฤษภาคม 2558

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการรอดชีวิตของเชื้อโปรไบโอติก *Lactobacillus casei* TISTR 1463 และ *Lactobacillus bulgaricus* TISTR 892 ที่ถูกตรึงในฝรั่งแท่งเปลี่ยนรูปและสับปะรดแท่งเปลี่ยนรูปและศึกษาคุณภาพและอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ โดยพบว่าค่าประสิทธิภาพของการตรึงเซลล์โปรไบโอติก *L. casei* และ *L. bulgaricus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้สารอัลจีเนต มีค่าสูงเท่ากับ 99.25±7.04 และ 99.33±0.35 ตามลำดับ การเตรียมผลไม้แท่งเปลี่ยนรูปทำโดยการนำผลไม้บดให้ความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส เติมน้ำตาลทรายร้อยละ 15.0 และสารละลายผสมโซเดียมแอลจีเนต ร้อยละ 3.25 และเพคตินร้อยละ 1.75 ผสมลงในสับปะรดบดและฝรั่งบดร้อยละ 12.5 และ 25.0 ตามลำดับ ให้ความร้อนและปรับค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้สุดท้ายเป็น 55 องศาบริกซ์ ลดอุณหภูมิผลไม้บดให้เหลือ 45 องศาเซลเซียสและเติมโปรไบโอติกให้มีปริมาณสุดท้ายในผลิตภัณฑ์ประมาณ 9-10 log CFU/g เทผลไม้กวนในถาดให้มีความหนา 1 เซนติเมตร อบด้วยตู้อบลมร้อนที่ 41 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง บรรจุในถุงพลาสติก PE และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยวิเคราะห์ค่าทางเคมีกายภาพและจุลินทรีย์และศึกษาอายุการเก็บรักษา พบว่าสมบัติด้านต่างๆ ของผลไม้เสริมโปรไบโอติกทั้งในรูปแบบเซลล์อิสระและเซลล์ที่ถูกตรึงโดยส่วนใหญ่มีค่าใกล้เคียงกัน แต่การใช้วัตถุดิบแตกต่างกันเป็นผลให้สมบัติทางกายภาพ เคมีและจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์มีความแตกต่างกัน โดยฝรั่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* ทั้งในรูปแบบเซลล์อิสระและเซลล์ที่ถูกตรึงมีอายุการเก็บรักษา 9 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ส่วนฝรั่งเสริมโปรไบโอติก *L. casei* ในรูปของเซลล์อิสระและที่ถูกตรึง มีอายุการเก็บรักษา 9 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สับปะรดเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* ในรูปของเซลล์อิสระและที่ถูกตรึง มีอายุการเก็บรักษา 0 และ 15 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และสับปะรดเสริมโปรไบโอติก *L. casei* ในรูปของเซลล์อิสระและที่ถูกตรึงมีอายุการเก็บรักษา 0 และ 3 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

คำสำคัญ : การตรึงเซลล์ ผลไม้เปลี่ยนรูป ผลไม้แท่ง การรอดชีวิต โปรไบโอติก

Abstract

The objectives of this research were to study the survival of encapsulated probiotic *Lactobacillus casei* TISTR 1463 and *Lactobacillus bulgaricus* TISTR 892 in restructured fruits (guava and pineapple) and to study the qualities of the products as well as their shelf life. It was found that the encapsulated efficiencies of *L. casei* and *L. bulgaricus* in the culture media by using alginate were 99.25±7.04 and 99.33±0.35, respectively. The restructured fruits were prepared by heating the fruit puree at 90°C then 15% sugar (w/w) was added. The hydrocolloid solutions of 12.5 and 25.0% (w/w) (3.25% sodium alginate and 1.75 % pectin) were mixed with the heated pineapple and guava puree. The mixes were heated until the final total soluble solids of 55°Brix and were cooled down to 45°C, then the probiotic culture was added to obtain about 9-10 log cfu/g. The mixes were then poured to the tray to obtain the thickness of 1 cm and then dried at 41°C for 6 hr. The probiotic enriched fruit products were then packed in the PE pouch and kept at 4°C. It was found that the properties of the restructured fruits enriched with the free and encapsulated probiotic cultures were similar but the difference of fruits that used to prepare the products led to differ in the physicochemical and microbiological properties of the products. The restructured guava enriched with free and encapsulated *L. bulgaricus* and *L. casei* could be kept for 9 days at 4°C. The restructured pineapple free enriched with free and encapsulated *L. bulgaricus* could be kept for 0 and 9 days at 4°C while The restructured pineapple free enriched with free and encapsulated *L. casei* could be kept for 0 and 3 days at 4°C.

Keywords : encapsulation ; restructured fruit ; fruit stick ; survival ; probiotic

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	
บทคัดย่อ	i - ii
สารบัญตาราง	iii
สารบัญภาพ	iv
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 เอกสารที่เกี่ยวข้อง	3
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ	9
บทที่ 4 ผลการวิจัย	12
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย	41
เอกสารอ้างอิง	42
ภาคผนวก วิธีการวิเคราะห์	47

มหาวิทยาลัยนเรศวร

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพของการตรึงเซลล์โปรไบโอติกสองชนิด 12

ตารางที่ 2 ปริมาณเชื้อโปรไบโอติกก่อนและหลังการตรึงเซลล์ 12

ตารางที่ 3 สมบัติเริ่มต้นทางเคมีกายภาพและจุลชีววิทยาของผลไม้เปลี่ยนรูปเสริมโปรไบโอติกที่ถูกตรึง 14

ตารางที่ 4 ปริมาณ lactic acid bacteria ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 35

ตารางที่ 5 ปริมาณ lactic acid bacteria ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 36

ตารางที่ 6 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 37

ตารางที่ 7 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 38

ตารางที่ 8 ปริมาณยีสต์และราของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 39

ตารางที่ 9 ปริมาณยีสต์และราของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 39

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ค่า Aw ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 15

ภาพที่ 2 ค่า Aw ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 15

ภาพที่ 3 ค่า pH ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 16

ภาพที่ 4 ค่า pH ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 17

ภาพที่ 5 ค่า L* ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 18

ภาพที่ 6 ค่า L* ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 19

ภาพที่ 7 ค่า a* ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 20

ภาพที่ 8 ค่า b* ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 20

ภาพที่ 9 ค่า a* ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 21

ภาพที่ 10 ค่า b* ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 21

ภาพที่ 11 ค่า hardness ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 22

ภาพที่ 12 ค่า hardness ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 23

ภาพที่ 13 ค่า gumminess ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 24

ภาพที่ 14 ค่า gumminess ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 24

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 15 ค่า adhesiveness ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 25

ภาพที่ 16 ค่า adhesiveness ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 26

ภาพที่ 17 ค่า cohesiveness ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 27

ภาพที่ 18 ค่า cohesiveness ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 28

ภาพที่ 19 ค่า chewiness ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 29

ภาพที่ 20 ค่า chewiness ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 30

ภาพที่ 21 ค่า springiness ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 31

ภาพที่ 22 ค่า springiness ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 31

ภาพที่ 23 ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ (กรดแลกติก) ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 32

ภาพที่ 24 ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ (กรดแลกติก) ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 33

ภาพที่ 25 ปริมาณความชื้นของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 34

ภาพที่ 26 ปริมาณความชื้นของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 35

บทที่ 1
บทนำ

ประเทศไทยนับเป็นประเทศผู้ผลิตอาหารอันดับต้นของโลก และสามารถผลิตอาหารเพื่อส่งออกเป็นสินค้าหลักที่สำคัญมากมายหลากหลายชนิด ผลไม้ไทยจัดเป็นหนึ่งในผลิตผลทางการเกษตรที่มีชื่อเสียงเป็นที่ยอมรับอย่างกว้างขวางไปทั่วโลก เนื่องจากมีรสชาติดีและเป็นที่ต้องการในตลาดโลก โดยจะมีการผลิตในปริมาณมากในแต่ละปี ทำให้มีผลิตผลสดที่เหลือจากการส่งออกและเหลือจากการบริโภคสดในประเทศปริมาณมาก โดยเฉพาะผลไม้ที่ตกเกรดแต่ยังสามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้และเนื่องจากผลผลิตดังกล่าวมีอายุการเก็บรักษาสั้น จึงเกิดการเสื่อมเสียอย่างรวดเร็ว ทำให้ในแต่ละปีเกิดการสูญเสียเนื่องจากไม่สามารถนำมาใช้บริโภคสดได้ทัน การนำผลไม้ต่างๆ ในส่วนนี้มาแปรรูปเพื่อเพิ่มมูลค่า จึงเป็นการช่วยยืดอายุการเก็บรักษา รวมทั้งเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้แก่ผลิตผลได้อีกทางหนึ่ง ในปัจจุบันผู้บริโภคมีความใส่ใจในสุขภาพเพิ่มมากขึ้น ซึ่งเป็นผลสืบเนื่องจากการดำเนินชีวิตที่รีบเร่งและแข่งกับเวลา ทำให้ความต้องการอาหารของผู้คนปัจจุบันมุ่งไปที่อาหารที่สามารถเตรียมหรือหารับประทานได้อย่างสะดวก รวมทั้งมีคุณค่าทางโภชนาการและคุณประโยชน์สูงและมีความปลอดภัย อาหารเพื่อสุขภาพจึงเป็นทางเลือกอีกทางหนึ่งที่ได้รับความนิยมมากขึ้น โดยทั่วไปอาหารเพื่อสุขภาพที่ผลิตเพื่อจำหน่ายในปัจจุบันส่วนใหญ่เป็นการเติมหรือเพิ่มสารที่มีประโยชน์ที่ทำให้เกิดผลดีต่อสุขภาพเข้าไปในอาหารปกติหรือการพัฒนาอาหารชนิดใหม่รวมทั้งปรับปรุงสภาพของอาหารเดิมเพื่อทำให้มีสารที่มีประโยชน์ต่อร่างกายเพิ่มขึ้น ซึ่งจะทำหน้าที่เสริมสุขภาพให้ดีขึ้นเนื่องจากสารประกอบที่ทำให้เกิดหน้าที่ (functional ingredients) โดยสารดังกล่าวได้แก่ เส้นใยอาหาร น้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์ แบคทีเรียในกลุ่มแลคติก กรดไขมันไม่อิ่มตัวในกลุ่มโอเมก้า 3 และเกลือแร่ต่างๆ (ไพโรจน์, 2554) ซึ่งผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพจะมีความหลากหลายและแตกต่างกันไปตามหน้าที่ของสารที่ทำหน้าที่ ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมโปรไบโอติกเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพอีกประเภทหนึ่งซึ่งเป็นที่คุ้นเคยของผู้บริโภค โดยส่วนใหญ่ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวผลิตจากน้ำนมและใช้เชื้อแบคทีเรียแลคติกเป็นจุลินทรีย์เริ่มต้น ส่วนจุลินทรีย์โปรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการให้มีชีวิตอยู่ในผลิตภัณฑ์ปริมาณไม่ต่ำกว่า 10^5 cfu/g หรือ mL (Dave and Shah, 1996) โดยมีรายงานว่าเชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติก สามารถป้องกันการเกิดโรคท้องร่วง ท้องผูก การอักเสบของลำไส้ ป้องกันการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน และลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด (Gibson and Roberfroid, 1995) นอกเหนือจากผลิตภัณฑ์เสริมโปรไบโอติกที่ผลิตจากน้ำนมเป็นวัตถุดิบหลักแล้ว ยังสามารถเสริมจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายดังกล่าวเข้าไปยังผลิตภัณฑ์อื่นๆ ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่แตกต่างกันออกไป เช่น ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ ผักและผลไม้ เป็นต้น ซึ่งจำเป็นต้องคำนึงถึงการรอดชีวิตของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์เหล่านี้โดยการศึกษาปัจจัยต่างๆที่เกี่ยวข้องในการผลิตเพื่อคงจำนวนให้เหลือรอดมากที่สุดเพื่อที่ภายหลังจากถูกบริโภคเข้าไปแล้วจะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพร่างกายสูงสุด จากกระแสการแข่งขันทางการค้าที่นับวันจะเข้มข้นมากขึ้น ผู้ประกอบการอุตสาหกรรมอาหารต่างหาทางออกที่จะทำให้ผลิตภัณฑ์ของตัวเองสามารถครองใจผู้บริโภคและสามารถยืนหยัดอยู่ในตลาดการค้าได้นาน จำเป็นจะต้องอาศัยกลยุทธ์ทางการค้าต่างๆ มากมาย ทั้งการสร้างและรักษาคุณภาพมาตรฐานของผลิตภัณฑ์ไว้ให้สม่ำเสมอ การพัฒนาผลิตภัณฑ์ชนิดใหม่ที่โดดเด่น มีเอกลักษณ์และแปลกตาเพื่อสนองต่อความต้องการของผู้บริโภคจึงเป็นสิ่งที่ท้าทาย งานวิจัยนี้จึงมีจุดมุ่งหมายในการศึกษาการใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติกในผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากผลไม้ไทยโดยการใช้เทคนิคการตรึงเซลล์ของเชื้อโปรไบโอ

ติกก่อนนำไปแปรรูปเป็นผลไม้เปลี่ยนรูปชนิดแท่ง เพื่อเพิ่มโอกาสในการรอดชีวิตของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในผลิตภัณฑ์แปรรูป และเป็นการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพที่เป็นทางเลือกใหม่ของผู้บริโภค และทำให้ทราบผลของกระบวนการดังกล่าวต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ทั้งทางด้านเคมีกายภาพ จุลินทรีย์ และอายุการเก็บรักษา และเพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาและเพิ่มมูลค่าและคุณประโยชน์ของผลไม้ไทย อีกทั้งยังช่วยลดการสูญเสียผลิตผลทางการเกษตรที่มีการผลิตปริมาณมากและล้นตลาดในแต่ละปีให้ลดน้อยลง และยังช่วยให้ผู้บริโภคมีสุขภาพที่แข็งแรงและได้บริโภคอาหารเพื่อสุขภาพที่มีคุณภาพและได้มาตรฐานอีกด้วย

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. ศึกษาการรอดชีวิตของเชื้อโปรไบโอติกที่ถูกตรึงในผลไม้แท่งเปลี่ยนรูปชนิดต่างๆ
2. ศึกษาคุณภาพด้านต่างๆ ของผลไม้แท่งเสริมโปรไบโอติก

ขอบเขตของโครงการวิจัย

งานวิจัยนี้ศึกษาผลของการตรึงเซลล์ต่อการรอดชีวิตของเชื้อโปรไบโอติกในผลไม้เปลี่ยนรูปอบแห้ง โดยใช้ผลไม้ 2 ชนิด ได้แก่ สับปะรด และฝรั่ง โดยนำมาเสริมจุลินทรีย์โปรไบโอติกที่ถูกตรึง 2 ชนิดได้แก่ *Lactobacillus casei* และ *Lactobacillus bulgaricus* นำมาใช้ผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ผลไม้แท่งที่ขึ้นรูปและสามารถตัดได้ง่ายโดยใช้สารไฮโดรคอลลอยด์ จากนั้นนำผลิตภัณฑ์มาวิเคราะห์ปริมาณโปรไบโอติกที่รอดชีวิตและศึกษาคุณภาพทางด้านเคมีกายภาพและทางจุลินทรีย์ รวมทั้งอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์

บทที่ 2
เอกสารที่เกี่ยวข้อง

อาหารเพื่อสุขภาพ

อาหารเพื่อสุขภาพ (functional food) หมายถึงอาหารหรือส่วนผสมอาหารซึ่งมีองค์ประกอบที่มีประโยชน์ที่ก่อให้เกิดผลดีต่อสุขภาพมากกว่าการได้รับสารอาหารปกติที่มีในอาหาร (Mazza, 1998) ซึ่งหมายความรวมถึงอาหารที่เพิ่มปริมาณสารอาหารและอาหารที่เติมสารหรือองค์ประกอบที่ทีผลต่อสรีระของร่างกาย (physiologically active components) ที่มีศักยภาพในการบำรุงรักษาสุขภาพและป้องกันโรคได้ (เช่น จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ สารต้านอนุมูลอิสระ วิตามิน แคทอิออน เป็นต้น) อาหารเพื่อสุขภาพมีลักษณะปรากฏเหมือนอาหารปกติทั่วไปและนำมาใช้บริโภคเป็นส่วนหนึ่งของอาหารปกติ และทำให้เกิดผลดีต่อร่างกายและ/หรือช่วยลดความเสี่ยงของโรคเรื้อรังมากกว่าองค์ประกอบอาหารทั่วไป (Mazza, 1998 ; Pszcola, 1993 ; Fuller, 1994 ; Mital and Garg, 1995)

โปรไบโอติก

อุทัย (2549) รายงานว่าแบคทีเรียที่มีการนำมาผลิตเป็น Probiotics ที่สำคัญ คือกลุ่ม Lactobacillus เช่น *L. rhamnosus* strain GG ซึ่งมีการศึกษาและใช้มากที่สุด และ *L. plantarum* แต่ชนิดอื่นๆก็มีใช้กันมาก เช่น ในกลุ่ม Bifidobacterium การผลิต probiotics ให้เป็นประโยชน์ต่อร่างกายในลักษณะของ functional food จะต้องให้มีคุณสมบัติตามที่ต้องการ ได้แก่ สามารถคงสภาพสิ่งมีชีวิตที่มีกลิ่นและรสชาติดีหลังการหมัก และคงสภาพกรดอ่อนๆ ตลอดช่วงการเก็บ ซึ่งต้องจัดเก็บอย่างดี และยังคงสภาพเดิมได้ แม้แช่แข็งหรือด้วยวิธีอื่นๆ ที่ทำให้แห้ง และให้ผลลัพธ์ตอบสนองตามปริมาณที่เพิ่มขึ้น Probiotics ออกฤทธิ์ได้หลายรูปแบบในการช่วยเสริมสร้างสุขภาพและป้องกันหรือรักษาโรคต่างๆ ที่เกิดขึ้น กลุ่ม lactobacilli จะสร้างน้ำย่อย β-galactosidase ช่วยลดปริมาณน้ำตาล lactose ในอาหาร ซึ่งเป็นสาเหตุของท้องเสียได้ นอกจากนี้สามารถสร้างสารหลายชนิดที่ช่วยทำหน้าที่เป็นยาปฏิชีวนะ เช่นorganic acids, free fatty acids, ammonia, hydrogen peroxide และ bacteriocins ช่วยกำจัดเชื้อแบคทีเรียที่ปะปนในอาหารน้ำย่อยบางชนิดจาก probiotic จะช่วยยับยั้งสารพิษจากแบคทีเรียโดยไปปิดกั้นส่วนที่พิษจะเข้าเซลล์ และสามารถแย่งจับตำแหน่งต่างๆ ของเนื้อเยื่อในลำไส้ เพื่อไม่ให้แบคทีเรียเข้าเกาะกุมได้ป้องกันไม่ให้แบคทีเรียขยายตัวในลำไส้ นอกจากนี้สามารถกระตุ้นภูมิต้านทานทั้งในลำไส้และในกระแสเลือด หรือกระตุ้นการทำงานของเซลล์อื่นๆ ไว้ต่อสู้กับเชื้อโรค และกระตุ้นการสร้างสารป้องกันโรคในร่างกาย เช่น gamma-interferon, interleukin-12, interleukin-18 เป็นต้น

ประโยชน์ต่อสุขภาพของโพรไบโอติก (สุญาณี, 2549)

โพรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ในการช่วยปรับสมดุลของสภาพแวดล้อมในระบบลำไส้ เนื่องจากในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์มีจุลินทรีย์เป็นจำนวนมากมายหลายชนิดทั้งที่เป็นประโยชน์และโทษ ดังนั้นถ้าหากจุลินทรีย์สุขภาพมีจำนวนมากขึ้นก็สามารถเกาะติดผนังลำไส้ และแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวนมากขึ้น เป็นการช่วยป้องกันไม่ให้จุลินทรีย์ชนิดก่อโรคมาเกาะติดผนังลำไส้ และหลั่งสารพิษที่มีผลทำให้เยื่อบุลำไส้อักเสบได้ จากคุณสมบัติดังกล่าวจึงได้มีการนำเอาโพรไบโอติกมาใช้ในการรักษาและป้องกันโรคอุจจาระร่วงที่เกิดจากการได้รับยาปฏิชีวนะซึ่งมีผลทำให้ประชากรจุลินทรีย์สุขภาพในลำไส้ลดลงเช่นกันจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าประโยชน์ของโพรไบโอติกมีหลายอย่าง ดังนี้

1. การลดภาวะไม่ทนต่อแลกโตส (lactose intolerance)

เป็นผลต่อสุขภาพที่สำคัญของโพรไบโอติก พบว่าประชากรโลกส่วนใหญ่มีปริมาณของเอนไซม์แลกเตส (lactase) ต่ำ จึงทำให้แลกโตส (lactose) ไม่สามารถถูกย่อยในทางเดินอาหาร ดังนั้นหลายคนที่ดื่มนมแล้ว เกิดอาการท้องอืด เฟ้อ ท้องเดิน ปวดท้อง โพรไบโอติกในอาหารประเภทนมเปรี้ยวหรือโยเกิร์ตสามารถช่วยบรรเทาอาการนี้ได้ เนื่องจากโพรไบโอติกได้ช่วยย่อยแลกโตสไปแล้วในระหว่างการหมัก (fermentation) จึงทำให้มีแลกโตสเหลือน้อยกว่าหรือไม่มีเลย

2. การลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด

หลักฐานการทดลองเกี่ยวกับเรื่องนี้ยังไม่สรุปแน่ชัด แต่มีผู้เสนอกลไกที่อาจเป็นไปได้ คือ อาจเนื่องจากคอเลสเตอรอลเป็นสารตั้งต้นในการการสังเคราะห์กรดน้ำดี ดังนั้นถ้าเราเพิ่มการขับออกของน้ำดีก็จะทำให้มีการกระตุ้นให้มีการนำเอาคอเลสเตอรอลมาใช้ในการสังเคราะห์น้ำดีเพิ่มขึ้น โดยในจุลินทรีย์จะมีเอนไซม์ที่สามารถจับกับกรดน้ำดี และทำให้กรดน้ำดีถูกขับออกทางอุจจาระเพิ่มขึ้นจึงส่งผลให้สามารถลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือดได้ นอกจากนี้อาจเนื่องจากการที่จุลินทรีย์สามารถนำเอาคอเลสเตอรอลไปใช้ได้โดยตรง ทำให้ปริมาณคอเลสเตอรอลลดลง

3. การบรรเทาอาการท้องเดิน

เป็นบทบาทหลักของโพรไบโอติก คือ ช่วยลดความรุนแรงของอาการท้องเดิน โดยลดระยะเวลาของโรคและเพิ่มระบบภูมิคุ้มกัน กลไกที่เป็นไปได้ คือ การทำให้ลำไส้ใหญ่มีความเป็นกรด จากการผลิตกรดแลกติก (lactic acid) และกรดอะซิติก (acetic acid) ซึ่งมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคได้ อีกกลไกหนึ่ง คือ ทำให้การตอบสนองต่อระบบภูมิคุ้มกันเพิ่มขึ้น

4. การป้องกันมะเร็ง

ข้อมูลทางระบาดวิทยาพบว่าอุบัติการณ์ของมะเร็งลำไส้ใหญ่มีความสัมพันธ์กับการกินอาหารไขมันสูง ซึ่งไขมันในอาหารจะกระตุ้นให้มีการหลั่งกรดน้ำดีในลำไส้ใหญ่มากขึ้น ร่วมกับกรดน้ำดีอีกส่วนหนึ่งที่เกิดจากแบคทีเรียเอง ซึ่งทำให้มีส่วนส่งเสริมให้เกิดมะเร็งขึ้นได้ นอกจากนี้เอนไซม์ของแบคทีเรียบางชนิดก็จะเปลี่ยนสารบางอย่างในลำไส้ใหญ่ไปเป็นสารก่อมะเร็งได้ ดังนั้นกลไกในการต้านมะเร็งของโพรไบโอติก ได้แก่ กดการทำงานของสารก่อมะเร็ง ควบคุมหรือเหนี่ยวรั้งการเจริญของแบคทีเรียที่มีเอนไซม์ในการทำให้เกิดสารก่อมะเร็ง มีผลต่อการเคลื่อนไหวหรือการบีบตัวของลำไส้ทำให้กำจัดสารก่อกลายพันธุ์ออกจากร่างกายได้เร็วขึ้น และกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย โดยเฉพาะอย่างยิ่งการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร

การตรึงเซลล์โปรไบโอติก

เซลล์ตรึง (immobilized cells) คือ เซลล์ที่ถูกจำกัดขอบเขตให้เคลื่อนที่อยู่ในบริเวณที่กำหนดโดยที่ไม่สูญเสียกิจกรรมของเซลล์ ซึ่งเซลล์ที่นำมาตรึงนั้นอาจอยู่ในสภาพที่กำลังเติบโตอยู่ในระยะพักตัว (resting cells) หรือเซลล์ที่ตายแล้ว (death cells) (สมใจ, 2544; Shuler and Kargi, 2002)

การคัดเลือกวัสดุพาหะที่เหมาะสมในการตรึงเซลล์ (สมใจ, 2544) มีหลักเกณฑ์ดังนี้

1. สมบัติในการละลาย ควรเป็นสารที่ละลายได้ง่าย และสารที่ได้ควรมีความคงตัวอยู่ในสภาวะที่เหมาะสม

2. สมบัติในการเกิดเจล สารผสมที่ได้ควรเกิดเจลได้ง่ายในสภาวะปกติและไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของเซลล์

3. สมบัติของเจล เจลที่ได้ควรมีความแข็งแรง มีความคงตัวสูง และรูที่อยู่ภายในเจลควรมีขนาดเล็กพอที่จะป้องกันการรั่วไหลของเซลล์ได้ ในขณะเดียวกัน สับสเทรตและผลิตภัณฑ์สามารถซึมผ่านได้อย่างอิสระ

การใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกเพื่อประโยชน์ทางด้านสุขภาพนั้น มีมานานแล้ว เนื่องจากเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อมนุษย์โดยจะทำให้เกิดความสมดุล ของจุลินทรีย์ที่อยู่ในลำไส้ นอกจากนี้ยังช่วยควบคุมระดับคอเลสเตอรอลในกระแสเลือด เสริมสร้างระบบภูมิกัน ช่วยการย่อยน้ำตาลแลคโตสในคนที่ไม่สามารถย่อยได้ และยังช่วยลดการเกิดมะเร็งอีกด้วย เพื่อให้จะให้ได้ประโยชน์สูงสุดนี้ ปริมาณจุลินทรีย์โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์อาหารควรมีอย่างน้อย 10^5-10^6 เซลล์ต่อกรัมหรือมิลลิลิตรของอาหาร จึงให้ผลดีต่อสุขภาพ และจุลินทรียควรมีชีวิตอยู่ในลำไส้หลังจากรับประทานเข้าไป 1-3 วัน (Dave และ Shah, 1997) อย่างไรก็ตามแบคทีเรียชนิดนี้จะลดจำนวนลงในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ การปรับปรุงการอยู่รอดของโพรไบโอติก ทำได้หลายวิธีเช่น การใช้เทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชัน เป็นเทคนิคหนึ่งที่ใช้ในการปรับปรุงการอยู่รอดของพรีไบโอติก เทคนิคไมโครเอนซูเลชัน เป็นเทคนิคที่พัฒนามาจากการตรึงเซลล์ด้วยสารไฮโดรคอลลอยด์เช่น แคลเซียม อัลจิเนต แคปปา-คารจีแนน แซนแทนกัม หรือเจลาติน เป็นการทำให้เซลล์ถูกรักษาไว้ภายในวัสดุที่ห่อหุ้ม เพื่อลดการบาดเจ็บและการตายของเซลล์ ทำให้เซลล์ทนต่อกรดและน้ำดีในทางเดินอาหารได้ดีขึ้น (สมใจ, 2544)

มีการนำเทคนิคการตรึงเซลล์มาใช้ในการผลิตกรดแลกติก โดยใช้วัสดุพาหะต่างกันในการตรึงเซลล์แบคทีเรียกรดแลกติก Norton และคณะ (1994) และ Schepers และคณะ (2006) ได้ศึกษาการผลิตกรดแลกติกโดยเซลล์ตรึง *Lactobacillus helveticus* ซึ่งเป็นการตรึงเซลล์ในโครงข่ายแคปปา–คาร์ราจีแนน (κ-carrageenan) และโลคัสบีนกัม (locust bean gum) Roukas และ Kotzekidou (1998) ศึกษาการผลิตกรดแลกติกโดยเซลล์ตรึง *Lactobacillus casei* และ *Lactococcus lactis* ในโครงข่ายแอลจิเนต Yoo และคณะ (1996) และมีการศึกษาการผลิตกรดแลกติกโดยเซลล์ตรึง *Lactobacillus casei* ในเยื่อแซนแทนกัม (xanthan gum) และเซลล์ตรึง *Lactobacillus rhamnosus* ในเยื่อแอลจิเนต และการผลิตกรดแลกติกโดยเซลล์ตรึงในโครงข่ายของวุ้น (agar) เป็นต้น อย่างไรก็ตาม พบว่าวัสดุพาหะที่ใช้มากได้แก่ พอลิอะคริลาไมด์, แคปปา-คาร์ราจีแนน และแอลจิเนต ซึ่งมีข้อดีและข้อเสียต่างกัน

Ding and Shah (2008) ศึกษาการรอดชีวิตของเซลล์อิสระและเซลล์ที่ถูกตรึงเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกในน้ำแอปเปิ้ลและน้ำส้ม โดยใช้โพรไบโอติก 8 สายพันธุ์ในการศึกษาได้แก่ *L. rhamnosus, Bifidobacterium longum, L. salivariu , L. plantarum, L. acidophilus, L. paracasei, B. lactis* type Bi-04 และ *B. lactis* type Bi-07 โดยทำการวิเคราะห์การรอดชีวิตของโพรไบโอติก, ปริมาณของแข็งที่ละลายได้, ปริมาณกรดมาลิก, และค่า pH จากการศึกษาพบว่า เซลล์ที่ถูกตรึงเซลล์มีการรอดชีวิต 6 สัปดาห์ และมีอัตราการรอดชีวิตนานกว่าเซลล์อิสระที่มีการรอดชีวิต 5 สัปดาห์ ในน้ำส้มและน้ำแอปเปิ้ล น้ำผลไม้ที่เติมเซลล์ที่ถูกตรึงเซลล์จะช่วยป้องกันเซลล์จากสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดีกว่าเซลล์อิสระที่ไม่ถูกตรึง

การตรึงเซลล์ด้วยแอลจิเนต (alginate)

อัลจิเนตเป็น polyuronic acid ที่สกัดได้จากสาหร่ายสีน้ำตาล เป็นโคพอลิเมอร์ที่ประกอบด้วยโครงสร้างของ β-D-manuronic acid และ α-L-guluronic acid เชื่อมกันด้วย พันธะ β และ α ตามลำดับ อัลจิเนตสามารถเกิดเจลชนิดไอโอโนโทรปิกในสารละลายแคลเซียมไอออน หรือสาร ละลายที่เป็น multivalent cation เช่น Ba2+ Cu2+ หรือ Al3+ เป็นต้น เกิดเป็นเจลที่เป็นโครงร่างสามมิติที่มี

ความหนืด และสามารถดักจับเซลล์ไว้ภายในที่สภาวะไม่รุนแรง และพบว่าไม่มีผลต่อการมีชีวิตของเซลล์ (ภาวิณี, 2531; Brodelius and Vandamme, 1987; Fukuda, 1995) สมบัติของเจลที่เกิดขึ้นจะขึ้นอยู่กับสัดส่วนของ D-manuronic acid และ L-guluronic aicd ในพอลิเมอร์ น้ำหนักโมเลกุล และระดับการกระจายตัว พบว่าเจลของแอลจิเนตที่คงตัว ส่วนใหญ่จะประกอบด้วยสัดส่วนของ guluronic acid สูง และความเข้มข้นของพอลิเมอร์สุดท้ายในเจลจะมีช่วงระหว่าง 1–5 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นกับปริมาณของแอลจิเนตที่ใช้ในการเตรียม แอลจิเนตถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและอุตสาหกรรมต่างๆ เนื่องจากมีคุณสมบัติช่วยให้เกิดลักษณะเหนียวข้น เกิดความคงตัว การเกิดฟิล์มที่ผิว และเป็นอีมัลซิฟายเออร์ช่วยในการละลาย รวมทั้งแอลจิเนตเป็นสารที่ปลอดภัยไม่เป็นพิษ และราคาถูกจึงเหมาะจะใช้ในขั้นตอนของการผลิต (Gemeiner et al., 1994)

การตรึงเซลล์ในโครงข่ายอัลจิเนต (entrapment)

Entrapment เป็นวิธีหนึ่งที่สามารถใช้ตรึงเซลล์ได้ดี (ภาวิณี, 2531) และเป็นวิธีที่ใช้อย่างกว้างขวางกับเซลล์จุลินทรีย์ (Shuler and Kargi, 2002) โดยเซลล์จะเข้าไปอยู่ในโครงร่างตาข่ายของแอลจิเนต ซึ่งเป็นการเกิดเจลแบบไอโอโนโทรปิก (ionotropic gel) ของโมเลกุลแอลจิเนตกับ multivalent cation (Fukuda, 1995) ซึ่งต้องมีโครงสร้างที่หนาแน่นพอที่จะป้องกันการรั่วออกมาของเซลล์ ขณะเดียวกันสับสเทรตและผลิตภัณฑ์จะต้องสามารถเคลื่อนที่ผ่านได้เป็นอย่างดีรวมถึงเซลล์ที่อยู่ภายในโครงร่างตาข่ายนั้น สามารถที่จะมีชีวิตและเคลื่อนที่ได้อย่างอิสระ

การตรึงเซลล์ในเยื่ออัลจิเนต (encapsulation)

Encapsulation เป็นการตรึงเซลล์ที่คล้ายกับวิธีการตรึงเซลล์ในโครงข่ายอัลจิเนตต่างกันตรงที่การตรึงเซลล์ในเยื่ออัลจิเนตสารละลายเซลล์จะถูกหุ้มด้วยเยื่อของอัลจิเนต โดยเซลล์ที่อยู่ภายในสามารถมีชีวิตและเคลื่อนที่ได้อย่างอิสระ ซึ่งเยื่อของอัลจิเนตจะทำหน้าที่เป็นเยื่อหุ้ม (membrane) มีคุณสมบัติเป็นเยื่อซึมผ่านได้ (semipermeable membrane) สับสเทรตหรือผลิตภัณฑ์สามารถผ่านเข้าออกได้ (Gordon, 1997)

สุรีย์ และคณะ (2549) ได้ศึกษาผลของการปรับตัวต่อกรดต่อการอยู่รอดของ *Bifidobacterium lactis, Lactobacillus acidophilus* และ *Lactobacillus casei* ในอาหารเหลว MRS ที่ปรับพีเอชเป็น 4.5 ด้วยกรดซิตริก กรดแลคติก หรือกรดแอซีติกที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่า ส่วนใหญ่ เซลล์ที่ปรับตัวต่อกรดอยู่รอดได้ใกล้เคียงกับเซลล์ที่ไม่ได้ปรับตัว *L. casei* อยู่รอดได้ดีที่สุดในสภาพที่มีกรดทุกชนิด ขณะที่ *B. lactis* และ *L. acidophilus* อยู่รอดในสภาพที่มีกรดซิตริกและกรดแลคติกได้ดีกว่าในสภาพที่มีกรดแอซีติก จากนั้นจึงศึกษาผลการปรับตัวต่อกรดร่วมกับไมโครเอนแคปซูเลชัน (ในอัลจิเนตร้อยละ 2) ต่อการอยู่รอดของ *L. casei* และ *B. lactis* ในน้ำสลัดที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส หลังจากเก็บรักษานาน 4 สัปดาห์เซลล์ของ *L. casei* และ *B. lactis* ที่ผ่านการปรับตัวต่อกรดและไมโครเอนแคปซูเลชันอยู่รอดในน้ำสลัดได้มากที่สุด (ร้อยละ 103.8 และ 95.2 ตามลำดับ) เมื่อเปรียบ เทียบกับเซลล์ในทรีตเมนต์อื่น คุณลักษณะทางประสาทสัมผัสส่วนใหญ่ของน้ำสลัดที่เติม *L. casei* ที่ผ่านการปรับตัวต่อกรดและไมโครเอนแคปซูเลชันได้คะแนนน้อยกว่าน้ำสลัดชุดที่ไม่ได้เติมเชื้อเล็กน้อย

ภคมน และคณะ (2552) ศึกษา โปรไบโอติก “Lactobacillus” ทนร้อน สารเสริมชีวภาพสำหรับอาหารสัตว์อัดเม็ด ด้วยวิธีการเอ็นแคปซูเลชันโปรไบโอติก พบว่า โปรไบโอติกที่ผ่านการเอ็นแคปซูเลชัน ด้วยไคโตแซนผสมกับอัลจิเนตเป็นระยะเวลา 2 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 °C พบว่า จำนวนเซลล์คงเหลือเพียงพอต่อการก่อให้เกิดประโยชน์กับไก่ และจากการศึกษาการปลดปล่อยเซลล์ออกจาก

เม็ดเจลดังกล่าวในระบบทางเดินอาหารไก่จำลอง พบว่า 98 % ของจำนวนเซลล์เริ่มต้น ปลดปล่อยที่ลำไส้เล็ก โดยเซลล์เหล่านี้สามารถทนเกลือน้ำดีได้เหมือนเซลล์ปกติและยังคง ความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในไก่

Nazzaro et al. (2009) ศึกษาการเจริญของเชื้อโพรไบโอติก *Lactobacillus acidophilus* ที่ถูกห่อหุ้มด้วย alginate-inulin-xanthan gum ในน้ำแครอท ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 สัปดาห์ และศึกษาการรอดชีวิตของเชื้อในสภาวะน้ำย่อยในกระเพาะและเกลือน้ำดี พบว่า *L. acidophilus* ที่ถูกห่อหุ้มเซลล์จะมีอัตราการรอดชีวิตที่ดีกว่า *L. acidophilus* ที่ไม่ถูกห่อหุ้มเซลล์ หลังจากหมักและเก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส *L. acidophilus* ที่ถูกหุ้มเซลล์มีอัตราการรอดชีวิต 6 $x10^{12}$ และ 4 x 10^{10} cells/ml ตามลำดับ ส่วน L. acidophilus ที่ไม่ถูกหุ้มเซลล์มีการรอดชีวิต 4 x 10^{10} และ 2 x 10^{8} cells/ml ตามลำดับ จากการศึกษาการรอดชีวิตในสภาวะจำลองในกระเพาะอาหาร พบว่า *Lactobacillus acidophilus* ที่หุ้มเซลล์มีการรอดชีวิต และมีกิจกรรมที่ดีโดยดูจากองค์ประกอบของโปรตีน (protein profile) หลังผ่านสภาวะจำลองจากกระเพาะและเกลือน้ำดี จะพบว่าการหุ้มเซลล์สามารถป้องกันเซลล์จากสภาวะที่เป็นกรดจากกระเพาะอาหาร และเป็นด่างในสภาวะน้ำย่อยจากตับอ่อนได้ดี ดังนั้นโพรไบโอติก *Lactobacillus acidophilus* ที่หุ้มเซลล์ จะมีการรอดชีวิตและประสิทธิภาพในการหมัก และการเติมอินนูลินที่เป็นพรีไบโอติกลงไป เป็นการเพิ่มคุณค่าทางอาหารมากขึ้น ซึ่งจะดีต่อสุขภาพผู้บริโภค

ฝรั่ง

ฝรั่ง (ชื่อวิทยาศาสตร์: *Psidium guajava* Linn.) เป็นไม้ต้นขนาดเล็กถึงขนาดกลาง ในวงศ์ Myrtaceae ฝรั่งเป็นพืชที่มีจุดกำเนิดอยู่ในอเมริกากลางและหมู่เกาะอินดีสต์ตะวันตก หลักฐานทางโบราณคดีในเปรูชี้ให้เห็นว่า มีฝรั่งมาตั้งแต่ 800 ปีก่อนคริสตกาล พ่อค้าชาวสเปนและโปรตุเกสเป็นผู้นำผลไม้ชนิดนี้ไปยังถิ่นต่างๆทั่วโลก เข้ามาถึงเอเชียตะวันออกเฉียงใต้เมื่อราวคริสต์ศตวรรษที่ 17 ส่วนในประเทศไทย คาดว่าเข้ามาในสมัยสมเด็จพระนารายณ์มหาราช (Wikipedia, 2555) มีถิ่นกำเนิดในอเมริกาเขตร้อน เป็นพืชที่เจริญเติบโตในสภาพภูมิอากาศทั่วไปในเขตร้อน และกึ่งร้อน ดังนั้น จึงสามารถเจริญเติบโตได้ดีในทุกภาคของประเทศไทย ฝรั่งเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง มีกิ่งเหนียว มีทรงพุ่มสูง 3-5 เมตร สามารถให้ผลผลิตได้หลังปลูก 1 ปี เป็นพืชที่เจริญเติบโต และให้ผลผลิตสม่ำเสมอในท้องที่ที่มีแสงแดดทั่วถึง ถ้าต้องการปลูกเป็นการค้าต้องปลูกฝรั่งในแหล่งที่หน้าร้อนอากาศต้องร้อนเกิน 16 องศาเซลเซียส หน้าหนาวอากาศต้องไม่หนาวจนอุณหภูมิต่ำกว่า 7องศาเซลเซียส ฝรั่งสามารถปลูกได้ตั้งแต่ระดับน้ำทะเลแต่ไม่ควรปลูกในพื้นที่ที่มีความสูงเกิน 1,200 เมตร จากระดับน้ำทะเล ฝรั่งสามารถปลูกได้ในดินเกือบทุกชนิดมีความทนทานต่อความแห้งแล้งและสภาพน้ำขัง ทนต่อความเป็นกรดเป็นด่างตั้งแต่ 4.5-8.2 แต่ดินที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของฝรั่ง คือดินร่วนปนทรายที่มีความอุดมสมบูรณ์สูง มีการระบายน้ำดี หากเป็นดินเหนียวควรยกร่องปลูก ฝรั่งนับจากดอกบานถึงผลแก่พร้อมที่จะเก็บเกี่ยวได้ใช้เวลาประมาณ 4-5 เดือน ผลผลิตประมาณ 170 ผล/ต้น/ปี โดยเฉลี่ยผลหนึ่งจะมีน้ำหนักประมาณ 300-500 กรัมฤดูกาลเก็บเกี่ยวปกติอยู่ในช่วงเดือน มีนาคม – พฤษภาคม (มากที่สุด) โดยปกติแล้วฝรั่งจะให้ผลผลิตเกือบตลอดทั้งปี การเก็บเกี่ยวผลฝรั่งควรเก็บเกี่ยวเมื่อผลแก่จัด นับตั้งแต่ดอกบานจนถึงแก่เก็บเกี่ยวได้ใช้เวลาประมาณ 4-5 เดือน โดยสามารถดูลักษณะของสีผล จากสีเขียวกลายเป็นสีขาวนวล และผิวมีลักษณะเต่งตึงเป็นมัน การเก็บเกี่ยวโดยใช้กรรไกรตัดให้ขิดขั้วผลแล้วนำเข้าที่ร่ม แกะเอาถุงพลาสติกออก ทำความสะอาดผลฝรั่งแล้วนำไปบรรจุภาชนะรอการจำหน่าย (ทรงพล, 2555)

ผลฝรั่งโดยทั่วไปประกอบด้วยเปลือก 20%(w/w) เนื้อ 50 %(w/w) และไส้เมล็ด 30 %(w/w) (Salunkhe and Kadam, 1995) ส่วนประกอบทางเคมีของฝรั่ง ประกอบด้วย น้ำตาล 6.8%(w/w) ปริมาณของแข็งละลายน้ำได้ 12.0%(w/w) ปริมาณกรด 0.8 %(w/w) ปริมาณความชื้น 83.3 %(w/w) ปริมาณเส้นใย 3.8 %(w/w) และปริมาณเถ้า 0.66 %(w/w) (Menzel, 1985) นอกจากนี้ยังพบส่วนประกอบอื่นๆ อีก เช่น ไนอะซิน, ไทอะมีน, ไรโบฟลาวิน, แคโรทีนอยด์, แคลเซียม, ไอออน, ฟอสฟอรัส และวิตามินเอในปริมาณที่สูง ปริมาณของกรดอินทรีย์ในผลจะพบทั้งกรด ซิตริก, มาลิก, ทาร์ทาริก และ แลคติก โดยกรดซิตริก และมาลิก จะมีมากที่สุด (Salunkhe and Kadam, 1995) โดยปริมาณกรดในผลจะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ ในช่วงแรก และจะเพิ่มมากขึ้นในช่วงผลสุก (Pantastico, 1975)

สับปะรด

สับปะรด (ชื่อทางวิทยาศาสตร์: *Ananas comosus*) เป็นพืชล้มลุกชนิดหนึ่งที่มีต้นกำเนิดมาจากบริเวณทวีปอเมริกาใต้ ลำต้นมีขนาดสูงประมาณ 80-100 เซนติเมตร การปลูกสามารถปลูกได้ง่ายโดยการฝังกลบหน่อหรือส่วนยอดของผลที่เรียกว่า จุก เปลือกของผลสับปะรดภายนอกมีลักษณะคล้ายตาล้อมรอบผล (Wikipedia, 2555) รูปลักษณะ ไม้ล้มลุกอายุหลายปี สูง 90-100 ซม. มีลำต้นอยู่ใต้ดิน ใบเดี่ยวเรียงสลับ ซ้อนกันถี่มากรอบต้น กว้าง 6.5 ซม. ยาวได้ถึง 1 เมตร ไม่มีก้านใบ ดอกช่อออกจากกลางต้น มีดอกย่อยจำนวนมาก ผลเป็นผลรวม รูปทรงกระบอก มีใบเป็นกระจุกที่ปลายสับปะรดเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ได้ดี เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ เมื่อเจริญเป็นผลแล้วจะเจริญต่อไปโดยตาที่ลำต้นจะเติบโตเป็นต้นใหม่ได้อีก และสามารถดัดแปลงเป็นไม้ประดับได้อีกด้วย สับปะรดแบ่งออกตามลักษณะความเป็นอยู่ได้ 3 ประเภทใหญ่ ๆ คือพวกที่มีระบบรากหาอาหารอยู่ในดิน หรือเรียกว่าไม้ดิน, พวกอาศัยอยู่ตามคาคบไม้หรือลำต้นไม้ใหญ่ ได้แก่ ไม้อากาศต่าง ๆ ที่ไม่แย่งอาหารจากต้นไม้ที่มันเกาะอาศัยอยู่ พวกนี้ส่วนใหญ่จะเป็นไม้ประดับ, และพวกที่เจริญเติบโตบนผาหินหรือโขดหิน ส่วนสับปะรดที่เราใช้บริโภคจัดเป็นไม้ดิน แต่ยังมีลักษณะบางประการของไม้อากาศเอาไว้ คือ สามารถเก็บน้ำไว้ตามซอกใบได้เล็กน้อยมีเซลล์พิเศษสำหรับเก็บน้ำเอาไว้ในใบ ทำให้ทนทานในช่วงแล้งได้ สับปะรดมีเอนไซม์ย่อยโปรตีนชื่อบรอมีเลน (Bromelain) ช่วยย่อยโปรตีนไม่ให้ตกค้างในลำไส้ และ มีเกลือแร่ วิตามินซีจำนวนมาก สับปะรดเป็นพืชที่มีความสำคัญนอกจากจะนิยมบริโภคสดแล้ว ยังสามารถแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ได้หลายชนิด เช่น สับปะรดกระป๋อง น้ำสับปะรด สับปะรดแช่แข็ง สับปะรดกวน สับปะรดอบแห้ง และอื่นๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่งอุตสาหกรรมสับปะรดกระป๋อง เปลือกใช้เป็นอาหารสัตว์ ใบใช้ทำเส้นใยและกระดาษ (กรมวิชาการเกษตร, 2555)

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 วัตถุดิบ สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1.1 เชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติก *Lactobacillus casei* TISTR 1463 และ *Lactobacillus bulgaricus* TISTR 892 จากสถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย การเตรียมเชื้อโปรไบโอติก อาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์เพื่อเป็น stock culture คือ อาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูป MRS broth medium (Merck) นำเชื้อ *Lactobacillus* ที่อยู่ในลักษณะผงแห้งจากการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเลี้ยงใน MRS broth ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ (aseptic technique) นำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการถ่ายเชื้ออย่างน้อยสองครั้งเพื่อกระตุ้นให้เชื้อมีการเจริญและมีความแข็งแรง การเตรียมเซลล์แขวนลอย *Lactobacillus* ใช้ลูปทำการถ่ายเชื้อลงใน MRS broth ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเซลล์มาล้าง 2 ครั้ง ด้วย sterile phosphate buffered saline ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยการปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที และทำให้เป็นเซลล์แขวนลอยของเชื้อ ปริมาณเชื้อเริ่มต้นประมาณ 9 log cfu/ml

3.1.2 ผลไม้ไทย 2 ชนิด ได้แก่สับปะรดพันธุ์ห้วยมุ่นและฝรั่งพันธุ์กลมสาลี่ ซื้อจากตลาดร่วมใจพัฒนา จ. พิษณุโลก

3.1.3 โซเดียมแอลจีเนต (บริษัทเวชกิจ จ. พิษณุโลก)

3.1.4 เพคติน (บริษัทเวชกิจ จ. พิษณุโลก)

3.1.5 น้ำตาลทรายขาว ซื้อจากตลาดร่วมใจพัฒนา จ. พิษณุโลก

3.1.6 MRS agar (บริษัทเวชกิจ จ. พิษณุโลก)

3.1.7 Plate count agar (บริษัทเวชกิจ จ. พิษณุโลก)

3.1.8 Rose Bengal agar (บริษัทเวชกิจ จ. พิษณุโลก)

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.2.1 เครื่อง pH meter (HACH : EC 30, Scientific promotion Ltd., Germany)

3.2.2 เครื่อง Texture Analyzer (Texturepro QTS 25)

3.2.3 เครื่องรีแฟลคโตมิเตอร์ (N.O.W. Tokyo, Japan)

3.2.4 เครื่องวัดสี Hunter LAB (DP 9000) (Colorflex. : Hunter Lab Colorflex 4510, Hunter Association Laboratory,Inc. USA.)

3.2.5 เครื่อง AquaLab LITE (DECAGON Devices Inc., USA)

3.2.6 ปั๊ม Peristaltic รุ่น 520s S/N K020223 ยี่ห้อ Watson Marlow

3.2.7 เครื่องแก้วและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์

3.3 วิธีการ

3.3.1 การศึกษาประสิทธิภาพของการตรึงเซลล์โปรไบโอติกทั้ง 2 ชนิดในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้สารอัลจีเนต โดยใช้วิธีการตรึงเซลล์โปรไบโอติกที่ดัดแปลงจาก Corton และคณะ (2000) และ De Giulio และคณะ (2005) และศึกษาประสิทธิภาพในการตรึงเซลล์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar และ

โดยทำการทดลองในตู้ปลอดเชื้อ (laminar flow hood) ซึ่งในการเอนแคปซูเลชั่นเซลล์ด้วยแอลจิเนตและแซนแทนกัม (AX) โดยผสมสารละลายแอลจิเนตความเข้มข้นร้อยละ 2.0 MRS broth ร้อยละ 5.5 กลีเซอรอลร้อยละ 5.0 แซนแทนกัม ร้อยละ 0.15 อินนูลิน ร้อยละ 1.0 และ Tween 80 ร้อยละ 0.1 (w/v) ฆ่าเชื้อส่วนผสมด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้สารละลายแอลจิเนตเย็น ปิเปตสารละลายแอลจิเนตมาผสมกับเซลล์แขวนลอยในอัตราส่วน 2 ต่อ 1 จากนั้นหยดสารผสมนี้ด้วยสายยางซิลิโคนที่ปลายต่อกับทิปขนาด 1000 ไมโครลิตร ด้วยการใช้ปั๊ม (Peristaltic pump รุ่น 520s S/N K020223 ยี่ห้อ Watson Marlow) ควบคุมอัตราการไหลเป็น 0.06 ลิตรต่อชั่วโมง (เพชรรุ้ง, 2554) ลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ คนอย่างต่อเนื่องเป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อครบกำหนดกรองแยกเม็ดบีดด้วยตะแกรงปลอดเชื้อและล้างเม็ดบีดด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ที่ปลอดเชื้อแช่ทิ้งไว้เป็นระยะเวลา 10 นาที เมื่อครบกำหนดกรองเอาเม็ดบีดด้วยตะแกรงปลอดเชื้อและนำไปใช้ได้ทันที

ค่าประสิทธิภาพการเอนแคปซูเลชั่น (Sandoval-Castilla et al., 2010) ดังนี้

การศึกษาประสิทธิภาพการเอนแคปซูเลชั่นของจำนวนเซลล์โปรไบโอติกที่รอดชีวิต โดยนำเม็ดบีดน้ำหนัก 1 กรัม ใส่ในสารที่ใช้ทำลายโครงสร้างเม็ดบีด ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ค่าพีเอช 7.2 โดยต้องคนอย่างต่อเนื่องที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 10 นาที (Sheu and Marshall, 1993) นับจำนวนเชื้อโปรไบโอติกที่รอดชีวิตด้วยวิธีการ pour plate ในอาหารวุ้นชนิด MRS โดยประสิทธิภาพการเอนแคปซูเลชั่น (Entrapment efficiency) คำนวณได้ดังนี้ (Sandoval-Castilla et al., 2010)

Entrapment efficiency = A/B x 100

โดยที่ A คือจำนวนเชื้อ (CFU) ต่อน้ำหนักเม็ดบีด x น้ำหนักเม็ดบีดต่อปริมาตรของเซลล์แขวนลอย 100 มล.

B คือจำนวนเชื้อต่อปริมาตรเซลล์แขวนลอย 100 มิลลิลิตร ของเซลล์อิสระ

จากนั้นแปลงค่าเป็น log cfu/กรัมเม็ดบีด

3.3.2 การผลิตผลไม้เปลี่ยนรูปแบบปกติและการเสริมโปรไบโอติก

ทำการปอกเปลือกและหั่นผลไม้เป็นชิ้นขนาดเล็ก จากนั้นบดผลไม้ด้วยเครื่องบดไฟฟ้า นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เติมน้ำตาลทรายร้อยละ 15.0 ตามด้วยสารไฮโดรคอลลอยด์ 2 ชนิดได้แก่ โซเดียมแอลจีเนตความเข้มข้น ร้อยละ 3.25 โดยน้ำหนักผลไม้ และเพคตินร้อยละ 1.75 โดยน้ำหนักผลไม้ ที่ทำเป็นสารละลายไฮโดรคอลลอยด์ผสมและผสมลงในสับปะรดบดและฝรั่งบดร้อยละ 12.5 และ 25.0 ตามลำดับ (w/w) (จารวี และคณะ, 2555, หน้า 20) กวนให้ส่วนผสมรวมตัวกันพร้อมทั้งปรับให้มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้สุดท้ายเป็น 55 องศาบริกซ์ (Azoubel et al, 2011 p. 161) โดยการให้ความร้อน เมื่อได้ค่าที่ต้องการ เทผลไม้บดในจานเลี้ยงเชื้อ (petri dishs) ที่มีความหนา 1 เซนติเมตร นำไปอบด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 41 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง โดยอบด้านหน้า 3 ชั่วโมงและกลับตัวอย่างอบด้านใต้อีก 3 ชั่วโมง (ดัดแปลงจากจารวี และคณะ, 2555, หน้า 21) ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาบรรจุในถุงพลาสติก PE และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5±2 องศาเซลเซียส

การเสริมแบคทีเรียโปรไบโอติกที่ถูกเอนแคปซูเลชั่นในผลไม้เปลี่ยนรูป ดำเนินการผลิตผลไม้เปลี่ยนรูปเช่นเดียวกับขั้นตอนข้างต้น และนำเชื้อโปรไบโอติกที่ถูกตรึงในข้อ 3.3.1 ไปผสมในผลิตภัณฑ์

ภายหลังจากการกวนให้ส่วนผสมรวมตัวกันและปรับให้มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้สุดท้ายเป็น 55 องศาบริกซ์แล้ว โดยลดอุณหภูมิผลไม้บดที่เคี่ยวลงให้เหลือประมาณ 45 องศาเซลเซียส โดยคำนวณให้มีปริมาณเชื้อโปรไบโอติกในผลิตภัณฑ์สุดท้ายประมาณ 9-10 log CFU/g จากนั้นนำไปอบด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 41 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง โดยอบด้านหน้า 3 ชั่วโมงและกลับตัวอย่างอบด้านใต้อีก 3 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำมาบรรจุในถุงพลาสติก PE และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5±2 องศาเซลเซียส โดยศึกษาคุณภาพด้านต่างๆ ได้แก่ เคมีกายภาพและจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์ โดยวิเคราะห์ตัวอย่างเป็นระยะ ดังนี้

- ค่าสี L* a* b* ด้วยเครื่องวัดสี Hunter LAB (DP 9000)
- ค่าลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture analyser)
- ค่า pH (pH meter)
- ความชื้น (AOAC., 2000)
- Aw (AOAC., 2000)
- ปริมาณจุลินทรีย์โปรไบโอติกที่รอดชีวิต (MRS agar)
- ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Plate count agar)
- ปริมาณยีสต์และเชื้อรา (Rose Bengal agar)

ทำการประเมินอายุการเก็บรักษา โดยอ้างอิงตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ผลไม้อบแห้ง ได้แก่ ปริมาณยีสต์และเชื้อราไม่เกิน 2 log cfu/g หรือปริมาณจุลินทรีย์โปรไบโอติกที่รอดชีวิตต่ำกว่า 6 log cfu/g

3.4 วิเคราะห์ข้อมูล โดยการนำข้อมูลที่ได้มาประเมินผลความแตกต่างด้วยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และทดสอบความแตกต่างด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test ที่ระดับที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

สถานที่ทำการทดลอง/เก็บข้อมูล

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลก 65000

บทที่ 4
ผลการวิจัย

ตอนที่ 1. การศึกษาประสิทธิภาพของการตรึงเซลล์โปรไบโอติก *Lactobacillus casei* และ *Lactobacillus bulgaricus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้สารอัลจีเนต โดยใช้วิธีการตรึงเซลล์โปรไบโอติกที่ดัดแปลงจาก Corton และคณะ (2000) และ De Giulio และคณะ (2005) จากการศึกษาประสิทธิภาพของการตรึงเซลล์โปรไบโอติกทั้งสองชนิดได้ผลดังตารางที่ 1 และ ปริมาณเชื้อโปรไบโอติกก่อนและหลังการตรึงเซลล์ได้ผลดังตารางที่ 2

ตารางที่ 1 ประสิทธิภาพของการตรึงเซลล์โปรไบโอติกสองชนิด

Probiotic	*L. casei*	*L. bulgaricus*
Encapsulation efficiency	99.25±7.04a	99.33±0.35a

*ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันในแถวเดียวกัน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

ตารางที่ 2 ปริมาณเชื้อโปรไบโอติกก่อนและหลังการตรึงเซลล์

Probiotic		Initial load (log cfu/g)
L. casei	free	9.81 ± 0.45a
	Encapsulated	9.85 ± 0.11a
L. bulgaricus	free	10.22 ± 0.11a
	Encapsulated	9.83 ± 0.21a

*ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่เหมือนกันในคอลัมน์เดียวกัน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$)

ตารางที่ 1 แสดงค่าประสิทธิภาพของการตรึงเซลล์โปรไบโอติกสองชนิดพบว่ามีค่าสูงและไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) Pillay and Fassihi (1999) รายงานว่าเม็ดบีดที่เกิดจาก calcium-alginate โดยทั่วไปมีลักษณะกลมในขณะที่เม็ดบีดที่เกิดจาก calcium-pectinate และcalcium-alginate–pectinate มีลักษณะโครงสร้างคล้ายแผ่น (disc-like) ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากความแตกต่างของปฏิกิริยาเชื่อมข้าม (crosslinking) ที่แตกต่างกันของสารไฮโดรคอลลอยด์แต่ละชนิดในระหว่างการเกิดเม็ดบีด นอกจากนั้น Reid et al. (2005) รายงานว่าค่าประสิทธิภาพของการตรึงเซลล์มีผลต่อปัจจัยหลัก 2 ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณของเชื้อที่มีในเม็ดบีด ได้แก่ 1) การที่เซลล์สูญหายไปในสารละล่านแคลเซียมคลอไรด์ และ 2) การสูญเสียการรอดชีวิตของเชื้อภายในเม็ดบีด โดยผลจากการทดลองนี้พบว่าการตรึงเซลล์โปรไบโอติกไม่มีผลทำให้ปริมาณเชื้อในเม็ดบีดแตกต่างจากเซลล์อิสระที่ไม่ได้ถูกตรึง ($p>0.05$) ดังตารางที่ 2 โดยพบว่าเชื้อโปรไบโอติกมีปริมาณระหว่าง 9 – 10 log cfu/g ซึ่งสามารถนำเซลล์ที่ถูกตรึงไปใช้ในการทดลองขั้นต่อไปได้

ตอนที่ 2. การผลิตผลไม้เปลี่ยนรูปเสริมโปรไบโอติกและการเปลี่ยนแปลงสมบัติต่างๆในระหว่างการเก็บรักษา

จากการผลิตสับปะรดและฝรั่งเปลี่ยนรูปเสริมโปรไบโอติก โดยทำการปอกเปลือกและหั่นผลไม้เป็นชิ้นขนาดเล็ก จากนั้นบดผลไม้ด้วยเครื่องบดไฟฟ้า นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เติมน้ำตาลทรายร้อยละ 15.0 ตามด้วยสารไฮโดรคอลลอยด์ 2 ชนิดได้แก่ โซเดียมแอลจีเนตความเข้มข้น ร้อยละ 3.25 โดยน้ำหนักผลไม้ และเพคตินร้อยละ 1.75 โดยน้ำหนักผลไม้ ที่ทำเป็นสารละลายไฮโดรคอลลอยด์ผสมและผสมลงในสับปะรดบดและฝรั่งบดร้อยละ 12.5 และ 25.0 ตามลำดับ (w/w) กวนให้ส่วนผสมรวมตัวกันพร้อมทั้งปรับให้มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้สุดท้ายเป็น 55 องศาบริกซ์ โดยการให้ความร้อน เมื่อได้ค่าที่ต้องการและนำเชื้อโปรไบโอติกที่ถูกตรึงที่เตรียมไว้ ไปผสมในผลิตภัณฑ์ภายหลังจากการกวนให้ส่วนผสมรวมตัวกัน โดยลดอุณหภูมิผลไม้บดที่เคี่ยวลงให้เหลือประมาณ 45 องศาเซลเซียส โดยการคำนวณให้มีปริมาณเชื้อโปรไบโอติกในผลิตภัณฑ์สุดท้ายประมาณ 9-10 log CFU/g จากนั้นผสมให้เข้ากันและเทผลไม้บดผสมโปรไบโอติกที่ถูกตรึงในจานเลี้ยงเชื้อ (petri dishs) ที่มีความหนา 1 เซนติเมตร นำไปอบด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 41 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง โดยอบด้านหน้า 3 ชั่วโมงและกลับตัวอย่างอบด้านใต้อีก 3 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง พบว่าสับปะรดและฝรั่งเปลี่ยนรูปเสริมโปรไบโอติกมีสมบัติต่างๆเริ่มต้นดังตารางที่ 3 ในส่วนของการประเมินอายุการเก็บรักษา ซึ่งอ้างอิงตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ผลไม้อบแห้ง ได้แก่ ปริมาณยีสต์และเชื้อราไม่เกิน 2 log cfu/g หรือปริมาณจุลินทรีย์โปรไบโอติกที่รอดชีวิตต่ำกว่า 6 log cfu/g โดยนำผลไม้เปลี่ยนรูปเสริมโปรไบโอติกมาบรรจุในถุงพลาสติก PE และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5±2 องศาเซลเซียส โดยทำการวิเคราะห์สมบัติต่างๆ ได้ผลดังต่อไปนี้

ค่า Aw

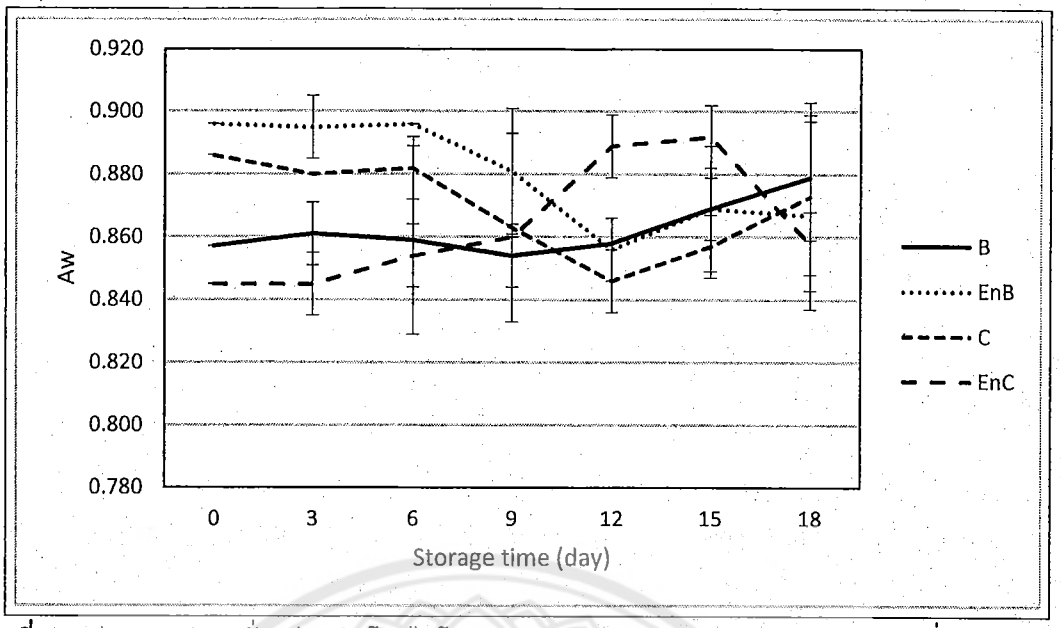
จากภาพที่ 1 พบว่าค่า Aw ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสมีค่าอยู่ระหว่าง 0.845 – 0.896 โดยในวันที่ 0 ของการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ค่า Aw ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกที่ถูกตรึงและที่เสริมในรูปเซลล์อิสระมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) อย่างไรก็ตามเมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไว้เป็นเวลา 16 วันพบว่าโดยส่วนใหญ่ค่า Aw ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกไม่แตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเนื่องจากสภาวะในการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ซึ่งผลิตภัณฑ์ถูกบรรจุในถุงพลาสติกชนิด PE และเก็บรักษาในตู้เย็นซึ่งมีความชื้น จึงทำให้เกิดการถ่ายเทความชื้นระหว่างผลิตภัณฑ์และบรรยากาศทั้งภายในและภายนอกภาชนะบรรจุ ค่า Aw หรือค่า Water Activity เป็นปัจจัยที่สำคัญในการควบคุมและป้องกันการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์อาหาร จึงมีผลโดยตรงต่อการกำหนดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหาร เนื่องจากค่า Aw เป็นปัจจัยที่ชี้ระดับปริมาณน้ำต่ำสุดในอาหารที่เชื้อจุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตและใช้ในการเกิดปฏิกิริยาเคมีต่างๆ ดังนั้นจึงสามารถใช้ค่า Aw ในการประเมินว่าเชื้อจุลินทรีย์ชนิดใดเป็นหรือไม่เป็นสาเหตุที่ทำให้อาหารเสื่อมเสีย ตลอดจนใช้ในการควบคุมและป้องกันการเสื่อมเสียของอาหารที่เกิดขึ้นจากเชื้อจุลินทรีย์ได้เนื่องจากจุลินทรีย์จะเจริญเติบโตได้ภายใต้ค่า Aw ที่จำกัดโดยการทำให้อาหารมีค่า Aw ต่ำกว่าที่เชื้อจุลินทรีย์จะสามารถเจริญเติบโตได้ ตัวอย่างเช่น แบคทีเรียเกือบทุกชนิดไม่สามารถเจริญเติบโตได้ที่ค่า Aw ต่ำกว่า 0.9 และราส่วนใหญ่จะไม่เจริญเติบโตที่ค่า Aw ต่ำกว่า 0.7 (ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว

ตารางที่ 3 สมบัติเริ่มต้นทางเคมีกายภาพและจุลชีววิทยาของผลไม้เปลี่ยนรูปเสริมโปรไบโอติกที่ถูกตรึง

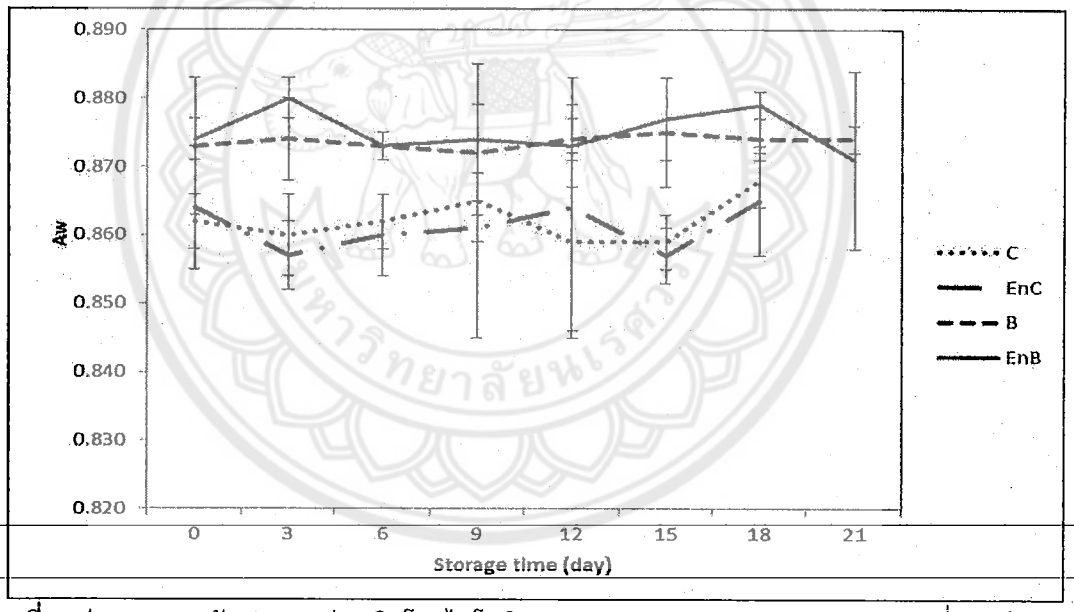
สมบัติเริ่มต้น	สับปะรดเสริมโปรไบโอติกที่ถูกตรึง		ฝรั่งเสริมโปรไบโอติกที่ถูกตรึง	
	L. casei	*L. bulgaricus*	*L. casei*	*L. bulgaricus*
Aw	0.864±0.009	0.874±0.003	0.845±0.00	0.896±0.00
pH	4.05±0.04	4.09±0.01	4.09±0.04	4.10±0.02
L*	22.54±4.41	17.55±1.87	30.4±1.12	29.6±0.77
a*	1.01±0.43	1.75±0.51	6.53±0.11	7.28±0.11
b*	8.23±1.85	8.87±1.42	11.44±0.28	11.33±0.34
Hardness (g)	123.50±14.64	109.25±9.74	186.33±13.05	197.33±4.73
Gumminess (g)	71.88±10.15	58.92±6.48	241.99±4.37	231.33±3.06
Adhesiveness (g)	-176.70±25.09	-162.67±23.70	-11.32±1.00	-9.69±0.19
Cohesiveness	0.76±0.40	0.54±0.02	15.87±1.00	15.65±0.54
Chewiness (gmm)	512.72±78.19	413.53±52.33	288.99±22.59	277.39±10.53
Springiness (mm)	7.05±0.08	7.01±0.14	1.65±0.29	1.65±0.11
% acidity (as lactic acid)	1.81±0.08	1.64±0.09	0.37±0.02	0.41±0.04
Moisture content (%)	40.14±2.48	39.55±1.99	22.90±0.56	22.89±0.58
Lactic acid bacteria (log cfu/g)	6.59	7.24	8.71	8.86
Total plate count (log cfu/g)	6.66	7.34	8.62	8.81
Yeasts & molds (cfu/g)	<10	<10	<10	<10

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2557) อย่างไรก็ตามเนื่องจากผลิตภัณฑ์ฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกนี้ยังมีค่า Aw ที่ค่อนข้างสูง จึงยังมีโอกาสที่จะเสื่อมเสียได้จากทั้งแบคทีเรีย ยีสต์และเชื้อรา

ในส่วนของค่า Aw ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสแสดงดังภาพที่ 2



ภาพที่ 1 ค่า Aw ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

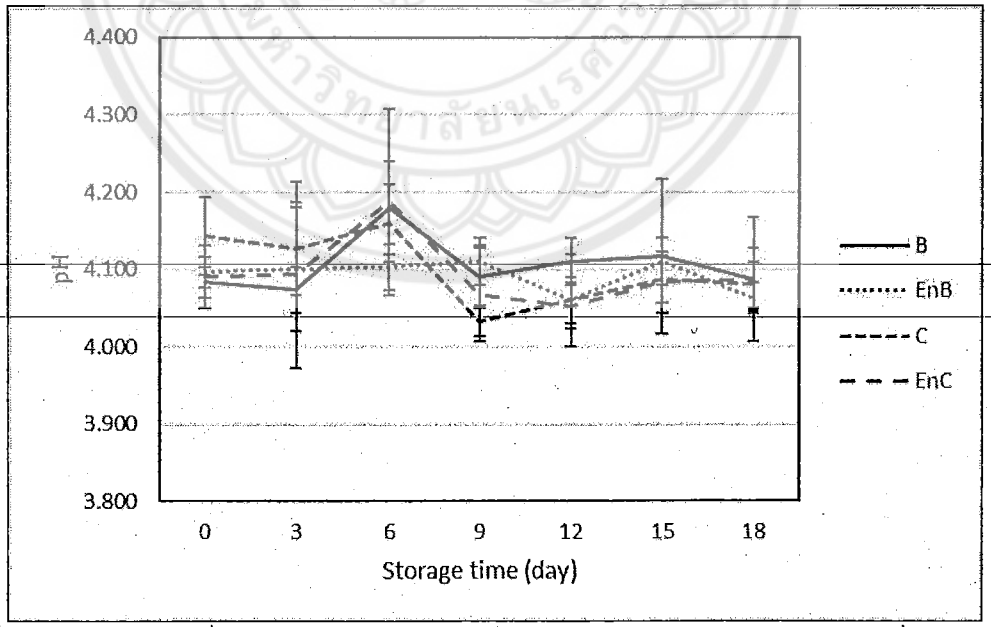


ภาพที่ 2 ค่า Aw ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

จากภาพที่ 2 พบว่าค่า Aw ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสในวันที่ 0 มีค่าอยู่ระหว่าง 0.862 – 0.874 และหลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 18 วันพบว่าสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติกมีค่า Aw อยู่ระหว่าง 0.865 - 0.879 โดยพบว่ามีค่าเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยและค่าโดยส่วนใหญ่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติจากค่าเริ่มต้น ($p>0.05$) และเช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์ฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกซึ่งผลิตภัณฑ์สับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติกนี้ยังมีค่า Aw ที่ค่อนข้าง

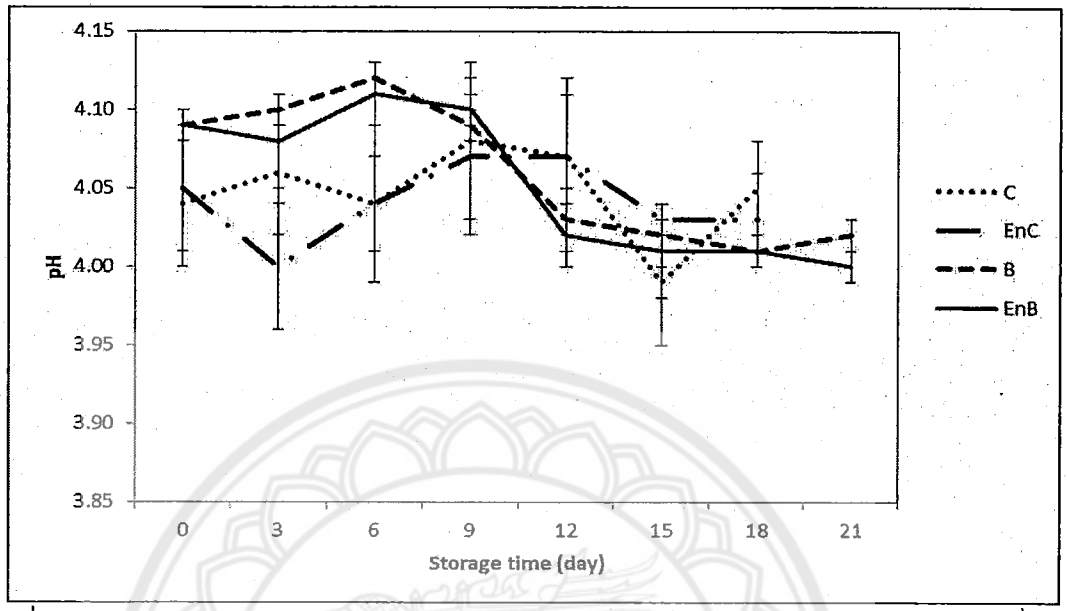
สูงทำให้มีโอกาสที่จะเสื่อมเสียได้จากทั้งแบคทีเรีย ยีสต์และเชื้อราได้ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ

ในส่วนของค่า pH ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสดังภาพที่ 3 พบว่าในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา มีค่าอยู่ระหว่าง 4.08 – 4.14 และเมื่อเก็บรักษาไว้นานเป็นเวลา 18 วัน พบว่าค่า pH มีค่าอยู่ระหว่าง 4.06 – 4.09 โดยพบว่าในแต่ละวันที่ทำการวิเคราะห์พบว่า ค่า pH ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยทั่วไปการเจริญของจุลินทรีย์จะมีการใช้แหล่งคาร์บอนในรูปที่ง่ายที่สุดก่อนโดยมักจะใช้น้ำตาลโมเลกุลอย่างง่ายหรือขนาดเล็กเช่นน้ำตาลกลูโคส จากนั้นจึงใช้น้ำตาลที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่หรือซับซ้อนขึ้น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์ของเชื้อซึ่งแตกต่างกันไปในแต่ละชนิด โดยการใช้น้ำตาลดังกล่างมีผลทำให้เกิดสารผลิตภัณฑ์ซึ่งได้แก่กรด รวมทั้งสารอื่นๆที่เกิดขึ้น ดังนั้นโดยทั่วไปการวัดค่า pH ที่เปลี่ยนแปลงไปของอาหารจึงอาจนำมาใช้ในการวิเคราะห์ว่าเชื้อจุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตหรือไม่ อย่างไรก็ตามเนื่องจากในระบบของอาหารมีความซับซ้อนและอาจมีข้อจำกัดหรือปัจจัยอื่นๆที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ร่วมอยู่ด้วย เช่นการมีสารที่มีคุณสมบัติเป็นบัพเฟอร์ที่ทำให้ระบบอาหารนั้นเกิดการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ได้น้อย ดังนั้นการวิเคราะห์ค่า pH จึงอาจไม่ให้ผลที่ชัดเจน ในส่วนของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกในงานวิจัยอาจเป็นไปได้ว่าแบคทีเรียโปรไบโอติกอาจจะถูกจำกัดการเจริญทั้งที่มีสาเหตุที่มาจากอุณหภูมิต่ำที่ใช้ในการเก็บรักษา รวมทั้งค่า Aw ที่ต่ำลงเนื่องจากการเติมสารไฮโดรคอลลอยด์เข้าในผลิตภัณฑ์ดังนั้นจึงทำให้ค่า pH ที่วิเคราะห์ได้ไม่พบการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนในระหว่างการเก็บรักษา



ภาพที่ 3 ค่า pH ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ในส่วนของค่า pH ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสแสดงดังภาพที่ 4



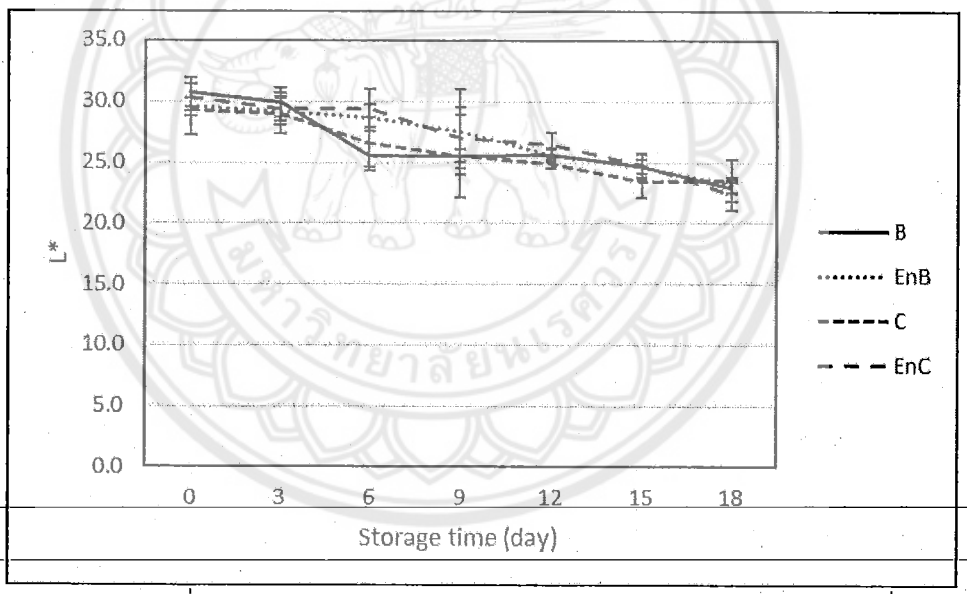
ภาพที่ 4 ค่า pH ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

จากภาพที่ 4 พบว่าค่า pH ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา มีค่าอยู่ระหว่าง 4.04 - 4.09 และเมื่อเก็บรักษาไว้นานเป็นเวลา18 วัน พบว่าค่า pH มีค่าอยู่ระหว่าง 4.01 - 4.05 โดยพบว่าในแต่ละวันที่ทำการวิเคราะห์พบว่า ค่า pH ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ทั้งนี้ค่า pH ที่วิเคราะห์ได้ไม่พบการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจนในระหว่างการเก็บรักษาซึ่งอาจมีสาเหตุเช่นเดียวกับในผลิตภัณฑ์ฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกดังที่ได้กล่าวมาแล้ว

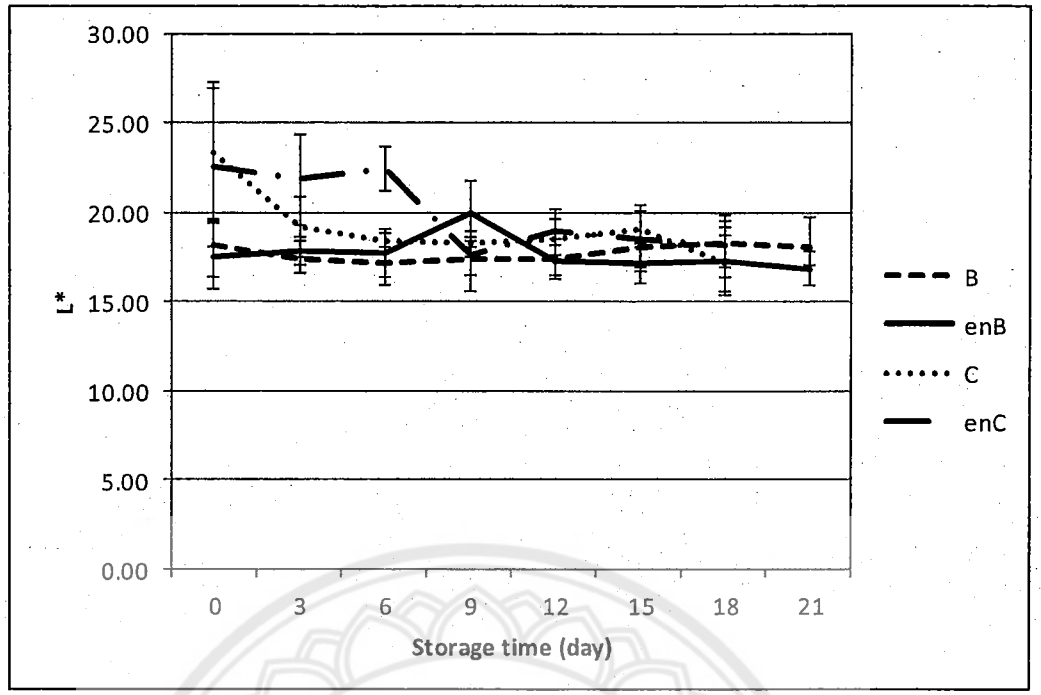
ในส่วนของค่า L* ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสดังภาพที่ 5 พบว่าค่า L* ในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในทุกทรีตเมนต์เป็นเวลา 18 วัน มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) โดยค่า L* เริ่มต้นของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา มีค่าอยู่ระหว่าง 29.32 – 30.75 และมีค่าลดลงเหลือ 22.37 – 23.55 ในวันที่ 18 ของการเก็บรักษา โดยค่า L* หมายถึง ค่าความสว่างมีค่าระหว่าง 0 – 100 โดยค่า 0 หมายถึง สีมืดที่สุด ส่วน 100 หมายถึงสว่างที่สุด ซึ่งการลดลงของค่า L* หรือสีที่เกิดการคล้ำลงของผลิตภัณฑ์นี้อาจเกิดมาจากสาเหตุหลายประการเช่นการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลเนื่องมาจากเอ็นไซม์ที่มีอยู่ในฝรั่ง ซึ่งอาจหลงเหลืออยู่หลังจากกระบวนการให้ความร้อนในระหว่างการผลิตฝรั่งแท่ง พิมพ์เพ็ญ และ นิธิยา (2557) รายงานว่าปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เกี่ยวกับเอนไซม์เป็นปฏิกริยาออกซิเดชัน (oxidation) จะเกิดขึ้นเมื่อเซลล์

ของสิ่งมีชีวิตเกิดการช้ำ ฉีก ขาด เมื่อถูกกระแทก บด หั่น หรือสับทำให้เอนไซม์ สารที่ทำปฏิกิริยา (substrate) และออกซิเจนเข้ามาสัมผัสกัน สาร monophenol (ไม่มีสี) จะถูกออกซิไดซ์ เป็นไดฟีนอล (diphenol) ซึ่งไม่มีสี และถูกออกซิไดซ์ต่อเป็น o-quinone ซึ่งจะทำปฏิกิริยาต่อกับกรดแอมิโนหรือโปรตีนได้เป็นสารสีน้ำตาล และจะรวมตัวกันเป็นพอลิเมอร์ที่มีโมเลกุลใหญ่และมีสีน้ำตาล เช่น เมลานิน (melanin) นอกจากนั้นยังอาจเกิดจากปฏิกิริยาเมลลาร์ด เป็นปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลชนิดที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ เกิดขึ้นระหว่างน้ำตาลรีดิวส์กับกรดแอมิโน โปรตีน หรือสารประกอบไนโตรเจนอื่นๆ โดยมีความร้อนเร่งปฏิกิริยา ผลิตผลที่ไม่พึงประสงค์จากปฏิกิริยาเมลลาร์ด พบระหว่างการเก็บรักษาทำให้ผลิตภัณฑ์เปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลเข้มในนมผง ทุเรียนกวน เป็นต้น

ในส่วนของค่า L* ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสดังภาพที่ 6 พบว่าค่า L* โดยส่วนใหญ่ในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในทุกทรีตเมนต์เป็นเวลา 18 วันมีค่าลดลงเพียงเล็กน้อยแต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) โดยมีค่าเริ่มต้นอยู่ระหว่าง 17.55 – 23.41 และเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 18 วันพบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง 17.18 – 18.28 ซึ่งการลดงของค่า L* นั้นมีสาเหตุกันกับที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกดังที่ได้กล่าวมาแล้ว

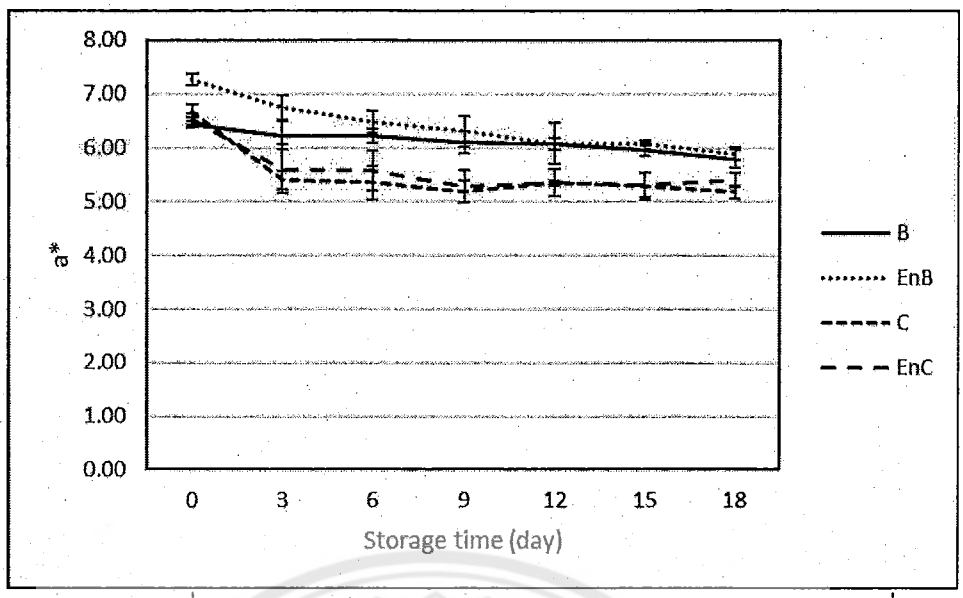


ภาพที่ 5 ค่า L* ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

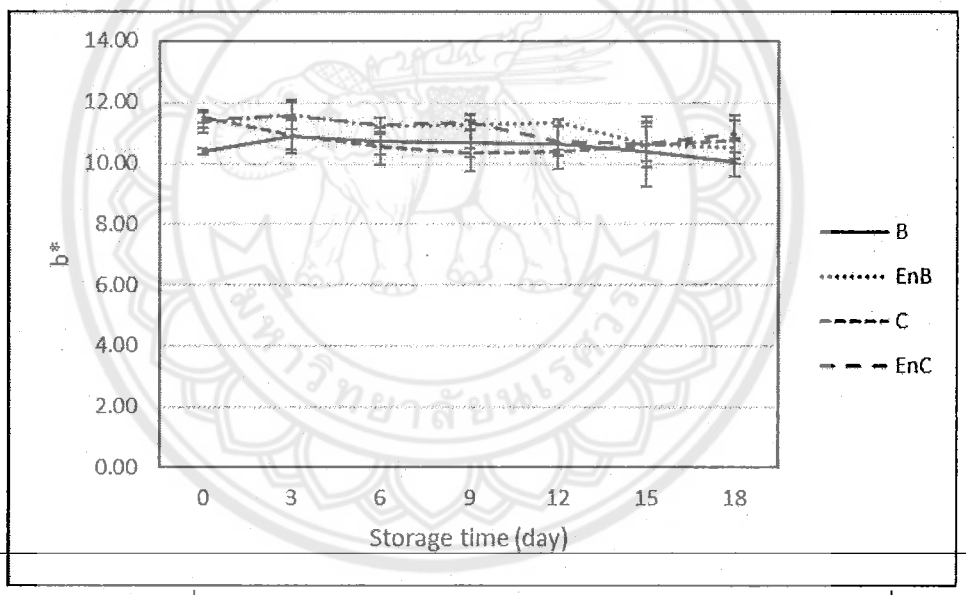


ภาพที่ 6 ค่า L* ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ในส่วนของค่า a* และค่า b* ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสดังภาพที่ 7 และ 8 ตามลำดับ พบว่าค่า a* ในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในทุกทรีตเมนต์เป็นเวลา 18 วันมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยค่า a* เริ่มต้นของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกในวันที่ 0 ของการเก็บรักษา มีค่าอยู่ระหว่าง ค่า 6.43 – 7.27 และมีค่าลดลงเหลือ 5.19 – 5.89 ในวันที่ 18 ของการเก็บรักษา ซึ่งค่า a* หมายถึง ค่าที่แสดงความเป็นสีแดง หรือเขียว โดย +a หมายถึง แสดงความเป็นสีแดง และ -a หมายถึง แสดงความเป็นสีเขียว โดยผลจากการวิเคราะห์พบว่าผลิตภัณฑ์มีสีค่อนไปทางสีเขียวคล้ำ ในส่วนของค่า b* ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าค่า b* ในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในทุกทรีตเมนต์เป็นเวลา 18 วันมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ซึ่งค่า b* หมายถึง ค่าที่แสดงความเป็นสีเหลืองหรือน้ำเงิน โดย +b หมายถึง แสดงความเป็นสีเหลือง และ -b หมายถึง แสดงความเป็นสีน้ำเงิน โดยผลจากการวิเคราะห์พบว่าผลิตภัณฑ์มีสีค่อนไปทางสีน้ำเงินคล้ำทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นของค่า a* และ b* นั้นมีสาเหตุมาจากที่ได้อธิบายไว้แล้วเช่นเดียวกับค่า L*



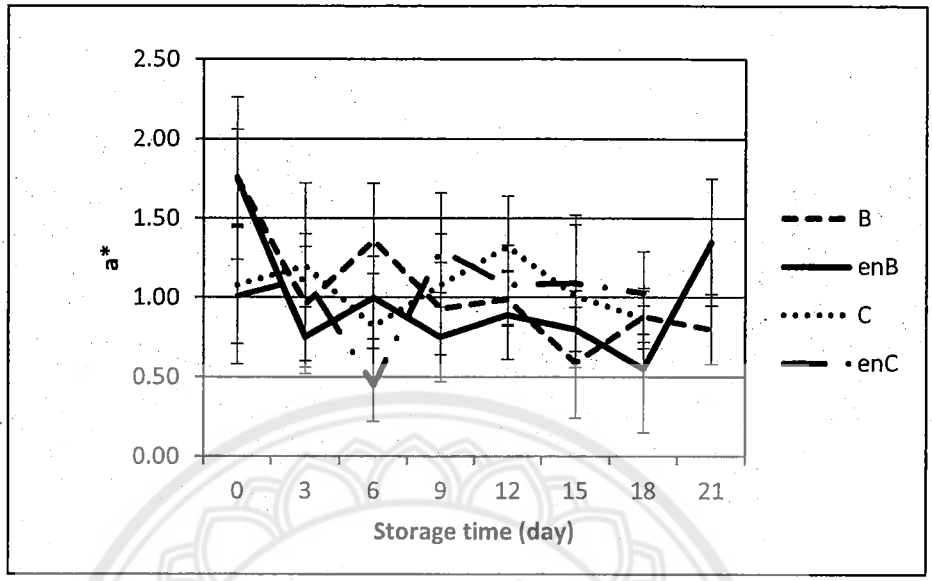
ภาพที่ 7 ค่า a* ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส



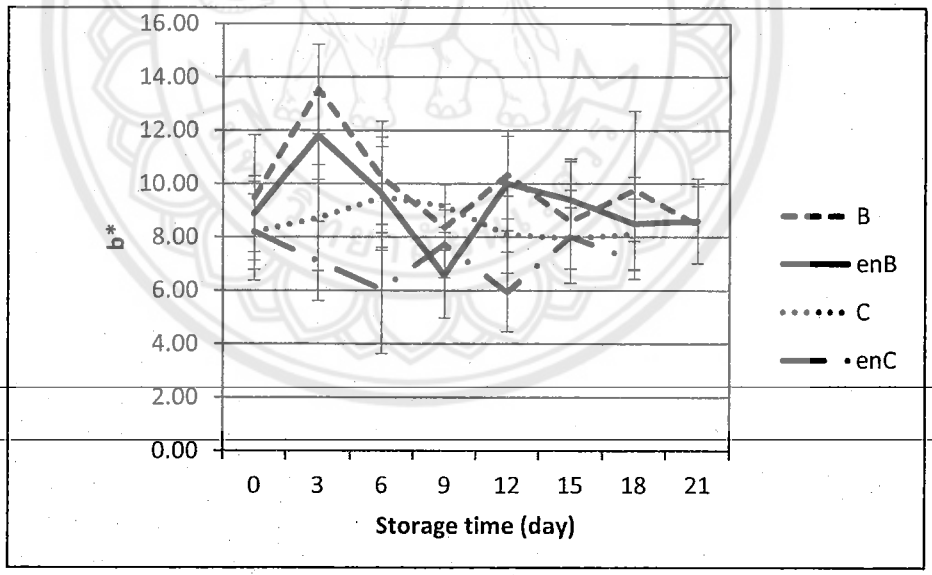
ภาพที่ 8 ค่า b* ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ในส่วนของค่า a* และ b* ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสดังภาพที่ 9 และ 10 ตามลำดับ พบว่าค่า a* ในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในทุกทรีตเมนต์เป็นเวลา 18 วันมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อย ทั้งนี้ค่าที่วัดได้มีค่าไม่สม่ำเสมอ อาจเนื่องมาจากความไม่สม่ำเสมอของการวัดรวมทั้งผลิตภัณฑ์ และในส่วนของค่า b* ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสพบว่าโดยส่วนใหญ่มีค่าไม่แตกต่างกัน

และมีแนวโน้มไม่เปลี่ยนแปลงเมื่อเก็บรักษานานขึ้น และค่าที่วัดได้มีค่าไม่สม่ำเสมอเช่นเดียวกับค่า a* ซึ่งอาจเกิดจากสาเหตุที่ได้กล่าวไว้แล้ว



ภาพที่ 9 ค่า a* ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส



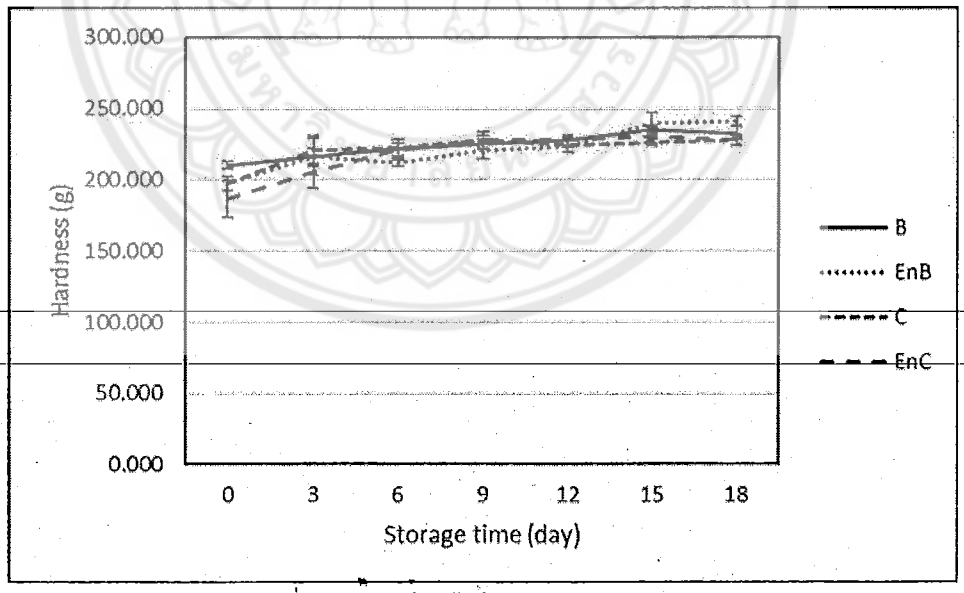
ภาพที่ 10 ค่า b* ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เนื้อสัมผัส (texture) หมายถึง ลักษณะที่มนุษย์สามารถรับรู้ได้ด้วยการสัมผัส ผู้บริโภครับรู้เนื้อสัมผัสของอาหารได้ด้วยการสัมผัสด้วยมือ โดยการจับ แตะ บีบ นี้ ระหว่างการปอกเปลือก การสัมผัสด้วยฟัน เพดาน ปากลิ้นและอาจรับรู้ด้วยการฟังเสียงจากการดีด การเคี้ยว การวิเคราะห์เนื้อสัมผัสด้วยเครื่องมือวัด (texture analysis) โดยการใช้เครื่องมือเพื่อจำลองแรงกระทำจากการสัมผัสของมนุษย์ ในรูปแบบต่างๆ เช่น แรงกระทำของฟัน ระหว่างการเคี้ยว การบด การตัด การดึง การหัก แล้ววัดค่าที่

ตอบสนองกับแรงกระทำในเชิงปริมาณ (พิมพ์เพ็ญ และ นิธิยา, 2557) จากการวิเคราะห์เนื้อสัมผัสของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกแสดงผลดังต่อไปนี้

ค่า hardness

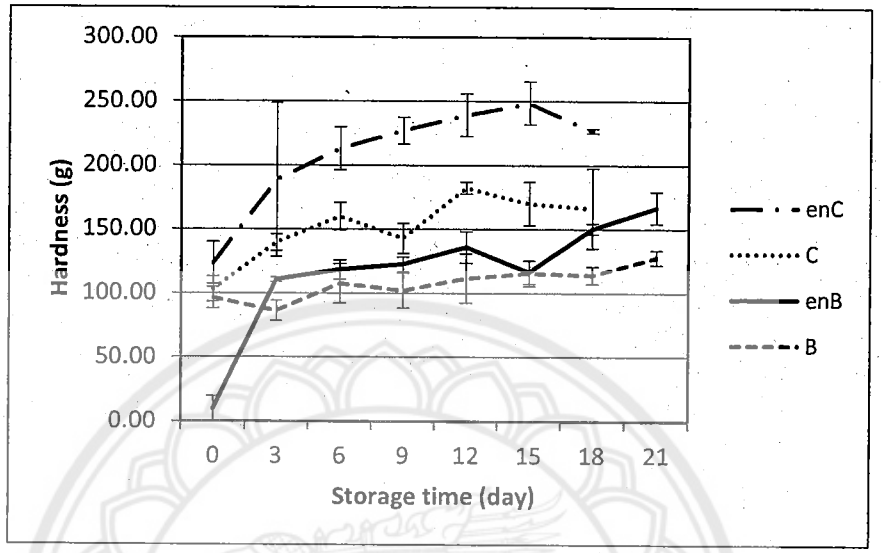
ความแข็ง (hardness) เป็นสมบัติด้านเนื้อสัมผัส (texture properties) การวิเคราะห์เนื้อสัมผัสของอาหารเพื่อให้ได้ค่าความแข็งสามารถทำได้ด้วยการทดสอบแบบการกด (compression test) การเจาะทะลุ (penetration test) จากกราฟการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง (deformation) พร้อมแรงต้าน (force, N) ของตัวอย่างของอาหารความแข็ง(hardness) ของวัสดุแสดงได้ด้วยแรงกดสูงสุด (maximum force, N) ก่อนวัสดุจะแตกหักวัสดุที่มีความแข็งมากจะต้านทานแรงกดได้มากมีแรงกดสูงสุดมาก (พิมพ์เพ็ญ และ นิธิยา, 2557) ค่า hardness ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แสดงดังภาพที่ 11 โดยพบว่าเมื่อเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ค่าความแข็งของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกทั้ง 4 ทรีตเมนต์มีแนวโน้มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกมีค่าเริ่มต้นในวันที่ 0 ของการเก็บรักษาอยู่ระหว่าง 186.3 – 210.0 g และในวันที่ 18 ของการเก็บรักษามีค่าอยู่ระหว่าง 227.3 – 241.3 g การเปลี่ยนแปลงของค่าความแข็งนี้อาจเนื่องมาจากการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาการเชื่อมไขว้ (crosslinking reactions) ระหว่างสารอัลจิเนตและเพคติน ทำให้เกิดเป็นโครงร่างโพลีเมอร์ที่เชื่อมต่อกันทั้งในส่วนของเม็ดบีดของเชื้อโปรไบโอติกที่ถูกตรึง (Sandoval-Castilla, et.al. 2010) และในส่วนของตัวผลิตภัณฑ์ที่มีการเติมสารทั้งสองชนิดนี้ในระหว่างการผลิต



ภาพที่ 11 ค่า hardness ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ค่า hardness ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แสดงดังภาพที่ 12 โดยพบว่าเมื่อเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ค่าความแข็งของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอ

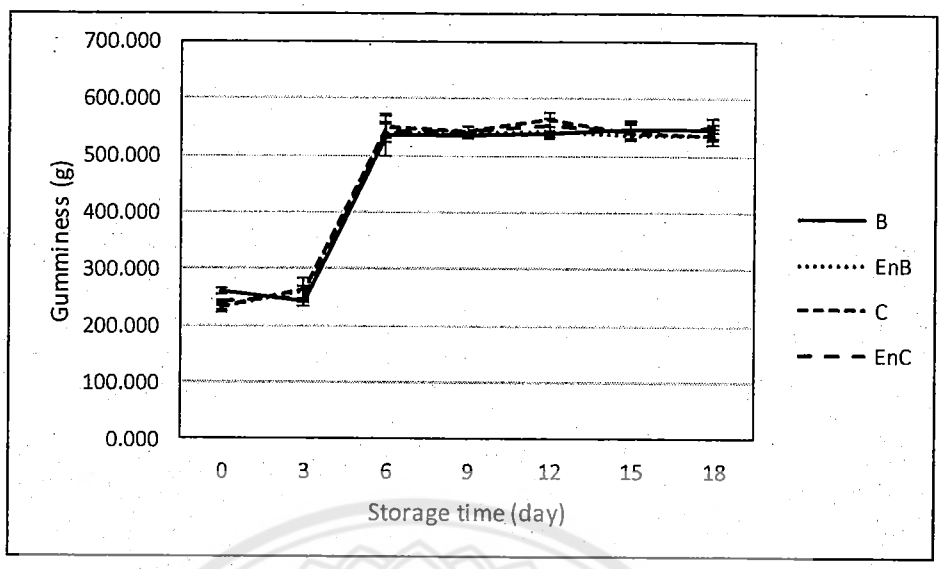
ติกทั้ง 4 ทรีตเมนต์มีแนวโน้มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติกมีค่าเริ่มต้นในวันที่ 0 ของการเก็บรักษาอยู่ระหว่าง 96.25 – 123.50 g และในวันที่ 18 ของการเก็บรักษามีค่าอยู่ระหว่าง 114.0 -116.25 g ทั้งนี้การที่ความแข็งของผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษาน่าจะเกิดจากสาเหตุเดียวกับผลิตภัณฑ์ฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกดังที่ได้กล่าวมาแล้ว



ภาพที่ 12 ค่า hardness ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

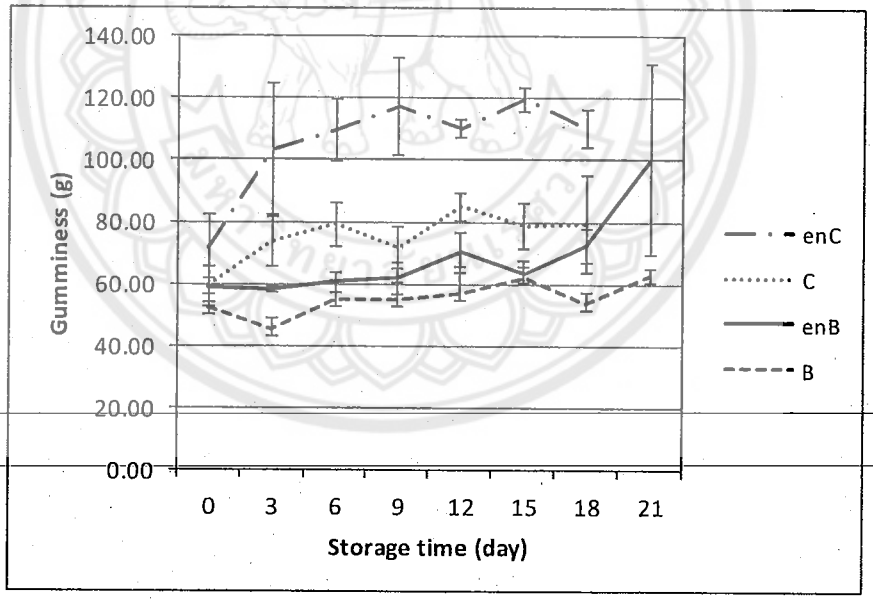
ค่า Gumminess

Gumminess หมายถึง ลักษณะที่อาหารกึ่งแข็งที่แตกตัวออกจนพร้อมที่จะกลืนได้ เป็นสมบัติเชิงเนื้อสัมผัส (texture properties) ของอาหารที่มีค่าความแข็ง (hardness) ต่ำ และ cohesiveness สูง วิธีการประเมิน 1 โดยการใช้ผู้บริโภค วิธีประเมินค่าโดยวิธี texture profiling โดยใช้ตัวอย่างแป้งเปียก ซึ่งเป็นแป้งข้าวสาลีในน้ำที่มีอัตราส่วนแตกต่างกัน ซึ่งได้จากการเตรียมตามสเกลมาตรฐาน การทดสอบจะให้ผู้ทดสอบวางตัวอย่างในปาก ใช้ลิ้นคลึงกับเพดานปาก ตัดสินค่า gumminess ของตัวอย่างโดยพิจารณาจากเวลาที่ทำให้อาหารนั้นแตกตัว แป้งเปียกที่มีความเข้มข้น 60% จะมีค่าสเกลมาตรฐานของค่า gumminess เท่ากับ 5 ซึ่งหมายความว่า ต้องใช้เวลาในการทำให้อาหารนั้นแตกตัวนานกว่าเมื่อทดสอบแป้งเปียกที่มีความเข้มข้น 40% เป็นต้น (พิมพ์เพ็ญ และ นิธิยา, 2557) ธงชัย (2549) รายงานว่า ระดับความเป็นกาวยางหรือแป้งเปียก (gumminess) คือลักษณะกาวยางหรือแป้งเปียกที่เกิดขึ้นในตัวอย่างที่มีลักษณะของของแข็งขณะบดเคี้ยวว่ามากน้อยเพียงไร ค่านี้หาได้จากผลคูณของค่า hardness กับค่า cohesiveness จากการทดลองพบว่าค่า gumminess ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้น แสดงดังภาพที่ 13 เช่นเดียวกับค่า hardness โดยพบว่าฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกมีค่า gumminess โดยส่วนใหญ่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) และมีค่าเริ่มต้นในวันที่ 0 ของการเก็บรักษาอยู่ระหว่าง 231.3 – 261.6 g และในวันที่ 18 ของการเก็บรักษามีค่าอยู่ระหว่าง 535.9 – 549.4 g ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงของค่านี้อาจมีสาเหตุเดียวกับการเปลี่ยนแปลงของค่า hardness ดังที่กล่าวมาแล้ว



ภาพที่ 13 ค่า gumminess ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ค่า gumminess ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติกแสดงดังภาพที่ 14



ภาพที่ 14 ค่า gumminess ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

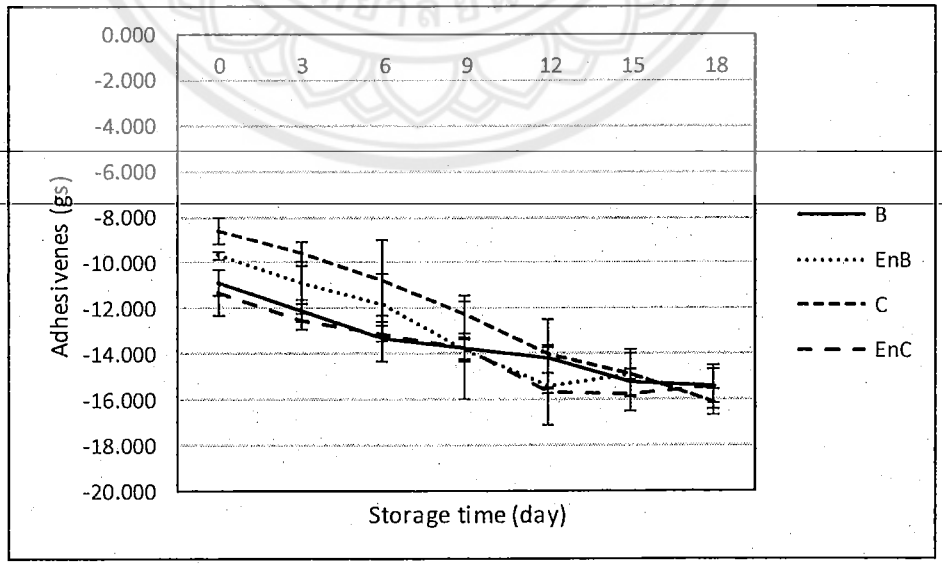
จากภาพที่ 14 พบว่าค่า gumminess ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีค่าเริ่มต้นในวันที่ 0 ของการเก็บรักษาอยู่ระหว่าง 52.13 – 59.46 g และ

สำนักหอสมุด
17 ส.ค. 2559

ในวันที่ 18 ของการเก็บรักษา มีค่าอยู่ระหว่าง 72.26 – 110.49 g ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงของค่าดังกล่าวอาจมีสาเหตุเดียวกับการเปลี่ยนแปลงของค่า hardness ดังที่กล่าวมาแล้ว

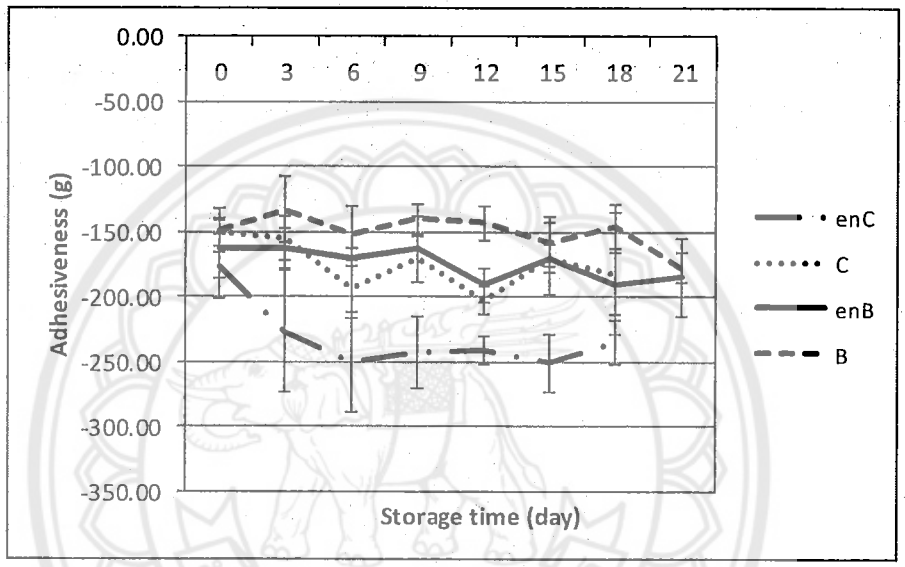
ค่า Adhesiveness

การยึดติด (adhesiveness) เป็นเนื้อสัมผัสของอาหาร แสดงการยึดติดของอาหารกับวัตถุอื่น เช่น อาหารติดเหงือก ฟัน เพดาน ริมฝีปากระหว่างการรับประทาน หรือ อาหารติดกับเครื่องจักรและอุปกรณ์แปรรูปอาหาร เช่น มีด ใบกวน การทดสอบการยึดติดของอาหารด้วยการประเมินทางประสาทสัมผัส (sensory evaluation) อาจทำได้ด้วยการใช้ผู้ชิมประเมินระดับที่อาหาร ติดบนเพดานหลังจากการกดด้วยลิ้น หรือระดับที่ตัวอย่างติดฟัน ริมฝีปาก เหงือก หรือเพดาน การทดสอบทางวัตถุวิสัย (objective method) ทำได้ด้วยการวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสด้วยเครื่องวัด (Texture profile analysis, TPA) เป็นเสมือนพลังงานงานที่จำเป็นในการดึงหัววัด หรือหัวกด หรือฟันออกจากตัวอย่าง มีหน่วยเป็นแรงคูณด้วยเวลา เช่น N.s อาหารที่มีการทดสอบการยึดติด ได้แก่ ข้าวหุงสุก ว่านหางจระเข้ เป็นต้น (พิมพ์เพ็ญ และ นิธิยา, 2557) ในขณะที่ ธงชัย (2549) รายงานว่าการเกาะติดผิว (adhesiveness) คือลักษณะของตัวอย่างที่มีความเหนอะเป็นกาว สามารถเกาะติดผิวอื่นๆที่ตัวอย่างไปสัมผัสได้ เช่น หัวกด ค่านี้หาได้จากพื้นที่ใต้กราฟที่เกิดขึ้นหลังจากถอนแรงกดออกจากตัวอย่างแล้ว จากการทดลองพบว่าค่า adhesiveness ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้น แสดงดังภาพที่ 15 และมีค่าเริ่มต้นในวันที่ 0 ของการเก็บรักษาอยู่ระหว่าง -11.32 ถึง – 8.32 gs และในวันที่ 18 ของการเก็บรักษามีค่าอยู่ระหว่าง -16.15 ถึง -15.45 gs การที่ฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกมีค่า adhesiveness ลดลง อาจเนื่องมาจากผลจากการเก็บรักษาซึ่งพบว่าผลิตภัณฑ์มีค่าความชื้นเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้น ทำให้ความสามารถเกาะติดผิวอื่นๆที่ตัวอย่างไปสัมผัสได้ลดลง



ภาพที่ 15 ค่า adhesiveness ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ในส่วนของค่า adhesiveness ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แสดงดังภาพที่ 16 โดยพบว่ามีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้น โดยมีค่าเริ่มต้นในวันที่ 0 อยู่ระหว่าง -148.95 ถึง -176.70 g และเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 18 วันพบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง -145.29 ถึง -234.83 g ทั้งนี้การที่สับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติกมีค่า adhesiveness ลดลง อาจเนื่องมาจากผลจากการเก็บรักษา ซึ่งเป็นผลทำให้ค่าความชื้นเกิดการเปลี่ยนแปลงเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้น ทำให้ความสามารถเกาะติดผิวอื่นๆที่ตัวอย่างไปสัมผัสได้ลดลง

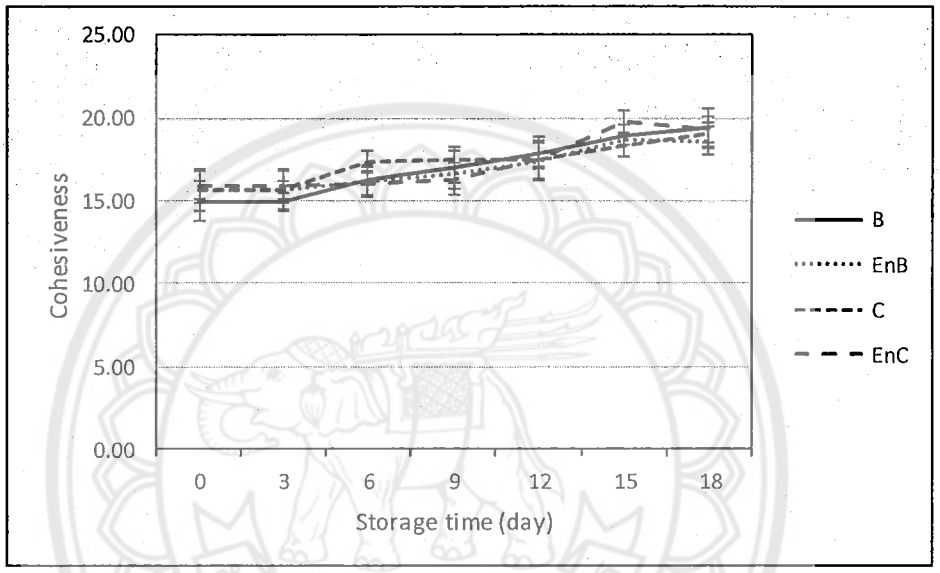


ภาพที่ 16 ค่า adhesiveness ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ค่า Cohesiveness

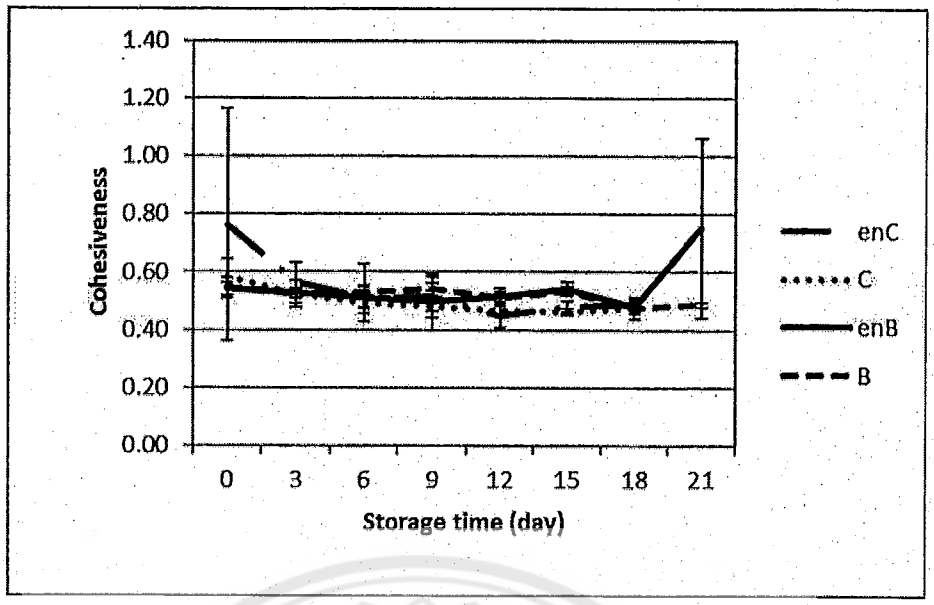
การเกาะติด (cohesiveness) เป็นคำที่ใช้อธิบายลักษณะเนื้อสัมผัส (texture) ที่บ่งบอกถึงการเกาะตัวกันเองของเนื้ออาหารหรือเชื่อมแน่นภายในของโครงสร้างเนื้ออาหาร การทดสอบเพื่อประเมินเนื้อสัมผัส (texture analysis) เพื่อบอกค่าการเกาะติด อาจทำได้โดยการทดสอบทางประสาทสัมผัส (sensory evaluation) เช่น cereal flake สังเกตจากความต้านทานต่อการแตกในช่วงท้ายของการเคี้ยว กรณีขนมปังประเมินจากความง่ายในการนวด (kneading) ก้อนขนมปังที่ได้จากตรงกลางแผ่นให้เป็นก้อนกลมเป็นเวลา 5 วินาที กรณีเฟรนช์ไฟรส์ (french fries) สังเกตจากระดับการยึดตัวกันเองของตัวอย่างหลังจากเคี้ยว 8-10 ครั้ง ส่วนวิธีวัตถุวิสัยตรวจสอบได้โดยวิธีวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัส TPA (texture profile analysis) โดยเป็นค่าอัตราส่วน A2 ต่อ A1 ซึ่งแสดงถึงความสามารถที่ตัวอย่างรักษาโครงสร้างเดิมไว้ได้ (พิมพ์เพ็ญ และ นิธิยา, 2557) ในขณะที่ ธงชัย (2549) รายงานว่าการรวมตัวกันภายในของอาหาร (cohesiveness) คือลักษณะการเกาะตัวรวมกันเหนียวแน่นมากน้อยแค่ไหนหลังจากการที่ตัวอย่างถูกกดซ้ำ 2 ครั้ง ค่านี้ได้จากอัตราส่วนของการนำเอาพื้นที่ใต้กราฟของการกดครั้งที่ 2 หารด้วยพื้นที่ใต้กราฟของการกดครั้งที่ 1 (A2/A1) หากค่าอัตราส่วนที่ได้มีค่าใกล้ 1 แสดงว่า

ตัวอย่างอาหารนั้นมีการรวมตัวเกาะกันภายในดี การบดเคี้ยวตัวอย่างต้องใช้พลังงานมากในการทำลายตัวอย่างให้แตกหักแยกออกจากกัน จากการทดลองพบว่าค่า cohesiveness ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้น แสดงดังภาพที่ 17 และมีค่าเริ่มต้นในวันที่ 0 ของการเก็บรักษาอยู่ระหว่าง 15.0 – 15.9 และในวันที่ 18 ของการเก็บรักษามีค่าอยู่ระหว่าง 18.6 – 19.4 อย่างไรก็ตาม พบว่าค่า cohesiveness ของแต่ละทรีตเมนต์ในระหว่างการเก็บรักษาโดยส่วนใหญ่มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ



ภาพที่ 17 ค่า cohesiveness ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ค่า cohesiveness ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้น แสดงดังภาพที่ 18



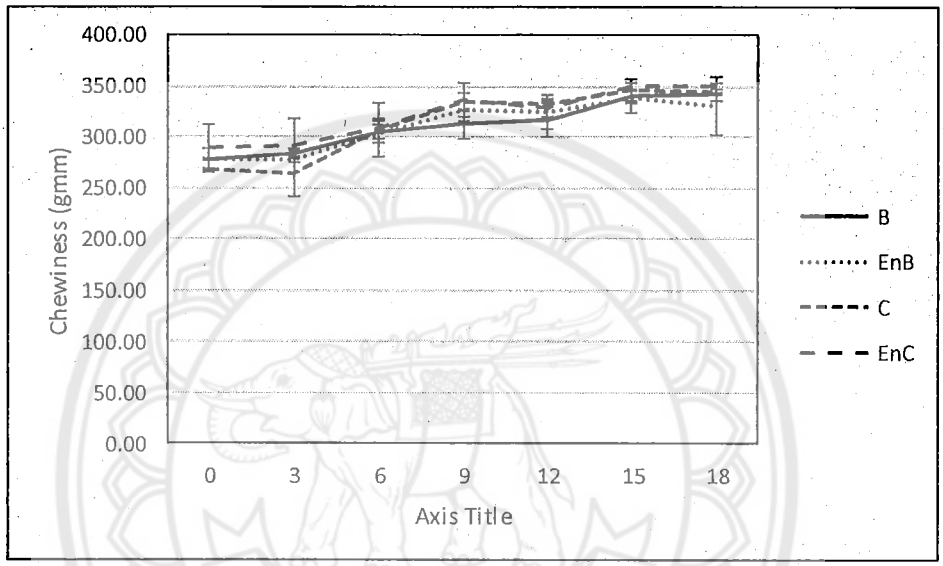
ภาพที่ 18 ค่า cohesiveness ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

จากการวัดค่า cohesiveness ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าค่า cohesiveness ของแต่ละทรีตเมนต์ในระหว่างการเก็บรักษาโดยส่วนใหญ่มีค่าลดลงเพียงเล็กน้อยแต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยในวันที่ 0 ของการเก็บรักษามีค่าระหว่าง 0.54 – 0.76 และเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 18 วันพบว่ามีค่าระหว่าง 0.48 – 0.49 ซึ่งกล่าวได้ว่าตัวอย่างมีการรวมตัวเกาะกันภายในใกล้เคียงกัน ดังนั้นในการบดเคี้ยวตัวอย่างต้องใช้พลังงานในการทำลายตัวอย่างให้แตกหักแยกออกจากกันใกล้เคียงกัน ทั้งในผลิตภัณฑ์ฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกและผลิตภัณฑ์สับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก

ค่า Chewiness

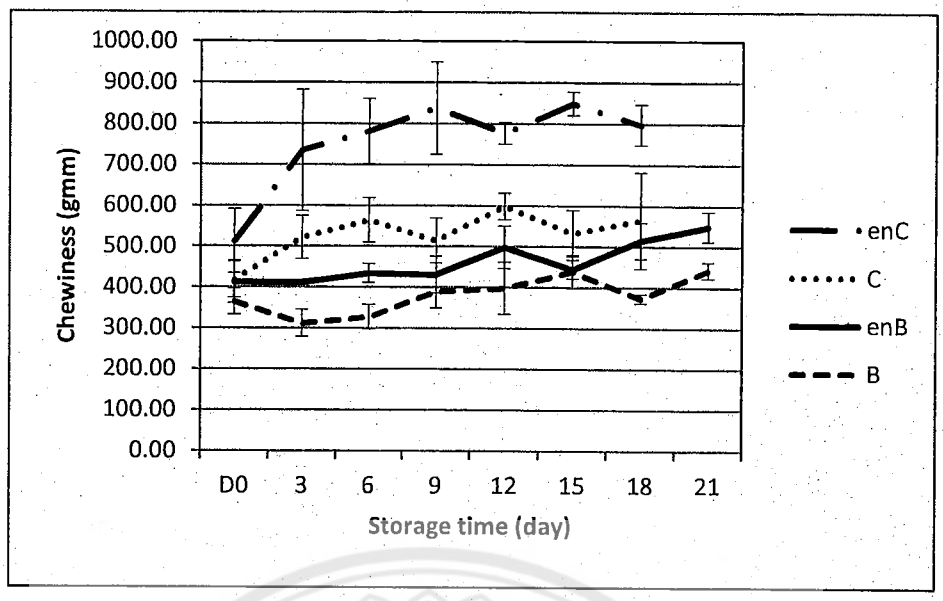
พิมพ์เพ็ญ และ นิธิยา (2557) รายงานว่าค่า chewiness เป็นค่าลักษณะเนื้อสัมผัส (texture) ของอาหารที่บ่งบอกถึงความต้านทานการเคี้ยว ทำให้เคี้ยวได้ยาก อาหารที่มีลักษณะเนื้อสัมผัสประเภทนี้ ได้แก่ เนื้อสัตว์ โดยเฉพาะส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน ลูกกวาดแบบเคี้ยว ผักผลไม้ เนยแข็ง ขนมปัง เฟรนช์ไฟรส์ การประเมินค่าความต้านทานการเคี้ยว การวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (texture analysis) เพื่อให้ได้ค่าความต้านทานการเคี้ยวของอาหาร สามารถทำได้ด้วยการทดสอบทางประสาทสัมผัส (sensory evaluation) โดยให้ผู้ชิมประเมินจากระดับที่อาหารแตกแยกออกเป็นชิ้นเล็กๆ สามารถวัดจากระยะเวลาและจำนวนครั้งของการเคี้ยวที่ต้องการใช้ในการบดชิ้นตัวอย่างก่อนกลืน อาจกำหนดการเคี้ยวที่อัตราเร็ว 1 ครั้งต่อวินาทีก็ได้ กรณีขนมปังใช้ขนมปังที่ไม่มีขอบ 1/4 แผ่นอาจใช้การทดสอบแบบวัตถุวิสัยโดยใช้เครื่องมือวัด วิธีการวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัส TPA (Texture Profile Analysis) โดย chewiness เป็นผลคูณของความเหนียว (gumminess) กับความเด้ง (springiness) ในขณะที่ ธงชัย (2549) รายงานว่าพลังงานในการเคี้ยว (chewiness) คือคุณลักษณะต้านทานการบดเคี้ยวเพื่อให้ตัวอย่างมีขนาดเล็กลงหรือแยกออกเป็นชิ้นเล็กลง ตัวอย่างที่มีลักษณะนี้จะเป็นตัวอย่างที่มีลักษณะเป็นของแข็งเท่านั้น ค่านี้ได้จาก

ผลคูณของค่า 3 ค่าคือ ค่า hardness ค่า cohesiveness และค่า springiness จากการทดลองพบว่าค่า chewiness ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้น แสดงดังภาพที่ 19 และมีค่าเริ่มต้นในวันที่ 0 ของการเก็บรักษาอยู่ระหว่าง 267.4 – 289.0 gmm และในวันที่ 18 ของการเก็บรักษามีค่าอยู่ระหว่าง 331.4 - 350.6 gmm ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของค่านี้มีความสอดคล้องกับค่า hardness gumminess และค่า cohesiveness ที่มีค่าเพิ่มขึ้น และค่า adhesiveness ที่มีค่าลดลงในระหว่างการเก็บรักษา



ภาพที่ 19 ค่า chewiness ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ค่า chewiness ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้น แสดงดังภาพที่ 20 โดยพบว่าค่า chewiness ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้น โดยมีค่าเริ่มต้นในวันที่ 0 ของการเก็บรักษาอยู่ระหว่าง 364.83 – 512.72 gmm และในวันที่ 18 ของการเก็บรักษามีค่าอยู่ระหว่าง 372.99 – 797.61 gmm และการเปลี่ยนแปลงของค่านี้มีความสอดคล้องกับค่า hardness gumminess และค่า cohesiveness ที่มีค่าเพิ่มขึ้น และค่า adhesiveness ที่มีค่าลดลงในระหว่างการเก็บรักษาเช่นเดียวกับที่วิเคราะห์ได้ในผลิตภัณฑ์ฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก

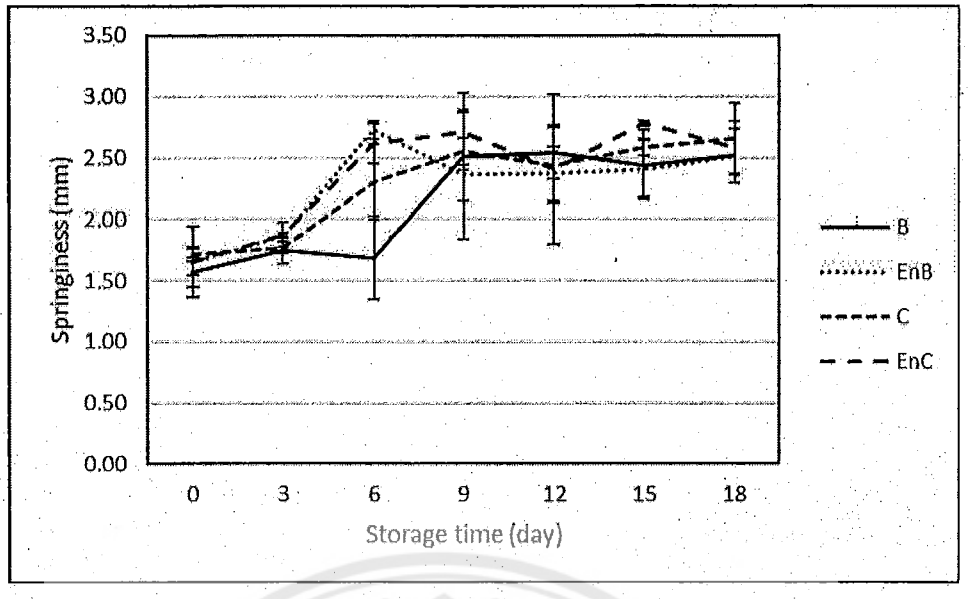


ภาพที่ 20 ค่า chewiness ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

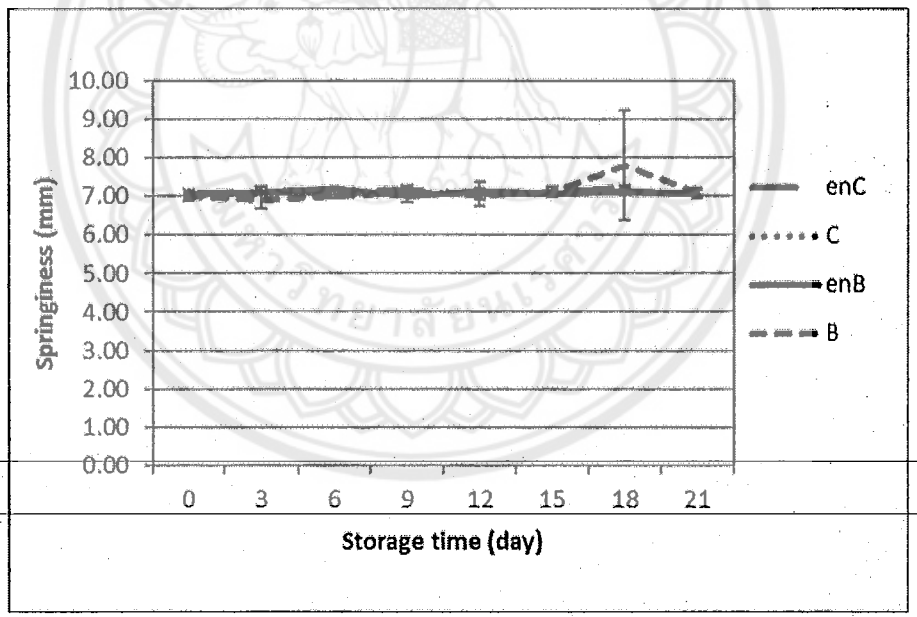
ค่า springiness

ค่า springiness ใช้อธิบายความยืดหยุ่นของอาหารที่เมื่อออกแรงกดแล้วกลับคืนรูปได้ ไม่ยุบตัวเสียรูปทรง เช่น ลูกชิ้น ไส้กรอก (พิมพ์เพ็ญ และ นิธิยา, 2557) ในขณะที่ ธงชัย (2549) รายงานว่าการกลับคืนสู่ขนาดและรูปร่างเดิม (springiness) คือความสามารถของตัวอย่างเมื่อได้รับแรงกระทำแล้วหลังจากถอนแรงออกไปจากตัวอย่างสามารถกลับเข้าสู่สภาพเดิมของตัวอย่างได้มากน้อยเพียงไร จากการทดลองพบว่าค่า springiness ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้น แสดงดังภาพที่ 21 และมีค่าเริ่มต้นในวันที่ 0 ของการเก็บรักษาอยู่ระหว่าง 1.57 – 1.71 mm และในวันที่ 18 ของการเก็บรักษามีค่าอยู่ระหว่าง 2.51 – 2.66 mm ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของค่านี้มีความสอดคล้องกับค่า hardness gumminess cohesiveness และค่า chewiness ที่มีค่าเพิ่มขึ้น

ค่า springiness ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้น แต่โดยส่วนใหญ่มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) แสดงดังภาพที่ 22 และมีค่าเริ่มต้นในวันที่ 0 ของการเก็บรักษาอยู่ระหว่าง 7.01 – 7.05 mm และในวันที่ 18 ของการเก็บรักษามีค่าอยู่ระหว่าง 7.11 – 7.79 mm และการเปลี่ยนแปลงของค่านี้มีความสอดคล้องกับค่า hardness gumminess cohesiveness และค่า chewiness ที่มีค่าเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับในผลิตภัณฑ์ฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก



ภาพที่ 21 ค่า springiness ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

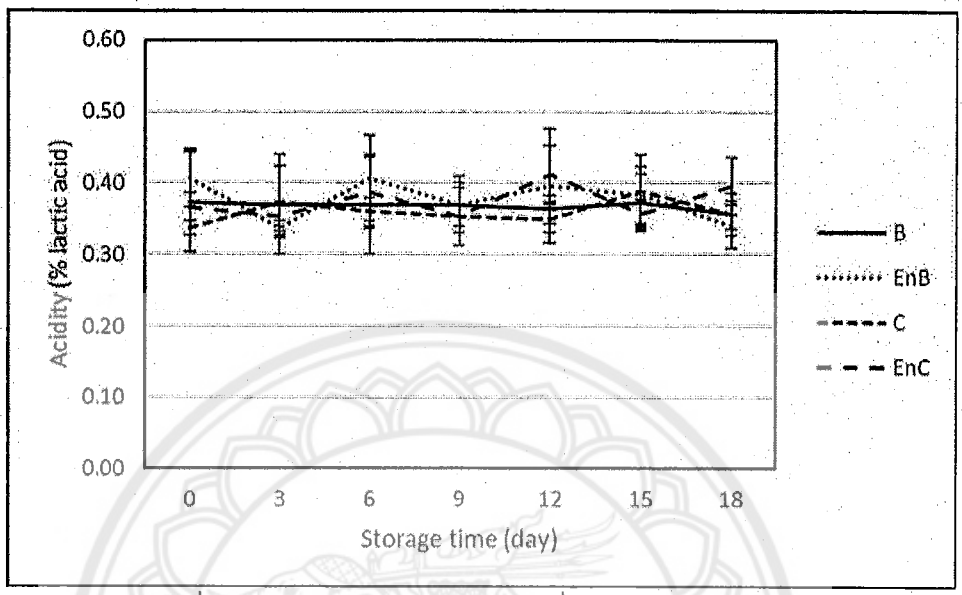


ภาพที่ 22 ค่า springiness ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ค่า acidity

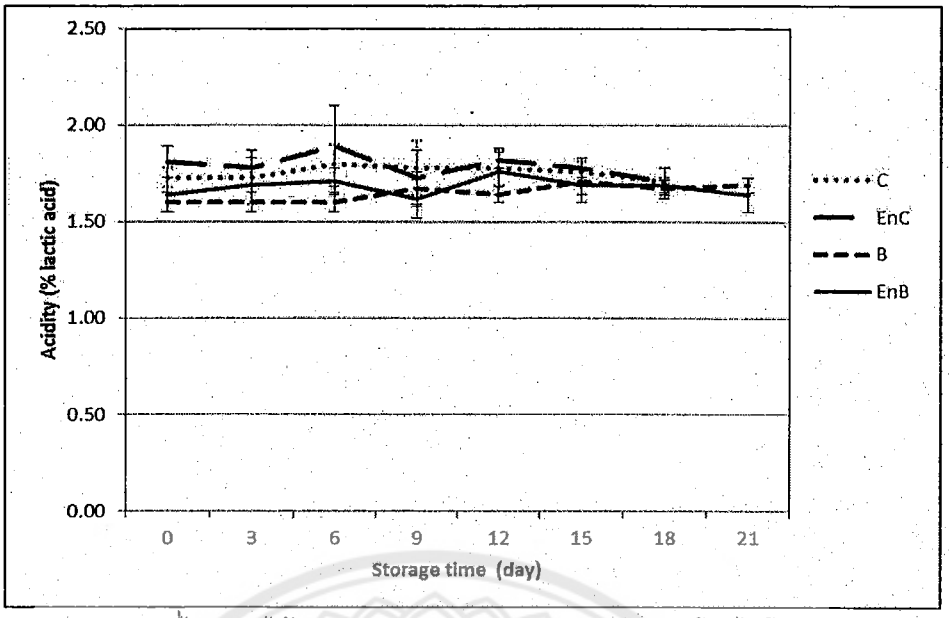
ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ (titratable acidity) เป็นการวัดปริมาณกรดทั้งหมดที่มีอยู่ในอาหาร โดยการไทเทรตด้วยสารละลายด่างมาตรฐาน (NaOH) เช่น น้ำผลไม้ น้ำนม ไวน์ ซึ่งกรดในอาหารมีความสัมพันธ์กับรสเปรี้ยว (sour) ของอาหาร กรดในอาหารอาจประกอบด้วยกรดอินทรีย์หลายชนิด เช่น กรดซิตริก (citric acid) กรดมาลิก (malic acid) กรดแลกติก (lactic acid) และกรดทาร์ทาริก

(tartaric acid) ผลการไทเทรตบ่งชี้ถึงปริมาณกรดอินทรีย์ทั้งหมดที่มีอยู่ในตัวอย่าง (พิมพ์เพ็ญ และ นิธิยา, 2557) ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ (กรดแลกติก) ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก L. bulgaricus (B) L. bulgaricus ที่ถูกตรึง (EnB) L. casei (C) และ L. casei ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แสดงดังภาพที่ 23



ภาพที่ 23 ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ (กรดแลกติก) ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

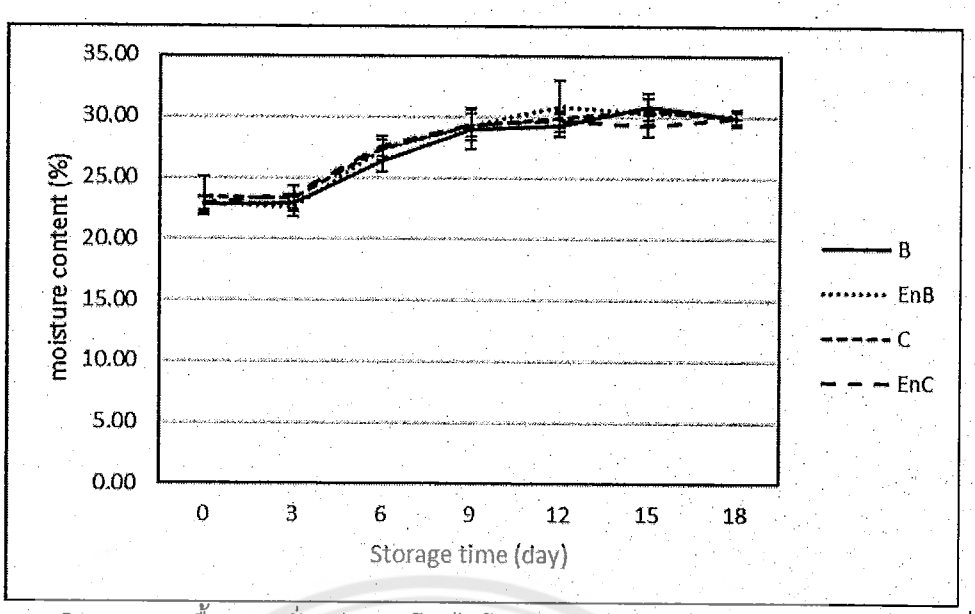
จากภาพที่ 23 พบว่าปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ (กรดแลกติก) ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกมีค่าใกล้เคียงกันในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แต่โดยส่วนใหญ่มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) โดยในวันที่ 0 ของการเก็บรักษามีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 0.34 ± 0.01 และ 0.41 ± 0.04 และในวันที่ 18 ของการเก็บรักษามีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 0.34 ± 0.03 และ $0.39+0.04$ การที่ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยอาจเนื่องมาจากการเก็บรักษาในที่อุณหภูมิต่ำทำให้การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ข้าลงรวมทั้งปฏิกิริยาเคมีเกิดขึ้นช้าจึงเป็นผลให้ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงอย่างชัดเจน ในส่วนของปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ (กรดแลกติก) ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติกระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แสดงดังภาพที่ 23 พบว่าปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษามีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 1.60 ± 0.05 และ 1.81 ± 0.08 และในวันที่ 18 ของการเก็บรักษามีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 1.67 ± 0.05 และ 1.71 ± 0.07 และโดยส่วนใหญ่มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ในระหว่างการเก็บรักษา ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเหตุผลที่ได้กล่าวไว้เช่นเดียวกันกับที่เกิดขึ้นในฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก



ภาพที่ 24 ปริมาณกรดที่ไตเตรทได้ (กรดแลกติก) ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

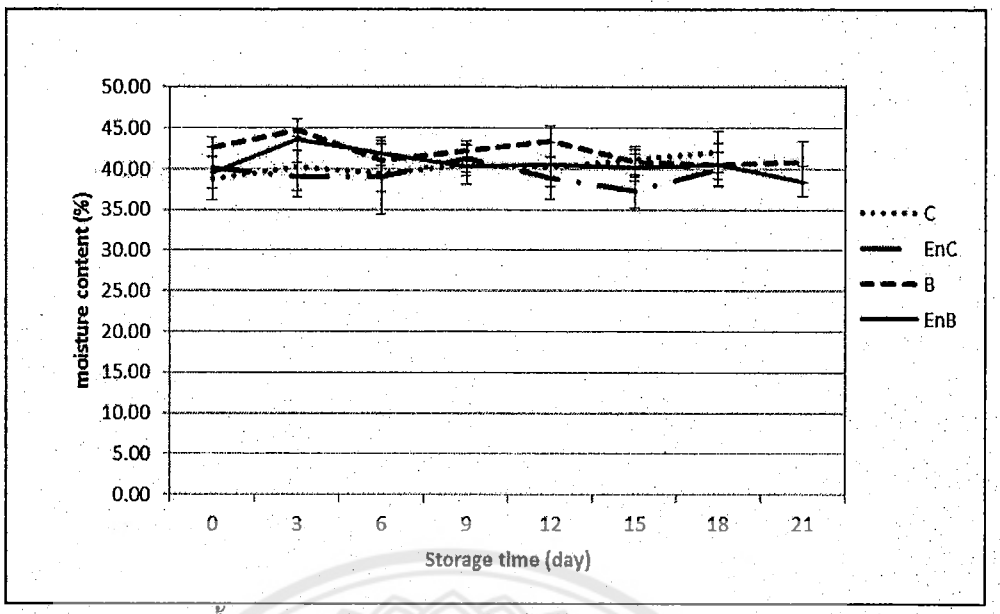
ค่า ความชื้น

ความชื้น (moisture content) เป็นค่าที่บ่งชี้ปริมาณน้ำที่มีอยู่ในอาหาร เป็นสมบัติที่สำคัญมากที่สุดอย่างหนึ่งของอาหาร เนื่องจากความชื้นมีผลต่อการเสื่อมเสียของอาหาร (food spoilage) โดยเฉพาะการเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์ (microbial spoilage) ซึ่งกระทบต่ออายุการวางจำหน่าย (shelf life) อาหารที่มีความชื้นหรือปริมาณน้ำสูงจะเป็นอาหารที่เสื่อมเสียง่าย (perishable food) เนื่องจากมีสภาวะเหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสื่อมเสีย เช่น แบคทีเรีย ยีสต์ และรา ความชื้นมีผลต่อความปลอดภัยทางอาหาร (food safety) อาหารที่มีน้ำสูงเหมาะกับการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen) และการสร้างสารพิษ (toxin) ที่ก่อให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ รวมถึงการสร้างสารพิษของรา (mycotoxin) เช่น aflatoxin และ patulin ซึ่งเป็นอันตรายต่อผู้บริโภค ความชื้นมีผลต่อสมบัติทางกายภาพ และสมบัติเชิงความร้อนของอาหารด้านต่างๆ เช่น จุดหลอมเหลว จุดเดือด การนำความร้อน (thermal conductivity) ความร้อนจำเพาะ (specific heat) ความชื้นมีผลต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัส ซึ่งมีผลต่อการยอมรับของอาหาร ได้แก่ เนื้อสัมผัส (texture) เช่น ความกรอบ ความหนืด (viscosity) การเกาะติดกันเป็นก้อน (caking) ความชื้นมีผลต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยาเคมีต่างๆ ที่มีผลกระทบทางลบต่ออาหารระหว่างการเก็บรักษา เช่น ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล (browning reaction) ปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิพิด (lipid oxidation) ความชื้นมีผลต่อการกำหนดราคาสินค้า เช่น ข้าว เมล็ดธัญพืช กำหนดราคารับซื้อผันแปรตามปริมาณความชื้น (พิมพ์เพ็ญ และ นิธิยา ,2557) ปริมาณความชื้นของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แสดงดังภาพที่ 25



ภาพที่ 25 ปริมาณความชื้นของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

จากภาพที่ 25 พบว่าปริมาณความชื้นของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลานานขึ้น โดยทั้งนี้ผลิตภัณฑ์ได้เก็บรักษาในถุงพลาสติกชนิด PE ซึ่งโครงสร้างของ PE จะสามารถป้องกันความชื้นได้ดีพอสมควร แต่จุดอ่อนของ LDPE คือ สามารถปล่อยให้ไขมันซึมผ่านได้ง่าย แต่ทนต่อกรดและด่างทั่วๆ ไป นอกจากนี้ LDPE ยังปล่อยให้อากาศซึมผ่านได้ง่าย (พิมพ์เพ็ญ และ นิธิยา ,2557) จากการทดลองพบว่าปริมาณความชื้นของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกทั้ง 4 ทรีตเมนต์มีค่าไม่แตกต่างกันในระหว่างการเก็บรักษา แต่มีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานานขึ้น โดยค่าความชื้นเริ่มต้นในวันที่ 0 ของการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์มีค่าระหว่างร้อยละ 22.75 ± 0.58 ถึง 23.47 ± 1.56 และเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานาน 18 วันพบว่าค่าความชื้นเพิ่มขึ้นเป็นระหว่างร้อยละ 29.93 ± 0.51 ถึง 30.12+0.21 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการปิดผนึกถุงอาจไม่สมบูรณ์ จึงอาจทำให้เกิดการรั่วขึ้นได้ รวมทั้งคุณสมบัติของถุงพลาสติกที่นำมาใช้ซึ่งอาจยังไม่เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์ ทำให้ความชื้นมีค่าเพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา ในส่วนของปริมาณความชื้นของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสแสดงดังภาพที่ 26 จากภาพพบว่าค่าความชื้นของผลิตภัณฑ์อยู่ระหว่างร้อยละ 38.78 ± 2.61 ถึง 42.66 ± 1.12 และเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลานาน 18 วันพบว่าค่าความชื้นมีค่าระหว่างร้อยละ 39.94 ± 2.13 ถึง 42.12 ± 2.47 โดยพบว่าค่าความชื้นของทั้ง 4 ทรีตเมนต์โดยส่วนใหญ่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)



ภาพที่ 26 ปริมาณความชื้นของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ในส่วนของการรอดชีวิตของเชื้อโปรไบโอติกทั้ง 2 สายพันธุ์ที่เสริมเข้าไปในผลิตภัณฑ์ฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกทั้งในรูปของเซลล์อิสระและเซลล์ที่ถูกตรึงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ปริมาณ lactic acid bacteria ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ตัวอย่าง	ปริมาณ Lactic acid bacteria (cfu/g) ระหว่างการเก็บรักษา* (วัน)						
	0	3	6	9	12	15	18
B	$5.5x10^{8}$ aG	$3.8x10^{8}$aF	$7.2x10^{7}$bE	$4.5x10^{7}$aD	$4.4x10^{6}$bC	$5.0x10^{5}$bB	$4.0x10^{4}$aA
EnB	$7.2x10^{8}$bF	$5.0x10^{8}$bE	$1.7x10^{8}$aD	$7.2x10^{7}$bC	$4.4x10^{7}$bC	$3.6x10^{6}$abB	$5.0x10^{5}$bA
C	$5.1x10^{8}$aG	$3.7x10^{8}$aF	$6.4x10^{7}$bE	$3.9x10^{7}$aD	$3.5x10^{6}$aC	$2.9x10^{5}$aB	$3.8x10^{4}$aA
EnC	$5.2x10^{8}$aF	$5.8x10^{8}$aE	$1.4x10^{8}$aD	$5.1x10^{7}$abC	$4.9x10^{7}$bC	$4.5x10^{6}$bB	$2.9x10^{5}$bA

*ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) และตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

จากตารางที่ 4 พบว่าปริมาณ lactic acid bacteria ของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกมีแนวโน้มลดลงในระหว่างการเก็บรักษา ($p\leq0.05$) โดยในวันที่ 0 ของการเก็บรักษามีปริมาณเชื้ออยู่ระหว่าง $5.1x10^{8}$ – $7.2x10^{8}$ cfu/g และไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างทรีตเมนต์ ($p>0.05$) หลังจากการเก็บรักษาเป็นเวลา 12 วันพบว่าฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกในรูปของเซลล์อิสระทั้ง *L. bulgaricus* และ *L.*

casei มีปริมาณเชื้อประมาณ 6 log cfu/g ในขณะที่ฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกในรูปของเซลล์ที่ถูกตรึงทั้ง *L. bulgaricus* และ *L. casei* ยังคงมีปริมาณ 7 log cfu/g และเมื่อเก็บรักษาต่อเนื่องจนถึงวันที่ 15 ของการเก็บรักษาพบว่าฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกในรูปของเซลล์ที่ถูกตรึงยังคงมีปริมาณ 6 log cfu/g ในขณะที่ฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกในรูปของเซลล์อิสระทั้ง *L. bulgaricus* และ *L. casei* มีปริมาณเชื้อ 5 log cfu/g เมื่อพิจารณาเกณฑ์ปริมาณเชื้อโปรไบโอติกที่ควรมีปริมาณเชื้อไม่ต่ำกว่า 6 log cfu/g จึงอาจกล่าวได้ว่าผลิตภัณฑ์ฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกในรูปเซลล์อิสระมีอายุการเก็บรักษา 12 วันที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสในขณะที่ฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกในรูปเซลล์ที่ถูกตรึงมีอายุการเก็บรักษา 15 วันที่อุณหภูมิเดียวกัน ผลการวิจัยที่ได้ให้ผลเช่นเดียวกับ Ding and Shah (2008) ที่ศึกษาการรอดชีวิตของเซลล์อิสระและเซลล์ที่ถูกตรึงเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกในน้ำแอปเปิ้ลและน้ำส้ม พบว่าเซลล์ที่ถูกตรึงเซลล์มีการรอดชีวิต 6 สัปดาห์ และมีอัตราการรอดชีวิตนานกว่าเซลล์อิสระที่มีการรอดชีวิต 5 สัปดาห์ในน้ำส้มและน้ำแอปเปิ้ล โดยน้ำผลไม้ที่เติมเซลล์ที่ถูกตรึงเซลล์จะช่วยป้องกันเซลล์จากสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดีกว่าเซลล์อิสระที่ไม่ถูกตรึง ในส่วนของการรอดชีวิตของเชื้อโปรไบโอติกทั้ง 2 สายพันธุ์ที่เสริมเข้าไปในผลิตภัณฑ์สับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติกทั้งในรูปของเซลล์อิสระและเซลล์ที่ถูกตรึงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แสดงดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ปริมาณ lactic acid bacteria ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ตัวอย่าง	ปริมาณ Lactic acid bacteria (cfu/g) ระหว่างการเก็บรักษา* (วัน)						
	0	3	6	9	12	15	18
B	$6.0x10^5$Aa	$5.4x10^5$ABa	$1.8x10^5$BCbc	$1.5x10^5$Cbc	$1.9x10^5$BCb	$5.9x10^3$Dc	$6.8x10^3$Db
EnB	$3.2x10^7$Aa	$8.5x10^6$Ba	$1.1x10^7$BAa	$7.9x10^6$Ba	$7.1x10^6$Ba	$6.0x10^6$Ba	$7.7x10^5$Ca
C	$1.2x10^6$Aa	$9.8x10^5$Aa	$6.5x10^4$ABc	$7.9x10^4$ABc	$1.1x10^4$Bc	$5.2x10^3$Bc	$2.2x10^2$Cc
EnC	$3.2x10^6$Aa	$1.3x10^6$ABa	$6.3x10^5$ABb	$8.9x10^5$ABb	$4.8x10^5$ABb	$1.9x10^5$Bb	$2.8x10^4$Cb

*ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) และตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

จากตารางที่ 5 พบว่าปริมาณ lactic acid bacteria ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติกมีแนวโน้มลดลงในระหว่างการเก็บรักษา ($p\leq0.05$) โดยในวันที่ 0 ของการเก็บรักษามีปริมาณเชื้ออยู่ระหว่าง $6.0x10^5$ – $3.2x10^7$ cfu/g และไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างทรีตเมนต์ ($p>0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างปริมาณ lactic acid bacteria ของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติกที่เสริมเซลล์อิสระและเซลล์ที่ถูกตรึงของทั้งสองเชื้อพบว่าสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติกที่เซลล์ที่ถูกตรึงมีอัตราการลดลงของเชื้อน้อยกว่าประมาณ 1 – 2 log cfu/g ในระหว่างการเก็บรักษา ทั้งนี้สับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* ในรูปแบบเซลล์อิสระนั้นพบว่าไม่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์เสริมโปรไบโอติกตั้งแต่ในวันที่ 0 ของการเก็บรักษาเนื่องจากมีปริมาณเชื้อต่ำกว่า 6 log cfu/g ในขณะที่สับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* ในรูปแบบเซลล์ที่ถูกตรึงในวันที่ 0 ของการเก็บรักษามีปริมาณเชื้อ

เริ่มต้น $3.2x10^7$ cfu/g ซึ่งจะเห็นได้ว่าการตรึงเซลล์มีผลทำให้เชื้อมีการรอดชีวิตเพิ่มขึ้นประมาณ 2 log cfu/g อย่างไรก็ตามหลังจากการเก็บรักษาเป็นเวลา 15 วันพบว่าสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึงพบว่าปริมาณเชื้อลดลงเหลือประมาณ 6 log cfu/g และในวันที่ 18 ของการเก็บรักษาพบว่ามีปริมาณเชื้อโปรไบโอติกต่ำกว่า 6 log cfu/g ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าผลิตภัณฑ์สับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) มีอายุการเก็บรักษาไม่ต่ำกว่า 15 วันที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในส่วนของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. casei* พบว่าในวันที่ 0 ของการเก็บรักษามีปริมาณ 6 log cfu/g และเมื่อเก็บรักษาสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. casei* ในรูปแบบเซลล์อิสระเป็นเวลา 3 วันพบว่ามีปริมาณเชื้อโปรไบโอติกต่ำกว่า 6 log cfu/g ในขณะที่สับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. casei* ในรูปแบบเซลล์ที่ถูกตรึงยังคงปริมาณเดิมและลดลงต่ำกว่า 6 log cfu/g ในวันที่ 6 ของการเก็บรักษา ซึ่งจากการทดลองเห็นได้ว่าการตรึงเซลล์มีผลทำให้เชื้อมีการรอดชีวิตเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน และกล่าวได้ว่าผลิตภัณฑ์สับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) มีอายุการเก็บรักษาไม่ต่ำกว่า 3 วันที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ในส่วนของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสแสดงดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ตัวอย่าง	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (cfu/g) ระหว่างการเก็บรักษา* (วัน)						
	0	3	6	9	12	15	18
B	$4.1x10^8$aF	$4.9x10^8$aG	$2.5x10^7$aD	$7.6x10^7$aE	$5.6x10^6$aC	$3.4x10^5$aB	$3.0x10^4$aA
EnB	$6.5x10^8$bF	$5.5x10^8$bE	$2.1x10^8$bD	$8.8x10^7$bC	$5.1x10^7$cC	$6.1x10^6$bB	$5.5x10^5$bA
C	$5.4x10^8$bG	$5.5x10^8$bF	$5.0x10^7$bE	$6.6x10^7$bD	$4.5x10^6$aC	$4.4x10^5$a B	$4.9x10^4$aA
EnC	$4.2x10^8$aE	$6.2x10^8$bF	$1.4x10^8$abD	$4.5x10^7$aC	$4.0x10^7$bC	$6.3x10^6$bB	$4.4x10^5$bA

*ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

จากตารางที่ 6 พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกมีแนวโน้มลดลงในระหว่างการเก็บรักษา ($p\leq0.05$) โดยในวันที่ 0 ของการเก็บรักษามีปริมาณเชื้ออยู่ระหว่าง $4.2x10^8$ – $6.5x10^8$ cfu/g หลังจากการเก็บรักษาเป็นเวลา 18 วันพบว่าฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกทั้ง *L. bulgaricus* และ *L. casei* ทั้งในรูปของเซลล์อิสระและเซลล์ที่ถูกตรึง มีปริมาณเชื้อประมาณ 4-5 log cfu/g และในส่วนของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก ทั้ง 2 สายพันธุ์ที่เสริมเข้าไปในผลิตภัณฑ์สับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติกทั้งในรูปของเซลล์อิสระและเซลล์ที่ถูกตรึงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แสดงดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ตัวอย่าง	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (cfu/g) ระหว่างการเก็บรักษา* (วัน)						
	0	3	6	9	12	15	18
B	$6.3x10^5$aA	$6.3x10^5$aA	$1.8x10^5$aA	$1.8x10^5$bcA	$1.9x10^5$bA	$5.2x10^3$cB	$4.8x10^3$bB
EnB	$2.2x10^7$aA	$7.6x10^6$aB	$4.0x10^6$aB	$8.1x10^6$aB	$5.6x10^6$aB	$5.9x10^6$aB	$8.3x10^5$aC
C	$3.5x10^6$aA	$4.5x10^6$aA	$3.6x10^5$aB	$7.4x10^4$cBC	$1.1x10^4$cC	$7.7x10^3$cC	$5.9x10^2$cD
EnC	$3.2x10^6$aA	$2.4x10^6$aAB	$1.7x10^6$aAB	$9.5x10^5$bAB	$4.4x10^5$bABC	$1.5x10^5$bBC	$2.4x10^4$bC

*ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$) และตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

จากตารางที่ 7 พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติกมีแนวโน้มลดลงในระหว่างการเก็บรักษา ($p\leq0.05$) โดยในวันที่ 0 ของการเก็บรักษามีปริมาณเชื้ออยู่ระหว่าง $6.3x10^5$ – $2.2x10^7$ cfu/g และไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างทรีตเมนต์ ($p>0.05$) หลังจากการเก็บรักษาเป็นเวลา 18 วันพบว่าสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติกทั้ง *L. bulgaricus* และ *L. casei* ทั้งในรูปของเซลล์อิสระและเซลล์ที่ถูกตรึง มีปริมาณเชื้อประมาณ 2-5 log cfu/g ซึ่งจากผลการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของผลิตภัณฑ์ผลไม้แท่งเสริมโปรไบโอติกทั้ง 2 ผลิตภัณฑ์พบว่ามีปริมาณสูงกว่าปริมาณ lactic acid bacteria ของผลไม้แท่งเสริมโปรไบโอติก ทั้งนี้เนื่องจากในกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์เสริมโปรไบโอติกดังกล่าว มีการปนเปื้อนจากเชื้ออื่นๆ โดยอาจมีที่มาจากวัตถุดิบ เครื่องมือและอุปกรณ์ในการผลิต บรรจุภัณฑ์ รวมทั้งมาจากผู้ผลิต จึงทำให้ค่าปริมาณเชื้อที่วิเคราะห์ได้มีมากกว่าอย่างไรก็ตามการรอดชีวิตของเชื้อโปรไบโอติกในผลิตภัณฑ์นั้น ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่างทั้งในส่วนของสมบัติของตัวอาหารและสภาวะการเก็บรักษา ซึ่งจะมีผลต่อการมีชีวิตอยู่ของเชื้อ รวมทั้งสมบัติของเชื้อโปรไบโอติกเองที่มีสภาวะที่สามารถเจริญได้ในสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกัน จึงเป็นผลให้ปริมาณการคงเหลือของเชื้อในระหว่างการเก็บรักษามีความแตกต่างกัน

ในส่วนของปริมาณยีสต์และราของผลิตภัณฑ์ฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกทั้งในรูปของเซลล์อิสระและเซลล์ที่ถูกตรึงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แสดงดังตารางที่ 8 และปริมาณยีสต์และราของผลิตภัณฑ์สับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติกทั้งในรูปของเซลล์อิสระและเซลล์ที่ถูกตรึงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แสดงดังตารางที่ 9

ตารางที่ 8 ปริมาณยีสต์และราของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ตัวอย่าง	ปริมาณยีสต์และรา (cfu/g) ระหว่างการเก็บรักษา* (วัน)						
	0	3	6	9	12	15	18
B	<10	<10	<10	<10	$2.0x10^2$	$6.0x10^2$	$2.8x10^2$
EnB	<10	<10	<10	<10	$1.0x10^2$	$6.0x10^2$	$2.9x10^2$
C	<10	<10	<10	<10	$2.0x10^2$	$5.0x10^2$	$4.0x10^2$
EnC	<10	<10	<10	<10	$3.0x10^2$	$6.0x10^2$	$3.3x10^2$

จากตารางที่ 8 เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 9 วันพบว่าปริมาณยีสต์และราของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกทั้งในรูปของเซลล์อิสระและเซลล์ที่ถูกตรึงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลไม้อบแห้ง กล่าวคือมีปริมาณยีสต์และราไม่เกิน 2 log cfu/g โดยคาดว่าเชื้อยีสต์และราที่ปนเปื้อนน่าจะมาจากวัตถุดิบหลัก ได้แก่ผลไม้ที่นำผลิต รวมทั้งเกิดการปนเปื้อนในระหว่างการผลิตเช่นเดียวกัน เมื่อพิจารณาจากเกณฑ์ดังกล่าวจึงอาจกล่าวได้ว่าผลิตภัณฑ์ฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกทั้งในรูปของเซลล์อิสระและเซลล์ที่ถูกตรึงมีอายุการเก็บรักษา 9 วันที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และในส่วนของปริมาณยีสต์และราของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติกแสดงดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ปริมาณยีสต์และราของสับปะรดแท่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* (B) *L. bulgaricus* ที่ถูกตรึง (EnB) *L. casei* (C) และ *L. casei* ที่ถูกตรึง (EnC) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ตัวอย่าง	ปริมาณยีสต์และรา (cfu/g) ระหว่างการเก็บรักษา* (วัน)						
	0	3	6	9	12	15	18
B	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
EnB	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
C	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10
EnC	<10	<10	<10	<10	<10	<10	<10

จากตารางที่ 9 เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 18 วันพบว่าปริมาณยีสต์และราของฝรั่งแท่งเสริมโปรไบโอติกทั้งในรูปของเซลล์อิสระและเซลล์ที่ถูกตรึงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ยังคงอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานผลไม้อบแห้ง กล่าวคือมีปริมาณยีสต์และราไม่เกิน 2 log cfu/g

เมื่อพิจารณาโดยภาพรวมจากผลการวิจัยแล้วพบว่าเมื่อใช้เกณฑ์ปริมาณเชื้อโปรไบโอติกที่ควรมีในผลิตภัณฑ์ไม่ต่ำกว่า 6 log cfu/g พบว่าผลิตภัณฑ์ฝรั่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* ในรูปของเซลล์อิสระและที่ถูกตรึง มีอายุการเก็บรักษา 12 และ 15 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แต่เมื่อใช้เกณฑ์

มาตรฐานผลไม้อบแห้งกล่าวคือมีปริมาณยีสต์และราไม่เกิน 2 log cfu/g พบว่าฝรั่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* มีอายุการเก็บรักษาเพียง 9 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จึงสรุปได้ว่าวิธีการตรึงเซลล์มีผลทำให้การรอดชีวิตของเชื้อมีมากขึ้น แต่เนื่องจากผลิตภัณฑ์ถูกกำหนดโดยปริมาณเชื้อยีสต์และราตามมาตรฐานดังกล่าวทำให้อายุการเก็บรักษาสั้นลงเหลือเพียง 9 วันโดยที่ผลิตภัณฑ์ยังคงมีปริมาณเชื้อโปรไบโอติกที่มากพอในการทำให้เกิดประโยชน์ต่อผู้บริโภค ทั้งนี้ถ้าในกระบวนการผลิตมีความเข้มงวดในเรื่องของสุขลักษณะที่ดีในการผลิตอาหารและมีการทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ติดมากับวัตถุดิบเริ่มต้นให้ลดลงและป้องกันการปนเปื้อนจากจลินทรีย์ในขั้นตอนต่างๆ เป็นอย่างดีและนำผลิตภัณฑ์มาเก็บรักษาในสภาวะที่เหมาะสมน่าจะมีผลทำให้ปริมาณยีสต์และราที่เป็นข้อจำกัดของอายุการเก็บรักษาน้อยลงไปด้วยซึ่งจะทำให้อายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เพิ่มมากขึ้น

ในส่วนของผลิตภัณฑ์ฝรั่งเสริมโปรไบโอติก *L. casei* ในรูปของเซลล์อิสระและที่ถูกตรึง เมื่อใช้เกณฑ์ปริมาณเชื้อโปรไบโอติกที่ควรมีในผลิตภัณฑ์ไม่ต่ำกว่า 6 log cfu/g พบว่ามีอายุการเก็บรักษา 12 และ 15 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกัน แต่เมื่อใช้เกณฑ์มาตรฐานผลไม้อบแห้งกล่าวคือมีปริมาณยีสต์และราไม่เกิน 2 log cfu/g พบว่าฝรั่งเสริมโปรไบโอติก *L. casei* มีอายุการเก็บรักษาเพียง 9 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสโดยที่ผลิตภัณฑ์ยังคงมีปริมาณเชื้อโปรไบโอติกที่มากพอในการทำให้เกิดประโยชน์ต่อผู้บริโภค ทั้งนี้อาจเกิดจากเหตุผลที่ได้กล่าวแล้วเช่นเดียวกับฝรั่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus*

เมื่อใช้เกณฑ์ปริมาณเชื้อโปรไบโอติกที่ควรมีในผลิตภัณฑ์ไม่ต่ำกว่า 6 log cfu/g พบว่าผลิตภัณฑ์สับปะรดเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* ในรูปของเซลล์อิสระและที่ถูกตรึง มีอายุการเก็บรักษา 0 และ 15 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แต่เมื่อใช้เกณฑ์มาตรฐานผลไม้อบแห้งกล่าวคือมีปริมาณยีสต์และราไม่เกิน 2 log cfu/g พบว่าสับปะรดเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* มีอายุการเก็บรักษานานถึง 18 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าสับปะรดเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* ในรูปของเซลล์อิสระและที่ถูกตรึง มีอายุการเก็บรักษา 0 และ 15 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

ในส่วนของผลิตภัณฑ์สับปะรดเสริมโปรไบโอติก *L. casei* ในรูปของเซลล์อิสระและที่ถูกตรึง เมื่อใช้เกณฑ์ปริมาณเชื้อโปรไบโอติกที่ควรมีในผลิตภัณฑ์ไม่ต่ำกว่า 6 log cfu/g พบว่ามีอายุการเก็บรักษา 0 และ 3 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แต่เมื่อใช้เกณฑ์มาตรฐานผลไม้อบแห้งกล่าวคือมีปริมาณยีสต์และราไม่เกิน 2 log cfu/g พบว่าสับปะรดเสริมโปรไบโอติก *L. casei* มีอายุการเก็บรักษานานถึง 18 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าสับปะรดเสริมโปรไบโอติก *L. casei* ในรูปของเซลล์อิสระและที่ถูกตรึง มีอายุการเก็บรักษา 0 และ 3 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทั้งนี้การรอดชีวิตของเชื้อโปรไบโอติกได้อธิบายเหตุผลดังที่ได้กล่าวมาแล้วก่อนหน้านี้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย

1. การศึกษาประสิทธิภาพของการตรึงเซลล์โปรไบโอติก *Lactobacillus casei* TISTR 1463 และ *Lactobacillus bulgaricus* TISTR 892 ในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้สารอัลจีเนต พบว่าค่าประสิทธิภาพของการตรึงเซลล์มีค่าสูงเท่ากับ 99.25±7.04 และ 99.33±0.35 ตามลำดับ

2. การเสริมแบคทีเรียโปรไบโอติก *Lactobacillus casei* และ *Lactobacillus bulgaricus* ที่ถูกตรึงลงในผลิตภัณฑ์และศึกษาการรอดชีวิตของเชื้อโปรไบโอติกเปรียบเทียบกับการเติมเซลล์อิสระของเชื้อทั้งสองชนิด พบว่าโดยภาพรวมการตรึงเซลล์มีผลทำให้เพิ่มการรอดชีวิตของเชื้อโปรไบโอติกในผลิตภัณฑ์แต่การรอดชีวิตแตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อโปรไบโอติกและวัตถุดิบที่นำมาใช้ผลิต

3. สมบัติด้านต่างๆ ของผลไม้เสริมโปรไบโอติกทั้งในรูปแบบเซลล์อิสระและเซลล์ที่ถูกตรึงโดยส่วนใหญ่มีค่าใกล้เคียงกัน แต่การใช้วัตถุดิบแตกต่างกันเป็นผลให้สมบัติทางกายภาพ เคมีและจุลินทรีย์ของผลิตภัณฑ์มีความแตกต่างกัน

4. ฝรั่งเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* ทั้งในรูปแบบเซลล์อิสระและเซลล์ที่ถูกตรึงมีอายุการเก็บรักษา 9 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ส่วนฝรั่งเสริมโปรไบโอติก *L. casei* ในรูปของเซลล์อิสระและที่ถูกตรึง มีอายุการเก็บรักษา 9 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยใช้เกณฑ์มาตรฐานผลไม้อบแห้งที่ผลิตภัณฑ์ต้องมีปริมาณยีสต์และราไม่เกิน 2 log cfu/g

5. สับปะรดเสริมโปรไบโอติก *L. bulgaricus* ในรูปของเซลล์อิสระและที่ถูกตรึง มีอายุการเก็บรักษา 0 และ 15 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อใช้เกณฑ์ปริมาณเชื้อโปรไบโอติกที่ควรมีในผลิตภัณฑ์ไม่ต่ำกว่า 6 log cfu/g ส่วนสับปะรดเสริมโปรไบโอติก *L. casei* ในรูปของเซลล์อิสระและที่ถูกตรึงมีอายุการเก็บรักษา 0 และ 3 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เอกสารอ้างอิง

กรมวิชาการเกษตร. 2555. สับปะรด. สืบค้นจาก http://it.doa.go.th/vichakan/news.php?newsid=39 เมื่อ วันที่ 1 สิงหาคม 2555.

จารวี นุ่มสกุล, ปวีณา คงอินทร์ และยลดา พลรักษา. 2555. ผลของชนิดและปริมาณของไฮโดรคอลลอยด์ที่มีต่อสมบัติของสับปะรดแท่ง. ปัญหาพิเศษทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร. มหาวิทยาลัยนเรศวร, พิษณุโลก.

ฝรั่ง. 2555. สืบค้นจาก http://th.wikipedia.org/wiki เมื่อวันที่ 1 สิงหาคม 2555.

เพชรรุ้ง เสนานุช. 2554. การศึกษาการตรึงเซลล์โพรไบโอติกและการประยุกต์ใช้ในน้ำฝรั่ง. การศึกษาค้นคว้าด้วยตนเอง วท.ม., มหาวิทยาลัยนเรศวร, พิษณุโลก.

ไพโรจน์ หลวงพิทักษ์. 2554. ผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพ. สืบค้นจาก http://www.sc.mahidol.ac.th/scbt/articles/functional%20food-PL-12%20Oct%2009.pdf เมื่อวันที่ 1 สิงหาคม 2555.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์และนิธิยา รัตนาปนนท์. 2557. ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์. สืบค้นจาก http://www.foodnetworksolution.com/ เมื่อวันที่ 18 ธันวาคม 2557.

ภาวิณี คณาสวัสดิ์. 2531. การตรึงเอนไซม์และเซลล์. (พิมพ์ครั้งที่ 1). ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 221 หน้า.

ภคมน จิตประเสริฐ นันทพร พึ่งสังวร อาภา สุเวชวัฒนกุล อารีรัตน์ วนาอุปถัมภ์กุล ณัชชา วรรณพฤกษ์ และสุนีย์ นิธิสินประเสริฐ. 2552. โปรไบโอติก 'Lactobacillus' ทนความร้อน: สารเสริมชีวภาพสำหรับอาหารสัตว์อัดเม็ด. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

มลศิริ วีโรทัย. 2545. เทคโนโลยีของผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ . บริษัท พัฒนาคุณภาพวิชาการ (พว.) จำกัด , กรุงเทพฯ .99 น.

ทรงพล ทาเจริญ. 2555. ฝรั่ง. กลุ่มสื่อส่งเสริมการเกษตร ส่วนส่งเสริมและเผยแพร่ กรมส่งเสริมการเกษตร. สืบค้นจาก http://agritech.doae.go.th/agri-media เมื่อวันที่ 1 สิงหาคม 2555.

ธงชัย สุวรรณสิชณน์. 2549. การประเมินคุณภาพทางกายภาพด้ายเนื้อสัมผัส. น. 349-367. ใน "การพัฒนาผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรมเกษตร". สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล. 2539. จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญด้านอาหาร. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ. 30 น.

ศริสา แสงทวี. 2548. การเหลือรอดชีวิตของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกในน้ำผลไม้ชนิดต่าง ๆ .คณะเทคโนโลยีภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 2557. Water Activity กับการควบคุมอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร. สืบค้นจาก http://www.phtnet.org/article/view-article.asp?aID=12. เมื่อ วันที่ 15 สิงหาคม 2557.

สมใจ ศิริโภค. 2544. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรมอาหาร. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

สถาบันอาหาร. 2554. อุตสาหกรรมผักผลไม้และผลิตภัณฑ์. สืบค้นจาก http://fic.nfi.or.th/th/thaifood/product52- fruit.asp เมื่อวันที่ 15 มิถุนายน พ.ศ. 2554.

สุญาณี พงษ์ธนานิกร. 2549. พรีไบโอติกและโพรไบโอติก :อาหารสุขภาพ. เอกสารเผยแพร่. ภาควิชาอาหารเคมี คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สุรีย์ นานาสมบัติ. พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์, ศศวรรณ ศรีบุญทรง และศิริวรรณ แซ่โง้ว. 2549. การอยู่รอดของแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ผ่านกระบวนการปรับต่อกรดและไมโครเอนแคปซูเลชันในน้ำสลัดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ. งานวิจัยสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ

สับปะรด. 2555. สืบค้นจาก http://th.wikipedia.org/wiki เมื่อวันที่ 1 สิงหาคม 2555.

อุทัย เก้าเอี้ยน. 2549. โปรไบโอติกส์. สงขลานครินทร์เวชสาร. 24(4) : 315-323.

Alzamora, S.M., D. Salvatori, M.S. Tapia, A. Lopez-Malo, J. Welti-Chanes and P. Fito. 2005. Novel functional foods from vegetable matrices impregnated with biologically active compounds. J. Food Engineering 67 : 205–214.

AOAC. 2000. Official methods of analysis. Association of Official Analytical Chemists. Washington, DC.

Azoubel, P.M., Araujo, A.J.B., Oliveira, S.B. and Amorim, M.R. 2011. Restructuring *Passiflora cincinnata* fruit pulp: influence of hydrocolloids. Cienc. Technol. Aliment. Campinas, 31(1), 160-166.

Betoret,N., L. Puente, M.J. Díaz, M.J. Pagán, M.J. García, M.L. Gras, J. Martínez-Monzó and P. Fito. 2003. Development of probiotic-enriched dried fruits by vacuum impregnation. J. Food Engineering 56 : 273-277.

Brodelius, P. and E. J. Vandamm. 1987. Immobilized Cell Systems, pp. 405-464. In J.F.Kennedy,(Ed.). Biotechnology. (Vol 7a). VCH: Weinheim.

Corton, E., M. Piuri, F. Battaglini and S. M. Ruzal. 2000. Characterization of Lactobacillus carbohydrate fermentation activity using immobilized cell technique. Biotechnology Progress 16 : 59-66.

Dave R. I. and N. P. Shah. 1996. Evaluation of Media for Selective Emuneration of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, and *Bifidobacteria*. J. Dairy Sci. 79 :1529-1536.

Dave R. I., Shah N. P. 1997. Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. International Dairy J. 7 : 31 – 41.

De Giulio,B., O. Orlando, G. Barba, R. Coppola, M. De Rosa, A. Sada, P.P. De Prisco and F. Nazzaro. 2005. Use of alginate and cryo-protective sugars to improve the viability of lactic acid bacteria after freezing and freeze-drying. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 21, 739–746.

Ding,W.K. and N. P. Shah. 2008. Survival of free and microencapsulate probiotic bacteria in orange and apple juices. International Food Research Journal. 15(2),219-232.

Fito, P., A. Andres, A. Chiralt,. and P. Pardo. 1996. Coupling of hydrodynamic mechanism and deformation relaxation phenomena during vacuum treatments in solid porous food-liquid systems. J. Food Engineering 27 : 229–240.

Fukuda, H. 1995. Immobilized Microorganism Bioreactor. In J. A.Asenjo., and J. C. Merehuk, (Eds.), Bioreactor System Design. (pp. 339–375). Marcel Dekker. New York.

Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. J. Applied Bacteriology 66 : 365–378.

Gemeiner, P., L. Rexova – Benkova, F. Svec and O. Norrlow. 1994. Natural and synthetic carriers suitable for immobilization of viable cells, active organelles, and molecules. In I.A. Veliky and R.J.C. McLean, (Eds.), Immobilized biosystems. (pp. 1–128). New York: Blackie Academic and Professional.

Gibson, G. R. and M. B. Roberfroid. 1995. Dietary Modulation of the human Colonic Microbiota : Introducing the Concept of Prebiotics. Amer.Inst. Nutr.125: 1404-1412.

Gordon, F.B. 1997. Immobilization of enzymes and cells: some practical considerations. In F.B. Gordon, (Ed.), Immobilization of enzymes and cells,(pp. 1–12). Totowa: Humana Press.

Kandler, O. and N. Weiss. 1986. Genus Lactobacillus, In P. H. A. Sneath, N. S. Mair, M. E. Sharpe, and J. G. Holt (Eds.), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, (Vol 2., pp. 1063-1065). USA: Williams and Wilkins Co.,Baltimore.

Klaenhammer, T.R and M.J Kullen. 1999. Selection and design of probiotics. International Journal of Food Microbiology 50 : 45–57.

Lee, K. and S. Salminen. 1995. The coming of age of probiotic. Trends in Food Sci. and Technol. 6 : 241 – 245.

Mattila-Sandholm, T., P. Myllarinen, R. Crittenden, G. Mogensen, R. Fonden and M. Saarela. 2002. Technological challenges for future probiotic foods. Int. Dairy J. 12 :173-182.

Mazza, G. 1998. Functional foods: Biochemical and processing aspects, Technomic Publishing Company, Lancaster.

Nazzaro. F., F. Fratinni, R. Coppola, A. Sada and P. Orlando. 2009. Fermentative ability of alginate-prebiotic encapsulated Lactobacillus acidophilus and survival under simulated gastrointestinal conditions. Journal of Functional Foods 1 : 319–23.

Norton, S., C. Lacroix and J. Vuillemard. 1994. Kinetic study of continuous whey permeate fermentation by immobilized *Lactobacillus helveticus* for lactic acid production. Enzyme and Microbial Technology 16 : 457- 466.

Ouwehand, A., P. Kirjavainen, C. Shortt and S. Salminen. 1999. Probiotics: mechanisms and stabilised effect. International Dairy J. 9 : 43–52.

Pantastico, E.B. 1975. Postharvest Physiology, Handing and Utilization of Tropical and Subtropical Fruit and Vegetable. Conn: AVI, Westport. 560 p.

Pillay, V., and Fassihi, R. 1999. In vitro release modulation from crosslinked pellets for site-specific drug delivery to the gastrointestinal tract. I. Comparison of pH responsive drug release and associated kinetics. Journal of Controlled Release, 59, 229–242.

Reid, A. A., Vuillemard, J. C., Britten, M., Arcand, Y., Farnworth, E. and Champagne, C. P. 2005. Microentrapment of probiotic bacteria in a Ca2+-induced whey protein gel and effects on their viability in a dynamic gastro-intestinal model. Journal of Microencapsulation 22 : 603–619.

Roukas, T. and P. Kotzekidou. 1998. Lactic acid production from deproteinized whey by mixed cultures of free and coimmobilized *Lactobacillus casei* and *Lactococcus lactis* cells using fedbatch culture. Enzyme and Microbial Technology 22 : 199–204.

Salminen, S., A. Ouwehand, Y. Benno and Y.K Lee. 1999. Probiotics: How should they be defined?. Trends in Food Science and Technology 10 : 107–110.

Salminen, S., Von A. Wright, C. A. Ouwehand and H.W. Holzapfel. 2000. Safety assessment of starters and probiotics, In M. Adams and R. Nout (Eds.), Fermentation and Food Safety (pp. 239-251). Gathersburg: Aspen Publishers.

Salunkhe, D. K. and S. S.Kadam, S.S. 1995. Handbook of Fruit Science and Technology. Marcel Dekkar, Inc., New York. 611 p.

Saarela, M. , G. Mogensen, R. Fonden, J. Matto and T. Mattila-Sandholm. 2000. Probiotic bacteria : safety , functional and technological properties. J. Biotechnol. 84:197-215.

Sanders, M. E. 1993. Effect of consumption of lactic cultures on human health. Adv. in Food and Nutr. Res. 37 : 67 – 130.

Sanders, M. E. 1999. Probiotics. Food Technology 53(11) : 67–77.

Sandoval-Castilla, O., Lobato-Calleros, C., Garcia-Galindo, H.S., Alvarez-Ramirez, J. and E.J. Veron-Carter. 2010. Textural properties of alginate–pectin beads and survivability of entrapped *Lb. casei* in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. Food Research International 43 : 111–117.

Schepers, A. W., J. Thibault, and C. Lacroix. 2002. *Lactobacillus helveticus* growth and lactic acid production during pH-controlled batch cultures in whey permeate/yeast extract medium. Part I. multiple factor kinetic analysis. Enzyme and Microbial Technology 30 : 176-186.

Sheu, T.Y. and Marshall, R.T. 1993. Micro-encapsulation of Lactobacilli in calcium alginate gel. J. Food Science 83: 894-907.

Shuler, M. L. and F. Kargi. 2002. Bioprocess Engineering. Prentice Hall, Inc., USA.

Yoo, I. K., G.H. Seong, H. N. Chang and J. K. Park. 1996. Encapsulation of *Lactobacillus casei* cells in liquid-core alginate capsules for lactic acid production. Enzyme and Microbial Technology 19 : 428–433.

ภาคผนวก

การวิเคราะห์ปริมาณกรด (Acidity)

สารเคมี

1 ฟีนอล์ฟทาลีน 1 %

2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N

วิธีการ

1. ดูดตัวอย่างที่เป็นของเหลวจำนวน 10 มิลลิลิตร
2. หยดฟีนอล์ฟทาลีน 3 หยด
3. ไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N จนถึงจุดยุติ (สีชมพูอ่อน)

การคำนวณ (Calculations)

สูตร Acidity (as citric acid) = $\frac{\text{ความเข้มข้น NaOH X มล. ของ NaOH X meq.wt X 100}}{\text{ตัวอย่าง}}$

ความเข้มข้น NaOH = 0.1 N

มล. ของ NaOH = ปริมาณของสารละลาย NaOH ที่ใช้ในการไตเตรต

หมายเหตุ meq.wt Citric acid = 0.0604

Lactic acid = 0.09008

การวัดสีโดยเครื่องวัดสี Hunter lab DP 9000

วิธีการวัด

1. เปิดเครื่อง warm up โดยกดปุ่มใด 1 ปุ่ม กดอ่าน ทิ้งไว้ประมาณ 45 นาที
2. กดปุ่ม C เพื่อเคลียร์ แล้วกดปุ่ม CAL เพื่อทำการ Calibrate เครื่อง โดยวางแผ่นมาตรฐานสีดำด้านเรียบลงบนที่วาง กดอ่าน แล้ววางแผ่นมาตราฐานสีขาวกดอ่าน
3. กดปุ่ม xyz/Lab ¦ เพื่อเข้าสู่โปรแกรม ทำการตั้งค่า

Setup	More
Name	0-99
Display	Difference
Read interval	Single
Sample ID	on
Average	4
Statistics	Max/Min
Color scale	XYZ
Color index	YI (D1925)
Color difference scale	Δ XYZ
Color diffrn index	None
Standard	Physical

Target X 81.26
Target Y 83.21
Target Z 98.77

4. อ่านค่ามาตรฐานจากแผ่นสีขาวที่ XYZ ให้ค่าเท่ากับแผ่นมาตรฐานที่กำหนด
5. จากนั้นกดลูกศรขึ้นไปเปลี่ยนค่า Color scale ให้เป็นค่า Lab
6. กดปุ่ม xyz/Lab ¦ อ่าน เข้าสู่โปรแกรมการวัดค่าสี
7. นำตัวอย่างที่ต้องการวัดใส่ถ้วยวัดสี เกลี่ยตัวอย่างให้เต็มพื้นที่ ประมาณครึ่งถ้วย นำถ้วยที่ต้องการวัดวางบนแท่นอ่าน ปิดฝาคลุมทำการอ่านค่า Lab
8. หมุนถ้วยวัดสีทุกครั้งที่อ่าน จนครบจำนวน 4 ซ้ำ
9. จดค่าที่อ่านได้
10. เมื่อใช้งานเสร็จทำการปิดเครื่อง พร้อมทั้งทำความสะอาดให้เรียบร้อย

หมายเหตุ

L = ความสว่าง (สีขาว100-0)
-a = สีเขียว
a = สีแดง
-b = สีน้ำเงิน
b = สีเหลือง

การวัดค่า pH โดยเครื่องวัด pH meter (Consort C 830)

วิธีการวัด

1. เปิดเครื่องโดยกดปุ่ม ON-OFF
2. กดปุ่ม Mode ไปที่ pH สังเกตเห็นไฟแสดงที่ pH
3. กดปุ่ม CAL Calibrate กับสารละลายมาตรฐาน หน้าจอจะแสดง CAL
4. ล้าง Electrodes ด้วยน้ำกลั่น ซับให้แห้ง จุ่มลงในสารละลายมาตรฐาน บัฟเฟอร์ 7 กด CAL รอจนไฟที่ CAL หยุดกระพริบ เมื่อ Calibrate เสร็จแล้ว ล้าง Electrodes ด้วยน้ำกลั่น ซับให้แห้ง แล้วทำการ CAL บัฟเฟอร์ 4 กด CAL รอจนไฟที่ CAL หยุดกระพริบ เมื่อ Calibrate เสร็จแล้ว หน้าจอเครื่องจะขึ้น pH ทำการล้าง Electrodes ด้วยน้ำกลั่น ซับให้แห้ง
5. จุ่ม Electrodes ลงในตัวอย่าง อ่านค่าจากหน้าจอ
6. เมื่อเลิกให้ล้าง Electrodes ด้วยน้ำกลั่น ซับให้แห้ง แช่ Electrodes ใน KCL 3 M
7. ปิดเครื่องโดยกดปุ่ม ON-OFF
8. ทำความสะอาดเครื่องหลังการใช้งานให้เรียบร้อย

การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 1990)

เครื่องมือและอุปกรณ์

- ตู้อบลมร้อน
- เครื่องชั่ง

- ถ้วยอลูมิเนียมสำหรับหาความชื้น
- Cruciber tong
- โถดูดความชื้น

วิธีการดำเนินการ (Procedures)

1. ชั่งน้ำหนักถ้วยอลูมิเนียมพร้อมฝาที่ผ่านการอบห้างจนมีน้ำหนักคงที่แล้ว บันทึกน้ำหนัก
2. ชั่งตัวอย่าง 2-5 กรัม ใส่ในถ้วยอลูมิเนียม เกลี่ยให้ตัวอย่างแผ่ด้วยความหนาสม่ำเสมอ ปิดฝา บันทึกน้ำหนัก
3. นำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 °C โดยเปิดฝาครอบไว้เล็กน้อย เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
4. นำออกจากตู้อบลมร้อน (ปิดฝาครอบให้สนิท) ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ประมาณ 30 นาที
5. นำตัวอย่างมาชั่งน้ำหนัก บันทึกน้ำหนัก
6. นำตัวอย่างเข้าอบอีกประมาณ 30 นาที แล้วทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนัก ถ้าน้ำหนักเปลี่ยนแปลงไปจากครั้งแรกน้อยกว่า 0.003 กรัม ให้ยุติการอบ บันทึกน้ำหนักสุดท้าย
7. คำนวณหาปริมาณความชื้นจากน้ำหนักที่หายไป

การคำนวณ (Calculations)

$$\text{ความชื้น \%} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มแรก} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มแรก}}$$

การศึกษาการอยู่รอดของเชื้อโปรไบโอติก

เพาะเลี้ยงเชื้อโปรไบโอติกแต่ละชนิดในอาหาร MRS broth โดยทำการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 ^{0}ซ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงสารความเร็วสูงพร้อมระบบควบคุมความเย็น (refrigerated centrifuge บริษัท N.R.Y) ด้วยความเร็วรอบ 4900 x g ที่อุณหภูมิ 5 ^{0}ซ เป็นเวลา 15 นาที เทอาหารเลี้ยงเชื้อทิ้ง ล้างเซลล์ 2 ครั้ง ด้วย 0.85 % sterile NaCl โดยนำไปปั่นเหวี่ยงและเท 0.85 % NaCl ทิ้ง นำเชื้อที่ได้ผ่านการล้างเซลล์แล้ว มานับจำนวนก่อนเติมลงไปในผลิตภัณฑ์ ซึ่งจะมีเชื้อก่อนเติมประมาณ 10 log cfu/ml จากนั้นเติมลงไปในผลิตภัณฑ์ 5 % ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีจำนวนเชื้อเริ่มต้นประมาณ 8 log cfu/g

การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total viable count) โดยวิธี pour plate BAM (2000)

1. ปิเปตตัวอย่างอาหารที่เป็นของเหลวมา 10 มิลลิลิตรใส่ในขวดแก้วที่ปราศจากเชื้อ เทสารละลายสำหรับเจือจาง ใช้ 0.1% peptone water 90 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน จะได้ตัวอย่างที่เจือจางความเข้มข้น 1: 10
2. นำตัวอย่างตามข้อ 2 จำนวน 1 มิลลิลิตรใส่ลงในสารละลายเจือจาง 9 มิลลิลตร จะได้ตัวอย่างอาหารที่มีความเข้มข้น 1 : 100(10^{-2})

3 เตรียมตัวอย่างอาหารเจือจาง 1 : 1,000(10^{-3}) 1 : 10,000(10^{-4}) ตามลำดับจนถึง 1 : 100,000,000(10^{-8})

4.หลอมอาหารเลี้ยงเชื้อ Standard plate count agar (SPC) ให้ละลายแล้วทิ้งไว้ให้เย็น 50 ^{0}ซ

5. ในขณะที่ทำตัวอย่างอาหารให้เจือจางลงตามลำดับ ปิเปตตัวอย่างอาหารของทุกระดับความเจือจาง 1 มิลลิลิตร ในลงในจานเพาะเชื้อ โดยแต่ละระดับควรความเจือจาง ควรทำ 2 จาน (duplicate plate)
6. เทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจาน 15-20 มิลลิลิตร
7.เขย่าจานให้หมุนไปทางขวา 5-10 ครั้ง ทางซ้าย 5-10 ครั้ง ตั้งทิ้งไว้จนวุ้นแข็ง

8.บ่มเชื้อที่ 35-37 ^{0}ซ 48 ชั่วโมง โดยการกลับคว่ำจานลง
10.นับจำนวนโคโลนีทั้งบนผิวและในอาหารเลี้ยงเชื้อ คำนวณให้อยู่ในรูป cfu/g หรือ cfu/mL

การวิเคราะห์แบคทีเรียแลคติคทั้งหมด (Total lactic acid bacteria count) โดยใช้วิธี pour plate (BAM, 2000)

1. เตรียมตัวอย่างเช่นเดียวกับการหาจุลินทรีย์ทั้งหมด
2. หลอมอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar (SPC) ให้ละลายแล้วทิ้งไว้ให้เย็น 50 ^{0}ซ
3. ในขณะที่ทำตัวอย่างอาหารให้เจือจางลงตามลำดับ ปิเปตตัวอย่างอาหารของทุกระดับความเจือจาง 1 มิลลิลิตร ในลงในจานเพาะเชื้อ โดยแต่ละระดับควรความเจือจาง ควรทำ 2 จาน (duplicate plate)
4. เทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจาน 15-20 มิลลิลิตร
5. เขย่าจานให้หมุนไปทางขวา 5-10 ครั้ง ทางซ้าย 5-10 ครั้ง ตั้งทิ้งไว้จนวุ้นแข็ง
6. บ่มเชื้อที่ 35-37 ^{0}ซ 48 ชั่วโมง
7. นับจำนวนโคโลนีทั้งบนผิวและในอาหารเลี้ยงเชื้อ
8. คำนวณและรายงานผล ให้นับโคโลนีจากจานเลี้ยงเชื้อที่มี 25-250 โคโลนี/จานเลี้ยงเชื้อ คำนวณให้อยู่ในรูป cfu/g หรือ cfu/mL

การวิเคราะห์ปริมาณยีสต์และรา (yeast and mold) ด้วยอาหาร Rose Bengal agar (Frances and Ito, 2001)

1. เตรียมตัวอย่างเช่นเดียวกับการหาจุลินทรีย์ทั้งหมดแต่ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Rose Bengal แทน
2. ในขณะที่ทำตัวอย่างอาหารให้เจือจางลงตามลำดับ ปิเปตตัวอย่างอาหารของทุกระดับความเจือจาง 0.1 มิลลิลิตร ในลงในจานเพาะเชื้อ โดยแต่ละระดับความเจือจาง ควรทำ 2 จาน (duplicate plate)
3. บ่มเชื้อที่ 25 ^{0}ซ 3 วัน
4. นับจำนวนโคโลนีของเชื้อยีสต์ และราที่ขึ้นบนจานเพาะเชื้อในช่วง 25-250 โคโลนี รายงานผลเป็นค่า CFU/ml แล้วเปลี่ยนให้อยู่ในรูปค่า Log number

Frances, D. and Ito, K. 2001. Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Food. Washington, DC: American Public Health Association. 676 p.