



การผลิตไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติก



กิตติศักดิ์ ธรรมพิทักษ์

วิทยานิพนธ์เสนอบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร  
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร  
ปีการศึกษา 2563  
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยนเรศวร

การผลิตไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติก



วิทยานิพนธ์เสนอบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร  
เพื่อเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต  
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร  
ปีการศึกษา 2563  
ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยนเรศวร

วิทยานิพนธ์ เรื่อง "การผลิตไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติก"

ของ กิตติศักดิ์ ธรรมพิทักษ์

ได้รับการพิจารณาให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร

### คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล แสนพันธุ์)

..... ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นรภัทร หวันเหลี่ยม)

..... กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พงศนาถ ผ่องเจริญ)

..... กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายใน  
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.โอรส รักชาติ)

อนุมัติ

.....  
(ศาสตราจารย์ ดร.ไพศาล มุณีสว่าง)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อเรื่อง	การผลิตไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติก
ผู้วิจัย	กิตติศักดิ์ ธรรมพิทักษ์
ประธานที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นรภัทร หวันเหลี่ยม
กรรมการที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พงศนาถ ผ่องเจริญ
ประเภทสารนิพนธ์	วิทยานิพนธ์ วท.ม. สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร, มหาวิทยาลัยนเรศวร, 2563
คำสำคัญ	หม่อน หรือ มัลเบอร์รี่, โพรไบโอติก, ไขมันต่ำ, ซินไบโอติก

### บทคัดย่อ

มัลเบอร์รี่หรือหม่อน เป็นผลไม้อยู่ในวงศ์ *Moraceae* ปลูกกันอย่างแพร่หลายในทวีปเอเชีย ยุโรป แอฟริกา และอเมริกาเหนือและใต้ เป็นพืชอาหารตามธรรมชาติชนิดเดียวของหนอนไหม และเป็นหัวใจสำคัญของอุตสาหกรรมการปลูกหม่อนเลี้ยงไหม มัลเบอร์รี่เป็นผลไม้ที่มี วิตามิน แร่ธาตุ กรดฟีนอลิก ฟลาโวนอล แอนโทไซยานิน และสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งมีประโยชน์ต่อสุขภาพอย่างมาก การวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาสูตรและศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ คุณภาพทางประสาทสัมผัสและระยะเวลาการเก็บรักษาไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติก (Low Fat Mulberry Ice Cream Supplemented with Synbiotic (LFM-ISS)) จากการศึกษาคุณภาพของมัลเบอร์รี่ที่ใช้ในการผลิตไอศกรีมทางกายภาพ โดยการวิเคราะห์ค่าสี พบว่ามัลเบอร์รี่มีค่าสี  $L^* a^* b^*$  เท่ากับ  $31.33 \pm 1.35$ ,  $0.49 \pm 2.38$  และ  $20.16 \pm 3.23$  ตามลำดับ เมื่อศึกษาคุณภาพทางด้านเคมี (ค่า pH, ปริมาณกรดทั้งหมด, ปริมาณของแข็งทั้งหมด, ปริมาณของแข็งที่ละลายได้, ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด, ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ) ของมัลเบอร์รี่ พบว่ามีค่าเท่ากับ  $3.28 \pm 0.01$ ,  $0.24 \pm 0.02\%$ ,  $14.80 \pm 0.99\%$ ,  $2.60 \pm 0.06$  °Brix,  $1,123.83 \pm 19.41$  mg/100g,  $8,742.55 \pm 313.83$  mg GAE/100g และ  $675.77 \pm 18.93$  mg/100 g ตามลำดับ เมื่อศึกษาคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์พบว่ามัลเบอร์รี่ตัวอย่างมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวนแบคทีเรีย แล็กติกและจำนวนยีสต์ทั้งหมด เท่ากับ  $6.36 \pm 0.04$ ,  $4.99 \pm 0.03$ , และ  $5.32 \pm 0.03$  log CFU/กรัม ตามลำดับ เมื่อศึกษาการเจริญของโพรไบโอติก (*L. plantarum* TISTR926 และ *S. boulardii*) ค่าพีเอช ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำมัลเบอร์รี่ที่มีและไม่มีกรดโพรไบโอติกที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าทุกชุดการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงไม่มากนัก ยกเว้นปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของชุดการทดลองที่มีการเติม *S. boulardii* พบว่ามีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) เมื่อทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของ LFM-ISS ที่ผลิตโดยใช้ความเข้มข้นของมัลเบอร์รี่

แตกต่างกัน 5 ชุดการทดลอง (0, 10, 20, 30, และ 40 % (w/w)) โดยแต่ละชุดการทดลองมีการเสริมโปรไบโอติก *L. plantarum* TISTR 926 และ *S. boulardii* ที่ระดับ 6 log CFU/กรัมของไอศกรีมพบว่า LFM-ISS ที่มีอัลเบอร์รี 30 % (LFM-ISS (30%)) มีคะแนนคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสสูงกว่าชุดการทดลองอื่นในคุณลักษณะทางด้านลักษณะปรากฏ สี ความหวาน และความชอบโดยรวมแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) เมื่อวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระของ LFM-ISS (30%) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 30 และ 60 วัน พบว่า LFM-ISS มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดเท่ากับ  $317.28 \pm 4.17$ ,  $367.38 \pm 18.20$  และ  $406.34 \pm 6.38$  mg/100g ตามลำดับ ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ  $6,274.31 \pm 426.96$ ,  $7,134.41 \pm 274.30$  และ  $7,681.76 \pm 603.50$  mg GAE/100g ตามลำดับ และกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ  $303.95 \pm 24.64$ ,  $354.05 \pm 3.94$  และ  $395.19 \pm 7.36$  mg/100g ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) เมื่อศึกษาคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ของ LFM-ISS (30%) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 56 วัน พบว่า จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด จำนวนแบคทีเรียแลคติก และจำนวนยีสต์มีแนวโน้มลดลง แต่ยังคงปริมาณใกล้เคียงกับ 6 log CFU/กรัมของไอศกรีม เมื่อศึกษาการละลายของ LFM-ISS (30%) พบว่าระยะเวลาการละลายจนเกิดหยดแรกเฉลี่ยอยู่ที่  $37.00 \pm 7.00$  นาที และมีอัตราการละลายเท่ากับ  $0.29 \pm 0.03$  กรัมต่อนาที เมื่อวิเคราะห์ค่าสีพบว่า LFM-ISS (30%) มีค่าสี  $L^* a^* b^*$  เท่ากับ  $27.80 \pm 0.26$ ,  $12.99 \pm 0.59$  และ  $1.43 \pm 0.05$  ตามลำดับ เมื่อศึกษาคุณภาพทางด้านเคมี (ค่าพีเอช, ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ( $^{\circ}$ Brix), Overrun, ปริมาณเถ้า, ปริมาณคาร์โบไฮเดรต, พลังงานทั้งหมด, ปริมาณไขมันทั้งหมด, ปริมาณความชื้น และปริมาณโปรตีน) ของ LFM-ISS (30%) พบว่ามีค่าเท่ากับ  $4.55 \pm 0.02$ ,  $15.4 \pm 0.53$   $^{\circ}$ Brix,  $11.43 \pm 0.36\%$ ,  $1.12$  g/100g,  $12.05$  g/100g,  $72.29$  kcal/100g,  $0.93$  g/100g,  $81.97$  g/100g และ  $3.93$  g/100g ตามลำดับ และเมื่อตรวจหาจุลินทรีย์ก่อโรค (*Bacillus cereus*, Enterobacteriaceae, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* และ *Listeria monocytogenes*) ใน LFM-ISS (30%) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 วัน พบว่า ไม่พบจุลินทรีย์ก่อโรคตลอดระยะเวลาของการเก็บรักษา

<b>Title</b>	PRODUCTION OF LOW FAT MULBERRY ICE CREAM SUPPLEMENTED WITH SYNBIOTIC
<b>Author</b>	KITTISAK THAMPITAK
<b>Advisor</b>	Assistant Professor Noraphat Hwanhlem, Ph.D.
<b>Co-Advisor</b>	Assistant Professor Pongsanat Pongcharoen, Ph.D.
<b>Academic Paper</b>	Thesis M.S. in Agricultural Biotechnology, Naresuan University, 2020
<b>Keywords</b>	Mulberry Probiotic Low Fat Synbiotic

### ABSTRACT

Mulberry belongs to the family *Moraceae* and it is cultivated in Asia, Europe, Africa, South and North America. It is of high value in the sericulture industry. Mulberry fruit contains vitamins, minerals, phenolic acids, flavonols, anthocyanins and antioxidants which have been associated with its health benefits. The objectives of this research were to develop the formulation and to study the physical, chemical and microbial qualities, shelf life and sensory evaluation of low-fat mulberry ice cream supplemented with synbiotic (LFM-ISS). The color of mulberry sample in CIE lab system (lightness ( $L^*$ ), redness ( $a^*$ ) and yellowness ( $b^*$ )) determined by colorimeter were  $31.33\pm 1.35$ ,  $0.49\pm 2.38$  and  $20.16\pm 3.23$ , respectively. However, chemical composition (pH value, titratable acidity, total solid (TS), total soluble solids (TSS), total anthocyanin content, total phenolic content, and antioxidant activity) of mulberry samples were  $3.28\pm 0.01$ ,  $0.24\pm 0.02\%$ ,  $14.80\pm 0.99\%$ ,  $2.60\pm 0.06$  °Brix,  $1123.83\pm 19.41$  mg/100g,  $2327.20\pm 94.15$  mg GAE/g and  $675.77\pm 18.93$  mg/100 g, respectively. Nevertheless, total viable count (TVC), yeast and lactic acid bacteria (LAB) count of the mulberry sample were  $6.36\pm 0.04$ ,  $4.99\pm 0.03$ , and  $5.32\pm 0.03$  log CFU/g, respectively. Moreover, probiotic (*L. plantarum* TISTR926 and *S. boulardii*) growth rate, pH value, total anthocyanin content and total phenolic content, and antioxidant activity of mulberry juice with and without probiotic at 37 °C were slightly changed throughout 24 h of experiment, except, anthocyanin content of mulberry juice with *S. boulardii* was increased significantly ( $P\leq 0.05$ ). LFM-ISS was

produced at the different concentrations of mulberry fruit (0, 10, 20, 30, and 40%) (w/w) supplemented with *L. plantarum* TISTR 926 and *S. boulardii* (6 log CFU/g) as probiotics. The result showed that sensory evaluation of LFM-ISS using 9-point hedonic scale method indicated that LFM-ISS produced with 30% mulberry (w/w) (LFM-ISS (30%)) presented the highest score for appearance, color, sweet and overall liking ( $P \leq 0.05$ ). At different interval times (0, 30, and 60 days) of storage at  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ , a significant difference ( $P \leq 0.05$ ) of total anthocyanin content and total phenolic content, and DPPH radical scavenging activity of LFM-ISS (30%) were found. A total viable count (TVC), yeast and LAB counts of LFM-ISS (30%) slightly decreased and maintained viability about 6 log CFU/g throughout the storage at  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  for 56 days. The time for the first drop to fall and the melting rate of LFM-ISS (30%) were  $37.00 \pm 7.00$  min and  $0.29 \pm 0.03$  g/min, respectively. The color values of LFM-ISS (30%) in CIE lab system ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ) were  $27.80 \pm 0.26$ ,  $12.99 \pm 0.59$ , and  $1.43 \pm 0.05$ , respectively. The chemical properties (pH, TSS, overrun, ash, carbohydrate, energy, fat, moisture and protein content) of LFM-ISS (30%) were  $4.55 \pm 0.02$ ,  $15.4 \pm 0.53$  °Brix,  $11.43 \pm 0.36\%$ ,  $1.12$  g/100g,  $12.05$  g/100g,  $72.29$  kcal/100g,  $0.93$  g/100g,  $81.97$  g/100g and  $3.93$  g/100g, respectively. No pathogenic bacteria (*Bacillus cereus*, Enterobacteriaceae, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*) were detected in LFM-ISS (30%) during storage at  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  for 120 days.

## ประกาศคุณูปการ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงในความกรุณาของ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.นรภัทร หวันเหลี่ยม ประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่ได้อุทิศสละเวลาอันมีค่ามาเป็นทีปรึกษา พร้อมทั้งให้คำแนะนำตลอดระยะเวลาในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ และขอกราบขอบพระคุณคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์อันประกอบไปด้วย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ธีระพล แสนพันธ์ุ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พงศนาถ ผ่องเจริญ กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.โอรส รักชาติ กรรมการผู้ทรงคุณวุฒิภายใน ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำตลอดจนแก้ไขข้อบกพร่องของวิทยานิพนธ์ด้วยความเอาใจใส่ จนทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้อย่างสมบูรณ์ และทรงคุณค่า

ขอขอบพระคุณการสนับสนุนการวิจัยจากชุดโครงการ “การพัฒนาผลิตภัณฑ์ Innovative House” ซึ่งได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากสำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.) และสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) เพื่อดำเนินงานพัฒนาศักยภาพผู้ประกอบการอุตสาหกรรมขนาดกลางและขนาดย่อม (SMEs) ในกลุ่มอุตสาหกรรมอาหารและอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง ระยะที่ 2: กลุ่มผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ (กลุ่มที่ 25)” (RUG6150017) และทุนวิจัยบัณฑิตศึกษาด้านการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร ระดับปริญญาโท ประจำปีงบประมาณ 2563 จากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน)

ขอขอบพระคุณ คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร อ.เมือง จ.พิษณุโลก และ บริษัท อุตสาหกรรมการเกษตรเขาค้อ จำกัด อ.เขาค้อ จ.เพชรบูรณ์ ที่ได้อนุญาตให้ใช้สถานที่ในการดำเนินการวิจัย และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่คณะเกษตรศาสตร์ฯ มหาวิทยาลัยนเรศวรและบริษัท อุตสาหกรรมการเกษตรเขาค้อ จำกัด ทุกท่านสำหรับกำลังใจและการช่วยเหลือในการวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เหนือสิ่งอื่นใดขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อธวัชชัย และคุณแม่वासนา ธรรมพิทักษ์ บิดา มารดา ของข้าพเจ้าที่ให้กำลังใจและให้การสนับสนุนในทุกๆ ด้านอย่างดีที่สุดเสมอมา ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ สาขาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตรทุกท่านสำหรับกำลังใจและการช่วยเหลือในการทำงานวิจัยครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

กิตติศักดิ์ ธรรมพิทักษ์



## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	จ
ประกาศคุุณูปการ.....	ช
สารบัญ.....	ช
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญภาพ.....	ฉ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
ความเป็นมาของปัญหา.....	1
จุดมุ่งหมายของการศึกษา.....	4
ขอบเขตของงานวิจัย.....	4
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
นิยามศัพท์เฉพาะ.....	5
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	6
การสำรวจงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	6
สารให้ความหวาน (sweetener).....	10
หญ้าหวาน (stevia).....	10
หม่อนหรือมัลเบอร์รี่ (mulberry: <i>Morus</i> spp.).....	11
โพรไบโอติก (Probiotic).....	18
<i>Lactobacillus plantarum</i> .....	19

<i>Saccharomyces boulardii</i> .....	20
พรีไบโอติก (Prebiotics) .....	21
อินูลิน (Inulin).....	23
ซินไบโอติก (Synbiotic).....	24
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	24
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย .....	32
วัตถุประสงค์ .....	32
อุปกรณ์.....	34
วิธีการวิจัย .....	35
1. การเตรียมมัลเบอร์รี่ .....	36
2. การศึกษาคุณภาพของมัลเบอร์รี่ทางด้านกายภาพ .....	36
3. การศึกษาคุณภาพของมัลเบอร์รี่ทางด้านเคมี.....	36
4. การศึกษาคุณภาพของมัลเบอร์รี่ทางด้านจุลินทรีย์.....	40
5. การเตรียมโปรไบโอติก.....	41
6. การศึกษาอัตราการเจริญของ <i>L. plantarum</i> TISTR926 และ <i>S. boulardii</i> ในน้ำ มัลเบอร์รี่.....	42
7. การผลิตไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติก ((Low Fat Mulberry Ice Cream Supplemented with Synbiotic (LFM-ISS)) .....	43
8. การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของ LFM-ISS .....	44
9. การศึกษาการรอดชีวิตของโปรไบโอติกใน LFM-ISS.....	45
10. การตรวจหาจุลินทรีย์ก่อโรคใน LFM-ISS ที่ผลิตได้ .....	46
11. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ .....	46

บทที่ 4 ผลการวิจัย .....	47
ผลการศึกษาคุณภาพของมัลเบอร์รี่ทางด้านกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ เพื่อนำไปใช้ในการผลิต LFM-ISS .....	47
ผลการศึกษาการเจริญของ <i>L. plantarum</i> TISTR926 และ <i>S. boulardii</i> และการเปลี่ยนแปลงค่า pH ในน้ำมัลเบอร์รี่ .....	49
ผลการศึกษาปริมาณแอนโทไซยานิน ปริมาณสารฟีนอลิก และกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำมัลเบอร์รี่ที่มีและไม่มีการเติมโปรไบโอติก ( <i>L. plantarum</i> TISTR926 และ <i>S. boulardii</i> ).....	51
ผลการคัดเลือกสูตร LFM-ISS .....	54
ผลการศึกษาปริมาณแอนโทไซยานิน ปริมาณสารฟีนอลิก และกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระของ LFM-ISS (30%).....	57
ผลการศึกษาคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ของ LFM-ISS (30%).....	60
ผลการศึกษาอัตราการละลายของ LFM-ISS (30%).....	61
การศึกษาคุณภาพทางด้านกายภาพและเคมีของ LFM-ISS (30%).....	62
บทที่ 5 บทสรุป .....	65
สรุปผลการวิจัย.....	65
ข้อเสนอแนะ .....	66
บรรณานุกรม .....	67
ภาคผนวก.....	83
ประวัติผู้วิจัย .....	97

## สารบัญตาราง

	หน้า
ตาราง 1 องค์ประกอบของไอศกรีม.....	9
ตาราง 2 สูตรของไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติก.....	44
ตาราง 3 คุณภาพของมัลเบอร์รี่ทางด้านกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ เพื่อนำไปใช้ในการผลิตไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติก (LFM-ISS).....	48
ตาราง 4 คะแนนการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติก (LFM-ISS).....	55
ตาราง 5 คุณภาพทางด้านเคมีและกายภาพของไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติก (LFM-ISS).....	56
ตาราง 6 คุณภาพทางด้านกายภาพและเคมีของไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติกที่มีความเข้มข้นของมัลเบอร์รี่ 30 เปอร์เซ็นต์ (LFM-ISS (30%)).....	63
ตาราง 7 ปริมาณของจุลินทรีย์ก่อโรคในไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติกที่มีความเข้มข้นของมัลเบอร์รี่ 30 เปอร์เซ็นต์ (LFM-ISS (30%)) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส.....	64
ตาราง 8 วัตถุประสงค์และส่วนผสมของไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติก.....	84

## สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพ 1 ผังกระบวนการผลิตไอศกรีมโปรไบโอติก.....	8
ภาพ 2 รูปร่างและสีของผลมัลเบอร์รี่ชนิดต่าง ๆ.....	12
ภาพ 3 รูปร่างและสีของใบมัลเบอร์รี่ชนิดต่าง ๆ.....	12
ภาพ 4 ระยะการเปลี่ยนแปลงของผลของมัลเบอร์รี่ : ระยะที่ 1 (ST1) - ระยะที่ 7 (ST7)	14
ภาพ 5 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ R : H = antioxidant radical scavenger; R = antioxidant radical.....	15
ภาพ 6 รูปร่างของ <i>Lactobacillus plantarum</i> CECT 748 <sup>T</sup> .....	20
ภาพ 7 รูปร่างของ <i>Saccharomyces boulardii</i> .....	21
ภาพ 8 โครงสร้างของอินูลิน.....	23
ภาพ 9 แผนภาพสรุปวิธีการทำวิจัย.....	35
ภาพ 10 ตัวอย่างมัลเบอร์รี่ จากบริษัทอุตสาหกรรมการเกษตรเขาค้อ จำกัด.....	36
ภาพ 11 การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วย pH meter.....	37
ภาพ 12 การวัดปริมาณความหวานโดยใช้เครื่อง Hand refractometer.....	38
ภาพ 13 ยีสต์โปรไบโอติก <i>Saccharomyces boulardii</i> และ <i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR 926.....	41
ภาพ 14 ไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติกที่มีความเข้มข้นของมัลเบอร์รี่แตกต่างกัน.....	43
ภาพ 15 การเปลี่ยนแปลงการเจริญของ <i>Lactobacillus plantarum</i> TISTR926 และ <i>Saccharomyces boulardii</i> และค่า pH ในน้ำมัลเบอร์รี่ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส.....	51

ภาพ 16 ปริมาณแอนโทไซยานิน (a) ปริมาณสารฟีนอลิก (b) และกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ (c) ของน้ำมัลเบอร์รี่ที่มีและไม่มี (กลุ่มควบคุม) การเติมโพรไบโอติก ( <i>L. plantarum</i> TISTR 926 และ <i>S. boulardii</i> ).....	53
ภาพ 17 คะแนนการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริม ชินไบโอติก (LFM-ISS).....	56
ภาพ 18 ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (cyaniding-3-glucoside) ของ LFM-ISS (30%) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 0, 30 และ 60 วัน .....	58
ภาพ 19 ปริมาณสารฟีนอลิกของ LFM-ISS (30%) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 0, 30 และ 60 วัน เทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก .....	59
ภาพ 20 กิจกรรมการยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity) ของ LFM-ISS (30%) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 0, 30 และ 60 วัน เทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายโทลอกซ์ (Trolox).....	59
ภาพ 21 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และแบคทีเรียแลคติก ( $\log$ CFU/g) ของไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมชินไบโอติกที่มีความเข้มข้นของมัลเบอร์รี่ 30 เปอร์เซ็นต์ (LFM-ISS (30%)) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 56 วัน.....	61
ภาพ 22 การละลายของไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมชินไบโอติกที่มีความเข้มข้นของมัลเบอร์รี่ 30 เปอร์เซ็นต์ (LFM-ISS (30%)) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส.....	62
ภาพ 23 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร กับปริมาณของกรดแกลลิก (ppm) ของน้ำมัลเบอร์รี่หมัก.....	93
ภาพ 24 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระกับความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานโทลอกซ์ (Trolox) (ppm) ของน้ำมัลเบอร์รี่หมัก .....	94
ภาพ 25 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร กับปริมาณของกรดแกลลิก (ppm) ของ LFM-ISS (30%).....	95

ภาพ 26 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระกับความเข้มข้นสารละลาย  
มาตรฐาน Trolox (ppm) ของ LFM-ISS (30%) .....96



## บทที่ 1

### บทนำ

#### ความเป็นมาของปัญหา

มัลเบอร์รี่หรือหม่อน เป็นผลไม้อยู่ในวงศ์ *Moraceae* และปลูกกันอย่างแพร่หลายในทวีปเอเชีย ทวีปยุโรป แอฟริกา และอเมริกาเหนือและใต้ (Hu et al., 2013) เป็นพืชอาหารตามธรรมชาติชนิดเดียวของหนอนไหม และเป็นหัวใจสำคัญของอุตสาหกรรมการปลูกหม่อนเลี้ยงไหม มัลเบอร์รี่เป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางสารอาหารสูงมาก โดยพบว่าในมัลเบอร์รี่มีสารแอนโทไซยานิน และสารประกอบฟีนอล เช่น quercetin 3-O-rutinoside, cyanidin 3-O-glucoside, pelargonidin 3-O-rutinoside, vanillic acid, caffeic acid, ferulic acid, *p*-coumaric acid, chlorogenic acid, *p*-hydroxybenzoic acid และ protocatechuic acid ในปริมาณที่สูง (Bao et al., 2016; Donno et al., 2015) ซึ่งจะช่วยในการต่อต้านอนุมูลอิสระตลอดจนใช้เป็นยารักษาโรค เช่น โรคเบาหวาน โรคหอบหืด โรคมะเร็ง โรคไวรัสตับอักเสบ โรคผิวหนังและหลอดเลือด รวมถึงโรคอื่นๆ (Natic et al., 2015) ผลมัลเบอร์รี่ ประกอบไปด้วย วิตามิน แร่ธาตุ กรดกรดฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งมีส่วนช่วยและเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์ (Pérez-Gregorio et al., 2011) มัลเบอร์รี่มีลักษณะทางกายภาพที่ง่ายต่อการบอบช้ำ ลักษณะทางเคมีที่ง่ายต่อการเน่าเสีย ทำให้อายุการเก็บรักษาได้ไม่นานนัก ซึ่งเป็นปัญหาหลักที่ทำให้เกษตรกรสูญเสียรายได้ จึงมีแนวคิดที่จะป้องกันการสูญเสียดังกล่าว เป็นการเพิ่มมูลค่าโดยการแปรรูปมัลเบอร์รี่เป็นไอศกรีมมัลเบอร์รี่

มัลเบอร์รี่เป็นไม้ยืนต้นที่แข็งแรงและเติบโตเร็ว ใบถูกใช้เป็นอาหารเลี้ยงไหมสำหรับการผลิตเส้นด้ายไหม ผลซึ่งมีคุณค่าทางโภชนาการสูงและรสชาติอร่อยถูกใช้เป็นอาหารเพื่อบริโภค เปลือกและเนื้อไม้ถูกนำไปใช้ประโยชน์ในการผลิตกระดาษและสินค้ากีฬา ในขณะที่การวิจัยทางวิทยาศาสตร์การแพทย์พบว่ามัลเบอร์รี่มีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาหลายอย่าง นอกจากนั้นมัลเบอร์รียังถูกนำไปใช้ในการผลิตอาหารสัตว์ วัตถุเติมแต่งในอาหาร ผลิตภัณฑ์ และใช้แก้ปัญหาคารบป็นในดินและอากาศ เป็นต้น (Ghosh et al., 2017)

Rohela et al. (2020) กล่าวว่า มัลเบอร์รี่คือพืชที่เหมาะสมต่อการพัฒนาและสร้างอนาคตอย่างยั่งยืน เนื่องจากมัลเบอร์รี่เป็นพืชที่มีเอกลักษณ์เฉพาะ มีการกระจายตัวทางธรณีวิทยาที่กว้างทั่วทั้งทวีป สามารถเพาะปลูกในรูปแบบต่าง ๆ ได้หลากหลาย ส่งผลกระทบต่อความปลอดภัยทางสิ่งแวดล้อม เช่น การฟื้นฟูสภาพแวดล้อมในพื้นที่เสื่อมโทรม การบำบัดทางชีวภาพของพื้นที่ที่มีมลพิษ การอนุรักษ์น้ำ การป้องกันการพังทลายของหน้าดินและการปรับปรุงคุณภาพของอากาศโดยการกักเก็บคาร์บอน นอกจากนั้นใบ ลำต้นและรากของมัลเบอร์รียังมีสารประกอบทางเภสัช



จลนศาสตร์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพซึ่งมีประโยชน์ต่อมนุษย์ และในทางอุตสาหกรรมมีลเบอร์รี่ถูกนำมาใช้ในการผลิตหลายผลิตภัณฑ์ เช่น ผลิตภัณฑ์ยา อาหาร เครื่องสำอางรวมถึงอุตสาหกรรมเกี่ยวกับการดูแลสุขภาพ

ตามคำจำกัดความ “ไอศกรีมเป็นของหวานแช่แข็งชนิดหนึ่ง ได้จากการผสมของส่วนผสมที่เป็นของเหลว แล้วนำไปปั่นในที่เย็นจัด เพื่อเติมอากาศเข้าไปพร้อม ๆ กับการลดอุณหภูมิ โดยอาศัยเครื่องปั่นไอศกรีม” (Corvitto, 2011) แม้ว่าคำจำกัดความของไอศกรีมจะแตกต่างกัน เนื่องจากกฎระเบียบและจารีตประเพณีที่แตกต่างกันของแต่ละประเทศในส่วนของประกอบของไอศกรีม (Clark, 2012; Goff, & Hartel, 2013) แต่ไอศกรีมก็ยังเป็นผลิตภัณฑ์ที่เป็นที่ต้องการและบริโภคมากที่สุดเนื่องจากของหวานแช่แข็งที่มีคุณค่าทางโภชนาการและให้พลังงานสูงแก่ผู้บริโภค ไอศกรีมมีหลากหลายสูตรขึ้นอยู่กับส่วนผสม โดยทั่วไปส่วนผสมของไอศกรีมประกอบไปด้วย นม สารให้ความคงตัวของอิมัลชัน สารให้ความหวาน สารแต่งกลิ่น และส่วนผสมอื่น ๆ (Koxholt et al., 2001)

ไอศกรีมเป็นอาหารเชิงซ้อน (complex multi-phase food) ประกอบด้วย ก้อนไขมัน (fat globule) ฟองอากาศและเกล็ดน้ำแข็งที่กระจายตัวในสารละลายกึ่งแข็งกึ่งแข็ง มีไขมันประมาณ 12 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีบทบาทที่สำคัญต่อโครงสร้างและคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสของไอศกรีม แต่ปัจจุบันผู้บริโภคให้ความสนใจกับอาหารไขมันต่ำมากขึ้น ดังนั้นจึงมีการนำสารทดแทนไขมันจำนวนมากมาใช้ในไอศกรีมที่มีไขมันต่ำซึ่งสามารถช่วยปรับปรุงผลกระทบที่มีต่อเนื้อสัมผัสที่เกิดจากการลดปริมาณไขมัน ซึ่งสารทดแทนไขมันแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มตามองค์ประกอบ ได้แก่ ไขมัน โปรตีนและคาร์โบไฮเดรต โดยสารทดแทนไขมันส่วนใหญ่ที่ใช้ในไอศกรีม ได้แก่ อินูลิน (inulin) มอลโตเดกซ์ทรีน (maltodextrin) โพลีเดกซ์โตรส (polydextrose) โปรตีนนม (milk protein) โปรตีนถั่วเหลือง (soy protein) เส้นใยอาหาร (dietary fiber) และแป้ง (Akbari et al., 2019) นอกจากนี้ไอศกรีมยังเป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์เนื่องจากมี โปรตีน ไขมัน และองค์ประกอบอื่น ๆ ที่เป็นประโยชน์แก่มนุษย์ เช่น โพรไบโอติก และพรีไบโอติก (Erkaya et al., 2012; Sun-Waterhouse et al., 2013).

โพรไบโอติก เป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่ให้ประโยชน์แก่ผู้บริโภคเมื่อใช้ในปริมาณที่เพียงพอ (FAO/WHO, 2001) ซึ่งควรมีอย่างน้อย  $10^7$  CFU ต่อกรัมหรือมิลลิลิตร ตามที่แนะนำโดยสมาคมผลิตภัณฑ์นมระหว่างประเทศ (International Dairy Federation: IDF) (Champagne et al., 2005) ส่วนในประเทศไทย คณะกรรมการอาหารและยา (อย.) กระทรวงสาธารณสุข ประกาศในราชกิจจานุเบกษา (2554) อนุญาตให้ใช้ในอาหารได้โดยจะต้องมีปริมาณจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ยังมีชีวิตอยู่ไม่น้อยกว่า  $10^6$  CFU ต่อกรัมหรือมิลลิลิตร โดยไอศกรีมเป็นผลิตภัณฑ์นมตัวหนึ่งที่เป็นตัวขนส่งที่เหมาะสมของจุลินทรีย์โพรไบโอติกเนื่องจากมีโปรตีนนม ไขมัน แลคโตส และส่วนประกอบอื่น ๆ ของไอศกรีม

โพรไบโอติกประกอบด้วยแบคทีเรียหรือยีสต์ซึ่งสามารถสร้างอาณานิคมใหม่และฟื้นฟูการมีชีวิตร่วมกันของจุลินทรีย์ในลำไส้ ส่วนใหญ่เป็น *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* เช่น *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium longum*, *Streptococcus thermophilus* และโพรไบโอติกที่เป็นยีสต์คือ *Saccharomyces boulardii* (Iannitti et al., 2010) โดยจุลินทรีย์เหล่านี้มีความทนทานต่อกรดและเกลือแร่ ส่วนใหญ่แยกได้จากระบบทางเดินอาหารของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม และเพื่อส่งเสริมการเจริญเติบโตและการมีชีวิตของโพรไบโอติก ควรเสริมโพรไบโอติกลงในสูตรอาหารเพื่อส่งเสริมการเจริญและการทำงานของโพรไบโอติกให้ดียิ่งขึ้น

คำว่าโพรไบโอติกถูกนำมาใช้โดย Gibson et al., (1995) ซึ่งเปลี่ยนจาก “pro” เป็น “pre” หมายถึง “before” หรือ “for” พวกเขาให้คำจำกัดความของโพรไบโอติกว่าเป็น “อาหารที่ไม่สามารถย่อยได้และส่งผลดีกระตุ้นการเจริญเติบโตและการทำงานของแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ โพรไบโอติกที่พบเห็นส่วนใหญ่มักจะพบในรูปแบบผงแห้ง (Powder) ประกอบไปด้วยสารประกอบเชิงซ้อนของคาร์โบไฮเดรต เช่น อินูลินและฟรุกโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ (Hayakawa et al., 1990)

ซินไบโอติก (Synbiotic) คือ การนำโพรไบโอติก (Probiotic) และโพรไบโอติก (Prebiotic) ผสมเข้าด้วยกัน ซึ่งโพรไบโอติกนั้นเป็นจุลินทรีย์ชนิดดีที่มีประโยชน์ต่อลำไส้ ส่วนโพรไบโอติกเป็นเส้นใยอาหารที่ร่างกายคนเราไม่สามารถย่อยหรือดูดซึมในระบบทางเดินอาหาร แต่เป็นแหล่งอาหารของโพรไบโอติก ดังนั้น การรับประทานซินไบโอติกจึงอาจช่วยให้โพรไบโอติกทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น อย่างไรก็ตาม การรับประทานซินไบโอติกเป็นตัวช่วยเพิ่มจำนวนและเสริมการทำงานของจุลินทรีย์ภายในลำไส้เมื่อรับประทานอย่างต่อเนื่องในปริมาณที่เพียงพอและเหมาะสมเท่านั้น (Gibson et al., 1995)

Balthazar et al. (2018) ศึกษาผลของ *Lactobacillus casei* 01 และการเติมอินูลินลงในไอศกรีมนมแคะระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 150 วัน โดยมีไอศกรีมกลุ่มควบคุม (ครีมนมแคะ 10 เปอร์เซ็นต์ (w/w)) ไอศกรีมโพรไบโอติก (ครีมนมแคะ 10 เปอร์เซ็นต์ (w/w) และ *L. casei* 01 6 log CFU/mL) และไอศกรีมซินไบโอติก (ครีมนมแคะ 10 เปอร์เซ็นต์ (w/w), *L. casei* 01 6 log CFU/mL และอินูลิน 10 เปอร์เซ็นต์ (w/w)) เมื่อทำการศึกษาทางจุลชีววิทยา (จำนวนโพรไบโอติก อัตราการรอดหลังจากทดสอบความต้านทานต่อระบบทางเดินอาหารในหลอดทดลอง และการยึดเกาะของเซลล์ Caco-2) กิจกรรมทางชีวภาพ (bioactivity) และโครงสร้างจุลภาค (microstructure) และประเมินลักษณะทางกายภาพ เนื้อสัมผัส และสี วิเคราะห์เชิงความร้อน กรดอินทรีย์และสารระเหย พบว่าไอศกรีมทุกชุดการทดลองมีจำนวน *L. casei* 01 ในระหว่างการเก็บรักษาที่ระดับสูงกว่า 6 log CFU/mL ในขณะที่อินูลินไม่มีผลต่อการ

รอดชีวิตของ *L. casei* 01 ในระบบทางเดินอาหารจำลองและการยึดเกาะกับเซลล์ Caco-2 นอกจากนี้ยังพบว่า *L. casei* 01 ผลิตสารระเหยหลายชนิด เช่น กรดคาร์บอกซิลิก แอลกอฮอล์ อัลดีไฮด์ และคีโตน และเมื่อศึกษาผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscopy) พบว่า *L. casei* 01 มีปฏิสัมพันธ์กับอินูลินในไอศกรีมซินไบโอติก

### จุดมุ่งหมายของการศึกษา

1. เพื่อศึกษาคุณลักษณะและคุณภาพทางด้านเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์ของนมมัลเบอร์รี่สุก
2. เพื่อพัฒนาสูตรและกระบวนการผลิตต้นแบบผลิตภัณฑ์ไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติก
3. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางด้านเคมี กายภาพ จุลินทรีย์ และคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติกในระหว่างการเก็บรักษา

### ขอบเขตของงานวิจัย

เตรียมมัลเบอร์รี่ที่เป็นผลิตผลทางการเกษตรของ บริษัท อุตสาหกรรมการเกษตรเขาค้อ จำกัด (โครงการพัฒนาลุ่มน้ำเข็ก อันเนื่องมาจากพระราชดำริ) แล้วนำมาศึกษาคุณภาพของมัลเบอร์รี่ทางด้านเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์ จากนั้นศึกษาระดับปริมาณที่เหมาะสมของมัลเบอร์รี่ในการผลิตไอศกรีม ซึ่งทำการผลิตไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำโดยเสริมโปรไบโอติก 2 สายพันธุ์ ที่องค์การอาหารและยา (อย.) กระทรวงสาธารณสุข ประกาศอนุญาตให้ใช้ในอาหารได้ คือ แบคทีเรีย *Lactobacillus plantarum* TISTR926 และ ยีสต์ *Saccharomyces boulardii* และเสริมพรีไบโอติกลงในสูตรไอศกรีม พรีไบโอติกในสูตรที่ใช้คืออินูลิน ดังนั้นผลิตภัณฑ์จะมีการเสริมโปรไบโอติกพร้อมกับพรีไบโอติก ผลิตภัณฑ์นั้นจะเป็นผลิตภัณฑ์เสริมซินไบโอติก จากนั้นนำไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติกมาทำการวิเคราะห์คุณลักษณะและคุณภาพทางเคมี กายภาพ และอัตราการรอดชีวิตของเชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติก และศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคต่อไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติกโดยการทดสอบทางประสาทสัมผัส และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

### ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบคุณลักษณะและคุณภาพทางเคมี กายภาพ และจุลินทรีย์ของนมมัลเบอร์รี่สุกและไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติก
2. สามารถพัฒนาสูตรและกระบวนการผลิตต้นแบบผลิตภัณฑ์ไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติกได้

3. ได้ต้นแบบผลิตภัณฑ์ไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติกที่มีเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพที่สามารถใช้จำหน่ายเชิงพาณิชย์ได้

#### นิยามศัพท์เฉพาะ

1. หม่อน หรือ มัลเบอร์รี่ (mulberry)
2. แบคทีเรีย *Lactobacillus plantarum* TISTR926
3. ยีสต์ *Saccharomyces boulardii*
4. โพรไบโอติก (Probiotic)
5. พรีไบโอติก (Prebiotic)
6. ซินไบโอติก (Synbiotic)



## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### การสำรวจงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ไอศกรีม หมายถึง อาหารหวานที่เป็นของผสมแช่แข็ง ประกอบด้วยส่วนประกอบต่าง ๆ ของนม (milk) สารให้ความหวาน (sweetener) สารให้ความคงตัว (stabilizer) อิมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) สารให้กลิ่นรส (flavor) และส่วนผสมอื่น ๆ เช่น ผลิตภัณฑ์จากไข่ สารให้สีและแป้งดัดแปร เป็นต้น เมื่อรวมทั้งหมดข้างต้นที่กล่าวมานี้เข้าด้วยกันจะเรียกว่าส่วนผสมไอศกรีม ซึ่งจะถูกผสมจนละลายเป็นเนื้อเดียวกัน (homogenize) และทำให้ปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค (pasteurize) ก่อนนำไปทำการแช่แข็ง (freezing) โดยในระหว่างทำการแช่แข็งส่วนผสมจะถูกนำไปปั่นเพื่อรวมกับอากาศเพื่อให้เนื้อสัมผัสมีความเรียบเนียนและนุ่มนวล (Marshall, Goff, & Hartel, 2003) ดังแสดงในภาพที่ 1

ไอศกรีมเป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่มีศักยภาพเป็นตัวนำส่งโปรไบโอติกเข้าสู่ร่างกายที่เหมาะสมและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคเกือบทุกเพศ ทุกวัยและทุกสังคม อย่างไรก็ตามการพัฒนาผลิตภัณฑ์ไอศกรีมที่มีโปรไบโอติกเป็นส่วนประกอบยังจำเป็นต้องคำนึงถึงข้อกำหนดด้านเทคโนโลยีที่เกี่ยวข้องกับขั้นตอนการผลิต โดยอาศัยการกระบวนกรทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (Cruz, Antunes, Sousa, Faria, & Saad, 2009)

ชนิดของไอศกรีมตามพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. 2552 ได้แบ่งไอศกรีมเป็น 5 ชนิดดังนี้

1. ไอศกรีมนม หมายถึง ไอศกรีมที่ทำจากน้ำนม หรือผลิตภัณฑ์ที่ได้จากนม (dairy product)
2. ไอศกรีมดัดแปลง หมายถึง ไอศกรีมที่ผลิตโดยใช้ไขมันชนิดอื่น เช่น น้ำมันปาล์ม น้ำมันมะพร้าว กะทิ แทนไขมันเนย (milk fat) บางส่วนหรือทั้งหมด
3. ไอศกรีมผสม หมายถึง ไอศกรีมนม หรือไอศกรีมดัดแปลงที่มีการเติมน้ำผลไม้ ผลไม้ ถั่ว ช็อกโกแลต เป็นต้น
4. ไอศกรีมหวานเย็น หมายถึง ไอศกรีมที่ไม่มีส่วนผสมของนม ภาษาอังกฤษเรียกว่า water ice ทำจากน้ำ น้ำตาล น้ำผลไม้ ผลไม้ สีสผสมอาหาร กลิ่น

5. ไอศกรีมผง หรือไอศกรีมเหลว หรือไอศกรีมกึ่งสำเร็จรูป หมายถึงส่วนผสมของ ไอศกรีมที่กล่าวมาแล้วข้างต้น โดยอาจอยู่ในรูปผง ซึ่งต้องนำมาเติมน้ำ ตามสัดส่วนที่กำหนด แล้วผสม ปั่นให้เข้ากัน แล้วแช่เยือกแข็ง (freezing) ก่อนนำมาบริโภค

ไอศกรีม 3 ชนิดแรกที่กำหนดในพระราชบัญญัติอาหารใช้ภาษาอังกฤษว่า “ice cream” ใน ต่างประเทศ อาจจำแนกผลิตภัณฑ์ไอศกรีมออกตามส่วนผสมและปริมาณไขมันนม (milk fat) ดังนี้

1) มิลค์ไอซ์ (milk ice หรือ ice milk) หมายถึง ไอศกรีมที่มีปริมาณไขมันต่ำกว่า ไอศกรีมทั่วไปโดยมีไขมันนม ร้อยละ 2.5-3 ในสหรัฐอเมริกาอนุญาตให้ระบุในฉลากว่าเป็นไอศกรีม ไขมันต่ำ (low fat ice cream หรือ light ice cream)

2) เซอร์เบต (sherbets) หมายถึงไอศกรีมหวานเย็นที่มีการเติมนมสดลงไปเล็กน้อย มักมีปริมาณไขมันนมต่ำกว่ามิลค์ไอซ์ แต่หวานมากกว่า มีส่วนผสมสำคัญคือน้ำผลไม้และน้ำตาล มีนม เป็นส่วนประกอบเพียงเล็กน้อยรสชาติออกเปรี้ยวและหวาน เนื้อไอศกรีม เซอร์เบทเหนียว เนียน ละเอียดสีสวยสดใส

3) ซอร์เบต (sorbet) ไอศกรีมที่มีผลไม้ หรือน้ำผลไม้ และสารให้ความหวาน เป็น ส่วนผสมหลัก ไม่มีไขมัน หรือนม เป็นส่วนผสม มีส่วนผสมสำคัญ คือ ผลไม้(น้ำผลไม้หรือชิ้น เนื้อ ผลไม้บด) เช่น ซอร์เบตลิ้นจี่ ซอร์เบตสตอเบอรี่ ซอร์เบตส้ม เป็นต้น ซอร์เบตมีปริมาณน้ำตาลมาก ที่สุดเนื้อไอศกรีมมีลักษณะเป็นเกล็ดละเอียด

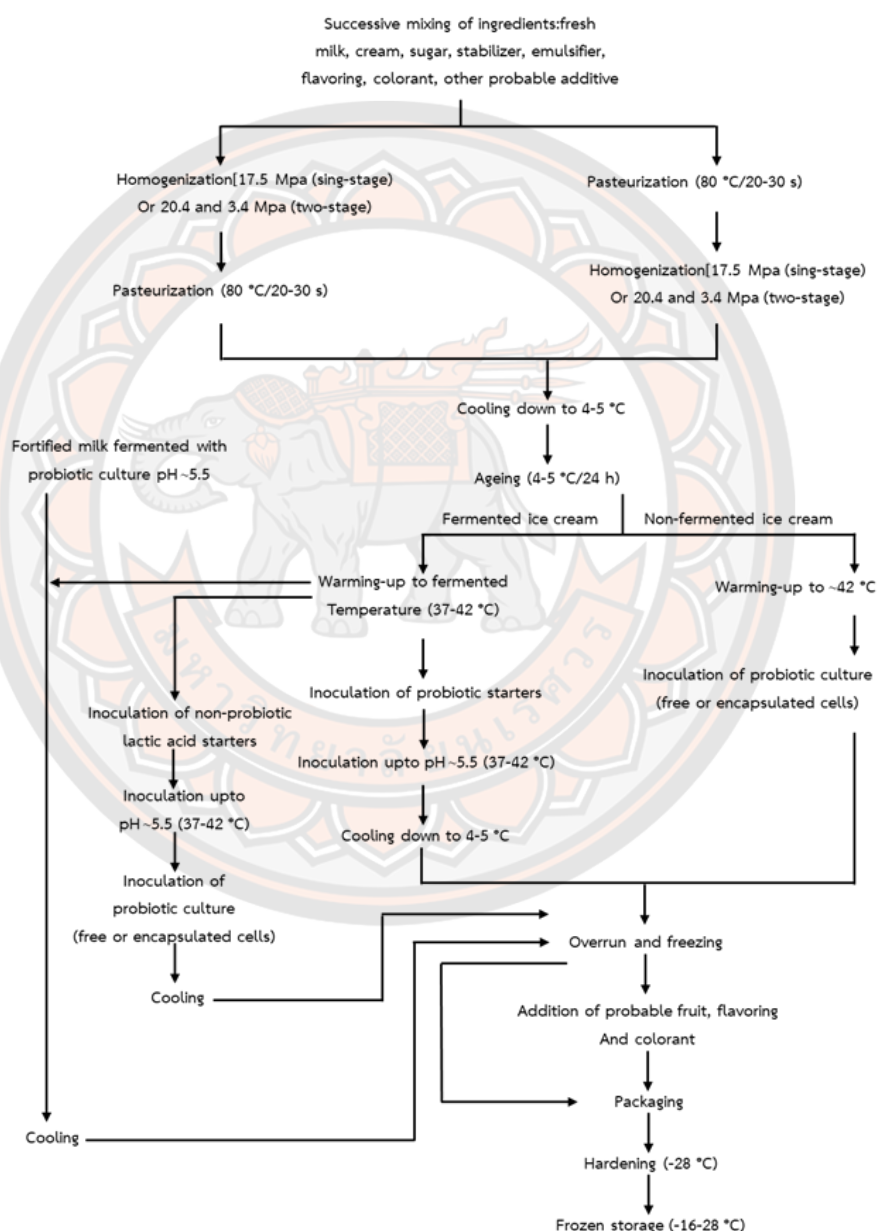
นุ่มได้รสชาติผลไม้เข้มข้น

4) เจลาโต (gelato) หมายถึง ไอศกรีมแบบอิตาลี มีกระบวนการผลิตต่างจาก ไอศกรีมทั่วไปทำให้มีฟองอากาศในเนื้อไอศกรีมน้อยกว่า จึงให้ความรู้สึกเข้มข้นในปากมากกว่า หรือ เท่ากับไอศกรีมทั่วไป แม้มีปริมาณไขมันต่ำกว่าคือ ประมาณร้อยละ 5-7

5) ไอศกรีมโยเกิร์ต หรือ โพรเซ็นโยเกิร์ต (yoghurt ice cream หรือ frozen yogurt) หมายถึง มิลค์ไอซ์ ที่มีส่วนผสมของ โยเกิร์ต โดยอาจใช้โยเกิร์ตเป็นส่วนผสมแทนนมสด บาง ประเทศยังหมายรวมถึงไอศกรีมที่มีการเติมแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก (lactic acid bacteria) ไอศกรีมโยเกิร์ต อาจผสมผลไม้ หรือน้ำผลไม้ และอาจแต่งสี กลิ่น แต่งรสเปรี้ยวด้วยกรดแลคติก (lactic acid)

ไอศกรีมโดยทั่วไปมีส่วนผสมหลักดังนี้ น้านม (milk) หรือผลิตภัณฑ์นม (dairy product) เช่น ครีม นมผง หางนม โยเกิร์ต นมเปรี้ยว สารให้ความคงตัว (stabilizer) และอิมัลซิไฟ

เออร์ (emulsifier) เช่น กัวกัม (guar gum) แซนแทนกัม (xanthan gum) เลซิทีน (lecithin) ไข่แดง (yolk) สตาร์ช (starch) สารให้รสหวาน (sweetener) เช่น น้ำตาลทราย (sucrose) กลูโคสไซรัป (glucose syrup) โดยผลิตภัณฑ์ไอศกรีมสามารถแบ่งได้หลายประเภทขึ้นอยู่กับสัดส่วนของแต่ละองค์ประกอบในไอศกรีมดังแสดงในตารางที่ 1 ซึ่งองค์ประกอบแต่ละประเภทส่งผลให้ลักษณะของไอศกรีมแตกต่างกันไป (Marshall et al., 2003)



ภาพ 1 ผังกระบวนการผลิตไอศกรีมโปรไบโอติก

ที่มา: Mohammadi et al. (2011)

ตาราง 1 องค์ประกอบของไอศกรีม

Products	Milk fat	Non-fat milk solid	Sweeteners	Stabilizers and emulsifiers	Total solid
Nonfat ice cream (hard)	<0.7	12-14	18-22	1.0	35-37
Low fat ice cream (hard)	2-4	12-14	18-21	0.8	35-38
Light ice cream (hard)	5-6	11-12	18-20	0.5	35-38
Reduce fat ice cream (hard)	7-9	10-11	18-19	0.4	36-39
Soft-serve ice cream	3-4	12-14	13-16	0.4	29-31
Economy ice cream	10-11	10-11	14-17	0.3	35-37
Trade brand ice cream	11-12	10-11	14-17	0.3	37-39
Deluxe ice cream	13-14	8-9	13-17	0.3	39-40
Premium ice cream	14-16	7-8	13-17	0.3	40-41
Super premium ice cream	17-20	6-8	16-17	0.2	42-44
Frozen yogurt	3.3-6	8.3-13	16-20	0.5	30-33
Low fat frozen yogurt	2-4	8.3-13	17-21	0.6	29-32
Nonfat frozen yogurt	<0.7	8.3-14	17-21	0.6	28-31
Sherbet	1-3	1-3	26-35	0.5	28-36
Ice	-	-	26-35	0.5	26-35

ที่มา: Marshall et al., 2003



### สารให้ความหวาน (sweetener)

สารให้ความหวานเป็นสารทดแทนน้ำตาลส่วนใหญ่ที่ใช้ในอาหาร เครื่องดื่ม ยา และอาหารสัตว์ ซึ่งมีความเข้มข้นของการให้ความหวานสูงระหว่าง 30 ถึง 13,000 เท่าของน้ำตาลซูโครส โดยให้พลังงานเพียงเล็กน้อย (Lange et al., 2012; Li et al., 2020) สารให้ความหวานจำนวนมากถูกจำกัดการเผาผลาญในร่างกายเมื่อบริโภค และถูกขับออกมาโดยไม่มีการเปลี่ยนแปลง อย่างไรก็ตาม สารให้ความหวานจะเผาผลาญเป็นฟีนิลอะลานีน กรดแอสปาร์ติก และเมทานอล (Magnuson et al., 2016; Ranney et al., 1979) สามารถแบ่งตามวัตถุประสงค์การใช้งานออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่

1) สารให้ความหวานที่ให้พลังงาน ได้แก่ ฟรุคโทส(น้ำตาลจากผลไม้) มอลทิทอล ซอร์บิทอล และ ซิลิทอล สารให้ความหวานกลุ่มนี้ ไม่เหมาะสำหรับผู้ที่ต้องการ ควบคุมน้ำหนัก และผู้ป่วยโรคเบาหวาน

2) สารให้ความหวานที่ไม่ให้พลังงานหรือให้พลังงานต่ำ ได้แก่ ซูคราโลส สตีเวีย (สารสกัดจากหญ้าหวาน) แอสปาแตม อะซีซัลเฟม-โพแทสเซียมหรืออะซีซัลเฟม-เค (Acesulfame K) และ แซคคาริน (saccharin) (ขัณฑสกร) สารให้ความหวานกลุ่มนี้ เหมาะสำหรับผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนักและผู้ป่วยโรคเบาหวาน

### หญ้าหวาน (stevia)

งานวิจัยนี้ใช้หญ้าหวานเป็นสารให้ความหวาน มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Stevia rebaudiana Bertoni* อยู่ในวงศ์ *Asteraceae* เป็นพืชพื้นเมืองทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศปารากวัย ในทวีปอเมริกาใต้ ความพิเศษของหญ้าหวาน คือ ส่วนของใบให้ความหวานมากกว่าน้ำตาลถึง 10-15 เท่า แต่ความหวานนี้ไม่ก่อให้เกิดพลังงานแต่อย่างใด (0 แคลอรี/กรัม) นอกจากนี้ยังมีสารสกัดที่เกิดจากหญ้าหวานชื่อว่า สตีวิโอไซด์ (stevioside) เป็นสารที่ให้ความหวานมากกว่า 200-300 เท่าของน้ำตาล ทนต่อความร้อน pH คงที่ และไม่สามารถหมักได้จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจที่สุดสำหรับผู้ควบคุมคาร์โบไฮเดรตและน้ำตาลในเลือด เช่น ผู้ป่วยโรคเบาหวานและสุขภาพ ด้วยความพิเศษนี้หญ้าหวานจึงเป็นพืชที่ได้รับความสนใจทั้งทางด้านอุตสาหกรรม การแพทย์ ยาสมุนไพร และเครื่องดื่ม เป็นต้น (Rajbhandari, & Roberts, 1985)

กระทรวงสาธารณสุข ประกาศอนุญาตให้มีการผลิตและจำหน่ายหญ้าหวานในประเทศไทย ตั้งแต่ พ.ศ. 2545 (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 262) พ.ศ. 2545 เรื่อง สตีวิโอไซด์และ

อาหารที่มีส่วนผสมของสตีวิโอไซด์) และประกาศให้สารสกัดสตีวียอลไกลโคไซด์เป็นวัตถุเจือปนอาหาร ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2556 (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 360) พ.ศ. 2556 เรื่อง สตีวียอลไกลโคไซด์

ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขดังกล่าว สตีวียอลไกลโคไซด์ หมายความว่า สารสกัดบริสุทธิ์ จากใบหญ้าหวาน ซึ่งประกอบด้วย สตีวิโอไซด์ (Stevioside) รีบาวดิโอไซด์ เอ (Rebaudioside A) รีบาวดิโอไซด์ บี (Rebaudioside B) รีบาวดิโอไซด์ ซี (Rebaudioside C) รีบาวดิโอไซด์ ดี (Rebaudioside D) รีบาวดิโอไซด์ เอฟ (Rebaudioside F) ดัลโคไซด์ เอ (Dulcoside A) รูบัสไซด์ (Rubusoside) และ สตีวียอลไบโอไซด์ (Steviolbioside) สารสกัดจากหญ้าหวานที่อนุญาตให้ใช้เป็น ส่วนประกอบอาหารต้องมีปริมาณสารในกลุ่มสตีวียอลไกลโคไซด์รวมทั้งหมดไม่น้อยกว่าร้อยละ 95 ของ น้ำหนักแห้ง ซึ่งอ้างอิงจากมาตรฐานองค์การอาหารและเกษตร และองค์การอนามัยโลก แห่ง สหประชาชาติ (Codex 2010: JECFA Monograph (2010) INS no. 960)

#### หม่อนหรือมัลเบอร์รี่ (mulberry: *Morus spp.*)

หม่อนหรือมัลเบอร์รี่ เป็นไม้ยืนต้นประเภทพุ่ม ลำต้นมีสีเขียวแก่หรือสีน้ำตาล มีตาข้าง มากมาย ใบมีสีเขียวเข้ม มีรูปร่างหลายแบบ หลายขนาด อาจเป็นแฉกหรือไม่เป็นแฉก หรือมีทั้งใบ แฉกและใบไม่แฉกอยู่ต้นเดียวกัน ดอกตัวเมียเมื่อได้รับการผสมแล้วจะเปลี่ยนเป็นผล ซึ่งมีลักษณะเป็น ผลรวม (aggregate fruit) (ภาพที่ 2 และ 3) หม่อนเป็นพืชกึ่งร้อน (subtropical) ซึ่งมีถิ่นกำเนิดอยู่ใน แถบเอเชีย สามารถปลูกได้ทั่วไปในประเทศไทย เจริญเติบโตได้ดีที่สุดในฤดูฝน การเจริญเติบโตจะ ลดน้อยลงไปเรื่อย ๆ จนเข้าหน้าแล้ง ประเภทของหม่อนสามารถแบ่งตามวัตถุประสงค์การนำไปใช้ได้ เป็น 2 ประเภท คือ

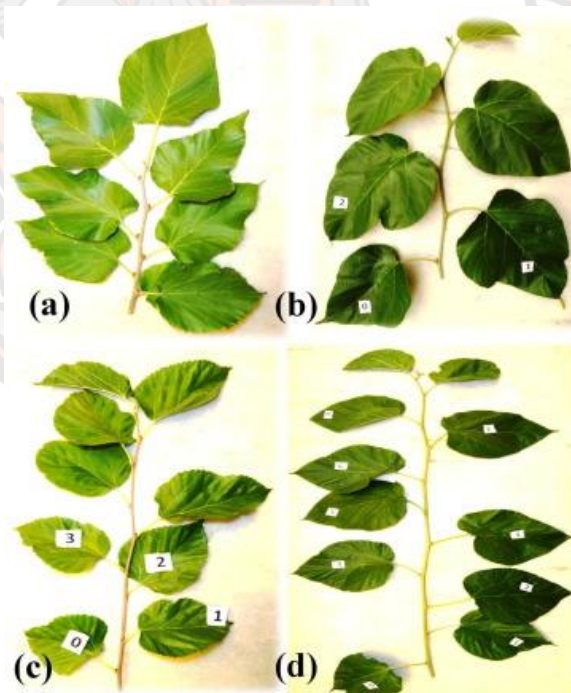
1) หม่อนที่ปลูกเพื่อรับประทานผลสด ได้แก่ black mulberry (*Morus nigra*) ซึ่งมี ผลโตเป็นช่อ เมื่อผลสุกจะมีสีดำ มีรสอมเปรี้ยวอมหวาน นิยมใช้รับประทานผลสดหรือนำไปแปรรูป ทำเป็นอาหารและเครื่องดื่มได้

2) หม่อนที่ปลูกเพื่อเลี้ยงไหม ได้แก่ white mulberry (*Morus alba* Linn.) หม่อน ชนิดนี้มีผลเป็นช่อขนาดเล็ก เมื่อสุกแล้วจะมีผลสีแดง มีรสเปรี้ยว ไม่ค่อยเป็นที่นิยมรับประทาน แต่มี ใบขนาดใหญ่ ปริมาณใบมาก ซึ่งสามารถที่จะใช้เป็นอาหารของหนอนไหมได้เป็นอย่างดี



ภาพ 2 รูปร่างและสีของผลมัลเบอร์รี่ชนิดต่าง ๆ

ที่มา: Krishna et al., 2020



ภาพ 3 รูปร่างและสีของใบมัลเบอร์รี่ชนิดต่าง ๆ

ที่มา: Krishna et al., 2020

การเลี้ยงไหมโดยเก็บใบหม่อนจากต้นที่มีอยู่ตามธรรมชาติได้เริ่มมีมาตั้งแต่ 4,000 กว่าปีมาแล้ว ต่อมาเมื่อการเลี้ยงไหมมากขึ้น จึงมีการปลูกหม่อนและทำสวนหม่อนมากขึ้น หม่อนที่มีอยู่ในประเทศไทยมีหลายชนิด ทั้งที่กำเนิดภายในประเทศและนำเข้าจากต่างประเทศ ชนิดของหม่อนที่มีบทบาทสำคัญในการปรับปรุงพันธุ์ให้ได้คุณภาพและผลผลิตดีขึ้น ได้แก่

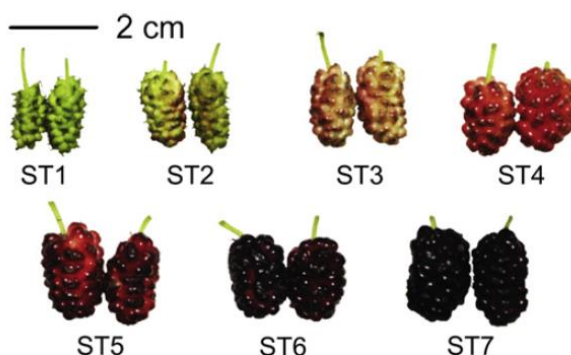
1) *Morus latifolia* Pairet เป็นหม่อนอยู่ในเขตร้อนชื้น มีใบเขียวตลอดปี ไม่มีอาการผลัดใบที่เด่นชัด ความสูงของทรงพุ่ม 8 - 10 เมตร ลำต้นโต สีเปลือกคล้ำออกสีน้ำตาลปนแดง แตกกิ่งก้านน้อย มียางมาก ใบหม่อนโต หยาบแข็ง มีขนมากกว่าหม่อนชนิดอื่น ดอกส่วนใหญ่เป็นพวกดอกสมบูรณ์เพศ มักออกดอกตามฤดูกาลในช่วงวันสั้น (short day plant) คุณค่าทางอาหารในใบค่อนข้างต่ำ และไหมไม่ค่อยชอบกิน จึงไม่นิยมนำมาเลี้ยงไหม ข้อดีของหม่อนพันธุ์นี้ คือ มีระบบรากที่แข็งแรง หยั่งรากลงไปดินลึก หาอาหารเก่ง และต้องการธาตุอาหารเป็นจำนวนมาก ในประเทศไทยพบหม่อนชนิดนี้อยู่ตามธรรมชาติหลายพันธุ์ ในลักษณะของหม่อนป่า ลักษณะเด่นชัดที่สามารถใช้เป็นหลักเกณฑ์ในการแยกออกจากสายพันธุ์อื่น คือ หม่อนพันธุ์นี้ไม่มีก้านเกสรตัวเมีย

2) *Morus bombycis* Koidg เป็นหม่อนที่สามารถเจริญในเขตที่มีอากาศหนาวเย็นได้ ลักษณะเป็นไม้พุ่มขนาดเล็ก ลำต้นสีน้ำตาลไปจนถึงสีเขียวอมดำ ผิวเปลือกเรียบ แตกกิ่งก้านสาขาได้ดี ยางน้อย การใช้ส่วนของลำต้นขยายพันธุ์ทำได้ไม่ดี ใบมีขนาดเล็ก อ่อนนุ่มและหนา ประสิทธิภาพสูง ใช้เป็นอาหารไหมได้ดี

3) *Morus alba* Linn. เป็นไม้พุ่มยืนต้นขนาดกลาง สูง 6 - 8 เมตร ผิวลำต้นเรียบ สีน้ำตาลปนแดงไปจนถึงสีเขียวอมดำ เปลือกบาง มียางเล็กน้อย การแตกกิ่งจะแตกตามลักษณะประจำพันธุ์ ใบหม่อนเรียบเป็นมัน คุณค่าทางอาหารค่อนข้างสูง ใช้เลี้ยงไหมได้ดี ส่วนใหญ่เป็นพวก Dioecious คือ มีเกสรตัวผู้และเกสรตัวเมียแยกคนละต้น และออกดอกง่ายเมื่อมีการแตกกิ่งกระโดงใหม่ ลักษณะเด่นชัดของหม่อนชนิดนี้ คือ มีก้านเกสรตัวเมียค่อนข้างสั้นหนา สามารถปลูกได้ทุกพื้นที่ทั้งในเขตร้อนและเขตหนาว

Lou et al. (2012) รายงานว่าระยะการเปลี่ยนแปลงของผลของมัลเบอร์รี่มีทั้งหมด 7 ระยะ โดยระยะที่ 1 ผลของมัลเบอร์รี่มีลักษณะเป็นสีเขียว ระยะที่ 2 ผลของมัลเบอร์รี่มีลักษณะสีเขียวอมแดงเล็กน้อย ระยะที่ 3 ผลของมัลเบอร์รี่มีลักษณะเป็นสีแดงเกือบจะเต็มที่ ระยะที่ 4 ผลของมัลเบอร์รี่มีลักษณะเป็นสีแดงเต็มที่ ระยะที่ 5 ผลของมัลเบอร์รี่มีลักษณะเป็นสีแดงอมม่วง ระยะที่ 6 ผล

ของมัลเบอร์รี่มีลักษณะเป็นสีม่วงอมแดงเล็กน้อย และระยะที่ 7 ผลของมัลเบอร์รี่มีลักษณะเป็นสีม่วง  
เต็มๆ ดังแสดงในภาพที่ 4



ภาพ 4 ระยะการเปลี่ยนแปลงของผลของมัลเบอร์รี่ : ระยะที่ 1 (ST1) - ระยะที่ 7 (ST7)

ที่มา: Lou et al., 2012

มัลเบอร์รี่เป็นผลไม้ที่ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยาอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน เนื่องจากอุดมไปด้วยสารอาหาร มีกลิ่นหอมอร่อย และเป็นแหล่งของสารโพลีฟีนอล เช่น ฟลาโวนอลส์ (flavonols) ฟลาโวนอนส์ (flavanones) แอนโทไซยานิน (anthocyanins) สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) และฟีนอลิกที่มีโมเลกุลต่ำอื่น ๆ (other low-molecular-weight phenolics) (Khalifa et al., 2018) นอกจากนี้ยังอุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสามารถวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านออกซิเดชันของมัลเบอร์รี่ได้หลายวิธี ดังนี้

1) การวิเคราะห์จากการส่งผ่านอะตอมไฮโดรเจน (Hydrogen atom transfer, HAT) เช่น

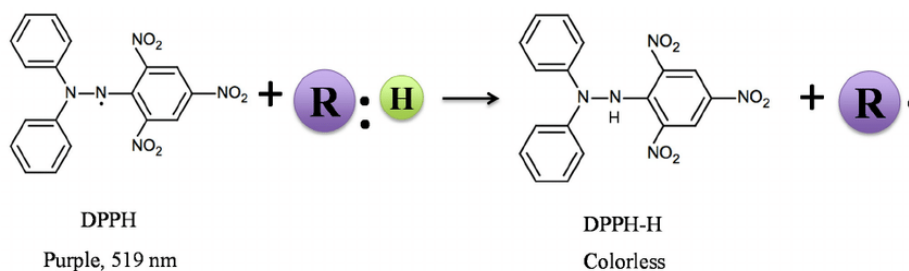
- วิธี Oxygen radical absorbance capacity assay (ORAC)
- วิธี Total radical-trapping antioxidant parameter (TRAP)

2) การวิเคราะห์จากการส่งผ่านอิเล็กตรอนเดี่ยว (Electron transfer, ET หรือ SET) เช่น

- วิธี Diphenyl-1-picrylhydrazyl assay (DPPH)
- วิธี Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP)

- วิธี Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC)

ในการศึกษานี้จะใช้วิธี DPPH โดยอนุมูลอิสระ DPPH<sup>•</sup> เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่คงตัว มีสีม่วง อยู่ในรูปอนุมูลอิสระอยู่แล้วโดยไม่ต้องทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดอนุมูลอิสระ การวิเคราะห์เป็นการวัดความสามารถในการรีดิวซ์ โดยใช้เครื่องสเปกโตรวัดค่าการลดลงของสีเมื่อเติมสารต้านอนุมูลลงไป โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515-517 นาโนเมตร ดังแสดงในภาพที่ 5



represents antioxidant

ภาพ 5 กลไกการเกิดปฏิกิริยาของ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ R : H = antioxidant radical scavenger; R = antioxidant radical

ที่มา: Liang et al., 2014

มัลเบอร์รี่ (mulberry) ผลสุกจะเป็นสีดำมีรสเปรี้ยวอมหวาน นิยมนำมารับประทานและนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ส่วนอีกชนิด คือ หม่อนที่ปลูกไว้เพื่อการเลี้ยงไหมเป็นหลัก มีชื่อสามัญว่า white mulberry และมีชื่อวิทยาศาสตร์ *Morus alba* L. ชนิดนี้ใบจะมีขนาดใหญ่และออกใบมากกว่า ใช้เป็นอาหารเลี้ยงไหมได้ดี แต่ผลจะมีขนาดเล็กกว่า เมื่อสุกจะมีรสเปรี้ยว ใช้รับประทานได้เช่นกัน แต่ไม่เป็นที่นิยมเท่าชนิดแรก และ red mulberry ที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Morus rubra* L. (MedThai, 2017; Khalifa et al., 2018) ซึ่งมัลเบอร์รี่มีคุณค่าทางอาหารดังนี้

1) ควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด

สารสกัดจากมัลเบอร์รี่มีส่วนช่วยในการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดได้ อาการระดับน้ำตาลในเลือดเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วมักเป็นปัญหาของผู้ป่วยโรคเบาหวาน แต่มัล

เบอรรี่มีสรรพคุณช่วยไม่ให้น้ำตาลในเลือดเกิดการผกผันโดยจะเข้าไปชะลอการย่อยของคาร์โบไฮเดรต ทำให้น้ำตาลในเลือดไม่เกิดการผกผันจนส่งผลเสียต่อร่างกาย (Andallu et al., 2003)

## 2) ลดคอเลสเตอรอล

คอเลสเตอรอลเป็นไขมันที่อยู่ในร่างกายซึ่งจำเป็นต้องควบคุมให้อยู่ในระดับปกติ เพราะหากมีมากเกินไปอาจจะทำให้เสี่ยงต่อโรคต่าง ๆ อาทิ โรคหัวใจ และหลอดเลือด ซึ่งการรับประทานมัลเบอรรี่สามารถช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลชนิดที่ไม่ดี (Low density lipoprotein, (LDL)) และกระตุ้นการสร้างคอเลสเตอรอลชนิดที่ดี (High density lipoprotein, (HDL)) อีกทั้งยังช่วยลดไขมันในตับ และความเสี่ยงไขมันพอกตับได้อีกด้วย (Chen et al., 2005; Huang et al., 2018; Kojima et al., 2010)

## 3) อุดมด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ

มัลเบอรรี่ถือเป็นพืชในตระกูลเบอร์รี่ที่อุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระอันทรงคุณค่า ที่ช่วยป้องกันเซลล์ต่าง ๆ จากการถูกทำลาย อันเป็นสาเหตุให้เกิดการอักเสบต่าง ๆ และริ้วรอยที่เกิดขึ้นก่อนวัย ไม่เพียงเท่านั้น สารต้านอนุมูลอิสระในมัลเบอรรี่ยังช่วยบำรุงผิวให้ดูเนียนนุ่ม กำจัดจุดต่างดำที่เกิดขึ้นบนผิว และยังบำรุงผมให้เงางามได้อีกด้วย (Kim et al., 1998)

## 4) บำรุงสมอง

การศึกษาที่ทำการทดลองกับหนูตัวผู้ พบว่า เมื่อให้หนูทดลองที่มีปัญหาเกี่ยวกับสมองกินมัลเบอรรี่ หนูเหล่านั้นจะมีความจำที่ดีขึ้น และลดการเกิดภาวะออกซิเดชัน อันเป็นสาเหตุของโรคอัลไซเมอร์ นอกจากนี้สารต้านอนุมูลอิสระในมัลเบอรรี่ยังป้องกันไม่ให้เซลล์สมองถูกทำลายด้วย (Kang et al., 2006)

## 5) ป้องกันโรคมะเร็ง

ในมัลเบอรรี่มีสารต้านอนุมูลอิสระที่จะไปทำการยับยั้งการก่อตัวของเซลล์มะเร็ง และกำจัดเซลล์มะเร็งไปพร้อม ๆ กัน (Eo et al., 2014; Park et al., 2012)

## 6) กระตุ้นการไหลเวียนของเลือด

ธาตุเหล็กในมัลเบอรรี่จะไปกระตุ้นการสร้างเม็ดเลือดแดง เพิ่มการไหลเวียนของเลือด ทำให้อวัยวะสามารถส่งออกซิเจนเข้าไปเลี้ยงเนื้อเยื่อและอวัยวะต่าง ๆ ได้มากขึ้น (Ajay Krishna et al., 2018)

#### 7) เสริมสร้างภูมิคุ้มกัน

มัลเบอร์รี่เป็นพืชที่มีสารอัลคาลอยด์ (alkaloids) ซึ่งเป็นสารที่ช่วยสร้างเสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน โดยจะไปกระตุ้นเซลล์แมคโครเฟจ (macrophages) ซึ่งเป็นเซลล์ที่ทำหน้าที่ในการกำจัดเชื้อโรคและเชื้อไวรัสที่เข้ามาในร่างกาย (Bharani et al., 2010; Chang et al., 2015; Li et al., 2009)

#### 8) ช่วยป้องกันโรคความดันโลหิตสูง

เรสเวอราทรอล (resveratrol) ในมัลเบอร์รี่จะช่วยควบคุมความดันโลหิตไม่ให้สูงจนเกินไป และลดความเสี่ยงโรคที่เกี่ยวข้องกับหลอดเลือดด้วย (Shrikanta et al., 2015; Theodotou et al., 2017)

#### 9) บำรุงสายตา

ซีแซนทีน (zeaxanthin) ที่อยู่ในมัลเบอร์รี่ เป็นสารสำคัญที่ส่งผลโดยตรงต่อสุขภาพดวงตา โดยสารนี้จะเข้าไปลดภาวะออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในดวงตา ป้องกันการเกิดจอประสาทตาเสื่อม (Mozaffarieh et al., 2003; Zhao & Sweet, 2008)

10) ในแพทย์แผนจีน มัลเบอร์รี่ถือเป็นสมุนไพรชั้นดีที่ช่วยล้างพิษในตับ ไต และเลือด อีกทั้งยังช่วยกระตุ้นการเผาผลาญแอลกอฮอล์ในร่างกายและช่วยแก้อาการเมาค้างได้ดี (Liu et al., 2017)

#### 11) เสริมสร้างกระดูกให้แข็งแรง

แคลเซียม วิตามินเค ธาตุเหล็ก ฟอสฟอรัส และแมกนีเซียม ที่มีอยู่รวมกันในผลมัลเบอร์รี่ ล้วนเป็นส่วนสำคัญในการเสริมสร้างกระดูกให้แข็งแรง ช่วยซ่อมแซมเนื้อเยื่อกระดูก ป้องกันภาวะกระดูกพรุน และชะลอการเสื่อมสภาพของกระดูกตามวัยได้ (Akbulut & Ozcan, 2009; Sheng et al., 2009)

#### 12) ช่วยในเรื่องระบบขับถ่าย

เยื่อใยในมัลเบอร์รี่จะเข้าไปกระตุ้นระบบขับถ่ายให้ทำงานเป็นปกติ และช่วยแก้ปัญหาท้องผูก ท้องอืด และจุกเสียดได้ (Aramwit et al., 2011; Asai et al., 2011)



## โพรไบโอติก (Probiotic)

องค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (Food and Agriculture Organization of the United Nations) และองค์การอนามัยโลก (World Health Organization) ได้ให้ความหมายของโพรไบโอติกเมื่อปี ค.ศ. 2011 ว่า “โพรไบโอติก คือ จุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่หรือเมื่อสิ่งมีชีวิตอื่นได้รับในปริมาณที่เหมาะสมแล้วให้ประโยชน์ต่อสุขภาพแก่สิ่งมีชีวิตนั้น” (de Simone, 2018) ซึ่งจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่คณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข ประกาศในราชกิจจานุเบกษา (2554) อนุญาตให้ใช้ในอาหารได้ โดยจะต้องมีปริมาณจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ยังมีชีวิตอยู่ไม่น้อยกว่า  $10^6$  CFU ต่ออาหาร 1 กรัม ตลอดอายุการเก็บรักษาของอาหารนั้น ได้แก่

- 1) บาซิลลัส โคแอกกูแลน (*Bacillus coagulans*)
- 2) บิฟิโดแบคทีเรียม อะโดเลสเซนทิส (*Bifidobacterium adolescentis*)
- 3) บิฟิโดแบคทีเรียม อะนิมอลิส (*Bifidobacterium animalis*)
- 4) บิฟิโดแบคทีเรียม บิฟิดัม (*Bifidobacterium bifidum*)
- 5) บิฟิโดแบคทีเรียม เบรเว (*Bifidobacterium breve*)
- 6) บิฟิโดแบคทีเรียม อินฟานทิส (*Bifidobacterium infantis*)
- 7) บิฟิโดแบคทีเรียม แล็กทิส (*Bifidobacterium lactis*)
- 8) บิฟิโดแบคทีเรียม ลองกัม (*Bifidobacterium longum*)
- 9) บิฟิโดแบคทีเรียม ซูโดลองกัม (*Bifidobacterium pseudolongum*)
- 10) เอ็นเทอโรค็อกคัส ดูแรน (*Enterococcus durans*)
- 11) เอ็นเทอโรค็อกคัส เฟเซียม (*Enterococcus faecium*)
- 12) แล็กโทบาซิลลัส แอซิโดฟิลัส (*Lactobacillus acidophilus*)
- 13) แล็กโทบาซิลลัส คริสปาทัส (*Lactobacillus crispatus*)
- 14) แล็กโทบาซิลลัส แก็สเซอร์ (*Lactobacillus gasseri*)
- 15) แล็กโทบาซิลลัส จอห์นสันนิ (*Lactobacillus johnsonii*)
- 16) แล็กโทบาซิลลัส พาราคาเซอี (*Lactobacillus paracasei*)
- 17) แล็กโทบาซิลลัส รียูเทอริ (*Lactobacillus reuteri*)
- 18) แล็กโทบาซิลลัส รามโนซัส (*Lactobacillus rhamnosus*)
- 19) แล็กโทบาซิลลัส ซาลิวาเรียส (*Lactobacillus salivarius*)

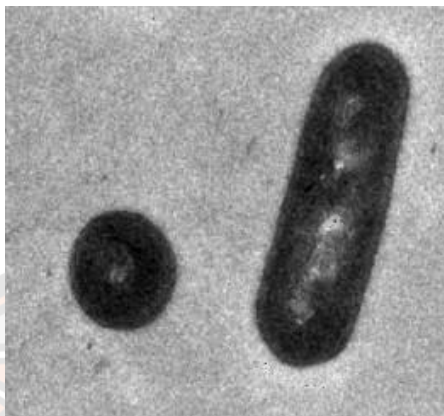
- 20) แล็กโทบาซิลลัส ซีอี (*Lactobacillus zeae*)
- 21) โพรพิโอนิแบคทีเรียม อะราไบโนซัม (*Propionibacterium arabinosum*)
- 22) สแตปฟีโลคอคคัส ไซน์ยูรี (*Staphylococcus sciuri*)
- 23) แซ็กคาโรไมซีส เซร์วิซิอี สับสปิซิย บัวลาติอี (*Saccharomyces cerevisiae* subsp. *boulardii*)
- 24) แล็กโทบาซิลลัส แพลนทารัม (*Lactobacillus plantarum* สายพันธุ์ 299V)

### *Lactobacillus plantarum*

*Lactobacillus plantarum* เป็นแบคทีเรียโปรไบโอติก แกรมบวก มีรูปร่างแท่ง (ภาพที่ 6) มักพบในลำไส้ของมนุษย์ น้ำลาย และอาหารบางชนิด ชื่อ "plantarum" หมายถึง "ชนิดของพืช" มีพบในอาหารต่าง ๆ เช่น ขนมปังที่ทำจากยีสต์ (Sourdough Bread) กะหล่ำปลีเปรี้ยว (Sauerkraut) กิมจิ (kimchi) และน้ำหมักมะกอก (Olive Brine) *L. plantarum* เป็นโปรไบโอติกที่สามารถทนต่ออุณหภูมิที่แตกต่างกันได้อย่างมาก มันสามารถอยู่รอดได้ในทุกสภาพแวดล้อมระหว่าง 1-60 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังสามารถปรับให้เข้ากับความกดดันของบรรยากาศและสามารถเจริญเติบโตได้ดีที่อุณหภูมิระหว่าง 15-45 องศาเซลเซียส และใน pH ที่ต่ำคือ 3.2 *L. plantarum* ทำงานโดยการหมักน้ำตาลเพื่อผลิตกรดแลคติก เอทานอลหรือกรดอะซิติก และคาร์บอนไดออกไซด์ นอกจากนี้ยังสามารถทนต่อกรดและเกลือของน้ำดีซึ่งหมายความว่าสามารถอยู่รอดได้จากการเดินทางผ่านระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ (Kleerebezem et al., 2003)

*L. plantarum* ได้รับการยืนยันว่าสามารถช่วยป้องกันแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในลำไส้ นอกจากนี้ยังมีหลักฐานว่า *L. plantarum* ก่อให้เกิดการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันที่สามารถปกป้องร่างกายจากโรคติดเชื้อ และช่วยซ่อมแซมเยื่อบุในลำไส้ได้โดยใช้การยึดเกาะเฉพาะของแมนโนสซึ่งช่วยให้สามารถแข่งขันกับสายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรคทั้งแกรมบวกและแกรมลบ (Flórez et al., 2006) นอกจากนี้ยังให้สารอาหารที่มีคุณค่าในเยื่อเมือก นั่นหมายความว่า *L. plantarum* สามารถหลังสารต่อต้านจุลินทรีย์ที่ช่วยยับยั้งอาณานิคมที่ก่อโรคไม่ให้ก่อตัวขึ้นในลำไส้ และมีคุณสมบัติต้านการอักเสบซึ่งสามารถช่วยในการเกิดโรคมุติตนเองได้ การศึกษาอื่น ๆ แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียชนิดนี้มีคุณสมบัติในการยึดเกาะที่มีประสิทธิภาพซึ่งช่วยให้ "เกาะ" กับผนังลำไส้และต่อสู้กับเชื้อโรค เช่น *Candida albicans* และ *E.coli* ได้ นอกจากนี้ยังมีการแนะนำด้วยว่าในเด็กที่มีความผิดปกติ

ของระบบประสาท เช่น ออทิสติกและสมาธิสั้นจะได้รับประโยชน์จาก *L. plantarum* เนื่องจากมันช่วยบรรเทาปัญหาการย่อยอาหารได้ (Mangell et al., 2006)



ภาพ 6 รูปร่างของ *Lactobacillus plantarum* CECT 748<sup>T</sup>

ที่มา: Landete et al., 2010

### *Saccharomyces boulardii*

*Saccharomyces boulardii* (ภาพที่ 7) เป็นยีสต์ที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกและเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร (McFarland, 2010) เจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มันมีกลไกการออกฤทธิ์หลายอย่างที่ต่อต้านโฮสต์เช่นเดียวกับจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค รวมถึงการควบคุมสถานะสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ การรบกวนความสามารถของเชื้อโรคในการตั้งรกรากและติดเชื้อในเยื่อเมือก ปรับการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันในระบบและรักษาความมั่นคงของการทำงานของระบบทางเดินอาหาร และเหนี่ยวนำกิจกรรมของเอนไซม์ที่เอื้อต่อการดูดซึมสารโภชนา (Czerucka et al., 2007; Im & Pothoulakis., 2010; Pothoulakis., 2009)



ภาพ 7 รูปร่างของ *Saccharomyces boulardii*

ที่มา: McFarland., 2010

Biloo et al. (2006) ประเมินประสิทธิภาพและความปลอดภัยของ *S. boulardii* ในอาการท้องร่วงเฉียบพลันและบทบาทในการลดความถี่ของอาการท้องร่วงในระยะเวลาสองเดือน โดยทำการทดลองกับเด็กอายุตั้งแต่ 2 เดือนถึง 12 ปีที่มีอาการท้องร่วงเฉียบพลัน โดยใช้ระยะเวลาในการรักษา 5 วัน หลังจากนั้นติดตามอาการของเด็กแต่ละคนเป็นเวลาสองเดือน โดยประเมินความถี่และความสม่ำเสมอของอุจจาระ ผลการศึกษาพบว่า *S. boulardii* ทำให้อุจจาระมีความสม่ำเสมอมากขึ้น และช่วยลดความถี่และระยะเวลาของอาการท้องร่วงเฉียบพลันได้อย่างมีนัยสำคัญ

### พรีไบโอติก (Prebiotics)

พรีไบโอติก คืออาหารชนิดหนึ่งเป็นสิ่งที่ไม่มีชีวิตซึ่งร่างกายไม่สามารถย่อยและดูดซึมได้ที่ลำไส้เล็ก แต่จะถูกย่อยด้วยแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่โดยจะกระตุ้นการทำงานและส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โปรไบโอติก (probiotic) มีประโยชน์ต่อสุขภาพ จัดเป็นอาหารในกลุ่ม functional food โดยทั่วไปอาหารพรีไบโอติก คืออาหารในกลุ่มคาร์โบไฮเดรต (แป้งและน้ำตาล) ส่วนใหญ่ คือ โอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) นอกจากนี้ยังแยกเป็นชนิดย่อยๆได้อีกหลายชนิด ที่นำมาใช้บ่อยคือ ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosaccharide, FOS) และอินูลิน (inulin) พรีไบโอติก เป็นอาหารที่สร้างขึ้นจากพืชทุกชนิดแต่แตกต่างกันในแต่สายพันธุ์ โดยทั่วไปมักเป็นแป้งและน้ำตาลที่พืชสะสมไว้ในหัวพบบาก

ใน กล้วย หัวหอม ต้นหอม กระเทียม หน่อไม้ฝรั่ง ข้าวบาเลย์ ข้าวสาลี และมะเขือเทศ พรีไบโอติกบางชนิดยังสามารถให้ความหวานได้โดยไม่ย่อยสลายเป็นน้ำตาลกลูโคส (glucose) จึงนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ทางอุตสาหกรรมเป็นสารให้ความหวานในผู้ป่วยโรคเบาหวาน (Saad et al., 2013)

ประโยชน์ของพรีไบโอติกที่มีต่อสุขภาพของมนุษย์ ได้แก่

1) ส่งผลกระทบต่อระบบทางเดินอาหารที่ลำไส้ใหญ่ โดยพรีไบโอติกจะเป็นอาหารให้กับจุลินทรีย์โปรไบโอติก เมื่อแบคทีเรียนำไปใช้จะให้พลังงานและสารบางชนิด เช่น กรดแลคติก และกรดไขมันชนิดสายสั้น short-(chain fatty acids) ที่เกิดจากกระบวนการหมัก ซึ่งการหมักนี้จะทำให้มีการกระตุ้นการเจริญของกลุ่มจุลินทรีย์ และสภาวะความเป็นกรดที่เกิดขึ้นจะช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียบางชนิดในลำไส้ได้ เช่น *Clostridium perfringens*, *Salmonella* spp. และ *Esherichia coli* เป็นต้น จึงมีผลช่วยป้องกันอาการท้องเดินโดยเฉพาะจากการติดเชื้อได้ นอกจากนี้ด้วยคุณสมบัติเหมือนใยอาหาร และยังสามารถช่วยบรรเทาอาการท้องผูกได้ เนื่องจากผลของการเพิ่มน้ำหนักของอุจจาระและผลต่อการเคลื่อนไหวของลำไส้จึงช่วยให้ขับถ่ายง่ายขึ้น นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงผลของพรีไบโอติกต่อความสามารถในการต้านมะเร็ง

2) ผลต่อการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิด จากการหมักพรีไบโอติกโดยแบคทีเรียในลำไส้ได้กรดไขมันชนิดสายสั้น ความเป็นกรดก็จะช่วยในการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิดได้ เช่น แคลเซียม เหล็ก แมกนีเซียม และสังกะสี นอกจากนี้ด้วยกลไกที่ทำให้มีการดึงน้ำเข้ามาช่วยในการละลายเกลือแร่ต่าง ๆ จึงมีการคาดการณ์ว่าน่าจะส่งผลช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดกระดูกพรุนได้

3) ผลต่อการเผาผลาญไขมัน มีการศึกษาเกี่ยวกับการช่วยลดระดับไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) แต่ยังไม่มียุทธศาสตร์มากนักในเรื่องของการลดคอเลสเตอรอลเช่นเดียวกัน อย่างไรก็ตามมีผู้เสนอกลไกที่เป็นไปได้ คือ การที่จุลินทรีย์เจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนมากขึ้นก็จะช่วยย่อยสลายคอเลสเตอรอลและยับยั้งการดูดซึมผ่านผนังลำไส้หรืออาจเนื่องจากกระบวนการหมักที่ได้ไขมันสายสั้นบางชนิด โดยเฉพาะกรดโพรพิโอนิก (propionic acid) ซึ่งสามารถไปยับยั้งการสังเคราะห์ไขมันรวมทั้งคอเลสเตอรอล ดังนั้นพรีไบโอติกอาจช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดแข็งซึ่งมีสาเหตุจากไขมันได้

4) ผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของระบบทางเดินอาหาร พบว่าพรีไบโอติกสามารถช่วยกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน โดยมีผลต่อการทำหน้าที่ของเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกันใน

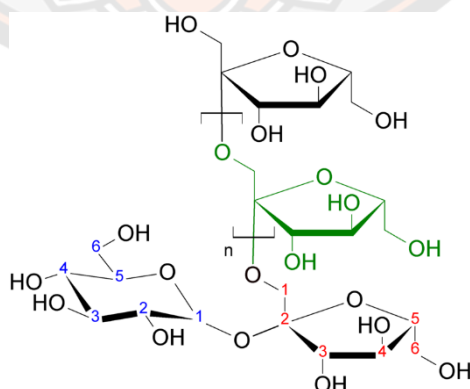
ลำไส้มีผลเพิ่มความแข็งแรงของเซลล์เยื่อผิวของลำไส้ซึ่งสามารถป้องกันการติดเชื้อได้ดี รวมถึงมีผลต่อจำนวนและการทำงานของจุลินทรีย์

## อินูลิน (Inulin)

อินูลิน (Inulin) หรือฟรักโทแซน (Fructosan) เป็นแป้งที่พบในหัวหรือรากพืชบางชนิด (Roberfroid, 2005) ละลายในน้ำอ่อนได้ดี จัดเป็นเส้นใยเรียกว่าฟรุคแทน (fructan) เป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลฟรุคโตสที่เชื่อมต่อกันเป็นเส้นตรงที่ตำแหน่งบิตา 2, 1 ( $\beta$  - 2, 1 linked polyfructan) (ระหว่าง 2-60 โมเลกุล) มีปลายด้านหนึ่งเป็นกลูโคสที่เชื่อมต่อกับฟรุคโตสในลักษณะการเชื่อมของซูโครส โดยมีคาร์โบไฮเดรตเป็นโครงสร้างหลักและไม่มีพันธะที่เป็นองค์ประกอบของวงแหวน (ภาพที่ 8) (Barclay et al., 2016; Usman et al., 2021)

อินูลินพบได้ในพืชหลายชนิด ส่วนมากพบในส่วนของหัวหรือราก เช่น กระเทียมต้น (leek) หอม ข้าวโอ๊ต (oat) ทิวลิป หน่อไม้ฝรั่ง ดอกกรักร่ำ (Dahlia) ชิโครี (Chicory) บัวหิมะ (Yacon) และ แก่นตะวัน (Jerusalem artichoke) เป็นต้น ในประเทศเขตหนาวจะใช้ชิโครีกับแก่นตะวันในการผลิตอินูลินเชิงอุตสาหกรรม ซึ่งพืชที่สะสมอินูลินจะไม่สะสมอาหารในรูปของแป้ง (Wan et al., 2020)

สารอินูลินช่วยให้แบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้เพิ่มจำนวนมากขึ้นและยับยั้งการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียสาเหตุโรคท้องร่วง และด้วยคุณสมบัติที่เป็นสารที่ให้ความหวานแต่ไม่ให้พลังงาน มันจึงถูกใช้เป็นสารทดแทนไขมันในครีม เนยแข็ง ไอศกรีม และเพิ่มใยอาหารในผลิตภัณฑ์นม (สนั่น และคณะ, 2549; Usman et al., 2021; Wan et al., 2020)



ภาพ 8 โครงสร้างของอินูลิน

ที่มา: Barclay et al., 2016

Akbari et al. (2016) ศึกษาความเป็นไปได้ในการแทนที่ไขมันในไอศกรีมด้วยอินูลินเพื่อผลิตไอศกรีมไขมันต่ำเสริมพรีไบโอติก โดยการเติมอินูลิน (2, 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์, w/w) ลงในไอศกรีมไขมันต่ำและเปรียบเทียบคุณสมบัติทางเคมีกายภาพและทางประสาทสัมผัสกับไอศกรีมกลุ่มควบคุม (ที่มีไขมัน 10 เปอร์เซ็นต์) และไอศกรีมไขมันต่ำที่ไม่มีอินูลิน โดยศึกษาค่า pH ความเป็นกรด อัตราการละลาย สี และเนื้อสัมผัสของตัวอย่างไอศกรีม ผลการทดลองพบว่าไอศกรีมไขมันต่ำที่มีการเติมอินูลินอัตราการละลายต่ำกว่าไอศกรีมกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อเปรียบเทียบความเหนียวและความแข็งของไอศกรีมไขมันต่ำที่มีและไม่มีอินูลินพบว่า การเพิ่มอินูลินทำให้ความเหนียวและความแข็งของไอศกรีมไขมันต่ำลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

### ซินไบโอติก (Synbiotic)

ซินไบโอติก (Synbiotic) คือ การนำโปรไบโอติก (Probiotics) และพรีไบโอติก (Prebiotics) ผสมเข้าด้วยกัน ซึ่งโปรไบโอติกนั้นเป็นจุลินทรีย์ชนิดดีที่มีประโยชน์ต่อลำไส้ ส่วนพรีไบโอติกเป็นเส้นใยอาหารที่ร่างกายคนเราไม่สามารถย่อยหรือดูดซึมในระบบทางเดินอาหาร แต่เป็นแหล่งอาหารของโปรไบโอติก ดังนั้น การรับประทานซินไบโอติกจึงอาจช่วยให้โปรไบโอติกทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น

### งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

นงคราญ พงศ์ตระกูล และคณะ (2561) ศึกษาผลของรูปแบบเซลล์โปรไบโอติกที่มีต่อคุณสมบัติของไอศกรีมนม โดยใช้โปรไบโอติกสายพันธุ์ *L. acidophilus* TISTR1338 สองรูปแบบ คือ เซลล์อิสระและเซลล์ที่ห่อหุ้มด้วยแป้งข้าวสาลี และน้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์กลุ่มราฟฟิโนสจากเมล็ดถั่วเหลือง ซึ่งเป็นไอศกรีมสูตรโปรไบโอติกและสูตรซินไบโอติก ตามลำดับ เมื่อศึกษาสมบัติบางประการของไอศกรีมรวมทั้งการรอดชีวิตของโปรไบโอติกในไอศกรีมพบว่าไอศกรีมนมสูตรมาตรฐานและไอศกรีมสูตรโปรไบโอติกมีสีขาวคล้ายกันแต่ไอศกรีมนมสูตรซินไบโอติกมีสีขาวอมเหลือง และเมื่อเทียบกับไอศกรีมนมมาตรฐานแล้ว ค่าโอเวอร์รันของไอศกรีมโปรไบโอติกและซินไบโอติกมีค่าต่ำกว่าประมาณร้อยละ 65 เวลาที่ใช้ในการละลายจนเกิดหยดแรกเร็วขึ้น ร้อยละ 50 และ 60 ตามลำดับ แต่เวลาในการละลายอย่างสมบูรณ์กลับช้าลงประมาณร้อยละ 30 ทั้งสองสูตร ( $P < 0.05$ ) ในขณะที่ค่าความเป็นกรด-ด่างของไอศกรีมทุกสูตรไม่แตกต่างกัน ( $P > 0.05$ ) ผลการวิจัยยังพบว่า *L. acidophilus* TISTR 1338 ในรูปผงซินไบโอติกสามารถรอดชีวิตระหว่างกระบวนการผลิตไอศกรีมซึ่งอุณหภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็งของ

น้ำได้สูงกว่าเซลล์รูปแบบบิสระประมาณร้อยละ 5.82 อย่างไรก็ตาม เซลล์โพรไบโอติกทั้งสองรูปแบบยังสามารถรอดชีวิตได้ในปริมาณสูง เมื่อทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ  $-10^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 6 สัปดาห์

ศศิกานต์ ซองทุมมินทร์, และบวรศักดิ์ สีนานนท์ (2555) ทำการผลิตไอศกรีมฟักข้าวเสริมโพรไบโอติก โดยทำการศึกษาคุณภาพของฟักข้าวทางด้านกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ แล้วนำฟักข้าวมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตไอศกรีม เมื่อศึกษาคุณภาพของเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวทางด้านกายภาพ ได้แก่ ค่าสี พบว่ามีค่าความสว่าง ( $L^*$ ) ค่าความเป็นสีแดง ( $a^*$ ) และค่าความเป็นสีเหลือง ( $b^*$ ) เท่ากับ 43.51, +26.56 และ +18.15 ตามลำดับ ทางด้านเคมี ได้แก่ ค่า pH ปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน ปริมาณเถ้า และปริมาณไลโคพิน พบว่ามีค่า pH 4.78 ปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน และปริมาณเถ้า อยู่ร้อยละ 7.92, 17.20 และ 1.01 ตามลำดับ ส่วนปริมาณไลโคพินมีอยู่เท่ากับ  $338.32 \mu\text{g/g}$  สำหรับทางด้านจุลินทรีย์ พบว่ามีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดประมาณ  $2.2 \times 10^7$  CFU ต่อกรัม เมื่อศึกษาการผลิตไอศกรีมฟักข้าวโดยใช้ปริมาณเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าวที่แตกต่างกัน 4 ระดับคือ ร้อยละ 60, 70, 80 และ 90 แล้วประเมินความชอบของผู้ทดสอบชิมต่อผลิตภัณฑ์ที่ได้พบว่าค่าคะแนนความชอบโดยรวมเฉลี่ยของไอศกรีมซึ่งเติมเยื่อหุ้มเมล็ดฟักข้าว ร้อยละ 60, 70, 80 และ 90 มีค่าเท่ากับ 5.58, 5.68, 5.70 และ 5.48 ตามลำดับ ( $P < 0.05$ )

สิริมนต์ วัฒนชัย (2552) ศึกษาอิทธิพลของสารทดแทนไขมันที่มีผลต่อการเหลือรอดของเชื้อโพรไบโอติกในไอศกรีมโยเกิร์ต โดยใช้สารทดแทนไขมัน 2 ชนิด คือ purity SM100 และ CRYSTAL texTM 648 ทดแทนหางนมในสูตรมาตรฐาน เพื่อศึกษาจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่เหลือรอดและทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส พบว่าคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสของไอศกรีมโยเกิร์ตโพรไบโอติกสูตรที่มีการเติม Purity SM 100 ที่ร้อยละ 20 ได้รับการยอมรับต่างจากสูตรอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ ) เนื่องจากไอศกรีมมีกลิ่นรสและรสชาติที่ดีกว่าตัวอย่างตัวอื่นๆ รวมทั้งยังมีการขึ้นฟูที่ดีที่สุด แต่การเติมสารทดแทนไขมันทั้ง 2 ชนิดดังกล่าว ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ไม่มีผลทำให้ค่า pH ในตัวผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโยเกิร์ตโพรไบโอติกมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \geq 0.05$ ) การเติมกล้าเชื้อ *L. acidophilus*, *Bifidobacterium* และ *Streptococcus thermophilus* ลงในไอศกรีมโยเกิร์ตโพรไบโอติกที่มีการทดแทนหางนมด้วยสารทดแทนไขมันทั้ง 2 ชนิด ที่อัตราส่วนร้อยละ 10, 15 และ 20 ตามลำดับ โดยเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ  $-20^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าชนิดและปริมาณของสารทดแทนไขมันที่ใช้มีผลต่ออัตราการเหลือรอดของจุลินทรีย์โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) โดยการเติมสารไขมัน คือ Purity SM 100 และ CRYSTAL texTM 648



ที่ทุกระดับความเข้มข้น มีผลทำให้เห็นว่าสารทดแทนไขมันทั้ง 2 ชนิดที่ใช้ในการทดลองข้างต้นนั้น มีคุณสมบัติในการห่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์โปรไบโอติก เมื่อเปรียบเทียบกับไอศกรีมโยเกิร์ตโปรไบโอติกสูตรมาตรฐานที่ไม่มีการเติมสารทดแทนไขมัน ซึ่งมีปริมาณจุลินทรีย์โปรไบโอติกเหลือรอดอยู่เพียง  $10^6$  CFU ต่อมิลลิลิตร

สุภณิดา พัฒธร, และพิมพรรณ เทียนพูล (2559) ศึกษาผลของแก๊นตะวันต่อแบคทีเรียแลคติก (LAB) ในซอร์เบทโปรไบโอติก ซึ่งซอร์เบทโปรไบโอติกเป็นผลิตภัณฑ์ไอศกรีมชนิดหนึ่งที่เหมาะสมต่อการใช้เป็นตัวนำส่งโปรไบโอติกทางอาหารของมนุษย์ คุณภาพด้านหนึ่งที่สำคัญของผลิตภัณฑ์โปรไบโอติกคืออัตราการคงอยู่ของโปรไบโอติกในระหว่างอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ จากการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณ LAB ในซอร์เบทโปรไบโอติก ได้แก่ ระยะเวลาการบ่มซอร์เบท (0, 2, 4, 6, 8 และ 10 ชั่วโมง) กระบวนการผลิต (การบ่ม การปั่น และการแช่แข็ง) ปริมาณแก๊นตะวันผง (ร้อยละ 0, 7, 14 และ 21 โดยน้ำหนักของซอร์เบท믹ซ์) และระยะเวลาการเก็บรักษา (1, 7, 14 และ 21 วัน) พบว่าระยะเวลาบ่มซอร์เบท믹ซ์ที่เหมาะสมคือ 6 ชั่วโมง ซึ่งทำให้มีปริมาณ LAB สูงที่สุดคือ  $2.48 \times 10^{11}$  CFU ต่อมิลลิลิตร ( $P < 0.05$ ) ผลการศึกษาปัจจัยของปริมาณแก๊นตะวันผงและกระบวนการผลิตพบว่าทั้งสองปัจจัยมีอิทธิพลร่วมกันต่อปริมาณ LAB โดยซอร์เบทที่เสริมแก๊นตะวันผงร้อยละ 21 ภายหลังการบ่มมีปริมาณ LAB สูงที่สุด ( $P < 0.05$ ) อย่างไรก็ตามพบว่าปริมาณ LAB ในซอร์เบทโปรไบโอติกทุกสูตร ภายหลังกระบวนการปั่นและการแช่แข็งไม่แตกต่างกัน ( $P > 0.05$ ) ผลการศึกษาอิทธิพลของปริมาณแก๊นตะวันผงและระยะเวลาการเก็บรักษาต่อปริมาณ LAB พบว่าทั้งสองปัจจัยไม่มีอิทธิพลร่วมกัน ( $P > 0.05$ ) แต่ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าปริมาณแก๊นตะวันผงที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ LAB มีปริมาณคงเหลือเพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา ( $P < 0.05$ ) และพบว่าปริมาณแก๊นตะวันผงมีผลต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสของซอร์เบทโปรไบโอติก (ประเมินด้วยวิธี 9-Point Hedonic Scale) โดยซอร์เบทโปรไบโอติกที่เติมแก๊นตะวันผงร้อยละ 21 ได้คะแนนความชอบด้านสี ความหวาน ความเรียบเนียน การละลายและความชอบโดยรวมต่ำกว่าสูตรที่ไม่เติมและเติมแก๊นตะวันผงร้อยละ 7 และ 14 ( $P < 0.05$ ) ยกเว้นด้านกลิ่นที่คะแนนไม่แตกต่างจากสูตรที่ไม่เติมแก๊นตะวันผง ( $P > 0.05$ ) แต่อย่างไรก็ตามการเสริมแก๊นตะวันผงร้อยละ 14 ในซอร์เบทโปรไบโอติกเหมาะสมเนื่องจากได้รับคะแนนการประเมินทางประสาทสัมผัสและปริมาณ LAB สูง

สุวีณา จันทพิรภัช (2553) ประยุกต์ใช้แบคทีเรียโปรไบโอติกในไอศกรีมเสาวรส แล้วประเมินความชอบของผู้ทดสอบชิมต่อผลิตภัณฑ์ไอศกรีมเสาวรสที่มีปริมาณเสาวรสที่เข้มข้นต่างกัน 3 ระดับคือ

ร้อยละ 10, 20 และ 30 พบว่าค่าคะแนนความชอบเฉลี่ยของคุณลักษณะทางด้านความชอบโดยรวมของตัวอย่างไอศกรีมเสาวรสที่มีการเติมเสาวรสที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 20 ให้คะแนนสูงกว่าตัวอย่างไอศกรีมเสาวรสที่มีการเติมเสาวรสที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 10 และ 30 ( $P \leq 0.05$ ) โดยค่าคะแนนความชอบเฉลี่ยของคุณลักษณะทางด้านความชอบโดยรวมที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 20 อยู่ที่ประมาณ 7 หรืออยู่ที่ระดับชอบปานกลาง ส่วนที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 10 และ 30 อยู่ที่ประมาณ 5.4 และ 6.1 ตามลำดับ เมื่อศึกษาการเหลือรอดของแบคทีเรียโปรไบโอติกต่างสายพันธุ์กัน ได้แก่ *Lactobacillus acidophilus* TISTR1338 และ *Lactobacillus casei* TISTR390 ในระหว่างขั้นตอนการผลิตไอศกรีมเสาวรสพบว่าแบคทีเรียโปรไบโอติกทั้งสองสายพันธุ์ให้ค่าเปอร์เซ็นต์การเหลือรอดไม่แตกต่างกัน ( $P > 0.05$ ) โดยเชื้อ *L. acidophilus* มีค่าการเหลือรอดเท่ากับร้อยละ 99.05 ส่วนเชื้อ *L. casei* มีค่าการเหลือรอดเท่ากับร้อยละ 99.27 เมื่อศึกษาการเหลือรอดของแบคทีเรียโปรไบโอติกในไอศกรีมเสาวรส โดยศึกษาผลของการห่อหุ้มเซลล์ด้วยโซเดียมอัลจิเนต ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1, 2 และ 3 และการเติมสารป้องกันการเสียสภาพธรรมชาติเนื่องจากความเย็นที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.5 1.5 และ 2.5 ต่อเวลาการเหลือรอดของแบคทีเรียโปรไบโอติกในไอศกรีมเสาวรส พบว่าในขั้นตอนการปั่นไอศกรีม (freezing) แบคทีเรียโปรไบโอติกที่ผ่านการห่อหุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนตที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 1 2 และ 3 ให้เปอร์เซ็นต์การเหลือรอดไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุม ( $P > 0.05$ ) ส่วนขั้นตอนการแช่เยือกแข็ง (hardening) พบว่าแบคทีเรียโปรไบโอติกที่ผ่านการห่อหุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนตที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2 และ 3 จะมีการเหลือรอดเท่ากับร้อยละ 99.58 และ 99.38 ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าตัวอย่างควบคุมที่มีการเหลือรอดเท่ากับร้อยละ 98.45 ( $P \leq 0.05$ ) ส่วนเชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติกที่มีการเติมสารป้องกันการเสียสภาพธรรมชาติเนื่องจากความเย็นที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1.5 และ 2.5 ซึ่งมีอัตราการเหลือรอดของจุลินทรีย์โปรไบโอติกเท่ากับร้อยละ 98.87, 98.78 และ 99.26 ตามลำดับ พบว่ามีการเหลือรอดไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุม ซึ่งมีการเหลือรอดเท่ากับ 99.16 ( $P > 0.05$ ) และจากผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของไอศกรีมเสาวรสโดยประเมินค่าคะแนนความชอบด้านสี กลิ่น ความเปรี้ยว รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม พบว่าไอศกรีมเสาวรสเสริมโปรไบโอติกที่ผ่านการห่อหุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนตและเติมสารป้องกันอันตรายจากความเย็นมีค่าคะแนนความชอบไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุมโดยมีค่าคะแนนความชอบโดยรวมเฉลี่ยมากกว่า 6.5 ( $P > 0.05$ ) ดังนั้นการเติมสารข้างต้นจะทำให้มีผลการเหลือรอดของเชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติกในไอศกรีมเสาวรส โดยช่วยเพิ่มการเหลือรอดของเชื้อโดยไม่ทำให้คุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนแปลงไป และการศึกษาการ

เปลี่ยนแปลงจำนวนแบคทีเรียโปรไบโอติกในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 °C เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าในสัปดาห์ที่ 8 พบว่าจำนวนเชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติกมีแนวโน้มลดลง โดยไอศกรีมเสาวรสเสริมโปรไบโอติกที่ผ่านการห่อหุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนตและไอศกรีมเสาวรสเสริมโปรไบโอติกที่ผ่านการห่อหุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนตร่วมกับการเติมสารป้องกันการเสีสภาพธรรมชาติ เนื่องจากความเย็นมีจำนวน 8.08 และ 8.09 log CFU ต่อกรัม ตามลำดับ โดยมีจำนวนสูงกว่าตัวอย่างไอศกรีมเสาวรสเสริมโปรไบโอติกและไอศกรีมเสาวรสเสริมโปรไบโอติกที่เติมสารป้องกันอันตรายจากความเย็น ซึ่งมีจำนวน 7.82 และ 7.88 log CFU ต่อกรัม ตามลำดับ ส่วนค่าความเป็นกรด - ต่างของไอศกรีมเสาวรสเสริมโปรไบโอติกทั้ง 4 ชนิดพบว่ามีความชื้นลดลง และค่าเปอร์เซ็นต์ความเป็นกรด (กรดแลคติก) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น

Akalin et al. (2018) ศึกษาผลของเส้นใยอาหาร (dietary fiber) 5 ชนิด ได้แก่ แอปเปิ้ล ส้ม ข้าวโอ๊ต ฝั่ และข้าวสาลี ต่อสมบัติทางเคมีกายภาพ คุณสมบัติการไหล (rheology) และเนื้อสัมผัส คุณสมบัติทางประสาทสัมผัส และการรอดชีวิตของโปรไบโอติกในไอศกรีมเสริมเส้นใยอาหารที่เก็บที่อุณหภูมิ -18 °C เป็นเวลา 180 วัน พบว่าการเสริมเส้นใยส้มและแอปเปิ้ลมีผลทำให้ไอศกรีมมีปริมาณกรดเพิ่มขึ้น ค่าความสว่าง (lightness) ลดลง และช่วยเพิ่มค่าความเป็นสีแดงและสีเหลืองในไอศกรีม และเมื่อเปรียบเทียบไอศกรีมที่เสริมเส้นใยอาหารทั้งหมดกับชุดควบคุม พบว่าค่าดัชนี consistency และความหนืด (viscosity) ของตัวอย่างไอศกรีมทุกชุดการทดลองมีค่าเพิ่มขึ้น ยกเว้นไอศกรีมที่เสริมเส้นใยข้าวโอ๊ต โดยไอศกรีมที่เสริมเส้นใยแอปเปิ้ลให้ค่าความหนืดสูงสุด ในขณะที่ไอศกรีมที่เสริมเส้นใยส้มให้ค่าความแข็ง (hardness) สูงสุดเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 60 วัน และพบว่าไอศกรีมที่เสริมเส้นใยส้มและแอปเปิ้ลยังช่วยเพิ่มความต้านทานในการละลายอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามผู้ทดสอบชิมไม่พึงพอใจต่อรสชาติของไอศกรีมเหล่านี้ และเมื่อศึกษาการรอดชีวิตของโปรไบโอติก *L. acidophilus* และ *Bifidobacterium lactis* พบว่าไอศกรีมทุกชุดการทดลองยกเว้นไอศกรีมที่เสริมเส้นใยส้มและฝั่มีการรอดชีวิตของ *L. acidophilus* มากกว่า 7 log CFU ต่อกรัม ในขณะที่ไอศกรีมทุกชุดการทดลองมีการรอดชีวิตของ *B. lactis* มากกว่า 6 log CFU ต่อกรัม เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 150 วัน

Chaikham, & Rattanasena (2017) แนะนำให้เสริมโปรไบโอติกในไอศกรีมไขมันต่ำเพราะเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์ โดยศึกษาผลของการเสริมและไม่เสริมโปรไบโอติก *L. casei* 01 และ *L. acidophilus* LA5 ในไอศกรีมไขมันต่ำต่อจุลินทรีย์ในลำไส้และการผลิตสารเมตาบอไลต์ในระบบจำลองทางเดินอาหารของมนุษย์ พบว่าการเสริมโปรไบโอติกโดยเฉพาะ *L. casei* 01 ในไอศกรีมไขมันต่ำ

มีผลต่อการผลิตสารเมตาบอไลต์ซึ่งได้แก่ อะซิเตต (acetate) โพรไพโอเนต (propionate) บิวไทเรต (butyrate) และกรดแลคติก (lactic acid) อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ปริมาณแอมโมเนียที่เป็นพิษในระบบจำลองลดลง ปริมาณของแบคทีเรียกลุ่ม *Lactobacilli* และ *Bifidobacteria* เพิ่มขึ้น ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายอื่น ๆ เช่น clostridia และ coliforms ในอุจจาระในระบบจำลองค่อยๆ ลดปริมาณลง

Cruz et al. (2009) กล่าวว่า ไอศกรีมอาจเป็นตัวนำส่งกล้าเชื้อที่เป็นโปรไบโอติกที่ดีเนื่องจากองค์ประกอบของไอศกรีมนั้นประกอบด้วยโปรตีนจากนม ไขมัน น้ำตาลแลคโตส รวมไปถึงองค์ประกอบอื่น ๆ ที่จะส่งเสริมการอยู่รอดของโปรไบโอติกจากการเก็บรักษาเนื่องจากไอศกรีมเป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องแช่แข็ง อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์ไอศกรีมควรมีค่าความเป็นกรด-ด่าง ในช่วง 5.5-6.5 ซึ่งจะนำไปสู่อัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียโปรไบโอติกระหว่างการเก็บรักษา นอกจากนั้นค่าความเป็นกรด-ด่างดังกล่าวยังส่งผลต่อการยอมรับของผู้บริโภคไอศกรีมอีกด้วย สอดคล้องกับการรายงานของ Mohammadi et al., (2011) กล่าวว่า ไอศกรีมเป็นผลิตภัณฑ์จากนมที่มีศักยภาพในการทำหน้าที่เป็นตัวพาแบคทีเรียโปรไบโอติกไปยังตำแหน่งเป้าหมาย การเสริมโปรไบโอติกในไอศกรีมนั้นนอกจากจะทำให้ไอศกรีมเป็นอาหารเพื่อสุขภาพแล้ว ตัวของไอศกรีมเองยังประกอบไปด้วยสารอาหารที่เป็นประโยชน์ เช่น วัตถุดิบจากโคนม วิตามินและแร่ธาตุ ซึ่งล้วนแล้วแต่มีประโยชน์ต่อผู้บริโภค และเมื่อเปรียบเทียบตัวพาโปรไบโอติกระหว่างนมหมัก (fermented milks) กับไอศกรีม พบว่าโปรไบโอติกอยู่รอดในไอศกรีมได้ดีกว่าไม่ว่าจะเป็นในกระบวนการผลิตหรือระหว่างการเก็บรักษา อย่างไรก็ตามการสูญเสียแบคทีเรียโปรไบโอติกที่มีชีวิตในไอศกรีมในระหว่างการผลิต การแปรรูป การเก็บรักษาและเมื่อไอศกรีมละลายเป็นสิ่งที่ไม่พึงประสงค์ ในระหว่างขั้นตอนเหล่านี้เซลล์โปรไบโอติกจะเผชิญกับความเครียดที่แตกต่างกัน เช่น ค่าความเป็นกรด-ด่าง การออกซิเดชัน การแช่แข็ง ความเข้มข้นของน้ำตาลและผลจากการออสโมติก (osmotic) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และการตัดเชิงกล ซึ่งในระหว่างกระบวนการแช่แข็ง (freezing process) อัตราการสูญเสียเซลล์โปรไบโอติกจะสูงกว่าระหว่างการเก็บรักษา (during storage) เพื่อลดการสูญเสียดังกล่าวจึงได้มีการนำวิธีการต่าง ๆ มาประยุกต์ใช้ เช่น การคัดเลือกและการประยุกต์ใช้สายพันธุ์โปรไบโอติกที่ทนต่อออกซิเจน การกำจัดโมเลกุลออกซิเจน (oxygen scavenging) การใช้วัสดุบรรจุภัณฑ์ที่ออกซิเจนไม่สามารถผ่านได้ การใช้วัสดุบรรจุภัณฑ์ที่หนาขึ้นและทนความร้อน การใช้เทคนิคห่อหุ้มเซลล์ (microencapsulation) และการปรับสูตรผลิตภัณฑ์ (เช่น การเสริมด้วยสารอาหารและโปรไบโอติก) วิธีการเหล่านี้สามารถเพิ่มความสามารถในการรอดชีวิตของโปรไบโอติกในผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้ายได้ โดยที่

การเสริมแบคทีเรียโปรไบโอติกในไอศกรีมมีผลเพียงเล็กน้อยต่อรสชาติ เนื้อสัมผัสหรือลักษณะทางประสาทสัมผัสอื่น ๆ

Öztürk et al. (2018) ผลิตไอศกรีมเสริมโปรไบโอติก *L. casei* 431 และเปรียบเทียบกับฟรีไบโอติกจากผลไม้ 2 ชนิด คือ white blue และ dark blue fruit (*Myrtus communis*) ต่อการรอดชีวิตของโปรไบโอติก *L. casei* 431 และคุณลักษณะของไอศกรีม โดยการเติมเนื้อผลไม้ลงในไอศกรีมนมแพะ พบว่าผลไม้ทั้ง 2 ชนิดมีคุณสมบัติเป็นฟรีไบติก โดยกระบวนการแช่แข็งส่วนผสมไอศกรีมมีผลทำให้ *L. casei* 431 ลดลงประมาณ 0.80–1.32 log CFU/กรัม อย่างไรก็ตามการรอดชีวิตของ *L. casei* 431 ยังคงอยู่ในระดับสูงและไม่พบการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระในระหว่างการเก็บรักษา

Prasertsiriphan, & Kusump (2558) ศึกษาผลของเชื้อโปรไบโอติก 3 สายพันธุ์ต่อคุณภาพของไอศกรีมวนิลาไขมันต่ำในระหว่างการเก็บรักษา โดยผลิตไอศกรีมวนิลาไขมันต่ำจำนวน 4 ชุดการทดลอง ได้แก่ ไอศกรีมวนิลาไขมันต่ำผสม *L. acidophilus* BCC51147 ไอศกรีมวนิลาไขมันต่ำผสม *L. rhamnosus* DSM20021, ไอศกรีมวนิลาไขมันต่ำผสม *L. casei* 01 และไอศกรีมวนิลาไขมันต่ำสูตรควบคุม (ไม่เติมเชื้อโปรไบโอติก) แล้วเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C เป็นเวลา 40 สัปดาห์ วัดการรอดชีวิตของเชื้อโปรไบโอติกในไอศกรีม pH ปริมาณกรด สมบัติการละลาย และการยอมรับทางประสาทสัมผัสของไอศกรีม ในสัปดาห์ที่ 0, 20 และ 40 หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 40 สัปดาห์พบว่า เชื้อโปรไบโอติกทุกสายพันธุ์มีอัตราการรอดชีวิตอยู่ที่ 96-98 เปอร์เซ็นต์ จากปริมาณเชื้อตั้งต้นซึ่งคิดเป็นจำนวนมากกว่า 7 log CFU ต่อกรัม ไอศกรีมที่เติมโปรไบโอติกมีค่า pH ต่ำกว่าไอศกรีมสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) โดยไอศกรีมที่เติม *L. acidophilus* มีค่า pH ต่ำที่สุด ไอศกรีมสูตรควบคุมและไอศกรีมที่เติม *L. rhamnosus* มีปริมาณกรดต่ำกว่าสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) ไอศกรีมที่เติม *L. acidophilus* และไอศกรีมที่เติม *L. rhamnosus* มีอัตราการละลายสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) การทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) ระหว่างไอศกรีมที่เติมโปรไบโอติกและไอศกรีมสูตรควบคุมในด้านลักษณะปรากฏ สี และความชอบโดยรวม และเมื่อเก็บไอศกรีมที่เติมโปรไบโอติกไว้เป็นระยะเวลาเวลานานขึ้นพบว่า การยอมรับทางด้านกลิ่นรส รสชาติ และเนื้อสัมผัส มีค่าสูงกว่าไอศกรีมสูตรควบคุม ผู้บริโภคไม่พบความแตกต่างทางด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่นรส รสชาติ และความชอบโดยรวมของไอศกรีมที่เติมโปรไบโอติก ในขณะที่ไอศกรีมที่เติม *L. acidophilus* และไอศกรีมที่เติม *L. rhamnosus* มีคะแนนการยอมรับในด้านเนื้อสัมผัสสูงที่สุด

Lou et al. (2012) ได้ทำการศึกษาการใช้การวัดคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์และค่าความเข้ม RGB เพื่อประเมินการเปลี่ยนแปลงของค่าทางเคมีภายในของมัลเบอร์รี่ (พลาโวนอยด์ทั้งหมด ฟีนอลิกทั้งหมด การตรวจสอบกิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระและน้ำตาล) ในระยะที่ 1 และระยะที่ 7 ของมัลเบอร์รี่มัลเบอร์รี่ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าความสัมพันธ์ระหว่างคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์และค่าความเข้มของแสง RGB ในช่วงระยะที่ 4 ถึงระยะที่ 7 มากกว่าในช่วง ระยะที่ 1 ถึงระยะที่ 7 ตามลำดับ ความสัมพันธ์ที่สูงระหว่างคลอโรฟิลล์ฟลูออเรสเซนซ์และค่าทางเคมีภายใน มีค่าอยู่ระหว่างระยะที่ 4 ถึงระยะที่ 7 โดยค่า  $R^2$  อยู่ในช่วง 0.82 ถึง 0.94 ในส่วนของค่าความเข้ม RGB พบว่ามีความสัมพันธ์กับค่าทางเคมีภายในมี  $R^2$  อยู่ในช่วง 0.93 ถึง 0.97 ในช่วงระยะที่ 4 ถึงระยะที่ 7 ตามลำดับ และมีค่าฟีนอลิกทั้งหมด กิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระและน้ำตาลที่สูงขึ้น ตามลำดับ

Kwaw et al. (2018a) ได้ศึกษาผลของเชื้อแบคทีเรียแลคติก (LAB) ต่อคุณสมบัติของสีสมบัติของสารฟีนอลิกและกิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระของน้ำมัลเบอร์รี่หมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 ชั่วโมง โดยใช้ *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactobacillus paracasei* ผลการศึกษาพบว่าการหมักกรดแลคติกมีผลต่อสีของน้ำมัลเบอร์รี่ นอกจากนี้การศึกษาแสดงให้เห็นว่า LAB ส่งผลกระทบต่อสารฟีนอลิกของน้ำมัลเบอร์รี่ ในส่วนของกิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระของน้ำมัลเบอร์รี่หมัก พบว่าการหมักด้วย *L. plantarum* มีกิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระสูงสุด

## บทที่ 3

### วิธีดำเนินงานวิจัย

#### วัสดุ

1. มัลเบอร์รี่พันธุ์ black mulberry ระยะที่ 5-7 จากอำเภอเขาค้อ จังหวัดเพชรบูรณ์
2. ยีสต์ *Saccharomyces boulardii* ทางการค้ายี่ห้อ BIOFLOR® ซึ่งอยู่ในรูป Lyophilized ขนาด 250 มิลลิกรัม
3. *Lactobacillus plantarum* TISTR 926 แยกมาจากแป้งข้าวหมาก จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.)
4. ส่วนประกอบของไอศกรีม
  - 4.1 อินูลิน จากบริษัทกรุงเทพเคมี นำเข้าจากประเทศเบลเยียม
  - 4.2 แชนแทนกัม จากบริษัทกรุงเทพเคมี นำเข้าจากประเทศจีน
  - 4.3 หญ้าหวาน ซึ่งอยู่ในรูปแบบ Stevioside จากบริษัทกรุงเทพเคมี ผลิตในประเทศไทย
  - 4.4 ผงเวย์ ยี่ห้อ Cathay dairy จากร้าน 168 เบเกอร์รี่ อำเภอเมือง จังหวัดพิษณุโลกนำเข้าจากประเทศฝรั่งเศส
  - 4.5 น้ำมันโคพร้าวรมันเนยพาสเจอร์ไรซ์ ตราดัดซ์มิลล์ จากเทสโก้ โลตัส เอ็กซ์ตรา
5. อาหารเลี้ยงเชื้อ
  - 5.1 Agar powder จากบริษัท HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., India
  - 5.2 Lactobacillus MRS Broth จากบริษัท HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., India
  - 5.3 Peptone จากบริษัท HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., India
  - 5.4 Plate Count Agar จากบริษัท HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., India
  - 5.5 Sabouraud Dextrose Agar จากบริษัท HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., India
  - 5.6 Violet Red Bile Agar จากบริษัท HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., India

5.7 SS Agar (Salmonella Shigella Agar) จากบริษัท HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., India

5.8 MYP Agar Base (Phenol Red Egg Yolk Polymyxin Agar Base) จากบริษัท HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., India

5.9 MacConkey Agar w/0.15% Bile salts, CV and NaCl จากบริษัท HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., India

5.10 Baird Parker Agar Base จากบริษัท HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., India

5.11 Listeria Selective Agar Base จากบริษัท HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., India

5.12 Listeria Selective Supplement II, Modified จากบริษัท HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., India

5.13 Polymyxin B selective Supplement FD003-5X5VL จากบริษัท HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., India

5.14 Egg Yolk Tellurite Emulsion FD046-100MLX5VL จากบริษัท HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., India

5.15 Egg Yolk Emulsion FD045-100MLX5VL จากบริษัท HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., India

## 6. สารเคมี

6.1 Ethanol 95 เปอร์เซ็นต์ จากบริษัท เวชกิจ เคมีภัณฑ์ จำกัด

6.2 Methanol 99.9 เปอร์เซ็นต์ จากบริษัท เวชกิจ เคมีภัณฑ์ จำกัด

6.3 Potassium chloride (KCl) ยี่ห้อ Ajax Finechem จากบริษัท Ajax Finechem Pty. Ltd., Australia

6.4 Sodium acetate hydrated ( $\text{CH}_3\text{COONa}$ ) ยี่ห้อ Ajax Finechem จากบริษัท Ajax Finechem Pty. Ltd., Australia

6.5 Gallic acid Made in China จากบริษัท เวชกิจ เคมีภัณฑ์ จำกัด

6.6 Sodium chloride 99 เปอร์เซ็นต์ ยี่ห้อ RCI-labscan จากบริษัท RCI Labscan Ltd., Thailand



6.7 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) จากบริษัท Sigma-aldrich Product of Germany

6.8 6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethyl-chromane-2-carboxylic acid จากบริษัท Sigma-aldrich Product of Germany

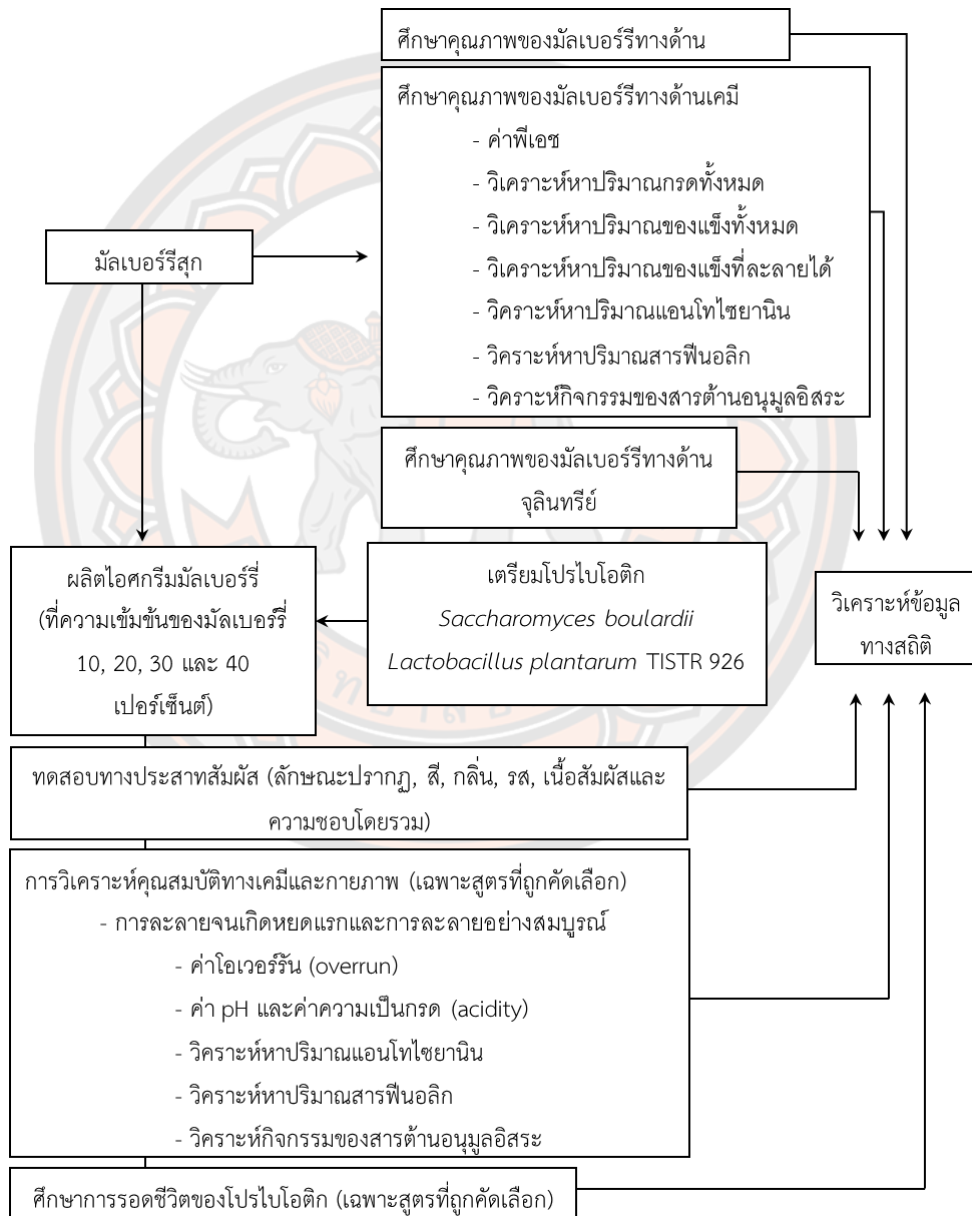
6.9 Folin & ciocalteu's phenol reagent จากบริษัท เวชกิจ เคมีภัณฑ์ จำกัด

## อุปกรณ์

1. ภาชนะบรรจุปิดสนิท
2. ถาดสแตนเลส
3. เครื่องชั่งดิจิตอลละเอียด 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ And รุ่น FX-2000i ผลิตในประเทศญี่ปุ่น
4. เครื่องปั่นเอนกประสงค์ ยี่ห้อ Philips บริษัท Philips consumer lifestyle B.V. ผลิตในประเทศอินโดนีเซีย
5. เครื่องปั่นไอศกรีม ยี่ห้อ unold จากบริษัท European
6. เครื่อง Hand refractometer รุ่น RHW-25ATC ผลิตในประเทศจีน
7. เครื่องวัด UV-VIS Spectrophotometer ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น UV-1800
8. เครื่องวัดสีแบบพกพา CIE lab (Colorimeter) ยี่ห้อ Konica Minolta รุ่น CR400
9. เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) ยี่ห้อ Ohaus รุ่น STARTER 3100 ผลิตในประเทศสหรัฐอเมริกา
10. เครื่องเขย่าสาร (vortex mixer) ยี่ห้อ DaiHan รุ่น VM-10 ผลิตในประเทศเกาหลี
11. ตู้บ่ม (incubator) ยี่ห้อ DaiHan รุ่น ThermoStable IF-105 ผลิตในประเทศเกาหลี
12. ตู้อบแห้งลมร้อน (hot air oven) ยี่ห้อ DaiHan รุ่น Horizontal Flow Oven OF-155 ผลิตในประเทศเกาหลี
13. ตู้เย็น ยี่ห้อ Mitsubishi Electric รุ่น MR-FV22M ผลิตในประเทศญี่ปุ่น
14. ตู้แช่แข็ง (freezer) รุ่น NFT-4258
13. ตู้ปลอดเชื้อ (laminar air flow) ยี่ห้อ Microtech รุ่น V6-T
14. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความดันไอน้ำ (autoclave) ยี่ห้อ All american รุ่น 75X
15. ไมโครปิเปต (Micropipette) ยี่ห้อ Biohit รุ่น Proline ขนาด 100-1000  $\mu\text{L}$

16. เครื่องแก้วสำหรับการวิเคราะห์ จากบริษัท เวชกิจ เคมีภัณฑ์ จำกัด
17. โถดูดความชื้น (Desiccator) จากบริษัท เวชกิจ เคมีภัณฑ์ จำกัด
18. เตาแผ่นความร้อนจากการเหนี่ยวนำ Induction cooker จากบริษัท เค.พี. กมลกิจ อินเตอร์เทรด จำกัด

### วิธีการวิจัย



ภาพ 9 แผนภาพสรุปวิธีการทำวิจัย

## 1. การเตรียมมัลเบอร์รี่

นำผลมัลเบอร์รี่สุกระยะที่ 5-7 ที่ได้จากบริษัทอุตสาหกรรมการเกษตรเขาค้อ จำกัด มาล้างน้ำทำความสะอาด แล้วบรรจุใส่ถุงภายใต้สุญญากาศ จากนั้นนำไปเก็บรักษาในตู้แช่เยือกแข็งที่ อุณหภูมิต่ำ -18 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

## 2. การศึกษาคุณภาพของมัลเบอร์รี่ทางด้านกายภาพ

สุ่มตัวอย่างผลมัลเบอร์รี่สุกที่ยังไม่ได้ผ่านการแช่แข็งดังแสดงในภาพที่ 10 มาตรวจวิเคราะห์ค่าสี ในระบบ CIE lab ( $L^*$   $a^*$   $b^*$ ) โดยใช้เครื่อง Colorimeter meter โดยค่า  $L^*$  คือ ความสว่าง ซึ่งมีค่าระหว่าง 0-100 ค่า  $a^*$  แสดงค่า (+) สีแดง หรือ (-) สีเขียว และค่า  $b^*$  แสดงค่า (+) สีเหลืองหรือ (-) สีนํ้าเงิน



ภาพ 10 ตัวอย่างมัลเบอร์รี่ จากบริษัทอุตสาหกรรมการเกษตรเขาค้อ จำกัด

## 3. การศึกษาคุณภาพของมัลเบอร์รี่ทางด้านเคมี

3.1 ค่าพีเอช ตามวิธีการของ AOAC (2000) ดยนำผลมัลเบอร์รี่สุกมาปั่นด้วยเครื่องปั่นละเอียด แล้วกรองด้วยผ้าขาวบาง จากนั้นนำน้ำที่ได้ มาวัดค่าพีเอช โดยใช้ pH meter ดังแสดงในภาพที่ 11



ภาพ 11 การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วย pH meter

3.2 วิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมด (Total acidity) ตามวิธีการของ AOAC (2000) โดยนำตัวอย่างมัลเบอร์รี่มาปั่นด้วยเครื่องปั่นละเอียด แล้วกรองด้วยผ้าขาวบางให้ได้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร จากนั้นหยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน (phenolphthalein) ความเข้มข้นร้อยละ 1 (w/v) ลงไป 2-3 หยด แล้วไตเตรทด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล ที่ผ่านการทำให้มาตรฐานจนถึงจุดเปลี่ยนสี บันทึกปริมาตรของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไป แล้วคำนวณค่าร้อยละของกรดทั้งหมด (เทียบกับกรดซิตริก) จากสูตร

$$\% \text{Titration acidity} = (\text{ml of used NaOH} \times \text{normality of NaOH} \times 64.04 \times 100) / (\text{Volume of sample in ml} \times 1000)$$

เมื่อ normality of NaOH = 0.1 M

Eq.wt. citric acid = 64.04

Volume of sample = 10 mL

3.3 วิเคราะห์หาปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total solids) ตามวิธีการของ AOAC (2000) โดยนำถ้วยไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 100-102°C เป็นเวลา 30 นาที ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น จากนั้นนำถ้วยมาชั่งน้ำหนัก (W1) แล้วชั่งตัวอย่างมัลเบอร์รี่จำนวน 3 กรัม (W2) ใส่ในถ้วยที่เตรียมไว้ จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 100°C จนแห้ง เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นใน

โถดูดความชื้นเป็นเวลา 30 นาที และชั่งน้ำหนักที่คงที่ (W3) แล้วคำนวณหาปริมาณของแข็งทั้งหมด จากสูตร

$$\text{ปริมาณของแข็งทั้งหมด ร้อยละของน้ำหนัก} = 1 - \frac{W2 - W3}{W2 - W1} \times 100$$

เมื่อ W1 คือ น้ำหนักของถ้วยหาความชื้น (g)

W2 คือ น้ำหนักของถ้วยหาความชื้นและตัวอย่างก่อนอบ (g)

W3 คือ น้ำหนักของถ้วยหาความชื้นและตัวอย่างหลังอบ (g)

3.4 วิเคราะห์หาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Total soluble solids) ด้วยเครื่อง Hand refractometer โดยใช้เครื่องวัดปริมาณความหวาน 0-40 %Brix แบบกลิ้งส่อง ปรับเทียบมาตรฐานโดยใช้น้ำกลั่นปรับให้อ่านค่าได้ 0 ก่อนการวัดตัวอย่างทุกครั้ง จากนั้นทำการหยดตัวอย่างที่เตรียมได้จากข้อ (3.1) 1-2 หยด ลงในแผ่นตรวจวัดแล้วปิดฝาเลนส์ และทำการส่องดูค่าหักเหของแสง อ่านค่าที่เส้นแบ่งระหว่างสีขาวกับสีฟ้า ดังแสดงในภาพที่ 12 แล้วบันทึกผล โดยทำการหาค่าทั้งหมด 3 ครั้ง ซึ่งค่าของปริมาณความหวานจะถูกเทียบค่าออกมาเป็น %Brix หรือ °Brix ซึ่งมีค่าความแม่นยำอยู่ที่  $\pm 0.2$  %Brix (Magwaza & Opara, 2015)



ภาพ 12 การวัดปริมาณความหวานโดยใช้เครื่อง Hand refractometer

### 3.5 การวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานิน ปริมาณสารฟีนอลิก และกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ

3.5.1 การเตรียมสารสกัดจากมัลเบอร์รี่ เพื่อใช้วิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานิน ปริมาณสารฟีนอลิก และกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ โดยชั่งตัวอย่างมัลเบอร์รี่แล้วนำไปสกัดด้วยเอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ (อัตราส่วนมัลเบอร์รี่ต่อเอทานอล คือ 1:4) จากนั้นนำไปปั่นให้ละเอียด ทิ้งไว้ข้ามคืนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และกรองสารสกัดมัลเบอร์รี่ด้วยผ้าขาวบางเพื่อแยกกากกับของเหลวออกจากกัน จากนั้นนำของเหลวที่สกัดได้กรองด้วยกระดาษกรอง What man No.3 จะได้สารสกัดจากมัลเบอร์รี่ ดัดแปลงจากวิธีการของ Gungor & Sengul (2008); Peanparkdee et al. (2019)

3.5.2 การวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (Total anthocyanin content (TAC)) นำสารสกัดมัลเบอร์รี่ที่ได้จากข้อ 3.5.1 มาวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด โดยใช้วิธี pH-differential ดัดแปลงจากวิธีของ Lee et al. (2005) โดยนำสารละลายของสารสกัดมัลเบอร์รี่มาเจือจางด้วย สารละลาย KCl buffer 0.0025M pH 1.0 ในอัตราส่วน 1:9 และสารละลาย CH<sub>3</sub>COONa 0.4M pH 4.5 ในอัตราส่วน 1:9 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV-Vis Spectrophotometer (Cert No. BSCC-UV-006/19 Model UV-1800 Bara Scientific CO., LTD.) ที่ความยาวคลื่น 520 nm และ 700 nm แสดงผลเป็น Anthocyanin pigment (cyanidin-3-glucoside equivalent, mg/100g) ดังสมการต่อไปนี้ และทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

Anthocyanin pigment (cyanidin-3-glucoside equivalent, mg/100g) =

$$\frac{A \times Mw \times DF \times 10^3}{\epsilon \times l}$$

โดยที่ A = (A<sub>520</sub> - A<sub>700</sub>) pH 1.0 - (A<sub>520</sub> - A<sub>700</sub>) pH 4.5

MW = 449.2 g/mol ค่ามวลโมเลกุลของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์

DF = dilution factor (ทำการเจือจาง 50 เท่า)

$\epsilon$  = 26,900 L x mol<sup>-1</sup> x cm<sup>-1</sup>

l = ขนาดความกว้างของควิวเวต (เซนติเมตร) ที่ใช้วัดค่าดูดกลืนแสง

3.5.3 วิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content (TPC)) ดัดแปลงจากวิธีของ Kwaw et al. (2018a) โดยตัวอย่างสารสกัดมัลเบอร์รี่ที่ได้จากข้อ 3.5.1 มาเจือจางด้วยน้ำกลั่น 10 เท่า จากนั้นนำตัวอย่างสารละลายมา 0.2 มิลลิลิตร เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2 มิลลิลิตร จากนั้นเขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง นาน 40 นาที จนปฏิกิริยาเกิดขึ้นสมบูรณ์หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV-Vis Spectrophotometer (Cert No. BSCC-UV-006/19 Model UV-1800 Bara Scientific CO., LTD.) ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ปริมาณฟีนอลิกรวมหาได้จากการนำค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก ปริมาณที่ได้แสดงในหน่วย milligram of gallic acid equivalent per milliliter of extract โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

3.5.4 กิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity) ดัดแปลงจากวิธีของ Kwaw et al. (2018) โดยการเตรียมสารละลาย DPPH radical ในเมทานอล (MeOH) ความเข้มข้น 0.1 mM โดยชั่งสาร DPPH 0.0039 กรัม ละลายในเมทานอล 99.9 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร จากนั้นนำตัวอย่างสารสกัดมัลเบอร์รี่ที่ได้จากข้อ 3.5.1 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่น 10 เท่า จากนั้นนำตัวอย่างสารละลายมา 0.2 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex และนำไปไว้ในที่มืด 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อครบเวลานำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV-Vis Spectrophotometer (Cert No. BSCC-UV-006/19 Model UV-1800 Bara Scientific CO., LTD.) ที่ 517 nm โดยใช้ Trolox เป็นสารละลายมาตรฐาน โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

#### 4. การศึกษาคุณภาพของมัลเบอร์รี่ทางด้านจุลินทรีย์

สุ่มตัวอย่างมัลเบอร์รี่มาตรวจวิเคราะห์หาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และแบคทีเรียแลคติก โดยการ spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (PCA), Potato Dextrose Agar (PDA) และ de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) agar ตามลำดับ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นนับจำนวนเชื้อแล้วรายงานในหน่วย CFU/g (Tabakoglu et al., 2018; You et al., 2018)

## 5. การเตรียมโปรไบโอติก

การเตรียมโปรไบโอติก ตามวิธีการของ Hwanhlem et al. (2010); นางศรณู พงศ์ตระกูล และคณะ (2561) โปรไบโอติกที่นำมาใช้ในการทดลองนี้เป็นแบคทีเรียสายพันธุ์ *L. plantarum* TISTR 926 และยีสต์ *S. cerevisiae* subsp. *bouardii* ที่มีจำหน่ายทางการค้า ดังแสดงในภาพที่ 13 ซึ่งทำการเก็บรักษาในสารละลายกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 30 (v/v) ที่อุณหภูมิ  $-20^{\circ}\text{C}$  เพื่อทำการเตรียมหัวเชื้อโดยถ่ายเชื้อโคโลนีเดี่ยวที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar และ PDA ลงในอาหารเหลว MRS และ Potato Dextrose Broth (PDB) ตามลำดับ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ  $37^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยไม่มีการเขย่า จากนั้นถ่ายหัวเชื้อดังกล่าวปริมาณร้อยละ 1 (v/v) ลงในอาหารเหลว MRS และ PDB ตามลำดับ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะเดียวกันเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการเก็บเกี่ยวมวลเซลล์โดยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,500 rpm เป็นเวลา 10 นาที อุณหภูมิ  $4^{\circ}\text{C}$  แล้วล้างเซลล์ด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ปราศจากเชื้อที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 (w/v) จำนวน 2 ครั้ง แล้วแขวนลอยเซลล์กลับในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ปราศจากเชื้อปริมาณ 20 มิลลิลิตร เก็บรักษามวลเซลล์ไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า  $4^{\circ}\text{C}$  ไม่เกิน 24 ชั่วโมง หากยังไม่นำไปใช้ทันที และทำการนับจำนวนเซลล์เริ่มต้นก่อนนำมาใช้ทดลอง โดยทำการเจือจางเซลล์ให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสมในสารละลายโซเดียมคลอไรด์เข้มข้นร้อยละ 0.85 (w/v) โดยทำการเจือจางแบบ Tenfold serial dilution จากนั้นทำการ Spread plate บน MRS agar และ PDA ตามลำดับ บ่มเชื้อที่ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ  $37^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนับจำนวนเชื้อแล้วรายงานในหน่วย CFU ต่อ มิลลิลิตร



ภาพ 13 ยีสต์โปรไบโอติก *Saccharomyces bouardii*  
และ *Lactobacillus plantarum* TISTR 926



## 6. การศึกษาอัตราการเจริญของ *L. plantarum* TISTR926 และ *S. boulardii* ในน้ำมัลเบอร์รี่

การศึกษาอัตราการเจริญของ *L. plantarum* TISTR926 และ *S. boulardii* ในน้ำมัลเบอร์รี่ ตามวิธีการของ Mousavi & Mousavi (2019)

6.1 ทำการกระตุ้นการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *L. plantarum* TISTR926 โดยนำมาเลี้ยงในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นถ่ายหัวเชื้อดังกล่าวปริมาณร้อยละ 1 (v/v) ลงในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่อง vortex แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการเก็บเกี่ยวมวลเซลล์โดยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,500 rpm เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C แล้วล้างเซลล์ด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ปราศจากเชื้อที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 (w/v) จำนวน 2 ครั้ง แล้วแขวนลอยเซลล์กลับในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ปราศจากเชื้อปริมาณ 10 ml เก็บรักษามวลเซลล์ไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C ไม่เกิน 24 ชั่วโมง

6.2 เตรียมยีสต์โปรไบโอติก *S. boulardii* ที่มีจำหน่ายทางการค้าชื่อ BIOFLOR® ในรูป Lyophilized ในขนาด 250 มิลลิกรัม/ซอง

6.3 เตรียมน้ำมัลเบอร์รี่ โดยทำการชั่งมัลเบอร์รี่แช่แข็ง 200 กรัมผสมกับน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ 800 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปปั่นให้ละเอียด และแบ่งใส่ขวด Duran ปราศปราศจากเชื้อจำนวน 4 ขวด ขวดละ 200 มิลลิลิตร จากนั้นถ่ายเชื้อจุลินทรีย์ *L. plantarum* TISTR926 และ *S. boulardii* จำนวน  $10^6$  CFU/มิลลิลิตร ลงในขวด Duran ที่มีน้ำมัลเบอร์รี่ที่เตรียมไว้เชื้อละ 2 ขวด

6.4 ทำการวิเคราะห์ค่า pH ปริมาณแอมโทไซยานิน ปริมาณสารฟีนอลิก และกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำมัลเบอร์รี่หมักทุก ๆ 3 ชั่วโมงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง และหาอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อทุก ๆ 3 ชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยทำการเจือจางแบบ Tenfold serial dilution จากนั้นทำการ Drop plate ลงบน MRS agar และ SDA ตามลำดับ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนับจำนวนเชื้อแล้วรายงานในหน่วย log CFU/มิลลิลิตร

## 7. การผลิตไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติก ((Low Fat Mulberry Ice Cream Supplemented with Synbiotic (LFM-ISS))

นำมัลเบอร์รี่ที่แช่แข็งไว้ที่อุณหภูมิต่ำ -18 องศาเซลเซียส มาเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิต่ำ 4 องศาเซลเซียส ซ้ำมคั้นก่อนนำไปผลิตไอศกรีมเชอร์เบต (Sherbet) โดยมีขั้นตอนที่ดัดแปลงจาก Mohammadi และคณะ (2011) ดังนี้ นำส่วนผสมซึ่งประกอบด้วย นมสดไขมันต่ำ และมัลเบอร์รี่ ดั่งสัดส่วนที่แสดงในตารางที่ 2 มาผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่น แล้วนำไปพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิต่ำ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 10 นาที จากนั้นเติมสารให้ความหวาน (Stevia) สเตบิลไซเซอร์ (xanthan gum) หางนมผง และอินูลิน ลงไป แล้วคนให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกันที่อุณหภูมิต่ำ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 10 นาที แล้วนำของผสมที่ได้ไปปั่นด้วยเครื่องปั่นอีกครั้งประมาณ 1-2 นาที นำของผสมที่ได้ไปปั่นไว้ที่อุณหภูมิต่ำ 4-5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติมแบคทีเรีย (*L. plantarum* TISTR 926) และยีสต์ (*S. cerevisiae* subsp. *boulardii*) โพรไบโอติกที่เตรียมไว้จากข้อ 5 ลงไปที่ระดับ 9 log CFU/กรัมของไอศกรีม นำส่วนผสมที่ได้มาเข้าเครื่องปั่นไอศกรีม แบ่งบรรจุใส่ภาชนะขนาด 4 ออนซ์ นำไปแช่เยือกแข็งเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำ -18 องศาเซลเซียส นำ LFM-ISS ทั้ง 5 สูตรที่ได้ (ภาพที่ 14) ไปประเมินความชอบทางประสาทสัมผัส ได้แก่ ลักษณะปรากฏ (Appearance) สี (Color) กลิ่น (Odor) รส (Taste) เนื้อสัมผัส (Texture) และความชอบโดยรวม (Overall liking) โดยผู้ทดสอบชิมที่ไม่ผ่านการฝึกฝนทั้งเพศชายและหญิงที่มีอายุอยู่ในช่วงระหว่าง 10-60 ปี (ภาคผนวก ก) จำนวนอย่างน้อย 72 คน แล้วให้คะแนนโดยใช้ 9 Point Hedonic scale (1 = ไม่ชอบมากที่สุด, 9 = ชอบมากที่สุด) (Cardello, 2017)



ภาพ 14 ไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติกที่มีความเข้มข้นของมัลเบอร์รี่แตกต่างกัน

ตาราง 2 สูตรของไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติก

ส่วนผสม	สูตรไอศกรีมมัลเบอร์รี่				
	กลุ่มควบคุม	10%	20%	30%	40%
มัลเบอร์รี่สุก (กรัม)	0	10	20	30	40
xanthan gum (กรัม)	0.6	0.6	0.6	0.6	0.6
นมไขมันต่ำ (กรัม)	92	82	72	62	52
หางนมผง (กรัม)	4.32	4.32	4.32	4.32	4.32
อินูลิน (กรัม)	3	3	3	3	3
Stevia (กรัม)	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
โปรไบโอติก	$10^6$ CFU/g	$10^6$ CFU/g	$10^6$ CFU/g	$10^6$ CFU/g	$10^6$ CFU/g
รวม (กรัม)	100	100	100	100	100

## 8. การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของ LFM-ISS

ผลิต LFM-ISS สูตรที่คัดเลือกได้จากข้อ 7 แล้ววิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของไอศกรีมดังนี้

8.1 ตรวจวิเคราะห์ ค่าสี ในระบบ CIE lab ( $L^*$   $a^*$   $b^*$ ) โดยใช้เครื่อง Chroma meter CR-400 (Konica Minolta, INC. Japan) โดยค่า  $L^*$  คือ ความสว่าง ซึ่งมีค่าระหว่าง 0-100 ค่า  $a^*$  แสดงค่า (+) สีแดง หรือ (-) สีเขียว และค่า  $b^*$  แสดงค่า (+) สีเหลืองหรือ (-) สีนํ้าเงิน

8.2 การละลายจนเกิดหยดแรกและการละลายอย่างสมบูรณ์ (first dripping and complete melting time) ดัดแปลงจากวิธีของ (Clark, 2012; Goff et al., 2013) บรรจุไอศกรีมลงในถ้วยพลาสติกปริมาณ 15 กรัม แช่ไว้ที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาคว่ำบนกรวยกรองขนาด 75 มิลลิเมตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส บันทึกเวลาที่ไอศกรีมเริ่มละลายจนเกิดหยดแรก และเวลาที่ไอศกรีมละลายอย่างสมบูรณ์

8.3 ค่าโอเวอร์รัน (overrun) คือการอัดอากาศเข้าไปในส่วนผสมขณะทำให้แข็ง ทำให้ปริมาตรของไอศกรีมเพิ่มขึ้น เรียกว่า โอเวอร์รัน (overrun) ซึ่งค่า overrun มักแสดง

ออกมาเป็น เปอร์เซ็นต์ ของปริมาตรที่เพิ่มขึ้นจากปริมาตรของส่วนผสม ดัดแปลงจากวิธีของ Alamprese et al.,(2002) โดยการบรรจุไอศกรีมลงในเครื่องทำไอศกรีม ขนาด 2 ลิตร (UNOLD Ice Cream Maker GUSTO เครื่องทำไอศกรีม รุ่น 48845 บริษัท ยูโรเปียน แมนูแฟคเจอร์เรอร์ ยูไนเต็ต (จำกัด) และทำการเปิดเครื่องทำไอศกรีมเพื่อให้เกิดเป็นไอศกรีม ที่อุณหภูมิ 24 °C บันทึกปริมาตรเริ่มต้นของไอศกรีม และคำนวณหาค่าโอเวอร์รันตามสูตร

$$\text{โอเวอร์รัน (ร้อยละ)} = (\text{น้ำหนักส่วนผสม} - \text{น้ำหนักไอศกรีม}) / \text{น้ำหนักไอศกรีม} \times 100$$

8.4 วิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินของ LFM-ISS ในวันที่ 0, 30 และ 60 วันตามวิธีการในข้อ 3.5.2

8.5 วิเคราะห์หาปริมาณสารฟีนอลิกของ LFM-ISS ในวันที่ 0, 30 และ 60 วันตามวิธีการในข้อ 3.5.3

8.6 วิเคราะห์หากิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระของ LFM-ISS ในวันที่ 0, 30 และ 60 วันตามวิธีการในข้อ 3.5.4

8.7 วิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี โดยวิเคราะห์หาปริมาณกรดคาร์โบไฮเดรต ความชื้น ไขมัน พลังงาน และโปรตีนของ LFM-ISS ตามวิธีการของ AOAC (2016) โดยบริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด สาขาเชียงใหม่

## 9. การศึกษาการรอดชีวิตของโปรไบโอติกใน LFM-ISS

นำ LFM-ISS สูตรที่คัดเลือกได้จากข้อ 7 มาทำการศึกษาการรอดชีวิตของโปรไบโอติกแบคทีเรีย *L. plantarum* TISTR 926 และยีสต์ *S. boulardii* โดยเก็บตัวอย่างทั้งก่อนและหลังการปั่นไอศกรีมปริมาณ 10 กรัม ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ นำมาเจือจางแบบ ten-fold serial dilution ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ปราศจากเชื้อที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 (w/v) และหาจำนวนเชื้อด้วยเทคนิค Spread plate บนอาหาร MRS agar (ที่มี 0.02 เปอร์เซ็นต์ Bromocresol purple) และ Sabouraud Dextrose Agar (SDA) ตามลำดับ จากนั้นนำจานเลี้ยงเชื้อไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง และทำการศึกษาการรอดชีวิตของโปรไบโอติกที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส โดยเก็บตัวอย่าง 10 กรัม มาตรวจนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตด้วยวิธีการดังกล่าวทุก ๆ 2 สัปดาห์เป็นเวลา 8 สัปดาห์ (นงคราญ พงศ์ตระกูล และคณะ, 2561; Hwanhlem et al., 2010)

## 10. การตรวจหาจุลินทรีย์ก่อโรคใน LFM-ISS ที่ผลิตได้

นำ LFM-ISS สูตรที่คัดเลือกได้จากข้อ 7 ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 วัน มาตรวจหาจุลินทรีย์ก่อโรคด้วยวิธีการ Spread plate โดยชั่งตัวอย่าง LFM-ISS จำนวน 10 กรัม ด้วยวิธีปราศจากเชื้อ เจือจางใน Sterile physiological saline ปริมาตร 90 มิลลิลิตร แล้วเจือจางต่อแบบ ten-fold serial dilution ให้มีจำนวนเชื้อที่เหมาะสม จากนั้น spread plate ลงบนอาหาร Baird-Parker agar (สำหรับหาจำนวน *S. aureus*) อาหาร SS Agar (สำหรับหาจำนวน *Salmonella* spp.) อาหาร Violet red bile glucose agar (สำหรับหาจำนวน *Enterobacteriaceae*) อาหาร MacConkey Agar (สำหรับหาจำนวน *E. coli*) อาหาร Listeria Selective Agar Base (สำหรับหาจำนวน *Listeria innocua*) และบนอาหาร MYP Agar Base (สำหรับหาจำนวน *Bacillus cereus*) โดยทำ 3 ซ้ำ จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง นับจำนวนเชื้อแล้วรายงานเป็น log CFU ต่อกรัม (Tabakoglu & Karaca, 2018; Xu, Zhu, Liu, & Cheng, 2018; You et al., 2018)

## 11. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ในการทดลองจะทำการหาค่าต่าง ๆ จำนวน 3 ซ้ำ เป็นการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) โดยนำผลที่ได้มาวิเคราะห์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ( $\pm S.D.$ ) และนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance, ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างสิ่งทดลองด้วยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรม SPSS version 16.0

## บทที่ 4

### ผลการวิจัย

#### ผลการศึกษาคุณภาพของมัลเบอร์รี่ทางด้านกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ เพื่อนำไปใช้ในการผลิต LFM-ISS

การศึกษาคูณภาพของมัลเบอร์รี่ทางด้านกายภาพ โดยสุ่มตัวอย่างมัลเบอร์รี่มาตรวจวิเคราะห์ค่าสี ในระบบ CIE lab ( $L^* a^* b^*$ ) ด้วยเครื่อง Colorimeter โดยค่า  $L^*$  คือ ความสว่าง ซึ่งมีค่าระหว่าง 0-100 ค่า  $a^*$  แสดงค่า (+) สีแดง หรือ (-) สีเขียว และค่า  $b^*$  แสดงค่า (+) สีเหลืองหรือ (-) สีน้ำเงิน พบว่ามัลเบอร์รี่ตัวอย่างมีค่าสี  $L^* a^* b^*$  เท่ากับ  $31.33 \pm 1.35$ ,  $0.49 \pm 2.38$ ,  $20.16 \pm 3.23$  ตามลำดับ เมื่อศึกษาคูณภาพทางด้านเคมีของมัลเบอร์รี่ซึ่งประกอบด้วย ค่า pH, ปริมาณกรดทั้งหมด (Total acidity), ปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total solids), ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Total soluble solids), ปริมาณแอนโทไซยานิน (Total anthocyanin content (TAC)), ปริมาณสารฟีนอลิก (Total phenolic content (TPC)) และกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ DPPH• (Antioxidant activity) พบว่ามีค่าเท่ากับ  $3.28 \pm 0.01$ ,  $0.24 \pm 0.02$  เปอร์เซ็นต์,  $14.80 \pm 0.99$  เปอร์เซ็นต์,  $2.60 \pm 0.06$  °Brix,  $1,873.06 \pm 97.04$  mg/100 g,  $8,742.55 \pm 313.83$  mg GAE/100g และ  $675.77 \pm 18.93$  mg/100 g ตามลำดับ เมื่อศึกษาคูณภาพทางด้านจุลินทรีย์ของมัลเบอร์รี่ประกอบด้วย จำนวนแบคทีเรียแลคติก จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด และจำนวนยีสต์ทั้งหมด ด้วยวิธีการ spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) agar, Plate Count Agar (PCA) และ Potato Dextrose Agar (PDA) ตามลำดับ พบว่ามีค่าเท่ากับ  $4.99 \pm 0.03$ ,  $6.36 \pm 0.04$  และ  $5.32 \pm 0.03$  log CFU/กรัม ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3 ผลการศึกษานี้แตกต่างกับงานวิจัยของ Natić et al. (2015) ซึ่งวิเคราะห์คุณลักษณะทางพฤกษเคมี (phytochemical) ของผลมัลเบอร์รี่แช่แข็ง (*Morus alba* L.) ที่เพาะปลูกในเขต Vojvodina ทางตอนเหนือของประเทศเซอร์เบีย (North Serbia) พบว่ามัลเบอร์รี่ดังกล่าวมีสารฟีนอลิกอยู่ในช่วง 43.84-326.29 mg GAE/100 กรัมของผลมัลเบอร์รี่แช่แข็ง และมีค่าการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (radical scavenging capacity), ความสามารถในการจับโลหะ (metal chelating ability), ferric ion reducing power และ superoxide anion radical scavenging activity อยู่ใน ช่วง 50.18–86.79 เปอร์เซ็นต์,

0.21–8.15 เปอร์เซ็นต์, 0.03–38.45  $\mu\text{M}$  ascorbic acid และ 16.53–62.83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ Hosseini et al. (2018) พบว่ามัลเบอร์รี่สีดำ (black mulberry (*Morus nigra*)) มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้สูงสุดและต่ำสุดเท่ากับ 24.80 และ 11.20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 18.42 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณแอนโทไซยานินอยู่ในช่วง 57.62 ถึง 475.65 mg (cyanidine-3-glucoside equivalent: CGE)/100g ของมัลเบอร์รี่ และมีปริมาณสารฟีนอลิกอยู่ในช่วง 232.27 ถึง 1777.73 mg GAE/100 g ของมัลเบอร์รี่ ซึ่ง Song et al. (2009); Li et al. (2012) กล่าวว่าปัจจัยที่มีผลต่อสารพฤกษเคมี เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ สารฟีนอลิก คาโรทีนอยด์ ในมัลเบอร์รี่นั้นขึ้นอยู่กับพันธุ์กรรม ชนิดและสายพันธุ์ พื้นที่ปลูก สภาพแวดล้อมในการเพาะปลูก ปัจจัยทางสรีรวิทยา ฤดูเก็บเกี่ยว วิธีการเก็บรักษาและการแปรรูปหลังการเก็บเกี่ยว เป็นต้น

### ตาราง 3 คุณภาพของมัลเบอร์รี่ทางด้านกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ เพื่อนำไปใช้ในการผลิตไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติก (LFM-ISS)

คุณภาพของมัลเบอร์รี่ทางด้านกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์	
ค่าสี	$L^*$ 31.33±0.44 $a^*$ 0.49±0.37 $b^*$ 20.16±1.03
ค่า pH	3.28±0.01
ปริมาณกรดทั้งหมด (%)	0.24±0.02
ปริมาณของแข็งทั้งหมด (%)	14.80±0.99
ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (°Brix)	2.60±0.06
ปริมาณแอนโทไซยานิน (mg CGE/100g FW)*	1873.06±97.04
ปริมาณสารฟีนอลิก (mg GAE/100g FW)*	8,742.55±313.83
กิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ DPPH (mg trolox/100g FW)*	675.77±18.93
จำนวนแบคทีเรียแลคติก (log CFU/g)	4.99±0.03
จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (log CFU/g)	6.36±0.04
จำนวนยีสต์ทั้งหมด (log CFU/g)	5.32±0.03

- หมายเหตุ:** - mg CGE/100g FW คือหน่วยมิลลิกรัม (cyanidine-3-glucoside equivalent: CGE) ต่อ 100 กรัมของผลมัลเบอร์รี่สด
- mg GAE/100g FW คือค่าเทียบเท่ากับกรดแกลลิก (Gallic acid equivalents: GAE) ในหน่วยมิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของผลมัลเบอร์รี่สด
- mg trolox /100g FW คือค่าเทียบเท่ากับสารละลายโทลอกซ์ (Trolox) ในหน่วยมิลลิกรัมต่อ 100 กรัมของผลมัลเบอร์รี่สด
- log CFU/g คือ log colony forming unit ต่อกรัมของผลมัลเบอร์รี่สด

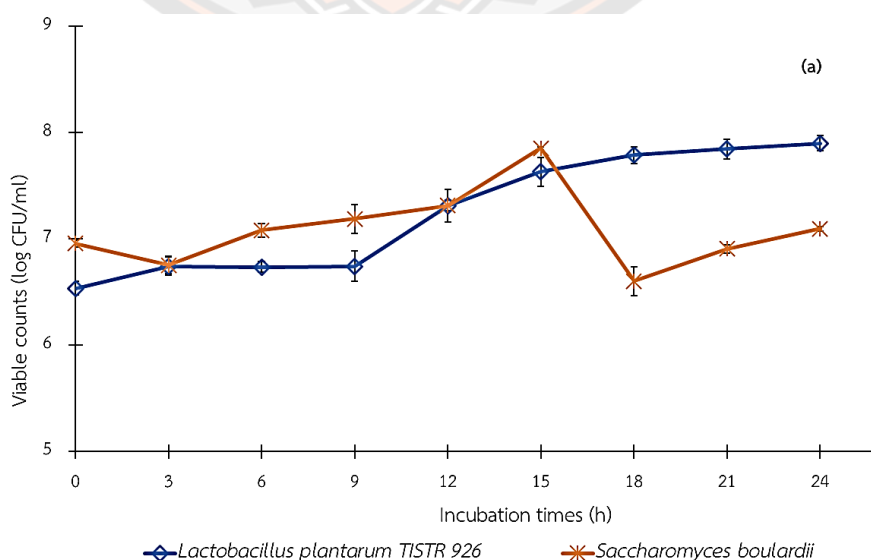
### ผลการศึกษาการเจริญของ *L. plantarum* TISTR926 และ *S. boulardii* และการเปลี่ยนแปลงค่า pH ในน้ำมัลเบอร์รี่

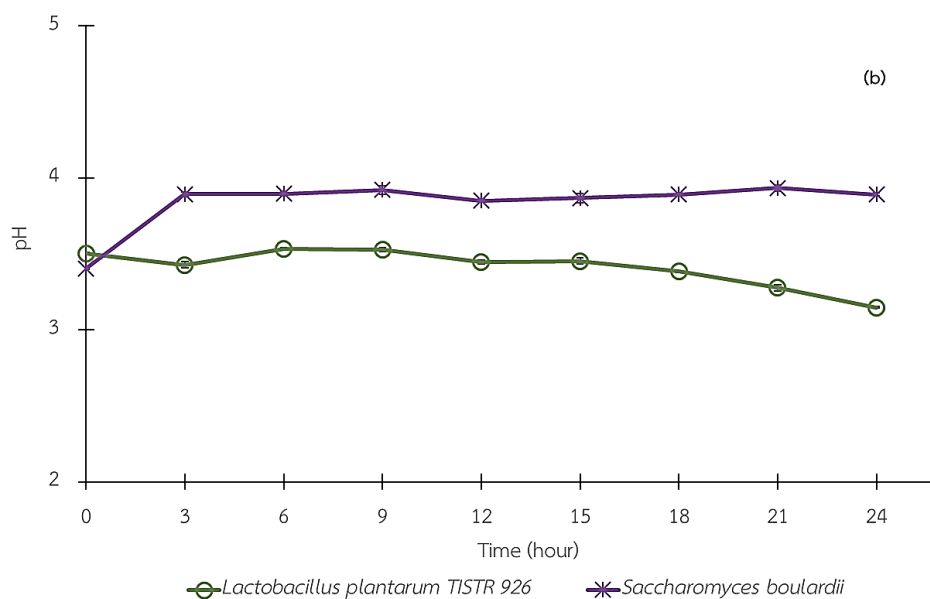
การศึกษากการเจริญของ *L. plantarum* TISTR926 ในน้ำมัลเบอร์รี่พบว่าในช่วง 9-12 ชั่วโมง *L. plantarum* TISTR926 มีการเจริญเพิ่มขึ้นขึ้นจาก 6.74 เป็น 7.31 log CFU/มิลลิลิตร และเพิ่มสูงขึ้นเรื่อย ๆ จนถึงสิ้นสุดการทดลองที่ 24 ชั่วโมง โดยมีค่าอยู่ที่ 7.90 log CFU/ มิลลิลิตร ส่วนการเจริญของ *S. boulardii* ในน้ำมัลเบอร์รี่พบว่าในช่วง 6-15 ชั่วโมง *S. boulardii* มีการเจริญเพิ่มขึ้นอยู่ที่ 6.75-7.85 log CFU/ มิลลิลิตร และมีการเจริญลดลงในชั่วโมงที่ 18 โดยมีค่าอยู่ที่ 6.60 log CFU/ มิลลิลิตร ดังแสดงในภาพที่ 15(a) การเจริญที่ลดลงนี้อาจเกิดจากปริมาณแอลกอฮอล์ที่ *S. boulardii* ผลิตขึ้นส่งผลต่อการเพิ่มจำนวนและเป็นพิษต่อตัวมันเอง ซึ่ง Kitagaki et al. (2007) ได้รายงานว่า การตายของยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) ในกระบวนการหมักนั้นเป็นการตายแบบ apoptosis ซึ่งเป็นรูปแบบหนึ่งของการตายของเซลล์ที่มีการโปรแกรมไว้แล้ว (programmed cell death) โดย Madeo et al. (2004) กล่าวว่า apoptosis เป็นโปรแกรมการฆ่าตัวตายของเซลล์ที่มีการควบคุมซึ่งมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการพัฒนาของ metazoan ซึ่งยีสต์เกิดการตายของเซลล์แบบ apoptosis หลังจากใช้กรดอะซิติก น้ำตาลหรือเกลือ เปปไทด์ต้านเชื้อราจากพืชหรือไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งมีอนุมูลออกซิเจนเป็นปัจจัยหลักของกระบวนการตายนี้ นอกจากนี้ยีสต์หลาย ๆ สายพันธุ์ยังมีลักษณะทางพันธุกรรมของสารควบคุมการตายของ metazoan ส่วนกลาง เช่น แคสเปส (caspase) และ caspase-regulating serine protease และการตายของเซลล์สามารถเกิดขึ้นได้ในช่วงที่ยีสต์มีอายุเพิ่มขึ้นหรือมีการผสมพันธุ์ ซึ่งเหมือนกับการรายงานของ Büttner et al. (2006) ที่กล่าวว่า การตายของเซลล์ยีสต์แบบ apoptosis เกิดขึ้นเมื่อยีสต์มีอายุมากขึ้น ผสมพันธุ์หรือเมื่อ



สัมพันธ์กับสารพิษ สอดคล้องกับการศึกษาของ Carmona-Gutierrez et al. (2012) ซึ่งรายงานว่าความเป็นพิษของเอทานอลเป็นหนึ่งในปัจจัยของความเครียดที่สำคัญที่ทำลายความสามารถในการหมักของ *S. cerevisiae* แม้ว่าเซลล์ยีสต์จะกำจัดการตอบสนองต่อความเครียดของเอทานอลที่ซับซ้อน แต่ความเข้มข้นของเอทานอลที่เพิ่มขึ้น 1 ระดับซึ่งเป็นผลมาจากการหมักในที่สุดก็นำไปสู่การยับยั้งการเจริญเติบโตและการตายของเซลล์

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของน้ำมัลเบอร์รี่ที่มี *L. plantarum* TISTR926 พบว่าการเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 3.0-4.0 ตลอดเวลาของการทดลอง 24 ชั่วโมง ในขณะที่การเปลี่ยนแปลงค่า pH ของน้ำมัลเบอร์รี่ที่มี *S. boulardii* มีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นเล็กน้อยใน 3 ชั่วโมงแรกของการทดลอง และมีค่าคงที่ประมาณ 3.8-3.9 จนถึงสิ้นสุดการทดลอง 24 ชั่วโมง ดังแสดงในภาพที่ 15(b) คล้ายกับการศึกษาของ Kwaw et al. (2018b) ซึ่งศึกษาผลของการเก็บรักษาต่อคุณลักษณะทางคุณภาพของน้ำมัลเบอร์รี่ที่หมักด้วยแบคทีเรียแลคติกและฆ่าเชื้อด้วยการพาสเจอร์ไรส์ด้วยแสงพัลส์ซึ่งร่วมกับอัลตราโซนิก พบว่าค่าพีเอชของน้ำมัลเบอร์รี่หมักที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 และ 25 องศาเซลเซียสมีการเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 3.4-3.6 และ 3.4-3.8 ตามลำดับ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยนี้อาจเป็นเพราะสารประกอบ เช่น malates, citrates และกรดอะมิโนอื่น ๆ ในน้ำมัลเบอร์รี่ซึ่งมีรายงานว่า เป็นสารบัฟเฟอร์ธรรมชาติที่พบได้ในน้ำผลไม้ (Koyuncu, 2004) ในขณะที่การเพิ่มขึ้นของค่าพีเอชเพียงเล็กน้อยอาจเป็นผลมาจากการเก็บรักษา และอุณหภูมิระหว่างการเก็บรักษา (Alighourchi et al., 2009)





ภาพ 15 การเปลี่ยนแปลงการเจริญของ *Lactobacillus plantarum* TISTR926 และ *Saccharomyces boulardii* และค่า pH ในน้ำมัลเบอร์รี่ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

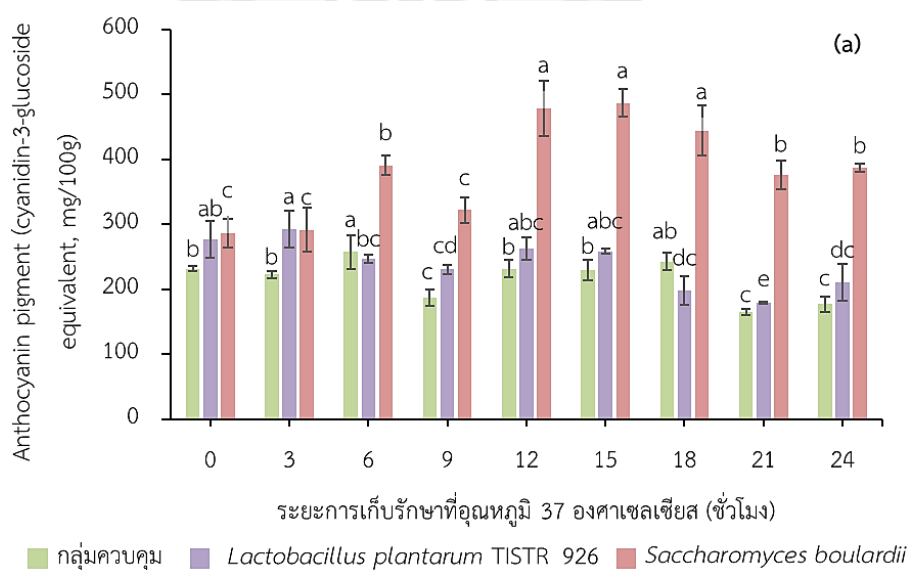
ผลการศึกษาปริมาณแอนโทไซยานิน ปริมาณสารฟีนอลิก และกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำมัลเบอร์รี่ที่มีและไม่มีการเติมโปรไบโอติก (*L. plantarum* TISTR926 และ *S. boulardii*)

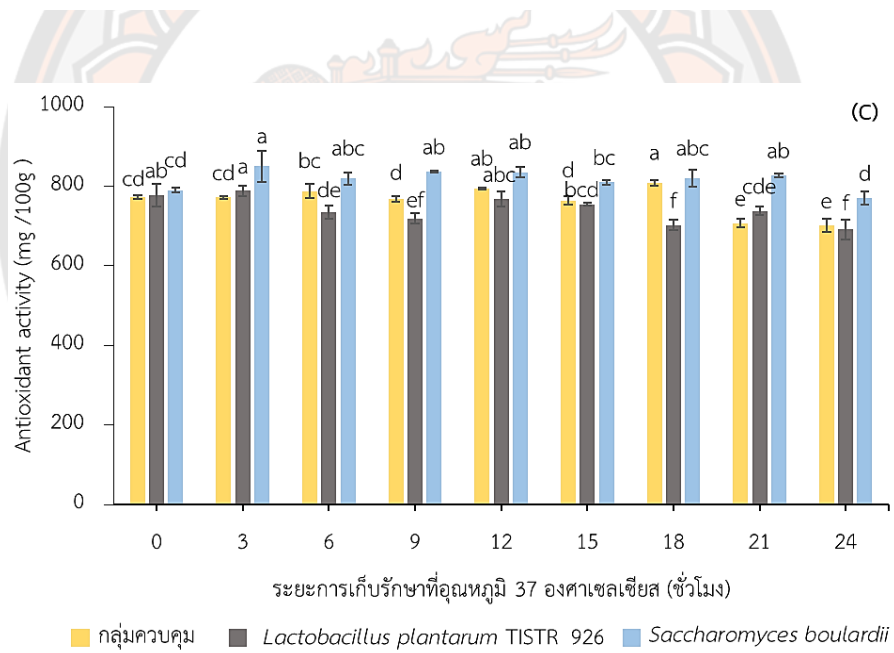
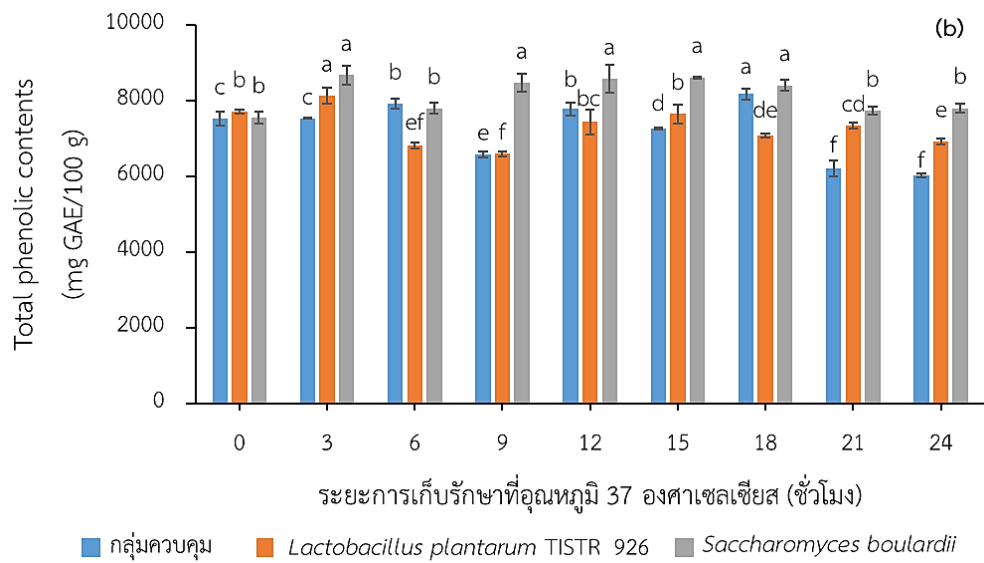
การศึกษาปริมาณแอนโทไซยานินของน้ำมัลเบอร์รี่ที่มีและไม่มี (กลุ่มควบคุม) การเติมโปรไบโอติก (*L. plantarum* TISTR 926 และ *S. boulardii*) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าชุดการทดลองที่มีการเติม *S. boulardii* มีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) โดยมีปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 15 ซึ่งมีค่าเท่ากับ  $486.49 \pm 21.21$  mg/100g ในขณะที่ชุดการทดลองอื่นมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย ดังแสดงในภาพที่ 16(a)

การศึกษาปริมาณสารฟีนอลิกของน้ำมัลเบอร์รี่ที่มีและไม่มี (กลุ่มควบคุม) การเติมโปรไบโอติก (*L. plantarum* TISTR 926 และ *S. boulardii*) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าปริมาณสารฟีนอลิกของทุกชุดการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย โดยชุดการทดลองที่มีการเติม *S. boulardii* มีปริมาณสารฟีนอลิกสูงที่สุดที่ชั่วโมงที่ 3 ซึ่งมีค่าเท่ากับ  $8,666.16 \pm 247.82$  mg GAE/100g แตกต่างกับช่วงเวลาและชุดการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) ดังแสดงในภาพที่ 16(b)

การศึกษากิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำมัลเบอร์รี่ที่มีและไม่มีกรดโพรไบโอติก (*L. plantarum* TISTR 926 และ *S. boulardii*) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าค่ากิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระของทุกชุดการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงไม่มากนัก โดยพบว่าน้ำมัลเบอร์รี่ที่มีการเติม *S. boulardii* มีค่ากิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดที่ชั่วโมงที่ 3 ซึ่งมีค่าเท่ากับ  $850.30 \pm 38.56$  mg/100g แตกต่างกับชุดการทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) ดังแสดงในภาพที่ 16(c)

การทดลองนี้พบว่าการเติม *S. boulardii* ลงในน้ำมัลเบอร์รี่ มีผลทำให้ปริมาณแอนโทไซยานิน ปริมาณสารฟีนอลิก และกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำมัลเบอร์รี่มีค่าสูงกว่าการไม่เติมโพรไบโอติก (ชุดควบคุม) และการเติม *L. plantarum* TISTR 926 ซึ่งชี้ให้เห็นว่าสายพันธุ์ของจุลินทรีย์โพรไบโอติกมีผลต่อปริมาณของแอนโทไซยานิน ปริมาณสารฟีนอลิก และกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ และจากผลการทดลองพบว่าปริมาณแอนโทไซยานิน ปริมาณสารฟีนอลิก และกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำมัลเบอร์รี่ในเวลา 24 ชั่วโมงของทุกชุดการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงไม่มากนักคล้ายกับการศึกษาของ Chaiyasut et al. (2017) ซึ่งศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอนโทไซยานิน กรดฟีนอลิกและคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของรำข้าวดำที่หมักโดย *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งพบว่าปริมาณสารฟลักซ์เคมีดังกล่าวไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อทำการทดลองเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แต่พบว่าคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของรำข้าวเพิ่มขึ้นเล็กน้อยหลังจากเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมงของการหมัก





ภาพ 16 ปริมาณแอนโทไซยานิน (a) ปริมาณสารฟีนอลิก (b) และกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ (c) ของน้ำมัลเบอร์รี่ที่มีและไม่มี (กลุ่มควบคุม) การเติมโปรไบโอติก (*L. plantarum* TISTR 926 และ *S. boulardii*)

### ผลการคัดเลือกสูตร LFM-ISS

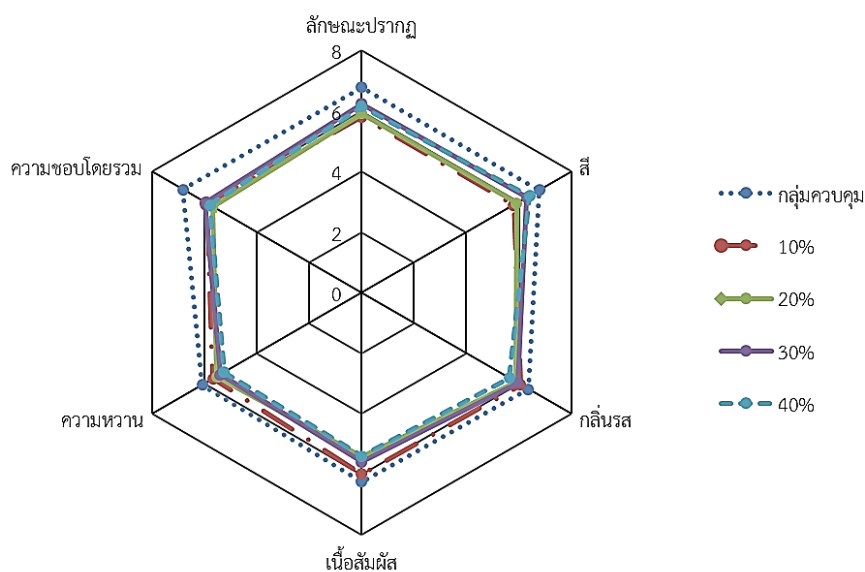
การคัดเลือกสูตร LFM-ISS ทำโดยการผลิต LFM-ISS ที่มีความเข้มข้นของมัลเบอร์รี่แตกต่างกัน 5 ชุดการทดลอง ได้แก่ 0 (กลุ่มควบคุม), 10, 20, 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์ (w/w) โดยแต่ละชุดการทดลองมีการเสริมโปรไบโอติก *L. plantarum* TISTR 926 และ *S. boulardii* ที่ระดับ  $10^9$  CFU/กรัม (9 log CFU/กรัม) ของไอศกรีม เมื่อนำ LFM-ISS ทั้ง 5 ชุดการทดลอง ไปประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส โดยใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 72 คน ในการประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสซึ่งประกอบด้วย ลักษณะปรากฏ สี กลิ่นรส เนื้อสัมผัส ความหวาน และความชอบโดยรวม โดยใช้แบบทดสอบ 9-point hedonic scale (ภาคผนวก ก) และให้คะแนนตามลำดับความชอบ ในช่วงคะแนน 1 ถึง 9 โดยที่ 1 เป็นคะแนนที่ไม่ชอบมากที่สุดไปจนถึง 9 เป็นคะแนนที่ชอบมากที่สุด จากการศึกษาพบว่าสูตรไอศกรีมในกลุ่มควบคุมที่ไม่มีมัลเบอร์รี่เป็นส่วนผสมมีคะแนนทางประสาทสัมผัสทุกคุณลักษณะสูงกว่ากลุ่มอื่น ๆ ซึ่งอาจเกิดจากความเคยชินของผู้ทดสอบที่คุ้นเคยกับไอศกรีมแบบดั้งเดิม แต่เนื่องจากงานวิจัยนี้มุ่งเน้นการผลิต LFM-ISS เพื่อเพิ่มมูลค่าและลดการสูญเสียของมัลเบอร์รี่ซึ่งเป็นผลไม้ที่มีลักษณะทางกายภาพที่ง่ายต่อการบอบช้ำ ลักษณะทางเคมีที่ง่ายต่อการเน่าเสีย ทำให้เก็บรักษาได้ไม่นานนัก ซึ่งเป็นปัญหาหลักที่ทำให้ทางบริษัท อุตสาหกรรมการเกษตรเขาไฉ่ สูญเสียรายได้ และเพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์ของการวิจัยดังที่ได้กล่าวไว้ในบทที่ 1 นั่นคือป้องกันการสูญเสียดังกล่าวไปเป็นการเพิ่มมูลค่าโดยการแปรรูปมัลเบอร์รี่เป็นไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมโปรไบโอติก ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพที่ปัจจุบันผู้บริโภคได้หันมาให้ความสนใจเนื่องจากอาหารดังกล่าวสามารถช่วยลดปัญหาการเกิดโรคที่เกิดจากการรับประทานอาหารที่มีสารเคมีตกค้าง อาหารเน่าเสีย หรืออาหารที่เกิดจากการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ก่อโรคและไม่พึงประสงค์ ปรับสมดุลในระบบทางเดินอาหาร อีกทั้งการตลาดทางด้านผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพได้เข้ามามีบทบาทต่อการพัฒนาของประเทศมากขึ้น การวิจัยวิจัยนี้จึงได้คัดเลือกไอศกรีมชุดการทดลองที่มีมัลเบอร์รี่เป็นส่วนผสมและให้คะแนนทางประสาทสัมผัสที่ดีที่สุดรองลงมาจากกลุ่มควบคุมมาใช้เป็นเกณฑ์ในการคัดเลือกสูตร LFM-ISS ที่ดีที่สุด ซึ่งจากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติพบว่าสูตรไอศกรีมที่มีมัลเบอร์รี่ 30 เปอร์เซ็นต์ (LFM-ISS (30%)) มีคะแนนคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสรองลงมาจากกลุ่มควบคุม และมีคะแนนสูงกว่าชุดการทดลองอื่นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) ในคุณลักษณะทางด้านลักษณะปรากฏ สี ความหวาน และความชอบโดยรวม โดยมีค่าอยู่ที่  $6.25 \pm 1.66$ ,  $6.31 \pm 1.90$ ,  $5.39 \pm 2.03$  และ  $5.96 \pm 1.85$  ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4 และภาพที่

17 และเมื่อศึกษาคุณภาพทางเคมีซึ่งประกอบด้วย ค่า pH ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ และค่า overrun ของ LFM-ISS (30%) พบว่ามีค่าอยู่ที่  $4.65 \pm 0.01$ ,  $15.73 \pm 0.31^\circ\text{Brix}$  และ  $13.57 \pm 4.27$  เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 5 ดังนั้น LFM-ISS (30%) จึงถูกคัดเลือกไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป

ตาราง 4 คะแนนการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติก (LFM-ISS)

คุณลักษณะ	สูตรไอศกรีมมัลเบอร์รี่				
	กลุ่มควบคุม	10%	20%	30%	40%
ลักษณะปรากฏ*	$6.79 \pm 1.99^a$	$5.81 \pm 1.83^b$	$5.92 \pm 1.89^b$	$6.25 \pm 1.66^{ab}$	$6.15 \pm 1.79^b$
สี*	$6.79 \pm 2.26^a$	$5.81 \pm 1.91^c$	$5.92 \pm 1.80^{bc}$	$6.31 \pm 1.90^{ab}$	$6.42 \pm 1.79^{ab}$
กลิ่นรส*	$6.36 \pm 2.20^a$	$6.07 \pm 1.88^b$	$5.90 \pm 1.62^b$	$5.95 \pm 1.77^b$	$5.64 \pm 2.03^b$
เนื้อสัมผัส*	$6.24 \pm 2.00^a$	$5.99 \pm 1.80^{ab}$	$5.43 \pm 2.08^b$	$5.58 \pm 2.09^b$	$5.39 \pm 2.03^b$
ความหวาน*	$6.07 \pm 2.17^a$	$5.67 \pm 2.00^{ab}$	$5.53 \pm 2.25^{ab}$	$5.39 \pm 2.03^{ab}$	$5.25 \pm 2.17^b$
ความชอบโดยรวม*	$6.82 \pm 1.76^a$	$5.89 \pm 1.87^b$	$5.69 \pm 1.99^b$	$5.96 \pm 1.85^b$	$5.79 \pm 2.06^b$

หมายเหตุ: - ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ )  
 - \* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ )  
 - ตัวอักษร a และ b ต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ )



ภาพ 17 คะแนนการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติก (LFM-ISS)

ตาราง 5 คุณภาพทางด้านเคมีและกายภาพของไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติก (LFM-ISS)

คุณ ภาพ	ไอศกรีมมัลเบอร์รี่				
	กลุ่มควบคุม	10%	20%	30%	40%
ค่าความ	6.39±0.01 <sup>a</sup>	5.71±0.03 <sup>b</sup>	5.20±0.02 <sup>c</sup>	4.65±0.01 <sup>d</sup>	4.31±0.03 <sup>e</sup>
เป็นกรด-					
ต่าง*					
ปริมาณ	16.47±0.11 <sup>a</sup>	15.07±0.12 <sup>c</sup>	15.46±0.31 <sup>bc</sup>	15.73±0.31 <sup>b</sup>	15.01±0.12 <sup>c</sup>
ของแข็งที่					
ละลายได้					
(°Brix)*					
Overrun	15.84±7.41 <sup>a</sup>	16.30±7.74 <sup>a</sup>	15.78±8.02 <sup>a</sup>	13.57±4.27 <sup>a</sup>	12.29±4.67 <sup>a</sup>
(%) <sup>ns</sup>					

**หมายเหตุ:** - ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P>0.05$ )

- \* หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P\leq 0.05$ )

- ตัวอักษร a และ b ต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P\leq 0.05$ )

### ผลการศึกษาปริมาณแอนโทไซยานิน ปริมาณสารฟีนอลิก และกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระของ LFM-ISS (30%)

ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของ LFM-ISS (30%) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส ในวันที่ 0, 30 และ 60 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P\leq 0.05$ ) โดยมีค่าอยู่ที่  $317.28\pm 4.17$ ,  $367.38\pm 18.20$  และ  $406.34\pm 6.38$  mg/100g ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 18

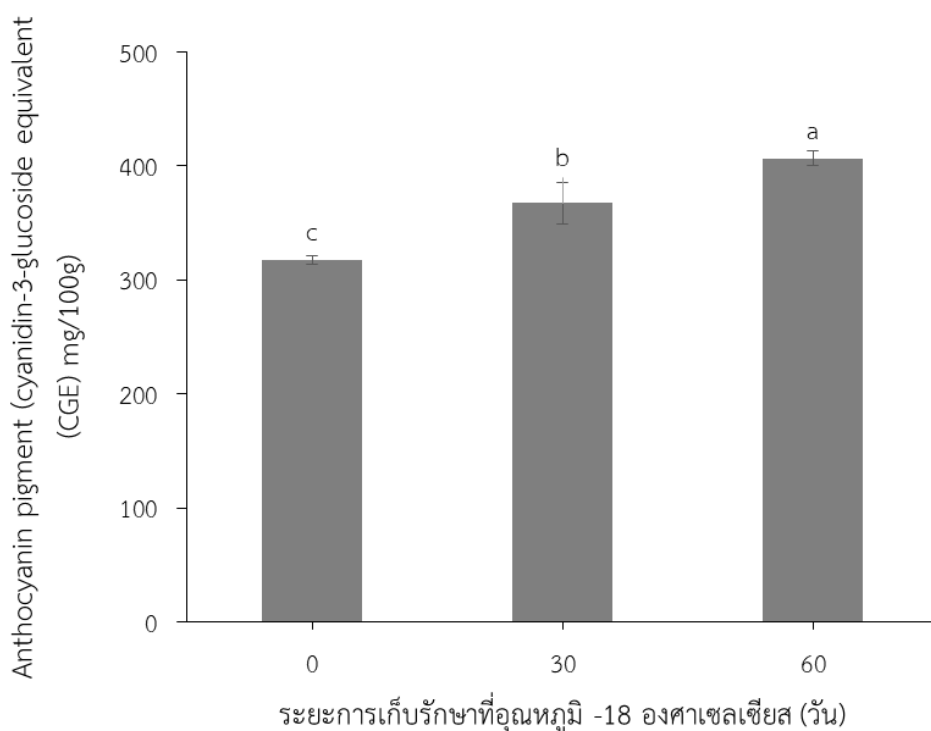
ปริมาณสารฟีนอลิกของ LFM-ISS (30%) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส ในวันที่ 0, 30 และ 60 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P\leq 0.05$ ) โดยมีค่าอยู่ที่  $6,274.31\pm 426.96$ ,  $7,134.41\pm 274.30$  และ  $7,681.76\pm 603.50$  mg GAE/100g ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 19

กิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระของ LFM-ISS (30%) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส ในวันที่ 0, 30 และ 60 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P\leq 0.05$ ) โดยมีค่าอยู่ที่  $303.95\pm 24.64$ ,  $354.05\pm 3.94$  และ  $395.19\pm 7.36$  mg/100g ตามลำดับดังแสดงในภาพที่ 20

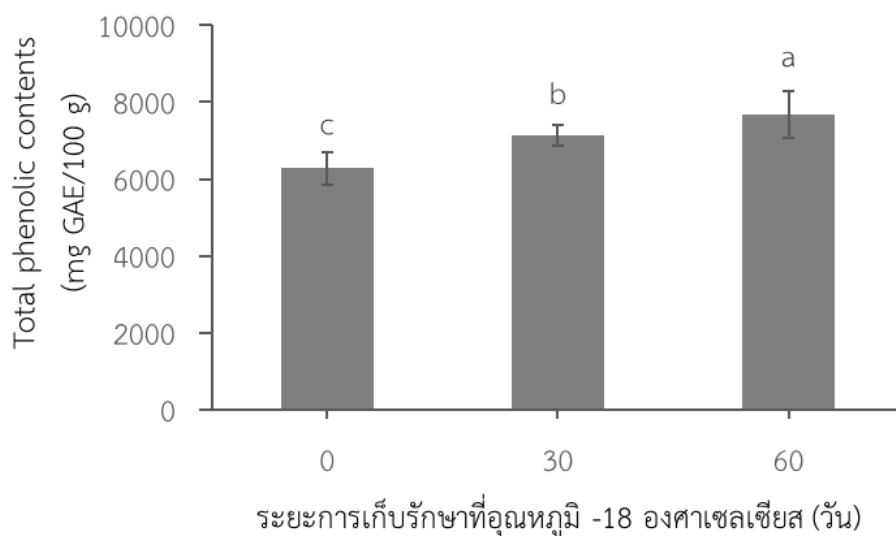
เมื่อเปรียบเทียบปริมาณแอนโทไซยานิน สารฟีนอลิกและกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระของ LFM-ISS (30%) พบว่ามีค่าต่ำกว่ามัลเบอร์รีสดทั้งนี้อาจเกิดจากปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ การล้างผลมัลเบอร์รีก่อนนำมาผลิตเป็นไอศกรีมซึ่งทำให้สูญเสียปริมาณแอนโทไซยานิน ปริมาณสารฟีนอลิก และกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระออกไปบางส่วน เนื่องจากเป็นสารและรงควัตถุที่สามารถละลายน้ำได้ดี และยังขึ้นอยู่กับปัจจัยสิ่งแวดล้อมอื่น ๆ เช่น อุณหภูมิ แสง นอกจากนั้นยังเกิดจากการถูกเจือจางด้วยส่วนผสมต่าง ๆ ของไอศกรีม ขั้นตอนและกลไกทางกลในการผลิตไอศกรีม เป็นต้น จึงทำให้ LFM-ISS (30%) ที่เก็บรักษาในวันที่ 0, 30 และ 60 มีปริมาณแอนโทไซยานินที่ต่ำกว่ามัลเบอร์รีสด อย่างไรก็ตามจากการศึกษาพบว่าปริมาณแอนโทไซยานิน ปริมาณสารฟีนอลิกและกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระมีค่าเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่ 0, 30 และ 60 วัน ซึ่งอาจเกิดจากกระบวนการหมักของโพรไบโอติก *L. plantarum* TISTR 926 ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Kwaw et al. (2018a) ที่ศึกษาผลของแบคทีเรียกรดแลคติก (LAB) ต่อคุณสมบัติของสี



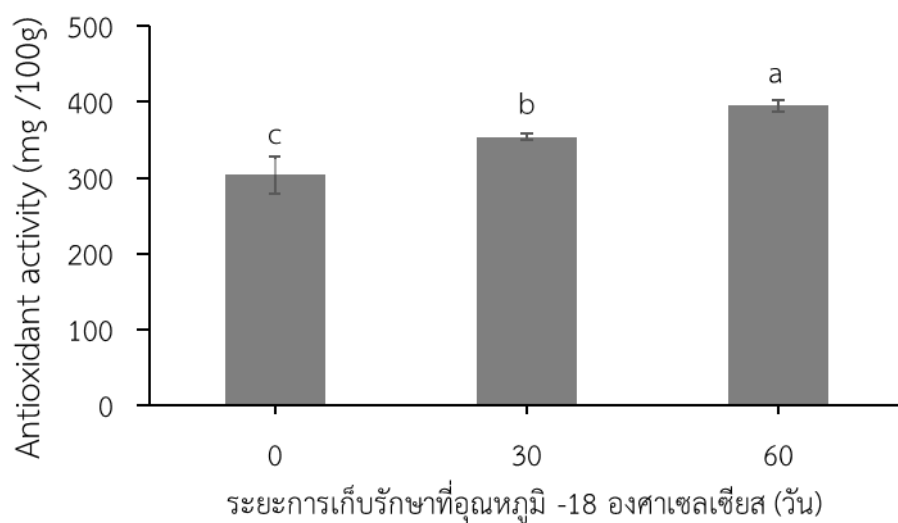
ปริมาณสาร ฟีนอลิกและฤทธิ์ของการต้านอนุมูลอิสระของมัลเบอร์รี่หมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 ชั่วโมงโดยใช้ *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactobacillus paracasei* ซึ่งพบว่าหมักด้วยแบคทีเรียแลคติกดังกล่าวมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของสี ปริมาณสารฟีนอลิกและกิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระ นอกจากนั้นอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการเก็บรักษาอาจเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อปริมาณแอนโทไซยานิน ปริมาณสารฟีนอลิกและกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ (Chua et al., 2015; Fracassetti et al., 2013; Marquez et al., 2014) ซึ่งพบว่า การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำส่งผลให้ปริมาณและกิจกรรมดังกล่าวเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเก็บรักษา (Christie et al., 1994; Lee & Oh, 2015; Lo Piero et al., 2005; Zhang et al., 2019) ในขณะที่การเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูงและเวลาที่เพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ปริมาณแอนโทไซยานิน ปริมาณสารฟีนอลิก และกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระมีค่าลดลง (Matsushita et al., 2016; Mori et al., 2007; López-Vidaña et al., 2017; Złotek et al., 2019)



ภาพ 18 ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (cyaniding-3-glucoside) ของ LFM-ISS (30%) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 0, 30 และ 60 วัน



ภาพ 19 ปริมาณสารฟีนอลิกของ LFM-ISS (30%) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 30 และ 60 วัน เทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก

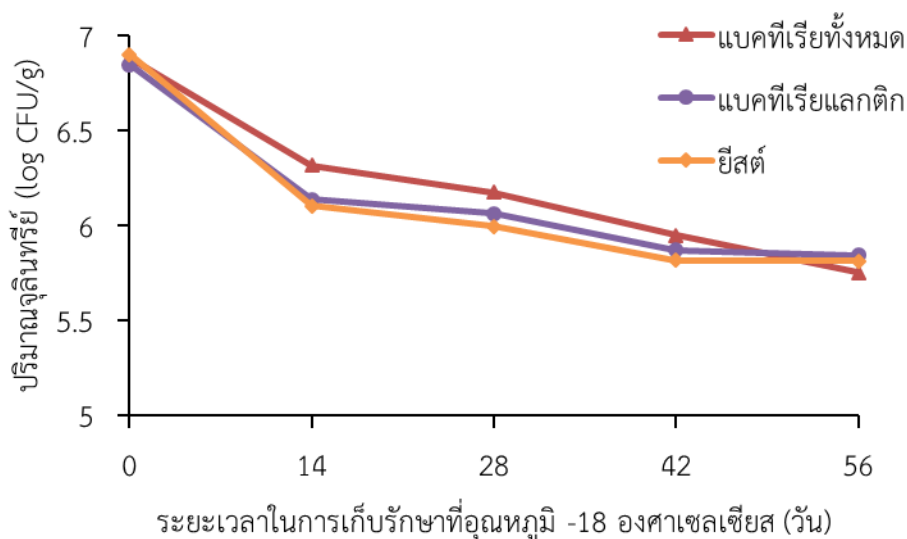


ภาพ 20 กิจกรรมการยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity) ของ LFM-ISS (30%) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 0, 30 และ 60 วัน เทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายโทลอกซ์ (Trolox)

### ผลการศึกษาคคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ของ LFM-ISS (30%)

การศึกษาคคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ของ LFM-ISS (30%) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส ในวันที่ 0, 14, 28, 42 และ 56 มีแนวโน้มที่ลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา โดยพบว่ามีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด เท่ากับ  $6.88 \pm 0.07$ ,  $6.32 \pm 0.02$ ,  $6.17 \pm 0.05$ ,  $5.95 \pm 0.04$  และ  $5.75 \pm 0.22$  log CFU/g ตามลำดับ ส่วนจำนวนแบคทีเรียแลคติก มีค่าเท่ากับ  $6.85 \pm 0.05$ ,  $6.14 \pm 0.02$ ,  $6.07 \pm 0.01$ ,  $5.87 \pm 0.03$  และ  $5.84 \pm 0.02$  log CFU/g ตามลำดับ และจำนวนยีสต์ มีค่าเท่ากับ  $6.90 \pm 0.06$ ,  $6.11 \pm 0.03$ ,  $6.00 \pm 0.09$ ,  $5.82 \pm 0.05$  และ  $5.81 \pm 0.03$  log CFU/g ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 21 ซึ่งการลดลงของจำนวนจุลินทรีย์นั้นอาจเกี่ยวข้องกับอุณหภูมิและเวลาในแช่แข็งเพราะเกล็ดน้ำแข็งที่เกิดขึ้นจะส่งผลให้ผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ได้รับความเสียหาย ส่งผลต่อการอยู่รอดจึงทำให้จำนวนจุลินทรีย์มีจำนวนลดน้อยลงตามระยะเวลาในการเก็บรักษา (Ranadheera & Ajlouni, 2018)

จากหลาย ๆ งานวิจัยมีการรายงานว่าการลดลงของจำนวนจุลินทรีย์ไปรไบโอติกในไอศกรีมมีสาเหตุมาจากขั้นตอนการแช่แข็ง โดยเกล็ดน้ำแข็งที่เกิดขึ้นจะทำลายตัวเซลล์ทำให้เซลล์บางส่วนเสียชีวิต รวมไปถึงความเครียดเชิงกลของกระบวนการผสม และการรวมตัวของออกซิเจนเข้ากับส่วนผสม สิ่งเหล่านี้เป็นสาเหตุหลักที่ส่งผลให้จำนวนจุลินทรีย์ไปรไบโอติกในไอศกรีมมีจำนวนลดลง (Salem et al., 2005) ทั้งนี้ไอศกรีมเป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่มีศักยภาพเป็นตัวนำส่งไปรไบโอติกเข้าสู่ร่างกายที่เหมาะสมเนื่องจากมีโปรตีนนม ไขมัน และส่วนประกอบต่าง ๆ ที่สามารถช่วยห่อหุ้มจุลินทรีย์ให้ผ่านเข้าสู่ระบบย่อยอาหารในจำนวนที่เพียงพอต่อร่างกายได้ (da Silva et al., 2015; Di Criscio et al., 2010; El-Sayed et al., 2014) อย่างไรก็ตามผู้ผลิตสามารถส่งเสริมการเจริญและเพิ่มอัตราการรอดของไปรไบโอติกในไอศกรีมได้โดยการใช้ส่วนผสมที่มีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก เช่น เยื่อใยอาหาร อินูลิน และ โอลิโกแซ็กคาไรด์ เป็นต้น (Di Criscio et al., 2010; El-Sayed et al., 2014) ซึ่งพรีไบโอติกเหล่านี้ร่างกายไม่สามารถย่อยและดูดซึมได้ที่ลำไส้เล็ก แต่จะถูกส่งผ่านเข้าสู่ลำไส้ใหญ่และถูกย่อยสลายด้วยแบคทีเรียไปรไบโอติก ซึ่งจะช่วยกระตุ้นการเจริญและการทำงานของแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ (Gibson et al., 2004)



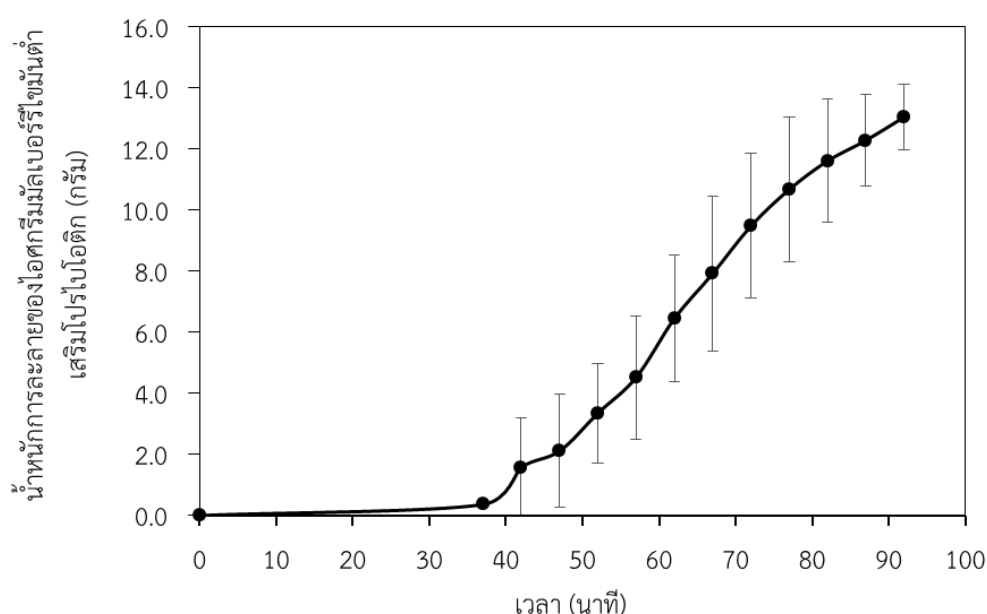
ภาพ 21 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และแบคทีเรียแลกติก (log CFU/g) ของไอศกรีมมัลเบอร์รีไขมันต่ำเสริมซินไบโอติกที่มีความเข้มข้นของมัลเบอร์รี 30 เปอร์เซ็นต์ (LFM-ISS (30%)) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 56 วัน

#### ผลการศึกษาอัตราการละลายของ LFM-ISS (30%)

การศึกษ้อัตราการละลายของ LFM-ISS (30%) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่า ระยะเวลาการละลายจนเกิดหยดแรกเฉลี่ยอยู่ที่  $37.00 \pm 7.00$  นาที และมีอัตราการละลายอยู่ที่  $0.29 \pm 0.03$  กรัมต่อนาที ดังแสดงในภาพที่ 22 ซึ่งการละลายของไอศกรีมนั้นเกิดจากปัจจัยหลายประการ ได้แก่ ปริมาณของอากาศที่รวมตัวกัน ลักษณะและขนาดของผลึกน้ำแข็ง การรวมตัวกันของไขมันในระหว่างการแช่แข็ง ปริมาณไขมัน ค่า overrun (ค่า overrun ที่ต่ำจะส่งผลให้ไอศกรีมละลายเร็ว ในขณะที่ค่า overrun สูง จะส่งผลให้ไอศกรีมละลายช้าและมีความต้านทานต่อการหลอมละลายได้เป็นอย่างดี เนื่องจากการถ่ายเทความร้อนที่ลดลงเพราะปริมาณอากาศที่มากขึ้น) ค่าสัมประสิทธิ์ความสม่ำเสมอของการผสม (consistency coefficient of the mix) และความสามารถของความร้อนในการแทรกซึมเข้าไปในไอศกรีม (Balthazar et al., 2017; Muse & Hartel, 2004)

Balthazar et al. (2017) รายงานว่าไขมันนมหรือน้ำมันพืชจะช่วยลดอัตราการถ่ายเทความร้อนผ่านไอศกรีมได้ เมื่อปริมาณไขมันของไอศกรีมเพิ่มขึ้นอัตราการละลายจะลดลง ไขมันที่อยู่ในรูปของอนุภาคเม็ดไขมัน (fat globule) และการยึดเกาะกันเป็นกลุ่มก้อนสามารถทำให้เกิดฟองอากาศในโครงสร้างไอศกรีมและทำให้อัตราการละลายลดลง ดังนั้นปริมาณไขมันที่น้อยลงอาจ

เป็นเหตุผลหลักที่ทำให้ไอศกรีมละลายเร็วขึ้น ชัดแย้งกับการศึกษาที่พบว่า LFM-ISS (30%) ซึ่งมีค่า overrun และเปอร์เซ็นต์ของไขมันต่ำ (ผลการวิเคราะห์ห้วงค์ประกอบทางเคมีดังแสดงในตารางที่ 6) แต่กลับมีอัตราการการละลายที่ต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับไอศกรีมกะทิ (Fuangpaiboon & Kijroongrojana, 2017) ไอศกรีม ragi (Ij et al., 2014) หรือไอศกรีม Kefir รสผลไม้ (Gilmar Barboza Januário et al., 2018) ทั้งนี้ น่าจะเกิดจากส่วนผสม วัสดุ และอุปกรณ์ในกระบวนการผลิต ไอศกรีม เช่น เนื้อมัลเบอร์รี่ สารให้ความคงตัว และเครื่องปั่นไอศกรีม เป็นต้น



ภาพ 22 การละลายของไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติกที่มีความเข้มข้นของมัลเบอร์รี่ 30 เปอร์เซ็นต์ (LFM-ISS (30%)) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

#### การศึกษาคุณภาพทางด้านกายภาพและเคมีของ LFM-ISS (30%)

การศึกษาคุณภาพทางด้านกายภาพและเคมีของไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติกที่มีความเข้มข้นของมัลเบอร์รี่ 30 เปอร์เซ็นต์ (LFM-ISS (30%)) พบว่า LFM-ISS (30%) มีค่าสี  $L^* a^* b^*$  เท่ากับ  $27.80 \pm 0.26$ ,  $12.99 \pm 0.59$  และ  $1.43 \pm 0.05$  ตามลำดับ และมีค่า pH ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ( $^{\circ}\text{Brix}$ ) Overrun ปริมาณเถ้า ปริมาณคาร์โบไฮเดรต พลังงานทั้งหมด ปริมาณไขมันทั้งหมด ปริมาณความชื้น และปริมาณโปรตีน เท่ากับ  $4.55 \pm 0.02$ ,  $15.4 \pm 0.53$   $^{\circ}\text{Brix}$ ,

11.43±0.36 %, 1.12 g/100g, 12.05 g/100g, 72.29 kcal/100g, 0.93 g/100g , 81.97 g/100g และ 3.93 g/100g ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 6

**ตาราง 6 คุณภาพทางด้านกายภาพและเคมีของไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติกที่มีความเข้มข้นของมัลเบอร์รี่ 30 เปอร์เซ็นต์ (LFM-ISS (30%))**

คุณภาพทางด้านกายภาพและเคมีของ LFM-ISS (30%)		
ค่าสี	<i>L</i> *	27.80±0.26
	<i>a</i> *	12.99±0.59
	<i>b</i> *	1.43±0.05
ค่า pH		4.55±0.02
ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (°Brix)		15.4±0.53
Overrun (%)		11.43±0.36
ปริมาณเถ้า (g/100g)		1.12
ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (g/100g)		12.05
พลังงานทั้งหมด (kcal/100g)		72.29
ปริมาณไขมันทั้งหมด (g/100g)		0.93
ปริมาณความชื้น (g/100g)		81.97
ปริมาณโปรตีน (g/100g)		3.93

**การตรวจหาจุลินทรีย์ก่อโรคใน LFM-ISS (30%) ที่ผลิตได้**

เมื่อนำ LFM-ISS (30%) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส มาตรวจหาจุลินทรีย์ก่อโรคซึ่งประกอบ *S. aureus*, *Salmonella* spp., *Enterobacteriaceae*, *E. coli*, *L. monocytogenes* และ *Bacillus cereus* ด้วยวิธีการ Spread plate พบว่า ไม่พบจุลินทรีย์ดังกล่าวใน LFM-ISS (30%) ที่ผลิตได้ ตลอดระยะเวลาของการรักษาเป็นเวลา 120 วัน ดังแสดงในตารางที่ 7 ซึ่งให้เห็นว่า LFM-ISS (30%) ที่ผลิตได้มีความปลอดภัยเป็นไปตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 364) พ.ศ. 2556 เรื่อง มาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2559)

ตาราง 7 ปริมาณของจุลินทรีย์ก่อโรคในไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติกที่มีความเข้มข้นของมัลเบอร์รี่ 30 เปอร์เซ็นต์ (LFM-ISS (30%)) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส

สายพันธุ์ของจุลินทรีย์	ปริมาณจุลินทรีย์ (CFU/g)		ปริมาณที่กำหนด
	0 วัน	120 วัน	
<i>Bacillus cereus</i>	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่เกิน 500 ใน 1 กรัม
Enterobacteriaceae	ไม่พบ	ไม่พบ	น้อยกว่า 200 ใน 1 กรัม
<i>Escherichia coli</i>	ไม่พบ	ไม่พบ	ต้องไม่พบ
<i>Salmonella</i> spp.	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบใน 25 กรัม
<i>Staphylococcus aureus</i>	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบใน 0.1 กรัม
<i>Listeria monocytogenes</i>	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบใน 25 กรัม

หมายเหตุ: ปริมาณที่กำหนดตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 364) พ.ศ. 2556 เรื่อง มาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค

## บทที่ 5

### บทสรุป

#### สรุปผลการวิจัย

การพัฒนาสูตรและศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ คุณภาพทางประสาทสัมผัส และระยะเวลาการเก็บรักษาไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติก (Low Fat Mulberry Ice Cream Supplemented with Synbiotic (LFM-ISS)) โดยการนำมัลเบอร์รี่จากบริษัทอุตสาหกรรม การเกษตรเขาค้อ จำกัด มาศึกษาคุณภาพทางด้านกายภาพ เคมีและจุลินทรีย์ พบว่าผลมัลเบอร์รี่มีค่า pH เป็นกรด มีสารฟีนอลิก แอนโทไซยานิน (anthocyanin) และมีกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ และตรวจพบแบคทีเรียแลคติกและยีสต์จากผลมัลเบอร์รี่ตัวอย่าง เมื่อศึกษาการเจริญของโปรไบโอติก (*L. plantarum* TISTR926 และ *S. boulardii*) การเปลี่ยนแปลงค่า pH ปริมาณแอนโทไซยานิน ปริมาณสารฟีนอลิก และกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำมัลเบอร์รี่ที่มีและไม่มีการเติมโปรไบโอติกที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าทุกชุดการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงไม่มากนัก ยกเว้นปริมาณแอนโทไซยานินของชุดการทดลองที่มีการเติม *S. boulardii* พบว่ามีค่าเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) เมื่อผลิต LFM-ISS ที่มีความเข้มข้นของมัลเบอร์รี่แตกต่างกัน 5 ชุดการทดลอง โดยแต่ละชุดการทดลองมีการเสริมโปรไบโอติก (*L. plantarum* TISTR 926 และ *S. boulardii*) พบว่าสูตรไอศกรีมที่มีมัลเบอร์รี่ 30 เปอร์เซ็นต์ (LFM-ISS (30%)) มีคะแนนคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสสูงกว่าชุดการทดลองอื่นแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) ในคุณลักษณะทางด้านลักษณะปรากฏ กลิ่นรส และความชอบโดยรวม โดย LFM-ISS (30%) ยังคงปริมาณแอนโทไซยานิน สารฟีนอลิก และกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระแต่มีค่าต่ำกว่าผลมัลเบอร์รี่สด ส่วนจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด แบคทีเรียแลคติกและจำนวนยีสต์ มีแนวโน้มลดลงในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 56 วัน แต่ยังคงปริมาณใกล้เคียงกับ  $6 \log \text{CFU/กรัม}$  ของน้ำหนักรวมของไอศกรีม ในขณะที่ระยะเวลาการละลายจนเกิดหยดแรกเฉลี่ยอยู่ที่  $37.00 \pm 7.00$  นาที และมีอัตราการละลายอยู่ที่  $0.29 \pm 0.03$  กรัมต่อนาที ส่วนคุณภาพทางด้านกายภาพและเคมีของ LFM-ISS (30%) พบว่า มีค่าสี  $L^* a^* b^*$  เท่ากับ  $27.80 \pm 0.26$ ,  $12.99 \pm 0.59$  และ  $1.43 \pm 0.05$  ตามลำดับ และมีค่า pH ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ( $^{\circ}\text{Brix}$ ) Overrun ปริมาณเถ้า ปริมาณคาร์โบไฮเดรต พลังงานทั้งหมด ปริมาณไขมันทั้งหมด ปริมาณความชื้น และปริมาณโปรตีน เท่ากับ  $4.55 \pm 0.02$ ,  $15.4 \pm 0.53$   $^{\circ}\text{Brix}$ ,  $11.43 \pm 0.36$  %,  $1.12 \text{ g/100g}$ ,  $12.05 \text{ g/100g}$ ,  $72.29 \text{ kcal/100g}$ ,  $0.93 \text{ g/100g}$  ,  $81.97 \text{ g/100g}$  และ  $3.93 \text{ g/100g}$  ตามลำดับ และเมื่อตรวจหาจุลินทรีย์ก่อโรค



(*Bacillus cereus*, Enterobacteriaceae, *Escherichia coli*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus* และ *Listeria innocua*) ใน LFM-ISS (30%) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 วัน พบว่าไม่พบจุลินทรีย์ก่อโรคตลอดระยะเวลาของการเก็บรักษา

การวิจัยนี้ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติกซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพที่มีความปลอดภัย มีคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ และคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสตรงต่อความต้องการของผู้บริโภค รวมไปถึงอายุการเก็บรักษาที่เหมาะสม และเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบที่เกิดจากกระบวนการศึกษาวิจัยทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ซึ่งสามารถนำไปต่อยอด ผลิตและจัดจำหน่ายเชิงพาณิชย์ได้

### ข้อเสนอแนะ

ข้อเสนอแนะจากผู้ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

- ควรทำให้มีรสชาติ เนื้อสัมผัสและกลิ่นรสที่มากกว่านี้
- ควรเพิ่มความหวานขึ้นอีกเล็กน้อย
- ควรเพิ่มความเปรี้ยวในตัวผลิตภัณฑ์ขึ้นอีกเล็กน้อย เพื่อเป็นเอกลักษณ์เฉพาะของตัวมัลเบอร์รี่ที่คนรู้จักชัดเจนและควรมีเนื้อของมัลเบอร์รี่ในตัวผลิตภัณฑ์มากขึ้น
- ควรมีการศึกษาการใช้สารให้ความหวานชนิดอื่นแทนหญ้าหวาน เช่น น้ำผึ้ง สำหรับผู้บริโภคที่ไม่ชอบรับประทานหญ้าหวาน

# บรรณานุกรม



## บรรณานุกรม

- นงคราญ พงศ์ตระกูล, ชาญรัฐา รอดบุญฤทธิ์, สยาม ภพลือชัย, ปิยะนุช เนียมทรัพย์, สมคิด ตีจริง และ  
ไพโรจน์ วงศ์พุทธิสิน. (2561). ผลของรูปแบบเซลล์โปรไบโอติกที่มีต่อคุณสมบัติของไอศกรีม  
นม. *ว. เทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม*, 1, 58-70.
- ราชกิจจานุเบกษา. (2554). ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง *การใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติกใน  
อาหาร*. 128 (ตอนพิเศษ 86 ง), 21-25.
- วรัญญู อินทรกำแหง. (2560). *7 Supplement Trends In 2017 เทรนด์ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารมาแรง  
ประจำปีนี้*. สืบค้น 25 พฤษภาคม 2561, จาก [https://www.unilevernetwork.com/th/  
business-editorial/7-supplement-trends](https://www.unilevernetwork.com/th/business-editorial/7-supplement-trends)
- ศศิกานต์ ซองทุมมินทร์, และบวรศักดิ์ ลีนานนท์. (2555). การผลิตไอศกรีมฟักข้าวเสริมโปรไบโอติก. *ว.  
วิทย. กษ.*, 43(พิเศษ), 315-318.
- ศูนย์วิจัยเพื่ออุตสาหกรรมอาหาร. (2558). *ตลาดไอศกรีมในประเทศไทย*. สืบค้น 31 พฤษภาคม  
2561, จาก <http://fic.nfi.or.th/MarketOverviewDomesticDetail.php?id=76>
- ศูนย์วิจัยเพื่ออุตสาหกรรมอาหาร. (2560). *“อาหารเพื่อสุขภาพ” โอกาสและการเติบโตที่น่าจับ  
ตามอง*. สืบค้น 31 พฤษภาคม 2561, จาก [http://fic.nfi.or.th/  
foodsectordatabankNews-detail.php?smid=1559](http://fic.nfi.or.th/foodsectordatabankNews-detail.php?smid=1559)
- สนั่น จอกลอย วีรยา ลาตบัวขาว รัชนก มีแก้ว. แก่นตะวัน: พืชชนิดใหม่ใช้เป็นพลังงานทดแทน. *แก่น  
เกษตร*, 34(2), 104 – 111
- สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ. (2557). *แนวโน้มตลาดอาหารเพื่อสุขภาพและโอกาสของผู้ประกอบการ  
ไทย*. สืบค้น 31 พฤษภาคม 2561, จาก [http://www.nia.or.th/innolinks/page.php?  
issue=201412&section=6](http://www.nia.or.th/innolinks/page.php?issue=201412&section=6)
- สิริมนต์ วัฒนชัย. (2552). อิทธิพลของสารทดแทนไขมันที่มีผลต่อการเหล็กรอดของเชื้อโปรไบโอติกใน  
ไอศกรีมโยเกิร์ต (วิทยานิพนธ์ปริญญาโทมหาบัณฑิต). กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร.
- สุภณิดา พัฒธร, และพิมพ์พรณ เทียนพูล. (2559). ผลของแก่นตะวันต่อแบคทีเรียแลคติกในซอร์เบท  
โปรไบโอติก. *ว. วิจัยและพัฒนา วไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์*, 11, 59-71.

- สุวีณา จันทพิรภัษ. (2553). การประยุกต์ใช้แบคทีเรียโพรไบโอติกในไอศกรีมเสาวรส (วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบริหารธุรกิจ). ขอนแก่น: มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- Ajay Krishna, P. G., Sivakumar, T. R., Jin, C., Li, S.H., Weng, Y.J., Yin, J., Jia, J.Q., Wang, C.Y., & Gui, Z.Z. (2018). Antioxidant and hemolysis protective effects of polyphenol-rich extract from mulberry fruits. *Pharmacognosy Magazine*, 14(53), 103–109.
- Akalın, A. S., Kesencas, H., Dinkci, N., Unal, G., Ozer, E., & Kınık, O. (2018). Enrichment of probiotic ice cream with different dietary fibers: Structural characteristics and culture viability. *Journal of Dairy Science*, 101(1), 37–46.
- Akbari, M., Eskandari, M. H., & Davoudi, Z. (2019). Application and functions of fat replacers in low-fat ice cream: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 86, 34-40.
- Akbari, M., Eskandari, M. H., Niakosari, M., & Bedeltavana, A. (2016). The effect of inulin on the physicochemical properties and sensory attributes of low-fat ice cream. *International Dairy Journal*, 57, 52-55.
- Akbulut, M., & Ozcan, M. M. (2009). Comparison of mineral contents of mulberry (*Morus spp.*) fruits and their pekmez (boiled mulberry juice) samples. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 60(3), 231–239.
- Alamprese, C., Foschino, R., Rossi, M., Pompei, C., & Savani, L. (2002). Survival of *Lactobacillus johnsonii* La1 and influence of its addition in retail-manufactured ice cream produced with different sugar and fat concentration. *International Dairy Journal*, 12, 201-208.
- Alighourchi, H., & Barzegar, M. (2009). Some physicochemical characteristics and degradation kinetic of anthocyanin of reconstituted pomegranate juice during storage. *Journal of Food Engineering*, 90(2), 179-185.
- Andallu, B., & Varadacharyulu, N. Ch. (2003). Antioxidant role of mulberry (*Morus indica L. cv. Anantha*) leaves in streptozotocin-diabetic rats. *Clinica Chimica Acta*, 338(1), 3–10.

- AOAC. (2000). *Official Methods of Analysis*. (17th ed.). USA.: The Association of Official Analytical Chemists, Arlington, Virginia.
- Aramwit, P., Petcharat, K., & Supasyndh, O. (2011). Efficacy of mulberry leaf tablets in patients with mild dyslipidemia. *Phytotherapy Research: PTR*, 25(3), 365–369.
- Asai, A., Nakagawa, K., Higuchi, O., Kimura, T., Kojima, Y., Kariya, J., Miyazawa, T., & Oikawa, S. (2011). Effect of mulberry leaf extract with enriched 1-deoxynojirimycin content on postprandial glycemic control in subjects with impaired glucose metabolism. *Journal of Diabetes Investigation*, 2(4), 318–323.
- Balthazar, C. F., Silva, H. A., Vieira, A. H., Neto, R. P. C., Cappato, L. P., Coimbra, P. T., & Freitas, M. Q. (2017). Assessing the effects of different prebiotic dietary oligosaccharides in sheep milk ice cream. *Food Research International*, 91, 38-46.
- Balthazar, C. F., Silva, H. L., Esmerino, E. A., Rocha, R. S., Moraes, J., Carmo, M. A., ... & Franco, R. M. (2018). The addition of inulin and *Lactobacillus casei* 01 in sheep milk ice cream. *Food Chemistry*, 246, 464-472.
- Bao, T., Xu, Y., Gowd, V., Zhao, J., Xie, J., Liang, W., & Chen, W. (2016). Systematic study on phytochemicals and antioxidant activity of some new and common mulberry cultivars in China. *Journal of Functional Foods*, 25, 537–547.
- Barclay, T., Ginic-Markovic, M., Cooper, P., & Petrovsky, N. (2016). Inulin-a versatile polysaccharide with multiple pharmaceutical and food chemical uses. *Journal of Excipients and Food Chemicals*, 1(3), 1132.
- Basu, S., Bose, C., Ojha, N., Das, N., Das, J., Pal, M., & Khurana, S. (2015). Evolution of bacterial and fungal growth media. *Bioinformation*, 11(4), 182.
- Bharani, S. E. R., Asad, M., Dhamanigi, S. S., & Chandrakala, G. K. (2010). Immunomodulatory activity of methanolic extract of *Morus alba* Linn. (mulberry) leaves. *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 23(1), 63–68.
- Biloo, A. G., Memon, M. A., Khaskheli, S. A., Murtaza, G., Iqbal, K., Shekhani, M. S., & Siddiqi, A. Q. (2006). Role of a probiotic (*Saccharomyces boulardii*) in

- management and prevention of diarrhoea. *World Journal of Gastroenterology: WJG*, 12(28), 4557.
- Büttner, S., Eisenberg, T., Herker, E., Carmona-Gutierrez, D., Kroemer, G., & Madeo, F. (2006). Why yeast cells can undergo apoptosis: Death in times of peace, love, and war. *The Journal of Cell Biology*, 175(4), 521–525.
- Cardello, A. V. (2017). Hedonic scaling: assumptions, contexts and frames of reference. *Current Opinion in Food Science*, 15, 14–21.
- Carmona-Gutierrez, D., Sommer, C., Andryushkova, A., Kroemer, G., & Madeo, F. (2012). A higher spirit: avoiding yeast suicide during alcoholic fermentation. *Cell Death & Differentiation*, 19(6), 913–914.
- Chaikham, P., & Rattanasena, P. (2017). Combined effects of low-fat ice cream supplemented with probiotics on colon microfloral communities and their metabolites during fermentation in a human gut reactor. *Food Bioscience*, 17, 35–41.
- Chaiyasut, C., Pengkumsri, N., Sirilun, S., Peerajan, S., Khongtan, S., & Sivamaruthi, B. S. (2017). Assessment of changes in the content of anthocyanins, phenolic acids, and antioxidant property of *Saccharomyces cerevisiae* mediated fermented black rice bran. *AMB Express*, 7(1), 114.
- Champagne, C. P., Gardner, N. J., & Roy, D. (2005). Challenges in the addition of probiotic cultures to foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45(1), 61–84.
- Chang, B. Y., Kim, S. B., Lee, M. K., Park, H., & Kim, S. Y. (2015). Improved chemotherapeutic activity by *morus alba* fruits through immune response of toll-like receptor 4. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(10), 24139–24158.
- Chen, C.C., Liu, L.K., Hsu, J.D., Huang, H.P., Yang, M.Y., & Wang, C.J. (2005). Mulberry extract inhibits the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Food Chemistry*, 91(4), 601–607.

- Christie, P. J., Alfenito, M. R., & Walbot, V. (1994). Impact of low-temperature stress on general phenylpropanoid and anthocyanin pathways: Enhancement of transcript abundance and anthocyanin pigmentation in maize seedlings. *Planta*, *194*(4), 541–549.
- Chua, I. Y. P., King, P. J. H., Ong, K. H., Sarbini, S. R., & Yiu, P. H. (2015). Influence of light intensity and temperature on antioxidant activity in *Premna serratifolia* L. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, *15*(3), 605–614.
- Clark, C., 2012. The Science of Ice Cream. RSC publishing, London. Codex 2010: JECFA Monograph (2010) INS no. 960
- Corvitto, A., 2011. The secrets of ice cream = los secretos del helado ice cream without secrets = El helado sin secretos 2<sup>o</sup> ed.. Sant Cugat del Valles, Vilbo. Spain.
- Cruz, A. G., Antunes, A. E. C., Sousa, A. L. O. P., Faria, J. A. F., & Saad, S. M. I. (2009). Ice-cream as a probiotic food carrier. *Food Research International*, *42*(9), 1233–1239.
- Czerucka, D., Piche, T., & Rampal, P. (2007). yeast as probiotics–*saccharomyces boulardii*. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, *26*(6), 767-778.
- de Simone, C. (2019). The unregulated probiotic market. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, *17*(5), 809-817.
- Di Criscio, T., Fratianni, A., Mignogna, R., Cinquanta, L., Coppola, R., Sorrentino, E., & Panfili, G. (2010). Production of functional probiotic, prebiotic, and synbiotic ice creams. *Journal of Dairy Science*, *93*(10), 4555-4564.
- Donno, D., Cerutti, A., Prgomet, I., Mellano, M., & Beccaro, G. (2015). Food omics for mulberry fruit (*Morus* spp.): Analytical fingerprint as antioxidants' and health properties' determination tool. *Food Research International*, *69*, 179–188.
- El-Sayed, H. S., Salama, H. H., & El-Sayed, S. M. (2014). Production of synbiotic ice cream. *International Journal of ChemTech Research*, *7*, 138–147.

- Eo, H. J., Park, J. H., Park, G. H., Lee, M. H., Lee, J. R., Koo, J. S., & Jeong, J. B. (2014). Anti-inflammatory and anti-cancer activity of mulberry (*Morus alba* L.) root bark. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, *14*, 200.
- Erkaya, T., Dağdemir, E., & Şengül, M. (2012). Influence of Cape gooseberry (*Physalisperuviana* L.) addition on the chemical and sensory characteristics and mineral concentrations of ice cream. *Food Research International*, *45*(1), 331–335.
- FAO/WHO. (2001). Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. Report of a Joint FAO/WHO Expert. Cordoba, Argentina.
- Flórez, A. B., Egervärn, M., Danielsen, M., Tosi, L., Morelli, L., Lindgren, S., & Mayo, B. (2006). Susceptibility of *Lactobacillus plantarum* strains to six antibiotics and definition of new susceptibility–resistance cutoff values. *Microbial Drug Resistance*, *12*(4), 252–256.
- Fracassetti, D., Del Bo', C., Simonetti, P., Gardana, C., Klimis-Zacas, D., & Ciappellano, S. (2013). Effect of time and storage temperature on anthocyanin decay and antioxidant activity in wild blueberry (*Vaccinium angustifolium*) powder. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *61*(12), 2999–3005.
- Fратиани, F., Cardinale, F., Russo, I., Iuliano, C., Tremonte, P., Coppola, R., & Nazzaro, F. (2014). Ability of synbiotic encapsulated *Saccharomyces cerevisiae* boulardii to grow in berry juice and to survive under simulated gastrointestinal conditions. *Journal of Microencapsulation*, *31*(3), 299–305.
- Fuangpaiboon, N., & Kijroongrojana, K. (2017). Sensorial and physical properties of coconut-milk ice cream modified with fat replacers. *Maejo International Journal of Science and Technology*, *11*(2), 133.
- Gareau, M. G., Sherman, P. M., & Walker, W. A. (2010). Probiotics and the gut microbiota in intestinal health and disease. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*, *7*(9), 503.



- Ghosh, A., Gangopadhyay, D., & Chowdhury, T. (2017). Economical and environmental importance of mulberry: a review. *International Journal of Plant and Environment*, 3(02), 51-58.
- Gibson, G. R., & Roberfroid, M. B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *The Journal of Nutrition*, 125(6), 1401-1412.
- Gilmara Barboza Januário, J., Oliveira, A. S., Dias, S. S., Klososki, S., & Pimentel, T. (2018). Kefir ice cream flavored with fruits and sweetened with honey: Physical and chemical characteristics and acceptance. *International Food Research Journal*, 25, 179–187.
- Goff, D.H., Hartel, R., 2013. Ice Cream 7th ed. Springer Ed., USA.
- Goff, H. Douglas (1997). "Colloidal aspects of ice cream--A review". *International Dairy Journal* 7 (6-7): 363-373.
- Gungor, N., & Sengul, M. (2008). Antioxidant Activity, Total Phenolic Content and Selected Physicochemical Properties of White Mulberry (*Morus Alba L.*) Fruits. *International Journal of Food Properties*, 11(1), 44–52.
- Hayakawa, K., Mizutani, J., Wada, K., Masai, T., Yoshihara, I., & Mitsuoka, T. (1990). Effects of soybean oligosaccharides on human faecal flora. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 3(6), 293-303.
- Hosseini, A.-S., Akramian, M., Khadivi, A., & Salehi-Arjmand, H. (2018). Phenotypic and chemical variation of black mulberry (*Morus nigra*) genotypes. *Industrial Crops and Products*, 117, 260–271.
- Hu, X.Q., Jiang, L., Zhang, J.G., Deng, W., Wang, H.L., & Wei, Z.J. (2013). Quantitative determination of 1-deoxynojirimycin in mulberry leaves from 132 varieties. *Industrial Crops and Products*, 49, 782–784.
- Huang, J., Wang, Y., Ying, C., Liu, L., & Lou, Z. (2018). Effects of mulberry leaf on experimental hyperlipidemia rats induced by high-fat diet. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 16(2), 547–556.

- Hwanhlem, N., Watthanasakphuban, N., Riebroy, S., Benjakul, S., H-Kittikun, A., & Maneerat, S. (2010). Probiotic lactic acid bacteria from Kung-Som: Isolation, screening, inhibition of pathogenic bacteria. *International Journal of Food Science and Technology*, *45*(3), 594–601.
- Iannitti, T., & Palmieri, B. (2010). Therapeutical use of probiotic formulations in clinical practice. *Clinical Nutrition*, *29*(6), 701-725.
- Ij, P., Cn, D., & Sv, P. (2014). Development of technology for manufacture of ragi ice cream. *Journal of Food Science and Technology*, *52*(7), 4015–4028.
- Im, E., & Pothoulakis, C. (2010). Recent advances in *saccharomyces boulardii* research. *Gastroenterologie Clinique et Biologique*, *34*, 62-70.
- Kang, T. H., Hur, J. Y., Kim, H. B., Ryu, J. H., & Kim, S. Y. (2006). Neuroprotective effects of the cyanidin-3-O-b-D-glucopyranoside isolated from mulberry fruit against cerebral ischemia. *Neuroscience Letters*, *391*, 168-172.
- Khalifa, I., Zhu, W., Li, K. K., & Li, C. M. (2018). Polyphenols of mulberry fruits as multifaceted compounds: Compositions, metabolism, health benefits, and stability-A structural review. *Journal of Functional Foods*, *40*, 28-43.
- Kim, S. Y., Park, K. J., & Lee, W. C. (1998). Antiinflammatory and antioxidative effects of *Morus* spp. fruit extract. *Korean Journal of Medicinal Crop Science*, *6*, 204-209.
- Kitagaki, H., Araki, Y., Funato, K., & Shimoj, H. (2007). Ethanol-induced death in yeast exhibits features of apoptosis mediated by mitochondrial fission pathway. *FEBS Letters*, *581*(16), 2935-2942.
- Kleerebezem, M., Boekhorst, J., van Kranenburg, R., Molenaar, D., Kuipers, O. P., Leer, R., Turchini, R., Peters, S. A., Sandbrink, H. M., Fiers, M. W. E. J., Stiekema, W., Lankhorst, R. M. K., Bron, P. A., Hoffer, S. M., Groot, M. N. N., Kerkhoven, R., de Vries, M., Ursing, B., de Vos, W. M., & Siezen, R. J. (2003). Complete genome sequence of *lactobacillus plantarum* WCFS. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *100*(4), 1990-1995.

- Kojima, Y., Kimura, T., Nakagawa, K., Asai, A., Hasumi, K., Oikawa, S., & Miyazawa, T. (2010). Effects of mulberry leaf extract rich in 1-deoxynojirimycin on blood lipid profiles in humans. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 47(2), 155–161.
- Koxholt, M. M., Eisenmann, B., & Hinrichs, J. (2001). Effect of the fat globule sizes on the meltdown of ice cream. *Journal of Dairy Science*, 84(1), 31–37.
- Koyuncu, F. (2004). Organic acid composition of native black mulberry fruit. *Chemistry of Natural Compounds*, 40(4), 367-369.
- Krishna, H., Singh, D., Singh, R. S., Kumar, L., Sharma, B. D., & Saroj, P. L. (2020). Morphological and antioxidant characteristics of mulberry (*Morus* spp.) genotypes. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 19(2), 136–145.
- Kwaw, E., Ma, Y., Tchabo, W., Apaliya, M. T., Wu, M., Sackey, A. S., & Tahir, H. E. (2018a). Effect of *lactobacillus* strains on phenolic profile, color attributes and antioxidant activities of lactic-acid-fermented mulberry juice. *Food Chemistry*, 250, 148-154.
- Kwaw, E., Tchabo, W., Ma, Y., Apaliya, M. T., Sackey, A. S., Mintah, B. K., & Ma, S. (2018 b). Effect of storage on quality attributes of lactic-acid-fermented mulberry juice subjected to combined pulsed light and ultrasonic pasteurization treatment. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 12(3), 1763-1771.
- Landete, J. M., Rodríguez, H., Curiel, J. A., de las Rivas, B., de Felipe, F. L., & Muñoz, R. (2010). Degradation of phenolic compounds found in olive products by *lactobacillus plantarum* strains. In *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention* (pp. 387-396). Academic Press.
- Lange, F. T., Scheurer, M., & Brauch, H. J. (2012). Artificial sweeteners—a recently recognized class of emerging environmental contaminants: a review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 403(9), 2503-2518.

- Lee, J., Durst, R. W., & Wrolstad, R. E. (2005). Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. *Journal of AOAC International*, *88*(5), 1269–1278.
- Lee, J.H., & Oh, M.M. (2015). Short-term low temperature increases phenolic antioxidant levels in kale. *Horticulture, Environment, and Biotechnology*, *56*(5), 588–596.
- Li, D., Yao, Y., Sun, H., Wang, Y., Pu, J., Calderón, R., ... & Kannan, K. (2020). Artificial Sweeteners in Pig Feed: A worldwide survey and case study in pig farms in tianjin, China. *Environmental Science & Technology*, *54*(7), 4059-4067.
- Li, H., Tsao, R., & Deng, Z. (2012). Factors affecting the antioxidant potential and health benefits of plant foods. *Canadian Journal of Plant Science*, *92*(6), 1101–1111.
- Liang, N., & Kitts, D. D. (2014). Antioxidant property of coffee components: Assessment of methods that define mechanisms of action. *Molecules*, *19*(11), 19180–19208.
- Liu, H., Yang, J., Huang, S., Liu, R., He, Y., Zheng, D., & Liu, C. (2017). Mulberry crude extracts induce Nrf2 activation and expression of detoxifying enzymes in rat liver: Implication for its protection against NP-induced toxic effects. *Journal of Functional Foods*, *32*, 367–374.
- Lo Piero, A. R., Puglisi, I., Rapisarda, P., & Petrone, G. (2005). Anthocyanins accumulation and related gene expression in red orange fruit induced by low temperature storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *53*(23), 9083–9088.
- López-Vidaña, E. C., Figueroa, I. P., Cortés, F. B., Rojano, B. A., & Ocaña, A. N. (2017). Effect of temperature on antioxidant capacity during drying process of mortiño (*Vaccinium meridionale Swartz*). *International Journal of Food Properties*, *20*(2), 294–305.

- Lou, H., Hu, Y., Zhang, L., Sun, P., & Lu, H. (2012). Nondestructive evaluation of the changes of total flavonoid, total phenols, ABTS and DPPH radical scavenging activities, and sugars during mulberry (*Morus alba* L.) fruits development by chlorophyll fluorescence and RGB intensity values. *LWT-Food Science and Technology*, 47(1), 19-24.
- Madeo, F., Herker, E., Wissing, S., Jungwirth, H., Eisenberg, T., & Fröhlich, K.-U. (2004). Apoptosis in yeast. *Current Opinion in Microbiology*, 7(6), 655-660.
- Magnuson, B. A., Carakostas, M. C., Moore, N. H., Poulos, S. P., & Renwick, A. G. (2016). Biological fate of low-calorie sweeteners. *Nutrition Reviews*, 74(11), 670-689.
- Magwaza, L. S., & Opara, U. L. (2015). Analytical methods for determination of sugars and sweetness of horticultural products—A review. *Scientia Horticulturae*, 184, 179-192.
- Mangell, P., Lennernaes, P., Wang, M., Olsson, C., Ahrne, S., Molin, G., ... & Jeppsson, B. (2006). Adhesive capability of *lactobacillus plantarum* 299v is important for preventing bacterial translocation in endotoxemic rats. *Apmis*, 114(9), 611-618.
- Marquez, A., Perez-Serratos, M., Varo, M. A., & Merida, J. (2014). Effect of temperature on the anthocyanin extraction and color evolution during controlled dehydration of Tempranillo grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62(31), 7897-7902.
- Marshall, R. T., Goff, H. D., & Hartel, R. W. (2003). Ice Cream (6th ed.). Springer US. Retrieved from //www.springer.com/us/book/9781461501633
- Matsushita, K., & IKEDA, T. (2016). The effect of high air temperature on anthocyanin concentration and the expressions of its biosynthetic genes in strawberry 'Sachinoka'. *Environmental Control in Biology*, 54(2), 101-107.
- McFarland, L. V. (2010). Systematic review and meta-analysis of *saccharomyces boulardii* in adult patients. *World journal of gastroenterology: WJG*, 16(18), 2202.
- MedThai. 2017. 24 สรรพคุณและประโยชน์ของมัลเบอร์รี่! (Mulberry). <https://medthai.com/มัลเบอร์รี่/เข้าถึงเมื่อ 25 พฤษภาคม 2561>.

- Mohammadi, R., Mortazavian, A. M., Khosrokhavar, R., & Cruz, A. G. da. (2011). Probiotic ice cream: viability of probiotic bacteria and sensory properties. *Annals of Microbiology*, 61(3), 411–424.
- Mori, K., Goto-Yamamoto, N., Kitayama, M., & Hashizume, K. (2007). Loss of anthocyanins in red-wine grape under high temperature. *Journal of Experimental Botany*, 58(8), 1935–1945.
- Mousavi, Z. E., & Mousavi, M. (2019). The effect of fermentation by *Lactobacillus plantarum* on the physicochemical and functional properties of liquorice root extract. *LWT-Food Science and Technology*, 105, 164-168.
- Mozaffarieh, M., Sacu, S., & Wedrich, A. (2003). The role of the carotenoids, lutein and zeaxanthin, in protecting against age-related macular degeneration: A review based on controversial evidence. *Nutrition Journal*, 2, 20.
- Muse, M. R., & Hartel, R. W. (2004). Ice cream structural elements that affect melting rate and hardness. *Journal of Dairy Science*, 87(1), 1–10.
- Naresh, L., & Shailaja, M. (2006). Stabilizer blends and their importance in ice cream industry-a review. *New Zealand Food Magazine*, 24(6), 7-12.
- Natić, M. M., Dabić, D. Č., Papetti, A., Fotirić Akšić, M. M., Ognjanov, V., Ljubojević, M., & Tešić, Ž. L. (2015). Analysis and characterisation of phytochemicals in mulberry (*Morus alba* L.) fruits grown in Vojvodina, North Serbia. *Food Chemistry*, 171, 128–136.
- Nousia, F. G., Androulakis, P. I., & Fletouris, D. J. (2011). Survival of *Lactobacillus acidophilus* LMGP-21381 in probiotic ice cream and its influence on sensory acceptability. *International Journal of Dairy Technology*, 64(1), 130-136.
- Oliveira, M., Rodrigues, C. M., & Teixeira, P. (2019). Microbiological quality of raw berries and their products: A focus on foodborne pathogens. *Heliyon*, 5(12), e02992.
- Öztürk, H. İ., Demirci, T., & Akın, N. (2018). Production of functional probiotic ice creams with white and dark blue fruits of *Myrtus communis*: The comparison

- of the prebiotic potentials on *Lactobacillus casei* 431 and functional characteristics. *LWT- Food Science and Technology*, 90, 339–345.
- Park, S., Kim, J., & Kim, Y. (2012). Mulberry leaf extract inhibits cancer cell stemness in neuroblastoma. *Nutrition and Cancer*, 64(6), 889–898.
- Peanparkdee, M., Patrawart, J., & Iwamoto, S. (2019). Effect of extraction conditions on phenolic content, anthocyanin content and antioxidant activity of bran extracts from Thai rice cultivars. *Journal of Cereal Science*, 86, 86–91.
- Pérez-Gregorio, M., Regueiro, J., Alonso-González, E., Pastrana-Castro, L., & Simal-Gándara, J. (2011). Influence of alcoholic fermentation process on antioxidant activity and phenolic levels from mulberries (*Morus nigra* L.). *LWT-Food Science and Technology*, 44(8), 1793–1801.
- Pothoulakis, C. (2009). anti-inflammatory mechanisms of action of *saccharomyces boulardii*. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 30(8), 826-833.
- Prasertsiriphan, S. and Kusump, S. 2558. Impact of selected cultures of probiotics on quality of vanilla low fat ice cream during storage. *Journal of Science & Technology, Ubon Ratchathani University* 3, 19-27.
- Rajbhandari, A., & Roberts, M. F. (1985). The flavonoids of *Stevia microchaeta*, *Stevia monardifolia*, and *Stevia organoides*. *Journal of Natural Products*, 48(3), 502-503.
- Ranadheera, C. S., Naumovski, N., & Ajlouni, S. (2018). Non-bovine milk products as emerging probiotic carriers: Recent developments and innovations. *Current Opinion in Food Science*, 22, 109-114.
- Ranney, R. E., Oppermann, J. A., Muldoon, E., & McMahon, F. G. (1976). Comparative metabolism of aspartame in experimental animals and humans. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A Current Issues*, 2(2), 441-451.
- Roberfroid, M. B. (2005). Introducing inulin-type fructans. *British Journal of Nutrition*, 93(S1), S13-S25.

- Rohela, G. K., Shukla, P., Muttanna, Kumar, R., & Chowdhury, S. R. (2020). Mulberry (*Morus* spp.): An ideal plant for sustainable development. *Trees, Forests and People*, 2, 100011.
- Saad, N., Delattre, C., Urdaci, M., Schmitter, J. M., & Bressollier, P. (2013). An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie- Food Science and Technology*, 50(1), 1–16.
- Salem, M. M. E., Fathi, F.A. and Awad, R. A. 2005. Production of probiotic ice cream. *Polish Journal of Food Nutrition Science* 14/55: 267-271.
- Sheng, J. P., LIU, C., & SHEN, L. (2009). Analysis of 14 minerals of mulberry fruit in different mature stage by ICP-OES method. *Spectroscopy and Spectral Analysis*, 29(9), 2574-2576.
- Shrikanta, A., Kumar, A., & Govindaswamy, V. (2015). Resveratrol content and antioxidant properties of underutilized fruits. *Journal of Food Science and Technology*, 52(1), 383–390.
- Song, W., Wang, H.J., Bucheli, P., Zhang, P.F., Wei, D.Z., & Lu, Y.H. (2009). Phytochemical profiles of different mulberry (*Morus* sp.) species from China. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(19), 9133–9140.
- Tabakoglu, N., & Karaca, H. (2018). Effects of ozone-enriched storage atmosphere on postharvest quality of black mulberry fruits (*Morus nigra* L.). *LWT*, 92, 276–281.
- Theodotou, M., Fokianos, K., Mouzouridou, A., Konstantinou, C., Aristotelous, A., Prodromou, D., & Chrysikou, A. (2017). The effect of resveratrol on hypertension: A clinical trial. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 13(1), 295–301.
- Usman, M., Zhang, C., Patil, P. J., Mehmood, A., Li, X., Bilal, M., Haider, J., & Ahmad, S. (2021). Potential applications of hydrophobically modified inulin as an active ingredient in functional foods and drugs—A review. *Carbohydrate Polymers*, 252, 117176.



- Wan, X., Guo, H., Liang, Y., Zhou, C., Liu, Z., Li, K., Niu, F., Zhai, X., & Wang, L. (2020). The physiological functions and pharmaceutical applications of inulin: A review. *Carbohydrate Polymers*, *246*, 116589.
- Xu, L., Zhu, M.J., Liu, X.M., & Cheng, J.R. (2018). Inhibitory effect of mulberry (*Morus alba*) polyphenol on the lipid and protein oxidation of dried minced pork slices during heat processing and storage. *LWT-Food Science and Technology*, *91*, 222–228.
- You, Y., Li, N., Han, X., Guo, J., Zhao, Y., Liu, G., Zhan, J. (2018). Influence of different sterilization treatments on the color and anthocyanin contents of mulberry juice during refrigerated storage. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *48*, 1–10.
- Zhang, Q., Zhai, J., Shao, L., Lin, W., & Peng, C. (2019). Accumulation of anthocyanins: an adaptation strategy of *mikania micrantha* to low temperature in winter. *Frontiers in Plant Science*, *10*.
- Zhao, L., & Sweet, B. V. (2008). Lutein and zeaxanthin for macular degeneration. *American Journal of Health-System Pharmacy: AJHP: Official Journal of the American Society of Health-System Pharmacists*, *65*(13), 1232–1238.
- Złotek, U., Gawlik-Dziki, U., Dziki, D., Świeca, M., Nowak, R., & Martinez, E. (2019). Influence of drying temperature on phenolic acids composition and antioxidant activity of sprouts and leaves of white and red quinoa. *Journal of Chemistry*, 2019.



ภาคผนวก

มหาวิทยาลัยนครพนม

ภาคผนวก ก

คู่มือการผลิตไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติกสำหรับ 1 กิโลกรัม

ตาราง 8 วัตถุดิบและส่วนผสมของไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติก

ส่วนผสม	1 กิโลกรัม
มัลเบอร์รี่ (กรัม)	300
xanthan gum (กรัม)	6
นมไขมันต่ำ (กรัม)	620
หางนมผง (กรัม)	43.2
อินูลิน (กรัม)	30
Stevia (กรัม)	0.8
โพรไบโอติก	10 <sup>9</sup> CFU
รวม (กรัม)	1000

หมายเหตุ: โพรไบโอติกที่ใช้ คือ *Lactobacillus plantarum* TISTR 926 และยีสต์ *Saccharomyces boulardii*

ขั้นตอนการผลิตไอศกรีมมัลเบอร์รี่ไขมันต่ำเสริมซินไบโอติก 1 กิโลกรัม มีขั้นตอนดังนี้

นำมัลเบอร์รี่ 300 กรัม ผสมกับนมสดไขมันต่ำ 620 กรัม ปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น จากนั้นนำไปพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 80 °C เป็นเวลา 10 นาที

นำส่วนผสมซึ่งประกอบด้วย สารให้ความหวาน (หญ้าหวาน) 0.8 กรัม xanthan gum 6 กรัม หางนมผง 43.2 กรัม และอินูลิน 30 กรัม มาผสมรวมกันให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยนำไปปั่น จากนั้นนำไปทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 4-5 °C จากนั้นนำส่วนผสมที่ได้เข้าเครื่องทำไอศกรีม

จากนั้นเติมโพรไบโอติก ได้แก่ (*Lactobacillus plantarum* TISTR 926) และยีสต์ (*Saccharomyces boulardii*) ลงไปที่ระดับ 9 log CFU/g ของไอศกรีม

ปั่นไอศกรีมเป็นเวลา 25 นาที อุณหภูมิ -24 °C จากนั้นนำมาบรรจุใส่ถ้วยไอศกรีม และนำไปแช่เยือกแข็ง ที่อุณหภูมิ -23 °C

## ภาคผนวก ข

### การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

#### 1. Baird Parker Agar Base

ประกอบด้วย

Tryptone	10	กรัม
HM peptone B #	5	กรัม
Yeast extract	1	กรัม
Glycine	12	กรัม
Sodium pyruvate	10	กรัม
Lithium chloride	5	กรัม
Agar	20	กรัม

ชั่งอาหารสำเร็จรูป 63 กรัม ละลายกับน้ำกลั่น 950 มิลลิลิตร โดยใช้ความร้อนเพื่อให้ส่วนผสมละลายอย่างสมบูรณ์ ทำให้ปราศจากเชื้อโดยการนิ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส จากนั้นเติม Egg Yolk Tellurite Emulsion ที่ปราศจากเชื้อ 50 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากัน

## 2. Lactobacillus MRS Broth (MRS Broth)

ประกอบด้วย

Proteose peptone	10	กรัม
Beef extract	10	กรัม
Yeast extract	5	กรัม
Dextrose	20	กรัม
Polysorbate 80	1	กรัม
Ammonium citrate	2	กรัม
Sodium acetate	5	กรัม
Magnesium sulphate	0.10	กรัม
Manganese sulphate	0.05	กรัม
Dipotassium phosphate	2	กรัม

ซั่งอาหารสำเร็จรูป 55.15 กรัม ละลายกับน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร ถ้าเป็นอาหารแข็งเติมผงวุ้น 15 กรัม และ Bromocresol purple 0.04 กรัม จากนั้นทำให้ปราศจากเชื้อโดยการนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

### 3. Listeria Selective Agar Base

ประกอบด้วย

Trytone	17	กรัม
Soya peptone	3	กรัม
Yeast extract	6	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม
Dipotassium hydrogen phosphate	2.5	กรัม
Dextrose	2.5	กรัม
Agar	15	กรัม

ชั่งอาหารสำเร็จรูป 51 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ทำให้เย็นที่อุณหภูมิ 45 ถึง 50 องศาเซลเซียส และเติม Listeria Selective Supplement II (FD063) ขนาด 2 vial ผสมให้เข้ากันก่อนนำไปเทบนเพลท

## 4. MacConkey Agar

ประกอบด้วย

Peptone	1.5	กรัม
Casein enzymaic hydrolysate	1.5	กรัม
Gelatin peptone	17	กรัม
Lactose	10	กรัม
Bile salts	1.5	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม
Crystal violet	0.001	กรัม
Neutral red	0.03	กรัม
Agar	15	กรัม

ซั่งอาหารสำเร็จรูป 51.53 กรัม ละลายกับน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร โดยใช้ความร้อนเพื่อให้ส่วนผสมละลายอย่างสมบูรณ์ จากนั้นทำให้ปราศจากเชื้อโดยการนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

## 5. MYP Agar Base (Phenol Red Egg Yolk Polymyxin Agar Base)

## ประกอบด้วย

Peptone	10	กรัม
HM extract #	1	กรัม
D-Mannitol	10	กรัม
Sodium chloride	10	กรัม
Phenol red	0.025	กรัม
Agar	15	กรัม

ชั่งอาหารสำเร็จรูป 23.01 กรัม ละลายกับน้ำกลั่น 450 มิลลิลิตร โดยใช้ความร้อนเพื่อให้ส่วนผสมละลายอย่างสมบูรณ์ ทำให้ปราศจากเชื้อโดยการนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมสารละลาย Polymyxin B ที่ปราศจากเชื้อ 5 มิลลิลิตร และเติม Egg Yolk Emulsion ที่ปราศจากเชื้อ 50 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากัน

## 6. Plate Count Agar (Standard Methods Agar)

## ประกอบด้วย

Tryptone	5	กรัม
Yeast extract	2.5	กรัม
Dextrose (Glucose)	1	กรัม
Agar	15	กรัม

ชั่งอาหารสำเร็จรูป 23.5 กรัม ละลายกับน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร โดยใช้ความร้อนเพื่อให้ส่วนผสมละลายอย่างสมบูรณ์ จากนั้นทำให้ปราศจากเชื้อโดยการนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที



## 7. Violet Red Bile Agar

ประกอบด้วย

Peptone	7	กรัม
Yeast extract	3	กรัม
Lactose	10	กรัม
Bile salts mixture	1.5	กรัม
Sodium chloride	5	กรัม
Neutral red	0.030	กรัม
Crystal violet	0.002	กรัม
Agar	15	กรัม

ซั่งอาหารสำเร็จรูป 41.53 กรัม ละลายกับน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปต้มให้เดือดจนวุ้นละลายอย่างสมบูรณ์ โดยขณะที่ต้มต้องคนตลอดเวลา

## 8. Sabouraud Dextrose Agar

ประกอบด้วย

Mycological peptone	10	กรัม
Dextrose	40	กรัม
Agar	15	กรัม

ซั่งอาหารสำเร็จรูป 65 กรัม ละลายกับน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร โดยใช้ความร้อนเพื่อให้วุ้นละลายอย่างสมบูรณ์ จากนั้นทำให้ปราศจากเชื้อโดยการนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

## 9. SS Agar (Salmonella Shigella Agar)

ประกอบด้วย

Peptone	5	กรัม
HM peptone B #	5	กรัม
Lactose	10	กรัม
Bile salts mixture	8.5	กรัม
Sodium citrate	10	กรัม
Sodium thiosulphate	8.5	กรัม
Ferric citrate	1	กรัม
Brilliant green	0.33	มิลลิกรัม
Neutral red	0.025	กรัม
Agar	15	กรัม

ซึ่งอาหารสำเร็จรูป 63.02 กรัม ละลายกับน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปต้มให้เดือด  
จนวุ้นละลายอย่างสมบูรณ์ โดยขณะที่ต้มต้องคนตลอดเวลา

ภาคผนวก ค  
สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์

1. สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์บัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.0025 โมลาร์

ประกอบด้วย

Potassium chloride	1.86	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ปรับ pH ให้มีค่าเท่ากับ 1.0 โดยใช้ Hydrochloric acid (HCl) 37%

2. สารละลายโซเดียมอะซิเตต ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์

ประกอบด้วย

Sodium acetate	54.43	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

ปรับ pH ให้มีค่าเท่ากับ 4.5 โดยใช้ Hydrochloric acid (HCl) 37%

3. Sterile physiological saline solution

ประกอบด้วย

Peptone	1	กรัม
Sodium chloride	8.5	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

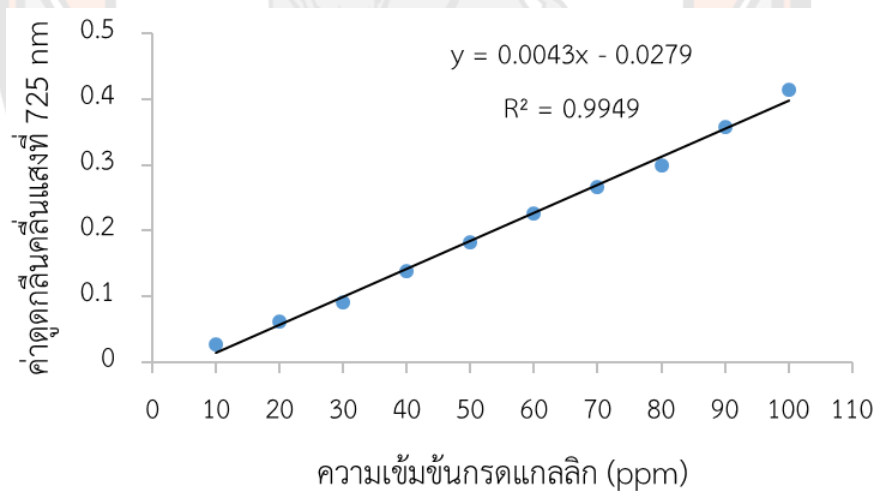
ทำให้ปราศจากเชื้อโดยการนึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

เป็นเวลา 15 นาที

## ภาคผนวก ง

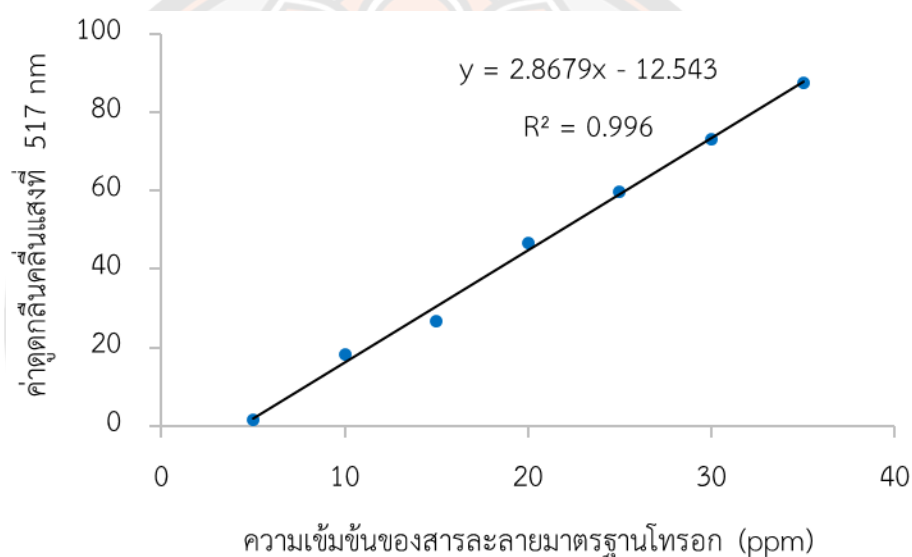
### กราฟของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก และโทลอกซ์ ของน้ำมัลเบอร์รี่หมัก

การสร้าง calibration curve จากสารละลายมาตรฐาน gallic acid ในน้ำกลั่น ความเข้มข้น 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.25, 1.50, 1.75, 2.0, 2.25 และ 2.5 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรของแต่ละความเข้มข้นเป็น 25 มิลลิกรัม จากนั้นนำแต่ละความเข้มข้นมา 0.2 มิลลิกรัม เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2 มิลลิกรัม และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2 มิลลิกรัม จากนั้นเขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง นาน 40 นาที จนปฏิกิริยาเกิดขึ้นสมบูรณ์หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV-Vis Spectrophotometer (Cert No. BSCC-UV-006/19 Model UV-1800 Bara Scientific CO., LTD.) ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ปริมาณที่ได้แสดงในหน่วย milligram of gallic acid equivalent per milliliter of extract ดังแสดงในภาพที่ 23



ภาพ 23 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร กับปริมาณของกรดแกลลิก (ppm) ของน้ำมัลเบอร์รี่หมัก

การสร้าง calibration curve จากสารละลายมาตรฐาน Trolox ในเมทานอล ความเข้มข้น 0.125, 0.250, 0.375, 0.500, 0.625 และ 0.875 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรของแต่ละความเข้มข้นเป็น 25 มิลลิลิตร จากนั้นนำแต่ละความเข้มข้นมา 0.2 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex และนำไปไว้ในที่มืด 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อครบเวลานำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV-Vis Spectrophotometer (Cert No. BSCC-UV-006/19 Model UV-1800 Bara Scientific CO., LTD.) ที่ 517 nm โดยใช้ Trolox เป็นสารละลายมาตรฐาน แสดงหน่วยในค่า Antioxidant activity (mg /100g) ดังที่แสดงในภาพที่ 24

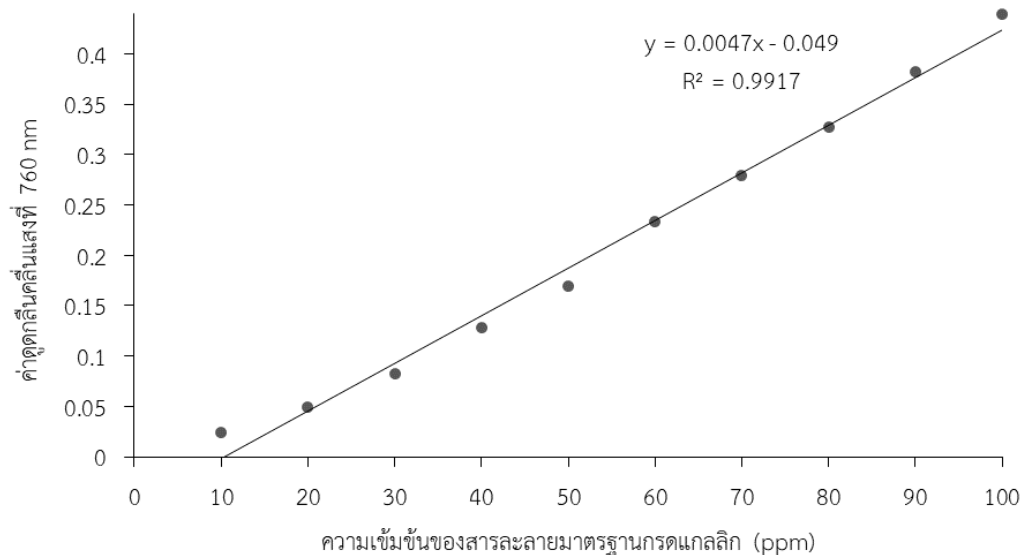


ภาพ 24 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระกับความเข้มข้นสารละลายมาตรฐาน Trolox (ppm) ของน้ำมัลเบอร์รี่หมัก

## ภาคผนวก จ

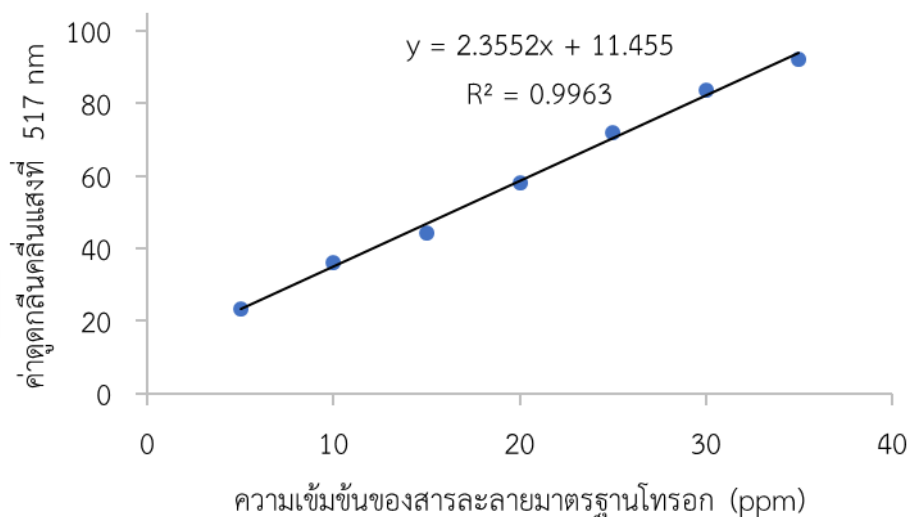
### กราฟของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก และโพลอกซ์ ของ LFM-ISS (30%)

การสร้าง calibration curve จากสารละลายมาตรฐาน gallic acid ในน้ำกลั่น ความเข้มข้น 0.25, 0.5, 0.75, 1.0, 1.25, 1.50, 1.75, 2.0, 2.25 และ 2.5 มิลลิกรัม ปรับปริมาตรของแต่ละความเข้มข้นเป็น 25 มิลลิกรัม จากนั้นนำแต่ละความเข้มข้นมา 0.2 มิลลิกรัม เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2 มิลลิกรัม และสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2 มิลลิกรัม จากนั้นเขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง นาน 40 นาที จนปฏิกิริยาเกิดขึ้นสมบูรณ์หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV-Vis Spectrophotometer (Cert No. BSCC-UV-006/19 Model UV-1800 Bara Scientific CO., LTD.) ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ปริมาณที่ได้แสดงในหน่วย milligram of gallic acid equivalent per milliliter of extract ดังแสดงในภาพที่ 25



ภาพ 25 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร กับปริมาณของกรดแกลลิก (ppm) ของ LFM-ISS (30%)

การสร้าง calibration curve จากสารละลายมาตรฐาน Trolox ในเมทานอล ความเข้มข้น 0.125, 0.250, 0.375, 0.500, 0.625 และ 0.875 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรของแต่ละความเข้มข้นเป็น 25 มิลลิลิตร จากนั้นนำแต่ละความเข้มข้นมา 0.2 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex และนำไปไว้ในที่มืด 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อครบเวลานำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย UV-Vis Spectrophotometer (Cert No. BSCC-UV-006/19 Model UV-1800 Bara Scientific CO., LTD.) ที่ 517 nm โดยใช้ Trolox เป็นสารละลายมาตรฐาน แสดงหน่วยในค่า Antioxidant activity (mg /100g) ดังที่แสดงในภาพที่ 26



ภาพ 26 ความสัมพันธ์ระหว่างเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระกับความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ (Trolox) (ppm) ของ LFM-ISS (30%)