บทที่ 2
การผลิตอาหารสัตว์ทดลองเสริมซิริซิน

วิธีการทดลอง

1. การผลิตซิริซิน

1.1 การเตรียมซิริซินผง

ทำการสกัดแยกโปรตีนออกจากไหมดิบด้วยน้ำกลั่น ตามกระบวนการที่ได้ยื่นจดสิทธิบัตรไว้ (กรรมวิธีการผลิต sericin จากรังไหม เลขที่คำขอ 080595) จากนั้นแยกส่วนของของเหลวซึ่งเป็นส่วนของสารละลายโปรตีนซิริซินนำมาทำแห้งด้วยเครื่องแบบพ่นฝอย (spray dryer) โดยใช้อุณหภูมิอากาศร้อนขาเข้าไม่ต่ำกว่า 130 °C จากนั้นเก็บผงซิริซินที่ได้ในภาชนะปิดมิดชิดและเก็บที่อุณหภูมิห้อง ในที่แห้ง

1.2 การจำแนกน้ำหนักโมเลกุลของซิริซินผงด้วย SDS-PAGE

ทำการหาน้ำหนักโมเลกุลของผงโปรตีนซิริซินที่ผลิตได้ด้วยวิธี SDS-PAGE ตามวิธีของ Sigma ที่ดัดแปลงมากจาก Weber และ Osborn (1969),Davies และ Stark (1970) ด้วยการละลายผงโปรตีนเจือจางด้วย sample buffer ในอัตราส่วน 1 ต่อ 2 ใน micro-centrifuge tube ให้ความร้อนในน้ำเดือดนาน 3-5 นาที และทำให้เย็นก่อน load ตัวอย่าง สำหรับซิริซินเอ ใช้ Acrylamide gel ที่ความเข้มข้นร้อยละ 3.5 และใช้ Phosphorylase B เป็น Marker ทำการแยกภายใต้กระแสไฟฟ้า 80 โวลล์ สำหรับซิริซินบีและซีใช้เจลที่ความเข้มข้นร้อยละ 7.0 และใช้ Prestained SDS-PAGE standards Broad Range เป็น Marker ทำการแยกภายใต้กระแสไฟฟ้า 100 โวลล์ ทำการย้อมสีแถบโปรตีนด้วย Coomassie Brilliant Blue R-250 และคำนวณค่า R_f เพื่อหาน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนโดยเปรียบเทียบกับ Marker

2. การเตรียมตัวอย่างสูตรอาหารหนูเสริมซิริซิน

ตัวอย่างสูตรอาหารหนูทุกสูตรเตรียมโดยใช้อาหารหนูทดลองทางการค้าสูตร CP 082 จากบริษัทเครือเจริญโภคภัณฑ์เป็นอาหารสูตรพื้น (base formula) โดยองค์ประกอบทางเคมีของอาหารสูตรพื้นที่ใช้แสดงดังตารางที่ 1 และตัวอย่างสูตรอาหารหนูที่ใช้ในการศึกษารวม 11 สูตร แสดงรายละเอียดในตารางที่ 2 ในการศึกษาผลของอุณหภูมิ 50 60 และ 70 °C รวมถึงการศึกษาผลของการสเตอไรส์ (sterilization) ด้วยความร้อนชื้นภายใต้ความดัน ที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที และการเติมโปรตีนเคซีน (Sodium caseinate, KAPA 20000, Armor Proteins, France) โปรตีนซิริซิน และโซเดียมไบคาร์บอเนต ต่อองค์ประกอบทางเคมีและลักษณะทางกายภาพของอาหารหนูที่ได้

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของอาหารหนูทางการค้า CP 082

Nutritional composition of mice feed		
Moisture	(max)	12%
Crude protein	(min)	24%
Fat	(min)	4.50%
Fiber	(max)	5%
Metabolizable energy	(swing) Kcal/kg	3040
Calcium		1%
Phosphorus	(available)	0.90%
Sodium		0.20%
Potassium		1.17%
Magnesium		0.23%
Manganese	p.p.m.	171
Copper	p.p.m.	22
Zine	p.p.m.	100
Iron	p.p.m.	180
Cobalt	p.p.m.	1.82
Potassium Iodide	p.p.m.	1
Selenium	p.p.m.	0.1
Vitamins		
A	i.u./kg	20,000
D	i.u./kg	4,000
E	mg/kg	100
K	mg/kg	5
B1	mg/kg	20
B2	mg/kg	20
B6	mg/kg	20
B12	mg/kg	0.036
Niacin	mg/kg	100
Folic acid	mg/kg	6
Biotin	mg/kg	0.4
Pantothenic acid	mg/kg	60
Chloline Chloride	mg/kg	1,500

ตารางที่ 2 องค์ประกอบของตัวอย่างสูตรอาหารหนูที่ทำการศึกษา

สูตรอาหาร	ปริมาณส่วนประกอบ (กรัม)					
	อาหารผงสูตรพื้น	เคซีน	ซิริซิน	โซเดียมไบคาร์บอเนต	น้ำกลั่น	รวม
COM	-	-		-	-	-
CN5	500	-	-	-	500	1000
CN6	500	-	-	-	500	1000
CN7	500	-	-	-	500	1000
CC7	470	30	-	-	500	1000
CS7	467	30	-	3	600	1100
ST5	470	-	30	-	500	1000
ST6	470	-	30	-	500	1000
ST7	470	-	30	-	500	1100
SS7	467	-	30	3	600	1100
SA7	470	-	30	-	500	1000

การเตรียมตัวอย่างสูตรอาหารหนูทำโดยการนำอาหารหนูสูตรพื้นมาบดด้วยเครื่องบด pin mill (Retsch. Type SK1, Germany) ให้ละเอียด จากนั้นจึงนำผงอาหารหนูสูตรพื้นและส่วนประกอบอื่นๆ ที่ร่อนผ่านตะแกรงร่อนขนาด 1 มิลลิเมตร แล้ว มาชั่งน้ำหนักตามสัดส่วนของสูตรที่กำหนด (ตารางที่ 3) วิธีการเตรียมเริ่มจากการนำส่วนผสมแห้งทั้งหมดผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำส่วนผสมแห้งที่ได้ไปกวนผสมต่อด้วยเครื่องผสมอาหารที่ใช้ใบกวนรูปใบไม้ ผสมจนเข้ากันดีประมาณ 1-2 นาที จึงเติมน้ำกลั่น (ตามปริมาณในสูตรที่กำหนด) ทีละน้อยจนส่วนประกอบทั้งหมดผสมเข้าเป็นเนื้อเดียวกัน ใช้เวลากวนผสมด้วยเครื่องผสมทั้งหมดประมาณ 5-10 นาที ในการเตรียมอาหารหนูในแต่ละสูตรทำการแบ่งผสมครั้งละ (batch) 1 กิโลกรัม เพื่อควบคุมให้ส่วนประกอบทั้งหมดผสมเป็นเนื้อเดียวกันได้ดี เมื่อทำการผสมอาหารหนูทั้งหมดของแต่ละสูตรแล้ว จึงทำการขึ้นรูปโดยใช้บล็อกสแตนเลสรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าที่มีขอบสูง 1.5 เซนติเมตร ก่อนตัดให้เป็นทรงสี่เหลี่ยมจัตุรัส ที่มีขนาดความกว้าง ความยาว และความหนา ประมาณ 1.5x1.5x1.5 เซนติเมตร เพื่อควบคุมชิ้นตัวอย่างอาหารให้มีขนาดและน้ำหนักใกล้เคียงกัน ส่งผลให้อัตราการถ่ายเทความชื้นภายในชิ้นอาหารสู่อากาศร้อนภายนอกขณะทำแห้งอย่างสม่ำเสมอ และใช้ระยะเวลาการทำแห้ง ใกล้เคียงกันมากที่สุด

ตารางที่ 3 สัญลักษณ์และรายละเอียดตัวอย่างสูตรอาหารหนูเสริมซิริซิน

สัญลักษณ์	ตัวอย่างอาหาร	รายละเอียด
COM	สูตรทางการค้า	อาหารหนู CP-082
CN5	สูตรควบคุม-1	อาหารหนูสูตรพื้น ทำแห้งที่อุณหภูมิ 50˚C
CN6	สูตรควบคุม-2	อาหารหนูสูตรพื้น ทำแห้งที่อุณหภูมิ 60˚C
CN7	สูตรควบคุม-3	อาหารหนูสูตรพื้น ทำแห้งที่อุณหภูมิ 70˚C
CC7	สูตรควบคุม-3C	อาหารหนูสูตรพื้นเสริมเคซีน ทำแห้งที่อุณหภูมิ 70˚C
CS7	สูตรควบคุม-3S	อาหารหนูสูตรพื้นเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต ทำแห้งที่อุณหภูมิ 70˚C
ST5	สูตรเสริมซิริซิน-1	อาหารหนูเสริมซิริซิน ทำแห้งที่อุณหภูมิ 50˚C
ST6	สูตรเสริมซิริซิน-2	อาหารหนูเสริมซิริซิน ทำแห้งที่อุณหภูมิ 60˚C
ST7	สูตรเสริมซิริซิน-3	อาหารหนูเสริมซิริซิน ทำแห้งที่อุณหภูมิ 70˚C
SS7	สูตรเสริมซิริซิน-3S	อาหารหนูเสริมซิริซินเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต ทำแห้งที่อุณหภูมิ 70˚C
SA7	สูตรเสริมซิริซิน-3A	อาหารหนูเสริมซิริซิน ทำแห้งที่อุณหภูมิ 70˚C ผ่านการสเตอไรส์ที่อุณหภูมิ 121˚C เป็นเวลา 15 นาที

การทำแห้งตัวอย่างอาหารหนูที่ทำการขึ้นรูปเสร็จแล้ว แบ่งเป็นการทำแห้งที่ 3 สภาวะ ได้แก่ การทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 60 และ 70˚C เพื่อทำการศึกษาอัตราการทำแห้งที่เหมาะสม โดยใช้เครื่องอบไฟฟ้าแบบถาด (Newway, Model 135/60/180, Thailand) ซึ่งสามารถควบคุมอุณหภูมิการทำแห้งได้อย่างสม่ำเสมอ ระยะเวลาการทำแห้งที่เหมาะสมสำหรับตัวอย่างอาหารหนูแต่ละสูตรขึ้นอยู่กับปริมาณน้ำอิสระ (water

activity) สุดท้ายที่เหลืออยู่ต้องไม่สูงกว่า 0.4 นำตัวอย่างอาหารหนูแต่ละสูตรบรรจุถุงพลาสติกและปิดมิดชิด ทำการบ่ม (incubated) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลาประมาณ 1 สัปดาห์ เพื่อให้เกิดการถ่ายเทความชื้น และปริมาณน้ำอิสระของชิ้นอาหารหนูในแต่ละสูตรอาหารให้มีความสม่ำเสมอมากที่สุด จากนั้นจึงเก็บตัวอย่างอาหารหนูที่อุณหภูมิ 4 °C รอทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและศึกาอายุการเก็บต่อไป

2.1 การศึกษาอัตราการทำแห้ง

ทำการศึกษาอัตราการทำแห้งของตัวอย่างอาหารหนูแต่ละสูตรที่อุณหภูมิการทำแห้ง 50 60 และ 70 °C โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงความชื้น (moisture content) และปริมาณน้ำอิสระ ในตัวอย่างอาหารขณะทำแห้งที่เวลาต่างๆ จนกระทั่งปริมาณน้ำอิสระที่เหลืออยู่ในตัวอย่างอาหารต่ำกว่า 0.4 จึงสิ้นสุดการทดลอง ทำการตรวจวัดปริมาณความชื้นด้วยเครื่องวิเคราะห์ความชื้น (Moisture Analysis, Precisa model HA300, Switzerland) และตรวจวัดค่าน้ำอิสระด้วยเครื่อง Aqua-Lab model OX-2 (Aqualab Scientific Pty Limited, Australia) อัตราการทำแห้งคำนวณได้จากความชันของกราฟการเปลี่ยนแปลงความชื้นและน้ำอิสระที่ระยะเวลาต่างๆ

2.2 การศึกษา Sorption isotherm

ทำการศึกษา Sorption isotherm ของตัวอย่างสูตรอาหารหนูที่อุณหภูมิการทำแห้ง 70 °C โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงความชื้น และปริมาณน้ำอิสระ ในตัวอย่างอาหารขณะทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบถาด (Tray dryer, Armfield Limited, UK) ที่ระยะเวลาต่างๆ จนกระทั่งปริมาณน้ำอิสระที่เหลืออยู่ในตัวอย่างอาหารต่ำกว่า 0.4 จึงสิ้นสุดการทดลอง ตั้งการควบคุมอุณหภูมิเครื่องที่อุณหภูมิ 70 °C และความเร็วลมที่ 0.5 m/s ทำการตรวจวัดปริมาณความชื้นด้วยเครื่องวิเคราะห์ความชื้น (Moisture analyzer, Precisa model HA300, Switzerland) และตรวจวัดค่าน้ำอิสระด้วยเครื่อง Aqua-Lab model OX-2 (Aqualab Scientific Pty Limited, Australia) Sorption isotherm ได้จากการ plot กราฟระหว่างความชื้นและปริมาณน้ำอิสระกับเวลาการทำแห้ง

3. การผลิตตัวอย่างอาหารหนูเพื่อการทดสอบแบบ in vivo

ตัวอย่างอาหารหนูทั้งหมดเตรียมโดยใช้อาหารหนูทดลองทางการค้าสูตร CP 082 จากบริษัทเครือเจริญโภคภัณฑ์เป็นอาหารสูตรพื้น โดยองค์ประกอบทางเคมีของอาหารสูตรพื้นที่ใช้แสดงดังตารางที่ 1 และตัวอย่างสูตรอาหารหนูที่ใช้ในการศึกษาฤทธิ์การป้องกันมะเร็งลำไส้และโรคหลอดเลือดในสัตว์ทดลองรวมทั้งหมด 6 สูตร แสดงรายละเอียดในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 องค์ประกอบของตัวอย่างสูตรอาหารหนูที่ใช้ศึกษาในสัตว์ทดลอง

สูตรอาหาร	สัญลักษณ์	ปริมาณส่วนประกอบ (กรัม)					
		อาหารผงสูตรพื้น	เคซีน	ซิริชิน	โคเลสเตอรอล	น้ำกลั่น	รวม
การศึกษาประสิทธิภาพการป้องกันมะเร็งลำไส้และทวารหนัก							
สูตรควบคุม	CC	500	30	-	-	500	1030
สูตรเสริมซิริชิน A	SA	500	-	30	-	500	1030
สูตรเสริมซิริชิน B	SB	500	-	30	-	500	1030
สูตรเสริมซิริชิน C	SC	500	-	30	-	500	1030
	ร้อยละ	**48.54**	**(2.91)**	**(2.91)**	**0.00**	**48.54**	**100.0**
การศึกษาประสิทธิภาพการป้องกันโรคหลอดเลือด							
สูตรควบคุมที่มีโคเลสเตอรอลสูง	HC	500	30	-	10	500	100
สูตรเสริมซิริชิน B ที่มีโคเลสเตอรอลสูง	HB	500	-	30	10	500	100
	ร้อยละ	**48.08**	**(2.88)**	**(2.88)**	**0.96**	**48.08**	**100.00**

หมายเหตุ: อาหารผงสูตรพื้นใช้อาหารหนูทางการค้าสูตร CP 082; โคเลสเตอรอล ใช้เกรดสำหรับงานด้าน biochemistry (C335532, Carlo Erba, Italy) และโปรตีนเคซีน ใช้ sodium caseinate (KAPA 2000, Armor Proteins, France)

การเตรียมตัวอย่างอาหารหนูทำโดยการนำอาหารหนูสูตรพื้นมาบดด้วยเครื่องบด pin mill (Retsch, type SK1, Germany) ให้ละเอียด จากนั้นจึงนำผงอาหารหนูสูตรพื้นและส่วนประกอบอื่นๆ ที่ผ่านการร่อนผ่านตะแกรงร่อนขนาด 1 มิลลิเมตร มาชั่งน้ำหนักตามสัดส่วนของสูตรอาหารที่กำหนดในตารางที่ 4 ทำการผสมและขึ้นรูปเช่นเดียวกับการเตรียมตัวอย่างสูตรอาหารหนูข้างต้น ทำแห้งด้วยเครื่องอบไฟฟ้าแบบถาด (Newway, Model 135/60/180, Thailand) โดยควบคุมอุณหภูมิการทำแห้งที่ 60°C และเวลาการทำแห้งให้อยู่ในช่วง 27-28 ชั่วโมง ตามลำดับ จากนั้นนำตัวอย่างอาหารหนูแต่ละสูตรบรรจุในถุงพลาสติกที่สะอาดและปิดมิดชิด ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ก่อนนำมาชั่งน้ำหนักให้อยู่ในช่วง 1001 -1003 กรัม บรรจุลงถุงพลาสติกปิดผนึกด้วยเครื่องบรรจุแบบสุญญากาศ และบรรจุลงในถุงกระดาษทึบแสงชั้นนอกที่ติดฉลากแยกเฉพาะสำหรับอาหารหนูแต่ละสูตร ทำการเก็บรักษาตัวอย่างอาหารหนูที่บรรจุเสร็จแล้วในภาชนะปิด ที่อุณหภูมิ 20°C เพื่อรอทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี และการนำไปใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพการป้องกันมะเร็งลำไส้และโรคหลอดเลือดแบบ in vivo ต่อไป

4. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

นำตัวอย่างอาหารหนูแต่ละสูตรที่เตรียมไว้มาบดให้ละเอียด โดยควบคุมอุณหภูมิระหว่างการบดไม่สูงกว่า 20 °C จากนั้นเก็บตัวอย่างหลังบดในภาชนะทึบแสง ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (proximate analysis) ได้แก่ ความชื้น เถ้า โปรตีน ไขมัน เส้นใยหยาบ (crude fiber) และทราย รวมถึงการหาปริมาณสตาร์ช น้ำตาลและเกลือ ดัดแปลงจากวิธีการของ James (1995), FAO (2008) และ AOAC (2000) สำหรับตัวอย่างอาหารหนูที่ผลิตเพื่อการศึกษาประสิทธิภาพการป้องกันมะเร็งลำไส้และโรคหลอดเลือด ทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น เถ้า โปรตีน และไขมัน จากร้อยละ 100 โดยน้ำหนักเปียก (Ferris et al., 1995) ตามสมการที่ (1) และโดยน้ำหนักแห้ง ตามสมการที่ (2)

คาร์โบไฮเดรททั้งหมด (%) = 100 - (%ความชื้น + %เถ้า + %โปรตีน + %ไขมัน) ... (1)

คาร์โบไฮเดรททั้งหมด (%) = 100 - (%เถ้า + %โปรตีน + %ไขมัน) ... (2)

นอกจากนี้ทำการคำนวณร้อยละองค์ประกอบทางเคมี และค่าพลังงานโดยประมาณ ในหน่วย Kcal ต่อ กรัมอาหารหนูแต่ละสูตร จากปริมาณองค์ประกอบทางเคมีที่ได้โดยน้ำหนักแห้ง และโดยน้ำหนักเปียก ตามสมการที่ (3)

พลังงาน (Energy, Kcal/g) = [(%คาร์โบไฮเดรท + %โปรตีน) x 4] + (%ไขมัน x 9) ...(3)

ในการวิเคราะห์ความชื้นใช้วิธีการอบด้วยตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105°C นานอย่างน้อย 16 ชั่วโมง จนกว่าน้ำหนักตัวอย่างคงที่ (AOAC, 2000a) ปริมาณเถ้าที่ได้จากการคำนวณร้อยละของผลต่างน้ำหนักตัวอย่างก่อนและหลังเผาในเตาเผาอย่างสมบูรณ์ที่อุณหภูมิ 600°C ปริมาณโปรตีนทั้งหมดได้จากการหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดด้วย Copper catalyst Kjeldahl method โดยใช้ค่าแฟกเตอร์ เท่ากับ 6.25 (AOAC, 2000b) ปริมาณไขมันทั้งหมดวิเคราะห์ด้วย Soxhlet method โดยใช้ petroleum ether (40 - 60 °C) เป็นตัวทำละลาย ทำการสกัดไขมันนาน 14 ชั่วโมง และอบระเหยตัวทำละลายออกจากตัวอย่างหลังสกัดไขมันที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ปริมาณเกลือวิเคราะห์ด้วย Volhard method ปริมาณสตาร์ช (starch) วิเคราะห์ด้วย Anthrone method โดยวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร และคำนวณปริมาณสตาร์ชจาก Beer and Lambert's law และปริมาณน้ำตาลวิเคราะห์ด้วยวิธี Copper reduction (Lane and Eynon method) (James, 1995) ทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยแผนการทดลองแบบ CRD และ Split plot CRD (สำหรับสตาร์ช) ด้วยโปรแกรม SAS ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นทางสถิติ 95%

5. การศึกษาอายุการเก็บ

นำตัวอย่างสูตรอาหารหนูแต่ละสูตรและอาหารหนูทางการค้าในรูปอาหารเม็ด มาชั่งน้ำหนักและบรรจุถุงพลาสติกใส และปิดให้มิดชิด แบ่งตัวอย่างอาหารหนูแต่ละสูตรออกเป็น 3 กลุ่ม บรรจุถุงตัวอย่างลงในถุงซิบล็อคแยกตามชุดและกลุ่มตัวอย่าง จากนั้นนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 25 35 และ 55 °C เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ทำการชักตัวอย่างจากแต่ละอุณหภูมิ ที่ระยะเวลา 0 1 2 3 4 5 6 8 10 และ 12 สัปดาห์ โดยนำตัวอย่างมาทำการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา ได้แก่ การหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Aerobic plate count, APC) โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PCA บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และหาจำนวนยีสต์และรา (yeast & mold) โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ PDA บ่มที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 3 – 5 วัน ทำการนับจำนวนและคำนวณค่า Log ของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (A) นำมาสร้างกราฟกับเวลาเพื่อหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง ซึ่งสอดคล้องกับปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง ตามสมการที่ 4

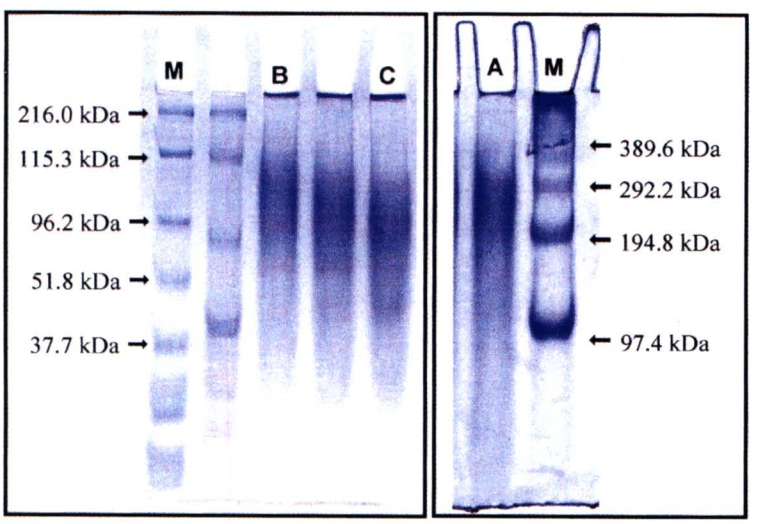
$$\text{Log}[A] = \text{Log}[A]_0 - kt \qquad \ldots (4)$$

แนวโน้มของการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างสูตรอาหารหนู ตลอดระยะเวลาที่ทำการศึกษาทำโดยการหาค่าความชันหรือค่าอัตราคงที่ (k) ของการเปลี่ยนแปลง ณ ช่วงเวลาต่างๆ และใช้ค่าอัตราคงที่ของความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงในช่วงแรกของการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด เพื่อคำนวณอายุการเก็บ เนื่องจากค่าอัตราคงที่ของการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดมีแนวโน้มสูงที่สุด ซึ่งจัดอยู่ใน log phase การทำนายอายุการเก็บของตัวอย่างอาหารหนูสูตรต่างๆ ใช้จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเริ่มต้น (A_0) จากการหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างอาหารหนูกลุ่มที่ผ่านการพาสเจอไรส์ (Pasteurized diet) ได้แก่ตัวอย่างอาหารหนูสูตรควบคุม สูตรเสริมซิริซิน และสูตรทางการค้า เปรียบเทียบกับอายุการเก็บของตัวอย่างอาหารหนูที่ผ่านกระบวนการปลอดเชื้อแบบสมบูรณ์ (Sterile diet) คือ ตัวอย่างอาหารหนูสูตรเสริมซิริซินที่ผ่านการอบด้วยความร้อนชื้นภายใต้ความดันที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที ซึ่งใช้จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเริ่มต้น เท่ากับ 1 ในการคำนวณ

ผลการทดลอง

1. การจำแนกน้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนซิริซินผงด้วย SDS-PAGE

ซิริซินผงที่ทำการผลิตเพื่อใช้ในการศึกษานี้แบ่งเป็น 3 ชนิด ได้แก่ ซิริซินเอ ซิริซินบีและซิริซินซี ซึ่งผ่านกระบวนการผลิตภายใต้สภาวะอุณหภูมิและระยะเวลาการให้ความร้อนที่แตกต่างกัน เมื่อทำการแยกองค์ประกอบของโปรตีนซิริซินแต่ละชนิดตามขนาดหรือน้ำหนักโมเลกุล ด้วยวิธี SDS-PAGE พบว่าโปรตีนซิริซินไม่แสดงแถบของน้ำหนักโมเลกุลที่ชัดเจน แต่มีลักษณะเป็นช่วงกว้าง (broad band) จากรูปที่ 1 จะเห็นว่า ซิริซินเอ (A) มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 191-339 kDa ส่วนซิริซินบี (B) และซี (C) มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 76-132kDa และ 61-113 kDa ตามลำดับ



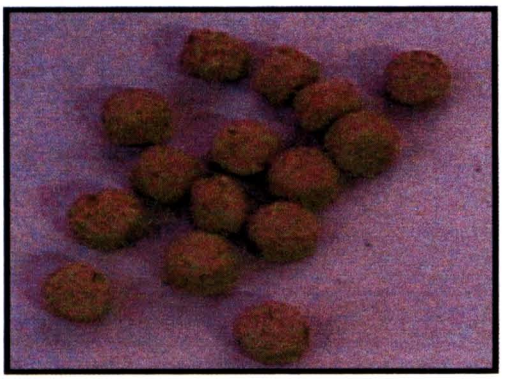
รูปที่ 1 SDS-PAGE ของโปรตีนซิริซินเอ (A) ซิริซินบี (B) และซิริซินซี (C)
(สัญลักษณ์ : M คือ marker)

เนื่องจากโปรตีนซิริซินมีความไวต่อสภาวะการสกัด คือ อุณหภูมิ และระยะเวลาการได้รับความร้อน (Zhang, 2002) ดังนั้นเมื่อระยะเวลาในการให้ความร้อนเพิ่มมากขึ้น น้ำหนักโมเลกุลของโปรตีนซิริซินจึงมีแนวโน้มลดลง ซึ่งเห็นได้จาก ซิริซินเอที่ผ่านกระบวนการผลิตที่ใช้ระยะเวลาการให้ความร้อนสั้นที่สุดมีขนาดโมเลกุลมากที่สุด ในขณะที่ซิริซินบี และซี ซึ่งใช้เวลาในการให้ความร้อนระหว่างกระบวนการผลิตมากขึ้นมีขนาดโมเลกุลเล็กลง ตามลำดับ แสดให้เห็นว่า ความร้อนอาจมีผลต่อการทำลายพันธะเปปไทด์ระหว่างสายของโปรตีนซิริซิน ส่งผลให้สายพอลีเปปไทด์ของซิริซินมีขนาดสั้นลงตามระยะเวลาการได้รับความร้อน โดยการเปลี่ยนแปลงน้ำหนักโมเลกุลของซิริซินที่เกิดขึ้นดังกล่าวอาจมีผลทำให้ซิริซินที่ผลิตได้แต่ละชนิดมีคุณสมบัติเชิงหน้าที่ที่แตกต่างกัน

2. อาหารหนูเสริมซิริซิน

ตัวอย่างอาหารหนูสูตรต่างๆ ได้แก่ อาหารหนูควบคุมสูตรพื้นที่ผ่านการทำแห้งที่อุณหภูมิ 50°C (CN5), 60°C (CN6), 70°C (CN7), อาหารหนูควบคุมสูตรเพิ่มเคซีนร้อยละ 3 ที่ผ่านการทำแห้งที่อุณหภูมิ 70°C (CC7), อาหารหนูควบคุมสูตรเพิ่มเคซีนร้อยละ 3 และเติมโซเดียมไบคาร์บอเนตร้อยละ 0.27 ที่ผ่านการทำแห้งที่อุณหภูมิ 70°C (CS7), อาหารหนูเสริมซิริซินที่ผ่านการทำแห้งที่อุณหภูมิ 50°C (ST5), 60°C (ST6), 70°C (ST7), อาหารหนูเสริมซิริซินและเติมโซเดียมไบคาร์บอเนตร้อยละ 0.27 ที่ผ่านการทำแห้งที่อุณหภูมิ 70°C (SS7), และอาหารหนูเสริมซิริซินที่ผ่านการทำแห้งที่อุณหภูมิ 70°C และผ่านการสเตอไรส์ที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที (SA7) มีลักษณะเป็นทรงสี่เหลี่ยมจัตุรัสดังรูปที่ 2 และอาหารหนูทางการค้า CP 082 มีลักษณะดังรูปที่ 3

รูปที่ 2 ลักษณะตัวอย่างสูตรอาหารหนูที่ผลิต



สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

รูปที่ 3 ลักษณะอาหารหนูทางการค้า CP 082

เมื่อเตรียมตัวอย่างอาหารหนูสูตรต่างๆ ข้างต้นโดยนำอาหารหนูทางการค้า CP 082 บดละเอียดเป็นอาหารผงสูตรพื้นที่ใช้ในการเตรียมอาหารหนูสูตรต่างๆ พบว่า ส่วนประกอบต่างๆ ผสมเป็นเนื้อเดียวกันได้ดี ยกเว้นสูตรอาหารที่มีการเติมโซเดียมไบคาร์บอเนตร้อยละ 0.27 พบว่า อาหารหลังผสมมีลักษณะแห้งและมีการจับตัวกันไม่ดี ทำให้ไม่สามารถขึ้นรูปได้เช่นเดียวกับอาหารหนูสูตรอื่นๆ อย่างไรก็ตามเมื่อเพิ่มปริมาณน้ำลงไปในสูตรอีกร้อยละ 5 ลักษณะอาหารหลังผสมที่ได้มีความสามารถในการขึ้นรูปมากขึ้นใกล้เคียงกับอาหารหนูสูตรอื่นๆ ทั้งนี้อาจเกิดจากสัดส่วนน้ำที่ใช้ในสูตรร้อยละ 50 เป็นปริมาณน้ำน้อยที่สุดที่เพียงพอต่อการขึ้นรูปสูตรอาหารหลัก โดยไม่สิ้นเปลืองพลังงานและระยะเวลาการทำแห้งมากนัก เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาเบื้องต้นก่อนการผลิต (Preliminary test) ที่ใช้น้ำเป็นส่วนประกอบร้อยละ 52.5 55.0 56.5 และ 58.0 ดังนั้นการเติมโซเดียมไบคาร์บอเนตจึงมีผลทำให้น้ำบางส่วนถูกดูดซับไว้ จนไม่เพียงพอทำให้ส่วนประกอบแห้งทั้งหมดมีลักษณะเปียกและเกิดการเกาะตัวกัน อย่างไรก็ตาม การเติมโซเดียมไบคาร์บอเนตมีวัตถุประสงค์เพื่อลดความหนาแน่นของเนื้ออาหารหลังทำแห้ง แต่เนื่องจากเมื่อทำแห้งที่อุณหภูมิ 70 °C ลักษณะการเกิดรูพรุนภายในชิ้นอาหารที่ได้ไม่แตกต่างจากสูตรอาหารที่ไม่เติม ดังนั้นในการผลิตอาหารหนูจึงไม่จำเป็นต้องมีการเติม โซเดียมไบคาร์บอเนตในสูตร

รูปที่ 4 แสดงสัดส่วนองค์ประกอบทางเคมีของตัวอย่างอาหารหนูเมื่อทำการ proximate analysis และตารางที่ 5 และ 6 แสดงปริมาณองค์ประกอบทางเคมีที่ทำการศึกษาของตัวอย่างอาหารหนูสูตรเดียวกัน จะเห็นว่า ความชื้นของตัวอย่างสูตรอาหารหนูที่ผลิตได้อยู่ในช่วง 2.5 - 7.0 และมีค่าต่ำกว่าอาหารหนูทางการค้า (COM) (p<0.001) ยกเว้นอาหารหนูสูตรควบคุม (CN6) โดยข้อกำหนดของผลิตภัณฑ์ (specification) อาหารหนูทางการค้าที่ใช้กำหนดไว้ไม่เกินร้อยละ 12 เมื่อเปรียบเทียบปริมาณโปรตีน ไขมัน เถ้า และความชื้นจากผลการวิเคราะห์ที่ได้กับข้อกำหนดผลิตภัณฑ์ของอาหารหนูทางการค้าที่ใช้เป็นสูตรพื้น พบว่าอาหารหนูทางการค้า และตัวอย่างสูตรอาหารหนูทั้งหมดมีองค์ประกอบทางเคมีดังที่กล่าวมาสอดคล้องกับข้อกำหนดผลิตภัณฑ์

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 15 มี.ค. 2555
เลขทะเบียน 248949
เลขเรียกหนังสือ

ตารางที่ 5 องค์ประกอบทางเคมี (wet basis) ของตัวอย่างสูตรอาหารหนูเสริมซิริซินเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

Sample	MC	Ash	Protein	Fat	Carbohydrate (%)				Salt	Sand	Energy	SD									
	(%)	(%)	(%)	(%)	Total	Fiber	Carb.[1]	Sugar[2]	(%)	(%)	(Kcal/g)	MC	Ash	Protein	Fat	Fiber	Carb.[1]	Sugar[2]	Salt	Sand	Energy
COM	6.74^{a}	6.16^{e}	24.62^{d}	4.78^{ab}	57.70^{ab}	1.66^{ab}	35.01^{d}	ND	0.15^{g}	0.29^{e}	372.3^{cd}	0.136	0.015	1.198	0.323	0.347	2.94	ND	0.015	0.109	2.05
CN5	5.44^{b}	6.36^{c}	26.36^{bcd}	4.28^{b}	57.56^{abc}	2.32^{a}	46.83^{bc}	ND	0.27^{abc}	0.53^{a}	374.2^{c}	0.106	0.027	0.868	0.449	0.670	0.95	ND	0.011	0.048	2.35
CN6	7.13^{a}	5.91^{g}	27.70^{abc}	4.46^{b}	54.81^{c}	1.91^{ab}	53.31^{ab}	ND	0.28^{ab}	0.35^{cde}	370.2^{d}	0.137	0.071	0.861	0.665	0.391	6.95	ND	0.005	0.012	2.93
CN7	3.94^{c}	6.32^{cd}	25.49^{cd}	5.12^{a}	59.14^{ab}	2.08^{a}	56.61^{a}	ND	0.29^{a}	0.42^{abcd}	384.6^{a}	0.875	0.019	0.727	0.173	0.642	0.87	ND	0.027	0.033	3.11
CC7	4.20^{c}	6.19^{de}	25.36^{cd}	4.54^{ab}	59.71^{a}	0.99^{b}	56.73^{a}	ND	0.23^{def}	0.34^{cde}	381.1^{b}	0.115	0.050	1.818	0.379	0.084	2.26	ND	0.011	0.040	1.67
CS7	2.52^{d}	7.64^{a}	29.36^{a}	2.72^{d}	57.75^{ab}	1.45^{ab}	60.66^{a}	ND	0.27^{abc}	0.45^{abc}	372.9^{cd}	0.068	0.005	1.000	0.120	0.409	1.47	ND	0.010	0.043	0.51
ST5	5.61^{b}	5.95^{fg}	28.31^{ab}	3.61^{c}	56.53^{bc}	1.64^{ab}	56.38^{a}	ND	0.24^{cde}	0.48^{ab}	371.8^{cd}	0.079	0.009	2.572	0.364	0.611	1.68	ND	0.030	0.032	2.05
ST6	5.88^{b}	6.20^{de}	28.61^{ab}	4.51^{ab}	54.81^{c}	1.75^{ab}	48.65^{bc}	ND	0.24^{cde}	0.40^{bcde}	374.2^{c}	0.068	0.041	2.613	0.197	0.211	1.34	ND	0.041	0.045	0.73
ST7	5.56^{b}	6.05^{ef}	29.81^{a}	3.69^{c}	54.89^{c}	1.90^{ab}	45.66^{c}	ND	0.20^{ef}	0.34^{cde}	372.0^{cd}	0.071	0.062	0.176	0.131	0.032	5.70	ND	0.026	0.030	0.67
SS7	2.64^{d}	7.31^{b}	29.90^{a}	2.98^{d}	57.17^{abc}	1.47^{ab}	42.61^{c}	ND	0.25^{bcd}	0.39^{bcde}	375.1^{c}	0.041	0.036	0.097	0.275	0.510	4.87	ND	0.006	0.043	1.34
SA7	4.06^{c}	6.15^{a}	30.34^{a}	2.63^{d}	56.83^{bc}	1.58^{ab}	43.50^{c}	ND	0.19^{fg}	0.30^{de}	372.3^{cd}	0.028	0.231	0.979	0.216	0.256	6.85	ND	0.010	0.128	0.72

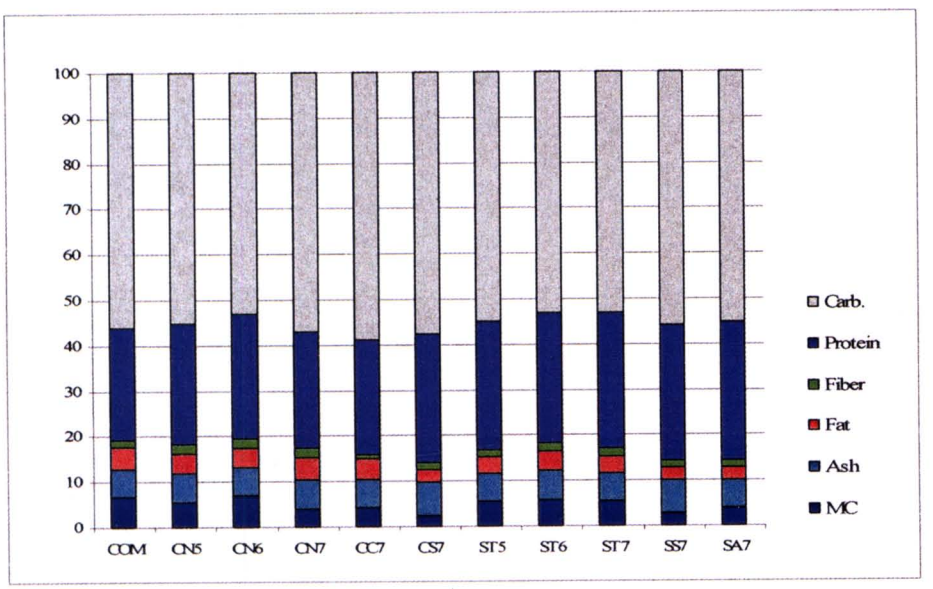
หมายเหตุ: สัญลักษณ์; [1]เส้นใยหยาบ (crude fiber); [2] สตาร์ช; ND หมายถึง ไม่พบ, COM- อาหารหนูสูตรทางการค้า; CN5, 6, 7- อาหารหนูสูตรควบคุม ทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 60 และ 70°C ตามลำดับ; ST5, 6, 7- อาหารหนูสูตรเสริมซิริซินร้อยละ 3 ทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 60 และ 70°C ตามลำดับ; CC7- อาหารหนูสูตรควบคุมเสริมเคซีนร้อยละ 3 ทำแห้งที่อุณหภูมิ 70°C; CS7- อาหารหนูสูตรควบคุมที่มีส่วนผสมของโซเดียมไบคาร์บอเนต ทำแห้งที่อุณหภูมิ 70°C; SS7- อาหารหนูสูตรเสริมซิริซินที่มีส่วนผสมของโซเดียมไบคาร์บอเนต ทำแห้งที่อุณหภูมิ 70°C; SA7- อาหารหนูสูตรเสริมซิริซิน ทำแห้งที่อุณหภูมิ 70°C และผ่านการสเตอไรส์ที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที; วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 6 องค์ประกอบทางเคมี (dry basis) ของตัวอย่างสูตรอาหารหนูเสริมซิริซินเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

Sample	Ash	Protein	Fat	Carbohydrate (%)				Salt	Sand	Energy	SD									
	(%)	(%)	(%)	Total	Fiber	Carb.[1]	Sugar[2]	(%)	(%)	(Kcal/g)	Ash	Protein	Fat	Total	Fiber	Carb.[1]	Sugar[2]	Salt	Sand	Energy
COM	6.60^{cd}	26.40^{c}	5.12^{ab}	61.87^{ab}	1.78^{ab}	37.54^{d}	ND	0.16^{c}	0.31^{e}	399.2^{a}	0.017	1.285	0.346	0.372	3.16	ND	0.016	0.117	0.117	1.73
CN5	6.72^{c}	27.88^{bc}	4.53^{b}	60.87^{abcd}	2.45^{a}	49.52^{c}	ND	0.28^{ab}	0.56^{a}	395.8^{bc}	0.028	0.918	0.475	0.709	1.00	ND	0.012	0.051	0.051	2.39
CN6	6.36^{ef}	29.83^{ab}	4.80^{ab}	59.01^{bcd}	2.06^{ab}	57.40^{ab}	ND	0.30^{a}	0.37^{cde}	398.6^{ab}	0.076	0.927	0.716	0.421	7.49	ND	0.005	0.013	0.013	3.46
CN7	6.58^{cd}	26.54^{c}	5.33^{a}	61.56^{abc}	2.16^{a}	58.93^{ab}	ND	0.31^{a}	0.43^{bcd}	400.3^{a}	0.019	0.757	0.180	0.668	0.90	ND	0.028	0.035	0.035	0.91
CC7	6.47^{de}	26.47^{c}	4.74^{ab}	62.33^{a}	1.04^{b}	59.22^{ab}	ND	0.24^{c}	0.35^{cde}	397.8^{ab}	0.053	1.898	0.396	0.088	2.36	ND	0.012	0.042	0.042	1.88
CS7	7.84^{a}	30.12^{ab}	2.79^{d}	59.25^{bcd}	1.49^{ab}	62.22^{a}	ND	0.28^{ab}	0.46^{abc}	382.6^{c}	0.005	1.026	0.123	0.419	1.50	ND	0.010	0.044	0.044	0.61
ST5	6.31^{f}	29.99^{ab}	3.82^{c}	59.89^{abcd}	1.74^{ab}	59.72^{ab}	ND	0.25^{bc}	0.51^{ab}	393.9^{c}	0.009	2.724	0.386	0.648	1.78	ND	0.032	0.033	0.033	1.89
ST6	6.58^{cd}	30.39^{ab}	4.79^{ab}	58.23^{d}	1.86^{ab}	51.69^{ac}	ND	0.26^{bc}	0.43^{bcde}	397.6^{ab}	0.044	2.776	0.210	0.224	1.43	ND	0.043	0.048	0.048	1.07
ST7	6.41^{ef}	31.56^{a}	3.91^{c}	58.12^{d}	2.01^{ab}	48.35^{c}	ND	0.22^{cd}	0.36^{cde}	393.9^{c}	0.065	0.186	0.139	0.034	6.03	ND	0.027	0.031	0.031	0.92
SS7	7.50^{b}	30.17^{ab}	3.06^{d}	58.73^{cd}	1.51^{ab}	43.76^{cd}	ND	0.25^{c}	0.40^{bcde}	385.3^{de}	0.037	0.100	0.283	0.523	5.00	ND	0.006	0.044	0.044	1.45
SA7	6.41^{ef}	31.62^{a}	2.74^{d}	59.23^{bcd}	1.65^{ab}	45.34^{c}	ND	0.19^{de}	0.31^{de}	388.0^{d}	0.241	1.021	0.225	0.267	7.14	ND	0.010	0.133	0.133	0.86

หมายเหตุ: สัญลักษณ์; [1] เส้นใยหยาบ (crude fiber); [2] สตาร์ช; ND หมายถึง ไม่พบ, COM-อาหานหนูสูตรทางการค้า;CN5,6,7-อาหารหนูสูตรควบคุม ทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 60 และ 70°C ตามลำดับ; ST5,6,7-อาหารหนูเสริมซิริซินร้อยละ 3 ทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 60 และ 70°C ตามลำดับ; CC7- อาหารหนูสูตรควบคุมเสริมเคซีนร้อยละ3 ทำแห้งที่อุณหภูมิ 70°C; CS7- อาหารหนูสูตรควบคุมที่มีส่วนผสมของโซเดียมไบคาร์บอเนต ทำแห้งที่อุณหภูมิ 70°C; SS7-อาหารหนูสูตรเสริมซิริซินที่มีส่วนผสมของโซเดียมไบคาร์บอเนต ทำแห้งที่อุณหภูมิ 70°C; SA7-อาหารหนูสูตรเสริมซิริซิน ทำแห้งที่อุณหภูมิ 70°C และผ่านการสเตอไรส์ที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที; วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความชื่อมั่นร้อยละ 95

อย่างไรก็ตามอาหารหนูสูตรควบคุมที่เติมโซเดียมไบคาร์บอเนต (CS7) และสูตรเสริมซิริซินที่ผ่านการทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 และ 70 °C (ST5 และ ST7) และผ่านการสเตอไรส์ (SA7) มีปริมาณไขมันต่ำกว่าร้อยละ 4.5 ซึ่งอาจเกิดจากปริมาณซิริซินและโซเดียมไบคาร์บอเนตที่เพิ่มลงในสูตรมีผลทำให้ปริมาณผงอาหารพื้นมีสัดส่วนลดลง ส่งผลให้ปริมาณองค์ประกอบอื่นๆ ลดลงด้วย นอกจากนี้จะเห็นว่าความร้อนที่สูงขึ้นมีแนวโน้มทำให้ปริมาณไขมันในอาหารมีค่าลดลง จะเห็นได้จากตัวอย่างสูตรอาหารหนูเสริมซิริซินที่ผ่านการสเตอไรส์มีปริมาณไขมันทั้งหมดที่เป็นองค์ประกอบต่ำกว่าอาหารหนูเสริมซิริซินที่ผลิตภายใต้สภาวะเดียวกันแต่ไม่ผ่านการสเตอร์ไรส์



รูปที่ 4 องค์ประกอบของตัวอย่างอาหารสูตรอาหารหนูเสริมซิริซิน (สัญลักษณ์ : Carb.-คาร์โบไฮเดรททั้งหมดไม่รวมเส้นใยหยาบม MC-ความชื้น)

นอกจากนี้ จะเห็นว่าจากตารางที่ 6 ตัวอย่างสูตรอาหารหนูที่ทำการศึกษา รวมถึงอาหารหนูทางการค้ามีปริมาณใยอาหารไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) แต่องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ เถ้า ไขมัน และโปรตีน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$) แสดงให้เห็นถึงผลของอุณหภูมิการทำแห้ง และสูตรการเตรียมอาหาร ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของตัวอย่างสูตรอาหารหนู อย่างไรก็ตาม ที่อุณหภูมิการทำแห้ง 60 °C ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีดังกล่าว ในตัวอย่างอาหารหนูสูตรควบคุม (CN6) และสูตรเสริมซิริซิน (SN6) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ในขณะที่พบความแตกต่างกันของปริมาณองค์ประกอบทางเคมีในตัวอย่างสูตรอาหารหนูเมื่อทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 และ 70 °C ซึ่งอาจเป็นผลมาจากความแตกต่างกันของอัตราการทำแห้งในสูตรอาหารแต่ละสูตรที่มีส่วนประกอบต่างกัน ดังนั้นในการผลิตตัวอย่างอาหารหนูเสริมซิริซินและสูตรที่มีโคเลสเตอรอลสูง เพื่อใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพการป้องกันโรคมะเร็งลำไส้และโรคหลอดเลือดโดยการทำแห้งที่อุณหภูมิ 60 °C และไม่ผ่านการสเตอไรส์หลังการทำแห้ง จึงเป็นสภาวะที่เหมาะสม ซึ่งใช้ในกระบวนการผลิตต่อไป

โดยทั่วไปความต้องการสารอาหารของหนูที่ใช้ในห้องปฏิบัติการมักไม่คงที่ แต่ขึ้นอยู่กับระยะการเจริญ (Developmental state) การสืบพันธุ์ อายุ และ เพศ นอกจากนี้การออกแบบ หรือวัตถุประสงค์ของการทดลองยังมีส่วนสำคัญต่อการเลือกใช้ชนิดของอาหารและสารอาหารที่เป็นส่วนประกอบด้วย จากข้อมูลความต้องการสารอาหารของหนูที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ (Laboratory rat, *Rattus norvegicus*) ของInstitute for laboratory Animal Research หรือ ILAR (1995) ได้ทำการประมาณความต้องการอาหารที่เหมาะสมกับหนูแต่ละระยะการเจริญ และรวบรวมการศึกษาที่เกี่ยวข้อง ซึ่งแสดงให้เห็นว่า หนูทั้งเพศผู้และเพศเมียที่อยู่ในช่วงการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว (rapid growth) และหนูเพศเมียในช่วงเจริญพันธุ์และให้นม มีความต้องการไขมัน (dietary lipid) ในช่วงร้อยละ 2-5 และควรให้อาหารธรรมชาติที่มีโปรตีนรวม (crude protein) ในช่วงร้อยละ 18 – 25 เพื่อให้เพียงพอต่อการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วของหนูหลังช่วงหย่านม เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างสูตรอาหารหนูที่ใช้ในการศึกษานี้ พบว่าโปรตีนและไขมันมีปริมาณใกล้เคียงกันและอยู่ในช่วงที่กำหนด โดยตัวอย่างอาหารหนูทางการค้าที่ใช้ในการศึกษามีโปรตีนและไขมันเป็นองค์ประกอบร้อยละ 26.40 และ 5.12 ตามลำดับ (ตารางที่ 6) สำหรับตัวอย่างอาหารหนูสูตรควบคุม (CN6) และสูตรเสริมซิริซิน(ST6) มีปริมาณไขมันร้อยละ4.80 และ 4.79 ไม่แตกต่างกับอาหารหนูทางการค้า แต่มีโปรตีนสูงกว่าร้อยละ 3.34 และ 3.89 โดยน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ เนื่องจากมีการเติมโปรตีนซิริซินซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ (active ingredient) ลงในสูตรอาหารที่ต้องการศึกษาด้วย

3. การศึกษาอัตราการทำแห้ง

จากการศึกษาสภาวะการทำแห้งตัวอย่างสูตรอาหารหนูที่อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 50 60 และ 70°C พบว่าระยะเวลาการทำแห้งที่เหมาะสมเมื่อทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 หรือ 60°C คือ 27 ชั่วโมง และที่อุณหภูมิ 70 °C ใช้ระยะเวลาในการทำแห้งในช่วง 24 – 27 ชั่วโมง (ตารางที่ 7) โดยปริมาณน้ำอิสระของผลิตภัณฑ์สุดท้าย (finished product) มีค่าต่ำกว่า 0.4 ซึ่งสามารถยืดอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ได้ เนื่องจากปริมาณน้ำอิสระในช่วง 0.3 – 0.5 ปฏิกิริยาทางเคมี ได้แก่ ปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของไขมัน (lipid oxidation) การเกิดสีน้ำตาลที่ไม่ได้เกิดจากเอนไซม์ (non-enzymatic browning) และกิจกรรมต่างๆของเอนไซม์(enzymatic activity) ที่อาจมีอยู่ในผลิตภัณฑ์อาหาร มีอัตราการเปลี่ยนแปลงต่ำ รวมถึงยังสามารถยับยั้งและชลอการเจริญของจุลินทรีย์ ได้แก่ แบคทีเรีย ยีสต์ และรา ได้ดีด้วย (Grosch and Belitz,1987) สำหรับความชื้นของผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้อยู่ในช่วงร้อยละ 4 – 9 โดยสูตรที่มีการเติมโซเดียมไบคาร์บอเนตมีความชื้นต่ำที่สุด

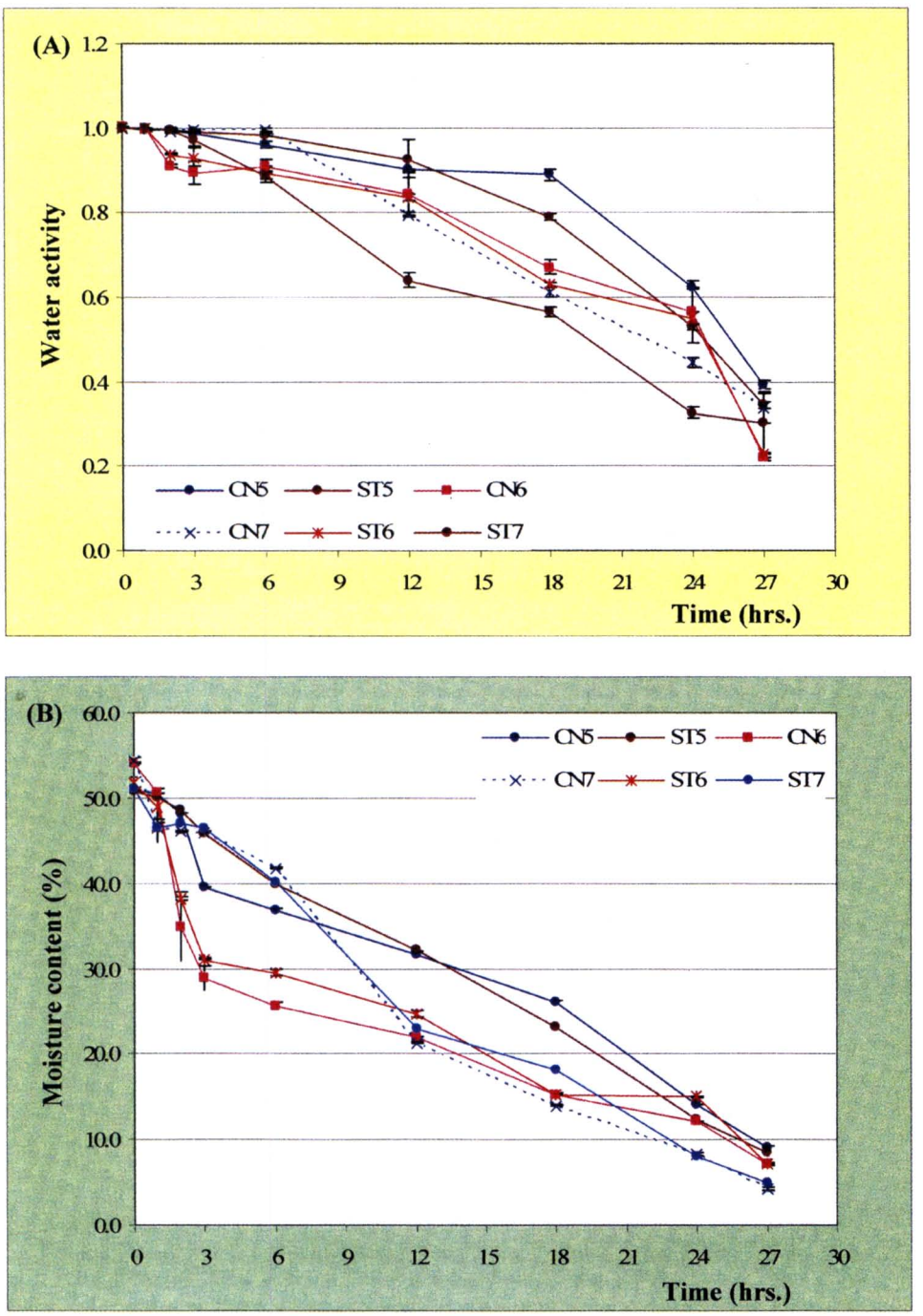
รูปที่ 5 แสดงแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของความชื้นและปริมาณน้ำอิสระในตัวอย่างอาหารหนูสูตรควบคุมและสูตรเสริมซิริซินเมื่อทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 60 และ 70 °C และที่รูปที่ 6 แสดงแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของความชื้นและปริมาณน้ำอิสระอันเนื่องจากผลของเคซีนและโซเดียมไบคาร์บอเนต

ตารางที่ 7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำอิสระและความชื้นของตัวอย่างสูตรอาหารหนูเสริมซิริซินเมื่อทำแห้งที่อุณหภูมิต่างๆ

ตัวอย่าง	เวลา	น้ำอิสระ(Water Activity,a_w)								ความชื้น (Moisture Content)			
	(ชม.)	Temp (°C)			a_w			Ave.	SD	(%)			
		1	2	3	1	2	3			1	2	Ave.	SD
CN5	0	29.5	29.4	29.4	1.001	1.002	1.000	**1.001**	0.0010	51.23	51.02	**51.13**	0.148
	1	29.9	29.9	29.9	0.999	0.989	0.995	**0.994**	0.0050	50.45	50.56	**50.51**	0.078
	2	29.8	30.0	30.0	0.996	0.996	0.992	**0.995**	0.0023	48.12	48.26	**48.19**	0.099
	3	29.9	29.9	29.9	0.989	0.990	0.985	**0.988**	0.0026	39.42	39.55	**39.49**	0.092
	6	30.4	30.1	30.2	0.956	0.967	0.954	**0.959**	0.0070	36.89	36.97	**36.93**	0.057
	12	30.4	30.4	30.5	0.900	0.898	0.903	**0.900**	0.0025	31.46	31.89	**31.68**	0.304
	18	26.9	26.9	26.6	0.880	0.885	0.905	**0.890**	0.0132	26.23	25.89	**26.06**	0.240
	24	30.2	30.2	30.3	0.624	0.618	0.623	**0.622**	0.0032	14.12	14.03	**14.08**	0.064
	27	30.1	30.4	30.1	0.402	0.389	0.387	**0.393**	0.0081	9.23	9.08	**9.16**	0.106
ST5	0	29.5	29.3	29.5	1.000	1.000	1.000	**1.000**	0.0000	50.89	50.79	**50.84**	0.071
	1	29.9	29.9	29.6	0.999	0.998	0.998	**0.998**	0.0006	50.02	50.13	**50.08**	0.078
	2	29.9	30.0	30.0	0.995	0.992	0.994	**0.994**	0.0015	48.65	48.74	**48.70**	0.064
	3	30.1	30.0	30.1	0.990	0.992	0.992	**0.991**	0.0012	45.88	46.00	**45.94**	0.085
	6	29.9	29.9	29.8	0.989	0.978	0.986	**0.984**	0.0057	39.89	40.14	**40.02**	0.177
	12	30.0	30.0	30.0	0.902	0.898	0.978	**0.926**	0.0451	32.06	32.29	**32.18**	0.163
	18	29.7	29.7	29.8	0.787	0.798	0.785	**0.790**	0.0070	23.23	23.18	**23.21**	0.035
	24	30.0	30.0	30.0	0.523	0.534	0.535	**0.531**	0.0067	12.18	12.34	**12.26**	0.113
	27	30.2	30.2	30.4	0.352	0.343	0.339	**0.345**	0.0067	8.45	8.55	**8.50**	0.071
CN6	0	28.4	28.5	29.0	1.003	1.000	1.002	**1.002**	0.0015	54.04	54.23	**54.14**	0.134
	1	29.9	30.3	30.3	0.997	0.998	0.998	**0.998**	0.0006	50.36	50.97	**50.67**	0.431
	2	30.2	30.2	30.1	0.914	0.904	0.909	**0.909**	0.0050	37.83	32.03	**34.93**	4.101
	3	30.5	30.1	30.1	0.908	0.865	0.910	**0.894**	0.0254	27.85	29.95	**28.90**	1.485
	6	31.4	30.9	30.9	0.890	0.919	0.920	**0.910**	0.0170	25.94	25.36	**25.65**	0.410
	12	31.4	30.9	30.1	0.789	0.883	0.863	**0.845**	0.0495	22.00	21.89	**21.95**	0.078
	18	30.9	30.1	30.1	0.689	0.654	0.667	**0.670**	0.0177	15.35	14.96	**15.16**	0.276
	24	29.8	31.0	30.2	0.485	0.587	0.628	**0.567**	0.0736	12.03	12.13	**12.08**	0.071
	27	29.3	25.8	29.8	0.224	0.224	0.212	**0.220**	0.0069	7.04	7.18	**7.11**	0.099
ST6	0	29.2	29.1	29.0	1.001	1.000	1.003	**1.001**	0.0015	52.23	51.49	**51.86**	0.523
	1	29.8	30.0	29.8	0.998	0.997	0.999	**0.998**	0.0010	50.12	47.84	**48.98**	1.612
	2	29.7	30.0	29.8	0.936	0.942	0.938	**0.939**	0.0031	38.12	38.29	**38.21**	0.120
	3	30.2	30.0	29.9	0.906	0.948	0.938	**0.931**	0.0219	31.18	31.02	**31.10**	0.113
	6	30.8	30.4	30.9	0.877	0.904	0.902	**0.894**	0.0150	29.85	29.20	**29.53**	0.460
	12	30.7	31.0	30.9	0.833	0.832	0.843	**0.836**	0.0061	24.50	25.02	**24.76**	0.368
	18	30.7	30.0	30.0	0.623	0.634	0.632	**0.630**	0.0059	15.36	15.29	**15.33**	0.049
	24	30.2	30.1	30.1	0.536	0.549	0.565	**0.550**	0.0145	15.02	14.89	**14.96**	0.092
	27	30.0	29.4	29.8	0.235	0.224	0.225	**0.228**	0.0061	7.07	7.24	**7.16**	0.120
CN7	0	29.5	29.3	29.4	1.003	0.999	0.999	**1.000**	0.0023	54.63	54.09	**54.36**	0.382
	1	30.3	29.9	29.5	0.998	0.997	0.999	**0.998**	0.0010	46.24	46.89	**46.57**	0.460
	2	29.9	29.8	29.8	0.998	0.990	0.990	**0.993**	0.0046	46.02	46.11	**46.07**	0.064
	3	29.5	29.7	28.9	0.996	0.993	0.994	**0.994**	0.0015	45.89	46.06	**45.98**	0.120
	6	28.8	29.9	29.9	0.997	0.987	0.996	**0.993**	0.0055	41.65	41.87	**41.76**	0.156
	12	30.9	30.2	30.5	0.787	0.799	0.797	**0.794**	0.0064	21.23	21.36	**21.30**	0.092
	18	29.9	30.1	29.9	0.623	0.602	0.611	**0.612**	0.0105	14.02	13.89	**13.96**	0.092
	24	29.6	29.8	29.9	0.432	0.456	0.444	**0.444**	0.0120	8.23	8.45	**8.34**	0.156
	27	30.5	30.2	30.1	0.365	0.296	0.350	**0.337**	0.0363	4.41	4.13	**4.27**	0.198

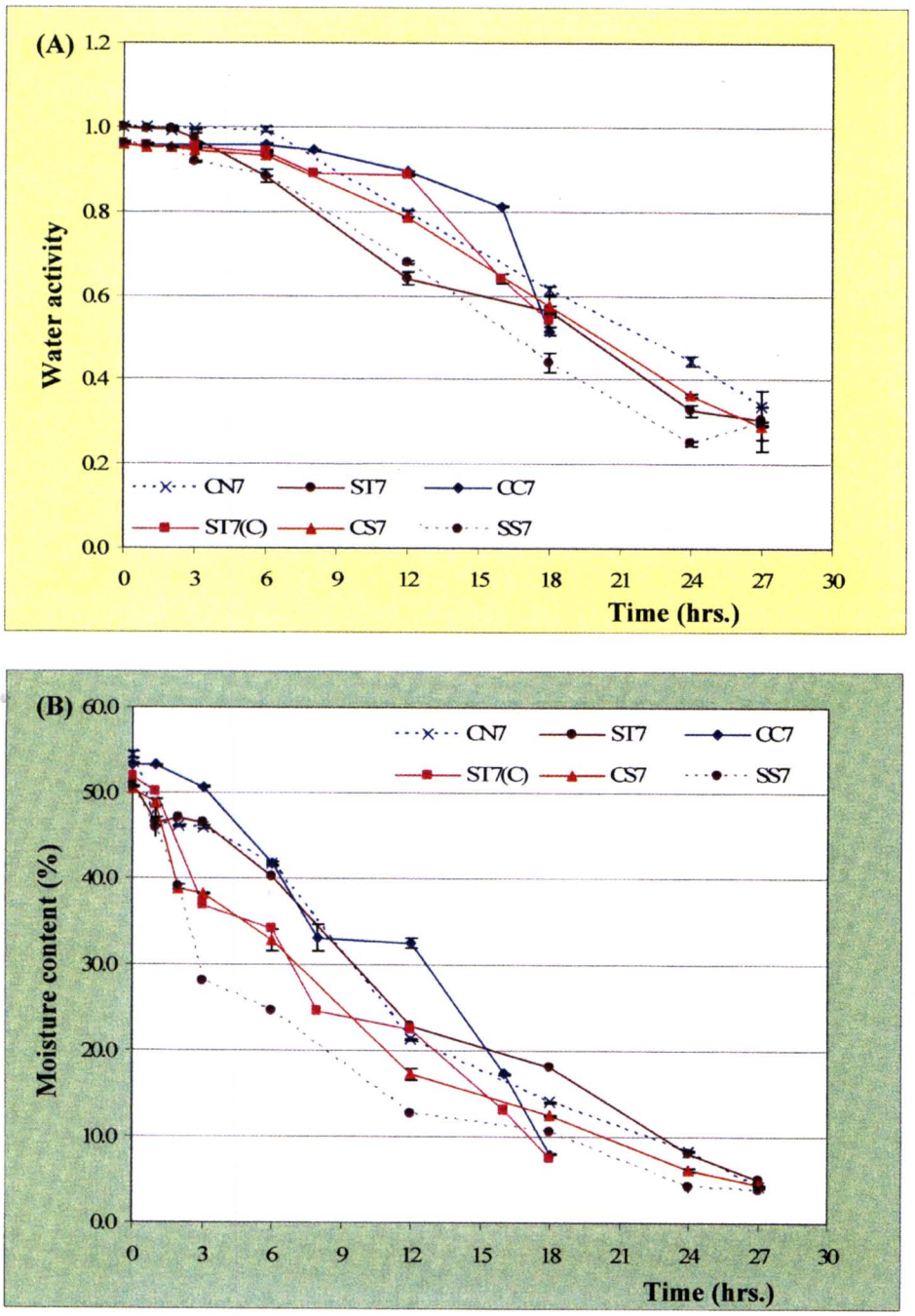
ตารางที่ 7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำอิสระและความชื้นของตัวอย่างสูตรอาหารหนูเสริมซิริซินเมื่อทำแห้งที่อุณหภูมิต่างๆ (ต่อ)

ตัวอย่าง	Time	Water Activity								Moisture Content			
	(min)	Temp.(°C)			Aw			Ave.	SD	(%)			
		1	2	3	1	2	3			1	2	Ave.	SD
ST7	0	29.6	29.4	29.8	1.001	1.000	0.999	**1.000**	0.0010	51.29	51.09	**51.19**	0.141
	1	29.6	29.9	29.7	0.999	0.997	0.995	**0.997**	0.0020	47.86	45.27	**46.57**	1.831
	2	29.3	29.1	29.2	0.992	0.999	0.997	**0.996**	0.0036	47.06	47.25	**47.16**	0.134
	3	29.4	30.0	28.4	0.976	0.955	0.982	**0.971**	0.0142	46.56	46.43	**46.50**	0.092
	6	29.2	29.3	29.2	0.889	0.897	0.868	**0.885**	0.0150	40.18	40.21	**40.20**	0.021
	12	29.9	29.8	29.8	0.623	0.656	0.642	**0.640**	0.0166	22.87	22.96	**22.92**	0.064
	18	29.4	29.3	29.3	0.555	0.563	0.577	**0.565**	0.0111	18.24	18.10	**18.17**	0.099
	24	29.5	29.5	29.6	0.313	0.339	0.328	**0.327**	0.0131	8.01	8.24	**8.13**	0.163
	27	30.5	30.1	30.2	0.224	0.325	0.362	**0.304**	0.0714	5.04	4.95	**5.00**	0.064
CC7	0	29.0	29.0	29.1	0.960	0.962	0.962	**0.961**	0.0012	53.24	53.36	**53.30**	0.085
	1	29.0	29.1	29.2	0.960	0.958	0.956	**0.958**	0.0020	53.16	53.24	**53.20**	0.057
	2	28.8	28.5	28.5	0.956	0.961	0.954	**0.957**	0.0036	50.68	50.65	**50.67**	0.021
	3	28.6	27.8	28.8	0.956	0.956	0.960	**0.957**	0.0023	41.51	41.89	**41.70**	0.269
	6	28.4	28.6	28.6	0.941	0.946	0.944	**0.944**	0.0025	34.21	32.04	**33.13**	1.534
	12	29.7	29.8	29.8	0.894	0.896	0.895	**0.895**	0.0010	32.98	32.12	**32.55**	0.608
	16	29.9	30.0	29.9	0.812	0.809	0.814	**0.812**	0.0025	17.13	17.34	**17.24**	0.148
	18	30.0	30.0	30.0	0.524	0.511	0.506	**0.514**	0.0093	7.88	8.03	**7.96**	0.106
ST7	0	28.8	28.9	29.0	0.961	0.963	0.958	**0.961**	0.0025	51.97	51.88	**51.93**	0.064
	1	29.1	29.1	29.0	0.959	0.961	0.953	**0.958**	0.0042	50.26	50.02	**50.14**	0.170
	2	25.6	28.0	28.0	0.955	0.953	0.955	**0.954**	0.0012	36.96	36.87	**36.92**	0.064
	3	29.6	29.8	29.8	0.940	0.944	0.941	**0.942**	0.0021	34.43	34.21	**34.32**	0.156
	6	30.0	29.9	30.0	0.892	0.891	0.891	**0.891**	0.0006	24.39	24.79	**24.59**	0.283
	12	30.1	30.0	30.1	0.884	0.888	0.886	**0.886**	0.0020	22.39	22.45	**22.42**	0.042
	16	30.0	30.1	30.1	0.654	0.635	0.635	**0.641**	0.0110	13.09	13.08	**13.09**	0.007
	18	30.1	30.1	30.1	0.560	0.534	0.531	**0.542**	0.0159	7.65	7.23	**7.44**	0.297
CS7	0	28.4	28.9	29.3	0.961	0.962	0.965	**0.963**	0.0021	50.55	50.78	**50.67**	0.163
	1	29.2	29.3	29.3	0.952	0.953	0.955	**0.953**	0.0015	48.59	49.06	**48.83**	0.332
	2	29.8	29.8	29.8	0.952	0.951	0.952	**0.952**	0.0006	38.73	39.08	**38.91**	0.247
	3	29.6	29.8	29.6	0.947	0.946	0.948	**0.947**	0.0010	38.07	38.28	**38.18**	0.148
	6	29.9	29.7	29.7	0.932	0.929	0.937	**0.933**	0.0040	31.97	33.70	**32.84**	1.223
	12	30.4	30.4	30.4	0.787	0.786	0.786	**0.786**	0.0006	17.64	16.79	**17.22**	0.601
	18	29.8	29.9	30.1	0.556	0.565	0.603	**0.575**	0.0249	12.36	12.45	**12.41**	0.064
	24	29.9	29.9	29.9	0.359	0.365	0.366	**0.363**	0.0038	6.25	5.96	**6.11**	0.205
	27	29.3	29.6	29.8	0.293	0.291	0.289	**0.291**	0.0020	4.46	4.30	**4.38**	0.113
SS7	0	29.4	29.1	29.1	0.962	0.962	0.961	**0.962**	0.0006	50.13	50.94	**50.54**	0.573
	1	29.2	29.3	29.4	0.959	0.954	0.956	**0.956**	0.0025	45.78	46.13	**45.96**	0.247
	2	29.8	29.8	29.4	0.949	0.948	0.948	**0.948**	0.0006	38.84	39.10	**38.97**	0.184
	3	30.0	30.0	30.0	0.917	0.916	0.917	**0.917**	0.0006	28.03	28.16	**28.10**	0.092
	6	30.1	30.1	30.1	0.884	0.883	0.882	**0.883**	0.0010	24.75	24.51	**24.63**	0.170
	12	30.3	30.3	30.3	0.684	0.680	0.676	**0.680**	0.0040	12.68	12.63	**12.66**	0.035
	18	29.9	30.1	30.3	0.423	0.466	0.432	**0.440**	0.0227	10.48	10.65	**10.57**	0.120
	24	30.0	30.2	30.3	0.253	0.249	0.245	**0.249**	0.0040	3.78	4.69	**4.24**	0.643
	27	27.0	27.6	27.8	0.304	0.256	0.334	**0.298**	0.0393	3.74	3.84	**3.79**	0.071

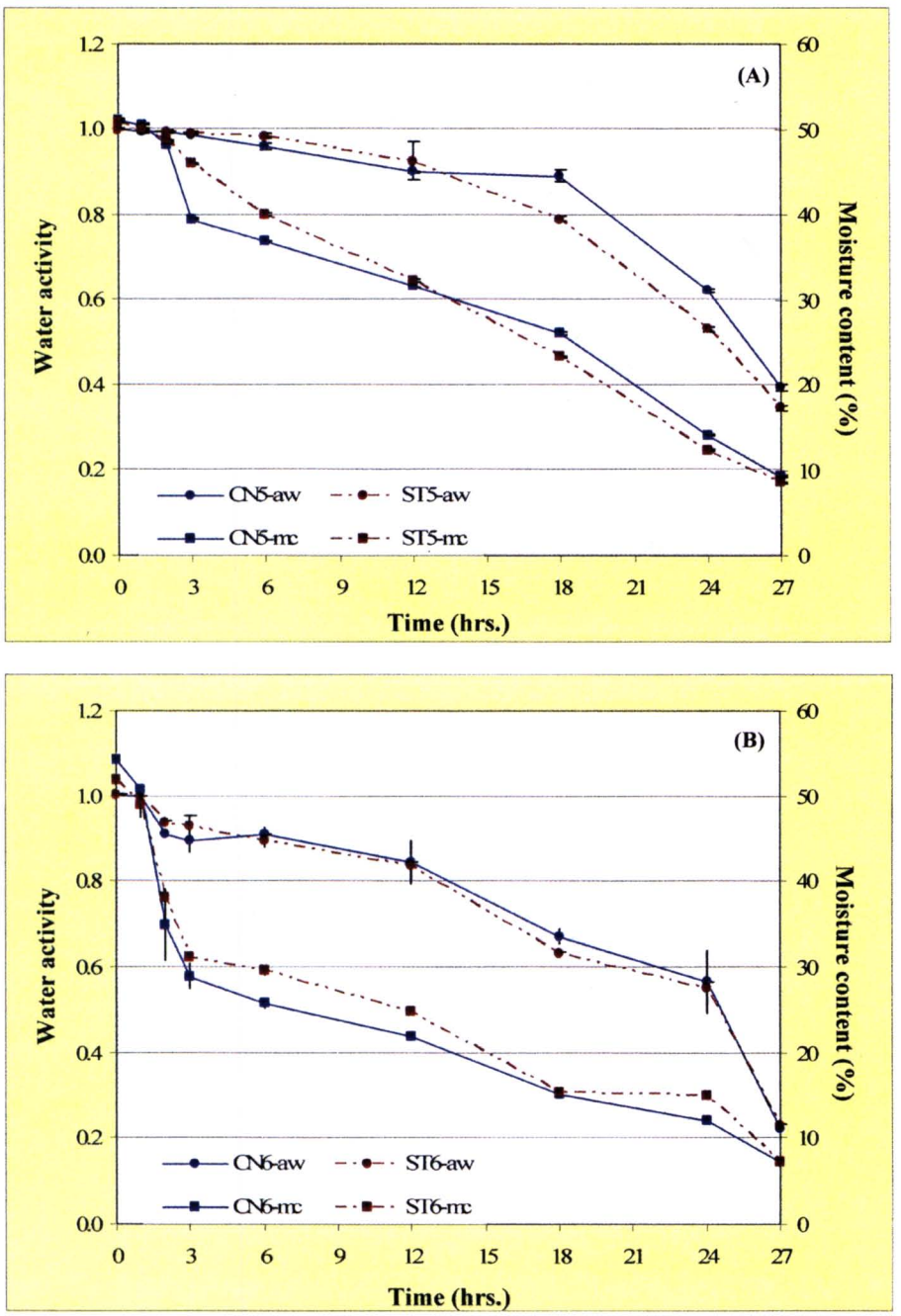


รูปที่ 5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำอิสระ (A) และความชื้น (B) ในตัวอย่างสูตรอาหารหนูเสริมซิริซิน เมื่อทำแห้งที่อุณหภูมิต่างๆ (สัญลักษณ์: CN5, CN6 และ CN7 คือ อาหารหนูสูตรพื้น ทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70°C ตามลำดับ; ST5, ST6 และ ST7 คือ อาหารหนูสูตรพื้นเสริมซิริซิน ทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70°C ตามลำดับ)

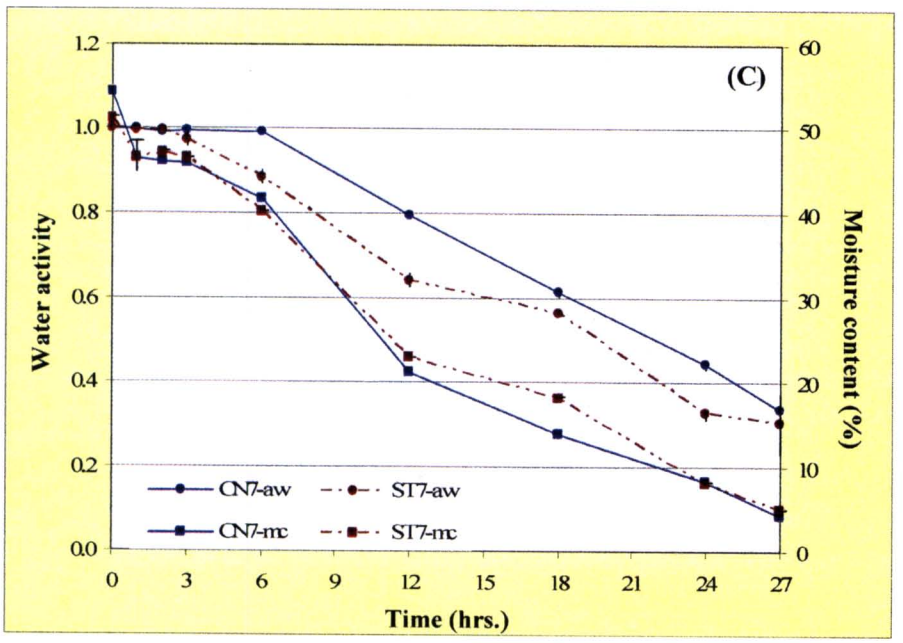
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย

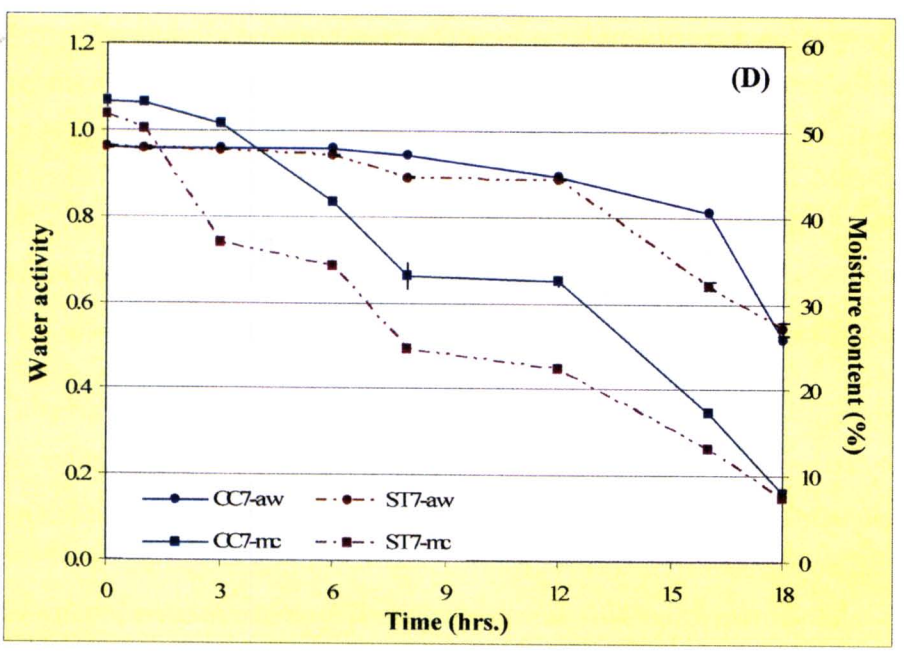


รูปที่ 6 ผลของเคซีนและโซเดียมไบคาร์บอเนตต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำอิสระและความชื้นในตัวอย่างสูตรอาหารหนูเสริมซิริซินที่ทำแห้งที่อุณหภูมิ 70°C (สัญลักษณ์: CN7 คือ อาหารหนูสูตรพื้น; CC7 คือ อาหารหนูสูตรพื้นเสริมเคซีน; CS7 คือ อาหารหนูสูตรพื้นเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต; ST7 คือ อาหารหนูสูตรพื้นเสริมซิริซิน; ST7(C) คือ อาหารหนูสูตรพื้นเสริมซิริซิน ทำแห้งที่ระยะเวลาเดียวกับตัวอย่าง CC7; SS7 คือ อาหารหนูสูตรพื้นเสริมซิริซิน เติมโซเดียมไบคาร์บอเนต)

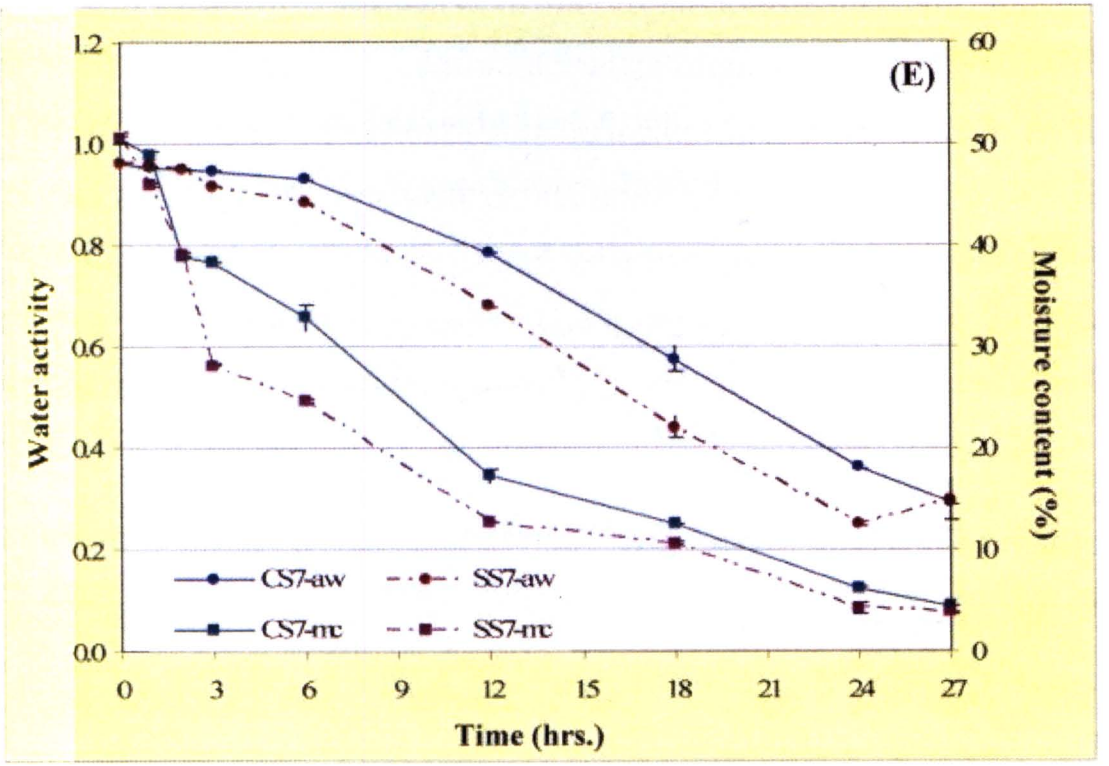


รูปที่ 7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำอิสระและความชื้นของตัวอย่างอาหารหนูสูตรควบคุมและสูตรเสริมซิริซินเมื่อทำแห้งที่อุณหภูมิต่างๆ (สัญลักษณ์: CN5, CN6 และ CN7 คือ อาหารหนูสูตรพื้น ทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70°C ตามลำดับ; CC7 คือ อาหารหนูสูตรพื้นเสริมเคซีน ทำแห้งที่อุณหภูมิ 70°C; CS7 คือ อาหารหนูสูตรพื้นเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต ทำแห้งที่อุณหภูมิ 70°C; ST5, ST6 และ ST7 คือ อาหารหนูสูตรพื้นเสริมซิริซิน ทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70°C ตามลำดับ; SS7 คือ อาหารหนูสูตรพื้นเสริมซิริซิน เติมโซเดียมไบคาร์บอเนต ทำแห้งที่อุณหภูมิ 70°C)





รูปที่ 7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำอิสระและความชื้นของตัวอย่างอาหารหนูสูตรควบคุมและสูตรเสริมซิริซินเมื่อทำแห้งที่อุณหภูมิต่างๆ (สัญลักษณ์: CN5, CN6 และ CN7 คือ อาหารหนูสูตรพื้น ทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70°C ตามลำดับ; CC7 คือ อาหารหนูสูตรพื้นเสริมเคซีน ทำแห้งที่อุณหภูมิ 70°C; CS7 คือ อาหารหนูสูตรพื้นเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต ทำแห้งที่อุณหภูมิ 70°C; ST5, ST6 และ ST7 คือ อาหารหนูสูตรพื้นเสริมซิริซิน ทำแห้งที่อุณหภูมิ 50, 60 และ 70°C ตามลำดับ; SS7 คือ อาหารหนูสูตรพื้นเสริมซิริซิน เติมโซเดียมไบคาร์บอเนต ทำแห้งที่อุณหภูมิ 70°C) **(ต่อ)**



รูปที่ 7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำอิสระและความชื้นของตัวอย่างอาหารหนูสูตรควบคุมและสูตรเสริมซิริซิน เมื่อทำแห้งที่อุณหภูมิต่างๆ (สัญลักษณ์: CN5, CN6 และ CN7 คือ อาหารหนูสูตรพื้น ทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 60 และ 70°C ตามลำดับ; CC7 คือ อาหารหนูสูตรพื้นเสริมเคซีน ทำแห้งที่อุณหภูมิ 70°C; CS7 คือ อาหารหนูสูตรพื้นเติมโวเดียมไบคาร์บอเนต ทำแห้งที่อุณหภูมิ 70°C; ST5, ST6 และ ST7 คือ อาหารหนูสูตรพื้นเสริมซิริซิน ทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 60 และ 70°C ตามลำดับ; SS7 คือ อาหารหนูสูตรเสริมซิริซิน เติมโซเดียมไบคาร์บอเนต ทำแห้งที่อุณหภูมิ 70°C) **(ต่อ)**

เมื่อเปรียบเทียบตัวอย่างสูตรอาหารหนูเสริมซิริซินกับสูตรควบคุม ในแต่ละอุณหภูมิการทำแห้งจากจากรูปที่ 7 พบว่า เมื่อทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 และ 60°C (รูปที่ 7A และ 7B) ตัวอย่างสูตรอาหารหนูเสริมซิริซินและสูตรควบคุมมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงความชื้นและน้ำอิสระใกล้เคียงกัน ในขณะที่อุณหภูมิ 70°C (รูปที่ 7C) ความชื้นและน้ำอิสระในตัวอย่างอาหารหนูเสริมซิริซินมีแนวโน้มลดลงมากกว่าสูตรควบคุมที่อุณหภูมิเดียวกัน ซึ่งอาจเกิดจากผลของซิริซินที่เป็นส่วนประกอบในตัวอย่างอาหาร ทั้งนี้เนื่องจากซิริซินที่กระจายตัวอยู่ภายในส่วนผสมมีความสามารถในการดูดซับน้ำได้ดี และในขณะเดียวกันก็สามารถเกิดเจลได้ดีด้วย ดังนั้นในระหว่างการผสมสูตรอาหารก่อนการทำแห้ง เนื้ออาหารจึงมีลักษณะนิ่ม และมีการเกาะตัวกันได้ดีกว่าสูตรควบคุมซึ่งมีลักษณะเนื้ออาหารที่แห้งและมีลักษณะรูพรุนน้อยกว่า ดังนั้นระหว่างการระเหยน้ำออกในกระบวนการทำแห้ง จึงเป็นผลให้เกิดการถ่ายเทของน้ำภายในตัวอย่างสูตรอาหารหนูเสริมซิริซินสู่อากาศร้อนภายนอกได้ดีกว่า

เนื่องจากอาหารหนูเสริมซิริซินมีปริมาณโปรตีนจากสัดส่วนขององค์ประกอบรวมสูงกว่าสูตรพื้นที่ใช้เป็นสูตรควบคุมประมาณร้อยละ 3 ดังนั้นเพื่อเป็นการควบคุมองค์ประกอบทางเคมีโดยรวมของสูตรอาหารต่างๆ ที่จะใช้ในการศึกษาในสัตว์ทดลองให้มรความใกล้เคียงกันมากที่สุด ในการศึกษานี้จึงทำการเพิ่มปริมาณโปรตีนเคซีนที่เป็นส่วนประกอบในอาหารสูตรพื้นเพิ่มขึ้นอีกประมาณร้อยละ 3 เท่ากับปริมาณซิริซินที่เสริมลงในสูตรทดลอง โดยจากการผลิตตัวอย่างอาหารหนูสูตรควบคุมและเพิ่มเคซีนในปริมาณดังกล่าว (CC7) เปรียบเทียบกับอาหารหนูสูตรควบคุมที่ไม่เพิ่มเคซีน (CN7) พบว่า การเติมเคซีนมีผลทำให้อัตราการทำแห้งลดลง ดังแสดงในรูปที่ 7C และ 7D

ตารางที่ 8 ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของอัตราการทำแห้งของตัวอย่างสูตรอาหารหนูเสริมซิริซินที่อุณหภูมิต่างๆ

Drying Temp. ^{0}C	Sample	Regression correlation (Moisture content)			Regression correlation (Water activity)		
		Slop	Intercept	RSQ	Slop	Intercept	RSQ
50	CN5	-1.454	49.158	0.9650	-0.019	1.051	0.8191
	ST5	-1.587	51.034	0.9979	-0.022	1.066	0.8809
60	CN6	-1.404	42.347	0.7929	-0.023	1.016	0.8755
	ST6	-1.375	43.302	0.8617	-0.024	1.026	0.9145
70	CN7	-1.822	50.227	0.9649	-0.025	1.058	0.9724
	CC7	-2.447	55.791	0.9634	-0.018	1.021	0.6423
	CS7	-1.677	45.051	0.9361	-0.026	1.018	0.9690
	ST7	-1.740	49.736	0.9812	-0.028	1.030	0.9871
	ST7*	-2.332	48.759	0.9544	-0.022	1.020	0.8130
	SS7	-1.584	40.750	0.8535	-0.028	0.997	0.9770

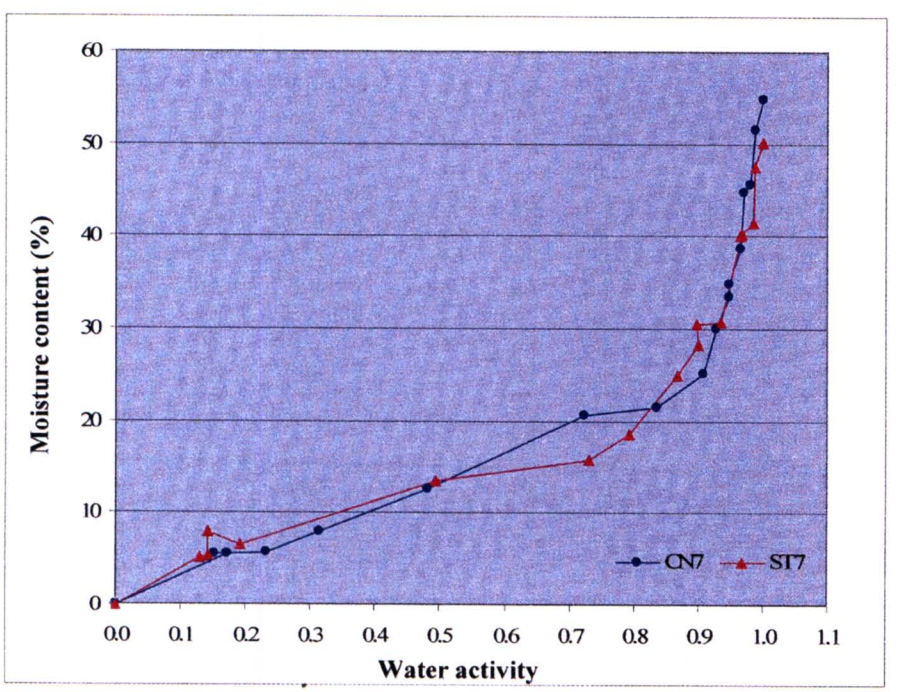
หมายเหตุ:* อาหารหนูสูตรเสริมซิริซิน (ST7) ชุดอัตราการเปรียบเทียบการทำแห้งกับอาหารหนูสูตรควบคุมที่เติมโซเดียมไบคาร์บอเนต (CC7)

ตารางที่ 8 แสดงการคำนวณอัตราการทำแห้งของตัวอย่างสูตรอาหารหนูเมื่อทำแห้งที่อุณหภูมิต่างๆ รวมถึงผลของการเติมโซเดียมไบคาร์บอเนต และการเพิ่มปริมาณเคซีนในสูตรของอาหารต่ออัตราการทำแห้งจากค่าความแปรปรวนแสดงความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของความชื้นและน้ำอิสระที่ลดลง เมื่อระยะเวลาการทำแห้งเพิ่มขึ้น พบว่า การเปลี่ยนแปลงความชื้นและน้ำอิสระระหว่างการทำแห้งมีแนวโน้มความสัมพันธ์เชิงเส้นตรง อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงของความชื้นและน้ำอิสระโดยรวมมีการลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 3 ชั่วโมงแรก และเริ่มมีการชะลอตัวในช่วงหลัง ส่งผลให้ค่าความแปรปรวนของตัวอย่างอาหารบางสูตรมีค่าต่ำกว่า 0.9 ซึ่งอาจเกิดจากการทำแห้งทั้งสองช่วงมีอัตราเร็วที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ในช่วงแรกการทำแห้งมีอัตราเร็วมากกว่าช่วงที่สอง เนื่องจากเป็นการระเหยน้ำในส่วนของน้ำอิสระ (free water) หรือ mobile water ออกจากตัวอย่างอาหาร (Walstra, 2003) ประกอบกับในช่วงแรกตัวอย่างอาหารยังมีความชื้นสูงทำให้เกิดความแตกต่างของความชื้นภายในตัวอาหารและอากาศร้อนภายนอกค่อนข้างสูง ทำให้การแพร่ของน้ำจาก

ภายในตัวอาหารสู่อากาศเกิดขึ้นได้ดีกว่า จึงส่งผลให้ความชื้นและน้ำอิสระในตัวอย่างอาหารมีแนวโน้มลดลงอย่างรวดเร็ว ในขณะที่การทำแห้งช่วงที่สอง อัตราเร็วของการทำแห้งมีแนวโน้มลดลง เนื่องจากน้ำอิสระส่วนใหญ่ระเหยออกจากตัวอาหารในการทำแห้งช่วงแรก ทำให้การแพร่ของน้ำออกจากตัวอย่างอาหารมีอัตราเร็วลดลง ตามความแตกต่างของความชื้นภายในตัวอาหารกับอากาศภายนอกที่ลดลง นอกจากนี้การทำแห้งช่วงที่สอง ความร้อนส่วนใหญ่สูญเสียไปกับการระเหยน้ำที่ทำอันตรกิริยา (interaction) หรือสร้างพันธะเคมีกับส่วนประกอบอื่นๆ ซึ่งเป็นส่วนของ bound water ที่ระเหยยากหรือไม่สามารถระเหยออกจากตัวอย่างอาหารได้ ทำให้อัตราเร็วของการทำแห้งในช่วงนี้มีค่าต่ำลงและเริ่มคงที่ หรือมีการชะลอตัวเมื่อระยะเวลาการทำแห้งเพิ่มขึ้น

4. การศึกษา Sorption isotherm

การศึกษาแนวโน้มของการระเหยน้ำ (Water de – sorption isotherm) ออกจากตัวอย่างอาหารหนูสูตรควบคุมและสูตรเสริมซิริซินที่อุณหภูมิ 70°C โดยใช้เครื่องทำแห้งแบบถาด (Tray dryer) แสดงสภาวะของเครื่องขณะทำการศึกษาและการเปลี่ยนแปลงความชื้นและน้ำอิสระในตารางที่ 9 และ 10 และกราฟ de- sorption isotherm ของตัวอย่างอาหารหนูสูตรควบคุมและสูตรเสริมซิริซินแสดงดังรูปที่ 8



รูปที่ 8 Water de- sorption isotherm ของตัวอย่างสูตรอาหารหนูเสริมซิริซิน (ST7) และสูตรอาหารควบคุม (CN7)

ตารางที่ 9 สภาวะของเครื่อง Tray dryer ขณะทำการศึกษา sorption isotherm ของตัวอย่างสูตรอาหารหนูเสริมซิริซินและสูตรควบคุมที่ระยะเวลาต่างๆ

ตัวอย่าง	เวลา (ชม.)	อุณหภูมิอากาศขาเข้า (°C)				อุณหภูมิอากาศขาออก (°C)				ความเร็วลม (air flow) (m/s)	
		กระเปาะเปียก		กระเปาะแห้ง		กระเปาะเปียก		กระเปาะแห้ง			
		R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2	R1	R2
CN	0.0	59	68	69	40	60	65	68	38	0.50	0.40
	0.5	58	68	70	39	58	65	68	38	0.48	0.45
	1.0	57	68	70	39	58	65	68	38	0.51	0.40
	1.5	56	68	70	39	58	65	68	36	0.47	0.39
	2.0	57	68	70	39	58	65	68	36	0.49	0.42
	2.5	57	68	70	38	58	65	68	36	0.50	0.47
	3.0	58	68	70	39	58	65	68	36	0.49	0.41
	3.5	56	68	70	39	58	65	68	35	0.48	0.47
	4.0	56	68	70	39	58	65	68	36	0.49	0.46
	5.0	56	68	70	39	56	65	68	36	0.49	0.45
	6.0	56	68	70	39	57	65	68	36	0.49	0.42
	7.0	56	68	70	38	57	65	68	36	0.49	0.43
	8.0	56	68	70	38	58	65	68	36	0.49	0.49
	10.0	-	68	-	38	-	65	-	36	-	0.41
	12.0	-	68	-	38	-	65	-	34	-	0.45
	18.0		68	70	38	58	65	68	34	0.49	0.45
ST	0.0	59	68	69	40	60	65	68	38	0.50	0.40
	0.5	58	68	70	39	58	65	68	38	0.48	0.45
	1.0	57	68	70	39	58	65	68	38	0.51	0.40
	1.5	56	68	70	39	58	65	68	36	0.47	0.39
	2.0	57	68	70	39	58	65	68	36	0.49	0.42
	2.5	57	68	70	38	58	65	68	36	0.50	0.47
	3.0	58	68	70	39	58	65	68	36	0.49	0.41
	3.5	56	68	70	39	58	65	68	35	0.48	0.47
	4.0	56	68	70	39	58	65	68	36	0.49	0.46
	5.0	56	68	70	39	56	65	68	36	0.49	0.45
	6.0	56	68	70	39	57	65	68	36	0.49	0.42
	7.0	56	68	70	38	57	65	68	36	0.49	0.43
	8.0	56	68	70	38	58	65	68	36	0.49	0.49
	10.0	-	68	-	38	-	65	-	36	-	0.41
	12.0	-	68	-	38	-	65	-	34	-	0.45
	18.0	56	68	70	38	58	65	68	34	0.49	0.45

ตารางที่ 10 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำอิสระและความชื้นขณะทำการศึกษา Sorption isotherm ของตัวอย่างสูตรอาหารหนูเสริมซิริซินและสูตรควบคุมที่อุณหภูมิ 70 °C

ตัวอย่าง	เวลา	อุณหภูมิตัวอย่าง (°C)						น้ำอิสระ (Water Activity)								ความชื้น (Moisture Content)					
	(ชม.)	R1			R2			R1			R2			Ave.	SD	R1		R2		Ave.	SD
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	1	2	3			1	2	1	2		
CN	0.0	29.1	29.0	28.7	29.4	29.3	29.4	1.003	0.999	1.000	1.000	1.002	1.000	**1.001**	0.0015	54.13	54.33	54.04	56.79	**54.82**	1.317
	0.5	30.0	29.4	29.5	30.0	29.4	30.1	0.982	0.983	0.983	0.998	0.989	0.999	**0.989**	0.0078	51.86	51.96	50.97	51.03	**51.46**	0.528
	1.0	29.5	29.8	29.5	31.2	28.7	30.3	0.972	0.987	0.965	0.966	0.993	0.997	**0.980**	0.0141	44.69	44.32	46.62	46.88	**45.63**	1.309
	1.5	36.4	30.1	29.5	30.7	30.6	30.6	0.949	0.958	0.969	0.962	0.989	0.988	**0.969**	0.0163	47.70	43.21	44.13	43.65	**44.67**	2.053
	2.0	29.5	30.1	29.6	30.3	30.8	30.0	0.951	0.964	0.941	0.962	0.997	0.981	**0.966**	0.0203	39.24	39.12	39.02	37.35	**38.68**	0.893
	2.5	29.5	29.3	28.3	30.8	29.9	29.5	0.937	0.948	0.965	0.917	0.961	0.956	**0.947**	0.0179	32.64	33.13	37.86	35.98	**34.90**	2.461
	3.0	29.5	29.3	29.4	30.7	30.1	29.5	0.938	0.948	0.930	0.968	0.948	0.954	**0.948**	0.0131	30.83	30.33	36.65	36.15	**33.49**	3.373
	3.5	29.7	29.8	30.0	31.0	30.8	29.8	0.928	0.928	0.920	0.928	0.931	0.939	**0.929**	0.0061	26.88	26.78	32.01	34.23	**29.98**	3.743
	4.0	29.8	30.0	29.6	30.6	29.9	29.6	0.904	0.898	0.914	0.901	0.912	0.923	**0.909**	0.0094	24.26	24.38	26.49	25.16	**25.07**	1.026
	5.0	29.7	29.3	29.6	29.2	29.3	29.5	0.805	0.792	0.824	0.843	0.856	0.900	**0.837**	0.0389	20.65	20.89	22.53	22.17	**21.56**	0.929
	6.0	29.7	28.6	25.4	29.2	28.7	28.9	0.792	0.767	0.521	0.830	0.606	0.829	**0.724**	0.1295	20.12	20.54	20.24	21.56	**20.62**	0.654
	7.0	30.0	30.3	30.0	29.7	28.9	28.8	0.264	0.193	0.200	0.704	0.755	0.778	**0.482**	0.2905	9.01	8.88	16.24	16.56	**12.67**	4.306
	8.0	29.3	30.0	29.9	29.5	29.3	29.6	.	0.192	0.189	0.143	0.483	0.570	**0.315**	0.1961	8.24	8.07	8.14	7.49	**7.99**	0.337
	10.0	.	.	.	29.7	29.6	29.4	.	.	.	0.194	0.123	0.380	**0.232**	0.1327	.	.	5.80	5.78	**5.79**	0.014
	12.0	.	.	.	29.5	29.4	31.0	.	.	.	0.118	0.141	0.200	**0.153**	0.0423	.	.	5.63	5.48	**5.56**	0.106
	18.0	29.1	29.6	30.0	31.6	31.6	31.3	0.192	0.192	0.193	0.115	0.125	0.212	**0.172**	0.0407	5.92	6.12	5.15	5.23	**5.61**	0.487
ST	0.0	29.6	29.1	28.3	30.1	30.0	30.0	1.001	0.998	1.002	0.999	1.003	1.003	**1.001**	0.0021	49.54	49.58	50.07	51.34	**50.13**	0.840
	0.5	29.2	29.3	29.7	31.0	29.6	29.6	0.989	0.989	0.978	0.983	0.994	0.995	**0.988**	0.0065	45.42	45.02	49.52	50.23	**47.55**	2.708
	1.0	29.4	29.5	29.3	30.8	29.4	29.5	0.971	0.985	0.984	0.988	0.989	0.991	**0.985**	0.0072	39.27	39.02	45.16	42.36	**41.45**	2.901
	1.5	29.9	29.5	29.9	30.8	29.3	29.6	0.948	0.978	0.954	0.954	0.972	0.988	**0.966**	0.0160	39.01	38.78	41.72	41.02	**40.13**	1.460
	2.0	29.8	30.2	29.9	30.3	29.6	29.5	0.965	0.967	0.954	0.970	0.965	0.979	**0.967**	0.0081	37.20	36.89	45.89	41.02	**40.25**	4.203
	2.5	29.9	29.1	29.9	30.4	29.6	29.6	0.930	0.972	0.948	0.896	0.920	0.953	**0.937**	0.0269	30.25	30.12	31.47	30.89	**30.68**	0.624
	3.0	29.6	29.8	29.7	30.7	29.9	29.7	0.937	0.889	0.859	0.886	0.898	0.925	**0.899**	0.0282	31.89	30.01	29.65	30.69	**30.56**	0.986
	3.5	29.7	29.6	29.7	30.2	30.1	29.9	0.940	0.878	0.900	0.879	0.898	0.902	**0.900**	0.0225	31.23	31.36	22.13	28.12	**28.21**	4.321
	4.0	29.8	29.0	29.6	30.1	29.1	30.1	0.885	0.795	0.881	0.867	0.878	0.898	**0.867**	0.0368	22.06	22.34	28.80	26.34	**24.89**	3.261
	5.0	29.2	30.6	29.0	29.4	29.8	29.9	0.853	0.585	0.789	0.814	0.846	0.865	**0.792**	0.1052	18.98	19.17	14.48	21.30	**18.48**	2.868
	6.0	29.8	30.3	29.0	29.7	30.0	29.7	0.575	0.554	0.789	0.863	0.803	0.805	**0.732**	0.1320	18.54	18.23	13.31	12.89	**15.74**	3.059
	7.0	29.3	30.6	30.0	29.4	28.8	29.7	0.443	0.138	0.595	0.554	0.647	0.589	**0.494**	0.1874	15.23	15.01	12.33	11.56	**13.54**	1.867
	8.0	30.3	30.1	30.2	29.6	29.1	29.8	0.219	0.132	0.189	0.153	0.231	0.234	**0.193**	0.0428	6.24	6.23	6.84	6.75	**6.52**	0.325
	10.0	.	.	.	29.2	29.8	29.9	.	.	.	0.142	0.123	0.165	**0.143**	0.0210	.	.	7.69	8.32	**8.01**	0.445
	12.0	.	.	.	29.5	29.3	30.0	.	.	.	0.144	0.141	0.143	**0.143**	0.0015	.	.	5.34	5.43	**5.39**	0.064
	18.0	30.0	30.1	30.0	29.6	29.2	29.8	0.128	0.133	0.132	0.142	0.115	0.134	**0.131**	0.0089	5.02	5.24	5.24	5.09	**5.15**	0.111

5. ลักษณะและองค์ประกอบทางเคมีของตัวอย่างอาหารหนูที่ใช้ในการศึกษาแบบ in vivo

ตัวอย่างอาหารหนูที่ผลิตเพื่อใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพการป้องกันมะเร็งลำไส้ และโรคหลอดเลือดในสัตว์ทดลองรวมทั้งหมด 6 สูตร ได้แก่ สูตรควบคุม (CC) สูตรเสริมซิริซินชนิด A (SA) สูตรเสริมซิริซินชนิด B (SB) สูตรเสริมซิริซินชนิด C (SC) สูตรควบคุมที่มีปริมาณโคเลสเตอรอลสูง (HC) และสูตรเสริมซิริซินชนิด B ที่มีปริมาณคอลเลสเตอรอลสูง (HB) ลักษณะทั่วไปของตัวอย่างอาหารเป็นรูปทรงสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ มีขนาดประมาณ 1.5 x 1.5 x 1.5 ลูกบาศก์มิลลิเมตร สีน้ำตาลเข้ม เนื้อสัมผัสแข็ง มีรูพรุนภายในเนื้ออาหาร โดยอาหารสูตรที่มีการเสริมซิริซินมีลักษณะเป็นรูพรุนมากกว่าสูตรควบคุมที่ใช้เคซีน ซึ่งอาจเกิดจากซิริซินมีคุนสมบัติในการอุ้มน้ำและดูดซับน้ำไว้ในโครงสร้างของโครงข่ายได้ดี ทำให้อาหารระหว่างการผสมและขึ้นรูปมีลักษณะนิ่ม หรือมีลักษณะการอัดแน่นของเนื้ออาหารน้อยกว่าสูตรควบคุม ดังนั้นจึงอาจกล่าวได้ว่า โปรตีนซิริซินมีบทบาทในการเพิ่มโครงข่ายของเนื้ออาหารและการกระจายตัวของน้ำในเนื้ออาหาร เมื่อน้ำภายในชิ้นอาหารแพร่หรือระเหยออกสู่อากาศร้อนภายนอกในขั้นตอนการทำแห้งอาหารหนูสูตรเสริมซิริซิน จึงยังคงมีลักษณะของรูพรุนภายในเนื้ออาหารมากกว่าสูตรที่ไม่มีการเติมโปรตีนชนิดนี้

ตารางที่ 11 และ 12 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของตัวอย่างสูตรอาหารหนูเสริมซิริซินและสูตรเสริมซิริซินที่มีปริมาณโคเลสเตอรอลสูง เมื่อคำนวณร้อยละองค์ประกอบจากน้ำหนักแห้ง และน้ำหนักเปียกตามลำดับ จากการคำนวณปริมาณพลังงานโดยน้ำหนักเปียก พบว่า อาหารหนูที่ใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพการป้องกันโรคมะเร็งลำไส้และโรคหลอดเลือด น้ำหนัก 1 กรัม ให้พลังงานโดยประมาณในช่วง 372-377 Kcal และ 380-381 Kcal ตามลำดับ สำหรับตัวอย่างอาหารหนูสูตรโคเลสเตอรอลสูงที่มีการเติมโคเลสเตอรอลในสูตรให้มีปริมาณร้อยละ 1 มีองค์ประกอบทางเคมีได้แก่ โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรท รวมถึงพลังงาน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ปริมาณเถ้าในตัวอย่างอาหารหนูเสริมซิริซิน (HB) ต่ำกว่าสูตรควบคุม (HC) ประมาณร้อยละ 0.4 เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารหนูสูตรควบคุม (CC) ที่ไม่มีการเติมโคเลสเตอรอล พบว่า ปริมาณเถ้า โปรตีน คาร์โบไฮเดรท และพลังงาน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นไขมันในตัวอย่างอาหารสูตรควบคุมที่ไม่มีการเติมโคเลสเตอรอล มีปริมาณต่ำกว่าสูตรที่มีการเติมโคเลสเตอรอลร้อยละ 0.77-1.20 โดยน้ำหนักแห้ง หรือร้อยละ 0.65-1.13 โดยน้ำหนักเปียก สำหรับตัวอย่างอาหารหนูเสริมซิริซินที่ใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพการป้องกันโรคมะเร็งลำไส้ทั้ง 4 สูตร คือ อาหารหนูสูตรควบคุมซึ่งเสริมโปรตีนเคซีนร้อยละ 3 (CC) และสูตรเสริมโปรตีนซิริซินร้อยละ 3 ได้แก่ ซิริซิน A, B และ C ที่มีขนาดโมเลกุลแตกต่างกัน (SA,SB และSC ตามลำดับ) พบว่า สูตรเสริมซิริซินชนิด B และ C มีโปรตีนเป็นองค์ประกอบไม่แตกต่างกัน แต่มีแนวโน้มสูงกว่าอาหารหนูสูตรควบคุมและสูตรที่เสริมซิริซินชนิด A ซึ่งเป็นโปรตีนชนิดที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่ที่สุด อยู่ในช่วงร้อยละ 0.76-1.45

ตารางที่ 11 องค์ประกอบทางเคมี (dry basis) ของตัวอย่างสูตรอาหารหนูเสริมซิริซินและสูตรที่มีปริมาณโคเลสเตอรอลสูง เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

Sample	Ash (%)	Protein (%)	Fat (%)	Carbohydrate (%)	Energy (Kcal/g)	SD				
						Ash	Protein	Fat	Carbohydrate	Energy
CC	6.94 ^{a}	27.60 ^{c}	4.54 ^{c}	60.92 ^{a}	394.52 ^{bc}	0.038	0.305	0.130	0.107	0.993
SA	6.73 ^{b}	28.27 ^{c}	3.68 ^{d}	61.32 ^{a}	389.81 ^{c}	0.161	1.264	0.087	0.402	2.561
SB	6.43 ^{c}	31.89 ^{a}	5.13 ^{bc}	56.56 ^{b}	399.54 ^{ab}	0.025	0.299	0.301	0.562	0.554
SC	6.42 ^{c}	30.81 ^{ab}	4.80 ^{c}	57.98 ^{b}	395.69 ^{abc}	0.046	1.965	0.532	2.243	6.404
HC	6.83 ^{ab}	29.46 ^{bc}	5.41 ^{ab}	58.30 ^{b}	398.75 ^{ab}	0.042	0.739	0.266	0.748	2.764
HB	6.41 ^{c}	28.58 ^{bc}	5.75 ^{a}	59.25 ^{ab}	401.47 ^{a}	0.021	1.234	0.383	1.768	2.923

หมายเหตุ : สัญลักษณ์; CC- อาหารหนูสูตรควบคุม ; SA –อาหารหนูสูตรเสริมซิริซิน A ; SB- อาหารหนูสูตรเสริมซิริซิน B ; SC- อาหารหนูสูตรเสริมซิริซิน C; HC- อาหารหนูสูตรควบคุมชนิดมีปริมาณโคเลสเตอรอลสูง ; HB – อาหารหนูสูตรเสริมซิริซิน B ชนิดมีปริมาณโคเลสเตอรอลสูง ; วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 12 องค์ประกอบทางเคมีโดยน้ำหนักเปียก (wet basis) ของตัวอย่างสูตรอาหารหนูเสริมซิริซินและสูตรที่มีปริมาณโคเลสเตอรอลสูง เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ และระยะเวลาต่างๆ

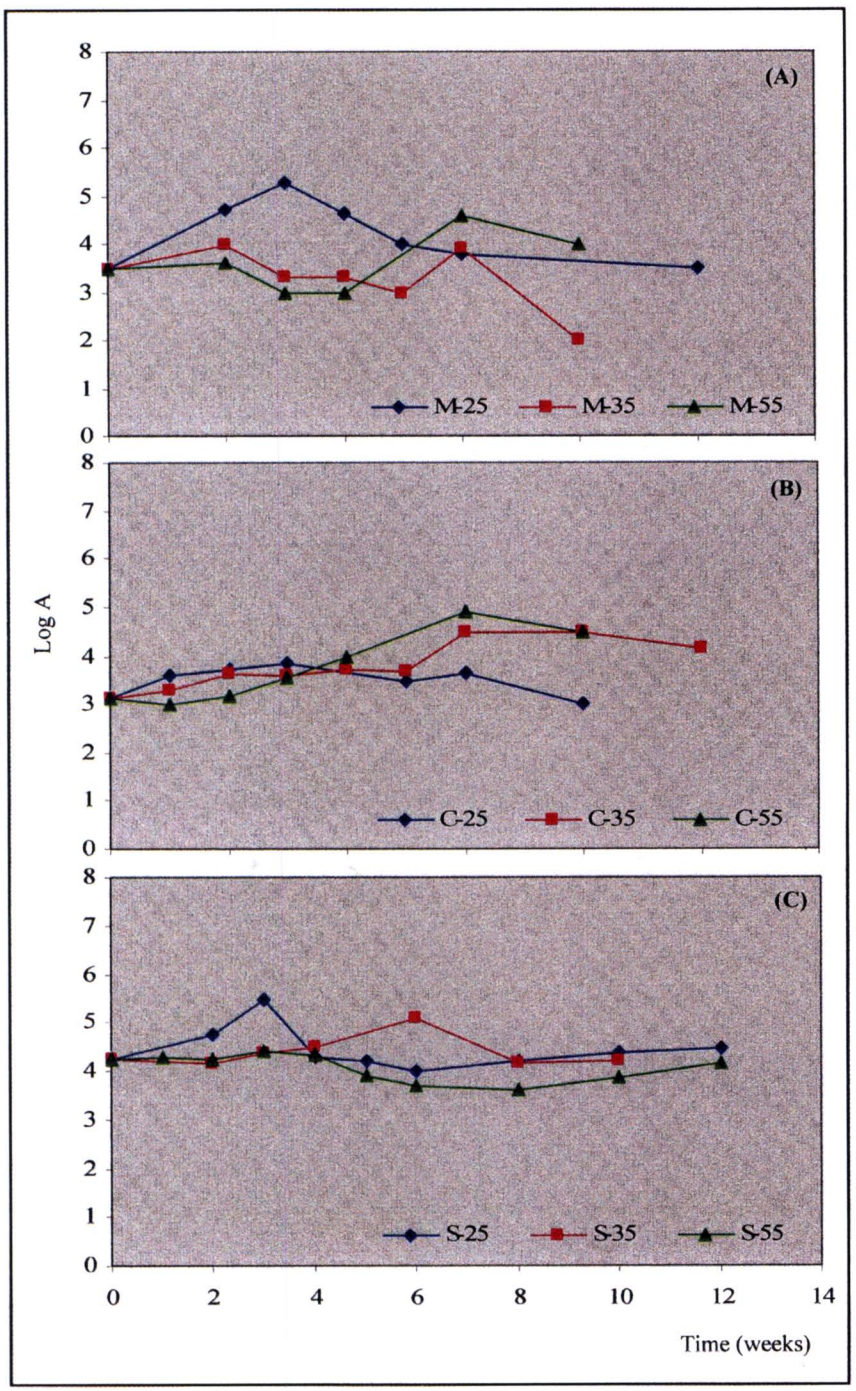
Sample	MC (%)	Ash (%)	Protein (%)	Fat (%)	Carbohydrate (%)	Energy (Kcal/g)	SD					
							MC	Ash	Protein	Fat	Carbohydrate	Energy
CC	5.32^{abc}	6.57^{a}	26.14^{c}	4.30^{c}	57.68^{ab}	373.92^{b}	0.120	0.036	0.289	0.124	0.136	0.911
SA	3.82^{c}	6.37^{b}	27.19^{bc}	3.54^{d}	59.08^{a}	376.95^{ab}	0.070	0.152	1.216	0.084	0.842	1.263
SB	6.86^{a}	6.08^{c}	29.70^{a}	4.78^{bc}	52.58^{d}	372.13^{b}	0.024	0.023	0.278	0.281	0.366	0.842
SC	5.43^{ab}	6.08^{c}	29.14^{ab}	4.54^{c}	54.82^{c}	376.65^{ab}	0.025	0.043	1.859	0.503	1.221	1.972
HC	4.78^{bc}	6.47^{ab}	28.05^{abc}	5.15^{ab}	55.55^{bc}	380.77^{a}	1.831	0.040	0.704	0.235	2.193	8.102
HB	5.69^{ab}	6.07^{c}	26.95^{bc}	5.43^{a}	55.86^{bc}	380.10^{a}	0.168	0.020	1.164	0.361	1.159	2.162

หมายเหตุ: สัญลักษณ์; CC-อาหารหนูสูตรควบคุม; SA-อาหารหนูสูตรเสริมซิริซิน A; SB-อาหารหนูสูตรเสริมซิริซิน B; SC-อาหารหนูสูตรเสริมซิริซิน C; HC-อาหารหนูสูตรควบคุมชนิดมีปริมาณคลอเรสเตอรอลสูง; HB-อาหารหนูสูตรเสริมซิริซิน B ชนิดมีปริมาณคลอเรสเตอรอลสูง; วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95

6. การศึกษาอายุการเก็บของตัวอย่างสูตรอาหารหนู

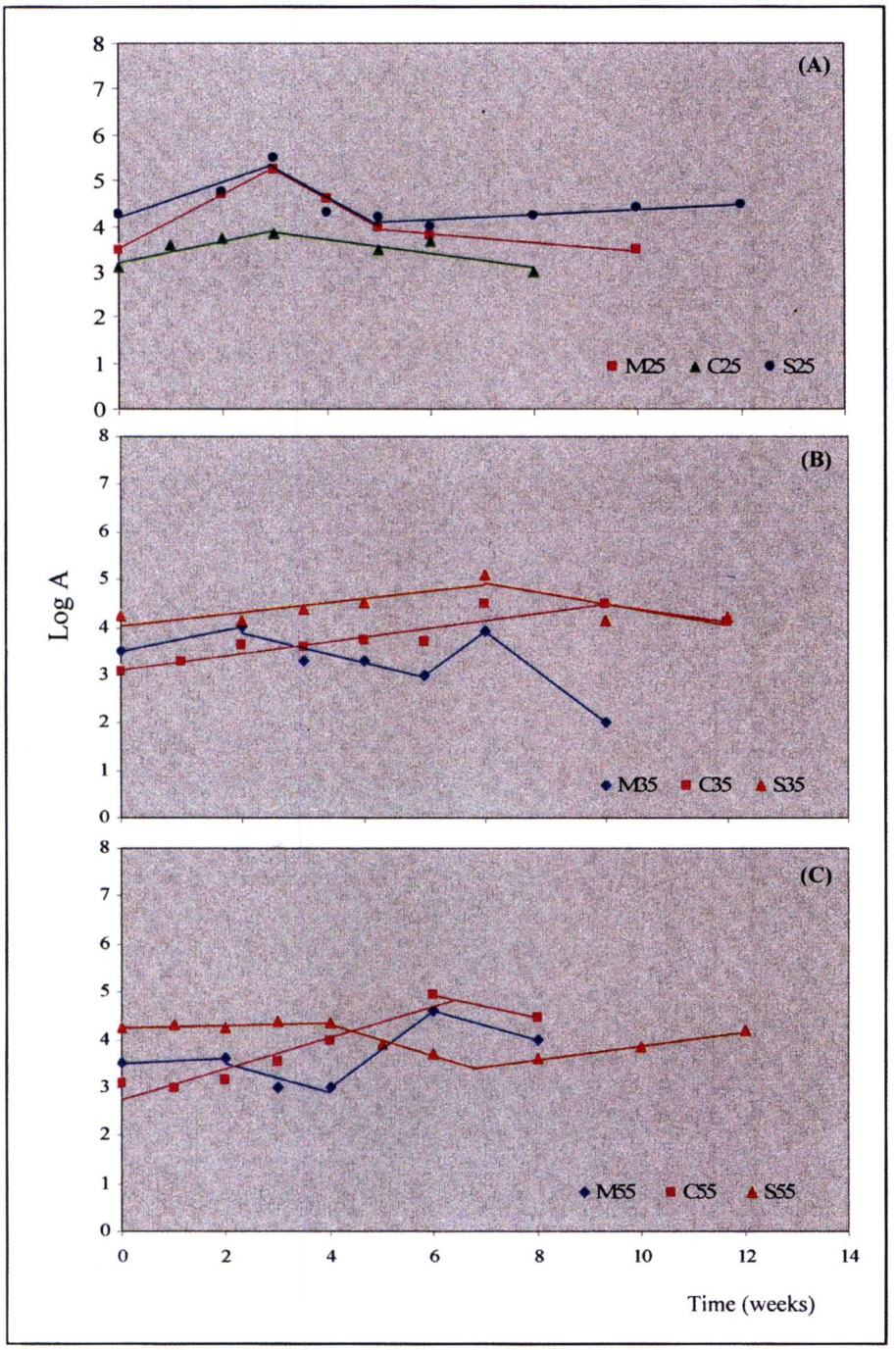
รูปที่ 9 แสดงการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างอาหารหนูทางการค้า อาหารหนูสูตรควบคุม และอาหารหนูสูตรเสริมซิริซิน เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 35 และ 55 °C เป็นเวลา 12 สัปดาห์ จะเห็นว่า ในช่วง 3-4 สัปดาห์แรก จุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างอาหารหนูทุกสูตรมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25°C ในขณะที่ที่อุณหภูมิ 35 และ 55 °C มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นในช่วงสัปดาห์ที่ 2 - 3 และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอีกครั้งในช่วงสัปดาห์ที่ 6 - 8 ซึ่งอาจเกิดจากการเจริญของจุลินทรีย์สองกลุ่มโดยจุลินทรย์กลุ่มแรกที่มีการเจริญเติบโตได้ดีคือ แบคทีเรีย และกลุ่มที่สองที่มีการเจริญในระยะเวลาต่อมาคือ ยีสต์

เมื่อหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงที่สอดคล้องกับปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง ในช่วงระยะเวลาต่างๆที่จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดมีการเปลี่ยนแปลงไป พบว่า เมื่อเก็บรักษาตัวอย่างอาหารสูตรต่างๆที่อุณหภูมิ 25 35 และ 55 ° C ในช่วงระยะเวลา 12 สัปดาห์ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดมีการเปลี่ยนแปลงดัง ตารางที่ 13 และ รูปที่ 10 ในช่วงแรกอาหารหนูทางการค้ามีอัตราเร็วของการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมดสูงที่สุด คือ 0.59 0.26 และ0.05 เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 35 และ 55°C ตามลำดับ ในขณะที่ที่อุณหภูมิ 25°C อัตราเร็วของการเจริญในตัวอย่างอาหารหนูสูตรควบคุมและสูตรเสริมซิริซิน มีค่าเท่ากับ 0.24 และ 0.38 และที่อุณหภูมิ 35 ° C มีค่าเท่ากับ 0.17 และ 0.14 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 55 ° C จุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างอาหารหนูส่วนใหญ่มีแนวโน้มชะลอตัว เมื่อเปรียบเทียบกับการเจริญที่อุณหภูมิอื่นๆซึ่งอาจเกิดจากที่อุณหภูมิสูง จุลินทรีย์ที่บาดเจ็บจากความร้อนในกระบวนการผลิตส่วนหนึ่งซึ่งเหลือรอดอยู่ในตัวอย่างอาหารไม่สามารถเจริญได้ดีที่สภาวะดังกล่าว ดังนั้นอัตราเร็วของการเจริญจึงค่อนข้างต่ำกว่าการเจริญที่อุณหภูมิอื่นๆ



รูปที่ 9 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างอาหารหนูสูตรทางค้า (M) สูตรควบคุม (C) และสูตรเสริมซิริซิน (S) เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 35 และ 55 °C ที่ระยะเวลาต่างๆ

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ ห้องสมุดงานวิจัย



รูปที่ 10 แนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างอาหารหนู สูตรทางค้า (M) สูตรควบคุม (C) และสูตรเสริมซิริซิน (S) เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 35 และ 55 °C ที่ระยะเวลาต่างๆ

ตารางที่ 13 ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงแสดงการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างอาหารหนูเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

Temp	Sample	Phase-I			Phase-II			Phase-III			Phase-IV		
(°C)		Slope	Intercept	R^2	Slope	Intercept	R^2	Slope	Intercept	R^2	Slope	Intercept	R^2
25	M	0.5914	3.5173	0.9987	-0.6336	7.1628	0.9998	-0.0970	4.4341	0.9512			
	C	0.2348	3.2190	0.8812	-0.1557	4.3505	0.8025						
	S	0.3830	4.2015	0.9163	-0.6401	7.2224	0.8045	0.0559	3.8008	0.7379			
	CNC	0.1057	2.9024	0.7937	-0.0717	3.6551	0.6553						
	SNC	0.0759	5.2369	0.8324	-0.0367	5.9800	1.0000						
	A	1.8495	0.1828	0.9715	-0.3687	4.4915	0.8449	0.1411	1.7864	0.6580			
35	M	0.2580	3.5051	1.0000	-0.3064	4.4781	0.8301	0.9031	-1.5154	1.0000	-0.9515	9.6124	1.0000
	C	0.1718	3.1352	0.8674	-0.1734	5.8643	1.0000						
	S	0.1413	4.0619	0.7523	-0.2190	6.2426	0.7021						
	CNC	0.1739	2.8856	0.8045	0.0226	3.9149	0.7123						
	SNC	0.2112	5.0938	0.8028	-0.4452	9.4060	0.9569						
	A	0.9195	0.5390	0.8070	-0.3210	5.2898	0.8049						
55	M	0.0485	3.5051	1.0000	-0.3010	4.1038	0.7500	0.8010	-0.2041	1.0000	-0.3010	6.4082	1.0000
	C	0.3212	2.7670	0.8964	-0.2298	6.3082	1.0000						
	S	0.0242	4.2717	0.4322	-0.3222	5.6017	0.9737	0.1435	2.4424	0.9951			
	CNC	0.3037	2.7368	0.9669	0.0710	3.7094	0.8506	-0.1974	5.8224	1.0000			
	SNC	-0.0066	5.4192	0.0295	-0.3428	7.3402	0.9535						
	A	1.8702	0.0000	1.0000	-0.0475	3.6973	0.4122	-0.4604	7.0812	1.0000			

หมายเหตุ : สัญลักษณ์, M- อาหารหนูสูตรทางการค้า;C- อาหารหนูสูตรควบคุม; S-อาหารหนูสูตรเสริมซิริซิน; CNC-อาหารหนูสูตรควบคุมที่มีส่วนผสมของโซเดียมไบคาร์บอเนต; SNC-อาหารหนูสูตรเสริมซิริซินที่มีส่วนผสมของโซเดียมไบคาร์บอเนต

สำหรับยีสต์และราที่ตรวจพบบนอาหารแข็ง PDA เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 3-5 วัน พบว่าในตัวอย่างอาหารหนูสูตรต่างๆ พบยีสต์และราเพียงเล็กน้อย ซึ่งอาจเกิดจากการควบคุมการปนเปื้อนระหว่างการผลิตและในตัวอย่างอาหารหนูที่ผลิตได้รวมถึงอาหารหนูทางการค้ามีค่าน้ำอิสระต่ำกว่า 0.4 ซึ่งเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญ ตารางที่ 14 แสดงจำนวนยีสต์และราที่พบในตัวอย่างอาหารหนูสูตรต่างๆ เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 35 และ 55°C ระยะเวลา 12 สัปดาห์ และรูปที่11-15 แสดงตัวอย่างลักษณะ colonies ของยีสต์และราที่ตรวจพบ

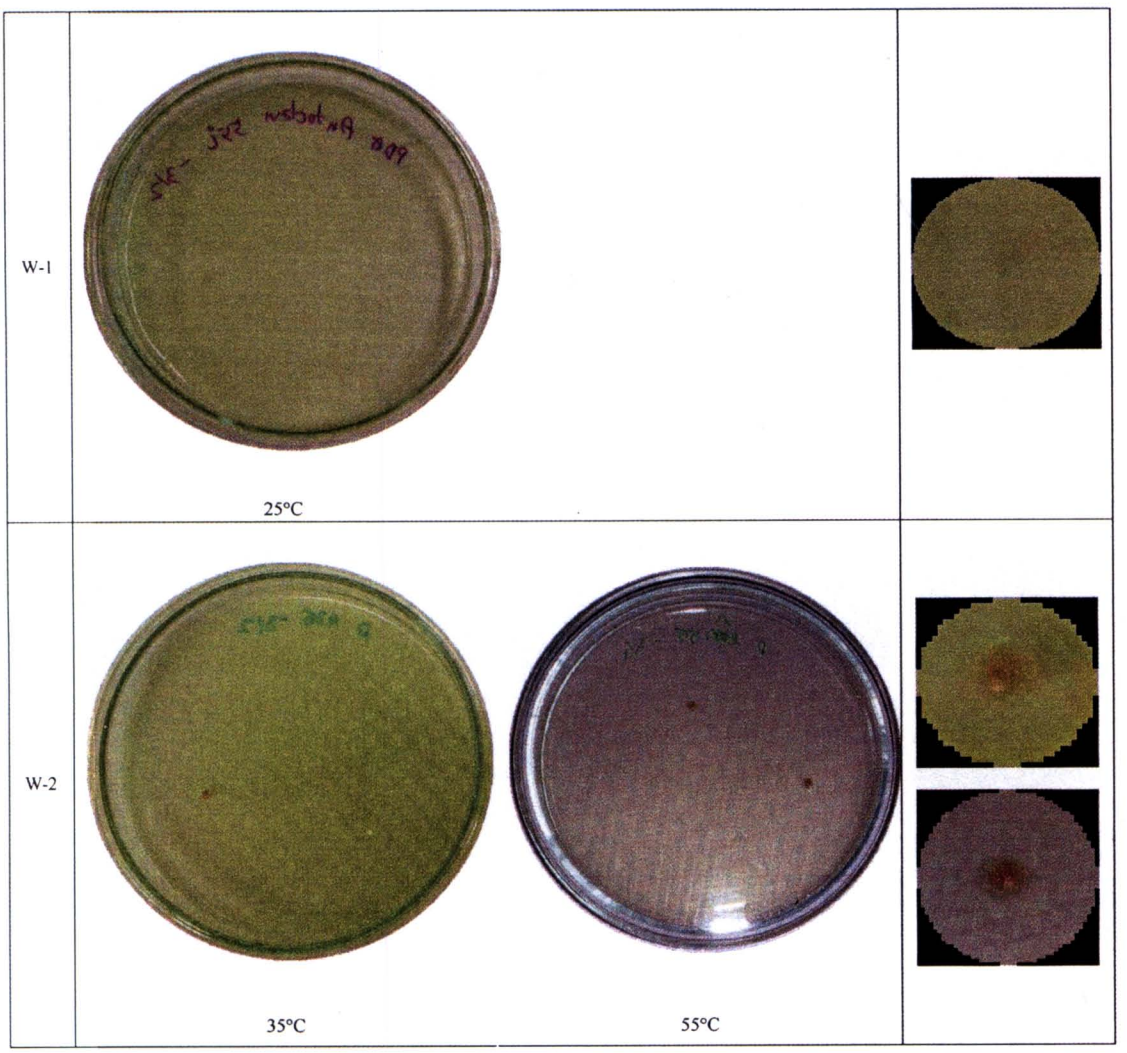
ตารางที่ 14 ปริมาณราและยีสต์ที่พบในตัวอย่างสูตรอาหารหนู เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

Time (weeks)	Yeast & Mold (colonies)																	
	25°C						35°C						55°C					
	M	C	S	CNC	SNC	A	M	C	S	CNC	SNC	A	M	C	S	CNC	SNC	A
0	200	25	15	90	10	ND	200	25	15	90	10	ND	200	25	15	90	10	ND
1	1000	ND	ND	350	ND	150	3000	100	ND	50	100	ND	2000	1100	ND	ND	100	ND
2	ND	ND	ND	ND	ND	ND	1000	ND	ND	ND	ND	50	ND	ND	ND	ND	ND	100
3	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
4	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
5	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
6	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
8	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
10	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
12	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

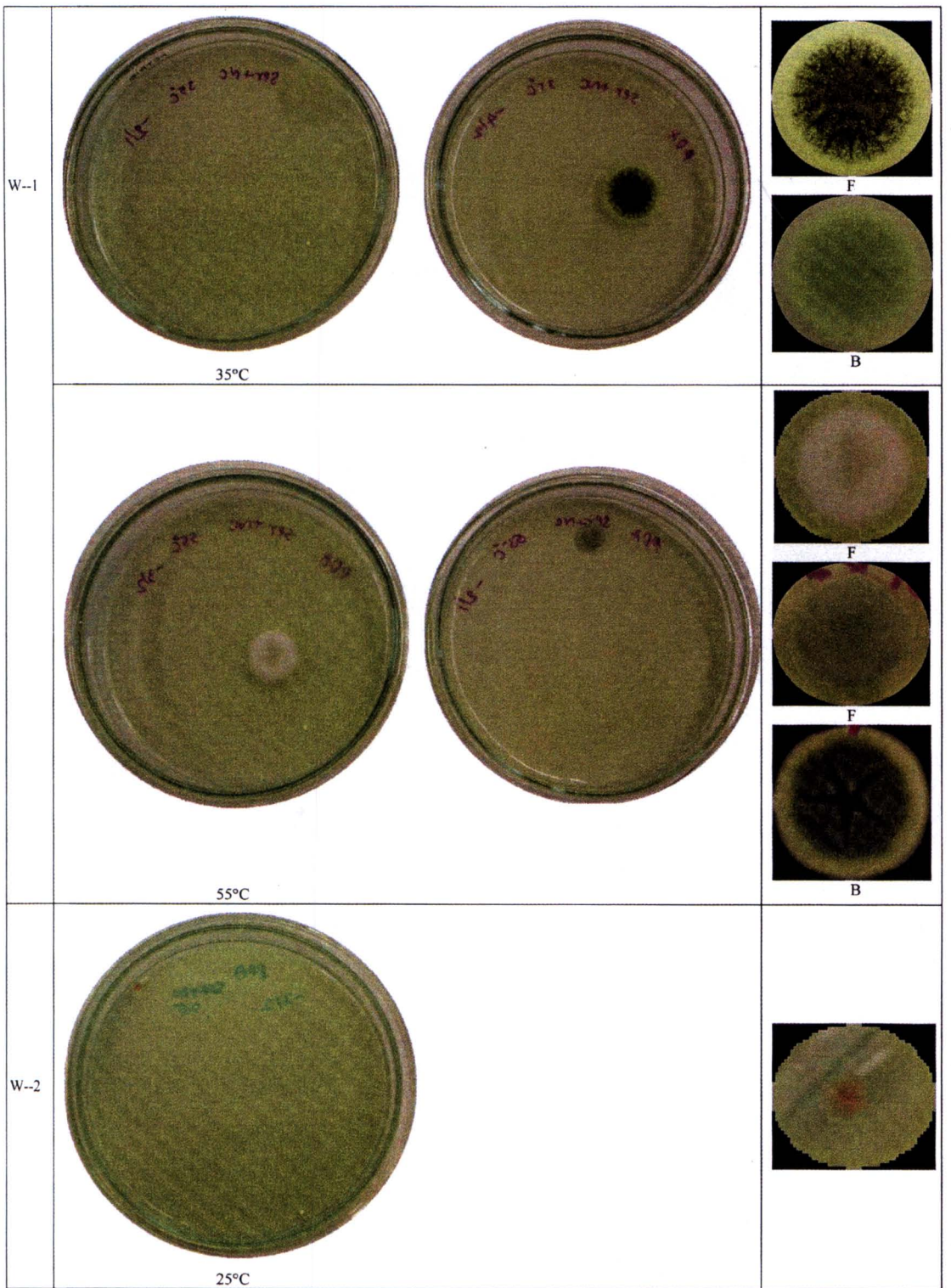
หมายเหตุ: สัญลักษณ์; M-อาหารหนูสูตรทางการค้า; C-อาหารหนูสูตรควบคุม; S-อาหารหนูสูตรเสริมซิริซิน; CNC-อาหารสูตรควบคุมที่เติมโซเดียมไบคาร์บอเนต; SNC-อาหารหนูสูตรเสริมซิริซินที่เติมโซเดียมไบคาร์บอเนต

รูปที่ 11 ลักษณะ Colony ของราและยีสต์ที่พบในตัวอย่างอาหารหนูสูตรควบคุม เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ (สัญลักษณ์ : F – ลักษณะ colony ด้านหน้า/ด้านบน; B – ลักษณะ colony

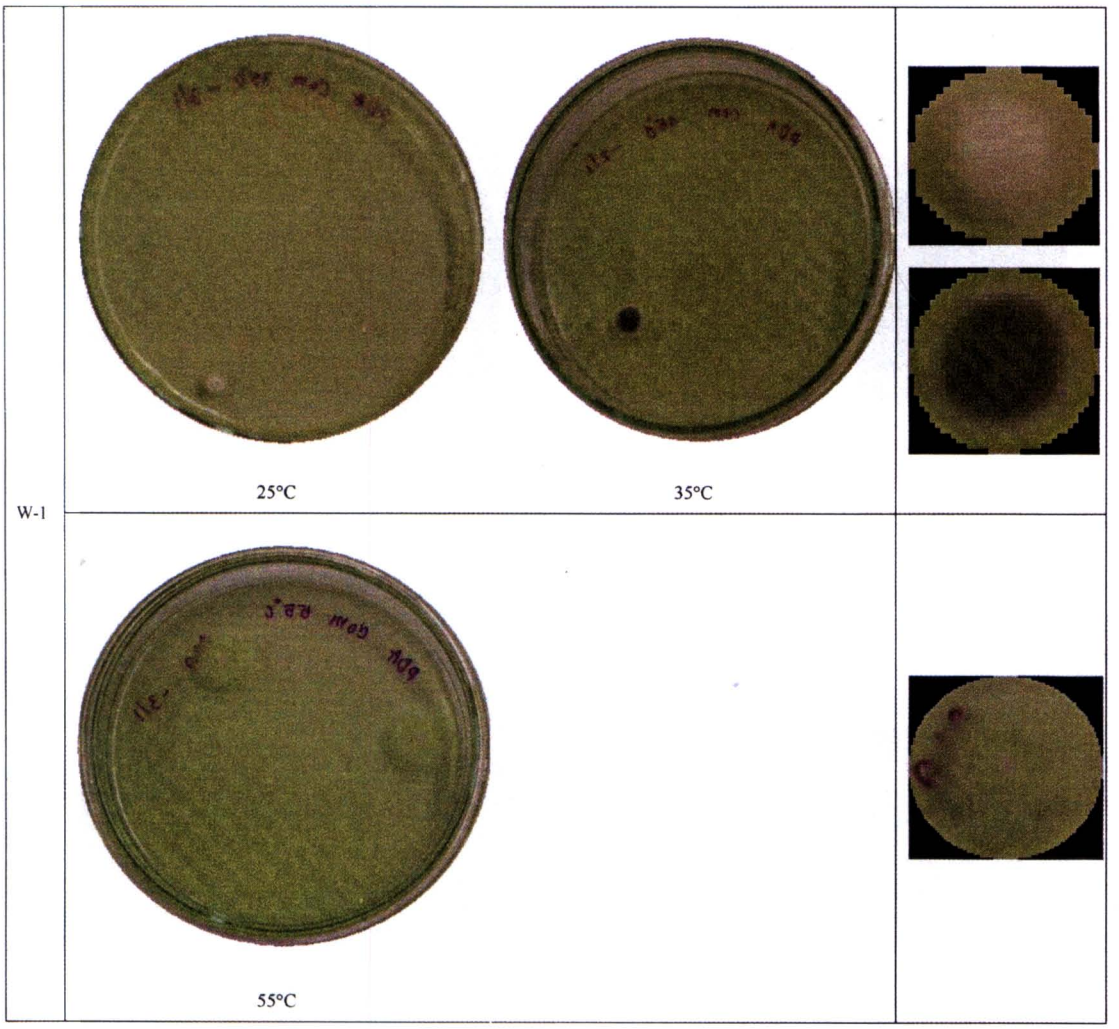
รูปที่ 12 ลักษณะ Colony ของราและยีสต์ที่พบในตัวอย่างอาหารหนูสูตรควบคุมที่มีส่วนผสมของโซเดียมไบคาร์โบเนต เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ (สัญลักษณ์ : F – ลักษณะ colony ด้านหน้า/ด้านบน; B – ลักษณะ colony ด้านหลัง/ด้านล่าง)



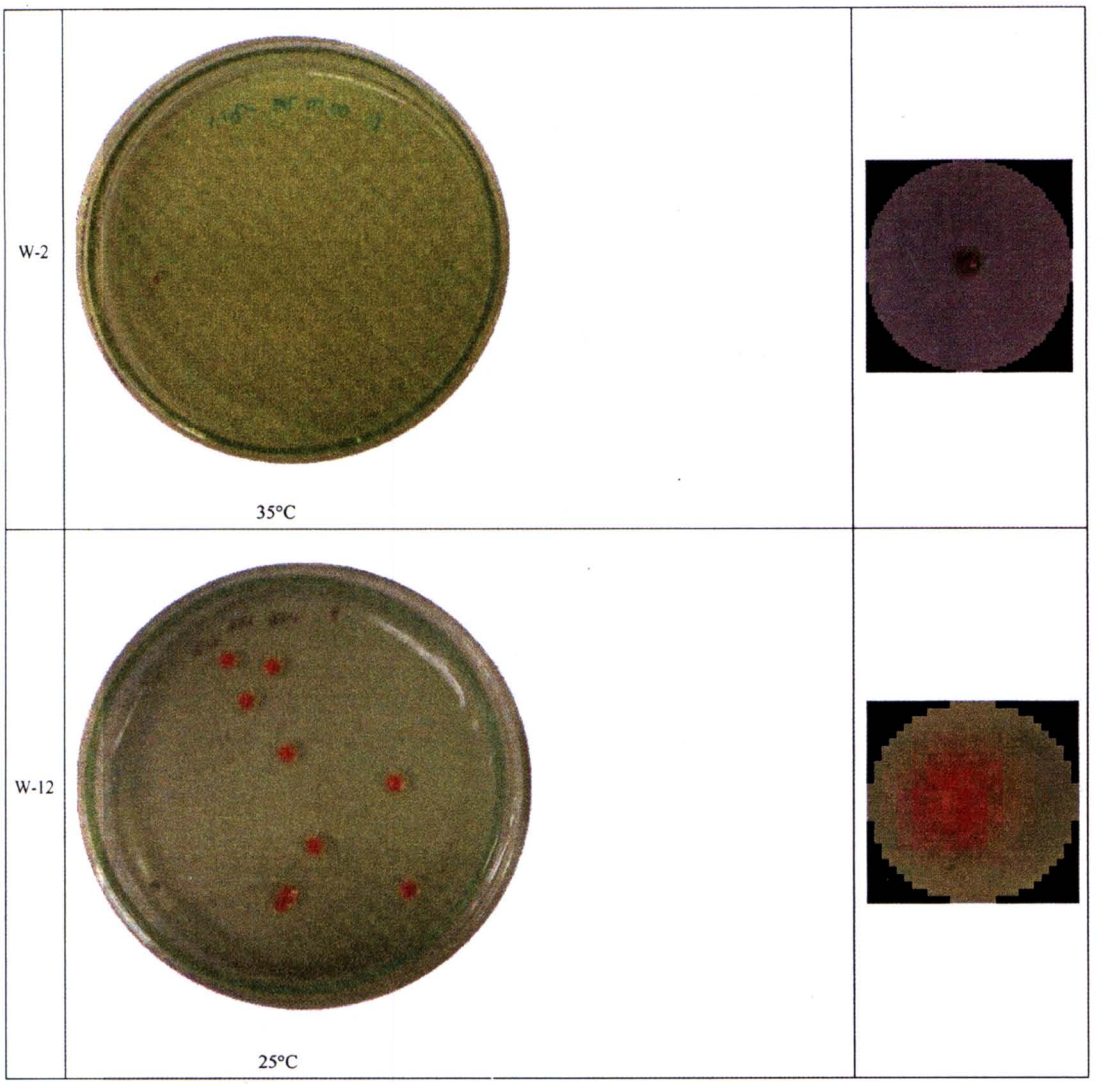
รูปที่ 13 ลักษณะ Colony ของจุลินทรีย์ที่พบในตัวอย่างอาหารหนูสูตรเสริมซิริชินที่ผ่านการฆ่าสเตอไรส์และเก็บรักษาที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ



รูปที่ 14 ลักษณะ Colony ของราและยีสต์ที่พบในตัวอย่างอาหารหนูสูตรเสริมซิริซินที่มีส่วนผสมของโซเดียมไบคาร์บอเนต เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ (สัญลักษณ์: F – ลักษณะ colony ด้านหน้า/ด้านบน; B – ลักษณะ colony ด้านหลัง/ด้านล่าง)



รูปที่ 15 ลักษณะ Colony ของราและยีสต์ที่พบในตัวอย่างอาหารหนูทางการค้า เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ



รูปที่ 15 ลักษณะ Colony ของราและยีสต์ที่พบในตัวอย่างอาหารหนูทางการค้า เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ (ต่อ)

ตารางที่ 15 การทำนายอายุการเก็บจากความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงระหว่างจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างอาหารหนูที่เปลี่ยนแปลงไปเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ

Temp.	Sample	**Linear regression equation**		**Pasteurized diet**				**Sterile diet**			
(°C)		$[\log[A] = \log[A]_0 - kt]$		$[A]_0$	**t**			$[A]_0$	**t**		
		k	R^2		day	week	month		day	week	month
25	M	0.5914	0.9987	3200	2.3	0.3	0.1	<10	31.9	4.6	1.1
	C	0.2348	0.8812	1300	17.4	2.5	0.6	<10	80.5	11.5	2.7
	S	0.3830	0.9163	3500	2.8	0.4	0.1	<10	49.3	7.0	1.6
35	M	0.2580	1.0000	3200	5.3	0.8	0.2	<10	73.2	10.5	2.4
	C	0.1718	0.8674	1300	23.8	3.4	0.8	<10	110.0	15.7	3.7
	S	0.1413	0.7523	3500	7.7	1.1	0.3	<10	133.7	19.1	4.5
55	M	0.0485	1.0000	3200	28.0	4.0	0.9	<10	389.5	55.6	13.0
	C	0.3212	0.8964	1300	12.7	1.8	0.4	<10	58.8	8.4	2.0
	S	0.1435	0.9951	3500	7.6	1.1	0.3	<10	131.7	18.8	4.4

จากการหาความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างอาหารหนูสูตรต่างๆ และคำนวณอายุการเก็บ (t) โดยใช้ค่าอัตราคงที่ (k) ของการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในช่วงแรกซึ่งมีค่าสูงสุดแสดงถึงอัตราการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ของ log phase และจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น (A_0) ในตัวอย่างอาหารหนูสำเร็จรูป และตัวอย่างอาหารหนูที่ผ่านการสเตอไรส์ สามารถทำนายอายุการเก็บของตัวอย่างอาหารหนูได้ดังตารางที่ 15 จะเห็นว่า เมื่อทำนายอายุการเก็บโดยใช้เกณฑ์การยอมรับให้มีจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างอาหารหนูได้สูงสุดไม่เกิน 5,000 CFU/g อ้างอิงจากมาตรฐานการตรวจสอบคุณภาพสิ่งแวดล้อมของสัตว์ทดลองทางจุลชีพ (Microbiological monitoring) ของศูนย์สัตว์ทดลองแห่งชาติ (National Laboratory Animal Centre, Mahidol University) หรือ NLAC-MU ซึ่งกำหนดเกณฑ์ให้อาหารสเตอไรส์ หรือ Autoclaved food ต้องปลอดเชื้ออย่างสมบูรณ์ และอาหารพลาสเจอไรส์ (Pasteurized food) ต้องมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Aerobic plate count, APC) น้อยกว่า 5,000 CFU/g พบว่า ถ้าเก็บตัวอย่างอาหารหนูที่มีจุลินทรีย์ทั้งหมดเริ่มต้นในช่วง 1,300 – 3,500 CFU/g ในภาชนะปิด ที่อุณหภูมิ 25-55 °C จะมีอายุการเก็บในช่วง 2-28 วัน ถ้าทำการเตรียมอาหารหนูปลอดเชื้อ โดยการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนชื้นภายใต้ความดันที่อุณหภูมิ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที และเก็บรักษาที่สภาวะเดียวกัน จะสามารถยืดอายุการเก็บให้อยู่ในช่วง 1-12 เดือน อย่างไรก็ตาม การศึกษาในสัตว์ทดลองใช้ระยะเวลาประมาณ 3 เดือน ต่อสูตรอาหาร และตัวอย่างอาหารหนูที่ใช้ในการศึกษานี้จัดเป็นอาหารพลาสเจอไรส์ ดังนั้นจึงมีการกำหนดสภาวะการเก็บตัวอย่างอาหารหนูสำเร็จรูป โดยการควบคุมอุณหภูมิการเก็บตัวอย่างอาหารรอใช้ที่ -20 °C หรือที่ 4 °C ระหว่างการศึกษาในสัตว์ทดลอง เพื่อชะลอการเจริญของจุลินทรีย์ที่เหลือรอดในอาหารระหว่างทำการศึกษา

สรุปผลการทดลอง

ตัวอย่างสูตรอาหารหนูที่เตรียมได้จัดเป็นอาหารประเภทที่มีความชื้นต่ำ มีลักษณะเป็นรูปทรงสี่เหลี่ยมจัตุรัส สีน้ำตาล และมีลักษณะเนื้ออาหารแน่น และแข็งกว่าอาหารหนูทางค้าที่ผลิตด้วยเครื่อง Extruder การผลิตตัวอย่างอาหารหนูสูตรเสริมซิริซินโดยใช้ปริมาณน้ำในสูตรร้อยละ 50 และทำแห้งที่อุณหภูมิ 70°C เป็นสภาวะที่เหมาะสมซึ่งให้อัตราเร็วของการทำแห้งเร็วที่สุดโดยไม่มีผลกระทบต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีหลักและลักษณะทางกายภาพของตัวอย่างอาหารหนูมากนัก อย่างไรก็ตาม การทำแห้งที่อุณหภูมิ 60°C สามารถลดความแปรปรวนขององค์ประกอบทางเคมีระหว่างสูตรอาหารได้ทำให้ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีของอาหารแต่ละสูตรไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ โดยมีอัตราเร็วของการทำแห้งใกล้เคียงกับการทำแห้งที่อุณหภูมิ 70°C ดังนั้นในการผลิตตัวอย่างอาหารหนูเพื่อการศึกษาแบบ in vivo จึงเลือกใช้สภาวะการทำแห้งที่อุณหภูมิ 60°C สำหรับการเสริมโปรตีนซิริซินโดยปรับลดสัดส่วนของอาหารสูตรพื้นตามปริมาณโปรตีนซิริซินที่เติมลงในสูตรอาหาร ส่งผลให้ไขมันที่เป็นองค์ประกอบมีสัดส่วนลดลงและต่ำกว่าอาหารหนูทางการค้าประมาณ ร้อยละ 0.6 – 0.7 รวมถึงผลทำให้สัดส่วนของปริมาณสตาร์ชในสูตรลดลงเล็กน้อย ดังนั้นจึงมีการปรับสูตรการผลิตตัวอย่างอาหารหนูเพื่อใช้ในการศึกษาประสิทธิภาพการป้องกันโรคมะเร็งลำไส้และโรคหลอดเลือด โดยใช้ปริมาณอาหารสูตรพื้นเท่ากัน เพื่อให้องค์ประกอบพื้นฐานมีค่าใกล้เคียงกันมากที่สุด

ผลการทำนายอายุการเก็บจากการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางจุลชีววิทยาเป็นประโยชน์ต่อการกำหนดสภาวะการเก็บตัวอย่างอาหารหนูที่เหมาะสม โดยการควบคุมอุณหภูมิการเก็บตัวอย่างอาหารหนูหลังบรรจุที่ -20 °C และเก็บรักษาตัวอย่างอาหารหนูสูตรที่ใช้ระหว่างการศึกษาที่อุณหภูมิ -20 หรือ 4°C เพื่อชะลอการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทั้งทางด้านจุลชีววิทยาและเคมีกายภาพ จึงถือเป็นการรักษาคุณภาพของตัวอย่างอาหารให้มีความคงตัวตลอดระยะเวลาการศึกษา