รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การศึกษาสมบัติทางเคมีกายภาพ และการอยู่รอดของเชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแล็กทิกของโยเกิร์ตที่มีสตาร์ชจากถั่วเขียวงอกเป็นส่วนประกอบ

The Physico-Chemical Properties and Survival of Lactic Acid Bacteria of Yogurt Containing Germinated Mung Bean Starch

โดย

ดร.นันทรัตน์ ณ นครพนม

คณะเทคโนโลยีและนวัตกรรมผลิตภัณฑ์การเกษตร

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จได้ด้วยความอนุเคราะห์จากมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่ได้ให้การสนับสนุนทุนอุดหนุนงานวิจัยจากงบประมาณเงินรายได้มหาวิทยาลัย ประจำปี 2553 ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบคุณภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ในการให้ความอนุเคราะห์ใช้กล้องจุลทรรศน์ และเอื้อเฟื้อสถานที่ในการทำงานวิจัย

ขอขอบคุณคณาจารย์สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการที่ได้กรุณาให้คำแนะนำข้อคิดเห็นต่างๆ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ของคณะเทคโนโลยีและนวัตกรรมผลิตภัณฑ์การเกษตรทุกท่าน ที่ช่วยเหลือในการใช้เครื่องมือ และอุปกรณ์ในการทำงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี รวมทั้งขอขอบใจนิสิตสาขาวิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ ปีการศึกษา 2553 ที่ให้ความร่วมมือ

สุดท้ายนี้กราบขอบพระคุณมารดา ที่ให้การสนับสนุนและให้กำลังใจมาโดยตลอด

นันทรัตน์ ณ นครพนม

เมษายน 2554

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของสตาร์ชถั่วเขียวงอก (0.5% w/v) ต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและจำนวนเชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* ในระหว่างการบ่ม (37°C) และเก็บรักษา (5°C) ของโยเกิร์ต สตาร์ชที่นำมาศึกษาสกัดจากถั่วเขียวที่ผ่านการงอก นาน 0, 12 และ 24 ชม. พบว่า การเติมสตาร์ชถั่วเขียวงอกไม่มีผลต่อ pH ค่าความเป็นกรด และลักษณะทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ต ($p \geq 0.05$) ที่ 4 ชั่วโมงของการบ่ม โยเกิร์ตที่มีสตาร์ชเป็นส่วนประกอบมีจำนวนเชื้อ *L. bulgaricus* มากกว่าโยเกิร์ตที่ไม่มีสตาร์ช (6.21-6.43 log cfu g^{-1} และ 5.84±0.02 log cfu g^{-1} ตามลำดับ) การเติมสตาร์ชส่งผลให้โยเกิร์ตมีการแยกชั้นของของเหลวลดลงในระหว่างการเก็บรักษา ($p<0.05$) ที่ 14 วันของการเก็บรักษา โยเกิร์ตที่มีสตาร์ชถั่วเขียวงอก นาน 24 ชม. มีจำนวนเชื้อ *L. bulgaricus* สูงสุด (8.78±0.05 log cfu g^{-1}) แสดงให้เห็นว่าสตาร์ชถั่วเขียวงอกสามารถใช้เป็นวัตถุดิบในโยเกิร์ตโดยมีส่วนช่วยสนับสนุนการมีชีวิตอยู่ของเชื้อ *L. bulgaricus* ในระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ

Abstract

The effect of germinated mung bean starch (0.5% w/v) on the physicochemical characteristics of yogurt was studied. Total *Lactobacillus bulgaricus* counts during fermentation (37°C) or the storage at 5°C were investigated. The starch was isolated from mung bean after germination for 0, 12 and 24 h. The addition of germinated mung bean starch did not affect pH, total acidity and sensory characteristics of yogurt ($p \geq 0.05$). After 4 h of fermentation, the yogurt with the starch had the growth of *L. bulgaricus* more than control (6.21-6.43 log cfu g^{-1} and 5.84±0.02 log cfu g^{-1}, respectively). Moreover, the starch reduced serum separation of yogurt during storage ($p<0.05$). At 14 days of storage, the yogurt with 24-h germinated mung bean starch was the highest the counts of *L. bulgaricus* (8.78±0.05 log cfu g^{-1}). The results suggest that the germinated mung bean starch is helpful support the survival of the *L. bulgaricus* during storage at low temperature.

สารบัญ

หน้า

สารบัญ..... i

บัญชีตาราง..... ii

บัญชีภาพประกอบ..... iii

บทที่ 1 บทนำ..... 1

1.1 ที่มาของโครงการวิจัย..... 1

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย..... 2

บทที่ 2 การตรวจเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 3

2.1 โยเกิร์ต..... 3

2.2 การเปลี่ยนแปลงของเชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแล็กทิกและสารละลายนมในระหว่างกระบวนการหมัก..... 3

2.3 การเปลี่ยนแปลงของเชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแล็กทิกและโยเกิร์ตในระหว่างการเก็บรักษา..... 5

2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการอยู่รอดของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*..... 7

2.5 สตาร์ชถั่วเขียวและการดัดแปรสตาร์ชให้มีรูพรุน..... 8

2.6 กระบวนการงอกของเมล็ดพืช..... 8

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง..... 10

3.1 วัตถุดิบ..... 10

3.2 ผลของการงอกของเมล็ดพืชต่อการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพของสตาร์ชถั่วเขียว..... 10

3.3 ผลของสตาร์ชถั่วเขียวงอกต่อการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพ และจำนวน *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* ในโยเกิร์ต..... 12

3.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ..... 14

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง..... 15

4.1 ผลของการงอกต่อการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพของสตาร์ชถั่วเขียว..... 15

4.2 ผลของสตาร์ชถั่วเขียวงอกต่อการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพ และจำนวน *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* ในโยเกิร์ต..... 19

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ..... 27

บรรณานุกรม..... 28

ประวัติผู้วิจัย..... 36

บัญชีตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ปริมาณไนโตรเจนในแป้งถั่วเขียวที่ผ่านการงอกที่ระยะเวลาต่างๆ.....	15
2	ปริมาณอะไมโลสในสตาร์ชถั่วเขียวที่ผ่านการงอกที่ระยะเวลาต่างๆ...	18
3	ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความชอบด้วยวิธี 9-point hedonic scale.....	21
4	ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความแตกต่างด้วยวิธี Unstructured scaling.....	21
5	ผลของการเติมสตาร์ชถั่วเขียวงอกต่อการแยกชั้นของของเหลวในระหว่างการเก็บรักษา.....	25

บัญชีภาพประกอบ

ภาพที่		หน้า
1	โครงสร้างระดับจุลภาคของโครงร่างเคซีนไมเซลล์ และเชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแล็กทิกในโยเกิร์ต……..	4
2	โครงสร้างจำลองของโยเกิร์ต……	5
3	โครงสร้างระดับจุลภาคของโครงร่างตาข่ายเคซีนไมเซลล์ที่กักเก็บแบคทีเรียผลิตกรดแล็กทิก……..	6
4	โครงสร้างระดับจุลภาคของสตาร์ชถั่วเขียวที่ระยะเวลางอกต่างๆ……..	16
5	โครงสร้างระดับจุลภาคของสตาร์ชถั่วเขียวงอกในสารละลายน้ำแป้งความเข้มข้น 1% (w/v) ที่อุณหภูมิต่างๆ…….	17
6	ผลของระยะเวลางอกต่อกำลังการพองตัวของสตาร์ชถั่วเขียว……	18
7	ผลของระยะเวลางอกต่อการปลดปล่อยน้ำตาลกลูโคสจากสตาร์ชถั่วเขียวภายใต้สภาวะเลียนแบบร่างกายที่ระยะเวลาย่อยต่างๆ…….	19
8	โครงสร้างระดับจุลภาคของสตาร์ชถั่วเขียวที่ระยะเวลาต่างๆหลังผ่านการย่อยภายใต้สภาวะเลียนแบบร่างกาย นาน 60 นาที……	19
9	ลักษณะปรากฏของโยเกิร์ตที่มีสตาร์ชถั่วเขียวเป็นส่วนประกอบ……	20
10	ผลของการเติมสตาร์ชจากถั่วเขียวงอกต่อ pH และค่าความเป็นกรดของสารละลายนม ขณะบ่มที่ 42°C เป็นเวลา 4 ชม……	22
11	ผลของการเติมสตาร์ชต่อปริมาณเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii spp. bulgaricus* ที่เจริญในระหว่างการบ่มที่ 42°C เป็นเวลา 4 ชม……..	23
12	จำนวนเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii spp. bulgaricus* ในโยเกิร์ตที่มีสตาร์ชเป็นส่วนประกอบ เก็บรักษาที่ 5°C เป็นเวลา 14 วัน……..	24
13	ผลของการเติมสตาร์ชถั่วเขียวงอกต่อ pH และค่าความเป็นกรดของโยเกิร์ตขณะเก็บรักษาที่ 5°C เป็นเวลา 14 วัน……	24

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาของโครงการวิจัย

โยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์นมชนิดหนึ่งที่มีการบริโภคแพร่หลายในทุกกลุ่มของผู้บริโภค เนื่องจากโยเกิร์ตประกอบด้วยโปรตีนที่ย่อยง่าย มีน้ำตาลแลคโตสต่ำ มีแคลเซียมและวิตามินบีสูง (Deeth and Tamime, 1979; O´Brien, 1999, McKinley, 2005) รวมถึงมีแบคทีเรียผลิตกรดแล็กทิก (*Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus*) ถึงแม้ว่าเชื้อสำหรับผลิตโยเกิร์ตทั้ง 2 ชนิด ยังไม่มีรายงานถึงการมีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอทิก (Lomax and Calder, 2009) แต่เชื้อแบคทีเรียดังกล่าวมีบทบาทสำคัญต่อการปรับสมดุลในระบบย่อยและดูดซึมอาหารของร่างกาย (Fuller, 1991) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* (*L. bulgaricus*) ทั้งนี้ผู้บริโภคจะได้รับประโยชน์จาก *L. bulgaricus* มากหรือน้อย ขึ้นกับการปริมาณ *L. bulgaricus* ที่เจริญได้ในระหว่างการเก็บรักษา โดยทั่วไปควรมีปริมาณ ≥6-8 log cfu g^{-1} (Ross et al., 2005) ปัจจัยที่ส่งผลให้ปริมาณ *L. bulgaricus* ลดลงระหว่างเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ได้แก่ pH ปริมาณออกซิเจน สารเปอร์ออกไซด์ กรดแล็กทิกที่เกิดในระหว่างกระบวนการหมัก และอุณหภูมิใน การเก็บรักษา (Vasiljevic et al., 2007) โดยทั่วไปโยเกิร์ตที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2-5°C ปริมาณของเชื้อแบคทีเรียลดลงในวันที่ 4 ของการเก็บรักษา (Kim et al., 2009) และปริมาณเชื้อแบคทีเรียลดลงมากขึ้นเมื่อนำไปแช่แข็งที่ -12 – -18°C (Moss and Speck, 1963; Hong and Marshall, 2001) การเติมส่วนประกอบบางชนิดสามารถช่วยเพิ่มปริมาณการอยู่รอดของเชื้อแบคทีเรียแล็กทิกแก่โยเกิร์ต เช่น กรดอะมิโนซิสเตอีน กรดแอสคอบิก น้ำตาลซูโครส สารสกัดจากพืช และหางนม เป็นต้น (Dave and Shah, 1997; Kim et al., 2009; Michael et al., 2010) อย่างไรก็ตามการเติมน้ำตาลซูโครสอาจ มีข้อจำกัดสำหรับผู้บริโภคที่มีภาวะเสี่ยงต่อการเป็นโรคเบาหวาน

การดัดแปลงคาร์โบไฮเดรตให้มีรูพรุน (porous carbohydrate) เป็นวิธีการหนึ่งที่นำมาใช้ในการ กักเก็บสารไว้ภายในโครงสร้าง โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สารให้กลิ่นรส (flavor) (Godshall, 1988; Zeller et al., 1999) การผลิตคาร์โบไฮเดรตที่มีรูพรุนมีหลายวิธี ได้แก่ การย่อยสตาร์ชด้วยเอนไซม์ อะไมเลส (commercial amylase) การทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray-drying) และการเอ็คทรูด (extrusion) เป็นต้น (Reineccius, 1991; Yamada et al., 1995) การงอกทางธรรมชาติของเมล็ดพืช (seed germination) อาจเป็นวิธีหนึ่งที่สามารถนำมาประยุกต์เพื่อผลิตคาร์โบไฮเดรตที่มีรูพรุน เนื่องจากกระบวนการงอกของเมล็ดพืชเป็นกระบวนการที่มีการสังเคราะห์ และย่อยสลายสารอาหารที่พืชเก็บสะสมภายในเมล็ดด้วยเอนไซม์ที่ผลิตขึ้นทางธรรมชาติ ได้แก่ เอนไซม์อะไมเลส โปรติเอส ไรโบนิวเคลส (ribonuclease) และไลเปส เป็นต้น (Baxter, 1976; Jones, 2005; Celus et al., 2006)

ถั่วเขียว (Vigna radiate (L.) Wilczek) เป็นพืชเศรษฐกิจที่นิยมปลูกกันแพร่หลายในประเทศไทย เนื่องจากถั่วเขียวเป็นพืชที่ปลูกง่าย ปลูกได้ดีในดินแทบทุกชนิด แต่ทั้งนี้การใช้ประโยชน์จาก ถั่วเขียวยังอยู่ในวงจำกัด เช่น การผลิตวุ้นเส้น แป้งสลิ่ม และสกัดโปรตีนเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์ เป็นต้น (Prabhavat, 1988) ถั่วเขียวมีสตาร์ชเป็นส่วนประกอบ 50% ต่อน้ำหนักแห้ง (Hoover et al., 1997) และมีขนาดอนุภาคประมาณ 6.5 ถึง 43.4 ไมโครเมตร (Liu and Shen, 2007) จากการที่สตาร์ช ถั่วเขียวมีค่าดัชนีน้ำตาล (glycemic index) ต่ำ (~31) จึงสามารถนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารสำหรับผู้ป่วยเบาหวาน (Biliaderis, et al., 1981; Kasemsuwan et al., 1998)

งานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาผลของการงอกของเมล็ดพืชต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพและสมบัติทางเคมีของสตาร์ชถั่วเขียว รวมทั้งศึกษาผลของการเติมสตาร์ชจากถั่วเขียวงอกต่อการเปลี่ยนแปลง pH ค่าความเป็นกรด การแยกตัวของของเหลว (syneresis) และปริมาณ *L. bulgaricus* ในระหว่างบ่ม (42°C) และเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ (5°C)

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อศึกษาผลของการงอกของเมล็ดพืชต่อคุณสมบัติทางกายภาพ และสมบัติทางเคมีของสตาร์ชถั่วเขียว

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของสตาร์ชจากถั่วเขียวงอกต่อคุณสมบัติทางกายภาพ และสมบัติทางเคมีของโยเกิร์ต

1.2.3 เพื่อศึกษาผลของสตาร์ชถั่วเขียวงอกต่อจำนวน *L. bulgaricus* ในโยเกิร์ตที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5°C

บทที่ 2

การตรวจเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ผลิตภัณฑ์นมหมักเป็นที่รู้จักทั่วไปทั้งในแถบยุโรปและเอเชีย สามารถผลิตจากน้ำนมของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหลายชนิด ได้แก่ วัว แกะ ควาย และแพะ เป็นต้น แต่ที่นิยมทั่วไป คือ น้ำนมจากวัว ผลิตภัณฑ์นมหมักสามารถแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ตามลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ คือ ผลิตภัณฑ์ที่ทำการหมักด้วยเชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแล็กทิก (lactic fermentations) การใช้เชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแล็กทิกร่วมกับยีสต์ (yeast-lactic fermentations) และการใช้เชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแล็กทิกร่วมกับเชื้อรา (mould-lactic fermentation) (Tamime and Robinson, 1999)

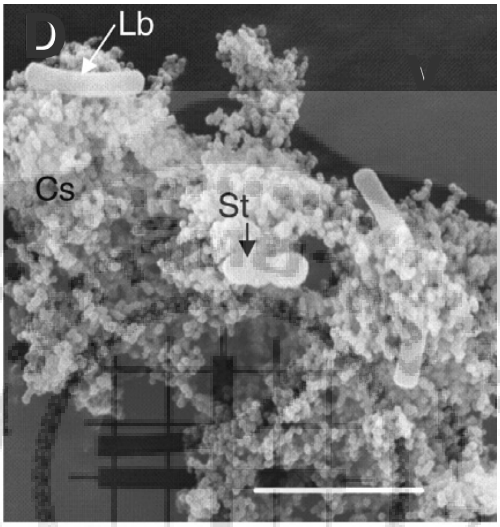
2.1 โยเกิร์ต

โยเกิร์ต (yogurt) เป็นผลิตภัณฑ์นมหมักที่มีการบริโภคอย่างแพร่หลาย เนื่องจากโยเกิร์ตประกอบด้วยโปรตีนที่ย่อยง่าย และมีปริมาณน้ำตาลแล็คโตสต่ำ ซึ่งเหมาะสำหรับผู้ที่มีระบบย่อยและดูดซึมสารอาหารประเภทโปรตีนและน้ำตาลแล็คโตสผิดปกติ โยเกิร์ตเกิดจากการนำนมมาบ่มกับเชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแล็กทิก ที่เจริญได้ที่อุณหภูมิ 37-45°C (Thermophilic bacteria) ได้แก่ *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Streptococcus Salivarius subsp. thermophilus*, *Bifidobacterium*, และ *Lactobacillus fermentum* เป็นต้น อย่างไรก็ตาม การบ่มนมด้วยเชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแล็กทิกเพียงชนิดใดชนิดหนึ่ง ส่งผลให้ใช้เวลาในการผลิตโยเกิร์ตนาน (8-10 ชม.) (Dave and Shah, 1998) ด้วยเหตุนี้กระบวนการผลิตโยเกิร์ตจึงใช้เชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิดร่วมกัน เชื้อแบคทีเรียที่นิยมใช้ร่วมกัน ได้แก่ *Streptococcus Salivarius subsp. thermophilus* และ *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (อัตราส่วน 1:1) ความเข้มข้นประมาณ 0.5-3% (Robinson, 2000) ระยะเวลาในการผลิตโยเกิร์ต ประมาณ 4-6 ชม.

2.2 การเปลี่ยนแปลงของเชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแล็กทิกและสารละลายนมในระหว่างกระบวนการหมัก

การผลิตโยเกิร์ตมี 2 ลักษณะ คือ การหมักโยเกิร์ตในภาชนะบรรจุที่เตรียมขายไปยังผู้บริโภค (set yogurt) และการหมักโยเกิร์ตในถังหมักก่อนทำการบรรจุ (stirr yogurt) การเจริญเติบโตของแบคทีเรียผลิตกรดแล็กทิกใน set yogurt จะมีมากกว่า stirr yogurt การทำงานของ เชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแล็กทิกชนิด *Streptococcus Salivarius subsp. thermophilus* และ *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* จะเป็นแบบพึ่งพากัน (symbiosis) ช่วงแรกของการหมักจะเป็นการทำงานของเชื้อ *Streptococcus Salivarius subsp. thermophilus (S. thermophilus)*

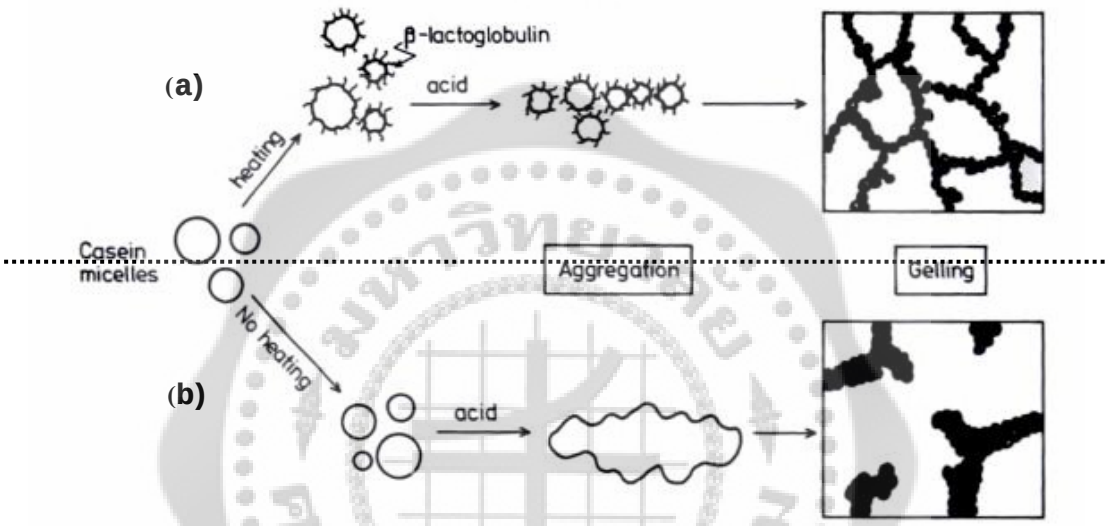
เชื้อ *S. thermophilus* เป็นแบคทีเรียที่มีเซลล์รูปกลม มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเล็กกว่า 1 ไมโครเมตร ติดสีแกรมบวก ต้องการวิตามินบีและกรดอะมิโนบางชนิด (เช่น วาลีน ไกลซีน และฮิสทิดีน) ในการเจริญเติบโต เชื้อ *S. thermophilus* สามารถเจริญได้ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน และที่มีอุณหภูมิสูง (50°C) แต่ไม่เจริญที่อุณหภูมิ 15°C ระหว่างกระบวนการหมัก เชื้อ *S.thermophilus* เจริญอย่างรวดเร็ว พร้อมกับย่อยสลายน้ำตาลแลคโตสในนมด้วยเอ็นไซม์เบตา-กาแลคโตซิเดส กรดฟอร์มิค แล็กเทต และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้น ส่งผลให้เกิดสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (Driessen et al., 1982)



ภาพที่ 1 โครงสร้างระดับจุลภาคของโครงร่างเคซีนไมเซลล์ และเชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแล็กทิกในโยเกิร์ต ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดลำแสงส่องกราด (SEM) บาร์ขนาด 5 ไมโครเมตร; Cs = casein micelle, St = *Streptococcus thermophilus*, Lb = *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*
ที่มา Penna et al., 2007

เชื้อ *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* (*L. bulgaricus*) เป็นแบคทีเรียที่มีเซลล์เป็นรูปท่อน มีขนาดประมาณ 0.5-0.8 X 2-9 ไมโครเมตร สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิ 50-55°C และเจริญได้เล็กน้อยที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10°C (Radke-Mitchell and Sandine, 1984) สามารถย่อยสลายน้ำตาลแล็กโตสและเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสจนได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นกรดแล็กทิก (Chandan, 1982) ส่งผลให้สารละลายนมมี pH ลดลง เชื้อ *L. bulgaricus* จะนำกรดแล็กทิกที่ผลิตขึ้นบางส่วน และกรดฟอร์มิคที่ได้จาก *S.thermophilus* ไปใช้สร้างสารให้กลิ่นรสในโยเกิร์ต โดยเฉพาะอย่างยิ่ง acetaldehyde

สภาวะที่ pH ของสารละลายนมลดลงเข้าใกล้ pH 3.8-4.6 ซึ่งเป็นสภาวะที่ pH เข้าใกล้จุดไอโซอิเล็กทริกของเคซีนไมเซลล์ในนม ส่งผลให้เคซีนไมเซลล์ในนมเกิดการตกตะกอน และยึดจับกันด้วยแรงดึงดูดไฮโดรโฟบิก (hydrophobic interaction) และแรงหรือพันธะที่เกิดจากประจุบนพื้นผิวของโมเลกุลหรืออนุภาค (electric double-layer forces) สภาวะที่มีการสมดุลระหว่างแรงดึงดูด (attractive forces) กับแรงผลัก (repulsive forces) ระหว่างอนุภาค รวมถึงการเกิดสมดุลระหว่างโปรตีน-โปรตีน และโปรตีน-ตัวทำละลาย (น้ำ) (Kinsella, 1984) จะเกิดการสานตัวเป็นโครงร่างตาข่าย (network) กักเก็บส่วนที่เป็นของเหลวไว้ภายใน หรือเกิดเจล (Hermansson, 1979) (ภาพที่ 2)



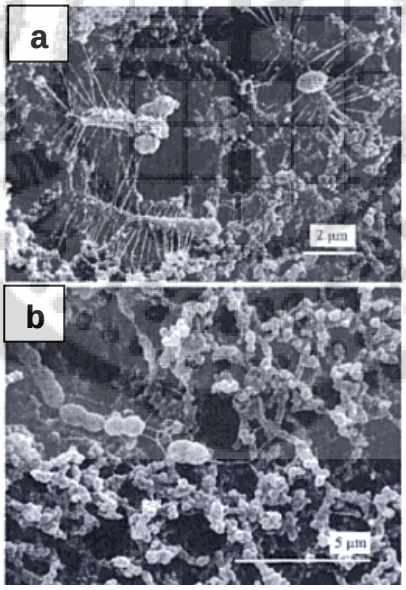
ภาพที่ 2 โครงสร้างจำลองของโยเกิร์ต
ที่มา Aguilera and Stanley, 1999

2.3 การเปลี่ยนแปลงของเชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแล็กทิกและโยเกิร์ตในระหว่างการเก็บรักษา

โดยทั่วไปโยเกิร์ตที่ผลิตได้จะทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5°C ประมาณ 1-2 สัปดาห์ ในระหว่างการเก็บรักษา เคซีนไมเซลล์จะเกิดการยึดเกาะกับด้วยแรงหรือพันธะที่แข็งแรงขึ้น ส่งผลให้ของเหลวที่ถูกกักเก็บเกิดการแยกชั้น (synerisis) ซึ่งเป็นลักษณะที่ไม่พึงประสงค์ของผู้บริโภค การแยกชั้นของของเหลวสามารถลดลงได้ด้วยการให้ความร้อนแก่สารละลายนมก่อนเติมเชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแล็กทิก (Davies et al., 1978) เนื่องจากความร้อนเหนี่ยวนำให้เกิดอันตรปฏิกิริยากันระหว่างเบตา-แลคโตโกลบูลินของเวย์โปรตีนกับแคปปา-เคซีนบนพื้นผิวของเคซีนไมเซลล์ ส่งผลให้เกิดร่างแหที่มีความคงตัวมากขึ้น (ภาพที่ 3a) และหรือการเพิ่มความหนืดของระบบด้วยการเติมสารไฮโดรคอลลอยด์บางชนิด แต่ทั้งนี้ขึ้นกับชนิด ความเข้มข้น และคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของสารไฮโดรคอลลอยด์ที่ใช้ (Zuo et al., 2008; Considine et al., 2010) สารไฮโดรคอลลอยด์ที่นิยมใช้ ได้แก่ กัวส์กัม กัมทรากาแคน คาราจีแนน เจลาติน และ

เซลลูโลส เป็นต้น (Keogh and O'Kennedy, 1998; Foroughinia et al., 2007; Azarikia and Abbasi, 2010) ปริมาณที่เติมจะอยู่ในช่วง 0.5-0.75% การเติมสารให้ความคงตัวดังกล่าวส่งผลให้ต้นทุนในการผลิตเพิ่มขึ้น

เชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแล็กทิกที่รอดชีวิตจะแทรกอยู่ภายในโครงร่างตาข่ายของเคซีนไมเซลล์ และยึดเกาะกับโครงร่างตาข่ายด้วยสารโพลีแซคคาไรด์ (exopolysaccharide) ที่เชื้อแบคทีเรียผลิตขึ้น (ภาพที่ 3) ในระหว่างการเก็บรักษา เชื้อ *S. thermophilus* และ *L. bulgaricus* จะดำเนินกิจกรรมได้ลดลง อย่างไรก็เชื้อทั้ง 2 ชนิดยังคงผลิตกรดได้ ปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้น ส่งผลให้เกิด pH ของโยเกิร์ตลดต่ำลง (pH < 4.0) จนไม่เหมาะสมแก่การเจริญ และก่อให้เกิดการตายของเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิด (Kailaspathy et al., 2008) ถึงแม้ว่าเชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแล็กทิกทั้ง 2 ชนิดนี้ ยังไม่มีรายงานถึงการมีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอทิก (Lomax and Calder, 2009) แต่เชื้อแบคทีเรียดังกล่าวมีบทบาทสำคัญต่อการปรับสมดุลในระบบย่อยและดูดซึมอาหารของร่างกาย (Fuller, 1991) โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *L. bulgaricus* ทั้งนี้ผู้บริโภคจะได้รับประโยชน์จาก *L. bulgaricus* มากหรือน้อย ขึ้นกับการปริมาณ *L. bulgaricus* โดยทั่วไปควรมีปริมาณ ≥6-8 log cfu g^{-1} (Ross et al., 2005) และกรณีที่ต้องการอ้างถึงการเป็นแหล่งของแบคทีเรียที่มีชีวิต ควรมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียไม่น้อยกว่า 8 log cfu g^{-1}



ภาพที่ 3 โครงสร้างระดับจุลภาคของโครงร่างตาข่ายของเคซีนไมเซลล์ที่กักเก็บแบคทีเรียผลิตกรดแล็กทิกไว้ในโครงสร้าง ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดลำแสงส่องกราด (SEM) (a) บาร์ขนาด 2 ไมโครเมตร (b) บาร์ขนาด 5 ไมโครเมตร
ที่มา Kalab et al., 1983

ดังนั้นการรักษาปริมาณแบคทีเรียที่มีประโยชน์ให้มีค่าไม่น้อยกว่า 8 log cfu g^{-1} ควบคู่ไปกับความคงตัวของคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของโยเกิร์ตในระหว่างการเก็บรักษา จึงเป็นสิ่งที่ผู้ผลิตควรให้ความสำคัญ

2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการอยู่รอดของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*

ปัจจัยที่มีผลต่อการลดจำนวนของ เชื้อ *L. bulgaricus* ของผลิตภัณฑ์นมหมักในระหว่างการเก็บรักษา ได้แก่ ปริมาณคาร์บอน pH ปริมาณออกซิเจน สารเปอร์ออกไซด์ กรดแล็กทิกที่เกิดในระหว่างกระบวนการหมัก และอุณหภูมิในการเก็บรักษา (Vasiljevic et al., 2007) โดยทั่วไปโยเกิร์ตที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2-5°C ปริมาณของเชื้อแบคทีเรียลดลงในวันที่ 4 ของการเก็บรักษา (Kim et al., 2009) และปริมาณเชื้อแบคทีเรียลดลงมากขึ้นเมื่อนำไปแช่แข็งที่ -12 – -18°C (Moss and Speck, 1963; Hong and Marshall, 2001) ถึงแม้การเติมสารพรีไบโอติก (เช่น อินนูลิน) ซึ่งถูกใช้เป็นแหล่งคาร์บอนของเชื้อแบคทีเรีย ส่งผลให้เชื้อแบคทีเรียในกลุ่มโพรไบโอติก (เช่น L*actobacilus casei LC-01*) ในโยเกิร์ตที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 28 วัน มีการเจริญมากขึ้น (>7 log cfu g^{-1}) อย่างไรก็ตาม สารพรีไบโอติกไม่ส่งผลต่อการชะลอการลดจำนวนลงของ *L. bulgaricus* ในระหว่างเก็บรักษา (Paseephol and Sherkat, 2009) แต่ *L. bulgaricus* มีปริมาณการอยู่รอดเพิ่มขึ้นเมื่อเติมกรดอะมิโนซิสเตอีน กรดแอสคอบิก และสารสกัดจากพืช (Dave and Shah, 1997; Kim et al., 2009; Michael et al., 2010) เนื่องจากสารดังกล่าวมีคุณสมบัติในการต้านสารอนุมูลอิสระ ส่งผลให้ค่ารีดอกซ์ โพแทลเชียล (the redox potential) ในโยเกิร์ตลดลงให้อยู่ระหว่าง -250 และ +100 mV ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของ *L. bulgaricus* (Ray, 2004) อย่างไรก็ตาม กรดอะมิโนซิสเตอีน และกรดแอสคอบิกส่งผลกระทบต่อรสชาติและลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์จึงมีข้อจำกัดในการนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ การเติมน้ำตาลซูโครสนอกจากช่วยปรับปรุงรสชาติของผลิตภัณฑ์ก็สามารถเพิ่มปริมาณ *L. bulgaricus* ในระหว่างการเก็บรักษา อย่างไรก็ตาม การเติมน้ำตาลซูโครสอาจมีข้อจำกัดสำหรับผู้บริโภคที่มีภาวะเสี่ยงต่อการเป็นโรคเบาหวาน

ดังนั้นการดัดแปลงส่วนประกอบโยเกิร์ตด้วยการเพิ่มแหล่งคาร์บอน การลดปริมาณออกซิเจน รวมถึงการปรับเปลี่ยนคุณลักษณะบางประการของโยเกิร์ต อาจมีส่วนช่วยเพิ่มปริมาณเชื้อ *L. bulgaricus* ในระหว่างการเก็บรักษา

2.5 สตาร์ชถั่วเขียวและการดัดแปรสตาร์ชให้มีรูพรุน

ถั่วเขียว (Vigna radiate (L.) Wilczek) เป็นพืชเศรษฐกิจที่นิยมปลูกกันแพร่หลายในประเทศไทย เนื่องจากถั่วเขียวเป็นพืชที่ปลูกง่าย ปลูกได้ดีในดินแทบทุกชนิด แต่ทั้งนี้การใช้ประโยชน์จากถั่วเขียวยังอยู่ในวงจำกัด เช่น การผลิตวุ้นเส้น แป้งสลิ่ม และสกัดโปรตีนเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์ เป็นต้น (Prabhavat, 1988) ถั่วเขียวมีสตาร์ชเป็นส่วนประกอบ 50% ต่อน้ำหนักแห้ง (Hoover et al., 1997) และมีขนาดอนุภาคประมาณ 6.5 ถึง 43.4 ไมโครเมตร (Liu and Shen, 2007) สตาร์ชถั่วเขียว ประกอบด้วย อะไมโลส 45.3% (w/w) ซึ่ง 12.1% ของอะไมโลสเกิดสารประกอบเชิงซ้อนกับไขมัน ส่งผลให้สตาร์ชถั่วเขียวคงทนต่อความร้อนและมีอุณหภูมิในการเกิดเจลาทิไนซ์ในช่วงกว้าง (58-82°C) (Hoover et al., 1997) รวมถึงการมีค่าดัชนีน้ำตาล (glycemic index) ต่ำ (~31) จึงเหมาะแก่การนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในอาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ผลิตภัณฑ์อาหารสำหรับผู้ป่วยเบาหวาน (Biliaderis, et al., 1981; Kasemsuwan et al., 1998)

เนื่องจากสตาร์ชมีคุณสมบัติเฉพาะตัว ซึ่งอาจไม่เป็นที่ต้องการในบางผลิตภัณฑ์และหรือการเพิ่มคุณลักษณะพิเศษของสตาร์ชให้เหมาะสมแก่การใช้งานมากยิ่งขึ้น เช่น การดัดแปลงคาร์โบไฮเดรตให้มีรูพรุน (porous carbohydrate) เพื่อนำมาใช้ในการ กักเก็บสารไว้ภายในโครงสร้าง โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารให้กลิ่นรส (flavor) (Godshall, 1988; Zeller et al., 1999) การผลิตคาร์โบไฮเดรตที่มีรูพรุนมีหลายวิธี ได้แก่ การย่อยสตาร์ชด้วยเอนไซมอะไมเลส (commercial amylase) การทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray-drying) และการเอ็คทรูด (extrusion) เป็นต้น (Reineccius, 1991; Yamada et al., 1995) การงอกทางธรรมชาติของเมล็ดพืช (seed germination) อาจเป็นวิธีหนึ่งที่สามารถนำมาประยุกต์เพื่อผลิตคาร์โบไฮเดรตที่มีรูพรุน เนื่องจากกระบวนการงอกของเมล็ดพืชเป็นกระบวนการที่มีการสังเคราะห์ และย่อยสลายสารอาหารที่พืชเก็บสะสมภายในเมล็ดด้วยเอนไซม์ที่ผลิตขึ้นทางธรรมชาติ

2.6 กระบวนการงอกของเมล็ดพืช

ขั้นตอนหลักของการงอกของเมล็ดพืช คือ การแช่เมล็ดในน้ำ เมื่อน้ำซึมเข้าไปในเปลือก เมล็ดจะยังไม่งอกทันทีแต่จะอยู่ในระยะพักตัว จากนั้นในส่วนคัพพะจะสร้างฮอร์โมนจิเบอเรลิน (gibberellins) ซึ่งเป็นฮอร์โมนที่ถูกส่งเข้าไปภายในเมล็ดเพื่อกระตุ้นให้เกิดการหลั่งเอนไซม์ในกลุ่มไฮโดรเลสหลายชนิด เช่น เอนไซม์อะไมเลส โปรติเอส ไรโบนิวเคลส (ribonuclease) และไลเปส เป็นต้น (Baxter, 1976; Jones, 2005; Celus et al., 2006) อาหารที่ถูกเก็บสะสมไว้ในเมล็ด ได้แก่ สตาร์ช โปรตีน และไขมัน จะถูกย่อยให้มีขนาดโมเลกุลเล็กลง เพื่อนำไปใช้ในการเจริญเติบโตของต้นอ่อน การกำหนดระยะเวลาและสภาวะในการงอกของเมล็ดพืช หรือ กระบวนการผลิตมอลต์ เป็นวิธีการหนึ่งที่นำมาใช้ควบคุมระดับการถูกย่อยขององค์ประกอบภายในเมล็ดพืช วัตถุประสงค์เบื้องต้นของการกระบวนการผลิตมอลต์ คือ ต้องการปรับเปลี่ยนคุณลักษณะบางประการขององค์ประกอบในเมล็ดพืชให้เหมาะสมกับความต้องการ เช่น

การเปลี่ยนแป้งในข้าวบาเลย์เป็นน้ำตาลเพื่อเป็นอาหารของยีสต์ในอุตสาหกรรมเบียร์ การเกิด gamma amino butyric acid (gaba) ในข้าวกล้องงอก เป็นต้น (Oh and Oh, 2004; Jones, 2005) นอกจากนี้ การงอกของเมล็ดพืช ส่งผลให้เมล็ดพืชมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น และมีปริมาณสารต้านการนำสารอาหารไปใช้ประโยชน์ (antinutrient) (เช่น ไฟเตท) ลดลง (Femandez-Orozco, 2008)

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ใช้กระบวนการงอกทางธรรมชาติของเมล็ดพืชมาใช้ในการดัดแปรสตาร์ชถั่วเขียว เพื่อนำสตาร์ชที่ผลิตได้มาเป็นส่วนประกอบหนึ่งในโยเกิร์ต วัตถุประสงค์ของการเติมสตาร์ชถั่วเขียวในโยเกิร์ต คือ การเป็นแหล่งคาร์บอน และจากการที่การงอกของเมล็ดพืชมีการสังเคราะห์เอนไซม์อะไมเลสร่วมด้วย ดังนั้นผู้วิจัยจึงมีสมมติฐานว่าอะไมโลสและหรืออะไมโลเพคตินในเม็ดสตาร์ชอาจถูกย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลสที่สังเคราะห์ขึ้น ส่งผลให้เม็ดสตาร์ชเกิดรูพรุน เมื่อเติมสตาร์ชที่มีรูพรุนในโยเกิร์ต อาจมีโยเกิร์ตพร้อมเชื้อ *L. bulgaricus* บางส่วนแทรกเข้าไปอยู่ในโครงสร้างของเม็ดสตาร์ชเหล่านั้น และหรือเป็นที่กักเก็บสารอาหารเพื่อใช้ในการเจริญของเชื้อ *L. bulgaricus* ส่งผลให้ปริมาณการอยู่รอดของเชื้อ *L. bulgaricus* ในระหว่างการเก็บรักษาโยเกิร์ตที่อุณหภูมิต่ำเพิ่มมากขึ้น

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

ถั่วเขียว (ตราไร่ทิพย์, บริษัท ไร่ธัญญะ จำกัด, นนทบุรี) ประกอบด้วย ความชื้น 11% โปรตีน (Nx5.52) 21% และไขมัน 1% โดยน้ำหนักแห้ง (AOAC, 2000)

3.2 ผลของการงอกของเมล็ดพืชต่อการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพของสตาร์ชถั่วเขียว

3.2.1 การเตรียมสตาร์ชถั่วเขียวงอก

นำถั่วเขียว 2 กิโลกรัม ใส่ในกะละมังอะลูมิเนียม (เส้นผ่านศูนย์กลาง 15 เซนติเมตร) จำนวน 1 ใบ เติมน้ำประปา 6 ลิตร และแช่ที่อุณหภูมิห้อง (30°C) นาน 2 ชั่วโมง เทน้ำออก และเพาะให้งอกในที่มืดเป็นเวลา 0, 12 และ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง (30°C) นำถั่วเขียวงอกมาปั่นผสมกับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.35 โมลาร์ (Mendoza et al., 2001) ในอัตราส่วนถั่วเขียวต่อสารละลาย เป็น 1:3 (w/w) นำเข้าเครื่องแยกกาก ตั้งส่วนสารละลายทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที เทส่วนน้ำทิ้งและนำตะกอนไปล้างด้วยน้ำกลั่น อัตราส่วนตะกอนต่อน้ำเป็น 1:2 (w/v) ทำการล้าง จำนวน 3 ครั้ง นำตะกอนไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อน (Cabinet Tray Dryer BWS-3, Reliance Tech-Service Co., LTD) อุณหภูมิ 40°C นาน 12 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างที่เตรียมได้ในถุงโพลีเอทิลีนและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อรอการวิเคราะห์ปริมาณความชื้น และปริมาณโปรตีน (AOAC, 2000)

3.2.2 ปริมาณอะไมโลส (amylase content)

การวิเคราะห์ปริมาณอะไมโลสทำตามวิธีของ McGrance et al. (1998) ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 0.1 กรัม (น้ำหนักแห้ง) และสารละลาย 90% DMSO ปริมาตร 8 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลอง ปั่นผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นผสม (Vortex mixer) นาน 2 นาที นำไปให้ความร้อนที่ 85°C นาน 15 นาที พร้อมเขย่าเป็นครั้งคราว ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30°C) นาน 45 นาที เติมน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 25 มิลลิลิตร ปิเปตสารละลายน้ำแป้ง 1 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร ใส่ในขวดปรับปริมาตร ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายไอโอดีน (0.1079 กรัม โพแทสเซียมไอโอไดด์ ในน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร + 0.0315 กรัม ไอโอดีน

+ น้ำกลั่น 95 มิลลิลิตร เก็บที่ 4°C ในสภาวะมืด) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น เขย่าผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30°C) 15 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectronic 21^{+}, Spectronic Instruments, Inc., Rochester, USA) คำนวณปริมาณแอมิโลสจากกราฟมาตรฐานของสารละลายผสมระหว่างแอมิโลสจากมันฝรั่ง (A-0512, Sigma-Aldrich, St. Louis MO, USA) และแอมิโลเพคตินจากข้าวโพด (S-9679, Sigma-Aldrich, St. Louis MO, USA) ที่ความเข้มข้นของแอมิโลสเท่ากับ 0, 10, 20, 25 และ 40% (w/w)

3.2.3 ความสามารถในการพองตัวของเม็ดสตาร์ช (swelling power)

ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 0.1 กรัมโดยน้ำหนักแห้ง ใส่หลอดไมโครเซนตริฟิวส์ ขนาด 2 มิลลิลิตร ที่ทราบน้ำหนัก เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex นาน 1 นาที ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 10 นาที ให้ความร้อนในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่ 60, 70, 80 และ 90°C เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำไปแช่น้ำเย็น (5-10°C) นาน 5 นาที เซนตริฟิวส์ที่ 12,000 รอบต่อนาที 10 นาที ด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge type H-1200B, Kokusan Ensinki Co., Ltd., Japan) รินน้ำออกและชั่งน้ำหนักตะกอน คำนวณความสามารถในการพองตัวของเม็ดสตาร์ชดังสมการ (1) และนำผลที่ได้เปรียบเทียบกับสารละลายสตาร์ชที่อุณหภูมิห้อง (30°C)

$$Swelling\ \ powder = \frac{Mass\ of\ \ swollen\ sample}{Initial\ \ Mass\ (0.1\ g)} \quad \text{.....(1)}$$

3.2.4 โครงสร้างระดับจุลภาค (morphology) ก่อนและหลังให้ความร้อน

โครงสร้างระดับจุลภาคของเม็ดสตาร์ชศึกษาโดยการเติมน้ำกลั่นปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงในตะกอนที่ได้จากการข้อ 2.1.3 พร้อมทั้งหยดสารละลาย Lugol's iodine (ประกอบด้วยไอโอดีน 0.2 กรัม โพแทสเซียมไอโอดีน 2 กรัม และน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร) ประมาณ 1-2 หยด ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 10 นาที นำตัวอย่างไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ชนิดลำแสงส่องผ่าน (BA300, Motic China Group., LTD., China) กำลังขยาย 200 และ 400 เท่า

3.2.5 การปลดปล่อยกลูโคสในสภาวะเลียนแบบร่างกายของสตาร์ชถั่วเขียวงอก

การจำลองการย่อยสตาร์ชในหลอดทดลอง (*In vitro*) โดยวิเคราะห์ตามวิธีการของ Englyst et al. (1992) และ Sandhy and Lim (2008) ชั่งสตาร์ช 0.5 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร เติมสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตท ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (pH 6.0) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และสารละลายกัวร์กัม (5 กรัมต่อลิตร) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยแท่งแม่เหล็ก (magnetic bar) นาน 5 นาที เติม 5 มิลลิลิตร ของเอนไซม์ผสมระหว่างแอลฟาอะไมเลส (A6255, Sigma, Sigma-Aldrich, Inc., Missouri, USA) และเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส (A9913, Sigma, Sigma-Aldrich, Inc., Missouri, USA) (เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 0.005 กรัม ในสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตท ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 4.8 มิลลิลิตร และ 0.2 มิลลิลิตร ของเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส) บ่มที่ 37°C นาน 0, 15, 25, 35 และ 60 นาที เมื่อครบตามเวลาที่กำหนดสุ่มสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดไมโครเซนตริฟิวส์ แช่ในน้ำแข็ง นาน 10 นาที เซนตริฟิวส์ที่ 12,000 รอบต่อนาที นาน 5 นาที ปิเปตส่วนใสมาตรวจวัดปริมาณกลูโคสด้วยชุดทดสอบกลูโคออกซิเดส-เปอร์ออกซิเดส (GAGO-20, Sigma–Aldrich, Missouri, USA)

3.3 ผลของสตาร์ชถั่วเขียวงอกต่อการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพ และจำนวน *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* ในโยเกิร์ต

3.3.1 การเตรียมโยเกิร์ต

นำนมพาสเจอไรส์ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร (ที่ทราบปริมาณของแข็งทั้งหมด) ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร ปรับปริมาณของแข็งด้วยหางนมผง (กำหนดให้ปริมาณของแข็งทั้งหมด เท่ากับ 24%) กวนผสมให้เข้ากันและนำไปตุ๋นส่วนผสมในอ่างน้ำร้อน จนมีอุณหภูมิ 90°C จับเวลา 10 นาที นำมาแช่ในน้ำเย็น (5-10°C) เมื่ออุณหภูมิลดลงเป็น 60°C เติมสตาร์ชถั่วเขียวงอก (0.5% w/v) ปั่นผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องโฮโมจิไนเซอร์ นาน 1 นาที และเมื่ออุณหภูมิของสารละลายลดลงเป็น 42°C เติมหัวเชื้อโยเกิร์ตแช่เยือกแข็ง (YO-MIX^{TM} 505 LYO 200 DCU, Danisco, New Century, USA) ซึ่งประกอบด้วยเชื้อ *Lactobacullus delbreckii spp. bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ปริมาณ 0.15% (w/v) แบ่งใส่ในขวดแก้วที่ผ่านการพาสเจอไรด์ ขวดละ 33 มิลลิลิตร ปิดฝาให้สนิทและนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 42°C นาน 4 ชั่วโมง

3.3.2 pH และค่าความเป็นกรด

นำตัวอย่างที่ผ่านการบ่มเป็นเวลา 0, 1, 2, 3 และ 4 ชั่วโมง มาวัดค่า pH ด้วยเครื่องพีเอชมิเตอร์ (UltraBasic Benchtop pH Meter, Cyberscan 510, Singapore)) และวัดค่าความเป็นกรด (Chandan and O'Rell, 2006) โดยปิเปตตัวอย่าง ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 100 มิลลิลิตร ไตเตรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 M โดยใช้สารละลายฟีนอฟธาลีนเป็นอินดิเดเตอร์ (1% ฟีนอฟธาลีน ใน 95% เอธานอล)

3.3.3 การแยกของของเหลว (syneresis)

การแยกตัวของของเหลว ทำตามวิธีของ Amatayakul และคณะ (2006) โดยนำขวดที่บรรจุพร้อมตัวอย่างไปชั่งน้ำหนัก (W1) จากนั้นนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5°C เป็นเวลา 0, 1, 2, 7 และ 14 วัน ใช้หลอดฉีดยา (syringe) ดูดส่วนของสารละลายที่อยู่ด้านบนของตัวอย่างออก ชั่งน้ำหนักภาชนะอีกครั้ง (W2) รายงานผลเป็นค่า % สารละลายที่สูญเสียไป

3.3.4 ปริมาณ *Lactobacullus delbreckii spp. bulgaricus*

การตรวจวัดปริมาณ *L.bulgaricus* ด้วยวิธีของ Duncan et al. (2004) โดยนำตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร มาเจือจางด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.8% (w/v) แล้วนำมา pour plate ให้ทั่วจานอาหารเลี้ยงเชื้อ ร่วมกับอาหาร de Man Rogosa and Sharpe (MRS) agar และบ่มที่ 37°C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนีแสดงผลในหน่วย log cfu g^{-1}

3.3.6 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

โยเกิร์ตที่ได้นำมาทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ และการยอมรับโดยรวมของผู้ทดสอบ 25-30 คน โดยวิธี 9-point hedonic scale ทดสอบความแตกต่างของโยเกิร์ตควบคุมกับโยเกิร์ตที่สตาร์ชถั่วเขียวงอกเป็นส่วนประกอบในด้านความเปรี้ยว ความแน่นเนื้อ ความเรียบเนียน กลิ่นโยเกิร์ต และการตกค้างที่ปากด้วย Unstructured scaling ความยาว 15 เซนติเมตร

3.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และความแตกต่างของค่าเฉลี่ยนของข้อมูลด้วย Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS (Version 18.0, SPSS Inc.)

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

ผลการทดลอง

4.1. ผลของการงอกต่อการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพของสตาร์ชถั่วเขียว

การงอกของเมล็ดพืชเป็นกระบวนการทางธรรมชาติที่เหนี่ยวนำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางเคมีและกายภาพของเมล็ดพืช การเพิ่มระยะเวลาในการงอกส่งผลให้ถั่วเขียวมีปริมาณไนโตรเจนมากขึ้น ($p<0.05$) (ตารางที่ 1) ปริมาณไนโตรเจนที่เพิ่มขึ้นเป็นผลจากการเพิ่มขึ้นของกรดอะมิโนที่ได้จากการย่อยโปรตีนด้วยเอนไซม์โปรติเอส (Wu, 1983; Fageer et al., 2004) กรดอะมิโนที่เพิ่มขึ้นในระหว่างกระบวนการงอกของเมล็ดพืช ได้แก่ กรดอะมิโนทริปโตเฟน และไลซีน (Balasaraswathi and Sadasivam, 1997) หรืออาจเกิดจากการสังเคราะห์โปรตีนในระหว่างการงอก (Wang et al., 2007) โปรตีนวิซิลิน (8S) และ เลกูมิน (11S) เป็นโปรตีนหลักที่พบในถั่วเขียว (Ericson et al., 1973)

ตารางที่ 1 ปริมาณไนโตรเจนในแป้งถั่วเขียวที่ผ่านการงอกที่ระยะเวลาต่างๆ

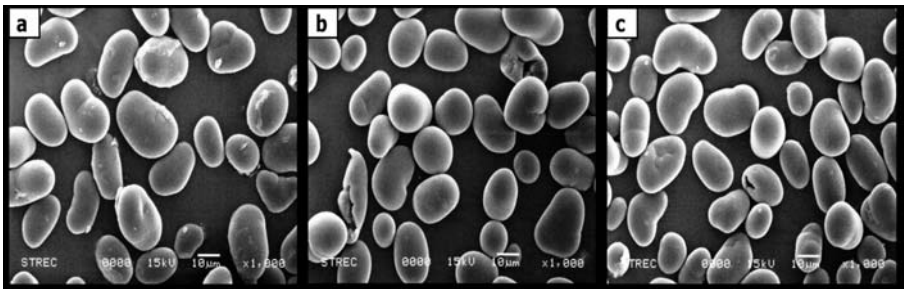
ระยะเวลางอก (ชั่วโมง)	ปริมาณไนโตรเจน (%)
0	16.09 ± 0.19^{a}
12	18.38 ± 0.06^{b}
24	20.91 ± 0.03^{c}

หมายเหตุ อักษรพยัญชนะตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ดังนั้นเพื่อให้สตาร์ชที่สกัดได้มีความบริสุทธิ์ งานวิจัยนี้จึงทำการสกัดสตาร์ชด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.35 โมลาร์ เพื่อละลายโปรตีนชนิดวิซิลิน (8S) และ เลกูมิน (11S) ออกจากสตาร์ชถั่วเขียว (Mendoza et al., 2001)

ผลจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดลำแสงส่องกราด (ภาพที่ 4) การงอกของเมล็ดพืชส่งผลให้เกิดโพรงลึกที่เม็ดสตาร์ชบางเม็ด (ภาพที่ 4b และ 4c) โพรงลึกที่เกิดขึ้นเป็นผลจากการย่อยองค์ประกอบของเม็ดสตาร์ชด้วยเอนไซม์ที่เมล็ดพืชสังเคราะห์ขึ้นในระหว่างกระบวนการงอก โดยเฉพาะ เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และเบตาอะไมเลส (Bamforth and Quain, 1989; Gubler and Jacobsen, 1992)

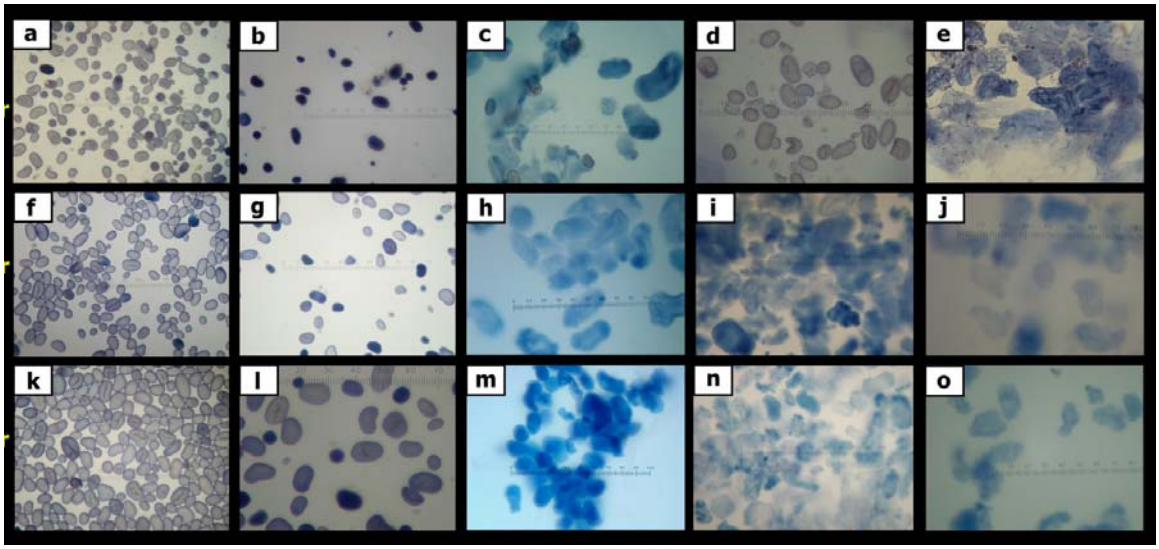
อะไมโลสและอะไมโลเพคตินในสตาร์ชจะถูกย่อยได้ผลผลิตเป็นมอลโทส กลูโคส และเด็กซ์แทนเพื่อใช้ในการเจริญของต้นอ่อน (Bamforth and Quain, 1989) ซึ่งผลผลิตเหล่านี้ถูกล้างออกไปในระหว่างขั้นตอนการสกัดสตาร์ช



ภาพที่ 4 โครงสร้างระดับจุลภาคของสตาร์ชถั่วเขียวที่ระยะเวลางอกต่างๆ (a) 0 ชั่วโมง (b) 12 ชั่วโมง และ (c) 24 ชั่วโมง ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดลำแสงส่องกราด (SEM) บาร์ขนาด 10 ไมครอน

โดยทั่วไปปริมาณอะไมเลสเพิ่มขึ้นเป็น 60 เท่าของเมล็ดพืชที่ไม่ผ่านการงอกเมื่อใช้ระยะเวลางอกนาน 48 ชั่วโมง (Tian et al., 2010) ดังนั้นการงอกของเมล็ดพืช นาน 24 ชั่วโมง อาจก่อให้เกิดการสังเคราะห์เอนไซม์อะไมเลสในปริมาณน้อย จึงส่งผลให้ปรากฏโพรงลึกในเม็ดสตาร์ชบางเม็ดเท่านั้น ซึ่งแตกต่างจากการเติมเอนไซม์อะไมเลสทางการค้าที่ทำให้เม็ดสตาร์ชจำนวนมากมีโพรงลึกปรากฏ (Uthumporn et al. 2010)

จากกล้องจุลทรรศน์ชนิดลำแสงส่องผ่าน (ภาพที่ 5) สตาร์ชถั่วเขียวมีร่องลึกปรากฏบริเวณกึ่งกลางของเม็ดสตาร์ช (ไฮลัม) (ภาพที่ 5a) เมื่อเพิ่มระยะเวลาในการงอก บริเวณไฮลัมของเม็ดสตาร์ชปรากฏชัดเจนและขยายวงกว้าง (ภาพที่ 5f และ 5k) แสดงให้เห็นว่า เอนไซม์ที่เมล็ดพืชสังเคราะห์ขึ้น อาจเข้าสู่ภายในเมล็ดสตาร์ชที่บริเวณไฮลัม และเกิดการย่อยสลายองค์ประกอบของสตาร์ชที่อยู่ใกล้บริเวณนี้ก่อนบริเวณอื่น อย่างไรก็ตามการงอกไม่ส่งผลต่อลักษณะปรากฏโดยรวมของเม็ดสตาร์ช คือ เม็ดสตาร์ชคงมีลักษณะเป็นทรงรี ผิวเรียบ และมีขนาดประมาณ 10-32 ไมครอน (ภาพที่ 5f และ 5k)



ภาพที่ 5 โครงสร้างระดับจุลภาคของสตาร์ชถั่วเขียวที่ระยะเวลางอก (a-e) 0 ชั่วโมง (f-j) 12 ชั่วโมง และ (k-o) 24 ชั่วโมง ในสารละลายน้ำแป้ง ความเข้มข้น 1% (w/v) ที่อุณหภูมิต่างๆ (a,f,k) 30°C (b,g,l) 60°C (c,h,m) 70°C (d,i,n) 80°C และ (e,j,o) 90°C กำลังขยาย 400 เท่า

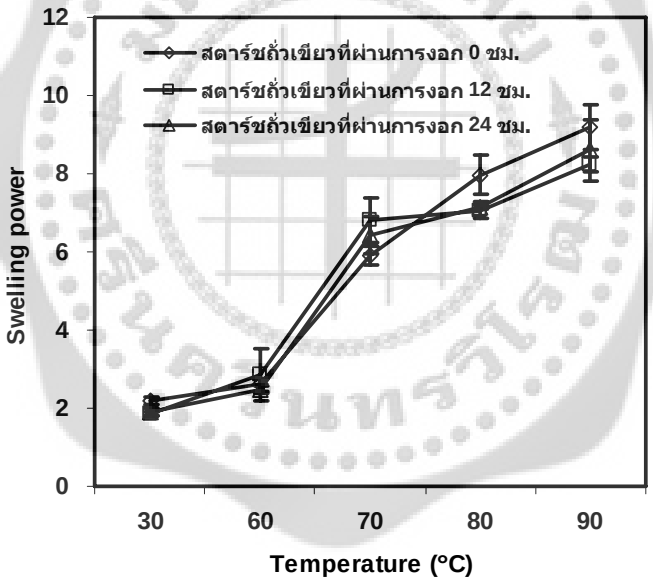
เมื่อเพิ่มอุณหภูมิของสารละลายเป็น 70°C เม็ดสตาร์ชเกิดการขยายตัวและหลอมรวมบางส่วน ส่งผลให้ปรากฏรูปทรงของเม็ดสตาร์ชไม่ชัดเจน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สตาร์ชที่ไม่ผ่านการงอก (ภาพที่ 5c) ขณะที่สตาร์ชที่ได้จากการงอกของเมล็ดพืช นาน 24 ชั่วโมง ยังคงปรากฏเม็ดสตาร์ชที่มีความคงรูป และมีการขยายตัวในวงจำกัด (ภาพที่ 5m) เม็ดสตาร์ชขยายตัวจนเห็นรูปร่างไม่ชัดเจนเมื่อเพิ่มอุณหภูมิของสารละลายเป็น 80°C (ภาพที่ 5n) แสดงให้เห็นว่า การงอกของเมล็ดพืช นาน 24 ชั่วโมง ส่งผลให้สตาร์ชคงทนต่ออุณหภูมิ 70°C การคงทนต่อความร้อนไม่ได้เป็นผลจากการเพิ่มปริมาณของอะไมโลสในระหว่างกระบวนการงอก เนื่องจากการงอกของเมล็ดพืช นาน 24 ชั่วโมงในสภาวะที่มีการจำกัดปริมาณน้ำไม่เพียงพอต่อการก่อให้เกิดการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของปริมาณอะไมโลส (ตารางที่ 2) ปริมาณอะไมโลสมีค่าคงที่ (49-52% w/w) ในระหว่างกระบวนการงอกของเมล็ดพืชมีการเหนี่ยวนำให้เกิดการเคลื่อนที่ของโปรตีนที่อยู่ภายในเม็ดสตาร์ชให้มาอยู่ที่พื้นผิวมากขึ้น (Wang et al., 2007) ดังนั้นการคงทนต่อความร้อนของสตาร์ชที่ผ่านการงอกอาจเป็นผลจากการเหนี่ยวนำให้เกิดการเคลื่อนที่ของโปรตีนมาอยู่ที่บริเวณพื้นผิวของเม็ดสตาร์ชในระหว่างกระบวนการงอก

ตารางที่ 2 ปริมาณอะไมโลสในสตาร์ชถั่วเขียวที่ผ่านการงอกที่ระยะเวลาต่างๆ

ระยะเวลางอก (ชั่วโมง)	ปริมาณอะไมโลส^{ns} (%w/w)
0	50.27 ± 4.62
12	53.36 ± 5.05
24	52.11 ± 4.34

หมายเหตุ ns หมายถึง ไม่แตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

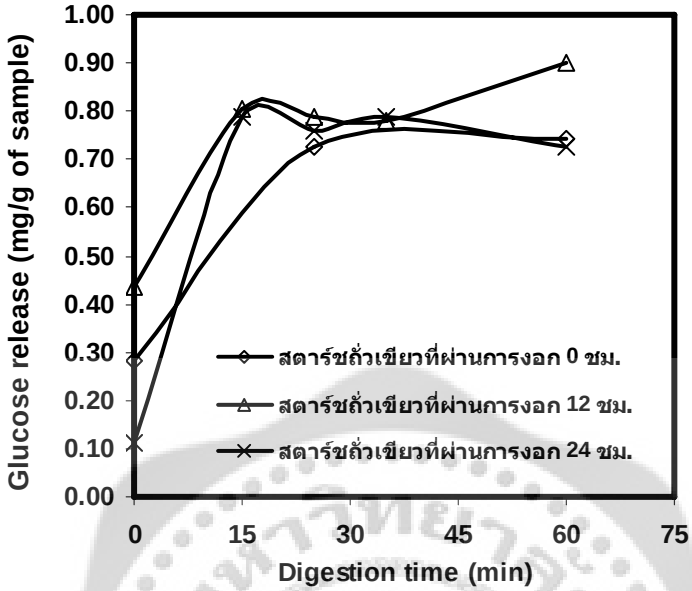
การงอกไม่มีผลต่อค่ากำลังการพองตัวของสตาร์ชถั่วเขียว ($p \geq 0.05$) (ภาพที่ 6) ค่ากำลังการพองตัวเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิของสารละลายมากกว่า 60°C ซึ่งเป็นอุณหภูมิในช่วงเจลาทิไนเซชันของสตาร์ช (58-82°C) (Hoover et al., 1997) แสดงให้เห็นว่าการงอกของเมล็ดพืช นาน 24 ชั่วโมง ไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิการเกิดการเจลาทิไนเซชันของสตาร์ชถั่วเขียว แต่การงอกส่งผลให้เม็ดสตาร์ชเกิดการพองตัวอย่างจำกัด ถึงแม้อุณหภูมิของสารละลายสูงถึง 70°C



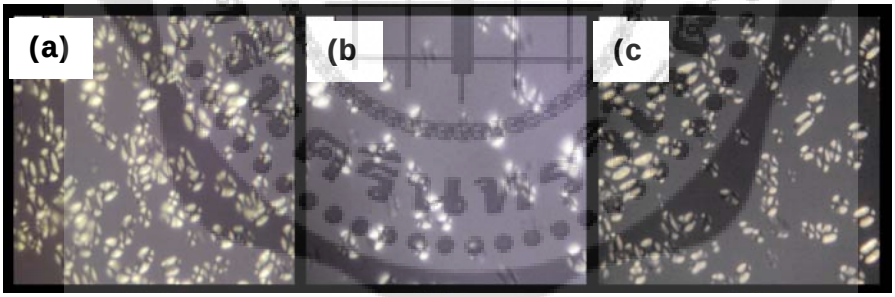
ภาพที่ 6 ผลของระยะเวลางอกต่อกำลังการพองตัวของสตาร์ชถั่วเขียวที่อุณหภูมิต่างๆ

เมื่อนำสตาร์ชถั่วเขียวไปย่อยด้วยเอนไซม์ภายใต้สภาวะเลียนแบบร่างกาย สตาร์ชถั่วเขียวปลดปล่อยกลูโคสจากโครงสร้างมากในช่วงต้นของการย่อย (0-15 นาที) (ภาพที่ 7) โดยสตาร์ชถั่วเขียวที่ผ่านการงอก นาน 24 ชั่วโมง มีอัตราเร็วในการปลดปล่อยน้ำตาลกลูโคสมากที่สุด (0.68 มิลลิกรัมต่อนาที) รองลงมา คือ สตาร์ชถั่วเขียวที่ผ่านการงอก 12 ชั่วโมง (0.37 มิลลิกรัมต่อนาที) และที่ไม่ผ่านการงอก (0.33 มิลลิกรัมต่อนาที) การย่อยสตาร์ชด้วยเอนไซม์อะไมเลสและอะไมโลกลูโคซิเดสภายใต้สภาวะเลียนแบบร่างกาย เกิดขึ้นเพียงบางส่วนของสตาร์ชเท่านั้น เห็นได้จากสตาร์ชยังคงรูปอยู่ถึงแม้ถูกย่อยด้วยเอนไซม์

นาน 60 นาที (ภาพที่ 8) แสดงให้เห็นว่า สตาร์ชถั่วเขียวมีความคงทนต่อการย่อยภายใต้สภาวะเลียนแบบร่างกายถึงแม้ผ่านการดัดแปลงคุณลักษณะบางประการจากกระบวนการงอกของเมล็ดพืช



ภาพที่ 7 ผลของระยะเวลางอกต่อการปลดปล่อยน้ำตาลกลูโคสจากสตาร์ชถั่วเขียวภายใต้สภาวะเลียนแบบร่างกายที่ระยะเวลาต่างๆ

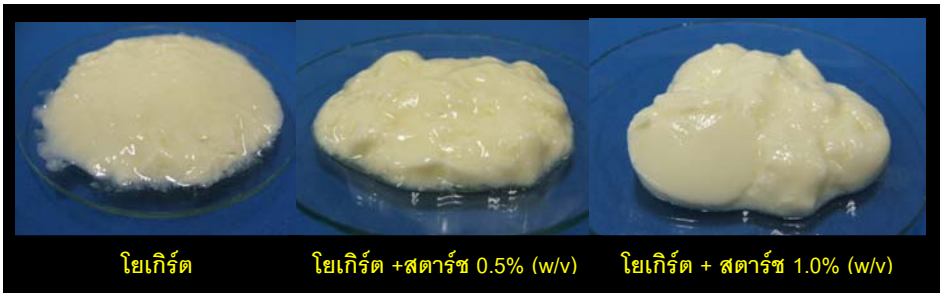


ภาพที่ 8 โครงสร้างระดับจุลภาคของสตาร์ชถั่วเขียวงอกที่ระยะเวลา (a) 0 ชม. (b) 12 ชม. และ (c) 24 ชม. หลังผ่านการย่อยภายใต้สภาวะเลียนแบบร่างกาย นาน 60 นาที กำลังขยาย 400 เท่า

4.2. **ผลของสตาร์ชถั่วเขียวงอกต่อการเปลี่ยนแปลงทางเคมีกายภาพ และจำนวน *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* ในโยเกิร์ต**

การเติมสตาร์ชถั่วเขียว ความเข้มข้น 0.5% w/v ในสารละลายนมเพื่อผลิตโยเกิร์ต ไม่ส่งผลต่อลักษณะปรากฏของโยเกิร์ต (ภาพที่ 9) โยเกิร์ตที่ผลิตได้มีเนื้อสัมผัสที่เรียบเนียน และไม่มีการแยกชั้นของของเหลว โยเกิร์ตมีเนื้อสัมผัสที่แน่นแข็ง และมีการแยกชั้นของของเหลวมากขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ

สตาร์ชถั่วเขียว (1.0% w/v) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกศึกษาคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของโยเกิร์ตที่มีสตาร์ชถั่วเขียวเป็นส่วนประกอบ เท่ากับ 0.5% w/v



ภาพที่ 9 ลักษณะปรากฏของโยเกิร์ตที่มีสตาร์ชถั่วเขียวเป็นส่วนประกอบ หลังบ่มที่ 42°C นาน 4 ชม.

การมีสตาร์ชเป็นส่วนประกอบในโยเกิร์ต (0.5%w/v) ไม่ส่งผลกระทบต่อการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบ (ตารางที่ 3) โดยผู้ทดสอบให้การยอมรับผลิตภัณฑ์ในระดับ 6.7 (ชอบ) แสดงให้เห็นว่า สตาร์ชสามารถถูกใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต สตาร์ชส่งเสริมให้โยเกิร์ตมีเนื้อสัมผัสที่เรียบเนียนและมีความแน่นเนื้อมากกว่าโยเกิร์ตที่ไม่มีสตาร์ชเป็นส่วนประกอบ (ตารางที่ 4)

การเติมสตาร์ชถั่วเขียวไม่มีผลต่อการลดลงของ pH ของสารละลายนมในระหว่างการบ่ม (ภาพที่ 10a) ที่ระยะเวลาบ่ม นาน 3.30 ชั่วโมง สารละลายนมมี pH เข้าใกล้ 4.6 ซึ่งเป็นจุดไอโซอิเล็กทริกของเคซีน (pH 3.8-4.6) ส่งผลให้เคซีนไมเซลล์เกิดการเกาะกลุ่มและสานตัวเป็นโครงร่างตาข่ายหรือเกิดเคิร์ด การลดลงของ pH เป็นผลจากปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 10b) เชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแล็กทิก (*L. bulgaricus* และ *S. thermophilus*) สามารถย่อยสลายน้ำตาลแลคโตส และกลูโคสในนมได้กรดแลคติกเป็นผลผลิต ดังนั้นปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นจึงเป็นปริมาณของกรดแล็กทิกมากกว่ากรดอินทรีย์ชนิดอื่น (Panesar et al., 2007)

ตารางที่ 3 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความชอบด้วยวิธี 9-point hedonic scale

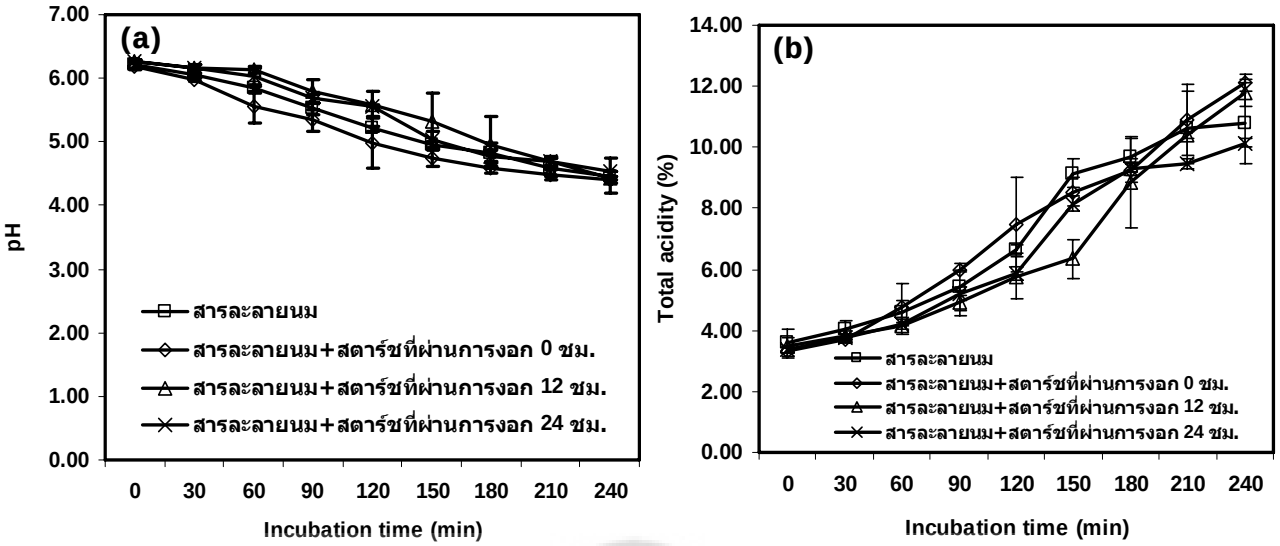
ตัวอย่าง	ลักษณะปรากฏ	สี	กลิ่น	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	การยอมรับโดยรวม
โยเกิร์ต	6.13±1.36[a]	6.83±1.18[a]	6.10±1.65[a]	5.07±1.87[b]	5.47±1.96[a]	5.90±1.40[b]
โยเกิร์ต+สตาร์ชที่ผ่านการงอก 24 ชม.	6.67±1.45[a]	6.93±1.23[a]	6.70±1.18[a]	6.37±1.52[a]	6.07±1.46[a]	6.70±1.26[a]

หมายเหตุ อักษรพยัญชนะตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความ เชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 4 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความแตกต่างด้วยวิธี Unstructured scaling ความยาว 15 ซม.

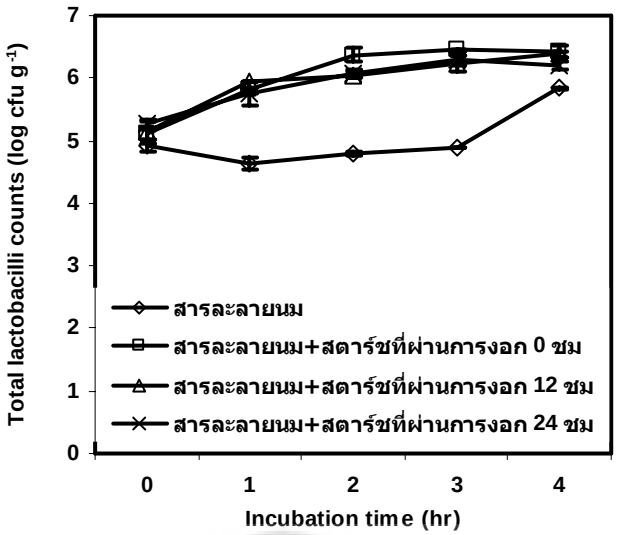
ตัวอย่าง	ความเปรี้ยว	ความแน่นเนื้อ	ความเรียบเนียน	กลิ่นโยเกิร์ต	การตกค้างที่ปาก
โยเกิร์ต	6.76±2.13[a]	7.23±2.67[b]	7.00±2.36[b]	7.00±2.35[a]	7.64±2.71[a]
โยเกิร์ต+สตาร์ช ที่ผ่านการงอก 24 ชม.	5.83±2.58[a]	8.86±2.91[a]	9.21±2.97[a]	7.51±3.14[a]	6.98±3.11[a]

หมายเหตุ อักษรพยัญชนะตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความ เชื่อมั่น 95%



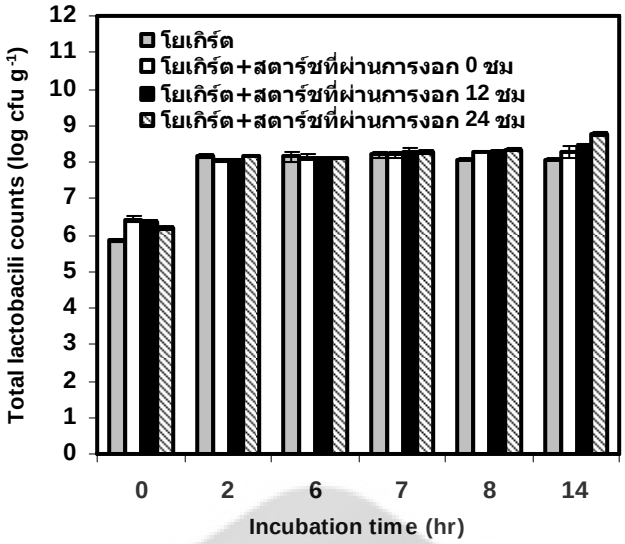
ภาพที่ 10 ผลของการเติมสตาร์ชถั่วเขียวงอกต่อ pH และค่าความเป็นกรด (Total acidity) ของสารละลายนม ขณะบ่มที่ 42^{o}C เป็นเวลา 4 ชม.

อย่างไรก็ตาม การเติมสตาร์ชในสารละลายนมสำหรับผลิตโยเกิร์ต ส่งผลให้เชื้อ *L. bulgaricus* เจริญได้เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 11) ปริมาณเชื้อ *L. bulgaricus* เพิ่มขึ้นจาก 5.10±0.08 log cfu g^{-1} เป็น 6.21±0.06 log cfu g^{-1} ขณะที่โยเกิร์ตที่ไม่มีสตาร์ชเป็นส่วนประกอบมีปริมาณเชื้อ เท่ากับ 5.84±0.02 log cfu g^{-1} ที่เวลาบ่ม 4 ชม. สตาร์ชที่ผ่านการงอกไม่มีผลต่อการเพิ่มจำนวนของเชื้อ *L. bulgaricus* ในระหว่างการบ่ม สาเหตุที่สตาร์ชช่วยส่งเสริมการเจริญของ *L .bulgaricus* อาจเป็นผลจาก 1) การเพิ่มปริมาณคาร์บอนในสารละลายนม (Mataragas et al., 2004) 2) การเหนี่ยวนำให้เกิดการแยกเฟสระหว่างโปรตีนนมกับสตาร์ช ส่งผลให้เชื้อแบคทีเรียสัมผัสกับน้ำตาลแลคโตสมากขึ้น และ/หรือ 3) การเพิ่มขึ้นของแร่ธาตุบางชนิดที่จำเป็นในการเจริญของ *Lactobacillus bulgaricus* ได้แก่ แมกนีเซียม และแมกกานีส (Macleod and Snell, 1947) ทั้งนี้ยังคงต้องทำการศึกษาต่อไปในอนาคต



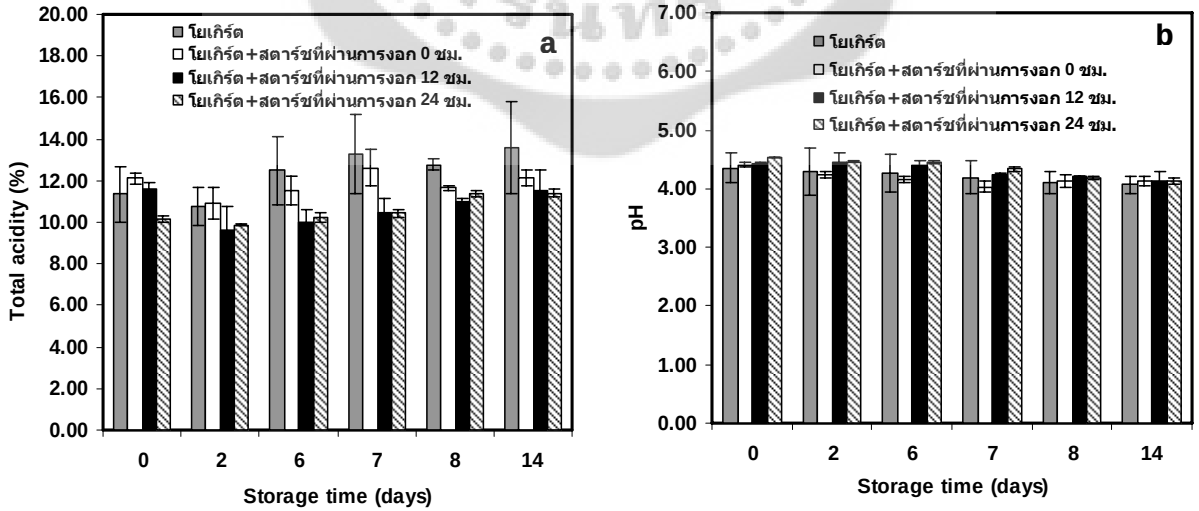
ภาพที่ 11 ผลของการเติมสตาร์ชต่อปริมาณเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii spp. bulgaricus* ที่เจริญในระหว่างการบ่มที่ 42°C เป็นเวลา 4 ชม.

ปริมาณเชื้อ *L. bulgaricus* ในโยเกิร์ตเปลี่ยนแปลงไปในระหว่างเก็บรักษา (5°C) (ภาพที่ 12) วันที่ 7 ของการเก็บรักษา โยเกิร์ตที่ไม่มีสตาร์ชเป็นส่วนประกอบมีปริมาณเชื้อ *L. bulgaricus* เพิ่มขึ้นสูงสุด (8.20±0.10 log cfu g^{-1}) และปริมาณเชื้อ *L. bulgaricus* ลดลงเมื่อเก็บรักษานานขึ้น (8.08±0.03 log cfu g^{-1}) ขณะที่โยเกิร์ตที่มีสตาร์ชเป็นส่วนประกอบ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง สตาร์ชถั่วเขียวที่ผ่านการงอก 24 ชม. ปริมาณเชื้อ *L. bulgaricus* เพิ่มมากขึ้นเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการเก็บรักษา ปริมาณเชื้อในวันที่ 7 และ 14 ของการเก็บรักษา เท่ากับ 8.28±0.03 log cfu g^{-1} และ 8.78±0.05 log cfu g^{-1} ตามลำดับ โดยทั่วไปผู้บริโภคจะได้รับประโยชน์จาก *L. bulgaricus* เมื่อได้รับในปริมาณ ≥6-8 log cfu g^{-1} (Ross et al., 2005) แสดงให้เห็นว่า โยเกิร์ตที่ผลิตได้สามารถใช้เป็นแหล่งของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดประโยชน์ต่อร่างกาย การมีสตาร์ชถั่วเขียวที่ผ่านการงอก ทำให้มีปริมาณเชื้อ *L. bulgaricus* คงอยู่มากกว่าสภาวะอื่นถึงแม้เก็บรักษานานถึง 14 วัน



ภาพที่ 12 จำนวนเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii spp. bulgaricus* ในโยเกิร์ตที่มีสตาร์ชเป็นส่วนประกอบเก็บรักษาที่ 5°C เป็นเวลา 14 วัน

การลดลงของปริมาณเชื้อ *L .bulgaricus* ของโยเกิร์ตที่ไม่มีสตาร์ชเป็นส่วนประกอบ เป็นผลจากปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา ขณะที่โยเกิร์ตที่มีสตาร์ชที่ผ่านการงอก นาน 24 ชม.เป็นส่วนประกอบมีปริมาณกรดคงที่ (ภาพที่ 13a) อย่างไรก็ตาม ปริมาณปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นในโยเกิร์ตที่ไม่มีสตาร์ชเป็นส่วนประกอบไม่มีผลต่อ pH ในระหว่างเก็บรักษา ($p \geq 0.05$) (ภาพที่ 13b) ทั้งนี้อาจเป็นผลจากการมีคุณสมบัติเป็นบัฟเฟอร์ (buffer capacity) ของโปรตีนนม



ภาพที่ 13 ผลของการเติมสตาร์ชถั่วเขียวงอกต่อ pH และค่าความเป็นกรด (Total acidity) ของโยเกิร์ตขณะเก็บรักษาที่ 5°C เป็นเวลา 14 วัน

นอกจากนี้ การมีสตาร์ชเป็นส่วนประกอบในโยเกิร์ตส่งผลให้การแยกชั้นของของเหลวในระหว่างเก็บรักษาลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะที่ไม่เติมสตาร์ช (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ผลการเติมสตาร์ชถั่วเขียวงอกต่อการแยกชั้นของของเหลวในระหว่างการเก็บรักษา

ตัวอย่าง	ของเหลวที่แยกชั้น (%)					
	วัน (Days)					
	0	2	6	7	8	14
โยเกิร์ต	0.30±0.04^{aA}	0.46±0.31^{aA}	0.49±0.06^{aA}	0.30±0.06^{aA}	0.56±0.01^{aA}	0.32±0.13^{aA}
โยเกิร์ต+สตาร์ชที่ผ่านการงอก 0 ชม.	0.12±0.05^{bB}	0.24±0.04^{aA}	0.18±0.02^{bAB}	0.12±0.01^{bB}	0.14±0.08^{bAB}	0.10±0.02^{bB}
โยเกิร์ต+สตาร์ชที่ผ่านการงอก 12 ชม.	0.11±0.04^{bA}	0.16±0.02^{aA}	0.19±0.02^{bA}	0.11±0.04^{bA}	0.14±0.04^{bA}	0.17±0.05^{abA}
โยเกิร์ต+สตาร์ชที่ผ่านการงอก 24 ชม.	0.07±0.01^{bB}	0.14±0.04^{aB}	0.17±0.01^{bAB}	0.27±0.08^{aA}	0.17±0.01^{bAB}	0.09±0.03^{bB}

หมายเหตุ อักษรพยัญชนะตัวพิมพ์เล็กที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
อักษรพยัญชนะตัวพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในแถวเดียวกันมีความต่างทางสถิติ อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

วิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่า สตาร์ชถั่วเขียวสามารถนำมาเป็นส่วนประกอบในการผลิตโยเกิร์ตได้ โดยไม่มีผลกระทบต่อการดำเนินกิจกรรมของเชื้อแบคทีเรียที่ใช้เป็นหัวเชื้อโยเกิร์ต *(Lactobacillus delbrueckii spp. bulgaricus* และ *Streptococcus Salivarius ssp. thermophilus*) สารละลายนมสามารถถูกเหนี่ยวนำให้เกิดเคิร์ดภายใน 4 ชม. ซึ่งเป็นระยะเวลาที่ใช้ผลิตโยเกิร์ตทั่วไป ปริมาณสตาร์ชถั่วเขียวที่เติมควรมีปริมาณ <1% w/v เนื่องจากปริมาณสตาร์ชส่งผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของโยเกิร์ตและการแยกตัวของของเหลวในระหว่างเก็บรักษา การเติมสตาร์ชในสารละลายนมที่ 60°C เม็ดสตาร์ชยังคงรูปทรงรี และมีการดูดซับน้ำบางส่วน บทบาทของสตาร์ชในโยเกิร์ต สามารถแบ่งได้ ดังนี้ 1) เพิ่มความเรียบเนียนของเนื้อสัมผัส และลดการแยกชั้นของของเหลวในระหว่างเก็บรักษา 2) เพิ่มปริมาณเชื้อ *L. bulgaricus* ในระหว่างการบ่ม และ 3) เพิ่มปริมาณเชื้อ *L. bulgaricus* ในระหว่างเก็บรักษา การเพิ่มปริมาณเชื้อ *L. bulgaricus* ในระหว่างเก็บรักษาเป็นสิ่งที่สำคัญอย่างยิ่งต่อผู้บริโภค โดยทั่วไปผู้บริโภคจะได้ประโยชน์จาก *L. bulgaricus* สูงเมื่อรับประทานในปริมาณ $\geq$6-8 log cfu g^{-1} อย่างไรก็ตาม ปริมาณเชื้อ *L. bulgaricus* ในโยเกิร์ตมีปริมาณลดลงหลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ (5°C) เป็นเวลา 7 วัน การดัดแปลงสตาร์ชถั่วเขียวด้วยกระบวนการงอกของเมล็ดพืช นาน 24 ชม. สามารถส่งเสริมให้โยเกิร์ตมีปริมาณเชื้อ *L. bulgaricus* เพิ่มขึ้นได้ถึงแม้เก็บรักษา นานถึง 14 วัน สตาร์ชถั่วเขียวงอกช่วยส่งเสริมให้เชื้อ *L. bulgaricus* มีปริมาณเพิ่มขึ้นในระหว่างเก็บรักษา อาจเป็นผลจากการมีโพรงลึกปรากฏที่เม็ดสตาร์ชในระหว่างกระบวนการงอก ส่งผลให้สารละลายนมแทรกเข้าไปในเม็ดสตาร์ช ทำให้เชื้อ *L. bulgaricus* มีน้ำตาลแล็คโตสใช้ในระหว่างเก็บรักษา และ/หรืออาจเป็นแหล่งหลบซ่อนของ *L. bulgaricus* ทำให้เชื้อคงทนต่ออุณหภูมิต่ำได้มากขึ้น จากการที่สตาร์ชถั่วเขียวที่ผ่านการงอกปลดปล่อยน้ำตาลกลูโคสภายใต้สภาวะเลียนแบบร่างกายในปริมาณน้อย แสดงให้เห็นว่า ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่มีสตาร์ชเป็นส่วนประกอบ นอกจากสามารถใช้เป็นแหล่งของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดประโยชน์ต่อร่างกายถึงแม้เก็บรักษานานถึง 14 วัน ยังเหมาะสำหรับผู้ที่มีภาวะน้ำตาลในเลือดสูง

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการทดลอง

การงอกของเมล็ดพืช นาน 12-24 ชม. ไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีของสตาร์ชถั่วเขียว แต่ก่อให้เกิดโพรงลึกในเม็ดสตาร์ชบางเม็ด การเติมสตาร์ชถั่วเขียวงอกสามารถใช้เป็นส่วนประกอบหนึ่งในโยเกิร์ต และสามารถปรับปรุงคุณภาพเนื้อสัมผัสของโยเกิร์ต การเติมสตาร์ชถั่วเขียวงอกที่ผ่านการงอกเป็นเวลา 24 ชั่วโมงมีส่วนช่วยให้เชื้อ *L. bulgaricus* รอดชีวิตมากขึ้นเมื่อเก็บที่อุณหภูมิตู้เย็นนาน 14 วัน

ข้อเสนอแนะ

การศึกษานี้ได้ทำการศึกษาเฉพาะการเจริญของเชื้อ *L. bulgaricus* เท่านั้น เพื่อให้งานวิจัยและการอธิบายผลสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น ควรทำการทดสอบการเจริญของเชื้อ *S. thermophilus* ร่วมด้วย เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดนี้ ทำหน้าที่ส่งเสริมการเจริญซึ่งกันและกัน

บรรณานุกรม

Aguilera, J.M. and Stanley, D.W. 1999. Microstructural Principles of Food Processing and Engineering. 2nd ed. Aspen Publishers, Maryland, USA.

Amatayakul, T., Sherkat, F. and Shah, N.P. 2006. Syneresis in set yogurt as affected by EPS starter cultures and levels of solids. *International Journal of Dairy Technology*. 59: 216-221.

AOAC, 2000. Official Methods of Analysis. 17th ed. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA.

Azarikia, F. and Abbasi, S. 2010. On the stabilization mechanism of Doogh (Iranian yoghurt drink) by gum tragacanth. *Food Hydrocolloids*. 24: 358-363.

Balasaraswathi, R. and Sadasivam, S. 1997. Changes in oil, sugars and nitrogenous components durting germination of sunflower seeds, *Helianthus annuus*. *Plant Foods for Human Nutrition*. 51: 71-77.

Bamforth, C.W. and Quain, D.E. 1989. Enzymes in brewing and distilling. pp. 326-367. In G.H. Palmer (ed.). Cereal Science and Technology. Aberdeen University Press, UK.

Baxter, D. 1976. The use of hordein fractions to estimate proteolytic activity in barley and malt. *Journal of Institute of Brewing*. 82: 203-208.

Billiaderis, C.G., Grant, D.R. and Vose, J.R. 1981. Structural characterization of legume starches I. Studies on amylose, amylopectin and beta-limit dextrans. *Cereal Chemistry*. 58: 496-502.

Celus, I., Brijs, K. and Delcour, J.A. 2006. The effects of malting and mashing on barley protein extractability. *Journal of Cereal Science*. 44: 203-211.

Chandan, R.C. 1982. Other fermented dairy products. pp. 113-143. In R.K. Robinson (ed.). Dairy Microbiology of Milk Products. 2nd ed. Applied Science Publishers, London.

Chandan, R.C. and O'Rell, K.R. 2006. Yogurt plant: quality assurance. p.256. In R.C. Chandan (ed.). Manufacturing yogurt and fermented milks. 1st ed. Blackwell Publishing, Oxford, UK.

Considine, T., Noisuwan, A., Hemar, Y., Wilkinson, B., Bronlund, J. and Kasapis, S. 2010. Rheological investigations of the interactions between starch and milk proteins in model dairy systems. *Food Hydrocolloids*. Articles in press.

Dave,R.I. and Shah, N.P. 1997. Effectiveness of ascorbic acid as an oxygen scavenger in improving viability of probiotic bacteria in yoghurts made with commercial starter cultures. *International Dairy Journal*. 7: 435-443.

Davies, F.L., Shankar, P.A., Brooker, B.E. and Hobbs, D.G. 1978. A heat-induced change in the ultrastructure of milk and its effects on gel formation in yoghurt. *Journal of Dairy Research*. 45: 53-59.

Deeth, H.C. and Tamime, A.Y. 1979. Yoghurt. Nutritive and therapeutic aspects. *Journal of Food Protection*. 44: 78-86.

Driessen, F.M., Kingma, F. and Standhouders, J. 1982. Evidence that *Lactobacillus bulgaricus* in yogurt is stimulated by carbon dioxide produced by *Streptococcus thermophilus*, *Netherlands Milk Dairy Journal*. 36: 135-144.

Duncan, S.E. Yaun, B.R., Sumner, S.S. and Bruhn, S.E. 2004. Microbiological methods for dairy products. pp. 261-263. In H.M. Wehr and J.F. Frank (eds.). Standard Methods for the Examination of Dairy Products. 17th ed. American Public Health Association, Washington, DC. USA.

Englyst, H.N., Kingman, S.M. and Cummings, J.H. 1992. Classification and measurement of nutritionally important starch fractions. *European Journal of Clinical Nutrition*. 46: S33-S50.

Ericson, M.C., Chrispeels, M.J. 1973. Isolation and characterization of glucosamine-containing storage glycoproteins from the cotyledons of *Phaseolus aureus*. *Plant Physiology*. 52; 98-104.

Fageer, A.S.M., Babiker, E.E. and Tinay, A.H.El. 2004. Effect of malt pretreatment and/or cooking on phytate and essential amino acid and in vitro protein digestibility of corn flour. *Food Chemistry*. 83: 261-265.

Femandez-Orozco, R., Frias, J., Zielinski, H., Piskula, M.K., Kozlowaska, H., Vidal-Valverde, C. 2008. Kinetic study of the antioxidant compounds and antioxidant capacity during germination of *Vigna radiate cv.emmerald*, *Glycine max cv. Jutro* and *Glycine max cv. Merit*. *Food Chemistry*. 111: 622-630.

Foroughinia, S., Abbasi, S. and Hamidi, Z. 2007. Effect of individual and combined addition of salep, tragacanth and guar gums on the stabilization of Iranian Doogh. *Iranian Journal of Nutrition Science and Food Technology*. 2: 15-25.

Fuller, R. 1991. Probiotics in human medicine. Gut. 32: 439-442.

Godshall, M.A. 1988. The rold of carbohydrates in flavor development. *Food Technology*. 42: 71-78.

Gubler, F. and Jacobsen, J.V. 1992. Gibberellin-Responsive Elements in the Promoter of a Barley High-pl α-Amylase Gene. *The Plant Cell*. 4: 1435-1441.

Hermansson, A.M. 1979. Aggregation and denaturation involved in gel formation. pp. 82-103. In A. Pour-El (ed.). Functionality and Protein Structure. ACS Sympasium, Washingtion, DC.

Hong, S.H. and Marshall, R.T. 2001. Natural exopolysaccharides enhance survival of lactic acid bacteria in frozen dairy desserts. *Journal of Dairy Science*. 84: 1367-1374.

Hoover, R. Li, Y.X., Hynes, G. and Senanayake, N. 1997. Physicochemical characterization of mung bean starch. *Food Hydrocolloids*. 11: 401-408.

Jan, J.-L. and Chen, J.-F. 1992. Effect of amylose molecular size and amylopectin branch chain length on paste properties of starch. *Cereal Chemistry*. 76: 629-637.

Jones, B.L. and Budde, A.D. 2005. How various malt endopeoteinase classes affect wort soluble protein levels. *Journal of Cereal Science*. 41: 95-106.

Kailaspathy, K. 2008. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on sensory properties of yogurt. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie 39*: 1221-1227.

Kaleb, M., Allan-Wojtas, P., and Phipps-Todd, B. 1983. Development of microstructure in set-style nonfat yoghurt: a review. *Food Microstructure*. 2: 51-66.

Kasemsuwan, T., Bailey, T. and Jane, J. 1998. Preparation of clear noodles with mixtures of tapioca and high amylase starchs. *Carbohydrate Polymers*. 32: 301-302.

Keogh, M.K. and O'Kennedy, B.T. 1998. Rheology of stirred yogurt as affected by added milk fat, protein and hydrocolloids. *Journal of Food Science*. 63: 108-112.

Kim, S.-H., Lim, C.-H. and An, G. 2009. Optimization of growth and storage conditions for lactic acid bacteria in yogurt and frozen yogurt. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*. 52: 76-79.

Kinsella, J.E. 1984. A review. Milk proteins: physicochemical and functional properties. *Critical Review in Food Science and Nutrition*. 20: 197-262.

Liu, W.-J. and Shen, Q. 2007. Studies on the physicochemical properties of mung bean starch from sour liquid processing and centrifugation. *Journal of Food Engineering*. 79: 358-363.

Lomax, A.R. and Calder, P.C. 2009. Probiotics, immune function, infection and imflammation: a review of the evidence from studies conducted in humans. *Current Pharmaceutical design*. 15: 1428-1518.

Macleod, R.A. and Snell, E.E. 1947. Some mineral requirements of the lactic acid bacteria. *The Journal of Biological Chemistry*. 170: 351-365.

McGrance, S.J., Hugh, J.C. and Rix, C.J. 1998. A simple and rapid colorimetric method for the determination of amylase in starch products. *Starch/Stärke*. 50: 158-163.

McKinley, M.C. 2005.The nutrition and health benefits of yoghurt. *International Journal of Dairy Technology*. 58: 1-12.

Mendoza, E.M.T., Adachi, M., Bernardo, A.E.N. and Utsumi, S. 2001. Mungbean [Vigna radiate (L.) Wilczek] globulins: purification and characterization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49: 1552-1558.

Michael, M., Phebus, R.K. and Schmidt, K.A. 2010. Impact of a plant extract on the viability of *Lactobacillus delbreckii ssp. bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* in nonfat yogurt. *International Dairy Journal*. 20: 665-672.

Moss, C.W. and Speck, M.L.1963. Injury and death of *Streptococcus lactis* due to freezing and frozen storage. *Applied Microbiology*. 11: 326-329.

O´Brien. J.1999. Sugar profiles of cultured dairy products in the UK. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*. 12: 245-250.

Oh, C.H. and Oh, S.H. 2004. Effects of germinated brown rice extracts with enhanced levels of GABA on cancer cell proliferation and apoptosis. *Journal of Medicinal Food*. 7: 19-23.

Panesar, P.S., Kennedy, J.F., Gandhi, D.N. and Bunko, K. 2007. Bio-utilization of whey for lactic acid production. *Food Chemistry*. 105: 1-14.

Paseephol, T. and Sherkat, F. 2009. Probiotic stability of yoghurts containing Jerusalem artichoke inulins during refrigerated storage. *Journal of Functional Foods*. 1: 311-318.

Prabhavat, S. 1988. Mungbean utilization in Thailand. pp. 508-519. In S. Shanmungsundaram (ed.). Second International Mungbean Symposium Proceedings. AVRDC, Shanhua, Tainan. Taiwan.

Radke-Mitchell, L. and Sandine, W.E. 1984. Associative growth and differential enumeration of *Streptococcus thermophilus* an *Lactobacillus bulgaricus*: a review. *Journal of Food Protection*. 47: 245-248.

Ray, B. 2004. Factors influencing microbial growth in food. In Fundamental Food Microbiology. 3rd ed. CRC Press. Boca Raton, FL, USA.

Reineccius, G.A. 1991. Carbohydrates for flavor encapsulation. *Food Technology*. 45: 144-146, 149.

Robinson, R. 2000. Product design yoghurt. Food ingredients and analysis international. April. 15-18.

Ross, R.P., Desmond, C., Fitzgerald, G.F. and Stanton, C. 2005. Overcoming the technological hurdles in the development of probiotic foods. *Journal of Applied Microbiology*. 98: 1410-1417.

Sandhy, K.S. and Lim, S.T. 2008. Digestibility of legume starches as influenced by its physical and structural properties. *Carbohydrate Polymers*. 71: 245-252.

Tamime, A.Y. and Marshall, V.M.E. 1997. Microbiology and technology of fermented milks. pp.57-133. In B.A. Law (ed.). Microbiology and Biochemistry of Cheese and Fermented Milk. 2nd ed. Applied Science Publishers, London.

Tamine, A.Y. and Robinson, R.K. 1999. Yoghurt: Science and Technology. 2nd ed. CRC Press, Boca Raton, FL, USA.

Tian, B., Xie, B., Shi, J., Wu, J., Cai, Y., Xu, T., Xue, S. and Deng, Q. 2010. Physicochemical changes of oat seeds during germination. *Food Chemistry*. 119: 1195-1200.

Uthumporn, U., Zaidul, I.S.M. and Karim, A.A. 2010. Hydrolysis of granular starch at sub-gelatinization temperature using a mixture of amulolytic enzymes. *Food and Bioproducts Processing*. 88: 47-54.

Vasiljevic, T., Kealy, T., and Mishra, V.K. 2007. Effect of β-glcan addition to a probiotic containing yogurt. *Journal of Food Science*. 72: C405-C411.

Wang, J., Li, Y., Lo, S.W., Hillman S., Sun, S.S.M., Robinson, D.G. and Jiang, L. 2007. Protein mobilization in germinating mung bean seeds involves vacuolar sorting receptors and multivesicular bodies. *Plant Physiology*. 143: 1628-1639.

Wu, Y.V. 1983. Effect of germination on oats and oat protein. *Cereal Chemistry*. 60: 415-420.

Yamada , T., Hisamatsu, M. Teranishi, K. Katsuro, K., Hasegawa, N. And Hayashi, L. 1995. Components of the porous maize starch granule prepared by amylase treatment. *Starch/Stärke*. 46: 358-364.

Zeller, B.L., Saleeb, F.Z. and Ludescher, R.D.1999. Trends in development of porous carbohydrate food ingredients for use in flavor encapsulation. *Trends in Food Science and Technology*. 9: 389-394.

Zuo, J.Y., Hemar, Y., Hewitt, S. and Saunders, A. 2008. Effect of the extent of pasting on the dynamic rheological properties of acidified skim milk gels containing normal rich starch. *Food Hydrocolloids*. 22: 1567-1573.

ประวัติผู้วิจัย

1. ประวัติการทำงาน

ชื่อ - สกุล (ภาษาไทย) นางสาว นันทรัตน์ ณ นครพนม

(ภาษาอังกฤษ) Miss Nantarat Na Nakornpanom

สัญชาติ ไทย

เชื้อชาติ ไทย

ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

หน่วยงาน คณะเทคโนโลยีและนวัตกรรมผลิตภัณฑ์การเกษตร

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

เขตวัฒนา กรุงเทพมหานคร 10110

โทรศัพท์ 02-6495000 ต่อ 8304

2. ประวัติการศึกษา

ปีที่จบการศึกษา	ระดับปริญญา	อักษรย่อปริญญา	สาขา	ชื่อสถาบัน	ประเทศ
2543	ตรี	วท.บ.	วิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ	มหาวิทยาลัยศรีนครินทร-วิโรฒ	ไทย
2547	โท	วท.ม.	วิทยาศาสตร์การอาหาร	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	ไทย
2553	เอก	ปร.ด	วิทยาศาสตร์การอาหาร	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	ไทย

3. ผลงานที่ตีพิมพ์

งานวิจัยระดับชาติ

1. นันทรัตน์ ณ นครพนม, มาศอุบล ทองงาม และปาริฉัตร หงสประภาส. 2549. การ เหนี่ยวนำการรวมมวลของโปรตีนคอมโพสิทระหว่างโปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลตกับโซเดียมเคซิเนตที่ผ่านการให้ความร้อนด้วยแคลเซียมแลคเทต. น. 90-97. ใน เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ ๔๔ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วันที่ 30 มกราคม - 2 กุมภาพันธ์ 2549. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

งานวิจัยระดับนานาชาติ

1. Na Nakornpanom, N. and Hongsprabhas, P. 2008. Heating sequence and calcium lactate concentration effects on in vitro protein digestibility and oil release of emulsion. In *CORNUCOPIA and AGFD abstracts for the 236th American chemical society national meeting (p. 29)*. Washington, DC: American Chemical Society.

2. Na Nakornpanom, N., Thongngam, M. and Hongsprabhas, P. 2009. Characteristics of Heated Mixed Soy Protein Isolate and Sodium Caseinate. Kasetsart J. (Natural science). 43: 780-790.

3. Na Nakornpanom, N., Hongsprabhas, P. and Hongsprabhas, P. 2010. Effect of soy residue (okara) on in vitro protein digestibility and oil release in high-calorie emulsion stabilized by heated mixed proteins. 43: 26-32.