

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	ผลของฟิล์มเคลือบบริโกลด์ได้ชนิดสองชั้นจากโซเดียมเคซีเนตและไขมันต่อการรอดชีวิตของ <i>Bifidobacterium</i> ครึ่งรูปในเม็ดแป้งมันสำปะหลัง	
ผู้เขียน	นางสาวพนิดา รัตนปิติกรณ์	
ปริญญา	วิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร)	
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ดร. พัทธินทร์ ระวียัน Prof. Dr. Lech Ozimek ผศ. ดร. ภูริวัฒน์ ลีสวัสดิ์ ดร.ชาติชาย โจนงนุช	ประธานกรรมการ กรรมการ กรรมการ กรรมการ

### บทคัดย่อ

การศึกษาผลของฟิล์มเคลือบบริโกลด์ได้ชนิดสองชั้นจากโซเดียมเคซีเนตและไขมันต่อการรอดชีวิตของ *Bifidobacterium* ครึ่งรูปในเม็ดแป้งมันสำปะหลัง มีวัตถุประสงค์ 4 ประการ คือ 1) เพื่อวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ และความจุในการกักเก็บเชื้อ *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum* และ *Bifidobacterium infantis* ของเม็ดแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านกรรมวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง โดยการแช่เยือกแข็งแบบช้าที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือ การแช่เยือกแข็งแบบเร็วที่อุณหภูมิ -176 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-10 นาที โดยใช้เม็ดแป้งมันสำปะหลังจาก 3 ตราสินค้า ได้แก่ Golden Chef<sup>®</sup>, Special Sacco<sup>®</sup> และ Thaiworld<sup>®</sup> 2) เพื่อเปรียบเทียบผลของสารเคลือบที่เนื้อมัน 3 ชนิด (กรดปาล์มติก แพโนแดนและซีฟี่ง) และโซเดียมเคซีเนตต่อการมีชีวิตรอดของ *B. longum*, *B. bifidum* และ *B. infantis* ครึ่งรูป 3) เพื่อหาจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตรอดของเซลล์อิสระและเซลล์ครึ่งรูปชนิดที่เคลือบและไม่เคลือบของ *B. longum*, *B. bifidum*, และ *B. infantis* ในสภาวะเลียนแบบน้ำย่อยในระบบทางเดินอาหารของคนโดยไม่ใช้เอนไซม์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 310 นาที และ 4) เพื่อ

ประเมินการรอดชีวิตของเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงรูปชนิดที่เคลือบและไม่เคลือบของ *B. longum*, *B. bifidum* และ *B. infantis* ในโยเกิร์ตชนิดพาสเจอร์ไรซ์และสเตอริไรซ์เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์

ผลการศึกษพบว่า เม็ดแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านกรรมวิธีการแช่เยือกแข็งแบบช้าจากทั้ง 3 ตราสินค้าจะมีลักษณะผิวเป็นปุย มีรูพรุนขนาดใหญ่ และมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 57.04 ไมโครเมตร ส่วนเม็ดแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านกรรมวิธีการแช่เยือกแข็งแบบเร็วจะมีผิวที่เรียบ มีรูพรุนขนาดเล็ก และมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 11.18 ไมโครเมตร สมบัติการอุ้มน้ำของเม็ดแป้งมันสำปะหลังขึ้นอยู่กับขนาดรูพรุน และการดูดซับของเม็ดแป้งมันสำปะหลัง โครงสร้างที่มีรูพรุนคล้ายฟองน้ำของเม็ดแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านกรรมวิธีการแช่เยือกแข็งแบบช้ามีสมบัติในการดูดซับและมีความสามารถในการกักเก็บเชื้อ *Bifidobacterium* ได้มากกว่าเม็ดแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านกรรมวิธีการแช่เยือกแข็งแบบเร็ว เม็ดแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านกรรมวิธีการแช่เยือกแข็งแบบช้าจาก Special Saccoo® มีค่าความจุสูงสุด ( $p < 0.05$ ) ในการตรึงรูปเชื้อ *Bifidobacterium* และได้ใช้ในการศึกษาต่อไป ปริมาณเชื้อสูงสุดของ *B. longum*, *B. bifidum* และ *B. infantis* ที่เม็ดแป้งมันสำปะหลังหนึ่งเม็ดสามารถตรึงได้คือ  $2.6 \times 10^9$ ,  $3.9 \times 10^9$  และ  $8.4 \times 10^9$  เซลล์ตามลำดับ จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตของ *Bifidobacterium* ตรึงรูปที่ผ่านกรรมวิธีการแช่เยือกแข็งแบบช้ามีค่าลดลงประมาณ 1 วงจรค่าล็อก การเคลือบด้วยฟิล์มชนิดสองชั้นจากไขมันและโซเดียมเคซีนแสดงสมบัติไม่เด่นชัดในการเพิ่มการรอดชีวิตของเซลล์ bifidobacteria ตรึงรูปในโยเกิร์ตชนิดพาสเจอร์ไรซ์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ และในสถานะเลียนแบบน้ำย่อยในระบบทางเดินอาหารของคนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 310 นาที จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตของเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงรูปชนิดที่เคลือบหรือไม่เคลือบของ *B. longum*, *B. bifidum* และ *B. infantis* ในสถานะเลียนแบบน้ำย่อยในระบบทางเดินอาหารของคนโดยไม่ใช้เอนไซม์มีค่า 3 และ 3-5 ค่าล็อกต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ การรอดชีวิตของเซลล์อิสระและเซลล์ตรึงรูปชนิดที่เคลือบหรือไม่เคลือบมีค่าสูงกว่า 6 ค่าล็อกต่อมิลลิลิตร หลังจากการเก็บรักษาในโยเกิร์ตชนิดพาสเจอร์ไรซ์และสเตอริไรซ์ที่อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 สัปดาห์

การตรึงรูป *B. longum*, *B. bifidum* และ *B. infantis* ในเม็ดแป้งมันสำปะหลังที่ผ่านกรรมวิธีการแช่เยือกแข็งแบบช้า ร่วมกับการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งของ Special Saccoo® ชนิดที่เคลือบหรือไม่เคลือบด้วยฟิล์มชนิดสองชั้นจากไขมันและโซเดียมเคซีน สามารถปกป้องเชื้อ *Bifidobacterium* จากสภาวะรุนแรงของระบบเลียนแบบน้ำย่อยในกระเพาะอาหารและสภาวะการเก็บรักษาในโยเกิร์ตชนิดพาสเจอร์ไรซ์ หรือสเตอริไรซ์

<b>Thesis Title</b>	Effect of Edible Bilayer Films from Sodium Caseinate and Fat on Survival of Immobilized <i>Bifidobacterium</i> in Tapioca Starch Beads	
<b>Author</b>	Miss Panida Rattanapitikorn	
<b>Degree</b>	Doctor of Philosophy (Food Science and Technology)	
<b>Thesis Advisory Committee</b>	Dr. Patcharin Raviyan	Chairperson
	Prof. Dr. Lech Ozimek	Member
	Asst. Prof. Dr. Phuriwat Leesawat	Member
	Dr. Chartchai Khanongnuch	Member

### ABSTRACT

The objectives of this study, “Effect of Edible Bilayer Films from Sodium Caseinate and Fat on Survival of Immobilized *Bifidobacterium* in Tapioca Starch Beads” are: 1) to investigate the physical properties and the capacity to load *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum*, and *Bifidobacterium infantis* of the freeze-dried-gelatinized tapioca starch beads (FDTB) obtained from slow (-20°C for 24 h) or quick freezing (-176°C for 5-10 min), and tapioca starch beads from three commercial brands of Golden Chef<sup>®</sup>, Special Sacoo<sup>®</sup> or Thaiworld<sup>®</sup>; 2) to compare the effects of coating materials; edible fats (palmitic acid, PANODAN<sup>®</sup>, and beeswax) and sodium caseinate, on viability of immobilized *B. longum*, *B. bifidum*, and *B. infantis*; 3) to determine the viable counts of free cells, non-coated and coated-immobilized *B. longum*, *B. bifidum*, and *B. infantis* stored in simulated gastrointestinal fluids without enzyme at 37°C for 310 min;

and 4) to evaluate the survival of free cells, non-coated, and coated-immobilized *B. longum*, *B. bifidum*, and *B. infantis* in pasteurized and sterilized yogurt stored at 4-5°C for 4 wk.

Three commercial brands FDTB from slow freezing (SF-FDTB) had a puffy surface with large pores (ca 57.04 µm, diameter) whereas the FDTB from quick freezing (QF-FDTB) had smooth surface with some of small pores (ca 11.18 µm, diameter). The adsorption capacity of SF- and QF-FDTB were affected by pore size and adsorption behavior of the beads. The sponge-like texture of the SF-FDTB promotes the rapid adsorption that results in higher capacity to hold bifidobacterial cells inside the beads when compared to that of the QF-FDTB. Special Sacoo® SF-FDTB showed the statistically ( $p \leq 0.05$ ) highest capacity to load the tested bifidobacteria and was used for the followed tests. The maximum immobilization quantities of *B. longum*, *B. bifidum*, and *B. infantis* were  $2.6 \times 10^9$ ,  $3.9 \times 10^9$ , and  $8.4 \times 10^8$  cells per bead, respectively. Slow freeze-drying reduced the viable counts of the immobilized bifidobacteria for about 1 log-cycle. Edible bilayer films from fat and sodium caseinate did not show the significant efficiency to protect the immobilized bifidobacteria neither during storage in pasteurized yogurt at 4-5°C for 4 wk nor during incubation in simulated gastrointestinal fluids at 37°C for 310 min. The viable counts of free cells, and coated or non-coated immobilized bifidobacteria in simulated gastrointestinal fluids without enzyme were 3 and 3-5 log CFU/mL, respectively. The survival of free cells, coated, or non-coated immobilized bifidobacteria were more than 6 log CFU/mL after storage in sterilized yogurt at 4-5°C for 4 wk.

Immobilization of *B. longum*, *B. bifidum*, and *B. infantis* in the slow freeze-dried-gelatinized Special Sacoo® tapioca starch beads, with or without coatings with fat and sodium caseinate could protect the tested bifidobacteria effectively from the severe conditions of simulated gastrointestinal fluids and that of during storage in pasteurized or sterilized yogurt.