รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

กฤษณ์ มงคลปัญญา. 2535. ชีววิทยาการแช่แข็ง. วารสารวิทยาศาสตร์ มก. 10(1): 41-48.

พรเทพ เมฆารักษ์ภิญโญ. 2538. ผลของการทำแห้งแบบเยือกแข็งและแบบพ่นฝอยต่อโยเกิร์ตพร้อมดื่มผง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พิมพรรณ รัตนพฤกษานนท์. 2526. การศึกษาการผลิตนมถั่วเหลืองผงโดยวิธีอบแห้งแบบพ่นกระจาย. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. ภาควิชาเคมีเทคนิค คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พิษณุ นิมาชัยกุล. 2534. การถนอมรักษาลอยัลเยลลีโดยการแช่แข็งและการทำแห้งเยือกแข็ง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เพิ่มพงษ์ ศรีประเสริฐศักดิ์. 2524. การผลิตและการเก็บเชื้อแบคทีเรียแลคติคที่ใช้เป็นอาหารเสริมสุกรในรูปเชื้อผง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ไพบูลย์ ธรรมรัตน์วาสิก. 2532. กรรมวิธีการแปรรูปอาหาร. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

นิตยา เมธาวณิชพงศ์. 2549. การคัดเลือกโพรไบโอติกแบคทีเรียเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์นมหมัก. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, สำนักงาน. 2524. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมนมผง. กรุงเทพมหานคร: กระทรวงอุตสาหกรรม.

ภัทรียา จุฑามาศ. 2541. การใช้น้ำเวย์เพื่อผลิตกล้าเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียและผลของสารปกป้องต่อการอยู่รอดของเชื้อ. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

รุ่งนภา พงษ์สวัสดิ์มานิต. 2535. วิศวกรรมแปรรูปอาหารการถนอมอาหาร. กรุงเทพมหานคร: โอเดียนสโตร์.

รุจา มาลัยพวง. 2544. การผลิตโพรไบโอติกสำหรับอาหารไก่จากแบคทีเรียกรดแลคติกของไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วารุณี ประดิษฐ์ศรีกุล. 2548. จุลินทรีย์เพื่อชีวิต. วารสารอาหาร 4(กรกฎาคม-ธันวาคม): 249-257.

วิไล รังสาดทอง. 2543. เทคโนโลยีการแปรรูปอาหาร. ภาควิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีพระเจ้าเกล้าพระนครเหนือ.

ศุกฤตย์ ไทยอุดม. 2538. การพัฒนากระบวนการผลิตน้ำบัวบก *Centella asiatica* (Linn.) Urban ผงสำเร็จรูป. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

สายชล ชิวปรีชา. 2520. การศึกษาการใช้น้ำมะพร้าวเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อและเก็บรักษาแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุนทรี วราอุบล. 2537. การทำแห้งน้ำมะนาวแบบเยือกแข็ง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

ภาษาอังกฤษ

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

Abadias, M., Benabarre, A., Teixedo, N., Usall, J., and Vinas, I. 2001. Effect of freeze drying and protectants on viability of the biocontral yeast Candida sake. Int J. Food. Microbiol. 65: 173-182.

Adhikari, B., Howes, T., Shrestha, A., and Bhandari, B. R. 2007. Effect of surface tension and viscosity on the surface stickiness of carbohydrate and protein solutions. J. Food Eng. 79: 1136-1143.

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

Avonts, L., Uytven, E. V., and De Vuyst, L. 2004. Cell growth and bacteriocin production of probiotic Lactobacillus strains in different media. Int. Dairy. J. 14: 947-955.

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

Bozoglu, T. F., and Gurakan, G. C. 1989. Freeze-drying Injury of Lactobacillus acidophilus. J. Food Prot. 52(4): 259-260.

Champagne, C. P., Gardner, N., Brochu, E., and Beaulieu, Y. 1991. The freeze-drying of lactic acid bacteria. Can. Inst. Sci. Technol. J. 24: 118-128.

Chauca, M. C., Stringheta, P. C., Ramos, A. M., and Vidal, J. C. 2005. Effect of the carriers on the microstructure of mango powder obtained by spray drying and its functional characterization. Inn. Food Sci. and Eng. Technol. 6: 20-28.

Cochran, W. C., and Cox, G. M. 1992. Experimental Design. 2nd ed. New York: John Wiley & Sons.

Coeuret, V., Gueguen, M., and Vernoux, J. P. 2004. Numbers and strains of lactobacilli in some probiotic products.

de Guchete, M. V., Serror, P., Chervaux, C., Smokvina, T., Ehrlich, S. D., and Maguin, E. Stress responses in lactic acid bacteria. Antonie van Leeuwenhoek. 82: 187.

Espina, F., and Packard, V. S. 1979. Survival of Lactobacillus acidophilus in a spray drying process. J. Food Prot. 42(2): 149-152.

Elversson, J. 2005. Spray-Dried Powders for Inhalation. Doctoral dissertation. Faculty of pharmacy Uppsala University. Sweden.

Fieser, L. F., and Fieser, M. 1959. Basic Organic Chemistry. Boston: Heath.

Foster, E. M. 1962. Culture preservation, Symposium on lactic starter culture. J. Dairy Sci. 45: 1290-1294.

Fu, W. Y., and Etzel, M. R. 1995. Spray drying of *Lactococcus lactis* and cellular injury. J. Food Sci. 60(1): 195-200.

Fuller, R. 1992. Probiotic: History and Delvelopment of Probiotic. London: Chapman and Hall.

Gardiner, G. E., Osullivan, E., Kelly, J., Anty, M. A. E., Fitzgerald, G. F., Collins, J. K., Ross, R. P., and Stanton, C. 2002. Comparative survival rates of human-derived probiotic *Lactobacillus paracasei* and *L. salivarius* strains during heat treatment and spray drying. Appl. Environ. Microbiol. 66(6): 2605-2612.

Goldblith, S. A., Rey, L., and Rothmayr, W. W. 1975. Freeze Drying and Advanced Food Tecnology. London: Academic press.

Gomez, Z. A., Tymczyszyn, E., de Antoni, G., and Disalvo, A. E. 2003. Action of trehalose on the preservation of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* by heat and osmotic dehydration. J. Appl. Microbiol. 95: 1315-1320.

Haque, M. K., and Roos, Y. H. 2006. Differences in the physical state and thermal behavior of spray-dried and freeze-dried lactose and lactose/protein mixtures. Inn. Food Sci. and Eng. Technol. 7: 62-73.

Havennaar, R., and Huis, J. H. J. 1992. Probiotic: A General View. Cited in Wood, B. I. B. The Lactic Acd Bacteria in Health and Disease. London: Elesevier Applied Science.

Heckly, R. J. 1978. Preservation of microorganisms. Appl. Microbiol. 24: 41-53.

Johnson, J. A. C., and Etzel, M. R. 1995. Propertise of *Lactobacillus helveticus* CNRZ-32 Attenuated by spray-drying, freeze-drying, or freezing. J. Dairy Sci. 78: 761-768.

Karel, M. 1975. Dehydration of food. New York and Basel: Marcel Dekker.

Kelly, P., Maguire, P. B., Bennett, M., Fitzgerald, D. J., Edwards, R. J., Thiede, B., Treumann, A., Collins, J. K., Sullivan, G. C., Shanahan, F., and Dunne, C. 2005.Correlation of probiotic Lactobacillus salivarius growth phase with its cell wall-associated proteome. FEMS Microbiol. Letters. 252: 153-159.

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

Kim, S. S., and Bhowmik, S. R. 1990. Survival of lactic acid bacteria during spray drying of plain yogurt. J. Food Sci. 55(4): 1008-1010, 1048.

King, C. J. 1973. Freeze Drying. 2nd ed. Westport: AVI.

King, C. J. 1971. Freeze-Drying of Food. London: The Chemical Rubber.

Korpela, R., and Saxelin, M. 1999. Probiotics in consumer products. In Gibson, G. R., and Roberfroid, M. B. Colonic Microbiota. Nutrition and Health. Netherlands: Kluwer Academic.

Laroche, C., and Gervais, P. Unexpected thermal destruction of dried, glass bead-immobilized microorganisms as a function of water activity. Appl. Environ. Microbiol. 59: 3015.

Leslie, S. B., Israeli, E., Lidhthart, B., Crowe, J. H., and Crowe, L. M. 1995. Trehalose and sucrose protect both membranes and proteins in intact bacteria during dryng. Appl. Environ. Microbiol. 61: 3592-3597.

Lian, W. C., Hsiao, H. C., and Chou, C. C. 2001. Survival of bifidobacteria after spray drying. Int. J. Food Microbiol. 74: 79-86.

Lorentzen, J. 1981. Freeze Drying: The Process. Equipment and Products. London and New Jersey: Applied Science.

Master, S. K. 1979. Spray Dry Handbook. London: George Godwin.

Mauriello, G., Aponte, M., Andolfi, R., Moschetti, G., and Villani, F. 1998. Spray-drying of bacteriocin producing lactic acid bacteria. J. Foof Prot. 62(7): 773-777.

Mary, P., Moschetto, N., and Tailliez, R. 1993. Production and survival during storage of spray-dried *Bradyrhizobium japonicum* cell concentrates. J. Appl. Bacteriol. 74: 340-344.

Meister, N., Aebischer, J., Vikas, m., Eyer, K., and Pasquale, D. 2000. Spray Drying Process[Online]. United States Patent no. 6,010,725. Avaiable from: http://patft.uspto.gov/netahtm/search-bool.html. [2004, August 20].

Monnet, C., Beal, C., and Corrieu, G. 2003. Improvement of the resistance of Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricu to freezing by natural selection. J. Dairy Sci. 86: 3048.

Nousiainen, J., and Setala, J. 1998. Lactic acid bacteria as animal probiotics. Cited in Salminen, S., and Wright, A. V. 2000. Lactic Acid Bacteria. New York: Mercel Dekker.

Oetjen, G. W., and Haseley, P. 2004. Freeze-drying. Weinheim : WILEY-VCH Verlag .

Perdigon, G., and Alvarez, S. 1986. Effect of perorally administered lactobacilli on macrophage activation in mice. Infect. Immun. 53: 404.

Pollman, D. S. 1986. Probiotics in pig diets. In Haresign, N. and Coles, D. J. A. Recent Advances in Animal Nutrition. London: Butterworth.

Porubcan, R. S., and Sellers, R. L. 1975. Spray drying of yoghurt and related cultures. J. Dairy. Sci. 58(5): 787.

Potschke, P., Pionteck, J., and Stutz, H. 2002. Surface tension, interfacial tension, and morphology in blends of thermoplastic polyurethanes and polyolefins. Part I. Surface tension of melts of TPU model substances and polyolefins. Polymer. 43: 6965-6972.

Potts, M. 1994. Desiccation tolerance of prokaryotes. Microbiol. Rev. 58: 755.

Reis, F. A. S. L., De Almedia, M. A. N., and Servulo, E. F. C. (2003). Peptidelipid surfactant production by *Bacillus subtilis* grown on low cost raw materials. 25th symposium on Biotechnology for fuel and chemicals. National Renewable Energy. Colorado.

Simione, F. P., and Brown, E. M. 1991. ATCC preservation methods: Freezing and freeze drying. 2nd ed. Maryland: American Type Culture Collection.

Stavric, S., and Kornegay, E. T. 1995. Microbial probiotics for pigs and poultry. In Wallance, R. J. Biotechnology in Animal Feed and Animal Feeding. New York: VCH.

Steckel, H., and Brandes, H. G. 2004. A novel spray-drying technique to produce low density particles for pulmonary delivery. Int. J. Pharm. 278: 187-195.

Steward, F. C., Caplin, S. M., and Miller, F. K. 1951. A tissue culture from tuber the synergistic action of 2,4-D and coconut milk. Science. 113: 518-520.

Teixiera, P., Castro, H., and Kirby, R. 1995a. Spray drying as a method for preparing concentrated cultures of *Lactobacillus bulgalicus*. J. Appl. Bacteriol. 78: 456-462.

Teixiera, P., Castro, H., and Kirby, R. 1995b. Survival of *Lactobacilus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* following spray-drying. J. Dairy Sci. 78:1025 -1031.

Thomas, D. B., and Madigan, M. T. 1991. Biology of Microorganisms. 6th ed. New Jersey: Prentice Hall.

To, B. C. S., and Etzel, M. R. 1997a. Survival of *Brevibacterium linens* (ATCC 9174) after spray drying, freeze drying, or freezing. J. Food Sci. 62(1): 167-170.

To, B. C. S., and Etzel, M. R. 1997b. Spray drying, or freezing of three different lactic acid bacteria species. J. Food Sci. 62(3): 576-578.

Vanderbelt, J. M. 1945. Nutritive value of coconut. Nature. 156: 174-175.

Vasiljevic, T., and Jelen, P. 2003. Drying and storage of crude β-alactosidase extracts from *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* 11842. Inno. Food Sci and Emerg. Tech. 4: 319-329.

Wang, Y. C., Yu, R. C., and Chou, C. C. 2004. Viability of lactic acid bacteria and bifidobacteria in fermented soymilk after drying, subsequent rehydration and storage. Int. J. Food Microbiol. 93: 209-217.

Zavaglia, G. A., Tymczyszyn, E., De Antoni, G., and Disalvo, A. E. 2003. Action of trehalose on the preservation of Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus by heat and osmotic dehydration. J. Appl. Microbiol. 95: 1315-1320.

Zayed, G., and Roos, Y. H. 2004. Influence of trehalose and moisture content on survival of *Lactobacillus salivarius* subjected to freeze-drying and storage. Proc. Biochem. 39: 1081-1086.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์และทดลอง

1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

ใช้วิธีวิเคราะห์ตาม (A.O.A.C., 1995)

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

1.2 ทำข้อ 1.1 ซ้ำจนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

1.3 ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนอย่างละเอียด ประมาณ 1-3 กรัม ใส่ในภาชนะหาความชื้นซึ่งทราบน้ำหนักแล้ว

1.4 นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าอุณหภูมิ 105°C นาน 4-5 ชั่วโมง

1.5 นำออกจากตู้อบใส่ในโถดูดความชื้น หลังจากนั้นชั่งหาน้ำหนัก

1.6 อบซ้ำอีก ครั้งละประมาณ 30 นาทีและกระทำเช่นเดิมจนได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

1.7 คำนวณปริมาณความชื้นดังสมการ

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

2. การรอดชีวิต (%)

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

กำหนด N = จำนวนเชื้อหลังทำแห้ง (CFU/g)

N_0 = จำนวนเชื้อก่อนทำแห้ง (CFU/g)

3. **การวิเคราะห์สมบัติการละลาย**

ใช้วิธีการวิเคราะห์ของ (ศุกฤตย์ ไทยอุดม, 2538)

3.1 อบกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ที่อุณหภูมิ 70°C ในตู้อบลมร้อน นานประมาณ 2 ชั่วโมง

3.2 ชั่งน้ำหนักกระดาษกรองและอบต่อจนกว่าน้ำหนักที่ได้คงที่ บันทึกผลเป็นน้ำหนักเริ่มต้น เก็บกระดาษกรองไว้ใน desiccator

3.3 ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 3.5±0.2 กรัม ละลายในน้ำอุ่น 50 องศาเซลเซียส ปริมาณ 50 มิลลิตร โดยใช้ magnetic stirrer ที่ความเร็วรอบ 700 rpm นาน 0.5 นาที

3.4 กรองตัวอย่างผ่านกระดาษกรองที่เก็บไว้ใน desiccator

3.5 นำกระดาษกรองไปอบที่ 70°C จนน้ำหนักที่ได้คงที่ บันทึกเป็นน้ำหนักสุดท้าย

3.6 คำนวณค่าการละลายในรูปค่าร้อยละของแข็งที่ไม่ละลายน้ำดังสมการ

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

4. **การวิเคราะห์ค่าแรงตึงผิว**

ใช้วิธีวิเคราะห์โดยดัดแปลงจาก (Potschke, Pionteek and Stutz, 2002)

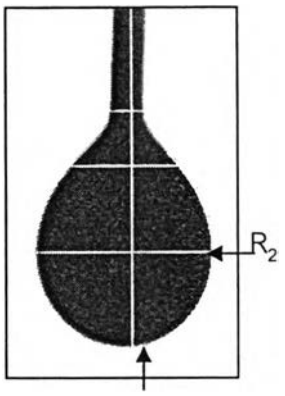
การวัดค่าแรงตึงผิวในการทดลองนี้เป็นการใช้เทคนิค pendant drop วัดด้วยเครื่อง Goniometer ประกอบด้วยอุปกรณ์ดังนี้คือ ฐานวางกล้องเพื่อปรับระยะ (optical bench), กล้องถ่าย video (video camera), อุปกรณ์ติดตั้ง syringe (syringe attachment) และจอรับภาพ (monitor) เริ่มจากตัวอย่างที่อยู่ใน syringe จะถูก pump ผ่านหัวเข็มเกิดเป็นหยด กล้อง video บันทึกภาพเกิดเป็นหยดจนกระทั่งหยดตกจากปลายเข็ม เลือกภาพขณะที่หยดตกพอดี โปรแกรม First Ten Angstorms จะคำนวณค่าแรงตึงผิวจากลักษณะหยดดังสมการ Laplace equation

สมการ laplace $P = \gamma (1/R_1+1/R2)$

กำหนด p = แรงดันที่ผิวของหยด

γ = แรงตึงผิว

R_1, R_2 = รัศมีของตำแหน่งที่ 1 และ 2 ดังรูปที่ 1 ก



รูปที่ 1-ก ตัวอย่างรูปหยดของเหลวเมื่อผ่านหัวเข็มที่แสดงในจอรับภาพเครื่อง Goniometer

5. **สมการ** Kim-mashall

สมการ Kim-mashall รายงานโดย Elversson (2005)

สมการ Kim-mashall $D = 5356(\sigma^{0.4}\eta^{0.32}/(V_{rel}^2\rho_a)^{0.57}A^{0.36}\rho_l^{0.16})+((\eta^2/\rho_l\sigma)^{0.17}*B)$

กำหนด σ = ค่าแรงตึงผิว

η = ค่าความหนืด

ρ = ค่าความหนาแน่น

V_{rel} = ค่า relative velocity ระหว่างอากาศและสารละลายใน atomizer

A, B = ค่าคงที่ของ atomizer

6. **การวิเคราะห์ค่า** bulk density

เป็นวิธิวิเคราะห์ที่ดัดแปลงจาก (Steckel and Brandes, 2004)

6.1 ชั่งผงเชื้อน้ำหนัก 10 g

6.2 บรรจุลงกระบอกตวงขนาด 100 ml โดยใช้กรวยเป็นเครื่องมือช่วยบรรจุ

6.3 เคาะกระบอกตวงที่บรรจุผงเชื้อลงบนพื้นยางจำนวน 20 ครั้ง

6.4 อ่านค่าปริมาตรของเชื้อผงที่บรรจุอยู่ในกระบอกตวง

6.5 คำนวณค่า bulk density ในรูป g/mL

ภาคผนวก ข

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. MRS medium ปริมาตร 1000 ml

Peptone	1 %
Beef Extract	1 %
Yeast Extract	0.5 %
Glucose	2 %
Tween 80	0.1 %
K_2HPO_4	0.2 %
Sodium acetate	0.5 %
Tri-ammonium citrate	0.2 %
$MgSO_4.7H_2O$	0.02 %
$MnSO_4.4H_2O$	0.02 %

น้ำกลั่น 1000 mL

หากเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งเติม agar 1.5 % (w/v)

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที

2. **สูตรอาหารน้ำมะพร้าว** ปริมาตร 1000 mL

สูตรอาหารน้ำมะพร้าวนำมาจากงานวิจัยของ (เพิ่มพงษ์ ศรีประเสริฐศักดิ์, 2538)

เตรียมน้ำมะพร้าวโดย นำภาชนะรองรับน้ำมะพร้าวจากลูกมะพร้าวโดยตรง แล้วใช้ผ้าขาวบางกรองสิ่งสกปรกออกไป หลังจากจากนั้นนำน้ำมะพร้าวไปต้มจนเดือดประมาณ 5 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น นำใส่ภาชนะที่สะอาดเข้าแช่แข็งเพื่อเก็บไว้ใช้งาน

สูตรอาหารน้ำมะพร้าว

Peptone	1 %
Sodium acetate	0.5 %
Yeast extract	0.5 %
Ammonium citrate	0.2 %
Tween 80	0.1 %

น้ำมะพร้าว 1000 mL

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที

สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3. NaOH 2 N ปริมาตร 500 mL

NaOH	40 g
น้ำกลั่น	

ละลาย sodium hydroxide ด้วยน้ำกลั่นปรับปริมาตรจนได้ 500 mL

4. HCl 0.1 N ปริมาตร 500 mL

HCL	4.95 mL
น้ำกลั่น	495.05 mL

ภาคผนวก ค

ข้อมูลการทดลอง

ตารางที่ 1-ค ข้อมูลทั่วไปของเชื้อผงขณะทำแห้งแบบพ่นกระจายที่อุณหภูมิลมเข้า 160°C อัตราการป้อน 34 mL/min แปรความเข้มข้นของสารละลาย MNF ระดับต่างๆ

ความเข้มข้น (%)	ปริมาตร (mL)	ความเร็วลม (m/s)	น้ำหนักผลิตภัณฑ์ (g)
5	1000	17.00±0.10	32.37±1.35
10	1000	16.90±0.13	80.71±0.41
20	1000	17.03±0.06	166.63±1.42
30	1000	17.03±0.12	256.14±6.11

ตารางที่ 2-ค ความเข้มข้นของสารละลาย MNF ต่อปริมาณความชื้น ค่า a_w ความหนืด แรงตึงผิว และ bulk density หลังการทำแห้งแบบพ่นกระจาย

ความเข้มข้น (%)	ความชื้น^{ns} (%)	a_w^{ns}	ความหนืด (cP)	แรงตึงผิว (dynes/cm)	bulk density (g/mL)
5	3.16±0.25	0.28±0.03	1.87^{d}±0.09	53.16^{a}±0.60	0.36^{d}±0.01
10	3.17±0.02	0.28±0.03	2.26^{c}±0.04	53.01^{a}±0.43	0.42^{c}±0.01
20	3.45±0.10	0.29±0.03	3.86^{b}±0.29	50.32^{b}±0.20	0.50^{b}±0.03
30	3.54±0.39	0.29±0.01	5.52^{a}±0.15	49.46^{c}±0.38	0.59^{a}±0.00

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

ตัวอักษร ns ในคอลัมน์เดียวกันหมายความว่าไม่แตกกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 3-ค ปริมาณเชื้อเริ่มต้นและหลังทำแห้งด้วยวิธีพ่นกระจายที่อุณหภูมิลมเข้า 160°C อัตราการป้อน 34 mL/min เมื่อแปรความเข้มข้นของสารละลาย MNF ระดับต่างๆ

ความเข้มข้น (%)	เชื้อเริ่มต้น log (CFU/g)	เชื้อหลังทำแห้ง log (CFU/g)
5	11.12±0.19	10.85±0.11
10	9.52±0.06	10.00±0.08
20	9.57±0.25	9.40±0.20
30	9.56±0.14	8.85±0.13

ตารางที่ 4-ค ความเข้มข้นสารละลาย MNF ต่อจำนวนเชื้อที่รอดชีวิตระหว่างเก็บรักษาเป็นเวลา 60 วัน ที่ 20°C และ 30°C แสดงในรูป log (CFU/g) และ (CFU/g) ของผลิตภัณฑ์แห้ง

ความเข้มข้น (%)	อุณหภูมิการเก็บ (°C)	เชื้อที่รอดชีวิต log (CFU/g)			เชื้อที่รอดชีวิต (CFU/g)		
		0 วัน	30 วัน	60 วัน	0 วัน	60 วัน	0 วัน
5	20	10.85^{a}±0.11	10.10^{b}±0.04	9.29^{c}±0.03	7.03×10^{10}	1.20×10^{10}	1.97×10^{9}
	30	10.86^{a}±0.11	8.83^{b}±3.15	6.88^{c}±0.04	7.03×10^{10}	7.23×10^{10}	7.53×10^{6}
10	20	10.00^{a}±0.08	9.24^{b}±0.03	8.05^{c}±0.58	1.00×10^{10}	1.73×10^{9}	1.71×10^{8}
	30	10.00^{a}±0.08	7.60^{b}±0.36	6.40^{c}±0.00	1.00×10^{10}	4.80×10^{7}	2.49×10^{6}
20	20	9.40^{a}±0.20	8.88^{b}±0.08	7.72^{c}±0.04	2.52×10^{9}	7.59×10^{8}	6.52×10^{7}
	30	9.40^{a}±0.20	7.60^{b}±0.36	5.84^{c}±0.10	2.52×10^{9}	4.80×10^{7}	6.98×10^{5}
30	20	8.85^{a}±0.13	8.31^{b}±0.17	7.46^{b}±0.01	7.08×10^{8}	2.14×10^{8}	2.85×10^{7}
	30	8.85^{a}±0.13	7.27^{b}±0.21	5.33^{c}±0.09	7.08×10^{8}	1.99×10^{7}	2.18×10^{5}

ตัวอักษร a,b,c,... ที่กำกับตัวเลขในแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันหมายความว่าค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ตารางที่ 5-ค ข้อมูลทั่วไปของเชื้อผงขณะทำแห้งแบบพ่นกระจายซึ่งแปรอุณหภูมิลมเข้า และอัตราการป้อนค่าต่าง ๆ

อุณหภูมิลมเข้า (^{o}C)	อัตราการป้อน (mL/min)	ความเข้มข้น (%)	ปริมาตร (mL/min)	ความเร็วลม (m/s)	น้ำหนักผลิตภัณฑ์ (g)
160	16	10	500	16.47±0.35	60.81±5.12
	34	10	500	15.80±0.10	79.09±1.98
180	16	10	500	16.60±0.17	61.56±2.14
	34	10	500	15.80±0.00	80.03±0.99

ตารางที่ 6-ค อุณหภูมิลมเข้าและอัตราการป้อน (mL/min) ที่มีผลต่อจำนวนเชื้อที่รอดชีวิต ปริมาณความชื้น (%) และค่า a_w ของเชื้อผงในสารละลาย MNF 10 % หลังทำแห้งแบบพ่นกระจาย

อุณหภูมิลมเข้า (^{o}C)	อัตราการป้อน (mL/min)	การรอดชีวิต (%)	ความชื้น (%)	a_w
160	16	92.68±0.79	2.22±0.14	0.27±0.01
	34	95.65±0.78	4.73±0.16	0.35±0.03
180	16	90.45±0.25	2.39±0.11	0.30±0.02
	34	93.69±0.86	4.08±0.56	0.33±0.05

ตารางที่ 7-ค ปริมาณเชื้อเริ่มต้นและหลังทำแห้งโดยวิธีพ่นกระจายในสารละลาย MNF 10 % แปรอุณหภูมิลมเข้าและอัตราการป้อนค่าต่าง ๆ

อุณหภูมิลมเข้า (^{o}C)	อัตราการป้อน (mL/min)	เชื้อเริ่มต้น log (CFU/g)	เชื้อหลังทำแห้ง log (CFU/g)
160	16	10.48±0.10	9.71±0.11
	34	10.67±0.08	10.20±0.03
180	16	10.64±0.07	9.63±0.06
	34	10.59±0.18	9.92±0.26

ตารางที่ 8-ค ข้อมูลทั่วไปของเชื้อผงขณะทำแห้งแบบพ่นกระจายที่อุณหภูมิลมเข้า 160°C อัตราการป้อน 16 mL/min เมื่อใช้ MNF ผสมน้ำตาลเป็นสารปกป้องเซลล์ แต่ total solids เท่ากัน

สารปกป้องเซลล์	ปริมาตร (mL)	ความเร็วลม(m/s)	น้ำหนักผลิตภัณฑ์ (g)	ความชื้น (%)	a_w
MNF9%+sucrose1%	500	17.00^{ns}±0.10	40.87^{ns}±1.02	2.26^{a}±0.15	0.22^{bc}±0.15
MNF7%+sucrose3%	500	16.90^{ns}±0.10	42.72^{ns}±2.58	1.99^{b}±0.01	0.17^{d}±0.03
MNF5%+sucrose5%	500	17.00^{ns}±0.10	40.31^{ns}±1.85	2.18^{ab}±0.09	0.20^{cd}±0.01
MNF9%+lactose1%	500	16.90^{ns}±0.00	41.85^{ns}±3.31	2.30^{a}±0.02	0.23^{bc}±0.02
MNF7%+lactose3%	500	16.90^{ns}±0.10	43.95^{ns}±1.35	2.31^{a}±0.03	0.24^{ab}±0.01
MNF5%+lactose5%	500	17.10^{ns}±0.12	43.36^{ns}±1.80	2.23^{ab}±3.00	0.21^{bc}±0.01

ตัวอักษร a,b,c,... ที่กำกับตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันหมายความว่าค่าแตกต่าง กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตัวอักษร ns ในคอลัมน์เดียวกันหมายความว่าไม่แตกกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 9-ค ปริมาณเชื้อเริ่มต้นและหลังทำแห้งแบบพ่นกระจายที่อุณหภูมิลมเข้า 160°C อัตราการป้อน 16 mL/min เมื่อใช้ MNF ผสมน้ำตาลเป็นสารปกป้องเซลล์ แต่ total solids เท่ากัน

สารปกป้องเซลล์	เชื้อเริ่มต้น log (CFU/g)	เชื้อหลังทำแห้ง log (CFU/g)
MNF9%+sucrose1%	10.76±0.15	10.26±0.14
MNF7%+sucrose3%	10.78±0.14	10.46±0.15
MNF5%+sucrose5%	10.76±0.08	10.32±0.08
MNF9%+lactose1%	10.99±0.12	10.43±0.05
MNF7%+lactose3%	10.63±0.01	10.12±0.09
MNF5%+lactose5%	10.72±0.22	10.15±0.38

ตารางที่ 10-ค ข้อมูลทั่วไปของเชื้อผงขณะทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -60°C ความดัน 0.5 hPa โดยมีชนิดของสารปกป้องเซลล์ต่างกัน

สัดส่วน	ปริมาตร (mL)	น้ำหนักผลิตภัณฑ์ (g)	ความชื้น (%)	a_w
MNF10%+sucrose10%	300	50.97^{ns}±0.95	3.39^{ns}±0.04	0.24^{b}±0.02
MNF10%+lactose10%	300	50.20^{ns}±1.84	3.42^{ns}±0.11	0.31^{a}±0.01

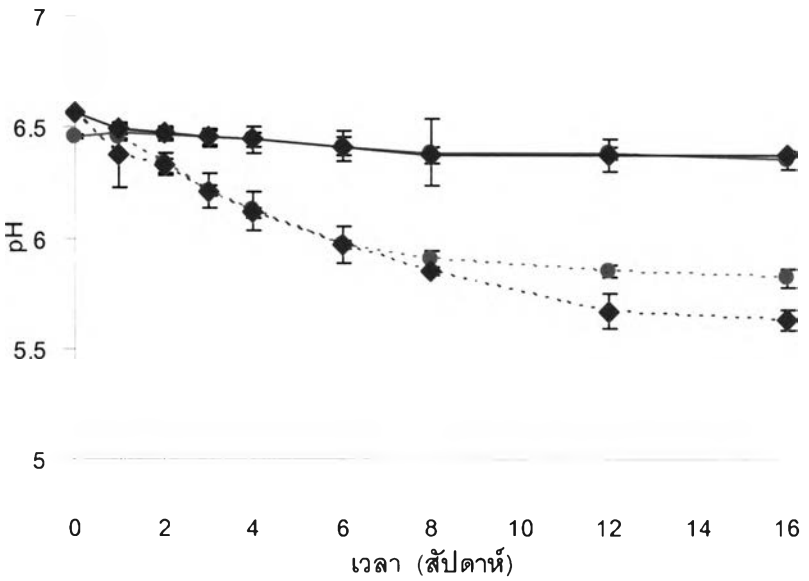
ตัวอักษร a,b ที่กำกับตัวเลขในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกันหมายความว่าค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตัวอักษร ns ในคอลัมน์เดียวกันหมายความว่าไม่แตกกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 11-ค ปริมาณความชื้นของเชื้อสดที่ได้จากการหมักเซลล์

ครั้งที่หมัก	ความชื้นเชื้อสด (%)
1	77.83^{ns} ± 0.22
2	77.30^{ns} ± 0.38
3	77.62^{ns} ± 0.30

ตัวอักษร ns ในคอลัมน์เดียวกันหมายความว่าไม่แตกกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$)



รูปที่ 1-ค ความสัมพันธ์ระหว่าง pH กับเวลาของเชื้อผงที่ผลิตในภาวะที่เหมาะสมโดยวิธีพ่นกระจาย (●)และแช่เยือกแข็ง (◆) เมื่อเก็บรักษาที่ 4°C (—) และ 30°C (····) เป็นระยะเวลา 16 สัปดาห์ ในถุง laminate aluminium foil

ตารางที่ 12-ค จำนวนเชื้อที่รอดชีวิตของเชื้อผงจากการทำแห้งแบบพ่นกระจายและแช่เยือกแข็งระหว่างเก็บรักษาเป็นเวลา 16 สัปดาห์ ที่ 4°C และ 30°C ซึ่งบรรจุในถุง laminated aluminium foil แสดงในรูป log (CFU/g)

วิธีการทำแห้ง	อุณหภูมิการเก็บ (°C)	เชื้อที่รอดชีวิต log (CFU/g)								
		0 weeks	1 weeks	2 weeks	3 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks	12 weeks	16 weeks
พ่นกระจาย	4	$10.8^{a}\pm0.09$	$10.8^{ab}\pm0.10$	$10.8^{ab}\pm0.10$	$10.8^{ab}\pm0.08$	$10.7^{ab}\pm0.04$	$10.7^{ab}\pm0.08$	$10.7^{ab}\pm0.09$	$10.7^{ab}\pm0.08$	$10.6^{b}\pm0.07$
	30	$10.8^{a}\pm0.09$	$10.4^{b}\pm0.07$	$10.2^{c}\pm0.09$	$10.1^{d}\pm0.11$	$9.9^{d}\pm0.09$	$9.8^{e}\pm0.07$	$9.7^{e}\pm0.05$	$9.5^{f}\pm0.03$	$9.4^{f}\pm0.03$
แช่เยือกแข็ง	4	$10.6^{a}\pm0.03$	$10.6^{ab}\pm0.03$	$10.6^{ab}\pm0.02$	$10.6^{abc}\pm0.02$	$10.6^{abcd}\pm0.03$	$10.6^{abcd}\pm0.02$	$10.6^{bcd}\pm0.01$	$10.5^{cd}\pm0.01$	$10.5^{d}\pm0.05$
	30	$10.6^{a}\pm0.03$	$10.4^{ab}\pm0.09$	$10.1^{bc}\pm0.22$	$9.9^{bcd}\pm0.28$	$9.9^{c}\pm0.28$	$9.7^{c}\pm0.26$	$9.6^{c}\pm0.24$	$9.5^{d}\pm0.20$	$9.5^{d}\pm0.16$

ตัวอักษร a, b, c,... ที่กำกับตัวเลขในแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันหมายความว่าค่าแตกต่าง กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ตารางที่ 13-ค จำนวนเชื้อที่รอดชีวิตของเชื้อผงจากการทำแห้งแบบพ่นกระจายและแช่เยือกแข็งระหว่างเก็บรักษาเป็นเวลา 16 สัปดาห์ ที่ 4°C และ 30°C ซึ่งบรรจุในถุง laminated aluminium foil แสดงในรูป (CFU/g)

วิธีการทำแห้ง	อุณหภูมิการเก็บ (°C)	เชื้อที่รอดชีวิต (CFU/g)								
		0 weeks	1 weeks	2 weeks	3 weeks	4 weeks	6 weeks	8 weeks	12 weeks	16 weeks
พ่นกระจาย	4	$6.45x10^{10}$	$6.17x10^{10}$	$6.08x10^{10}$	$5.87x10^{10}$	$5.37x10^{10}$	$5.35x10^{10}$	$5.00x10^{10}$	$4.48x10^{10}$	$3.98x10^{10}$
	30	$6.45x10^{10}$	$2.67x10^{10}$	$1.67x10^{10}$	$8.70x10^{9}$	$8.70x10^{9}$	$5.99x10^{9}$	$4.59x10^{9}$	$3.19x10^{9}$	$2.65x10^{9}$
แช่เยือกแข็ง	4	$4.36x10^{10}$	$4.16x10^{10}$	$4.11x10^{10}$	$3.98x10^{10}$	$3.98x10^{10}$	$3.84x10^{10}$	$3.71x10^{10}$	$3.46x10^{10}$	$3.43x10^{10}$
	30	$4.36x10^{10}$	$2.31x10^{10}$	$1.35x10^{10}$	$9.80x10^{9}$	$7.88x10^{9}$	$5.78x10^{9}$	$4.59x10^{9}$	$3.64x10^{9}$	$3.26x10^{9}$

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวจตุพร คงทอง เกิดเมื่อวันที่ 15 เมษายน 2525 ที่จังหวัดนครศรีธรรมราช สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตหาดใหญ่ ในปีการศึกษา 2546 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ ที่จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2546