# การผลิตเครื่องดื่มซินไบโอติกจากน้ำมังคุด
# โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* 431®

# SYNBIOTIC BEVERAGE PRODUCTION FROM MANGOSTEEN JUICE USING *Lactobacillus casei* 431®


**ยุวดี ศิลปาจารย์**

YUWADEE SINLAPAJAN


**วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร**
**ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ**
**ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์**
**สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง**
**พ.ศ. 2566**


KMITL-2023-SC-M-020-040



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# SYNBIOTIC BEVERAGE PRODUCTION FROM MANGOSTEEN JUICE USING *Lactobacillus casei* 431®

YUWADEE SINLAPAJAN

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY
DEPARTMENT OF BIOLOGY SCHOOL OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2023

KMITL-2023-SC-M-020-040

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2022

SCHOOL OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|---|---|
| **หัวข้อวิทยานิพนธ์** | การผลิตเครื่องดื่มซินไบโอติกจากน้ำมังคุด โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* 431® |
| **ชื่อนักศึกษา** | นางสาวยุวดี ศิลปาจารย์ |
| **รหัสประจำตัว** | 62605071 |
| **ปริญญา** | วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) |
| **ภาควิชา** | ชีววิทยา |
| **พ.ศ.** | 2566 |
| **อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์** | รองศาสตราจารย์ดวงใจ โอชัยกุล |

## บทคัดย่อ

มังคุด (*Garcinia mangostana* L.) เป็นผลไม้ที่พบได้มากในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เป็นผลไม้ที่มีรสชาติเปรี้ยวอมหวานเล็กน้อย ในการศึกษานี้ได้ทำการหมักน้ำมังคุด ผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรด ด้วยเชื้อ *Lactobacillus casei* 431® ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมีกายภาพ ทางจุลินทรีย์ และทางประสาทสัมผัสในระหว่างกระบวนการหมัก จาก การศึกษาพบว่า ในน้ำมันแกวเชื้อมีการเจริญสูงโดยมีปริมาณเชื้อ 7.64±0.01 Log CFU/mL ใช้เวลา 15 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งสูงกว่าน้ำมังคุด และน้ำสับปะรด จากนั้นศึกษาปริมาณกล้าเชื้อที่เหมาะสม ปริมาณกล้าเชื้อที่มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รอดชีวิตสูงสุด คือ ปริมาณกล้าเชื้อร้อยละ 30 จากนั้นนำกล้าเชื้อร้อยละ 30 หมักในน้ำมังคุด ผสมน้ำมันแกว และน้ำสับปะรดในอัตราส่วนต่าง ๆ คือ 100 : 0 : 0 80 : 10 : 10 60 : 30 : 10 และ 40 : 50 : 10 พบว่า น้ำมังคุดหมักอัตราส่วน 80 : 10 : 10 หมักเป็นเวลา 10 ชั่วโมง มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รอดชีวิตสูงสุด 7.70±0.11 Log CFU/mL มีปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก) และ ค่า pH 0.58±0.00% และ 3.27±0.01 ตามลำดับ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วง 10 - 20 ชั่วโมงของระยะการหมัก ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงสุดร้อยละ 93.15±0.86 จากนั้นศึกษาอายุการเก็บรักษาเครื่องดื่มน้ำมังคุดซินไบโอติก ที่อุณหภูมิตู้เย็น (4-10 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 30 วัน พบว่า ค่า pH ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกลดลงเล็กน้อย ในวันที่ 5 มีจำนวนโพรไบโอติกรอดชีวิต 6.03±0.01 Log CFU/mL จากการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่า ผู้บริโภคให้การยอมรับผลิตภัณฑ์จนถึงวันที่ 30 และจากการศึกษาการแปรรูปน้ำมังคุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซินไบโอติกเป็นผงเครื่องดื่ม โดยผสมกับพรีไบโอติกอินูลิน พบว่า ผงน้ำมังคุดซินไบโอติกผสมอินูลิน ร้อยละ 20 มีจุลินทรีย์โพรไบโอติกเหลือรอดสูงสุด โดยมีจำนวน 7.13±0.14 Log CFU/mL และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดลงเล็กน้อย ดังนั้นเครื่องดื่มน้ำมังคุดซินไบโอติกเป็นเครื่องดื่มที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพจัดเป็นเครื่องดื่มฟังก์ชันชนิดหนึ่ง

**คำสำคัญ**: *Lactobacillus casei* 431® น้ำมังคุด เครื่องดื่มซินไบโอติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|---|---|
| **Thesis Title** | Synbiotic Beverage Production from Mangosteen Juice Using *Lactobacillus csei* 431 |
| **Student Name** | Yuwadee Sinlapajan |
| **Student ID** | 62605071 |
| **Degree** | Master of Science (Biotechnology) |
| **Department** | Biology |
| **Year** | 2023 |
| **Thesis Advisor** | Assoc. Prof. Duangjai Ochaikul |

## Abstract

Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) is a fruit plant that grows in Southeast Asia. The fruit pulp is slightly sour and sweet. In this study, mangosteen juice mixed with yam bean juice and pineapple juice was fermented with probiotic bacterium *Lactobacillus casei* 431® , the physicochemical, microbiological and sensory of samples during the fermentation process were investigated. The yam bean gave the higher growth of this bacterium at 37 °C for 15 h (7.64±0.01 Log CFU/mL) than mangosteen juice and pineapple juice and was used to prepare the inoculum. The synbiotic beverage was prepared using mangosteen juice as the substrate and fermented by various ratios of inoculum (10%, 20%, and 30%), with the result showing that 30% of the inoculum gave the highest level of viable cell probiotics. The ratio of mangosteen juice, yam bean juice, and pineapple juice (80 : 10 : 10) using a 30% inoculum was fermented for 10 h resulted in the highest viable cell counts of probiotic (7.70±0.11 Log CFU/mL). The total acidity and pH were 0.58±0.00% and 3.27±0.01, respectively. Both total phenolic content and antioxidant activity increased slightly after 10 - 20 h of fermentation time. The highest antioxidant activity with the DPPH value was 93.15±0.86%. The mixed mangosteen beverage was kept at 4 - 10 °C for 30 days. The pH, total sugar, antioxidant activity, and phenolic compound of this beverage slightly decreased from the initial product. Cell viability was 6.03±0.01 Log CFU/mL on day 5 of the storage period. The fermented mixed juice was shown to be

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

an acceptable during storage. Addition, to produce a synbiotic mangosteen juice powder, they added 10%, 20%, and 30% of inulin powder. The freeze-drying powder of this beverage, which contained 20% of inulin, had the highest viability (7.13±0.14 Log CFU/mL) and had high antioxidant activities. The result suggested that synbiotic mangosteen juice can be useful as a functional beverage.

**Keywords**: *Lactobacillus casei* 431®, Mangosteen juice, Synbiotic beverage

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีโดยได้รับความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ.ดวงใจ โอชัยกุล ที่คอยให้ความรู้ คำแนะนำ และความช่วยเหลือต่าง ๆ ตลอดจนแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ข้าพเจ้าขอขอบคุณ รศ.ดร.อรไท สุขเจริญ ประธานกรรมการสอบ และ ผศ.ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่กรุณาสละเวลาตรวจสอบ และให้คำแนะนำ ตลอดจนแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์มากขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.ปิ่นมณี ขวัญเมือง ที่คอยให้คำปรึกษา ให้ความช่วยเหลือด้านต่าง ๆ ตลอดจนตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วง

ขอขอบพระคุณ คณาจารย์ภาควิชาชีววิทยา และบุคลากรเจ้าหน้าที่ทุกหน่วยงานของคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่คอยชี้แนะ ให้คำปรึกษาและคอยช่วยเหลือ

ท้ายที่สุดขอขอบพระคุณครอบครัว ผู้มีพระคุณ และเพื่อน ๆ ที่คอยให้กำลังใจ กำลังทรัพย์ในการทำวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

นางสาวยุวดี ศิลปาจารย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ค
กิตติกรรมประกาศ ..... จ
สารบัญ ..... ฉ
สารบัญรูป ..... ญ
สารบัญตาราง ..... ฏ
**บทที่ 1 บทนำ** ..... 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา ..... 1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย ..... 4
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย ..... 4
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ ..... 5
**บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง** ..... 6
2.1 จุลินทรีย์โพรไบโอติก (probiotics) ..... 6
2.1.1 ความหมายของจุลินทรีย์โพรไบโอติก ..... 6
2.1.2 ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก ..... 6
2.1.3 การทำงานและประโยชน์ของจุลินทรีย์โพรไบโอติก ..... 7
2.1.4 เชื้อแบคทีเรียแลคติก ..... 7
2.1.5 กรดแลคติก ..... 8
2.1.6 เชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus casei* 431 ..... 8
2.2 พรีไบโอติก (Prebiotic) ..... 9
2.3 ซินไบโอติก (Synbiotic) ..... 11
2.3.1 กระบวนการผลิตเครื่องดื่มซินไบโอติก ..... 11
2.4 การทำแห้งด้วยความเย็นเยือกแข็ง (Freeze-dry) ..... 11
2.5 มังคุด ..... 11
2.6 มันแกว ..... 13
2.7 สับปะรด ..... 15
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ..... 17
**บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย** ..... 20
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี .....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ (ต่อ)

**หน้า**


3.1.1 เชื้อจุลินทรีย์ ..... 20
3.1.2 วัตถุดิบ ..... 20
3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ ..... 20
3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง ..... 20
3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์ ..... 22
3.2 ขั้นตอนการดำเนินงาน ..... 22
3.2.1 การเตรียมวัตถุดิบ ..... 22
3.2.1.1 น้ำมังคุด ..... 23
3.2.1.2 น้ำมันแกว ..... 23
3.2.1.3 น้ำสับปะรด ..... 23
3.2.2 ศึกษาการเตรียมกล้าเชื้อ *L. casei* 431 ในน้ำผลไม้ชนิดต่าง ๆ ..... 23
3.2.3. ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการเตรียมกล้าเชื้อของ *L. casei* 431 ..... 23
3.2.4 ศึกษากระบวนการหมักน้ำมังคุดซินไบโอติกด้วยเชื้อ *L. casei* 431 ..... 25
3.2.4.1 เตรียมกล้าเชื้อ *L. casei* 431 ..... 25
3.2.5 ศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์น้ำมังคุดซินไบโอติก ..... 25
3.2.6 ศึกษาการผลิตน้ำมังคุดซินไบโอติกผง โดยการทำแห้งแบบความเย็นเยือกแข็ง (Freeze dry) ..... 25
3.2.7 การคืนรูปของผงน้ำมังคุดซินไบโอติก ..... 25
3.2.8 การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและทางเคมี ..... 25
3.2.8.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ..... 25
3.2.8.2 ปริมาณความชื้น (Moisture content) (AOAC) ..... 24
3.2.8.3 ปริมาณน้ำอิสระ (Water activity, $A_w$) ..... 25
3.2.8.4 ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก) ..... 27
3.2.8.5 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด โดยวิธีฟีนอล-ซัลฟูริก ..... 27
3.2.8.6 การวิเคราะห์กิจกรรมการดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH scavenging assay ..... 27
3.2.9 การวิเคราะห์ทางสถิติ ..... 29
**บทที่ 4 สรุปผลงานวิจัยและข้อเสนอแนะ** ..... 31


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ (ต่อ)

**หน้า**


4.1 ศึกษาการเตรียมกล้าเชื้อ *L. casei* 431 ในน้ำผลไม้ชนิดต่าง ๆ ..... 31
4.2 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการเตรียมกล้าเชื้อของ *L. casei* 431 ..... 31
4.3 ศึกษาปริมาณกล้าเชื้อของ *L. casei* 431 ในน้ำมังคุด ..... 33
4.4 ศึกษาอัตราส่วนของน้ำมังคุดในการหมักน้ำมังคุดซินไบโอติก ..... 31
4.4.1 คุณภาพทางเคมี ..... 31
4.4.1.1 ค่า pH และปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก) ..... 35
4.4.1.2 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ..... 38
4.4.1.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์การต้านสารอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Scavenging assay ..... 40
4.4.2 คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ ..... 41
4.4.2.1 การเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิต ..... 41
4.4.3 คุณภาพทางประสาทสัมผัส ..... 45
4.4.3.1 ด้านสี ..... 45
4.4.3.2 ด้านกลิ่น ..... 45
4.4.3.3 ด้านรสชาติ ..... 45
4.4.3.4 ความชอบโดยรวม ..... 46
4.5 ศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์น้ำมังคุดซินไบโอติก ..... 51
4.5.1 คุณภาพทางด้านเคมี ..... 51
4.5.1.1 ค่า pH และปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก) ..... 51
4.5.1.2 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ..... 51
4.5.1.3 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ..... 52
4.5.2 คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ ..... 52
4.5.2.1 การเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิต ..... 52
4.5.2.2 การทดสอบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นในระหว่างการเก็บรักษาน้ำมังคุดซินไบโอติก ..... 52
4.5.2.3 คุณภาพทางประสาทสัมผัส ..... 52
4.6 การศึกษาการทำผงแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze-dried) ..... 53
**บทที่ 5 สรุปผลงานวิจัยและข้อเสนอแนะ ..... 59**
5.1 สรุปผลงานวิจัย ..... 59


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ (ต่อ)

**หน้า**

5.2 ข้อเสนอแนะ..... 60
**เอกสารอ้างอิง**..... 61
**ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อ**..... 63
**ภาคผนวก ข กราฟมาตรฐาน** ..... 64
**ภาคผนวก ค การวิเคราะห์ทางด้านประสาทสัมผัส** ..... 67
**ประวัติผู้เขียน**..... 68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูป

**รูปที่** **หน้า**

2.1 รูปแบบโครงสร้างกรดแลคติกจากการหักเหของแสง..... 8
2.2 กระบวนการผลิตกรดแลคติกจากการสังเคราะห์ทางเคมี และจากการหมักของแบคทีเรีย..... 9
2.3 กระบวนการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นกรดแลคติกโดยเชื้อแบคทีเรีย..... 10
2.4 แสดงขั้นตอนการผลิตเครื่องดื่มซินไบโอติก..... 12
2.5 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและความดันในกระบวนการทำแห้งด้วยความเย็นเยือกแข็งของผลิตภัณฑ์อาหาร แปรผันกับระยะเวลา..... 12
2.6 ลักษณะมังคุดในแต่ละระยะ..... 14
2.7 ลักษณะมันแกวสายพันธุ์สะเภาแก้ว..... 15
2.8 ลักษณะสับปะรด สายพันธุ์ศรีราชา..... 17
4.1 การเจริญเติบโตของเชื้อ *L. casei* 431 ในน้ำมันแกว และอาหารเหลวสูตร MRS ในระยะเวลาต่าง ๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส..... 35
4.2 ค่า pH ของน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกว และน้ำสับปะรดอัตราส่วนที่แตกต่างกัน หมักด้วยเชื้อ *L. casei* 431 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 50 ชั่วโมง..... 37
4.3 ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก) ของน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรดอัตราส่วนที่แตกต่างกัน หมักด้วยเชื้อ *L. casei* 431 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 50 ชั่วโมง..... 38
4.4 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรดอัตราส่วนต่าง ๆ หมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 50 ชั่วโมง..... 39
4.5 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรด หมักด้วยเชื้อ *L. casei* 431 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 50 ชั่วโมง ..... 42
4.6 การเปลี่ยนแปลงจำนวนเชื้อโพรไบโอติกที่รอดชีวิตในน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรดอัตราส่วน ต่าง ๆ หมักด้วยเชื้อ *L. casei* 431 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 50 ชั่วโมง..... 44
4.7 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของเครื่องดื่มน้ำมังคุดซินไบโอติกที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน..... 55
4.8 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 นาโนเมตร และความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร)..... 64
4.9 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร และความเข้มข้นของกรดแกลลิก (µgGAE/ml) ..... 65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง

**ตารางที่** **หน้า**

3.1 อัตราส่วนของน้ำมังคุด: น้ำมันแกว: น้ำสับปะรดในการหมักน้ำมังคุดชินไบโอติก..... 24
4.1 การเจริญเติบโตของ *Lactobacillus casei* 431® ในน้ำผลไม้ บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง..... 32
4.2 การเจริญเติบโตของ *Lactobacillus casei* 431® ในน้ำแกว และอาหารเหลวสูตร MRS บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง..... 33
4.3 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมีและจุลินทรีย์ของน้ำมังคุด หมักด้วยกล้าเชื้อ *L. casei* 431 ปริมาณที่แตกต่างกัน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง..... 34
4.4 ค่าพีเอชของน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรดอัตราส่วนที่แตกต่างกัน หมักนาน 50 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส..... 36
4.5 ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก) ของน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรดในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน หมักนาน 50 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส..... 37
4.6 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรดในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน หมักด้วย *L. casei* 431 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 50 ชั่วโมง..... 39
4.7 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรดในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน หมักด้วย *L. casei* 431 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 50 ชั่วโมง..... 41
4.8 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรดในอัตราส่วนที่แตกต่าง กัน หมักด้วยเชื้อ *L. casei* 431 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 50 ชั่วโมง..... 42
4.9 การเปลี่ยนแปลงจำนวนเชื้อโพรไบโอติกที่รอดชีวิตในน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรด หมักด้วยเชื้อ *L. casei* 431 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 50 ชั่วโมง..... 44
4.10 คะแนนทางประสาทสัมผัส ด้านสีของน้ำมังคุด ผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรด หมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 50 ชั่วโมง..... 47
4.11 คะแนนทางประสาทสัมผัส ด้านกลิ่นของน้ำมังคุด ผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรด หมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 50 ชั่วโมง..... 48
4.12 คะแนนทางประสาทสัมผัส ด้านรสชาติของน้ำมังคุด ผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรด หมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 50 ชั่วโมง..... 49
4.13 แสดงคะแนนทางประสาทสัมผัส ด้านความชอบโดยรวม ของน้ำมังคุดหมักอัตราส่วนต่างๆ..... 50
4.14 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมี และจุลินทรีย์ระหว่างการเก็บรักษาน้ำมังคุดชินไบโอติกที่อุณหภูมิตู้เย็น (4 - 10 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 30 วัน..... 54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง (ต่อ)

**ตารางที่** **หน้า**

4.15 การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ และจุลินทรีย์ของผงน้ำมังคุดซินไบโอติก..... 57
4.16 คุณภาพทางเคมีและจุลินทรีย์ของน้ำมังคุดหมักผสมอินูลินความเข้มข้นร้อยละ 20 ก่อนและหลังการทำแห้งแบบเยือกแข็ง..... 58

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1

# บทนำ

## 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในช่วงทศวรรษที่ผ่านมา ประชากรส่วนใหญ่เริ่มหันมาสนใจเกี่ยวกับสุขภาพ เพื่อต้องการมีอายุที่ยืนยาวและแข็งแรง ปราศจากโรคภัยไข้เจ็บที่เกิดจากมลภาวะต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นบนโลก จึงเริ่มใส่ใจในการดำเนินชีวิตอย่างมีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะในด้านการบริโภคอาหารที่มีประโยชน์ในการต้านโรค รักษาโรค และกระตุ้นระบบต่าง ๆ ของร่างกาย ซึ่งอาหารที่ประเภทนี้ เรียกว่า อาหารฟังก์ชัน (Functional Food) ซึ่งเครื่องดื่มซินไบโอติกจัดเป็นหนึ่งในอาหารฟังก์ชัน โดยเครื่องดื่มซินไบโอติก (Synbiotic drinking) หมายถึง เครื่องดื่มที่เกิดจากกระบวนการทำงานและการรวมตัวกันของจุลินทรีย์โพรไบโอติก (probiotics) และสารอาหารพรีไบโอติก (prebiotics) ซึ่งมีอยู่ในผลิตภัณฑ์อาหารชนิดเดียวกัน ช่วยให้ระบบทางเดินอาหารของร่างกายทำงานได้ดีขึ้นและยังสามารถปรับสมดุลให้กับลำไส้ผู้บริโภค (Cruz *et al*., 2010) ทั้งนี้จุลินทรีย์โพรไบโอติก สามารถผลิตกรดแลคติกได้ โดยส่วนใหญ่พบในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ เช่น *Lactobacillus, Bifidobacterium, Lactococus, Streptococcus, Enterococcus* นอกจากนี้ยังมีเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มอื่น ๆ เช่น *Bacillus* และ ยีสต์บางชนิด (Guarner *et al*., 2011) จุลินทรีย์โพรไบโอติกจะทำหน้าที่ปรับสมดุลในกระบวนการการทำงานของระบบจุลินทรีย์ในร่างกาย (microbiota) โดยมีส่วนช่วยกำจัดเชื้อโรคที่เข้าสู่ร่างกาย ปรับความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหาร นอกจากนี้จุลินทรีย์โพรไบโอติกบางชนิดยังสามารถสังเคราะห์วิตามินบี เพื่อเพิ่มความแข็งแรงให้กับระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายและช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการดูดซึมวิตามิน เกลือแร่ กรดอินทรีย์ และกรดอะมิโนบางชนิดได้อีกด้วย (Lahtinen *et al*., 2012) ซึ่งการมีชีวิตรอดในระบบทางเดินอาหารของร่างกายมนุษย์เป็นคุณสมบัติที่สำคัญของจุลินทรีย์โพรไบโอติก (Cruz *et al*.,2010) สารอาหารพรีไบโอติก (prebiotics) หมายถึง สารอาหารของจุลินทรีย์โพรไบโอติก ซึ่งประกอบด้วยสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรต เช่น เซลลูโลส (cellulose) เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) เพคติน (pectins) กัม (gums) แลคตูโลส (lactulose) ซอยโอลิโกแซคคาไรด์ (soy oligosaccharides) อินูลิน (inulins) ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosaccharides) กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (galactooligosaccharides) ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (xylooligosaccharides) และ ไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ (isomaltooligosaccharides) เป็นต้น (Markowiak and Zewska, 2017) นอกจากนี้ผักและผลไม้บางชนิดที่มีส่วนประกอบของสารพรีไบโอติก เช่น มันแกว ซึ่งประกอบด้วย ไฟเบอร์ (Fiber) โอลิโกฟรุคโตส (Oligofructose) และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อินูลิน (Inulin) เป็นสารอาหารที่ไม่ถูกย่อยในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ มีส่วนช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ได้ดี (ปิ่นมณี, 2560) และสับปะรดมีส่วนประกอบของคาร์โบไฮเดรต เช่น ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ ซึ่งเป็นสารอาหารของจุลินทรีย์โพรไบโอติก (Nguyen *et al*., 2019) โดยสารอาหารพรีไบโอติกจะไม่ถูกย่อยโดยระบบทางเดินอาหาร ไม่ถูกดูดซับที่ลำไส้เล็ก แบคทีเรียบริเวณช่องปากไม่สามารถใช้เป็นแหล่งอาหารได้ แบคทีเรียบริเวณลำไส้สามารถใช้เป็นแหล่งอาหารได้ดี และ แบคทีเรียก่อโรคไม่สามารถใช้เป็นแหล่งอาหารได้ (Markowiak and Zewska, 2017) ซึ่งเครื่องดื่มซินไบโอติกสามารถประยุกต์ใช้น้ำผลไม้เหล่านี้ในการผลิตเป็นเครื่องดื่มชนิดนี้ได้ จึงมีความสนใจในการนำผลไม้ที่พบได้บ่อยตามฤดูกาลในประเทศไทย และมีรสชาติอร่อยเป็นที่นิยมของผู้บริโภคมาผลิตเป็นเครื่องดื่มซินไบโอติก คือ มังคุด มันแกว และสับปะรด ผลไม้ดังกล่าว มีประโยชน์มากมายในการส่งเสริมสุขภาพ มีราคาถูก หาวัตถุดิบได้ง่าย โดยมังคุด (Mangosteen) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Garcinia mangostana* L.ชื่อวงศ์ Clusaiceae เป็นพันธุ์ไม้ไม่ผลัดใบ อยู่ในแถบเขตร้อน เนื้อในผลมีสีขาวฉ่ำน้ำ รสชาติหวานอมเปรี้ยว (นภาวรรณ และคณะ, 2554) เป็นผลไม้ที่นิยมบริโภคสูง จากข้อมูลของการส่งออกในปี พ.ศ. 2555 มูลค่าการส่งออกมังคุดผลสด 2,874 ล้านบาท ปี 2556 มูลค่าการส่งออก 4,251 ล้านบาท และ ปี 2557 มูลค่าการส่งออก 4,781 ล้านบาท (Nongbua *et al*., 2018) ทั้งนี้มังคุดยังมีประโยชน์ต่อสุขภาพอีกมากมาย เช่น ต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งสายพันธุ์ปกติและสายพันธุ์ดื้อยาเพนนิซิลิน ต้านเชื้อรา ต้านการอักเสบจากการติดเชื้อ ต้านการเกิดออกซิเดชันของไขมัน ส่งผลในการช่วยลดการอุดตันของไขมันในเส้นเลือด ช่วยบรรเทาอาการแพ้ หรือ ภูมิแพ้ และช่วยยับยั้งเอนไซม์ของโรค HIV มีฤทธิ์ช่วยต้านสารที่เป็นพิษต่อพันธุกรรม เป็นสารต้านมะเร็ง ป้องกันการแข็งตัวของหลอดเลือด ปกป้องกล้ามเนื้อหัวใจ ลดอาการบวมน้ำ ยับยั้งอนุมูลอิสระ ช่วยลดความเสี่ยงจากการเกิดไขมันสะสม และป้องกันการสั่นที่ปลายประสาทจากโรคพาร์กินสัน มีฤทธิ์กดประสาทส่วนกลาง ทั้งยังช่วยเพิ่มความดันเลือด สร้างภูมิคุ้มกันให้แก่ร่างกาย และแก้อาการท้องเสีย ถ่ายเป็นมูกเลือด เป็นต้น (นภาวรรณ และคณะ, 2554) มันแกว (Yam Bean, Jicama) ชื่อวิทยาศาสตร์ *Pachyrhizus erosus* มันแกวเป็นพืชที่ได้รับความนิยมในการเพาะปลูก สำหรับประเทศไทยสายพันธุ์ที่นิยมปลูก มี 2 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์หัวใหญ่ และพันธุ์หัวเล็ก การใช้ประโยชน์จากมันแกว นิยมรับประทานส่วนหัวของมันแกว (รากแก้ว) เปลือกมีสีน้ำตาลอ่อนเนื้อภายในสีขาว ซึ่งคุณค่าทางโภชนาการของมันแกวอุดมไปด้วย โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต แคลเซียม ฟอสฟอรัส กรดอะมิโน วิตามินซี รวมไปถึงไฟเบอร์ ซึ่งมีส่วนประกอบของน้ำตาลโอลิโกฟรุคโตส และอินนูลิน (กรมส่งเสริมการเกษตร, 2554) จัดเป็นสารอาหารพรีไบโอติกที่ทนทานต่อระบบย่อยอาหาร และเชื้อโพรไบโอติกสามารถใช้ในการกระตุ้นการเจริญเติบโตได้ดี นอกจากนี้มันแกวยังมีประโยชน์ต่อร่างกาย ช่วยกระตุ้นระบบขับถ่าย ควบคุมน้ำตาลในเลือด เพิ่มภูมิคุ้มกัน บำรุงหัวใจ เพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยอาหาร ส่งเสริมสุขภาพกระดูก มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และเป็นตัวช่วยหนึ่งสำหรับผู้ต้องการลดน้ำหนัก เป็นต้น (ปิ่นมณี ขวัญเมือง, 2560) และสับปะรด (Pineapple) เป็นพืชในตระกูล Bromeliaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Ananas comosus* (L.) Merr จัดอยู่ในกลุ่มพืชใบเลี้ยงเดี่ยวเนื้อไม้อ่อน เนื้อผลมีสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เหลืองเข้ม รสหวานอมเปรี้ยว แกนและเนื้อกรอบกลิ่นหอมแรง เนื่องจากมีสารระเหย เช่น Acetaldehyde, Ethyl acetate, Acetone และ Isobutanol (สันติ และคณะ, 2020) ซึ่งน้ำของสับปะรดอุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการ เช่น คาร์โบไฮเดรต (carbohydrates) โปรตีน (proteins) วิตามินเอ (vitamin A) วิตามินเค (vitamin K) วิตามินซี (vitamin C) ไรโบฟลาวิน (riboflavin) ไนอะซิน (niacin) ไทอะมีน (thiamin) วิตามินบี 6 (vitamin B6) วิตามินบี 5 (pantothenic acid) โคลีน (choline) บีเทน (betaine) ไฟโตสเตอรอล (phytosterols) แคลเซียม (calcium) เหล็ก (iron) แมกนีเซียม (magnesium) ฟอสฟอรัส (phosphorous) โพแทสเซียม (potassium) โซเดียม (sodium) สังกะสี (zinc) ทองแดง (copper) และแมงกานีส (manganese) เป็นต้น (Nguyen *et al*., 2019) นอกจากนี้ผลสุกของสับปะรดยังมีประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์ เช่น ขับปัสสาวะ ขับเหงื่อ บำรุงกำลัง ช่วยย่อยอาหาร และช่วยละลายเสมหะในลำคอ (สันติ และคณะ, 2020) สับปะรดมีองค์ประกอบเป็นคาร์โบไฮเดรตกลุ่มที่ไม่ถูกย่อยในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ จึงสามารถนำมาใช้เป็นพรีไบโอติกได้ (Nguyen *et al*., 2019)

นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยพบว่าน้ำผลไม้สามารถผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มซินไบโอติกได้และมีประโยชน์ต่อสุขภาพมนุษย์ ยกตัวอย่างเช่น งานวิจัยของ Acevedo-Martinez (2015) ได้ทำการศึกษาการมีชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติกในน้ำมะม่วง (*Mangifera india* L. Cv) งานวิจัยชิ้นนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะประเมินการมีชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติก 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Lactobacillus casei Lactobacillus paracasei* และ *Lactobacillus rhamnosus* ในเครื่องดื่มน้ำมะม่วง ซึ่งเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากการศึกษานี้พบว่า *L. casei* เป็นสายพันธุ์ที่เหมาะสม และฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS) ความเข้มข้นร้อยละ 5 เป็นพรีไบโอติกที่สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อ และ *L. casei* สามารถผลิตกรดและมีผลในการเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอชสูง ภายหลังจากการทดลองเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่าผลิตภัณฑ์ยังมี สี กลิ่น และรสชาติคงเดิม และได้รับการยอมรับจากผู้บริโภค งานวิจัยของ Nyugen และคณะ (2019) ทำการศึกษาเครื่องดื่มโพรไบโอติกจากน้ำสับปะรดที่ทำการหมักด้วยเชื้อ *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* ศึกษาความเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บรักษาของทั้งสองสายพันธุ์ พบว่าจุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์สามารถเจริญเติบโตได้ดีในน้ำสับปะรดที่ไม่ได้เติมสารอาหารชนิดอื่น ภายหลังจากการหมัก 24 ชั่วโมง ตรวจพบจำนวนเซลล์ของ *Lactobacillus* จำนวน $5x10^9$ CFU/ml และ *Bifidobacterium* จำนวน $10^9$ CFU/ml น้ำตาลฟรุกโตสเป็นน้ำตาลที่เชื้อทั้งสองสายพันธุ์เจริญได้ดีมากกว่าน้ำตาลชนิดอื่น ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อยระหว่างกระบวนการหมัก และจะลดลงในช่วงการเก็บรักษา

ซึ่งงานวิจัยชิ้นนี้จึงมีความสนใจที่จะนำมังคุดที่ตกเกรดหรือมีคุณภาพต่ำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเครื่องดื่มซินไบโอติกที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค และเป็นการแปรรูปน้ำมังคุดในอีกรูปแบบหนึ่ง เป็นทางเลือกในการเพิ่มรายได้ให้กับเกษตรกร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) ศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อ *Lactobacillus casei* 431 ในน้ำผลไม้ เช่น น้ำมังคุด น้ำมันแกว และน้ำสับปะรด

2) ศึกษาการผลิตน้ำมังคุดซินไบโอติก ด้วยเชื้อ *Lactobacillus casei* 431 โดยการแปรผันอัตราส่วนน้ำมังคุด: น้ำมันแกว: น้ำสับปะรด ในอัตราส่วนต่าง ๆ และการแปรผันปริมาณกล้าเชื้อ *L. casei* 431 วิเคราะห์คุณภาพทางเคมี การมีชีวิตรอดของเชื้อโพรไบโอติก และทดสอบทางประสาทสัมผัส

3) คัดเลือกอัตราส่วนของน้ำมังคุดที่เหมาะสม และปริมาณกล้าเชื้อที่เหมาะสม นำมาผลิตน้ำมังคุดซินไบโอติก เพื่อผลิตเป็นเครื่องดื่มซินไบโอติก

4) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมี การมีชีวิตรอดของเชื้อโพรไบโอติก และทดสอบทางประสาทสัมผัสของน้ำมังคุดซินไบโอติกในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิของตู้เย็น (4-10 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 30 วัน

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1) ศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อ *Lactobacillus casei* 431 ในอาหารต่าง ๆ ดังนี้ อาหารสูตร MRS น้ำมังคุด น้ำมันแกว น้ำสับปะรด น้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรด

2) ศึกษาการผลิตน้ำมังคุดซินไบโอติก ด้วยเชื้อ *Lactobacillus casei* 431 แปรผันอัตราส่วนน้ำมังคุด: น้ำมันแกว:น้ำสับปะรด อัตราส่วนต่าง ๆ หมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 50 ชั่วโมง วิเคราะห์คุณภาพทางเคมี เช่น pH ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟีนอลลิกทั้งหมด และฤทธิ์การต้านสารอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH scavenging assay วัดสี L*,a*,b* การมีชีวิตรอดของจุลินทรีย์โพรไบโอติกและการทดสอบทางประสาทสัมผัส คัดเลือกอัตราส่วนของน้ำมังคุด: น้ำมันแกว: น้ำสับปะรด ที่เหมาะสม นำมาศึกษาปริมาณกล้าเชื้อ *L. casei* 431 ร้อยละ 10 20 และ 30 โดยปริมาตรของน้ำผลไม้ วิเคราะห์เช่นเดียวกับข้างต้น คัดเลือกปริมาณกล้าเชื้อที่เหมาะสม

3) ศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์น้ำมังคุดซินไบโอติกในอุณหภูมิของตู้เย็น (4 - 10 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 30 วัน วิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ คุณภาพทางเคมี การมีชีวิตรอดของจุลินทรีย์โพรไบโอติกและการทดสอบทางประสาทสัมผัส

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) สามารถผลิตน้ำมังคุดซินไบโอติกที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) การนำมังคุดที่มีคุณภาพและราคาต่ำมาแปรรูปเป็นเครื่องดื่มที่มีประโยชน์

3) สามารถสร้างช่องทางเพิ่มรายได้ให้กับเกษตรกร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 2
# ทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

## 2.1 จุลินทรีย์โพรไบโอติก (probiotics)

### 2.1.1 ความหมายของจุลินทรีย์โพรไบโอติก

เมื่อเราเกิดและได้สัมผัสกับอากาศและสภาพแวดล้อมที่ไม่สะอาด แบคทีเรียต่าง ๆ ในสภาพแวดล้อมจะเข้าสู่ร่างกายไปยังส่วนต่าง ๆ ซึ่งแบคทีเรียส่วนหนึ่งได้เข้าสู่บริเวณลำไส้ เกิดกิจกรรมทางชีวภาพ และมีการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวน จึงเรียกว่า จุลินทรีย์ในลำไส้ (Gut microbiota) ซึ่งจุลินทรีย์โพรไบโอติก (Probiotic) จัดเป็นส่วนหนึ่งของจุลินทรีย์ในลำไส้ (Nicoleta-Maricica Maftei, 2019) โดยคำว่าโพรไบโอติก (Probiotic) มาจากภาษากรีก (Greek) ที่แปลว่า เพื่อชีวิต (For life) ซึ่งจุลินทรีย์โพรไบโอติกถูกค้นพบตั้งแต่ก่อนสมัยคริสตกาล โดยการนำเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกกลุ่มที่สามารถสร้างกรดแลคติกได้มาหมักน้ำนมของสัตว์ต่าง ๆ เช่น วัว อูฐ ม้า ควาย และแกะ เป็นต้น ซึ่งในปัจจุบันองค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ (Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO), องค์การอนามัยโลก (World Health Organization, WHO) และหน่วยงานความปลอดภัยด้านอาหารแห่งสหภาพยุโรป (European Food Safety Authority, EFSA) ได้เสนอแนะข้อตกลงร่วมกันในการตั้งเกณฑ์และบทบาทหน้าที่ในการคัดเลือกจุลินทรีย์โพรไบโอติก ซึ่งจะต้องมีคุณลักษณะที่เกี่ยวข้องกับ จีนัส (genus) สายพันธุ์ (species) ดังนี้คือ ไม่มีความเกี่ยวข้องกับการก่อโรค ไม่มีประวัติเกี่ยวกับการดื้อยาปฏิชีวนะ และที่สำคัญจุลินทรีย์โพรไบโอติกจะต้องอยู่รอดได้ในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่พบได้มากในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ เช่น *Lactobacillus, Bifidobacterium, Lactococus, Streptococcus, Enterococcus*. นอกจากนี้ยังมีเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มอื่น เช่น *Bacillus* และยีสต์บางชนิด (Markowiak and Sli´Zewska, 2017)

### 2.1.2 ชนิดของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก

เมื่อคัดเลือกตามหลักเกณฑ์ข้างต้น พบว่ามีชนิดของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ผ่านการคัดเลือก เช่น เชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus acidophilus L. sporogenes, L. plantarum L. rhamnosus L. delbrueckii L. reuteri L. fermentum L. brevis L. casei L. farciminis L. paracasei L. gasseri L. crispatus Bifidobacterium bifidum B. infantis B. adolescentis B. longum B. thermophilum B. breve B. lactis Streptococcus lactis S. cremoris S. thermophilis S. diacetylactis Leuconostoc mesenteroides Pediococcus* spp., *Propionibacterium* spp., และ *Enterococcus faecium* ยีสต์บางชนิด เช่น *Saccharomyces*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*cerevisiae Candida pintolopesii* และ *Sacaromyces boulardii* ราบางชนิด เช่น *A. niger Aspergillus oryzae.* (Nicoleta-Maricica, 2019)

**2.1.3 การทำงานและประโยชน์ของจุลินทรีย์โพรไบโอติก**

การทำงานของจุลินทรีย์โพรไบโอติกจะไปช่วยปรับสมดุลของเชื้อจุลินทรีย์ในร่างกาย (microbiota) ให้มีความสมดุล โดยช่วยกำจัดเชื้อโรคที่เข้าสู่ร่างกาย เช่น *Clostridium perfringens Campylobacter jejuni Salmonella enteritidis Escherichia coli* เป็นต้น นอกจากนี้จุลินทรีย์โพรไบโอติกยังช่วยลดอาการภูมิแพ้ ป้องกันโรคฟันผุได้ และยังสามารถปรับความเป็นกรด-ด่างในระบบทางเดินอาหารให้สมดุล โดยจุลินทรีย์โพรไบโอติก *Lactobacillus plantarum L. reuteri Bifidobacterium adolescentis* และ *B. pseudocatenulatum* สามารถสังเคราะห์วิตามินบี (B1 B2 B3 B6 B8 B9 และ B12) ส่งผลให้ประสิทธิภาพของระบบภูมิคุ้มกันดีขึ้น ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการดูดซึมวิตามิน เกลือแร่ บางชนิดได้ สามารถกระตุ้นการสร้างกรดอินทรีย์ กรดอะมิโนบางชนิดได้ สามารถสร้างเอนไซม์บางชนิดได้ เช่น esterase lipase และ co-enzymes เป็นต้น และสามารถผลิตสารบางชนิดที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค สารยับยั้งมะเร็ง และสารเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันได้ (Markowiak and Sli´Zewska, 2017)

**2.1.4 เชื้อแบคทีเรียแลคติก**

แบคทีเรียแลคติก (Lactic acid bacteria) เป็นแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลคติกได้จากคาร์โบไฮเดรต ซึ่งมีบทบาทสำคัญเกี่ยวข้องกับด้านอาหาร ด้านการเกษตร และด้านการรักษาโรค โดยทั่วไปเชื้อแบคทีเรียแลคติกจะเป็นแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ มีลักษณะรูปร่างเป็นท่อน หรือกลม ส่วนใหญ่ชอบเจริญที่อุณหภูมิปานกลาง 30 - 45 องศาเซลเซียส (mesophilic) แต่ก็มีบางสายพันธุ์ที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิตู้เย็น (4 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิที่สูงถึง 45 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปจะเจริญในช่วงค่าพีเอช 4.0 - 4.5 แต่มีบางสายพันธุ์สามารถทนและเจริญได้ที่ค่าพีเอชที่สูงกว่า 9.0 และต่ำถึง 3.2 (Bamforth, 2005) แบคทีเรียแลคติกที่เกี่ยวข้องกับอาหารมี 12 สกุล คือ *Aerococcus Carnobacterium Enterococcus Tetrageonococcus Vagococcus Lactobacillus Pediococcus Leuconostoc Oenococcus Weissella Lactococcus* และ *Streptococcus* ที่พบได้มาก คือ *Lactobacillus Leuconostoc Pediococcus* และ *Streptococcus* ซึ่งเชื้อเหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการใช้น้ำตาลที่มีในอาหาร สร้างเป็นกรดอินทรีย์และสารอื่น ๆ ได้อย่างปลอดภัยกับผู้บริโภค (Lahtinen *et al.,* 2012) โดยกระบวนการหมักคาร์โบไฮเดรตของแบคทีเรียแลคติกมี 2 แบบ คือ 1) กระบวนการหมักคาร์โบไฮเดรตโดยแบคทีเรียแลคติกที่ให้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดแลคติกอย่างเดียว เรียกว่า Homofermentative 2) กระบวนการหมักคาร์โบไฮเดรตโดยแบคทีเรียแลคติกที่ให้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดแลคติก และผลิตภัณฑ์อื่น เช่น กรดอะซิติก เอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นต้น (Bamforth, 2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.1.5 เชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus casei* 431**

เชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus casei* 431® เป็นเชื้อทางการค้า อยู่ในไฟลัม (phylum) Firmicutes ชั้น (class) Bacilli อันดับ (order) Lactobacillales วงศ์ (family) Lactobacillaceae สกุล (Genus) *Lactobacillus* เป็นแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนเพียงเล็กน้อยเพื่อการเจริญเติบโต (microaerophilic) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีลักษณะเซลล์เป็นรูปท่อน (Rods) สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 10 แต่ไม่สามารถเจริญได้ที่ 45 องศาเซลเซียส สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 6.5 สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีค่าพีเอช (pH) 4.4 นอกจากนี้ยังเป็นเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลคติก และผลิตภัณฑ์ชนิดอื่นปะปนมาเล็กน้อย (Facultative heterofermentative) เช่น เอทานอล ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และกรดอะซิติก เป็นต้น จากน้ำตาลเพนโตส (pentose) และเฮกโซส (hexose) ซึ่งกรดแลคติกที่ผลิตได้จะอยู่ในรูปแบบ D L และ DL (Lahtinen *et al*., 2012)

**2.1.6 กรดแลคติก**

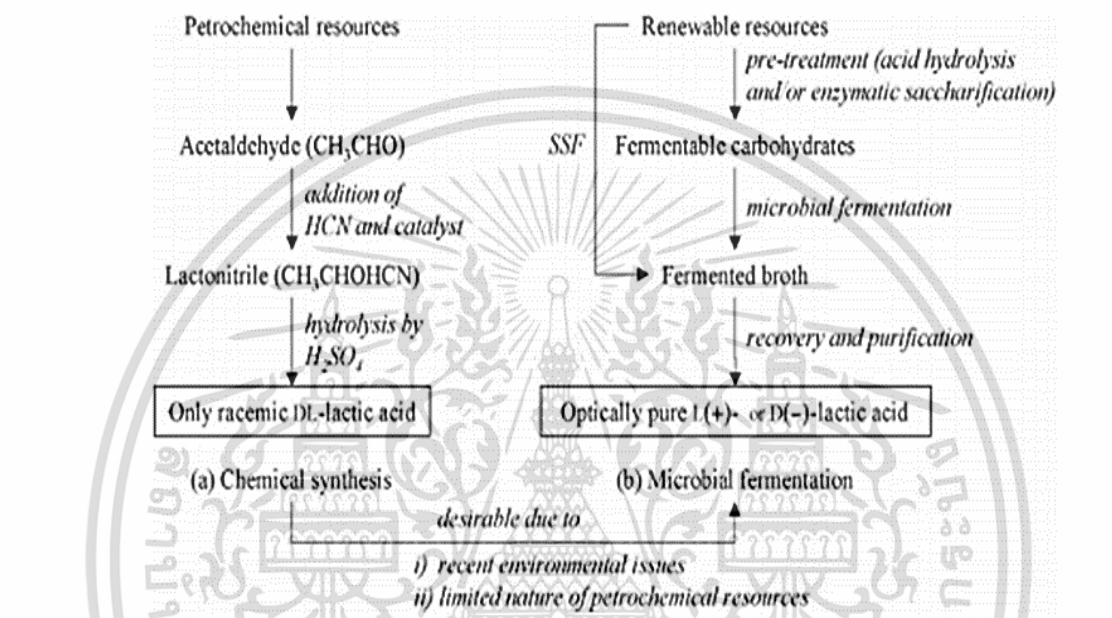
กรดแลคติก (lactic acid) เป็นกรดที่ถูกใช้อย่างแพร่หลาย เช่น อุตสาหกรรมอาหาร อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง การแพทย์และยารักษาโรค เป็นต้น ซึ่งกรดแลคติกมีชื่อเรียกตามสูตรเคมีว่า 2-hydroxypropanoic acid หรือ **α**-hydroxypropanoic acid โดยกรดแลคติกมีโครงสร้าง 2 แบบ แบ่งตามคุณสมบัติของการหักเหแสง คือ 1) L(+) levorotatory lactic acid และ D(-) dextrorotatory lactic acid ดังรูปที่ 2.1

**รูปที่ 2.1** รูปแบบโครงสร้างกรดแลคติกจากการหักเหของแสง
ที่มา: กนกวรรณ (2556)

กรดแลคติกเป็นกรดอินทรีย์ที่พบได้ในมนุษย์และสัตว์ โดยจะพบในรูปของ L(+) เท่านั้น เนื่องจากในร่างกายมนุษย์และสัตว์ไม่มีเอนไซม์ที่สามารถใช้กรดแลคติกรูปแบบ D(-) dextrorotatory lactic acid ได้ กรดแลคติกสามารถผลิตได้ 2 แบบ คือ 1) การสังเคราะห์ทางเคมี โดยผ่านวิถี lactonitrile สารตั้งต้น คือ hydrogen cyanide และ acetaldehyde จะได้ผลิตภัณฑ์เป็น lactonitrile จากนั้นนำมากลั่นและทำปฏิกิริยาจนได้เป็นกรดแลคติกที่มีโครงสร้างไอโซเมอร์รวมกันในรูป L(+) และ D(-) (กนกวรรณ, 2013) ดังรูปที่ 2.2 2) การหมักจากแบคทีเรีย โดยจะขึ้นกับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะการหมักน้ำตาลของกลุ่มแบคทีเรีย โดยกลุ่มที่ 1 คือ กลุ่มโฮโมแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (homo-lactic acid bacteria) เป็นกลุ่มที่สามารถเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นกรดแลคติกได้มากกว่าร้อยละ 80 ผ่านวิถีไกลโคไลซิส กลุ่มที่ 2 คือ กลุ่มเฮเทอโรแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (hetero-lactic acid bacteria) เป็นกลุ่มที่สามารถเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นกรดแลคติกได้ ร้อยละ 50 และได้เอทานอลและคาร์บอนไดออกไซด์ โดยผ่านวิถีฟอสโฟคีโตเลส ดังรูปที่ 2.3



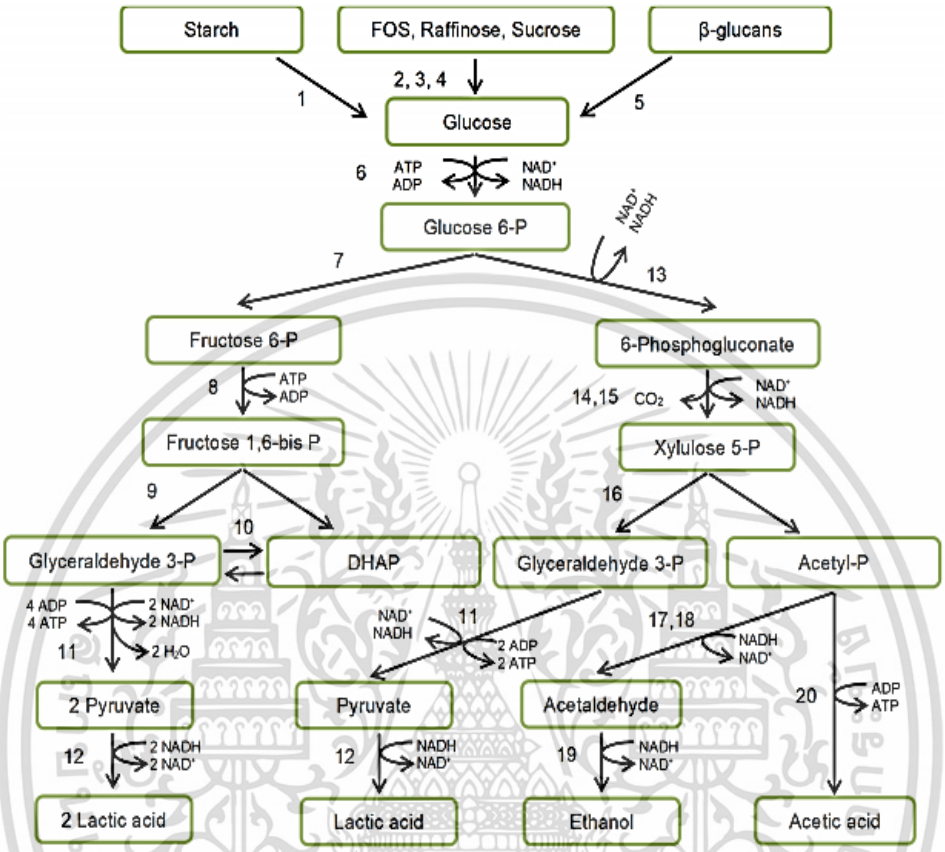

**รูปที่ 2.2** กระบวนการผลิตกรดแลคติกจากการสังเคราห์ทางเคมีและจากการหมักของแบคทีเรีย
ที่มา: Wee *et al*. (2006)

## 2.2 พรีไบโอติก (Prebiotic)

พรีไบโอติก (Prebiotic) คือ สารอาหารที่เชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกใช้ในการเจริญเติบโต โดยองค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ (Food and Agriculture Organization of the United Nations, FAO) และองค์การอนามัยโลก (World Health Organization, WHO) ได้กำหนดว่าพรีไบโอติก คือ ส่วนประกอบของอาหารที่ไม่สามารถเปลี่ยนแปลงรูปร่าง และมีประโยชน์ต่อสุขภาพของเจ้าบ้าน (host) พรีไบโอติกที่ต่างชนิดกันจะกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ที่ต่างสายพันธุ์กัน ขึ้นกับสภาวะที่แตกต่างกันในลำไส้ โดยเฉพาะค่าพีเอช (pH) จะมีผลต่อการแข่งขันกันในการใช้พรีไบโอติกของเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ ซึ่งพรีไบโอติกพบได้ง่ายใน ผัก ผลไม้ พืช ธัญพืช และสาหร่าย ที่มีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบ เช่น เซลลูโลส (cellulose) เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) เพคติน (pectins) กัม (gums) แลคทูโลส (lactulose) ซอยโอลิโกแซคคาไรด์ (soy oligosaccharides) อินนูลิน (inulins) ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosaccharides) กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (galactooligosaccharides) ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(xylooligosaccharides) และไอโซมอลโตโอลิโกแซคคาไรด์ (isomaltooligosaccharides) โดยพรีไบโอติกจะต้องมีคุณสมบัติดังนี้ ไม่ถูกย่อยโดยระบบทางเดินอาหาร (Markowiak and zewska, 2017)




**รูปที่ 2.3** กระบวนการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นกรดแลคติกโดยเชื้อแบคทีเรีย

ที่มา: Petrova (2020)

## 2.3 ซินไบโอติก (Synbiotic)

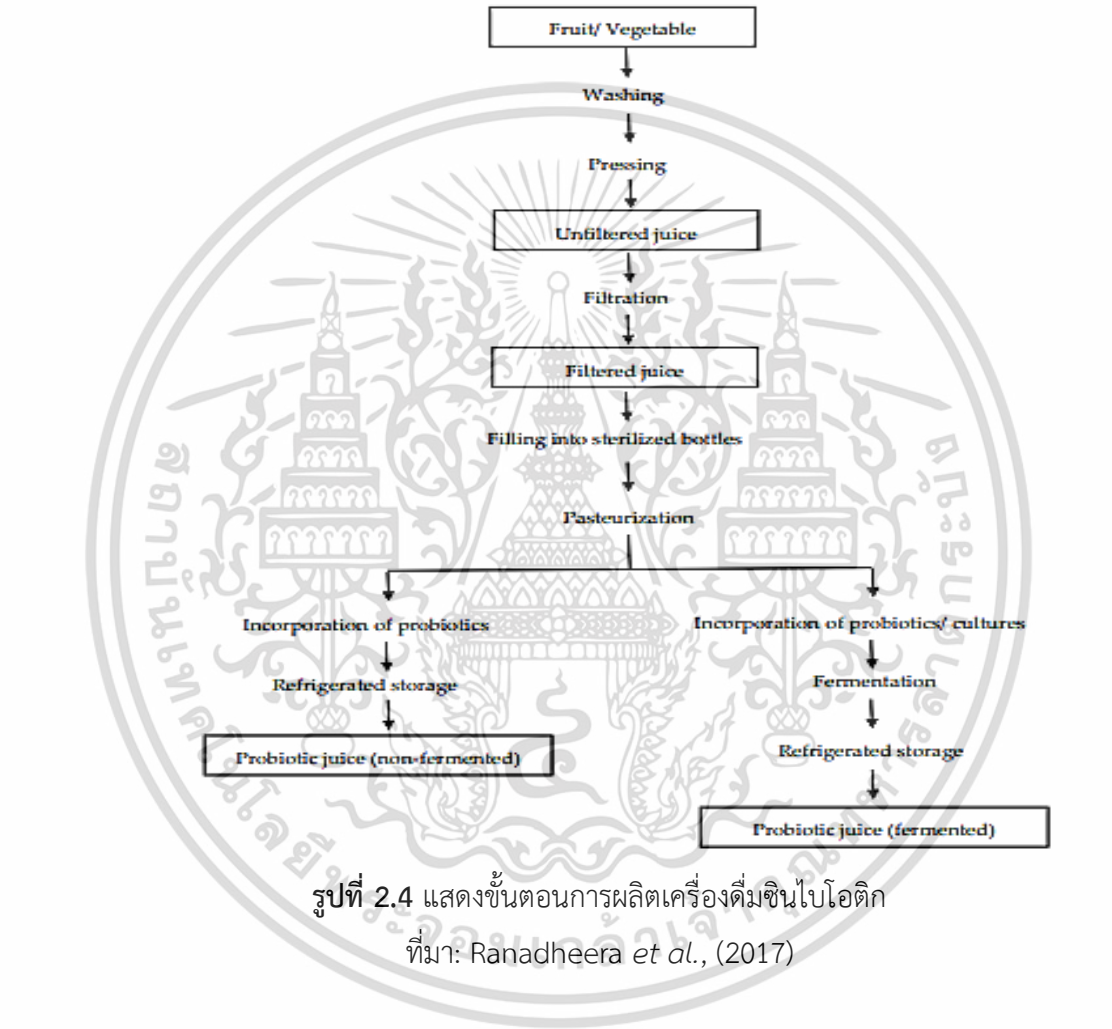
ซินไบโอติก (Synbiotic) คือ การอยู่ร่วมกันและการทำงานร่วมกันอย่างจำเพาะเจาะจงระหว่าง เชื้อจุลินทรีย์โพรโอติก (Probiotic) และสารอาหารพรีไบโอติก (Prebiotic) โดยซินไบโอติกมีประโยชน์ในด้านสุขภาพของมนุษย์ จึงมีการผลิตอาหารเสริมสุขภาพด้วยซินไบโอติก ซินไบโอติกที่มีผลดีต่อสุขภาพของเจ้าบ้าน (host) ขึ้นอยู่กับการคัดเลือกสายพันธุ์ที่จำเพาะของจุลินทรีย์โพรไบโอติกกับสารพรีไบโอติกที่ใช้ เช่น การใช้ *Bifidobacterium* หรือ *Lactobacillus* กับพรีไบโอติกประเภทฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosacharides) โดยการทำงานของซินไบโอติกมี 2 แบบ คือ 1) กระตุ้นการเจริญเติบโตของโพรไบโอติก 2) ส่งผลดีต่อสุขภาพ (Markowiak and zewska, 2017)

ซินไบโอติกมีประโยชน์ต่อสุขภาพผู้บริโภค ดังนี้คือ รักษาสมดุลจุลินทรีย์ในลำไส้ ปรับปรุงการทำงานของตับในผู้ป่วยโรคตับแข็ง สร้างภูมิคุ้มกัน ป้องกันการติดเชื้อจากแบคทีเรียบริเวณบาดแผล เป็นต้น (Markowiak and zewska, 2017)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.3.1 กระบวนการผลิตเครื่องดื่มซินไบโอติก

เครื่องดื่มซินไบโอติก คือ เครื่องดื่มที่มีส่วนประกอบที่สำคัญ คือ เชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก และสารอาหารพรีไบโอติก ซึ่งกระบวนการผลิตเครื่องดื่มซินไบโอติก เป็นกระบวนการแปรรูปวัตถุดิบ เช่น ผลไม้ ผัก เป็นต้น ซึ่งจัดว่าเป็นพรีไบโอติก นำมาคั้นแยกกากและน้ำออกจากกัน โดยจะนำส่วนน้ำมาฆ่าเชื้อในสภาวะที่เหมาะสม โดยไม่ทำลายคุณค่าทางอาหาร และคุณภาพของวัตถุดิบ จากนั้นเติมหัวเชื้อโพรไบโอติก ทำการหมักในเวลาที่เหมาะสม ดังรูปที่ 2.4




**รูปที่ 2.4** แสดงขั้นตอนการผลิตเครื่องดื่มซินไบโอติก
ที่มา: Ranadheera *et al.*, (2017)

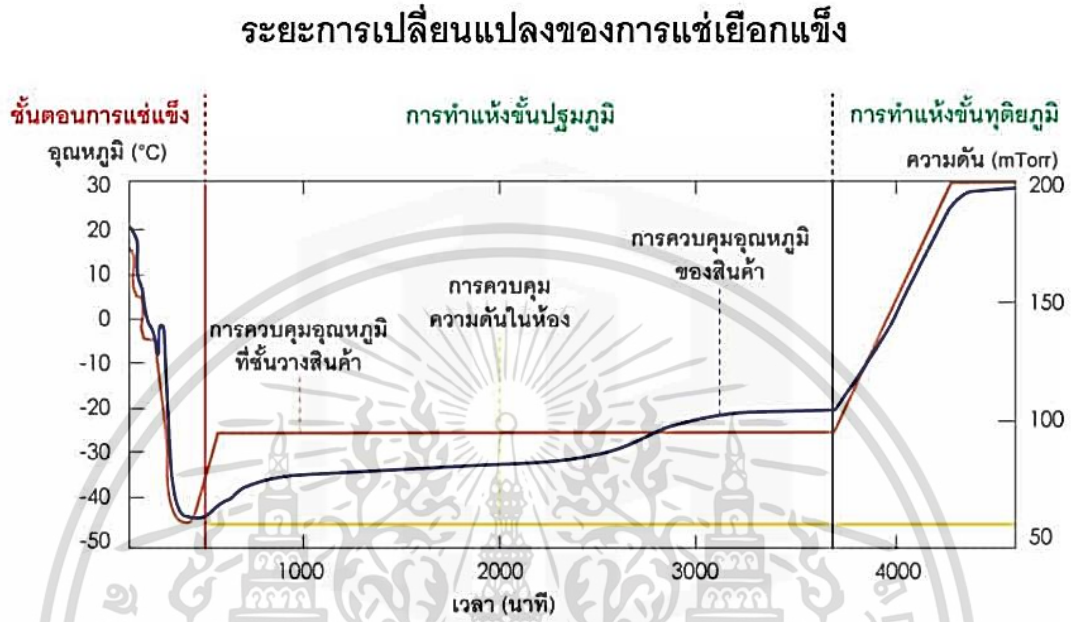
## 2.4 การทำแห้งด้วยความเย็นเยือกแข็ง (Freeze-dry)

กระบวนการแช่เยือกแข็งเป็นวิธีการแปรรูปเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารเป็นระยะเวลานานขึ้น และเป็นกระบวนการที่ลดการสูญเสียคุณภาพน้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับกระบวนการแปรรูปอื่น ๆ เช่น การอบแห้ง การฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ด้วยความร้อน และการหมัก เป็นต้น ซึ่งหลักการของการทำแห้งด้วยความเย็นเยือกแข็งมีดังนี้

เริ่มจากการให้ความเย็นผลิตภัณฑ์อาหารจนกระทั่งมีอุณหภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็ง เพื่อเข้าสู่กระบวนการทำแห้งขั้นปฐมภูมิ ซึ่งเป็นการลดปริมาณน้ำโดยการระเหิดผลึกน้ำแข็งในเซลล์ให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลายเป็นไอ โดยการลดความดันบรรยากาศให้อยู่ในระดับสุญญากาศ จากนั้นจึงเข้าสู่การทำแห้งขั้นปฐมภูมิ ซึ่งเป็นขั้นตอนในการดึงเอาความชื้นที่เหลืออยู่ออกจากผลิตภัณฑ์ ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์อาหารแห้ง และสามารถเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลานานยิ่งขึ้น (พิสิฐ, 2563)




**รูปภาพที่ 2.5** การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิและความดันในกระบวนการทำแห้งด้วยความเย็นเยือกแข็งของผลิตภัณฑ์อาหาร แปรผันกับระยะเวลา

ที่มา: https://www.harn.co.th

## 2.5 มังคุด

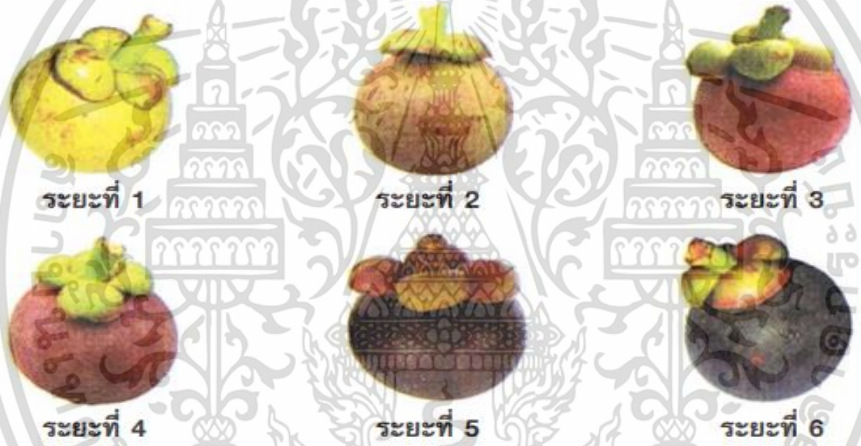
มังคุด (Mangosteen) เป็นผลไม้ที่มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Garcinia mangostana* L.ชื่อวงศ์ Clusaiceae เป็นพันธุ์ไม้ไม่ผลัดใบ อยู่ในแถบเขตร้อน ลำต้นสูง 7 - 25 เมตร มียางสีเหลือง ดอกผลออกที่ปลายกิ่ง ผลดิบมีสีเขียวจะเปลี่ยนเป็นสีม่วงแดงเมื่อผลสุก เปลือกค่อนข้างแข็งที่อุดมไปด้วยสารมากมาย เนื้อในผลมีสีขาวฉ่ำน้ำมีรสชาติหวานอมเปรี้ยว จะให้ผลเมื่ออายุต้น 7 ปี ซึ่งมังคุดมีประโยชน์ต่อสุขภาพมากมาย เช่น ต้านเชื้อแบคทีเรียทั้งสายพันธุ์ปกติและดื้อยาเพนนิซิลิน ต้านเชื้อรา ต้านการอักเสบจากการติดเชื้อ ต้านการออกซิเดชันของไขมัน ส่งผลให้ลดไขมันอุดตันในเส้นเลือด บรรเทาอาการแพ้ หรือภูมิแพ้ ยับยั้งเอนไซม์ของโรค HIV ต้านสารที่เป็นพิษต่อพันธุกรรม มีฤทธิ์ต้านมะเร็ง ป้องกันการแข็งตัวของหลอดเลือด ปกป้องกล้ามเนื้อหัวใจ ลดอาการบวมน้ำ ยับยั้งอนุมูลอิสระ ลดความเสี่ยงจากการเกิดไขมันสะสม ป้องกันการสั่นที่ปลายประสาทจากโรคพาร์กินสัน มีฤทธิ์กดประสาทส่วนกลางและช่วยเพิ่มความดันเลือด สร้างภูมิคุ้มกันให้แก่ร่างกาย และแก้อาการท้องเสีย ถ่ายเป็นมูกเลือด เป็นต้น (สำนักพัฒนาเกษตรกร กรมส่งเสริมการเกษตร, 2554)

มังคุดจัดเป็นผลไม้ที่ได้รับความนิยมสูงมากจากข้อมูลของการส่งออกในปี พ.ศ. 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีมูลค่าการส่งออกมังคุดผลสด 4,330.65 ล้านบาท ปี 2559 มีมูลค่าการส่งออก 4,274.11 ล้านบาท ปี 2560 มีมูลค่าการส่งออก 7,436.17 ล้านบาท ปี 2561 มีมูลค่าการส่งออก 7,271.20 ล้านบาท และ ปี 2562 มีมูลค่าการส่งออก 16,703.20 ล้านบาท จะเห็นได้ว่ามีอัตรามูลค่าการส่งออกเพิ่มขึ้นร้อยละ 38.14 (สำนักงานนโยบายและยุทธศาสตร์การค้า, 2563)

คุณภาพของผลมังคุดจะมีการแบ่งเป็น 3 ระดับ ดังนี้คือ ระดับที่ 1 คือ ชั้นคุณภาพ มังคุดชั้นนี้จะต้องมีลักษณะของผลที่ปราศจากตำหนิต่าง ๆ และรูปทรงจะต้องไม่ผิดรูป ระดับที่ 2 คือ ชั้นที่หนึ่ง มังคุดชั้นนี้อาจจะมีรอยตำหนิ สี และรูปทรงผิดไปเล็กน้อย และระดับที่ 3 คือ ชั้นที่สอง มังคุดชั้นนี้จะมีตำหนิมากกว่าชั้นที่หนึ่งมาก แต่ไม่มีผลต่อเนื้อด้านใน นอกจากนี้ยังมีมังคุดที่ไม่ผ่านในการคัดเลือกคุณภาพของระดับทั้ง 3 ระดับ จึงส่งผลให้มังคุดที่ไม่ผ่านเกณฑ์มีราคาค่อนข้างต่ำ และอาจจะจำหน่ายไม่ได้ ซึ่งระยะมังคุดที่มีลักษณะเหมาะแก่การรับประทานจะอยู่ที่ระยะที่ 6 ดังรูปที่ 2.5 ซึ่งเป็นระยะที่มีความสุกสำหรับรับประทาน และมีคุณภาพต่ำ ส่งผลให้มีราคาที่ต่ำเหมาะแก่การนำไปแปรรูปเพื่อเพิ่มมูลค่า (สำนักพัฒนาเกษตรกร กรมส่งเสริมการเกษตร, 2554)




**รูปที่ 2.6** ลักษณะมังคุดในแต่ละระยะ

ที่มา: สำนักพัฒนาเกษตรกร กรมส่งเสริมการเกษตร (2554)

## 2.6 มันแกว

มันแกว มีชื่อสามัญ คือ Yam Bean, Jicama ชื่อวิทยาศาสตร์ คือ *Pachyrhizus erosus* ชื่ออื่น ๆ เช่น มันเภา หัวถั่ว หัวแปะก๊วะ เครือเขา ขนถั่ว หัวถั่ว บังมันแกวลาว และมะคะตุ้ม เป็นต้น มันแกวที่ได้รับความนิยมในการเพาะปลูกมากในประเทศไทย มี 2 พันธุ์ คือ พันธุ์หัวใหญ่และพันธุ์หัวเล็ก นอกจากนี้อาจเรียกตามชื่อตามท้องที่ที่ปลูก เช่น มันแกวเพชรบุรี มันแกวลพบุรี มันแกวบ้านหมอ เป็นต้น ซึ่งจังหวัดมหาสารคามปลูกมันแกวมากที่สุด ส่วนภาคกลางจังหวัดที่ปลูกมาก ได้แก่ สระบุรี ลพบุรี ชลบุรี และสมุทรสาคร ตามลำดับ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือจังหวัดที่ปลูกมาก ได้แก่ มหาสารคาม หนองคาย ขอนแก่น และภาคเหนือปลูกไม่มากนักที่ จังหวัดนครสวรรค์ ลำปาง เชียงราย ส่วนภาคใต้ปลูกมันแกวน้อยกว่าภาคอื่น ๆ มีปลูกมากในจังหวัดสุราษฎร์ธานี ฤดูปลูกมันแกวชอบอากาศค่อนข้างร้อน มีฝนปานกลาง ในระยะต้นฝนถึงปลายฤดูฝน เพื่อเก็บหัวในฤดูแล้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนที่ใช้ประโยชน์ของมันแกว คือ หัวของมันแกว (รากแก้ว) เป็นส่วนที่ใช้รับประทานมีเปลือกสีน้ำตาลอ่อน ดังรูป 2.6 เนื้อภายในมีสีขาว เมื่อเคี้ยวรู้สึกกรอบรสหวานเล็กน้อย โดยทั่วไปจะรับประทานสด และสามารถนำไปประกอบอาหาร นอกจากนี้เศษของหัวใช้เลี้ยงสัตว์ ใบนำมาสับให้ละเอียดตากให้แห้งนำไปรองก้นหลุมปลูกพืชผักต่าง ๆ เพื่อป้องกันแมลงที่ทำลายส่วนพืชผักที่อยู่ในดินได้อีกด้วย

คุณค่าทางอาหารของมันแกว 100 กรัม ให้พลังงาน 37 กิโลแคลอรี ประกอบด้วยน้ำ 90.5 กรัม โปรตีน 0.9 กรัม ไขมัน 0.1 กรัม คาร์โบไฮเดรต 8.2 กรัม แคลเซียม 9 มิลลิกรัม ฟอสฟอรัส 16 มิลลิกรัม เหล็ก 0.5 มิลลิกรัม ไทอะมิน 0.03 มิลลิกรัม ไนอะซิน 3.0 มิลลิกรัม และวิตามินซี 9 มิลลิกรัม รสหวานของมันแกวนั้นมาจากน้ำตาลโอลิโกฟรุคโตส (oligofructose) นอกจากนี้มันแกวยังอุดมไปด้วยกรดอะมิโนที่สำคัญหลายชนิด เช่น อะลานีน อาร์จีนีน กรดแอสปาร์ติก กรดกลูตามิก ไกลซีน ฮีสติดีน ไอโซลิวซีน ลิวซีน เมทไธโอนีน เป็นต้น มันแกวมีไฟเบอร์ที่จัดเป็นสารอาหารพรีไบโอติก เนื่องจาก มีโอลิโกฟรุคโตส อินนูลิน (inulin) เป็นองค์ประกอบ เป็นสารอาหารที่ไม่ถูกย่อยในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ และช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ได้ (ปิ่นมณี, 2560)

**รูปที่ 2.7** ลักษณะมันแกวสายพันธุ์สะเภาแก้ว

## 2.7 สับปะรด

สับปะรด (Pineapple) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Ananas comosus* (L.) Merr. เป็นพืชในตระกูล Bromeliaceae จัดอยู่ในกลุ่มพืชใบเลี้ยงเดี่ยวมีเนื้อไม้อ่อน อายุการเจริญต่อเนื่องนานหลายปี สามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาพอากาศร้อน ทนสภาพแห้งแล้ง ปลูกได้ในดินทั่วไปไม่ชอบดินที่มีความชื้นสูง ลักษณะทรงต้นของสับปะรดเป็นแบบ rosette มีปล้องหรือข้อสั้นชิดกัน ใบสับปะรดจะเวียนและเบียดกันแน่นกระชับรอบต้น ออกดอกเป็นช่อที่ส่วนยอดของลำต้น ตาที่ลำต้นจะมีการพัฒนาเป็นหน่อใหม่ต่อไป สับปะรดมีการจำแนกพันธุ์ออกเป็น 5 กลุ่มได้แก่ ไคยีน (Cayenne) ควีน (Queen)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สเปน (Spanish) เพอนัมบูโค (Pernambuco) และโมดิโลน่า (Mordilona) โดยกลุ่มที่จัดว่ามีบทบาทสำคัญทางการค้ามี 3 กลุ่มคือ

1) กลุ่มไคยีน (Cayenne) มีลักษณะขอบใบเรียบมีหนามเพียงเล็กน้อยที่ส่วนปลายใบ จำนวนใบประมาณ 80 ใบ สีเขียวเข้มด้านบนเป็นมันและมักมีเหลือบสีแดงในฤดูที่มีแสงแดดจัด ด้านล่างใบมีไขลักษณะเป็นขนสีเทาเงินปกคลุมอยู่ทั่วไปผลมีขนาดเฉลี่ย 1.0 - 2.5 กิโลกรัม ทรงกระบอกส่วนปลายมักจะเรียวเล็กกว่าส่วนโคน เปลือกผลจะมีสีเขียวเข้มและเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเมื่อผลสุก ตาตื้นเนื้อสีเหลืองมีปริมาณกรดและน้ำตาลค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับสับปะรดในกลุ่มอื่น โดยเฉลี่ยมีปริมาณกรด 0.3 - 0.7 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณน้ำตาล 12 - 16 บริกซ์ พันธุ์สับปะรดในกลุ่มนี้ ได้แก่ Smooth Cayenne หรือ พันธุ์ปัตตาเวีย พันธุ์ศรีราชา พันธุ์ห้วยมุ่น พันธุ์นางแล และพันธุ์ MD2 หรือที่มีชื่อเรียกทางการค้าอื่น ๆ เช่น พันธุ์เหลืองสามร้อยยอดหรือพันธุ์หอมสุวรรณ

2) กลุ่มควีน (Queen) ลักษณะขอบใบมีหนามเรียงชิดติดกันตลอดความยาวของใบ สีเขียวอ่อน มีแถบสีชมพูบริเวณกลางใบ ผลมีขนาดประมาณ 1 กิโลกรัม ทรงกระบอก ตานูน เปลือกหนา เปลือกผลสีเขียวปนเทาเมื่อสุกเปลือกจะมีสีเหลือง เนื้อผลสีเหลืองเข้ม รสหวานอมเปรี้ยว แกนและเนื้อกรอบมีกลิ่นหอมแรง มีการแตกหน่อมาก พันธุ์สับปะรดกลุ่มนี้ ได้แก่ พันธุ์ภูเก็ต พันธุ์ตราดสีทอง พันธุ์ภูแล (Mauritius Pine, Ceylon, Malecca Queen)

3) กลุ่มสเปน (Spanish) ลักษณะใบแผ่ออกไม่ค่อยมีร่องกลางใบ ขอบใบมีหนามแหลมรูปโค้งงอ ผลมีรูปร่างกลมน้ำหนักเฉลี่ย 1.0 - 1.5กิโลกรัม ตานูน ขนาดของตาใหญ่กว่าพวก ไคยีน (Cayenne) เนื้อในมีสีเหลืองซีดมีปริมาณเยื่อใยสูง แกนผลเหนียว กลิ่นหอมแรงและรสหวานอมเปรี้ยว พันธุ์สับปะรดที่ปลูกในประเทศไทย ได้แก่ พันธุ์อินทรชิตแดง และพันธุ์อินทรชิตขาว สายพันธุ์สับปะรดที่นิยมปลูกเพื่อผลิตในเชิงการค้าของประเทศไทย ได้แก่

1) พันธุ์ปัตตาเวีย (Smooth Cayenne) มีการกระจายพันธุ์และตั้งชื่อตามแหล่งปลูกต่าง ๆ เช่น สับปะรดศรีราชา สับปะรดปราณบุรี สับปะรดกัลกัตตา สับปะรดสามร้อยยอด สับปะรดห้วยมุ่น สับปะรดนางแล สับปะรดน้ำผึ้ง เป็นต้น เป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกเพื่อส่งโรงงานแปรรูปสับปะรดมากกว่าบริโภคผลสด แหล่งปลูกสำคัญในประเทศได้แก่ ประจวบคีรีขันธ์ เพชรบุรีกาญจนบุรี ชลบุรี ระยอง เชียงราย อุตรดิตถ์ พิษณุโลก และลำปาง แสดงดังรูปที่ 2.7

2) พันธุ์ภูเก็ตหรือสวี (Mauritius Pine, Ceylon, Malecca Queen) มีการกระจายพันธุ์และตั้งชื่อตามแหล่งปลูกต่าง ๆ เช่น ตราดสีทอง ภูแล รสชาติหวานกรอบ กลิ่นหอม ทำให้มีการผลิตเพื่อการบริโภคผลสดเป็นหลัก ปลูกกันมากในจังหวัดภูเก็ต ตราด ระยอง ชุมพร และเชียงราย

3) พันธุ์อินทรชิต เป็นสับปะรดพันธุ์พื้นเมืองของไทยจำแนกเป็น 2 สายพันธุ์ คือ อินทรชิตแดง (Singapore Spanish) ผิวใบและผิวผลจะมีสีแดงปนน้ำตาล และอินทรชิตขาว (Selangor Green, Green Spanish) อยู่ในกลุ่ม Spanish ผิวใบและผิวผลจะมีสีเขียวปนเหลือง นิยมปลูกมากที่อำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4) พันธุ์ MD2 เป็นสับปะรดที่เหมาะต่อการบริโภคผลสดมีศักยภาพในการส่งออก มีการกระจายพันธุ์และตั้งชื่อเชิงการค้า เช่น พันธุ์เหลืองสามร้อยยอด พันธุ์หอมสุวรรณ มีการปลูกในระบบอุตสาหกรรมส่งออกในแถบจังหวัดประจวบคีรีขันธ์ พันธุ์เพชรบุรี มีการพัฒนาพันธุ์ที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาเพชรบุรี เป็นสับปะรดที่มีลักษณะเนื้อผลที่สามารถใช้มือแกะแยกออกจากกันได้จึงมีการตั้งชื่อว่าพันธุ์ฉีกตา มีแหล่งปลูกที่สำคัญในจังหวัดเพชรบุรีและประจวบคีรีขันธ์ (สันติ และคณะ, 2020)

คุณค่าด้านอาหารของสับปะรดนอกจากมีแร่ธาตุและวิตามินที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายยังมีส่วนประกอบของสารเคมีที่สำคัญเป็นประโยชน์ เช่น โปรตีน สารโบมีเลน และเอนไซม์ต่าง ๆ เช่น Peroxidase Amylase Proteinase นอกจากนี้ในผลสับปะรดยังมีสารระเหยให้กลิ่นรส เช่น Acetaldehyde Ethyl acetate Acetone และ Isobutanol เป็นต้น ซึ่งส่งผลให้สับปะรดมีสรรพคุณในด้านการป้องกันรักษาโรคต่าง ๆ เช่น ราก สามารถแก้นิ่ว แก้กระษัย ขับปัสสาวะ ทำให้ไตมีสุขภาพดี แก้หนองใน แก้ขัดข้อได้ ส่วนของใบสดสามารถใช้เป็นยาถ่าย ฆ่าพยาธิในท้องได้ ผลดิบนั้นใช้ห้ามเลือด แก้โรคทางเดินปัสสาวะ ฆ่าพยาธิ และขับระดู ผลสุกช่วยขับปัสสาวะ ขับเหงื่อ และบำรุงกำลัง ช่วยย่อยอาหาร ขับเสมหะในลำคอ นอกจากนี้ส่วนของแกนผล เปลือก และจุกยังสามารถขับปัสสาวะ แก้กระษัย ทำให้ไตมีสุขภาพดี แก้นิ่ว แก้หนองใน ระดูขาวได้ เป็นต้น (สันติ และคณะ, 2020) ซึ่งสับปะรดมีองค์ประกอบเป็นคาร์โบไฮเดรตกลุ่มที่ไม่ถูกย่อยในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์จึงสามารถนำมาใช้เป็นพรีไบโอติกได้ (Nguyen *et al*., 2019)

**รูปที่ 2.8** ลักษณะสับปะรด สายพันธุ์ศรีราชา

**2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**

Ellendersen *et al*., (2012) ได้พัฒนาเครื่องดื่มโพรไบโอติกจากน้ำแอปเปิลด้วยเชื้อ *Lactobacillus casei* ซึ่งวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อต้องการพัฒนา และศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำแอปเปิลโพรไบโอติกด้วยเชื้อ *Lactobacillus casei* และ *Lactobacillus acidophilus* ในการทดลองใช้ แอปเปิล 2 สายพันธุ์ คือ ฟูจิ (Fuji) และกาล่า (Gala) ที่มีค่าพีเอชที่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเครื่องดื่มโพรไบโอติกน้ำแอปเปิ้ลใช้ response surface methodology (RSM) พบว่า การหมักในน้ำแอปเปิลพันธุ์กาล่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 ชั่วโมง จะเป็นที่ยอมรับ มีสีคาราเมล มีกลิ่นแอปเปิ้ล และมีรสชาติเปรี้ยว จากการเก็บรักษาน้ำแอปเปิ้ลโพรไบโอติกที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน น้ำแอปเปิลโพรไบโอติกมีความหนืดและรสชาติเปรี้ยว ได้รับคะแนนการยอมรับจากผู้บริโภค ร้อยละ 96

Acevedo-Martinez (2015) ศึกษาการมีชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติกในน้ำมะม่วง (*Mangifera india* L. Cv) ในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะประเมินการมีชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติก 3 สายพันธุ์ คือ *Lactobacillus casei* *Lactobacillus paracasei* และ *Lactobacillus rhamnosus* ในเครื่องดื่มมะม่วง ซึ่งเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีการทดลอง 3 หัวข้อ คือ ศึกษาความสามารถทนกรดของแต่ละสายพันธุ์ คัดเลือกพรีไบโอติกที่จะนำมาใช้ในการป้องกันเซลล์จากสิ่งแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม และประเมินคุณภาพทางกายภาพและทางเคมี รวมทั้งทดสอบทางประสาทสัมผัสในระหว่างการเก็บรักษา จากการศึกษาพบว่า *L. casei* เป็นสายพันธุ์ที่เหมาะสม และ ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS) ความเข้มข้นร้อยละ 5 เป็นพรีไบโอติกที่สามารถกระตุ้นการเจริญของเชื้อ และ *L. casei* ผลิตกรดและมีการเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอชสูง ภายหลังการเก็บรักษา 1 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ผลิตภัณฑ์ยังมีรสชาติดีและได้รับการยอมรับจากผู้บริโภค

Gamage *et al*., (2016) ศึกษาการพัฒนาเครื่องดื่มโพรไบโอติกจากน้ำบีทรูทโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus casei* 431 หมักเป็นเวลา 2 4 และ 6 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จากการทดสอบ ทางประสาทสัมผัสพบว่า เครื่องดื่มที่หมักเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ให้คะแนนการยอมรับสูงสุด และภายหลังการเก็บรักษา 4 สัปดาห์ จะมีจำนวนเซลล์โพรไบโอติก $10^8$ CFU/ml จากการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าสามารถผลิตเครื่องดื่มซินไบโอติกจากบีทรูท

Shukla and Kushwaha (2017) พัฒนาเครื่องดื่มโพรไบโอติกจากเวย์และน้ำส้ม วิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและเคมี และศึกษาอายุการเก็บรักษา เครื่องดื่มโพรไบโอติก เตรียมโดยผสมเวย์และน้ำส้มในอัตราส่วนต่างๆดังนี้ 80 : 20 75 : 25 70 : 30 65 : 35 และ 50 : 50 เติมเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* และ *Bifidobacterium bifidium* ร้อยละ 1.0 หมักเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าอัตราส่วน 65 : 35 หมักเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะให้กลิ่นรสที่ดี มีคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสสูง และมีจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตของ *L. acidophilus* และ *B. bifidium* ในปริมาณสูง การหมักด้วยเชื้อ *B. bifidium* จะให้ผลที่ดีกว่าการหมักด้วยเชื้อ *L. acidophilus* เล็กน้อย และไม่แตกต่างทางสถิติ

Liu *et al*., (2018) ได้ศึกษาประโยชน์ของน้ำมะเขือเทศที่หมักโดยเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* และ *Lactobacillus casei* เพื่อผลิตนวัตกรรมเครื่องดื่มโพรไบโอติกที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพสูง ซึ่งจะทำการวัดระดับของไลโคปีน ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมด กรดแอสคอร์บิก ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารระเหยทั้งหมด ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ABTS และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

FRAP และตรวจเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* รวมทั้งการยับยั้งของปฏิกิริยาออกซิเดชันของคอเลสเตอรอลชนิด LDL ผลการวิจัยพบว่า การยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระวิเคราะห์จากวิธี ABTS DPPH FRAP และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของคอเลสเตอรอล ชนิด LDL ช้าลงอย่างเห็นได้ชัดหลังจากเติมน้ำหมักลงไป รวมทั้งสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *Escherichia coli* ในหลอดทดลองเพิ่มขึ้น การหมักด้วย *Lactobacillus plantarum* และ *Lactobacillus casei* สามารถใช้ปรับเปลี่ยนรสชาติของน้ำมะเขือเทศได้

Nyugen *et al*., (2019) ศึกษาเครื่องดื่มโพรไบโอติกจากน้ำสับปะรดที่หมักด้วยเชื้อ *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* ศึกษาการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บรักษา ทั้ง 2 สายพันธุ์สามารถเจริญได้ดีในน้ำสับปะรดที่ไม่ได้เติมสารอาหารชนิดอื่น ภายหลังการหมัก 24 ชั่วโมง ตรวจพบจำนวนเซลล์ของ *Lactobacillus* มีจำนวน $5x10^9$ CFU/ml และ *Bifidobacterium* มีจำนวน $10^9$ CFU/ml ความสามารถในการเพิ่มจำนวนของ *L. plantarum* 299 V มีค่าสูงสุดอยู่ที่ $3.5x10^8$ CFU/ml.h น้ำตาลฟรุกโตสเป็นน้ำตาลที่เชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์นี้เจริญดีมากกว่าน้ำตาลชนิดอื่น ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ จะเพิ่มขึ้นเล็กน้อยระหว่างกระบวนการหมักและจะลดลงในช่วงการเก็บรักษา จากการทดลองนี้สามารถนำน้ำสับปะรดมาผลิตเป็นเครื่องดื่มโพรไบโอติกได้

Gao *et al., (*2019) ได้ทำการพัฒนาเครื่องดื่มโพรไบโอติก โดยการหมักแป้งสาเกด้วยเชื้อผสมระหว่าง *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactobacillus plantarum* DPC 206 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมของการผลิตเครื่องดื่มโพรไบโอติกนี้คือ การใช้แป้งสาเกร้อยละ 7 น้ำหนักต่อปริมาตร หัวเชื้อร้อยละ 1 ปริมาตรต่อปริมาตร และน้ำตาลร้อยละ 15 น้ำหนักต่อปริมาตร หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 3
# วิธีการดำเนินงานวิจัย

## 3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

### 3.1.1 เชื้อจุลินทรีย์

เชื้อ *Lactobacillus casei* 431® ซึ่งเป็นแบคทีเรียโพรไบโอติกทางการค้า (Chr. Hansen, Hoersholm, Denmark.)

### 3.1.2 วัตถุดิบ

3.1.2.1 ผลมังคุดสุก (จากจังหวัดจันทบุรี ช่วงเดือน สิงหาคม พ.ศ. 2563)

3.1.2.2 ผลมันแกวสายพันธุ์สะเภาแก้ว (จาก สวน ส. สุนันไร่เกษตร-มันแกว อำเภอกุดจับ จังหวัดอุบลราชธานี ช่วงเดือนตุลาคม ปี พ.ศ. 2563)

3.1.2.3 ผลสับปะรดสายพันธุ์ศรีราชา (จากอำเภอศรีราชา จังหวัดชลบุรี ช่วงเดือนกันยายน พ.ศ. 2563)

3.1.2.4 น้ำตาลซูโครส (น้ำตาลทรายขาว มิตรผล)

### 3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

3.1.3.1 อาหารสูตร De Man Rogosa and Sharpe (*Lactobacillus* MRS agar, Himedia, India)

3.1.3.2 อาหารสูตร Rapid Yeast and Mold Count Plate (3M Petrifilm, Canada)

3.1.3.3 อาหารสูตร *E. coli/Coliform* Count Plate (3M Petrifilm, Canada)

### 3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3.1.4.1 สารละลายโซเดียมคลอไรด์ (Sodium Chloride)

3.1.4.2 กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid)

3.1.4.3 โพแทสเซียมคลอไรด์ (Potassium Chloride)

3.1.4.4 โซเดียมไบคาร์บอเนต (Sodium bicarbonate)

3.1.4.5 ผงวุ้น (Agar)

3.1.4.6 น้ำกลั่น (Distilled water)

3.1.4.7 เอทานอล ร้อยละ 70 และร้อยละ 95 (Ethanol 70% and 95%)

3.1.4.8 เอทานอลบริสุทธิ์ ร้อยละ 99.8 (Absolute Ethanol 99.8%)

3.1.4.9 ไอโอดีน (Iodin

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.4.10 สีคริสตัลไวโอเลต (Gram crystal violet)

3.1.4.11 สีซาฟรานิน (Gram safranin O)

3.1.4.12 สารละลายมาตรฐานกลูโคส (Glucose)

3.1.4.13 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide)

3.1.4.14 ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein)

3.1.4.15 สารละลาย DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl)

3.1.4.16 Folin-Ciocalteu reagent

3.1.4.17 โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate)

3.1.4.18 กรดแกลลิก (Gallic acid)

3.1.4.19 ฟีนอล (Phenol)

3.1.4.20 กรดซัลฟูริก (Sulfuric acid)

3.1.4.21 น้ำบริสุทธิ์ (Ultrapure water)

3.1.4.22 โพแทสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลต (Potassium hydrogen phthalate)

3.1.4.23 เปปโตน (Peptone)

**3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์**

3.1.5.1 ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) (Memmert, INB 500, Germany)

3.1.5.2 เครื่องชั่งน้ำหนักสี่ตำแหน่ง (Balance) (Sartorius, TE 214S, Germany)

3.1.5.3 เครื่อง UV-Spectrophotometer (Shimadzu, UV-1800, Japan)

3.1.5.4 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (Eppendorf Master cycler ep Gradient, Germany)

3.1.5.5 ตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส (SANYO, Japan)

3.1.5.6 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) (Memmert, IN 110, Germany)

3.1.5.7 เครื่อง Vortex (SI Genie 2, United States)

3.1.5.8 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) (Hermle Z 383 K, United States)

3.1.5.9 เครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท (Microplate reader) (Mettler Toledo FLUO Star Omega, United States)

3.1.5.10 ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar flow) (Telstar Bio II Advance, United States of America)

3.1.5.11 หม้อนึ่งอัดไอ (Autoclave) (TOMY, ES-315, Japan)

3.1.5.12 โถดูดความชื้น (Desiccator)

3.1.5.13 ขวดดูแรนขนาด 250 500 และ 1000 มิลลิลิตร (Duran)

3.1.5.14 ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร (Erlenmeyer flask)

3.1.5.15 บีกเกอร์ขนาด 500 และ 1000 มิลลิลิตร (Beaker)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.5.16 หลอดทดลองขนาด 15 มิลลิลิตร (Test tube)

3.1.5.17 จานเพาะเชื้อ (Petri dish)

3.1.5.18 กระบอกตวงขนาด 30 100 และ 1000 มิลลิลิตร (Cylinder)

3.1.5.19 แท่งแก้วคนสาร (Stirring Rod)

3.1.5.20 แท่งแก้วเกลี่ยเชื้อ (Spreader glass)

3.1.5.21 ขวดแก้วเล็ก (Vial)

3.1.5.22 ลวดเขี่ยเชื้อ (Loop)

3.1.5.23 หลอดปั่นเหวี่ยง ขนาด 1.5 มิลลิลิตร (Microcentrifuge tube)

3.1.5.24 ไมโครปิเปตขนาด 10 - 100 ไมโครลิตร ยี่ห้อ Eppendorf

3.1.5.25 ไมโครปิเปตขนาด 100 - 1000 ไมโครลิตร ยี่ห้อ Thermo Scientific

3.1.5.26 ไมโครปิเปตทิป (Micropipette tips)

3.1.5.27 ไมโครเวลเพลท (microwell plate) ยี่ห้อ Nunc

3.1.5.28 รีแฟรกโตมิเตอร์ (Refractometer)

## 3.2 วิธีดำเนินงานวิจัย

### 3.2.1 การเตรียมวัตถุดิบ

#### 3.2.1.1 น้ำมังคุด

นำผลมังคุดสุกล้างด้วยน้ำให้สะอาด ปอกเปลือก และคั้นน้ำจากเนื้อภายในเปลือก โดยไม่รวมเมล็ด (จากผลมังคุดพร้อมเปลือกน้ำหนัก 5 กิโลกรัม คั้นน้ำมังคุดได้ 500 มิลลิลิตร) นำน้ำมังคุดกรองด้วยผ้าขาวบาง วัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (องศาบริกซ์) จากนั้นเก็บใส่ถุงพลาสติกแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

#### 3.2.1.2 น้ำมันแกว

นำผลมันแกวล้างด้วยน้ำให้สะอาด ปอกเปลือก และหั่นเป็นชิ้นขนาด (กว้าง x ยาว x สูง) 1 x 1 x 1 เซนติเมตร จากนั้นนำชิ้นมันแกวที่หั่นจากข้างต้นต้มพร้อมน้ำสะอาดในอัตราส่วน 1 : 2 คือ เนื้อมันแกว 1 กิโลกรัมต่อน้ำสะอาด 2 ลิตร ต้มนาน 30 นาที จนเนื้อมันแกวมีลักษณะใส นำน้ำมันแกวกรองด้วยผ้าขาวบาง และวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (องศาบริกซ์) จากนั้นเก็บใส่ถุงพลาสติกแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

#### 3.2.1.3 น้ำสับปะรด

นำผลสับปะรดสุกล้างด้วยน้ำให้สะอาด ปอกเปลือก นำเนื้อปั่นด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้า (Blender) จากนั้นกรองด้วยผ้าขาวบาง และวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (องศาบริกซ์) (จากผลสับปะรดพร้อมเปลือกน้ำหนัก 1 กิโลกรัม คั้นน้ำได้ 600 มิลลิลิตร) นำน้ำสับปะรดเก็บใส่ถุงพลาสติกแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

### 3.2.2 ศึกษาการเตรียมกล้าเชื้อ *L. casei* 431 ในน้ำผลไม้ชนิดต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่งเชื้อผง *L. casei 431* เติมลงในน้ำผลไม้ชนิดต่าง ๆ แบ่งเป็น 3 ชุดการทดลองดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 น้ำมังคุด

ชุดการทดลองที่ 2 น้ำมันแกว

ชุดการทดลองที่ 3 น้ำสับปะรด

โดยนำน้ำผลไม้ทั้ง 3 ชุดการทดลอง พาสเจอไรซ์ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แบ่งใส่ขวดหมักที่มีปริมาตรอาหาร 60 มิลลิลิตร เติมเชื้อ *L. casei* 431 ร้อยละ 0.1 น้ำหนักต่อปริมาตร (0.06 กรัม) ปิดฝาให้สนิท บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง (Ellendersen *et al*., 2012) เมื่อครบเวลา วัดการเจริญเติบโตของเชื้อด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร (Bidart *et al*., 2018) และตรวจนับจำนวนเซลล์แบคทีเรียที่มีชีวิตด้วยเทคนิค Spread plate บนอาหารแข็ง MRS บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 3 วัน

คัดเลือกน้ำผลไม้ที่เชื้อ *L. casei* 431 เจริญได้สูง มาใช้ในการเตรียมกล้าเชื้อในการศึกษาในหัวข้อต่อไป

**3.2.3. ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการเตรียมกล้าเชื้อของ *L. casei* 431**

นำน้ำผลไม้ที่ได้จากการศึกษาในหัวข้อ 3.2.2 พาสเจอไรส์ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำเชื้อผงของ *L. casei* 431 ร้อยละ 0.1 น้ำหนักต่อปริมาตร (1 กรัม) แบ่งใส่ขวดหมักปริมาตรอาหาร 1,000 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับการเจริญเติบโตในอาหารสูตร MRS เก็บตัวอย่างทุก ๆ 3 ชั่วโมง (0 3 6 9 12 15 18 21 และ 24 ชั่วโมง) ตรวจวัดการเจริญเติบโตของเชื้อด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร และตรวจนับจำนวนเซลล์แบคทีเรียที่มีชีวิต ด้วยเทคนิค Spread plate บนอาหารแข็ง MRS บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 3 วัน

เลือกระยะเวลาที่เหมาะสมที่เชื้อ *L. casei* 431 เจริญได้สูง มาใช้ในการเตรียมกล้าเชื้อ เพื่อใช้ในกระบวนการหมักน้ำมังคุดซินไบโอติก

**3.2.4 ศึกษากระบวนการหมักน้ำมังคุดซินไบโอติกด้วยเชื้อ *L. casei* 431**

**3.2.4.1 เตรียมกล้าเชื้อ *L. casei* 431**

เตรียมน้ำผลไม้ที่คัดเลือกได้ในหัวข้อ 3.2.2 พาสเจอไรซ์ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เติมเชื้อผง *L. casei* 431 ร้อยละ 0.1 น้ำหนักต่อปริมาตร แบ่งใส่ขวดหมักปริมาตรอาหาร 150 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลาที่เหมาะสม ซึ่งได้จากหัวข้อ 3.2.3 จะได้กล้าเชื้อ *L. casei* 431

**3.2.4.2 ศึกษาปริมาณกล้าเชื้อของ *L. casei* 431ที่เหมาะสม**

นำน้ำมังคุดพาสเจอไรซ์ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นเติมกล้าเชื้อของ *L. casei* 431 ที่ได้จากหัวข้อ 3.2.4.1 โดยแปรผันปริมาณกล้าเชื้อ ดังนี้ ร้อยละ 10 20 และ 30 โดยปริมาตรของน้ำผลไม้ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี เช่น ค่า pH การหาปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก) ปริมาณน้ำตาล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฤทธิ์การต้านสารอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Scavenging assay (Shirazi et al., 2014) คุณภาพทางจุลินทรีย์ โดยการตรวจการมีชีวิตรอดของจุลินทรีย์แลคติก

คัดเลือกปริมาณกล้าเชื้อ *L. casei* 431 ที่เหมาะสม ที่ทำให้น้ำมังคุดซินไบโอติกมีปริมาณกรดเพิ่มขึ้น จำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติกเหลือรอดสูง และรสชาติเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค เพื่อนำมาใช้ในการศึกษาในหัวข้อต่อไป

**3.2.4.3 ศึกษาอัตราส่วนของน้ำมังคุดที่นำมาใช้หมักน้ำมังคุดซินไบโอติก**

ในการผลิตน้ำมังคุดซินไบโอติก น้ำผลไม้ที่นำมาใช้เป็นส่วนผสมมี 3 ชนิด คือ น้ำมังคุด : น้ำมันแกว : น้ำสับปะรด ในอัตราส่วนต่าง ๆ ดังตารางที่ 3.1 โดยการเตรียมน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรด ในอัตราส่วนต่าง ๆ นำมาพาสเจอไรซ์ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นเติมกล้าเชื้อของ *L. casei* 431 ที่ได้จากหัวข้อ 3.2.4.1 ร้อยละ 30 โดยปริมาตรของน้ำผลไม้ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 50 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก ๆ 10 ชั่วโมง (0 10 20 30 40 และ 50 ชั่วโมง) วิเคราะห์คุณภาพทางเคมี และคุณภาพทางจุลินทรีย์ เช่นเดียวกับหัวข้อ 3.2.4.2 รวมทั้งทดสอบทางประสาทสัมผัส

**ตารางที่ 3.1** อัตราส่วนของน้ำมังคุด: น้ำมันแกว: น้ำสับปะรดในการหมักน้ำมังคุดซินไบโอติก

| | **อัตราส่วนของวัตถุดิบต่าง ๆ ในแต่ละสูตร** | | |
|---|---|---|---|
| **สูตรน้ำผลไม้** | **น้ำมังคุด** | **น้ำมันแกว** | **น้ำสับปะรด** |
| 1 | 100 | 0 | 0 |
| 2 | 80 | 10 | 10 |
| 3 | 60 | 30 | 10 |
| 4 | 40 | 50 | 10 |

คัดเลือกอัตราส่วนที่เหมาะสม ที่ทำให้น้ำมังคุดซินไบโอติกมีปริมาณกรดเพิ่มขึ้น จำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติกเหลือรอดสูง และรสชาติเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค เพื่อนำมาใช้ในการศึกษาในหัวข้อต่อไป

**3.2.5 ศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์น้ำมังคุดซินไบโอติก**

ผลิตน้ำมังคุดซินไบโอติกในสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาในข้างต้น บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลาที่เหมาะสมดังข้างต้น เมื่อได้ผลิตภัณฑ์น้ำมังคุดซินไบโอติก ศึกษาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิตู้เย็น (4 - 10 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 30 วัน เก็บตัวอย่างทุก ๆ 5 วัน วิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ทางจุลินทรีย์ และทดสอบทางประสาทสัมผัสเพื่อดูการยอมรับของผู้บริโภค รวมทั้งศึกษาการปนเปื้อนของยีสต์ รา และ *E. coli* รวมทั้ง *Coliform* ในผลิตภัณฑ์สุดท้ายด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3.2.6 ศึกษาการผลิตน้ำมังคุดซินไบโอติกผง โดยการทำแห้งแบบความเย็นเยือกแข็ง (Freeze dry)**

นำผลิตภัณฑ์น้ำมังคุดซินไบโอติกในสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาในขั้นต้น ผสมกับอินูลินความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ ร้อยละ 10 20 และ 30 น้ำหนักต่อปริมาตรของน้ำมังคุดซินไบโอติก นำน้ำมังคุดซินไบโอติกผสมอินูลินความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่ในจานโลหะ นำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปทำแห้งโดยเครื่อง Freeze dryer ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 ชั่วโมง จากนั้นนำผงแห้งวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เช่น ปริมาณน้ำอิสระ ความชื้น และคุณภาพทางจุลินทรีย์ด้วยการตรวจการมีชีวิตรอดของจุลินทรีย์โพรไบโอติกและการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli Coliform* ยีสต์และรา เป็นต้น

จากนั้นคัดเลือกความเข้มข้นของอินูลินที่เหมาะสม โดยพิจารณาจากการมีจุลินทรีย์โพรไบโอติกเหลือรอดชีวิตสูงมาศึกษาในหัวข้อต่อไป

**3.2.7 การคืนรูปของผงน้ำมังคุดซินไบโอติก**

นำผงแห้งน้ำมังคุดซินไบโอติกที่ผสมอินูลินความเข้มข้นที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาข้างต้น ผสมน้ำสะอาดปริมาตรเท่ากับน้ำมังคุดซินไบโอติกก่อนทำผงแห้ง จากนั้นนำน้ำมังคุดซินไบโอติกวิเคราะห์คุณภาพทางทางเคมี และจำนวนโพรไบโอติกที่มีชีวิตรอดเปรียบเทียบกับน้ำมังคุดซินไบโอติกก่อนทำผงแห้ง

**3.2.8 การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพและทางเคมี**

**3.2.8.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง**

วิเคราะห์ด้วยเครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)

**3.2.8.2 ปริมาณความชื้น (Moisture content) (AOAC. (2016) 952.08 b)**

วิเคราะห์ด้วยเครื่อง Moisture meter

**3.2.8.3 ปริมาณน้ำอิสระ (Water activity, $A_w$)**

วัดด้วยเครื่อง $A_w$ meter (AQUA Lab model 3TE Series 3B v 3.0, Decagon Devices Inc.) ณ อุณหภูมิห้อง (25 - 30 องศาเซลเซียส)

**3.2.8.4 ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก) (A.O.A.C, 2000)**

นำตัวอย่างปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีน้ำกลั่นปราศจากคาร์บอนไดออกไซด์ ปริมาตร 45 มิลลิลิตร และหยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 3 หยด จากนั้นนำมาไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน (จุดยุติ) บันทึกปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ และนำมาคำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก) โดยสมการดังต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก)} = \frac{N \times V1 \times 90.08 \times 100}{(1000 \times V2)}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อ N = ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (นอร์มอล)

$V_1$ = ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ (มิลลิลิตร)

$V_2$ = ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ (มิลลิลิตร)

มวลโมเลกุลของกรดแลคติก = 90.08 $g.mol^{-1}$

ซึ่งเพื่อความแม่นยำของข้อมูลจึงทำการหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยการใช้สารละลายมาตรฐานปฐมภูมิโพแทสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลต ($KHC_8H_4O_4$; KHP) ความเข้มข้น 0.1 ต่อลิตร เป็นสารมาตรฐาน เตรียมโดยนำโพแทสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลตอบที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ ชั่ง 1 กรัม ลงในบีกเกอร์ เติมน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร ปิเปตสารละลายโพแทสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลตปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ และเติมน้ำกลั่น 45 มิลลิลิตร หยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 3 หยด จากนั้นนำมาไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เตรียมได้ จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน บันทึกปริมาตรโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ และนำมาคำนวณความเข้มข้นของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่แน่นอน ดังสมการดังต่อไปนี้

$$\text{ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เตรียมได้} = \frac{(\text{มวลโมเลกุล} \times \text{ปริมาตรที่ใช้})\text{ของKHP}}{\text{ปริมาตรที่ใช้ของNaOH}}$$

เมื่อ ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน KHP ในหน่วยโมลาริตี (น้ำหนักโมเลกุลของ KHP = 204.22)

**3.2.8.5 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด โดยวิธีฟีนอล-ซัลฟูริก ดัดแปลงจาก Dubois *et al.* (1956) และ Chaplin (1986)**

**1) การเตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐาน**

นำกลูโคส (D(+)Glucose Anhydrous) อบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และทำให้เย็นในโถดูดความชื้น เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นชั่ง 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายกลูโคสที่มีความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางความเข้มข้นด้วยน้ำกลั่น ดังนี้ 0 100 200 400 600 800 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปิเปตสารละลายกลูโคสแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลายฟีนอล ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 98 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน และทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ทำความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ เมื่อครบเวลานำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร จากนั้นนำข้อมูลที่ได้สร้างกราฟมาตรฐานกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2) การหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของตัวอย่าง**

นำตัวอย่างปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำส่วนใส ปริมาตร 1 มิลลิลิตรใส่ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลายฟีนอล ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้น ร้อยละ 98 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน และทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำตัวอย่างไปวัดการดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร นำค่าที่ได้เปรียบเทียบกับกราฟกลูโคสมาตรฐานในข้างต้น และคำนวณเป็นปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ในหน่วย กรัมต่อลิตร

**3.2.8.6 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยดัดแปลงจาก Shirazi *et al.* (2014) และ Chidambara (2002)**

**1) การเตรียมสารละลายกรดแกลลิกมาตรฐาน**

เตรียมโดยชั่งกรดแกลลิก 0.1 กรัม ละลายในเอทานอลบริสุทธิ์ และปรับปริมาตรด้วยเอทานอลบริสุทธิ์จนครบ 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายกรดแกลลิกความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางความเข้มข้นสารละลายด้วยเอทาน อล ดังนี้ 0 50 100 200 400 600 800 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารละลายในแต่ละความเจือจาง ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ใส่ลงใน 96-Well plate และเติมสาระละลาย Folin-Ciocalteu phenol ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 6 นาที และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วง 765 นาโนเมตร และนำค่ามาสร้างกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ในหน่วย µgGAE/ml

**2) การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด**

นำตัวอย่างที่ผ่านการปั่นเหวี่ยง ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย Folin-Ciocalteu phenol ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใน 96-Well plate ทิ้งไว้ 6 นาที และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 80 ไมโครลิตร หลังจากนี้ทำเช่นเดียวกับกรดแกลลิกมาตรฐาน เมื่อได้ค่าจากการดูดกลืนแสง นำค่าที่ได้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก และคำนวณผลเป็นหน่วย µgGAE/mL จากสมการดังต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร)} = \left(\frac{A765-B}{M}\right) \times D$$

เมื่อ A765 = ค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วง 765 นาโนเมตร

B = จุดตัดแกน Y ของกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

M = ความชันของกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

D = ระดับการเจือจางของตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3.2.8.7 การวิเคราะห์กิจกรรมการดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH scavenging assay โดยดัดแปลงจาก Shirazi *et al.* (2014)**

นำส่วนใสของตัวอย่างหลังจากการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 600 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 30 นาที ณ อุณหภูมิห้องและมืด จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วง 517 นาโนเมตร และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้คำนวณผลดังสมการ ดังต่อไปนี้

ร้อยละ การต้านสารอนุมูลอิสระ = $\left(\frac{\text{A-B}}{\text{A}}\right)$ x100

เมื่อ A = ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH

B = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ทำปฏิกิริยากับ สารละลาย DPPH

**3.2.8.7 การวิเคราะห์กิจกรรมการดักจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH scavenging assay โดยดัดแปลงจาก Shirazi *et al.* (2014)**

นำส่วนใสของตัวอย่างหลังจากการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 600 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 30 นาที ณ อุณหภูมิห้องและมืด จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วง 517 นาโนเมตร และนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้คำนวณผลดังสมการ ดังต่อไปนี้

ร้อยละ การต้านสารอนุมูลอิสระ = $\left(\frac{A-B}{A}\right)x100$

เมื่อ A = ค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH

B = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ทำปฏิกิริยากับ สารละลาย DPPH

**3.2.8.8 การตรวจนับจำนวนเซลล์แบคทีเรียโพรไบโอติกที่รอดชีวิต ดัดแปลงวิธีจาก Pereira *et al.* (2012)**

นำตัวอย่างปริมาตร 1 มิลลิลิตร เจือจางแบบลำดับลดลงทีละ 10 เท่า ( ten-fold serial dilution) ด้วยสารละลายเปปโตน ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 จนได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม จากนั้นทำการเพาะเชื้อจุลินทรีย์โดยเทคนิค Spread plate โดยปิเปตสารละลายเชื้อที่ระดับความเจือจางที่เหมาะสม ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ลงในจานอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารสูตร MRS Agar จากนั้นเกลี่ยสารละลายเชื้อให้ทั่วผิวหน้าอาหาร MRS Agar รอแห้ง และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาจึงทำการตรวจนับจำนวนโคโลนีลักษณะขอบเรียบนูน มีความแวววาว ทึบ และมีสีครีมขาว และรายงานผลจำนวนเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกที่มีชีวิตรอดเป็นค่า log CFU/mL

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3.2.8.9 การตรวจวิเคราะห์การปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ และแบคทีเรียก่อโรคในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำมังคุดซินไบโอติก ดัดแปลงวิธีจาก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ (2557) และ A.O.A.C (2016)**

1) วิเคราะห์เครื่องดื่มน้ำมังคุดซินไบโอติกโดยปิเปตตัวอย่างน้ำมังคุดซินไบโอติก 1 มิลลิลิตรลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ 3M Petrifilm E. coli / Coliform และ Rapid Yeast and Mold Count Plate จากนั้นปิดแผ่นฟิล์มด้านบนลง และกดทับด้วย 3M Petrifilm Spreader จากนั้นนำอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และ บ่มที่อุณหภูมิ 25 - 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตามลำดับ

2) วิเคราะห์ผงน้ำมังคุดซินไบโอติกโดย ชั่งตัวอย่าง 5 กรัมใส่ในภาชนะปราศจากเชื้อ เติมสารละลายเพปโตน ความเข้มข้น ร้อยละ 0.1 ปริมาตร 45 มิลลิลิตร จากผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องตีผสมอาหาร 1 นาที (initial suspension หรือ primary dilution) จากนั้นปิเปตลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกับการวิเคราะห์เครื่องดื่มน้ำมังคุดซินไบโอติกข้างต้น

**3.2.8.10. การทดสอบทางประสาทสัมผัส**

ทำการทดสอบโดยวิธี Hedonic raking scale แบบ 9-point โดยทำการทดสอบกับผู้ทดสอบในช่วงอายุ 18-55 ปี จำนวน 30 คน ทำการให้คะแนน ลักษณะที่ปรากฏ กลิ่นรสชาติ และความชอบโดยรวมโดยกำหนดให้ 9 คือ ชอบมากที่สุด และ 1 คือ ชอบน้อยที่สุด (Dahal *et al.,* 2019)

**3.2.9 การวิเคราะห์ทางสถิติ**

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) วิเคราะห์ข้อมูล 3 ซ้ำ และวิเคราะห์ความแตกต่างของชุดการทดลอง ด้วย ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เปรียบเทียบความแตกต่างของชุดการทดลองด้วย Duncan’s New Multiple Range Test (DMRT) โดยการใช้โปรแกรม SPSS (Statistics Package for the Science) (Dahal *et al.,* 2019)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 4

# ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

## 4.1 ศึกษาการเตรียมกล้าเชื้อ *Lactobacillus casei 431*® ในน้ำผลไม้ชนิดต่าง ๆ

จากการนำเชื้อ *L. casei* 431 เลี้ยงในน้ำผลไม้ชนิดต่าง ๆ คือ น้ำมังคุด น้ำมันแกว และน้ำสับปะรด ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง เพื่อใช้เตรียมกล้าเชื้อ จากการตรวจนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียชนิดนี้ในอาหารแข็งสูตร MRS ด้วยวิธีการ spread plate พบว่า เชื้อ *L. casei* 431 เจริญได้ดีในน้ำมันแกว โดยมีจำนวนจุลินทรีย์ 7.29±0.08 Log CFU/mL รองลงมาเป็นน้ำสับปะรดและน้ำมังคุดมีจำนวนจุลินทรีย์ 7.11±0.01 และ 6.95±0.03 Log CFU/mL ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.1 ซึ่งสัมพันธ์กับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร โดยน้ำมันแกว น้ำสับปะรด และน้ำมังคุด มีค่าการดูดกลืนแสง 2.15±0.05 2.05±0.06 และ 1.45±0.00 ตามลำดับ จากการที่ *L. casei* 431 เจริญในน้ำมันแกวและน้ำสับปะรดได้ดี อาจเนื่องจากในส่วนหัวของมันแกวอุดมไปด้วยสารอาหาร วิตามิน และเกลือแร่ โดยเฉพาะอินูลิน (Pullbutr *et al*., 2021) ซึ่งอินูลินจัดเป็นพรีไบโอติกชนิดหนึ่ง เป็นสารอาหารกลุ่มคาร์โบไฮเดรต ประเภทโพลีแซคคาไรด์ที่ละลายน้ำได้ จะไม่สามารถถูกย่อยในระบบทางเดินอาหาร (Chaiyasut *et al.,*2017) เช่นเดียวกับน้ำสับปะรดที่อุดมไปด้วยสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์โพรไบโอติกในลำไส้ โดยเฉพาะสารฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีในผลสับปะรด และจุลินทรีย์โพรไบโอติกสามารถใช้ได้ (Nguyen *et al.,* 2019) โดยทั่วไปจุลินทรีย์โพรไบโอติกในลำไส้จะเลือกชนิดของพรีไบโอติกเพื่อนำมาใช้ในการเจริญเติบโตอย่างจำเพาะ ซึ่งอินูลินและฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์นั้น *L. casei* สามารถนำมาใช้ในการเจริญเติบโตได้ เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Nguyen และคณะ (2019) ได้ศึกษากระบวนการหมักเครื่องดื่มโพรไบโอติกจากเชื้อ *Lactobacillus plantarum* 229v , *L. acidophilus* La5 และ *Bifidobacterium lactis* Bb12 ในน้ำสับปะรด พบว่า จุลินทรีย์โพรไบโอติกทั้งสามชนิดมีการเจริญเติบโตและผลิตกรดเพิ่มขึ้น

## 4.2 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการเตรียมกล้าเชื้อของ *L. casei* 431

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *L.casei* 431 ในน้ำมันแกวซึ่งเป็นน้ำผลไม้ที่มีการเจริญเติบโตได้สูง ได้จากการศึกษาในหัวข้อ 4.1 เพาะเลี้ยงนาน 24 ชั่วโมง ที่อุณภูมิ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของเชื้อ *L. casei* (S'liZewska and Chlebicz-Wojcik., 2020)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.1** การเจริญเติบโตของ *Lactobacillus casei* 431® ในน้ำผลไม้ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง

| ชนิดของน้ำผลไม้ | ชั่วโมงที่ 0 | | ชั่วโมงที่ 18 | |
|---|---|---|---|---|
| | จำนวนเชื้อโพรไบโอติก (Log CFU/mL) | ค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร ($OD_{550}$) | จำนวนเชื้อโพรไบโอติก (Log CFU/mL) | ค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร ($OD_{550}$) |
| น้ำมังคุด | 5.53±0.01[a] | 0.12±0.00[a] | 6.95±0.03[c] | 1.45±0.00[c] |
| น้ำมันแกว | 5.52±0.03[a] | 0.12±0.00[a] | 7.29±0.08[a] | 2.15±0.05[a] |
| น้ำสับปะรด | 5.52±0.01[a] | 0.12±0.02[a] | 7.11±0.01[b] | 2.05±0.06[b] |

**หมายเหตุ :** [abc] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแถวแนวตั้ง แสดงความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เพื่อศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการเตรียมกล้าเชื้อของ *L. casei* 431 สำหรับกระบวนการผลิตเครื่องดื่มน้ำมังคุดซินไบโอติก โดยเปรียบเทียบกับการเจริญในอาหารสูตร MRS ซึ่งเป็นอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียแลคติก เก็บตัวอย่างทุก 3 ชั่วโมง นำมาตรวจนับจำนวนแบคทีเรียและวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร พบว่า *L. casei* 431 มีการเพิ่มจำนวนตามระยะเวลาการเพาะเลี้ยง และมีปริมาณสูงสุดในชั่วโมงที่ 15 มีจำนวนจุลินทรีย์ 7.64±0.01 Log CFU/mL หลังจากนั้นจำนวนจุลินทรีย์จะลดลง การเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ในอาหารเหลวสูตร MRS ก็เป็นไปในลักษณะเดียวกัน โดยจะมีจำนวนเพิ่มขึ้นและสูงสุดในชั่วโมงที่ 15 ซึ่งมีจำนวนจุลินทรีย์ 8.50±0.63 Log CFU/mL หลังจากนั้นจำนวนจุลินทรีย์จะลดลง ในชั่วโมงสุดท้ายของการเพาะเลี้ยงจำนวนจุลินทรีย์ในน้ำมันแกวและอาหารเหลวสูตร MRS มี 7.01±0.03 Log CFU/mL และ 8.04±0.06 Log CFU/mL ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.2 ซึ่งสัมพันธ์กับค่าความขุ่นของสารละลายเชื้อ โดยมีความขุ่นสูงสุดในชั่วโมงที่ 15 0.50±0.01 และ 2.38±0.18 ตามลำดับ หลังจากนั้นค่าความขุ่นของสารละลายเชื้อจะคงที่หรือลดลงเล็กน้อย

ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมกล้าเชื้อ *L. casei* 431 เพื่อใช้ในกระบวนการผลิตน้ำมังคุดซินไบโอติกให้มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์รอดชีวิตและเกิดกิจกรรมการหมักสูง คือ การเพาะเลี้ยงเชื้อ *L. casei* 431 ในน้ำมันแกว เป็นเวลา 15 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.2** การเจริญเติบโตของ *Lactobacillus casei* 431® ในน้ำแกว และอาหารเหลวสูตร MRS บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

| เวลา (ชั่วโมง) | จำนวนเชื้อแบคทีเรียที่รอดชีวิต (Log CFU/mL) | | ค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร | |
|---|---|---|---|---|
| | อาหารเหลวสูตร MRS | น้ำมันแกว | อาหารเหลวสูตร MRS | น้ำมันแกว |
| 0 | 6.53±0.02$^{d}$ | 6.53±0.02$^{cd}$ | 0.14±0.01$^{f}$ | 0.12±0.01$^{f}$ |
| 3 | 6.49±0.02$^{d}$ | 5.90±0.03$^{e}$ | 0.40±0.01$^{e}$ | 0.13±0.01$^{e}$ |
| 6 | 7.58±0.01$^{c}$ | 6.00±0.03$^{de}$ | 0.43±0.01$^{e}$ | 0.21±0.01$^{d}$ |
| 9 | 7.77±0.05$^{bc}$ | 6.77±0.06$^{bc}$ | 0.92±0.01$^{d}$ | 0.25±0.01$^{c}$ |
| 12 | 8.13±0.05$^{ab}$ | 7.21±0.02$^{ab}$ | 1.79±0.01$^{c}$ | 0.28±0.01$^{b}$ |
| 15 | 8.50±0.63$^{a}$ | 7.64±0.01$^{a}$ | 2.38±0.18$^{a}$ | 0.50±0.01$^{a}$ |
| 18 | 8.30±0.02$^{a}$ | 7.32±0.80$^{ab}$ | 2.21±0.01$^{b}$ | 0.50±0.01$^{a}$ |
| 21 | 8.24±0.03$^{ab}$ | 7.09±0.01$^{abc}$ | 2.25±0.11$^{b}$ | 0.50±0.01$^{a}$ |
| 24 | 8.04±0.06$^{abc}$ | 7.01±0.03$^{abc}$ | 2.21±0.01$^{b}$ | 0.50±0.01$^{a}$ |

**หมายเหตุ :** $^{abc}$ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

## 4.3 ศึกษาปริมาณกล้าเชื้อของ *L. casei* 431 ในน้ำมังคุด

หลังจากนำกล้าเชื้อที่ได้จากการหมักในหัวข้อที่ 4.2 คือ น้ำมันแกว หมักด้วยเชื้อผง *Lactobacillus casei* 431® ร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร บ่มเป็นเวลา 15 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นสภาวะที่เชื้อจุลินทรีย์รอดชีวิตสูงที่สุดจากนั้นนำกล้าเชื้อหมักในน้ำมังคุด โดยแปรผันปริมาณกล้าเชื้อร้อยละ 10 20 และ 30 โดยปริมาตรน้ำมังคุด บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง พบว่า น้ำมังคุดที่หมักด้วยกล้าเชื้อ ร้อยละ 30 มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตสูงสุด 7.09±0.06 รองลงมา น้ำมังคุดที่หมักด้วยกล้าเชื้อ ร้อยละ 20 และ 10 โดยมีปริมาณเชื้อ 6.57±0.13 และ 6.19±0.23 Log CFU/mL ตามลำดับ น้ำมังคุดภายหลังการเติมกล้าเชื้อ ร้อยละ 10 20 และ 30 มีค่า pH เท่ากับ 3.36±0.01 3.31±0.03 และ 3.24±0.01 ตามลำดับ เมื่อหมักครบ 15 ชั่วโมง พบว่า น้ำมังคุดหมักด้วยปริมาณกล้าเชื้อร้อยละ 10 20 และ 30 มีค่า pH 3.35±0.01 3.29±0.01 และ 3.22±0.01 ตามลำดับ สัมพันธ์กับปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก) จะเพิ่มขึ้นตามปริมาณกล้าเชื้อที่ใช้ จากการใช้ปริมาณกล้าเชื้อแตกต่างกัน พบว่า ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดภายหลังการเติมกล้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อร้อยละ 10 20 และ 30 เท่ากับ 429.12±1.65 411.98±13.56 และ 384.65±25.23 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ภายหลังการหมัก 15 ชั่วโมง น้ำมังคุดหมักเติมกล้าเชื้อร้อยละ 10 20 และ 30 มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 415.87±11.87 402.65±3.34 และ 377.67±1.45 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.3 จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า การใช้ปริมาณกล้าเชื้อร้อยละ 30 น้ำมังคุดหมักมีปริมาณจุลินทรีย์โพรไบโอติกเหลือรอดสูงกว่าการใช้ปริมาณกล้าเชื้อ 10 และ 20 และน้ำมังคุดหมักมีการเปลี่ยนแปลงค่า pH และปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก) รวมทั้งปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเพียงเล็กน้อย อาจเนื่องมาจาก น้ำมังคุดเริ่มต้นมีค่า pH ต่ำอยู่ในช่วง 3.40-3.65 ขณะที่ pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *L. casei* 431 ไม่ควรต่ำกว่า 5.5 (Davis *et al.*, 2004) ขณะเดียวกันน้ำมังคุดมีสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ โดยเฉพาะแบคทีเรียแกรมบวก (Lim *et al.*, 2013) จากเหตุผลดังกล่าว ทำให้การนำน้ำมังคุดหมักด้วยเชื้อ *L. casei* 431 มีการเปลี่ยนแปลงระหว่างกระบวนการหมักเล็กน้อย

**ตารางที่ 4.3** การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมีและจุลินทรีย์ของน้ำมังคุด หมักด้วยกล้าเชื้อ *L. casei* 431 ปริมาณที่แตกต่างกัน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง

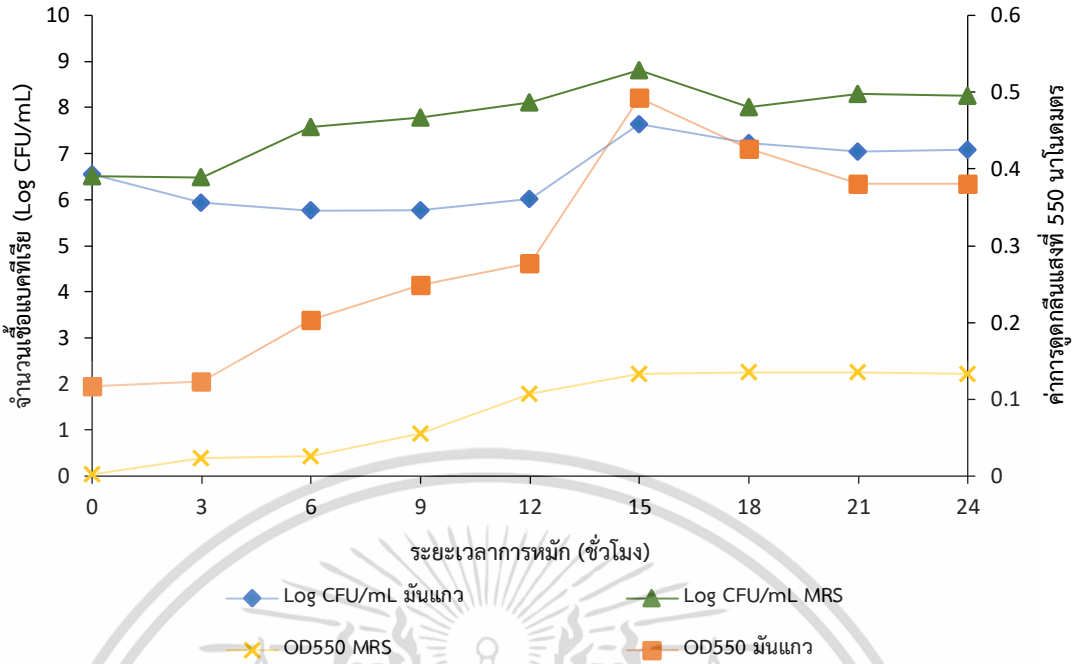
| ปริมาณกล้าเชื้อ (ร้อยละ) | ผลการวิเคราะห์น้ำมังคุดหมัก เมื่อเวลาผ่านไป 15 ชั่วโมง | | | |
|---|---|---|---|---|
| | จำนวนเชื้อ *L. casei* 431 ที่รอดชีวิต (Log CFU/mL) | ค่า pH | ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก) | ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กรัม/ลิตร) |
| 10 | 6.19±0.23$^{c}$ | 3.35±0.01$^{a}$ | 0.42±0.01$^{c}$ | 415.87±11.87$^{a}$ |
| 20 | 6.57±0.13$^{b}$ | 3.29±0.01$^{b}$ | 0.60±0.01$^{b}$ | 402.65±2.34$^{b}$ |
| 30 | 7.09±0.06$^{a}$ | 3.22±0.01$^{c}$ | 0.66±0.02$^{a}$ | 377.67±1.45$^{c}$ |

**หมายเหตุ :** $^{abc}$ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

## 4.4 ศึกษาอัตราส่วนของน้ำมังคุดในการหมักน้ำมังคุดซินไบโอติก

เนื่องจากต้องการผลิตน้ำมังคุดซินไบโอติกส์จึงได้นำน้ำมันแกวซึ่งมีสารอินูลินเป็นพรีไบโอติกสำหรับการเจริญของเชื้อโพรไบโอติกและนำน้ำสับปะรดมาปรับปรุงรสชาติให้ดีขึ้น มีการศึกษาอัตราส่วนผสมของน้ำมังคุดต่อน้ำมันแกวต่อน้ำสับปะรดในอัตราส่วนต่าง ๆ นำมาหมักด้วยเชื้อ *L. casei* 431 ร้อยละ 30 โดยปริมาตรน้ำผลไม้ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 50 ชั่วโมง ได้ผลการทดลองดังต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.3** การเจริญเติบโตของเชื้อ *L. casei* 431 ในน้ำมันแกว และอาหารเหลวสูตร MRS ในระยะเวลาต่าง ๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

### 4.4.1 คุณภาพทางเคมี

#### 4.4.1.1 ค่า pH และปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก)

จากการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของ ค่า pH และปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก) ระหว่างกระบวนการหมักน้ำมังคุดต่อน้ำมันแกวต่อน้ำสับปะรดในอัตราส่วน 100 : 0 : 0 (T1) 80: 10 : 10 (T2) 60 : 30 : 10 (T3) และ 40 : 50 : 10 (T4) เพื่อศึกษากิจกรรมการหมักในการผลิตกรดแลคติกของเชื้อ *L. casei* 431 ในน้ำผลไม้ พบว่าค่า pH ในระหว่างกระบวนการหมัก จะลดลงเล็กน้อย ในชั่วโมงที่ 50 ตัวอย่างน้ำมังคุดมีค่า pH 3.16±0.01 3.23±0.01 3.28±0.07 และ 3.38±0.02 ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.2 ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณกรดทั้งหมดจะเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆตลอดระยะเวลาการหมัก น้ำมังคุดในอัตราส่วน T1 มีปริมาณกรดสูงสุดร้อยละ (น้ำหนักต่อปริมาตร) 0.67±0.01 รองลงมาเป็นอัตราส่วน T2 T3 และ T4 มีปริมาณกรดร้อยละ 0.61±0.01 0.60±0.05 และ 0.61±0.02 ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.5 และ รูปที่ 4.3

ในระหว่างกระบวนการหมักน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรดด้วยเชื้อ *L. casei* 431 ซึ่งเป็นแบคทีเรียแลคติกที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกและสามารถผลิตกรดแลคติกได้ (Barn forth, 1996) เชื้อจะใช้น้ำตาลในน้ำผลไม้ผลิตกรดแลคติก มีผลทำให้น้ำมังคุดอัตราส่วนต่าง ๆ มีค่า pH ลดลงและปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก) เพิ่มขึ้น ขณะเดียวกันน้ำมังคุดสดก่อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำมาหมักมีปริมาณกรดสูงร้อยละ 0.54 - 0.57 รวมทั้งน้ำมันแกวมีอินูลินซึ่งเป็นพรีไบโอติกช่วยส่งเสริมการเจริญของเชื้อโพรไบโอติกให้ดีขึ้น สอดคล้องกับการทดลองของ Alwis *et al.,* (2015) ได้พัฒนาเครื่องดื่มจากแครอทด้วยเชื้อ *Lactobacillus casei* 431® พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำแครอทหมักลดลง เนื่องจากเชื้อสามารถใช้น้ำตาลในแครอทผลิตกรดแลคติกได้ มีผลทำให้ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก) เพิ่มขึ้น แต่ปริมาณกรดทั้งหมดในการทดลองนี้เพิ่มขึ้นน้อยกว่าการทดลองอื่น อาจเนื่องมาจากน้ำมังคุดสดมีค่า pH ต่ำประมาณ 3.40-3.65 ซึ่ง pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *L. casei* อยู่ในช่วง 6.0 - 6.5 (Krischke *et al.,* 1991) ทำให้เชื้อแบคทีเรียชนิดนี้มีกิจกรรมในการหมักต่ำ ปริมาณกรดที่เชื้อผลิตขึ้นก็น้อยตามไปด้วย Zourari *et al* (1992) รายงานว่า ปัจจัยที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแลคติก เช่น อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณน้ำตาล และสารอาหารในอาหารที่ใช้หมัก

**ตารางที่ 4.4** ค่าพีเอชของน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรดอัตราส่วนที่แตกต่างกัน หมักนาน 50 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

| อัตราส่วน น้ำมังคุด: น้ำมันแกว: น้ำสับปะรด | ค่า pH ที่ระยะเวลาหมักต่าง ๆ (ชั่วโมง) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 |
| 100:00:00 (T1) | $3.22\pm0.01^{d,A}$ | $3.21\pm0.1^{d,A}$ | $3.21\pm0.01^{d,A}$ | $3.21\pm0.00^{c,A}$ | $3.18\pm0.07^{d,A}$ | $3.16\pm0.01^{d,A}$ |
| 80:10:10 (T2) | $3.27\pm0.01^{c,AB}$ | $3.27\pm0.01^{c,AB}$ | $3.25\pm0.01^{c,BC}$ | $3.24\pm0.01^{bc,A}$ | $3.24\pm0.02^{c,BC}$ | $3.23\pm0.01^{c,C}$ |
| 60:30:10 (T3) | $3.33\pm0.01^{b,A}$ | $3.33\pm0.03^{b,A}$ | $3.32\pm0.01^{b,A}$ | $3.31\pm0.01^{b,A}$ | $3.31\pm0.01^{b,A}$ | $3.28\pm0.07^{b,A}$ |
| 40:50:10 (T4) | $3.41\pm0.01^{a,A}$ | $3.41\pm0.01^{a,A}$ | $3.41\pm0.01^{a,A}$ | $3.40\pm0.01^{a,B}$ | $3.39\pm0.00^{a,C}$ | $3.38\pm0.02^{a,D}$ |

**หมายเหตุ :** $^{abc}$ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างทางสถิติ ($p\leq0.05$)

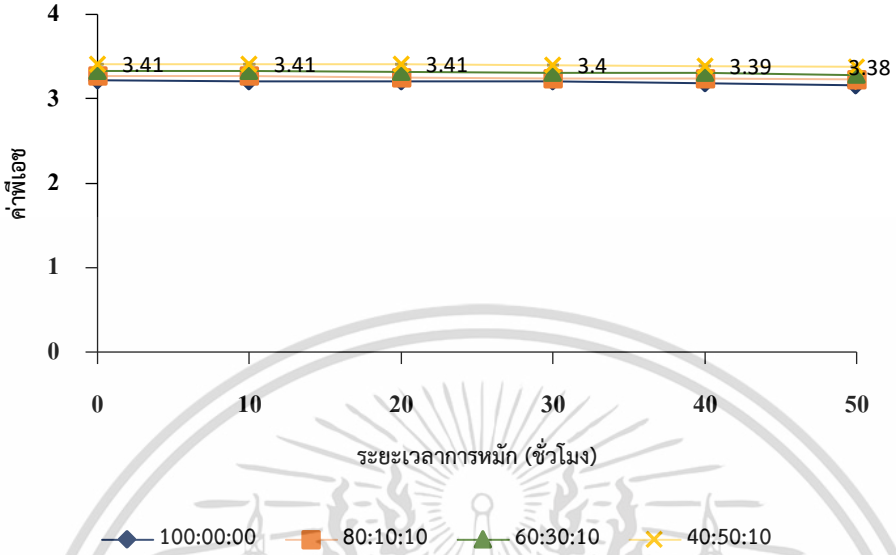
$^{ABC}$ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แสดงความแตกต่างทางสถิติ ($p\leq0.05$)

**4.4.1.2 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด**

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลทั้งหมด เพื่อศึกษาความสามารถของเชื้อ *L. casei* 431 ในการหมักน้ำตาลที่มีในน้ำผลไม้ให้เกิดกรดแลคติก ซึ่งการหมักน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรดอัตราส่วน 100 : 0 : 0 (T1) 80 : 10 : 10 (T2) 60 : 30 : 10 (T3) และ 40 : 50 : 10 (T4) พบว่า น้ำมังคุดในแต่ละอัตราส่วนมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดลดลงตลอดระยะเวลาการหมัก แสดงดังรูปที่ 4.6 โดยในช่วงเริ่มต้นของการหมักมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในช่วง 221.18 - 386.87 กรัมต่อลิตร ในระยะสุดท้ายของการหมัก (50 ชั่วโมง) น้ำมังคุดอัตราส่วน 100 : 0 : 0 80 :

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10 : 10 60 : 30 : 10 และ 40 : 50 : 10 มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเหลือ 361.23±3.34 277.90±3.23 244.91±2.54 และ 179.09±3.89 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ




**รูปที่ 4.4** ค่า pH ของน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกว และน้ำสับปะรดอัตราส่วนที่แตกต่างกัน หมักด้วยเชื้อ *L. casei* 431 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 50 ชั่วโมง

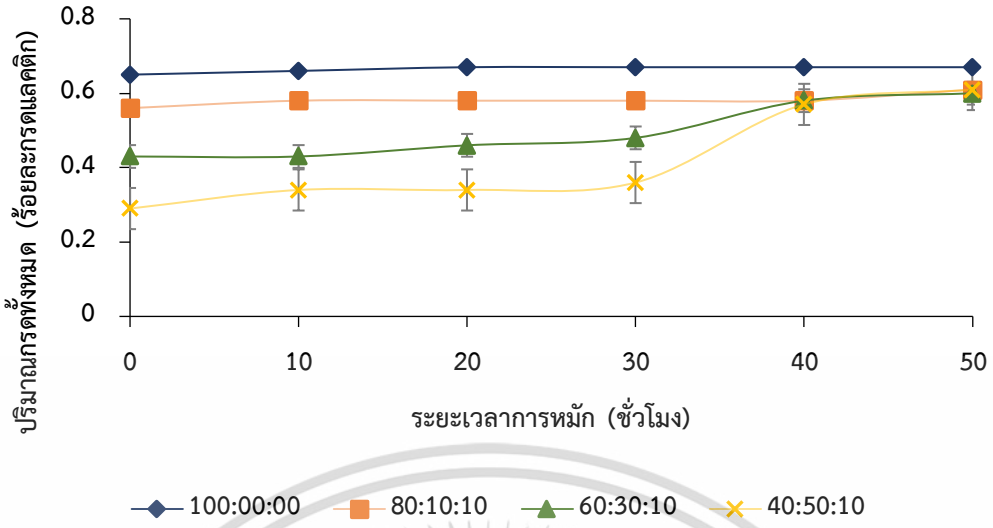
**ตารางที่ 4.5** ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก) ของน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรดในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน หมักนาน 50 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

| อัตราส่วนน้ำมังคุด: น้ำมันแกว: น้ำสับปะรด | ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก) ที่ระยะเวลาการหมักต่าง ๆ | | | | | | การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก) ที่ 0 และ 50 ชั่วโมง |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | **0 ชั่วโมง** | **10 ชั่วโมง** | **20 ชั่วโมง** | **30 ชั่วโมง** | **40 ชั่วโมง** | **50 ชั่วโมง** | |
| **100:0:0 (T1)** | 0.65±0.00$^{a,B}$ | 0.66±0.01$^{a,A}$ | 0.67±0.01$^{a,A}$ | 0.67±0.00$^{a,A}$ | 0.67±0.00$^{a,A}$ | 0.67±0.01$^{a,A}$ | +0.02 |
| **80:10:10 (T2)** | 0.56±0.01$^{b,C}$ | 0.58±0.00$^{c,B}$ | 0.58±0.00$^{b,B}$ | 0.58±0.01$^{b,B}$ | 0.58±0.01$^{b,B}$ | 0.61±0.01$^{b,A}$ | +0.05 |
| **60:30:10 (T3)** | 0.43±0.00$^{c,D}$ | 0.43±0.01$^{c,D}$ | 0.46±0.01$^{c,B}$ | 0.48±0.01$^{c,C}$ | 0.58±0.01$^{b,A}$ | 0.60±0.05$^{b,A}$ | +0.17 |
| **40:50:10 (T4)** | 0.29±0.01$^{dD}$ | 0.34±0.00$^{dC}$ | 0.34±0.00$^{dC}$ | 0.36±0.00$^{dB}$ | 0.57±0.00$^{dB}$ | 0.61±0.02$^{bA}$ | +0.32 |

**หมายเหตุ :** $^{abc}$ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

$^{ABC}$ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แสดงความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.5** ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก) ของน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรดอัตราส่วนที่แตกต่างกัน หมักด้วยเชื้อ *L. casei* 431 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 50 ชั่วโมง

น้ำมังคุดมีน้ำตาลซูโครส ฟรุกโตส และกลูโคสเป็นองค์ประกอบ (John *et al.*, 2021) ซึ่งน้ำตาลกลูโคสเปลี่ยนไปเป็นกรดแลคติกโดยเชื้อ *Lactobacillus casei* 431 (Nikmaram *et al.*, 2015) ขณะเดียวกันจุลินทรีย์ชนิดนี้จะใช้น้ำตาลเหล่านั้นในการเจริญเติบโต มีผลทำให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดลดลง น้ำมังคุดอัตราส่วน 100 : 0 : 0 ซึ่งเป็นน้ำมังคุดอย่างเดียวมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเริ่มต้นสูงกว่าอัตราส่วนอื่น เนื่องจากน้ำมังคุดในอัตราส่วนอื่นถูกเจือจางด้วยน้ำมันแกวและน้ำสับปะรด ทำให้มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดลดลง

**ตารางที่ 4.6** ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรดในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน หมักด้วย *L. casei* 431 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 50 ชั่วโมง

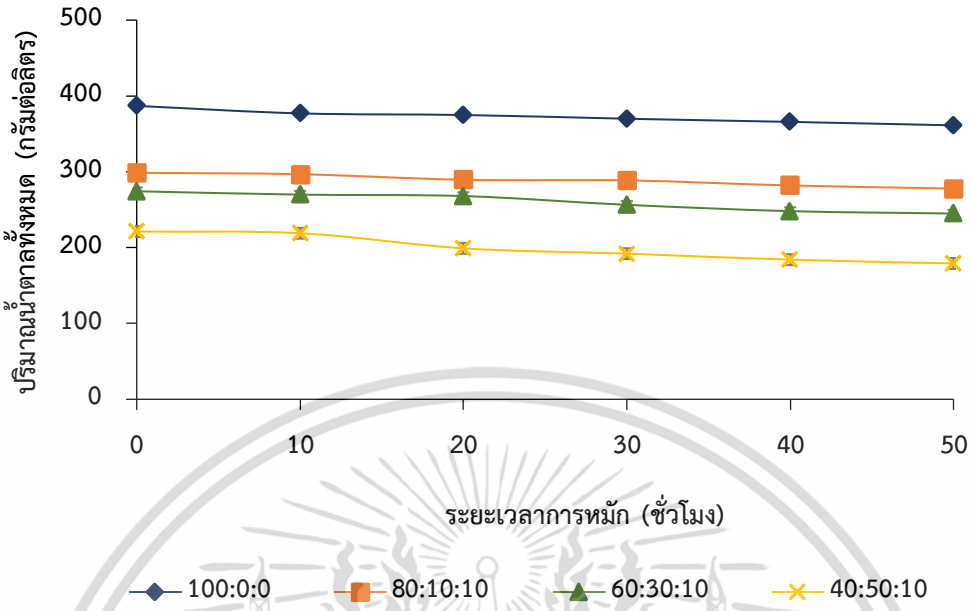
| อัตราส่วนน้ำมังคุด: น้ำมันแกว: น้ำสับปะรด | ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร) ที่ระยะเวลาการหมักต่าง ๆ (ชั่วโมง) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 |
| 100:0:0 (T1) | 386.87±0.12$^{a,A}$ | 376.99±2.11$^{a,B}$ | 374.86±0.66$^{a,B}$ | 369.95±2.90$^{a,C}$ | 365.77±3.11$^{a,C}$ | 361.23±3.34$^{a,CD}$ |
| 80:10:10 (T2) | 298.65±0.24$^{b,A}$ | 296.79±3.09$^{b,B}$ | 289.46±0.95$^{b,C}$ | 288.65±1.45$^{b,C}$ | 281.97±3.56$^{b,D}$ | 277.90±3.23$^{b,E}$ |
| 60:30:10 (T3) | 274.30±0.67$^{c,A}$ | 269.87±0.12$^{c,B}$ | 267.99±3.98$^{c,BC}$ | 256.44±1.11$^{c,D}$ | 248.1±2.45$^{c,E}$ | 244.91±2.54$^{c,F}$ |
| 40:50:10 (T4) | 221.18±2.43$^{d,A}$ | 218.96±0.54$^{d,B}$ | 199.07±3.55$^{d,C}$ | 191.9±2.76$^{d,D}$ | 184.09±0.11$^{d,E}$ | 179.09±3.87$^{d,F}$ |

**หมายเหตุ :** ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดแสดงในรูปค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

$^{abc}$ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ABC ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แสดงความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$)




**รูปที่ 4.6** การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรดอัตราส่วนต่าง ๆ หมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 50 ชั่วโมง

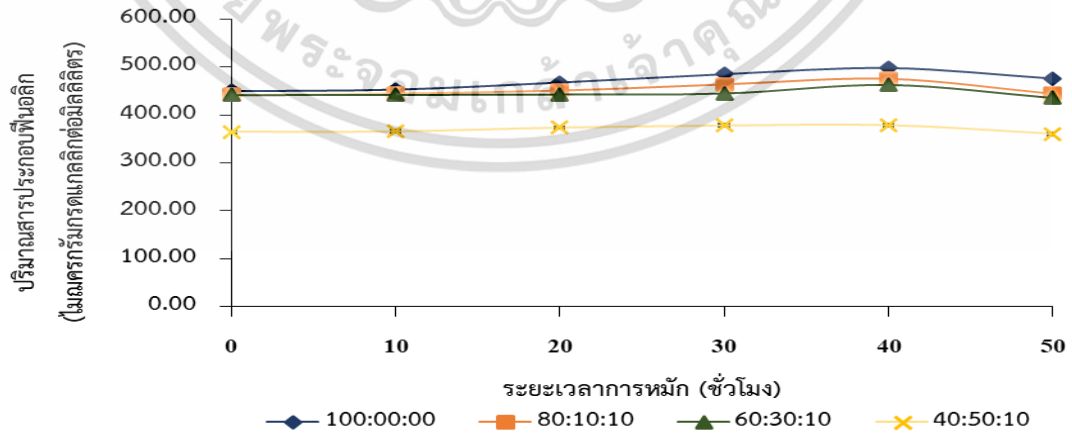
**4.4.1.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์การต้านสารอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Scavenging assay**

จากการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระของกระบวนการหมักโดยเชื้อ *L. casei* 431 เพื่อศึกษาผลพลอยได้จากกระบวนการหมักและเกิดสารชีวภาพชนิดอื่นเกิดขึ้น นอกเหนือจากกรดแลคติก ซึ่งพบว่า ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ในน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรดในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน แสดงดังตารางที่ 4.7 น้ำมังคุดในแต่ละอัตราส่วนมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาการหมัก ชั่วโมงที่ 40 น้ำมังคุดทุกอัตราส่วนมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด โดยน้ำมังคุดอัตราส่วน 100 : 0 : 0 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด 497.65±12.34 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร รองลงมาเป็นน้ำมังคุดอัตราส่วน 80 : 10 : 10 60 : 30 : 10 และ 40 : 50 : 10 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 463.62±33.12 463.02±7.81 และ 378.29±27.43 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ หลังจากนั้นปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดลดลงเล็กน้อยระยะสุดท้ายของการหมัก (50 ชั่วโมง) น้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรดอัตราส่วน 100 : 0 : 0 80 : 10 : 10 60 : 30 : 10 และ 40 : 50 : 10 มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 475.81±3.98 475.11±13.98 435.90±5.40 และ 360.63±7.86 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ การที่สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นอาจเนื่องมาจากกิจกรรมการหมักของแบคทีเรียแลคติกในการย่อยสลายสารประกอบฟีนอลิกที่มีโมเลกุลซับซ้อนให้ได้โมเลกุลเล็กลง มีผลทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทั้งหมดเพิ่มขึ้นและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น (Mikulajová *et al.*, 2021) สอดคล้องกับการทดลองของ Mantzourani *et al.*, (2018) พบว่า ในระหว่างกระบวนการหมักน้ำรากบัวเกิดการสร้างกรดแลคติกเพิ่มขึ้น และเชื้อแบคทีเรียแลคติกจะสร้างเอนไซม์บางอย่าง ย่อยสลายกรดแลคติกให้มีโมเลกุลเล็กลง ส่งผลให้เกิดสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้น

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรดจะเพิ่มขึ้นและสูงสุดในชั่วโมงที่ 20 โดยอัตราส่วน 100:0:0 80:10:10 60:30:10 และ 40:50:10 มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ร้อยละ 92.30±0.23 93.15±0.86 94.68±3.36 และ 86.73±3.20 ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.8 ซึ่งน้ำมังคุดประกอบด้วยสารประกอบแซนโทน ซึ่งอยู่ในรูป α-mangostin β- mangostin และ γ- mangostin สารชีวภาพเหล่านี้มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ (Arunrattiyakorn *et al.*, 2011) การนำผลไม้ที่มีสารเหล่านี้หมักด้วยแบคทีเรียแลคติก เช่น *Lactobacillus plantarum, L. brevis และ L. rossiae* จะทำให้น้ำหมักที่ได้มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้น อาจเนื่องมาจากกิจกรรมของเอนไซม์เอสเทอเรสที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นในระหว่างกระบวนการหมัก (So' aib *et al.*, 2018) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Mantzourani *et al.* (2018) รายงานว่า ระหว่างกระบวนการหมักกรดแลคติกของแบคทีเรียแลคติกจะมีการสร้างเอนไซม์ในการย่อยสารประกอบฟีนอลิก ส่งผลให้กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้น เช่นเดียวกับ Arunrattiyakorn *et al.* (2011) ศึกษาการหมักน้ำมังคุดด้วยเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* และ *Neosartorya spathulata* พบว่า การหมักของจุลินทรีย์เหล่านี้สามารถส่งเสริมฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสาร α-mangostin ให้สูงขึ้นได้ นอกจากนี้มีงานวิจัยในน้ำผลไม้ชนิดอื่น เช่น Martin and Matar (2005) ได้รายงานว่า ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำบลูเบอร์รี่ที่หมักด้วยเชื้อ *Serratia raccinii* จะเพิ่มสูงขึ้นภายหลังกระบวนการหมัก ซึ่งสารเหล่านี้มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง เช่น กลูตาไธโอน บิวทิเรต และโฟเลต (Wang *et al.*, 2017)




**รูปภาพที่ 4.7** ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรด หมักด้วยเชื้อ *L. casei* 431 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 50 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 4.4.2 คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์

#### 4.4.2.1 การเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิต

จากการนำน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรดอัตราส่วนต่าง ๆ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 50 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างทุก 10 ชั่วโมงมาวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตในระหว่างกระบวนการหมัก เพื่อศึกษาและคัดเลือกระยะเวลาที่เหมาะสมในการผลิตเครื่องดื่มซินไบโอติกที่มีจำนวนจุลินทรีย์เหลือรอดสูงสุด ให้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของกระทรวงสาธารณสุข อาศัยอำนาจตามความในมาตรา 5 และมาตรา 6 (3)(4)(5) และ (10) แห่งพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ.2522 พบว่า น้ำมังคุดทุกอัตราส่วนมีจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นอยู่ในช่วง 7.31 - 7.44 Log CFU/mL เมื่อระยะการหมัก 10 ชั่วโมง จำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นอยู่ในช่วง 7.37 - 7.70 Log CFU/mL โดยน้ำมังคุดอัตราส่วน 80:10:10 มีจำนวนจุลินทรีย์สูงสุด คือ 7.70±0.11 Log CFU/mL หลังจากนั้นจำนวนจุลินทรีย์ลดลงในน้ำมังคุดทุกอัตราส่วน จนถึงระยะสุดท้ายของการหมัก (50 ชั่วโมง) น้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรดอัตราส่วน 100 : 0 : 0 80 : 10 : 10 60 : 30 : 10 และ 40 : 50 : 10 มีจำนวนจุลินทรีย์ 6.03±0.06 6.40±0.61 6.38±0.54 และ 6.38±0.61 Log CFU/mL ตามลำดับ แสดงดังตาราง 4.9

**ตารางที่ 4.7** ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรดในอัตราส่วนที่แตกต่างกัน หมักด้วย *L. casei* 431 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 50 ชั่วโมง

| อัตราส่วนน้ำมังคุด:น้ำมันแกว:น้ำสับปะรด | ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร) ที่ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 |
| 100:0:0 (T1) | 449.78±16.01$^{a,C}$ | 452.95±21.92$^{a,BC}$ | 467.58±7.78$^{a,ABC}$ | 484.92±19.29$^{a,AB}$ | 497.65±12.34$^{a,A}$ | 475.81±3.98$^{a,ABC}$ |
| 80:10:10 (T2) | 441.75±6.44$^{a,A}$ | 444.83±23.80$^{a,A}$ | 444.29±2.90$^{ab,A}$ | 450.92±2.94$^{b,A}$ | 463.62±33.12$^{a,A}$ | 475.11±13.98$^{a,A}$ |
| 60:30:10 (T3) | 442.03±40.48$^{a,A}$ | 442.41±12.49$^{b,AB}$ | 443.13±11.98$^{c,C}$ | 445.25±9.68$^{b,AB}$ | 463.02±7.81$^{c,A}$ | 435.90±5.40$^{c,BC}$ |
| 40:50:10 (T4) | 364.86±20.60$^{c,A}$ | 365.40±12.15$^{c,A}$ | 373.27±0.97$^{d,A}$ | 377.53±12.77$^{b,A}$ | 378.29±27.43$^{b,A}$ | 360.63±7.86$^{bc,A}$ |

**หมายเหตุ :** ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดแสดงในรูปค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานทดลอง 3 ซ้ำ

$^{abc}$ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

$^{ABC}$ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แสดงความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในช่วง 10 ชั่วโมงของการหมัก เชื้อ *L. casei* 431 ใช้น้ำตาลและสารอาหารที่มีในน้ำผลไม้ในการเจริญเติบโต ทำให้จำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น หลังจากนั้นจำนวนจุลินทรีย์ลดลง อาจเนื่องมาจากปริมาณสารอาหารในน้ำผลไม้ลดลง ขณะเดียวกันในน้ำมังคุดมีสารที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแกรมบวก เช่น แซนโทน (Lim *et al*., 2013) ซึ่งผลการทดลองจะเห็นได้ว่าในน้ำมังคุดอัตราส่วน 100:0:0 จะพบว่ามีจำนวนจุลินทรีย์น้อยกว่าอัตราส่วนอื่นอย่างเห็นได้ชัด และในงานวิจัยนี้ได้เติมจุลินทรีย์โพรไบโอติกลงในน้ำผลไม้โดยตรงซึ่งการบ่มเพาะเลี้ยงเชื้อในน้ำผลไม้โดยตรง อาจส่งผลให้เกิดการสูญเสียจำนวนเชื้อโพรไบโอติกที่รอดชีวิต เนื่องจาก สภาวะความเป็นกรดของน้ำผลไม้ที่ใช้ ความเข้มข้นของก๊าซออกซิเจนที่ลดลง รวมทั้งปริมาณกรดอะมิโนในน้ำผลไม้ที่มีไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Granato *et al.,* 2010)

**ตารางที่ 4.8** ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรดในอัตราส่วนที่แตกต่าง กัน หมักด้วยเชื้อ *L. casei* 431 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 50 ชั่วโมง

| อัตราส่วนน้ำมังคุด: น้ำมันแกว: น้ำสับปะรด | ฤทธิ์การต้านสารอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Scavenging assay ที่ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 |
| 100:0:0 (T1) | 91.56±0.35$^{a,ABC}$ | 91.56±0.99$^{a,AB}$ | 92.30±0.23$^{a,A}$ | 90.55±0.54$^{a,ABC}$ | 89.91±2.59$^{ab,BC}$ | 88.73±2.31$^{a,C}$ |
| 80:10:10 (T2) | 85.35±1.36$^{b,C}$ | 85.35±2.23$^{a,bB}$ | 93.15±0.86$^{a,A}$ | 89.91±1.46$^{a,B}$ | 91.11±2.09$^{a,B}$ | 86.74±0.91$^{ab,C}$ |
| 60:30:10 (T3) | 86.32±0.03$^{b,A}$ | 86.32±0.45$^{b,A}$ | 94.68±3.36$^{a,A}$ | 86.58±4.88$^{ab,A}$ | 86.64±1.55$^{b,A}$ | 79.35±3.70$^{b,B}$ |
| 40:50:10 (T4) | 77.68±0.30$^{C,b}$ | 77.68±0.56$^{cA,B}$ | 86.73±3.20$^{b,A}$ | 82.25±0.11$^{b,AB}$ | 80.95±0.78$^{b,AB}$ | 78.86±6.84$^{b,B}$ |

**หมายเหตุ :** ร้อยละฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH แสดงในรูปค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

$^{abc}$ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

$^{ABC}$ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แสดงความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากการนำน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรดในอัตราส่วน 100:0:0 80:10:10 60:30:10 และ 40:50:10 หมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 50 ชั่วโมง พบว่าปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก) เพิ่มขึ้นเล็กน้อยสัมพันธ์กับค่าพีเอชที่ลดลง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดลดลง และปริมาณฟีนอลิกเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการหมัก และชั่วโมงที่ 40 มีปริมาณฟีนอกลิกสูงสุด โดยเฉพาะอัตราส่วน 80:10:10 สำหรับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่า น้ำมังคุดทุกอัตราส่วนมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 20 สำหรับจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่รอดชีวิตในน้ำมังคุดอัตราส่วนต่าง ๆ ในชั่วโมงที่ 10 น้ำมังคุดทุกอัตราส่วนมีจำนวนจุลินทรีย์สูงสุด โดยเฉพาะน้ำมังคุดอัตราส่วน 80:10:10 มีจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่รอดชีวิตสูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 4.4.3 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

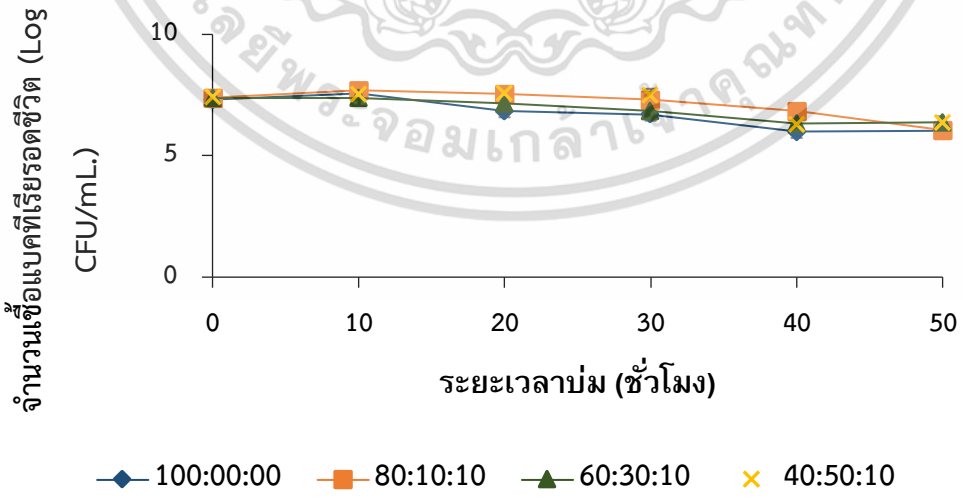
นำน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรดอัตราส่วน 100 : 0 : 0 80 : 10 : 10 60 : 30 : 10 และ 40 : 50 : 10 หมักเป็นเวลา 50 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างที่ 0 10 20 30 40 และ 50 ชั่วโมง นำมาประเมินคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี 9-Point Hedonic Scale เป็นเกณฑ์ให้คะแนนตามความชอบในช่วง 1-9 คะแนน โดยพิจารณาคุณสมบัติด้านสี กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวมของน้ำมังคุดอัตราส่วนต่าง ๆ เพื่อใช้ในการคัดเลือกสูตรอัตราส่วนของน้ำผลไม้ในการผลิตเครื่องดื่มน้ำมังคุดซินไบโอติกที่มีประโยชน์และรสชาติตรงต่อความชอบของผู้บริโภคส่วนมาก จากการทดลองพบว่า

**ตารางที่ 4.9** การเปลี่ยนแปลงจำนวนเชื้อโพรไบโอติกที่รอดชีวิตในน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรด หมักด้วยเชื้อ *L. casei* 431 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 50 ชั่วโมง

| อัตราส่วนน้ำมังคุด: น้ำมันแกว: น้ำสับปะรด | จำนวนเชื้อโพรไบโอติกที่รอดชีวิต (Log CFU/mL.) ที่ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 |
| 100:0:0 (T1) | $7.31\pm0.11^{a,AB}$ | $7.37\pm0.40^{a,AB}$ | $6.85\pm0.55^{a,B}$ | $6.71\pm0.75^{a,A}$ | $6.00\pm0.00^{b,C}$ | $6.03\pm0.06^{b,C}$ |
| 80:10:10 (T2) | $7.40\pm0.07^{a,AB}$ | $7.70\pm0.11^{a,A}$ | $7.54\pm0.24^{a,B}$ | $7.32\pm0.21^{a,AB}$ | $6.86\pm0.05^{a,AB}$ | $6.40\pm0.61^{b,C}$ |
| 60:30:10 (T3) | $7.38\pm0.23^{a,A}$ | $7.38\pm0.07^{a,A}$ | $7.16\pm0.04^{a,A}$ | $6.84\pm0.10^{a,AB}$ | $6.33\pm0.58^{ab,B}$ | $6.38\pm0.54^{a,A}$ |
| 40:50:10 (T4) | $7.44\pm0.03^{a,AB}$ | $7.55\pm0.15^{a,A}$ | $7.59\pm0.70^{a,A}$ | $7.51\pm0.76^{a,A}$ | $6.30\pm1.48^{ab,C}$ | $6.38\pm0.61^{b,C}$ |

**หมายเหตุ :** $^{abc}$ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างทางสถิติ ($p\leq0.05$)

$^{ABC}$ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอน แสดงความแตกต่างทางสถิติ ($p\leq0.05$)




**รูปที่ 4.6** การเปลี่ยนแปลงจำนวนเชื้อโพรไบโอติกที่รอดชีวิตในน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรดอัตราส่วนต่าง ๆ หมักด้วยเชื้อ *L. casei* 431 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 50 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4.4.3.1 ด้านสี**

น้ำมังคุดทุกอัตราส่วนเมื่อผ่านกระบวนการหมักเป็นเวลานานมากขึ้น คะแนนด้านสีส่วนใหญ่จะคงที่มีบางอัตราส่วนที่ลดลง โดยเฉพาะน้ำมังคุดอัตราส่วน 100 : 0 : 0 คะแนนด้านสีจะลดลงอย่างเห็นได้ชัด เมื่อเปรียบเทียบน้ำมังคุดอัตราส่วนอื่นทุกระยะเวลาการหมัก น้ำมังคุดอัตราส่วน 100 : 0 : 0 มีคะแนนด้านสีสูงสุด เนื่องจาก มีสีชมพูของน้ำมังคุด รองลงมาเป็นอัตราส่วน 80 : 10 : 10 และ 60 : 30 : 10 สำหรับน้ำมังคุดอัตราส่วน 40 : 50 : 10 มีคะแนนด้านสีน้อยที่สุด เนื่องจากอัตราส่วนนี้มีน้ำมันแกวเป็นส่วนผสมสูงกว่าอัตราส่วนอื่น มีผลทำให้น้ำมังคุดมีสีชมพูจางออกไปทางขาวขุ่น จึงได้รับคะแนนด้านสีน้อย เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า มีความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แสดงดังตารางที่ 4.10

**4.4.3.2 ด้านกลิ่น**

น้ำมังคุดอัตราส่วนต่าง ๆ เมื่อผ่านกระบวนการหมัก จะมีคะแนนด้านกลิ่นสูงขึ้นในช่วง 10 - 30 ชั่วโมงของการหมัก หลังจากนั้นคะแนนด้านกลิ่นจะลดลง เนื่องจากมีกลิ่นน้ำมังคุดหมักมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบน้ำมังคุดอัตราส่วนต่าง ๆ พบว่า น้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรดอัตราส่วน 80 : 10 : 10 มีคะแนนด้านกลิ่นสูงสุดอยู่ในช่วง 6.70-6.75 อาจเนื่องจากอัตราส่วนนี้มีน้ำมันแกวเป็นส่วนผสมร้อยละ 10 โดยปริมาตร ทำให้น้ำมังคุดเกิดกระบวนการหมักได้ดีขึ้น และไม่เกิดกลิ่นหมักมากเกินไป รองลงมาเป็นอัตราส่วน 60 : 30 : 10 และ 40 : 50 : 10 สำหรับน้ำมังคุดอัตราส่วน 100 : 0 : 0 มีกลิ่นที่เกิดจากกระบวนการหมักน้อย ทำให้ได้คะแนนด้านกลิ่นน้อย แสดงดังตารางที่ 4.11 เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า น้ำมังคุดอัตราส่วน 80:10:10 มีคะแนนด้านกลิ่นสูงสุด และแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กับน้ำมังคุดอัตราส่วนอื่น

**4.4.3.3 ด้านรสชาติ**

จากการนำน้ำมังคุดอัตราส่วนต่าง ๆ หมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 50 ชั่วโมง พบว่า เมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น รสชาติของน้ำมังคุดในแต่ละอัตราส่วนมีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก น้ำมังคุดอัตราส่วน 80 : 10 : 10 และ 60 : 30 : 10 เมื่อหมัก 10 ชั่วโมง คะแนนด้านรสชาติของน้ำมังคุดสองอัตราส่วนเพิ่มขึ้นเล็กน้อย หลังจากนั้นคะแนนด้านรสชาติของน้ำมังคุดจะคงที่หรือเปลี่ยนแปลงน้อยมาก สำหรับน้ำมังคุดอัตราส่วน 100 : 0 : 0 และ 40 : 50 : 10 เมื่อหมักนานขึ้นคะแนนด้านรสชาติจะลดลง โดยเฉพาะน้ำมังคุดอัตราส่วน 40:50:10 ซึ่งมีน้ำมันแกวเป็นส่วนผสมสูง ร้อยละ 50 จะเกิดรสชาติเปรี้ยวมาก และมีกลิ่นหมักที่แรง ทำให้ผู้บริโภคไม่ชอบ จึงได้คะแนนทดสอบด้านรสชาติต่ำสุด น้ำมังคุดอัตราส่วน 80 : 10 : 10 จะได้คะแนนด้านรสชาติสูงสุด โดยจะมีรสชาติของน้ำมังคุดและมีรสชาติที่เกิดจากกระบวนการหมักของจุลินทรีย์ที่ไม่สูงเกินไป เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่า มีความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กับน้ำมังคุดอัตราส่วนอื่น แสดงดังตารางที่ 4.12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**4.4.3.4 ความชอบโดยรวม**

น้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรดอัตราส่วน 80 : 10 : 10 มีคะแนนด้านความชอบโดยรวมสูงกว่าน้ำมังคุดอัตราส่วนอื่น ๆ ทุกระยะเวลาการหมัก ซึ่งสัมพันธ์กับคะแนนด้านรสชาติในหัวข้อ 4.4.3.3 โดยเฉพาะในชั่วโมงที่ 10 จะมีคะแนนด้านความชอบโดยรวม 7.07±0.69 เมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น คะแนนความชอบโดยรวมจะลดลง แสดงดังตารางที่ 4.13

จากผลการทดลอง จะพบว่า อัตราส่วนน้ำมังคุด: น้ำมันแกว: น้ำสับปะรด เท่ากับ 80 : 10 : 10 หมักด้วยเชื้อ *L. casei* 431 ร้อยละ 30 โดยปริมาตรน้ำผลไม้ หมักเป็นเวลา 10 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในระหว่างกระบวนการหมักมีการเปลี่ยนแปลงทางเคมี เช่น pH ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก) เพิ่มขึ้น ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มขึ้น จำนวนเชื้อโพรไบโอติกที่รอดชีวิตในน้ำมังคุดหมักสูงกว่าอัตราส่วนอื่น และการทดสอบทางประสาทสัมผัสได้รับคะแนนด้านสี กลิ่น รสชาติและความชอบโดยรวมสูงสุด จึงคัดเลือกอัตราส่วนน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรดอัตราส่วน 80 : 10 : 10 ใช้ในการศึกษาอายุการเก็บต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.10** คะแนนทางประสาทสัมผัส ด้านสีของน้ำมังคุด ผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรด หมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 50 ชั่วโมง

| **อัตราส่วนน้ำมังคุด: น้ำมันแกว:น้ำสับปะรด** | **คะแนนประสาทสัมผัสด้านสี** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | **ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)** | | | | | |
| | 0 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 |
| **100:0:0 (T1)** | 8.50±0.68[a,] | 8.63±1.65[a,] | 8.60±1.10[a,] | 8.40±1.16[a,] | 8.40±0.68[a,] | 8.43±1.01[a,] |
| **80:10:10 (T2)** | 7.63±0.72[b,] | 7.90±0.66[b,] | 7.90±0.88[b,] | 7.93±0.58[b,] | 7.63±0.72[b,] | 7.88±0.66[b,] |
| **60:30:10 (T3)** | 5.17±0.79[c,] | 5.63±.87[c,] | 5.80±0.84[c,] | 5.73±0.74[c,] | 6.17±0.79[c,] | 6.41±.30[c,] |
| **40:50:10 (T4)** | 4.57±0.57[d,] | 5.10±0.21[d,] | 5.13±0.81[d,] | 5.23±0.68[d,] | 5.54±0.97[d,] | 5.70±1.24[d,] |

**หมายเหตุ :** [abc] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

**ตารางที่ 4.11** คะแนนทางประสาทสัมผัส ด้านกลิ่นของน้ำมังคุด ผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรด หมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 50 ชั่วโมง

| อัตราส่วนน้ำมังคุด:น้ำมันแกว:น้ำสับปะรด | คะแนนประสาทสัมผัสด้านกลิ่น ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 |
| **100:0:0 (T1)** | 4.13±1.65$^{d}$ | 4.47±1.53$^{d}$ | 5.30±1.39$^{d}$ | 7.90±0.66$^{a}$ | 5.20±1.39$^{d}$ | 5.12±1.39$^{c}$ |
| **80:10:10 (T2)** | 6.70±0.66$^{a}$ | 6.72±066$^{a}$ | 6.67±0.66$^{a}$ | 6.70±1.27$^{b}$ | 6.70±0.56$^{b}$ | 6.75±0.67$^{a}$ |
| **60:30:10 (T3)** | 6.17±.37$^{b}$ | 6.2±1.34$^{b}$ | 6.70±1.28$^{b}$ | 6.57±1.10$^{d}$ | 6.57±1.27$^{a}$ | 6.87±1.27$^{b}$ |
| **40:50:10 (T4)** | 5.70±1.24$^{c}$ | 5.73±1.23$^{c}$ | 5.57±1.10$^{c}$ | 6.30±1.52$^{c}$ | 6.47±1.28$^{c}$ | 6.84±1.10$^{c}$ |

หมายเหตุ : abc ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

**ตารางที่ 4.12** คะแนนทางประสาทสัมผัส ด้านรสชาติของน้ำมังคุด ผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรด หมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 50 ชั่วโมง

| **อัตราส่วนน้ำมังคุด:น้ำมันแกว:น้ำสับปะรด** | **คะแนนประสาทสัมผัสด้านรสชาติ** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | **ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)** | | | | | |
| | 0 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 |
| **100:0:0 (T1)** | 5.07±0.64$^{c}$ | 5.3±1.39$^{d}$ | 5.67±1.06$^{b}$ | 6.47±1.11$^{b}$ | 6.57±0.64$^{b}$ | 6.31±1.89$^{b}$ |
| **80:10:10 (T2)** | 7.63±0.72$^{a}$ | 7.43±0.76$^{a}$ | 8.17±0.74$^{a}$ | 8.20±0.46$^{a}$ | 7.65±0.12$^{a}$ | 7.90±0.66$^{a}$ |
| **60:30:10 (T3)** | 6.17±0.79$^{b}$ | 6.70±1.28$^{b}$ | 6.00±0.87$^{b}$ | 5.90±0.80$^{c}$ | 6.17±0.79$^{c}$ | 6.12±0.18$^{c}$ |
| **40:50:10 (T4)** | 4.52±0.57$^{d}$ | 5.57±1.10$^{c}$ | 5.06±0.87$^{c}$ | 5.16±0.74$^{d}$ | 4.5±0.57$^{d}$ | 5.37±4.10$^{d}$ |

**หมายเหตุ :** $^{abc}$ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

**ตารางที่ 4.13** แสดงคะแนนทางประสาทสัมผัส ด้านความชอบโดยรวม ของน้ำมังคุดหมักอัตราส่วนต่าง ๆ

| อัตราส่วนน้ำมังคุด:น้ำมันแกว:น้ำสับปะรด | คะแนนประสาทสัมผัสด้านความชอบโดยรวม | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง) | | | | | |
| | 0 | 10 | 20 | 30 | 40 | 50 |
| **100:0:0 (T1)** | 6.40±1.16[b] | 6.30±1.18[b] | 6.47±1.11[b] | 6.42±1.11[b] | 6.51±1.15[b] | 6.49±1.31[b] |
| **80:10:10 (T2)** | 6.93±0.58[a] | 7.07±0.69[a] | 7.03±0.36[a] | 7.05±0.66[a] | 7.03±0.46[a] | 7.01±0.66[a] |
| **60:30:10 (T3)** | 5.73±0.24[c] | 5.80±0.74[c] | 5.90±0.81[c] | 5.59±0.49[c] | 5.58±0.80[c] | 5.50±0.20[c] |
| **40:50:10 (T4)** | 5.23±0.68[d] | 5.27±0.74[d] | 5.37±0.64[d] | 5.01±0.91[d] | 5.05±0.83[c] | 5.03±0.34[d] |

**หมายเหตุ :** [abc] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

## 4.5 ศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์น้ำมังคุดซินไบโอติก

นำน้ำมังคุดซินไบโอติกที่คัดเลือกได้จากหัวข้อ 4.4 คือ น้ำมังคุด: น้ำมันแกว: น้ำสับปะรด ในอัตราส่วน 80:10:10 หมักด้วยหัวเชื้อ *Lactobacillus casei 431®* ร้อยละ 30 โดยปริมาตรน้ำผลไม้ บ่มเป็นเวลา 10 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นำมาศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางด้านต่าง ๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น (4-10 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 30 วัน โดยเป็นการศึกษาความสามารถของอุณหภูมิตู้เย็น (4 - 10 องศาเซลเซียส) ในการช่วยรักษาคุณสมบัติต่าง ๆของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำมังคุดในระยะเวลาการเก็บรักษา ซึ่งได้ผลการทดลองดังนี้

### 4.5.1 คุณภาพทางด้านเคมี

#### 4.5.1.1 ค่า pH และปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก)

จากผลการทดลองพบว่า น้ำมังคุดซินไบโอติกหมักด้วยเชื้อ *L. casei* 431 เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิตู้เย็น (4-10 องศาเซลเซียส) ค่า pH ในน้ำมังคุดซินไบโอติกค่อย ๆลดลงจากค่าเริ่มต้นในวันที่ 0 3.29±0.03 ลดลงเหลือ 3.19±0.01 ในวันที่ 30 ของอายุการเก็บรักษา แสดงดังตารางที่ 4.14 ซึ่งการลดลงของค่า pH ของน้ำมังคุดซินไบโอติกระหว่างการเก็บรักษา สอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก) เพิ่มขึ้นเล็กน้อยและคงที่ โดยในวันที่ 0 มีปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก) ร้อยละ 0.56±0.02 เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้น ร้อยละ 0.66±0.05 ซึ่งการที่ค่า pH และปริมาณกรดทั้งหมดมีการเปลี่ยนแปลงนั้น เนื่องจาก น้ำมังคุดซินไบโอติกยังมีเชื้อจุลินทรีย์รอดชีวิตส่งผลให้ยังคงมีกิจกรรมการหมักของเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำผลไม้เกิดการสร้างกรดอินทรีย์ ทำให้ปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นและค่า pH ลดลง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Pereira *et al*., (2012) ศึกษาความคงตัวของน้ำมะม่วงหิมพานต์โพรไบโอติก เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่า ค่า pH ลดลงและปริมาณกรดเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน เนื่องจากเชื้อ *Lactobacillus casei* ยังสามารถผลิตกรดแลคติกได้ที่อุณหภูมิต่ำ และงานวิจัยของ Nualkaekul *et al*., (2011) ได้รายงานว่า น้ำส้ม น้ำเกรฟฟรุต น้ำแบล็กเคอร์แรนต์ และน้ำสับปะรด ที่หมักด้วยเชื้อ *Bifidobacterium longum* NCIMB 8809 เก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 42 วัน ปริมาณกรดแลคติกเพิ่มขึ้นในระหว่างกระบวนการเก็บรักษา

#### 4.5.1.2 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

จากผลการทดลองพบว่า ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดลดลงอย่างต่อเนื่องในระหว่างกระบวนการเก็บรักษาอุณหภูมิตู้เย็น (4-10 องศาเซลเซียส) ซึ่งวันที่ 0 มีปริมาณน้ำตาลเริ่มต้น 151.33±0.66 กรัมต่อลิตร จากนั้นปริมาณน้ำตาลค่อย ๆลดลงจนกระทั่งวันที่ 30 เหลือปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 99.14±1.14 กรัมต่อลิตร แสดงดังตารางที่ 4.14 การที่ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดลดลง เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตใช้น้ำตาลเป็นแหล่งพลังงานใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเจริญเติบโตและเกิดกระบวนการหมักในน้ำผลไม้ (Pereira *et al*.,2012) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Rodrigues *et al.,* (2011) พบว่า หลังจากกระบวนการเก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 52 วัน ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของน้ำส้ม และน้ำพีชโพรไบโอติกลดลง เนื่องจากกระบวนการหมักน้ำตาลโดยเชื้อ *Lactobacillus paracasei* L26

**4.5.1.3 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH**

เมื่อนำน้ำมังคุดซินไบโอติกอัตราส่วนที่คัดเลือกได้จากหัวข้อ 4.4 มาวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในระหว่างกระบวนการเก็บรักษา พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดค่อย ๆลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา โดยมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเริ่มต้นที่ 441.62±4.44 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงเหลือ 278.19±5.45 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร ดังตารางที่ 4.14 นอกจากนี้น้ำมังคุดซินไบโอติก มีฤทธิ์การดักจับอนุมูลอิสระลดลงในระหว่างกระบวนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น (4-10 องศาเซลเซียส) โดยวันแรกของการเก็บรักษามีค่าการดักจับอนุมูลอิสระเท่ากับ ร้อยละ 85.21±3.01 เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดลงเหลือร้อยละ 59.62±0.29 ดังตารางที่ 4.14 จากการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำมังคุดซินไบโอติกลดลงระหว่างกระบวนการเก็บรักษา อาจเกิดจากการสลายตัวของออกซิเจนในน้ำผลไม้หมัก ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมี ส่งผลให้ปริมาณฟีนอลิกและค่าการดักจับอนุมูลอิสระลดลง (Dahal *et al.*, 2020)

**4.5.2 คุณภาพทางด้านจุลินทรีย์**

**4.5.2.1 การเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิต**

เมื่อนำน้ำมังคุดซินไบโอติกอัตราส่วน ที่ได้จากการคัดเลือกในหัวข้อ 4.4 มาเก็บรักษา ที่อุณหภูมิตู้เย็นเป็นเวลา 30 วัน โดยเก็บตัวอย่างทุกๆ 5 วัน เพื่อศึกษาจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตด้วยวิธี Spread plate บนอาหารแข็งสูตร MRS บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน พบว่าน้ำมังคุดซินไบโอติก วันที่ 0 มีจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิต 7.24±0.02 Log CFU/mL จากนั้นจำนวนจุลินทรีย์ค่อย ๆลดลงจนกระทั่งมีจำนวน 2.98±0.07 Log CFU/mL ในวันที่ 30 ดังตารางที่ 4.14 จากผลการทดลองภายหลังการเก็บรักษา 5 วัน จำนวนเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกมีค่าน้อยกว่า 6 Log CFU/mL ซึ่งตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข อาศัยอำนาจตามความในมาตรา 5 และมาตรา 6 (3)(4)(5) และ (10) แห่งพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ.2522 เรื่องการใช้เชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหาร กล่าวว่า อาหารที่มีการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกจะต้องมีปริมาณจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ยังมีชีวิตคงเหลืออยู่ไม่น้อยกว่า $10^6$ CFU ต่ออาหาร 1 กรัม ตลอดอายุการเก็บรักษาของอาหารนั้น ซึ่งการลดลงของจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่รอดชีวิตในน้ำมังคุด เนื่องมาจากสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและกิจกรรมทางชีวภาพต่าง ๆ เช่น อุณหภูมิ ค่า pH และสารประกอบทางเคมีที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อจุลินทรีย์ในน้ำมังคุด ส่งผลให้จำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติกรอดชีวิตลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Daneshi *et al*. (2013) ได้ทำการศึกษาการรอดชีวิตของเชื้อโพรไบโอติก ในระหว่างการเก็บรักษาน้ำแครอทผสมน้ำนมหมักด้วยเชื้อ *L. acidophilus* LA5, *Bifidobacterium animalis subsp. Lactis* BB12, *L. plantarum subsp. plantarum* และ *L. rhamnosus* พบว่า จุลินทรีย์โพรไบโอติกที่รอดชีวิตลดลงในระหว่างการเก็บรักษา

**4.5.2.2 การทดสอบการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นในระหว่างการเก็บรักษาน้ำมังคุดซินไบโอติก**

เมื่อนำน้ำมังคุดซินไบโอติกตรวจเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มยีสต์และราที่ปนเปื้อนในระหว่างกระบวนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น (4-10 องศาเซลเซียส) พบว่า ไม่พบการเจริญของยีสต์และราตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 30 วัน อาจเนื่องมาจาก น้ำมังคุดซินไบโอติกมีสารประกอบอินทรีย์บางชนิดที่สามารถยับยั้งเชื้อราและยีสต์ได้ และอุณหภูมิในการเก็บรักษา (4-10 องศาเซลเซียส) เป็นอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของรา รวมทั้งค่าความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำมังคุดซินไบโอติกมีค่าอยู่ในช่วง 3.19-3.40 ซึ่งไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา (Tudor and Board., 1993) นอกจากนี้ไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* และ *Coliform* เช่นกัน เนื่องจากมีอุณหภูมิและค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* และ *Coliform* โดยอุณหภูมิและค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *E. coli* คือช่วงอุณหภูมิ 11-49 องศาเซลเซียสและค่าความเป็นกรด-ด่าง อยู่ในช่วง 4.5 ถึง 9 (Ferrer *et al*., 2003; Son and Taylor., 2021) Kim *et al*., (2019) รายงานว่า เชื้อโพรไบโอติกสามารถผลิตสารบางชนิดที่สามารถต้านและทำลายจุลินทรีย์บางชนิด (Antimicrobial agent) เช่น กรดแลคติก แบคเทอริโอซิน (Bacteriocin) เป็นต้น โดยเชื้อ *Lactobacillus* เป็นเชื้อโพรไบโอติกที่มีความสามารถในการต้านเชื้อ *E. coli* เชื้อ *Salmonella spp*. และเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร (Pathogen) บางชนิดได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mantzourani *et al*., (2018) ได้ทำการหมักน้ำรากบัว โดยเชื้อ *Lactobacillus plantarum* ATCC 14917 และทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น (4 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 28 วัน พบว่า ไม่พบการเจริญเติบโตของยีสต์ รา รวมไปถึงแบคทีเรีย *Coliform* ในระหว่างการเก็บรักษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.14** การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมี และจุลินทรีย์ระหว่างการเก็บรักษาน้ำมังคุดซินไบโอติก ที่อุณหภูมิตู้เย็น (4-10 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 30 วัน

| วันที่ | ค่าการเป็นกรด-ด่าง (pH) | ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก) | ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร) | ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร.) | ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (ร้อยละ) | จำนวนเชื้อเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่รอดชีวิต (Log CFU/mL.) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 0 | 3.29±0.03$^{a}$ | 0.56±0.02$^{f}$ | 151.33±0.66$^{a}$ | 441.62±4.44$^{a}$ | 85.21±3.01$^{a}$ | 7.24±0.02$^{a}$ |
| 5 | 3.27±0.01$^{b}$ | 0.58±0.01$^{e}$ | 139.14±3.02$^{b}$ | 423.62±5.80$^{b}$ | 85.08±0.12$^{a}$ | 6.03±0.01$^{a}$ |
| 10 | 3.23±0.02$^{c}$ | 0.61±0.04$^{d}$ | 133.05±0.66$^{c}$ | 398.62±4.21$^{c}$ | 84.93±0.36$^{a}$ | 5.30±0.00$^{b}$ |
| 15 | 3.22±0.01$^{c}$ | 0.61±0.01$^{cd}$ | 114.38±1.75$^{d}$ | 395.76±7.80$^{c}$ | 84.87±1.36$^{a}$ | 4.82±0.02$^{c}$ |
| 20 | 3.21±0.01$^{cd}$ | 0.62±0.01$^{c}$ | 109.81±1.32$^{e}$ | 331.57±4.86$^{d}$ | 80.69±0.00$^{b}$ | 3.94±0.05$^{d}$ |
| 25 | 3.20±0.01$^{de}$ | 0.63±0.01$^{b}$ | 105.24±0.66$^{f}$ | 298.43±9.91$^{e}$ | 76.53±0.76$^{c}$ | 3.60±0.09$^{e}$ |
| 30 | 3.19±0.01$^{e}$ | 0.66±0.05$^{a}$ | 99.14±1.14$^{g}$ | 278.19±5.45$^{f}$ | 59.62±0.29$^{d}$ | 2.98±0.07$^{f}$ |

**หมายเหตุ :** $^{abc}$ ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

**4.5.3 คุณภาพทางประสาทสัมผัส**

เมื่อพิจารณาคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำมังคุดชินไบโอติกอัตราส่วน 80: 10: 10 ที่เก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิตู้เย็น (4-10 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 30 วัน พบว่า คะแนนด้านสีของน้ำมังคุดชินไบโอติกมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย วันที่ 0 มีคะแนน 6.68±1.17 และวันที่ 30 มีคะแนนด้านสี 6.70±1.14 คะแนนด้านกลิ่นมีคะแนนลดลงจากวันที่ 0 มีคะแนน 6.59±1.82 วันที่ 30 มีคะแนน 6.09±1.57 คะแนนด้านรสชาติวันที่ 0 มีคะแนน 6.91±1.66 วันที่ 30 มีคะแนน 6.77±1.60 สำหรับคะแนนความชอบโดยรวมของน้ำมังคุดชินไบโอติก พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมาก โดยวันที่ 0 มีคะแนน 6.86±1.49 วันที่ 30 มีคะแนน 6.86±1.36 แสดงดังรูปที่ 4.7

**รูปภาพที่ 4.7** การทดสอบทางประสาทสัมผัสของเครื่องดื่มน้ำมังคุดชินไบโอติกที่ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน

จากการเก็บรักษาน้ำมังคุดชินไบโอติก ที่อุณหภูมิตู้เย็น (4-10 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 30 วัน พบว่าคุณภาพทางเคมี และทางจุลินทรีย์ลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา โดยต้องการผลิตน้ำมังคุดชินไบโอติก ซึ่งมีจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติกเหลือรอดมากกว่า 6 Log CFU/mL จะสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็นได้ 5 วัน หลังจาก 5 วัน น้ำมังคุดจะไม่มีคุณสมบัติเป็นน้ำมังคุดชินไบโอติก แต่น้ำมังคุดหมักสามารถเก็บได้อย่างน้อย 30 วัน โดยรสชาติยังเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ขณะเดียวกันงานวิจัยนี้ต้องการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำมังคุดชิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไบโอติกในรูปแบบชนิดผงแห้ง โดยการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze-dry) เพื่อง่ายต่อการเก็บรักษา และการบริโภค

## 4.6 การศึกษาการทำผงแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze-dry)

นำน้ำมังคุดซินไบโอติก ที่ได้จากหัวข้อ 4.4 ซึ่งมีปริมาณเชื้อเริ่มต้น 7.24±0.02 Log CFU/mL ผสมกับผงอินูลินความเข้มข้นแตกต่างกัน คือ ร้อยละ 10 20 และ 30 โดยปริมาตรของน้ำผลไม้ จากนั้นนำมาทำแห้งด้วยความเย็นเยือกแข็ง (Freeze-dried) ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 ชั่วโมง เพื่อศึกษาความสามารถในการช่วยห่อหุ้มเซลล์เชื้อจุลินทรีย์ในสภาวะที่มีอุณหภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็งของอินูลิน และการเปลี่ยนแปลงของคุณสมบัติทางกายภาพ ซึ่งหลังจากการทำแห้งพบว่า ผงน้ำมังคุดซินไบโอติกที่ประกอบด้วยอินูลินความเข้มข้น ร้อยละ 10 20 และ 30 โดยปริมาตรน้ำผลไม้ มีความชื้น ร้อยละ 17.68±0.02 15.34±0.01 และ 13.22±0.02 ตามลำดับ และมีปริมาณน้ำอิสระ (Water activity) 0.66±0.01 0.58±0.01 และ 0.51±0.01 ตามลำดับ นอกจากนี้พบว่า เชื้อโพรไบโอติกรอดชีวิตในผงน้ำมังคุดซินไบโอติกที่ประกอบด้วยอินูลินความเข้มข้น ร้อยละ 20 มีจำนวนเชื้อโพรไบโอติกรอดชีวิตสูงสุด 7.13±0.14 Log CFU/mL รองลงมา คือ ผงน้ำมังคุดซินไบโอติกที่ประกอบด้วยอินูลิน ร้อยละ 30 และ 10 โดยมีจำนวนโพรไบโอติก 6.89±0.13 และ 6.38±0.05 Log CFU/mL ตามลำดับ การที่เชื้อโพรไบโอติกสามารถมีชีวิตรอดได้ เนื่องจาก อินูลินห่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย ซึ่งมีผลเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติกได้ (Pereira *et al*.,2014) และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Paim *et al.,* (2016) ได้ทำการห่อหุ้มเชื้อโพรไบโอติกด้วยสารไฮโดรคอลลอยด์ คือ มอลโตรเด็กตรินซ์ อินูลิน และโอลิโกฟรุกโตส ในอัตราส่วนดังต่อไปนี้ 100:0:0 50:50:0 50:0:50 และ 50:25:25 ตามลำดับ โดยมีจำนวนเชื้อโพรไบโอติกเริ่มต้น 10 Log CFU/g หลังจากทำแห้งพบว่า ทุกอัตราส่วนสามารถป้องกันการสูญเสียจำนวนเซลล์ของเชื้อโพรไบโอติกได้ โดยทุกอัตราส่วนยังคงมีเชื้อโพรไบโอติกที่รอดชีวิตอยู่ในช่วง 10 Log CFU/g เช่นเดิม เช่นเดียวกับ Kingwatee *et al.,* (2019) ได้ศึกษาการทำแห้งโดยการนำน้ำลิ้นจี่ที่เติม *L. casei* 01 และผสมกับมอลโตเด็กตรินซ์ กัมอราบิก และอินูลิน พบว่า สารไฮโดรคอลลอยด์เหล่านี้สามารถช่วยลดการสูญเสียเซลล์ *L. casei* 01 ได้ ซึ่งอินูลินเป็นหนึ่งในสารไฮโดรคอลลอยด์ที่สามารถใช้ห่อหุ้มเซลล์ของเชื้อโพรไบโอติกเพื่อป้องกันจากอุณหภูมิของการทำแห้งได้ (Fritzen-Freire *et al.,* 2012) นอกจากนี้ผงน้ำมังคุดซินไบโอติก ที่ประกอบด้วยปริมาณเชื้อโพรไบโอติก *L. casei 431* ที่รอดชีวิตมากกว่า 6 Log CFU/g และมีอินูลินเป็นพรีไบโอติกที่ใช้เป็นสารไฮโดรคอลลอยด์ในการห่อหุ้มเซลล์โพรไบโอติก ถือเป็นผลิตภัณฑ์ซินไบโอติก (Synbiotic) เนื่องจาก มีการทำงานร่วมกันของโพรไบโอติกและพรีไบโอติก อีกทั้งยังช่วยส่งเสริมการอยู่รอดของเชื้อแบคทีเรียชนิดดีในลำไส้ได้ (Chen *et al.,* 2005) และจากการทดสอบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อ *E.coli Coliform* ยีสต์ และราในผงน้ำมังคุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.15** การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ และจุลินทรีย์ของผงน้ำมังคุดซินไบโอติก

| อัตราส่วนอินูลินในน้ำมังคุดซินไบโอติก (ร้อยละ) | คุณสมบัติทางกายภาพและทางจุลินทรีย์ | | |
|---|---|---|---|
| | ความชื้น (ร้อยละ) | ปริมาณน้ำอิสระ | จำนวนเชื้อจุลินทรีย์รอดชีวิต (Log CFU/g) |
| 10 | 17.68±0.02[a] | 0.66±0.01[a] | 6.38±0.05[c] |
| 20 | 15.34±0.01[b] | 0.58±0.01[b] | 7.13±0.14[a] |
| 30 | 13.22±0.02[c] | 0.51±0.01[c] | 6.89±0.13[b] |

**หมายเหตุ** : [abc] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้ง แสดงความแตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากการผลการทดลองข้างต้น จึงนำผงน้ำมังคุดซินไบโอติกที่ประกอบด้วยอินูลิน ร้อยละ 20 โดยปริมาตรทั้งหมด มาทำการคืนรูปเป็นเครื่องดื่มให้มีปริมาตรเท่าเดิมก่อนการทำแห้ง หลังจากการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของผงแห้งน้ำมังคุด พบว่า มีค่า pH 3.31±0.01 ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก) 0.55±0.01 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 152.23±1.23 กรัมต่อลิตร ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 431.08±0.31 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร และ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (ร้อยละ) 83±0.09 ซึ่งก่อนการทำแห้งน้ำมังคุดซินไบโอติก มีค่า pH 3.29±0.01 ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก) 0.56±0.01 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด 153.56±4.02 กรัมต่อลิตร ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 427±0.35 ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร และ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (ร้อยละ) 85.06±0.17 นอกจากนี้ได้ทำการวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่า ค่า pH ปริมาณกรดทั้งกมด (ร้อยละกรดแลคติก) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ทั้งก่อนทำแห้ง และหลังการทำแห้งและคืนรูป ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และจำนวนเชื้อโพรไบโอติกที่รอดชีวิตทั้งก่อนทำแห้ง และหลังการทำแห้งและคืนรูป พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 และจากผลการทดลอง คุณสมบัติทางเคมีมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย เนื่องจาก กระบวนการทำแห้งที่ผสมอินูลินซึ่งเป็นสารไฮโดรคอลลอยด์สามารถช่วยปกป้องและเพิ่มประสิทธิภาพในการรักษาสภาพสารประกอบทางชีวภาพจากสภาพแวดล้อมได้ (Mihalcea *et al.,* 2020)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.16** คุณภาพทางเคมีและจุลินทรีย์ของน้ำมังคุดหมักผสมอินูลินความเข้มข้นร้อยละ 20 ก่อนและหลังการทำแห้งแบบเยือกแข็ง

| คุณสมบัติ | ก่อนการทำแห้ง | หลังการทำแห้งและคืนรูป | Sig. (2-tailed) |
|---|---|---|---|
| **จำนวนเชื้อโพรไบโอติกที่รอดชีวิต (Log CFU/mL)** | 7.05±0.02 | 6.85±0.14 | 0.14 |
| **ค่า pH** | 3.29±0.01 | 3.31±0.01 | 0.04 |
| **ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก)** | 0.56±0.01 | 0.55±0.01 | 0.78 |
| **ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (กรัมต่อลิตร)** | 153.56±4.02 | 152.23±1.23 | 0.94 |
| **ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร)** | 427.00±0.35 | 431.08±0.31 | 0.09 |
| **ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (ร้อยละ)** | 85.06±0.17 | 83.04±0.09 | 0.06 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 5

# สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

## 5.1 สรุปผลการวิจัย

1) จากการศึกษาการเตรียมกล้าเชื้อ *Lactobacillus casei 431®* ในน้ำผลไม้ชนิดต่าง ๆ คือ น้ำมังคุด น้ำมันแกว และน้ำสับปะรด ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง พบว่าเชื้อ *L. casei* 431® เจริญได้ดีในน้ำมันแกว โดยมีจำนวนจุลินทรีย์ 7.29±0.08 Log CFU/mL

2) ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการเตรียมกล้าเชื้อของ *L. casei* 431 ในน้ำมันแกว พบว่า *L. casei* 431 มีการเพิ่มจำนวนตามระยะเวลาการเพาะเลี้ยง และมีปริมาณสูงสุดในชั่วโมงที่ 15 มีจำนวนจุลินทรีย์ 7.64±0.01 Log CFU/mL หลังจากนั้นจำนวนจุลินทรีย์จะลดลง การเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ในอาหารเหลวสูตร MRS ก็เป็นไปในลักษณะเดียวกัน

3) ศึกษาปริมาณกล้าเชื้อของ *L. casei* 431 ในน้ำมังคุดที่หมักด้วยปริมาณกล้าเชื้อที่แตกต่างกัน คือ ร้อยละ 10 20 และ 30 โดยปริมาตรน้ำมังคุด บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง โดยปริมาณเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกเริ่มต้นของน้ำมังคุดที่หมักด้วยกล้าเชื้อ ร้อยละ 10 20 และ 30 โดยปริมาตรน้ำมังคุด คือ 6.02±0.71 6.36±0.23 และ 6.78±0.06 Log CFU/mL ตามลำดับ หลังจากหมักครบ 15 ชั่วโมง พบว่า น้ำมังคุดที่หมักด้วยกล้าเชื้อ ร้อยละ 30 โดยปริมาตรน้ำมังคุด มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตสูงสุด 7.09±0.06 รองลงมา คือ น้ำมังคุดที่หมักด้วยกล้าเชื้อ ร้อยละ 20 และ 10 โดยปริมาตรน้ำมังคุด 6.57±0.13 6.19±0.23 Log CFU/mL ตามลำดับ

4) ศึกษาอัตราส่วนน้ำมังคุดที่เหมาะสมที่นำมาใช้หมัก จากการนำน้ำมังคุดผสมน้ำมันแกวและน้ำสับปะรดในอัตราส่วน 100 : 0 : 0 80 : 10 : 10 60 : 30 : 10 และ 40 : 50 : 10 หมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 50 ชั่วโมง พบว่า ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละกรดแลคติก) เพิ่มขึ้นเล็กน้อยสัมพันธ์กับค่าพีเอชที่ลดลง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดลดลง และปริมาณฟีนอลิกเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการหมัก และชั่วโมงที่ 40 มีปริมาณฟีนอกลิกสูงสุด โดยเฉพาะอัตราส่วน 80:10:10 สำหรับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่า น้ำมังคุดทุกอัตราส่วนมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 20 สำหรับจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่รอดชีวิตในน้ำมังคุดอัตราส่วนต่าง ๆ ในชั่วโมงที่ 10 น้ำมังคุดทุกอัตราส่วนมีจำนวนจุลินทรีย์สูงสุด โดยเฉพาะน้ำมังคุดอัตราส่วน 80:10:10 มีจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่รอดชีวิตสูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5) ศึกษาอายุการเก็บรักษาน้ำมังคุดซินไบโอติก คือ น้ำมังคุด: น้ำมันแกว: น้ำสับปะรด ในอัตราส่วน 80 : 10 : 10 หมักด้วยหัวเชื้อ *Lactobacillus casei* 431® ร้อยละ 30 โดยปริมาตรน้ำผลไม้ บ่มเป็นเวลา 10 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นำมาศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางด้านต่าง ๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็น (4-10 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 30 วัน พบว่าสามารถเก็บรักษาเครื่องดื่มน้ำมังคุดซินไบโอติกได้เพียง 5 วัน เนื่องจาก จำนวนเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกมีค่าน้อยกว่า 6 Log CFU/mL ซึ่งตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข อาศัยอำนาจตามความในมาตรา ๕ และมาตรา ๖ (๓)(๔)(๕) และ (๑๐) แห่งพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ.๒๕๒๒ เรื่องการใช้เชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหาร กล่าวว่า อาหารที่มีการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกจะต้องมีปริมาณจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ยังมีชีวิตคงเหลืออยู่ไม่น้อยกว่า $10^6$ CFU ต่ออาหาร 1 กรัม และขณะเดียวกันได้ทำการศึกษากระบวนการทำแห้งด้วยความเย็นเยือกแข็งของน้ำมังคุดซินไบโอติก พบว่า ผงน้ำมังคุดซินไบโอติกที่ประกอบด้วยอินูลินความเข้มข้น ร้อยละ 20 สามารถเป้องกันเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกได้ดีที่สุด

**5.2 ข้อเสนอแนะ**

จากการศึกษากระบวนการผลิตเครื่องดื่มน้ำมังคุดซินไบโอติก พบว่า ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นมีปริมาณน้อย เมื่อผ่านกระบวนการหมักน้ำมังคุดมีสารที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Lactobacillus casei* ทำให้ปริมาณเชื้อลดต่ำลง ซึ่งต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานของเครื่องดื่มโพรไบโอติก (ต้องมีเชื้อโพรไบโอติกที่รอดชีวิตมากกว่า 6 CFU/mL) ดังนั้นควรเพิ่มปริมาณเชื้อเริ่มต้นให้สูงกว่านี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# เอกสารอ้างอิง

กนกวรรณ ยอดอินทร์. 2556. “การผลิตกรดแลคติกจากแป้งด้วยเชื้อแบคทีเรียแลคติก”. *Food*. ปีที่ 43: 40-46.

กลุ่มพัฒนาเศรษฐกิจฐานราก กองนโยบายการสร้างความเข้มแข็งทางการค้า สำนักงานนโยบายและยุทธศาสตร์การค้า. 2563. **ศักยภาพและอนาคตของมังคุดราชินีผลไม้ไทย.** (ออนไลน์) https://xn--42ca1c5gh2k.com/wp-content/uploads/2020/08/79606 _finally.pdf

ปิ่นมณี ขวัญเมือง. 2560. “มันแกว: คุณสมบัติเพื่อการผลิตเครื่องดื่มฟังก์ชัน”. *วารสารครุศาสตร์อุตสาหกรรม* . ปีที่ 16(3): 1-6.

สำนักพัฒนาเกษตรกร กรมส่งเสริมการเกษตร. 2554. **มหัศจรรย์มังคุดไทย.** เล่มที่ 2. (ออนไลน์) https://www.doa.go.th/plprotect/wp-content/uploads/Km/mangosteen.pdf.

สันติ ช่างเจรจา, รุ่งนภา ช่างเจรจา, นิอร โฉมศรี, ยุทธนา เขาสุเมรุ และ ชีติ ศรีตนทิพย์. 2562. **กระบวนการเพิ่มประสิทธิภาพสับปะรด.** สำนักพิมพ์เอ็ม ดี ดี กรุ๊ป. เชียงใหม่.

สิรินดา ยุ่นฉลาด และสุจิตรา ทนสูงเนิน. 2552. “การผลิต D-lactic acid โดยแบคทีเรียกรดแลคติคเพื่อผลิตพลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพ”. *วารสารศูนย์บริการวิชาการ*. ปีที่ 17: 16-23.

Acevedo-Martínez, E., Gutiérrez-Cortés, C., García-Mahecha, M. and Díaz-Moreno, C. 2018. “Evaluation of viability of probiotic bacteria in mango (*Mangifera indica* L. Cv. “Tommy Atkins”) beverage.” *Revista DYN.* 85(207): 84-92.

Chaplin, M.F. 1986. **In carbohydrate analysis.** 1–36. Monosaccharides. Oxford: IRL Press.

Chidambara, M. 2002. “Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models.” *Journal of agricultural and food chemistry*. 50(1): 81-86.

Cruz, A.G., Cadena, R.S., Walter, E.H.M., Mortazavian, A.M., Granato, D., Faria, J.A.F. and Bolini, H.M.A. 2010. “Sensory analysis: relevance for prebiotic, probiotic, and synbiotic product development.” *Comprehensive reviews in food science and food safety.* 9: 358-373.

Dahal, S., Ojha, P. and Kark, B. P. 2020. “Functional quality evaluation and shelf-life study of symbiotic yacon juice.” *Food science and nutrition*. 8: 1546–1553

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., and Smith, F. 1956. “Colorimetric method for determination of sugars and related substances.” *Analytical chemistry*. 28: 350-356.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton J.K., Rebers, P.A. and Smith F. 1956. “Colorimetric method for determination of sugars and related substances.” *Analytical chemistry*. 28: 350-356.

Ellendersen, L. D. S. N., Granato, D., Guergoletto, K. B. and Wosiacki, G. 2012. “Development and sensory profile of a probiotic beverage from apple fermented with *Lactobacillus casei.” Engineering in life science.* 4: 475-485.

Fritzen-Freire, C. B., Prudencio, E. S., Amboni, R. D. M. C., Pinto, S. S., Murakami, A. N. and Murakami, F. S. 2012. “Microencapsulation of bifidobacteria by spray drying in the presence of prebiotics.” *Food Research International*. 45: 306-312.

Gao, Y., Hamid, N., Gutierrez-Maddox, N., Kantono, K., and Kitundu, E. 2019. “Development of a probiotic beverage using breadfruit flour as a substrate.” *Foods.* 8: 1-19.

Gamage, S.M., Mihirani, M.K.S., Perera, O.D.A.N. and Weerahewa, H.L.D. 2016. “Development of synbiotic beverage from beetroot juice using beneficial probiotic *Lactobacillus casei* 431.” *Ruhunajournal of Science*. 7: 64-69.

Guarner, F., Khan A.G., Garisch, J., Eliakim, R., Gangl, A., Thomson, A., Krabshuis, J. and Lemair, T. 2011. **Probiotics and prebiotics**. *World gastroenterology organisation global guidelines*. 1-28.

Kamtekar, S., Keer, V. and Patil, V. 2014. “Estimation of phenolic content, flavonoid content, antioxidant and alpha amylase inhibitory activity of marketed polyherbal formulation.” *Journal of applied pharmaceutical science*. 4: 061-065.

Kingwatee, N., Apichartsrangkoon, A., Chaikham, P., Worametrachanon, S., Techarung, J. and Pankasemsuk, T. 2015. “Spray drying *Lactobacillus casei* 01 in lychee juice varied carrier materials.” *LWT - Food Science and Technology*, 62: 847-853.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Liu, Y., Chen, H., Chen, W., Zhong, Q., Zhang, G. and Chen, W. 2018. "Beneficial effects of tomato juice fermented by *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus casei* antioxidation, antimicrobial effect, and volatile profiles." *Molecules*. 23: 1-18.

Maftei, N.M. 2019. **Probiotic, prebiotic and synbiotic products in human health.** *Frontiers and New Trends in the Science of Fermented Food and Beverages.* (ออนไลน์). https://www.intechopen.com/books/frontiers-and-new-trends-in-the-.

Mihalcea, L., Barbu, V., Enachi, E., Andronoiu, D.G., Râpeanu, G., Stoica, M., Dumitracu, L. and Stănciuc, N. 2020. "Microencapsulation of Red Grape Juice by Freeze Drying and Application in Jelly Formulation." *Food Technology and Biotechnology*. 58(1): 20-28.

Nongbua, B., Aungsuratana, A. and Saridnirun, P. 2018. "Capability development in export mangosteen production through supply chain, Muang district, Chanthaburi provincial areas." *Veridian e-journal, Silpakorn university.* 10: 807-821.

Nguyen, B.T., Bujna, E., Fekete, N., Tran, A.T.M., Rezessy-Szabo, J.M., Prasad, R. and Nguyen, Q.D. 2019. "Probiotic beverage from pineapple juice fermented with *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* strains." *Frontiers in nutrition.* 6: 1-7.

Paim, D. R.S.F., Costa, S.D.O., Walter, E.H.M. and Tonon R.V. 2016. "Microencapsulation of probiotic *jussara* (Euterpe edulis M.) juice by spray drying". *LWT-Food science and technology*. 74: 21-25.

Parfit, E. H. 1934. **A study of methods of determining the numbers of yeasts and molds in butter**. Iowa State College. 1-160.

Pereira, A. L. F., Almeida, F. D. L., Jesus, A. L. T. D., Costa, J. M. C. D., and Rodrigues, S. 2013. "Storage stability and acceptance of probiotic beverage from cashew apple juice." *Food bioprocess technology*. 6: 3155-3165.

Petrova, P. and Petrova, K. 2020. "Lactic acid fermentation of cereals and pseudocereals: Ancient nutritional biotechnologies with modern applications." *Nutrients.* 12: 1118.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Pineiro, M. and Stanton, C. 2007. “Probiotic bacteria: Legislative framework requirements to evidence basis.” *The journal of nutrition effects of probiotics and prebiotics.* 137: 850S-853S.

Ranadheera, C.H., Vidanarachchi, J.K., Rocha, R.S., Cruz, A.G. and Ajlouni, S. 2017. “Probiotic delivery through fermentation: Dairy vs. Non-dairy beverages.” *Fermentation.* 3: 67.

Wee, Y.J., Kimand, J.N. and Ryu, H.W. 2006. “Biotechnological production of lactic acid and its recent applications.” *Biotechnology.* 44(2): 163-172.

Sanchez-Rangel, J.C., Benavides, J., Heredia, J. B., CisnerosZevallosc, L. and Jacobo-Velazquez, D.A. 2013. “The Folin–Ciocalteu assay revisited: improvement of its specificity for total phenolic content determination.” *Analytical methods*. 5: 5990-5999.

Shirazi, O. U., Khattak, M. M. A. K., Mohd, N. A., Shukri and Nasyriq, A. M. N. 2014. “Determination of total phenolic, flavonoid content and free radical scavenging activities of common herbs and spices.” *Journal of pharmacognosy and phytochemistry*. 3: 104-108.

Shukla, P. and Kushwaha, A. 2017. “Development of probiotic beverage from whey and orange juice.” *Journal of nutrition and food sciences.* 7(5): 1-4

So’aib, M.S. and Malek, N.A.H.N.A. 2018. “Population dynamics and biodiversity during spontaneous fermentation of *Garcinia mangostana* pericarps.” *Malaysian Journal of Chemical Engineering & Technology*. 1. 14-21.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ก
# อาหารเลี้ยงเชื้อ

**1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS**

| | | |
|---|---|---|
| Dextrose | 20 | กรัม |
| Meat peptone | 10 | กรัม |
| Beef extract | 10 | กรัม |
| Yeast extract | 5 | กรัม |
| Sodium acetate | 5 | กรัม |
| $K_2HPO_4$ | 2 | กรัม |
| Ammonium citrate | 2 | กรัม |
| Tween 80 | 1 | กรัม |
| Magnesium sulfate | 0.1 | กรัม |
| Manganese sulfate | 0.05 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1,000 | มิลลิลิตร |

ปรับค่า pH 6.5-6.8 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 นอร์มอล ละลายให้เข้ากัน จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

**2. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA)**

| | | |
|---|---|---|
| Potatoes | 250 | กรัม |
| Glucose | 20 | กรัม |
| Agar | 15 | กรัม |
| น้ำ | 1,000 | มิลลิลิตร |

ต้มมันฝรั่งจนมันฝรั่งสุก กรองเอาส่วนน้ำ เติมน้ำตาลกลูโคสและผงวุ้น ให้ความร้อนจนผงวุ้นละลายนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

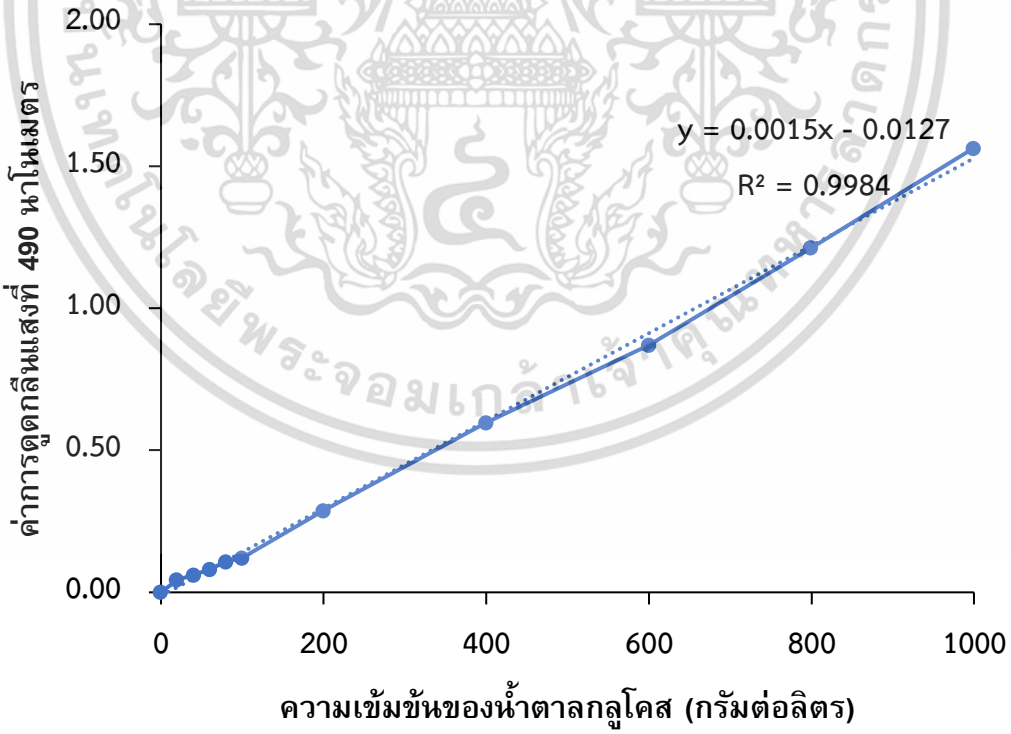
# ภาคผนวก ข

# กราฟมาตรฐาน

**1) ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด โดยวิธีฟีนอล-ซัลฟูริก ดัดแปลงจาก Dubois *et al.* (1956) และ Chaplin (1986)**

**1.1) การเตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐาน**

หลังจากการนำกลูโคส (D(+)Glucose Anhydrous) อบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง และทำให้เย็นในโถดูดความชื้น เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นชั่ง 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายกลูโคสที่มีความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางความเข้มข้นด้วยน้ำกลั่น ดังนี้ 0 20 40 60 80 100 200 400 600 800 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายฟีนอล ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้นร้อยละ 98 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน และทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ทำความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ เมื่อครบเวลานำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร จากนั้นนำข้อมูลที่ได้สร้างกราฟมาตรฐานกลูโคส ดังรูปภาพที่ ข-1




**รูปภาพที่ 4.8** ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 นาโนเมตร และความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส (กรัมต่อลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

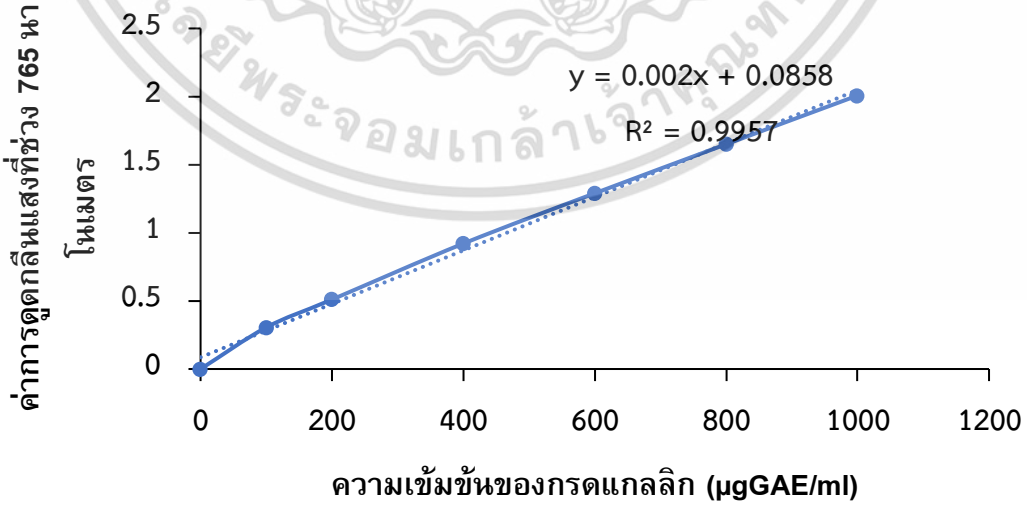
**1.2) การหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของตัวอย่าง**

นำตัวอย่างปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำส่วนใส ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลายฟีนอล ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร และสารละลายกรดซัลฟูริกความเข้มข้น ร้อยละ 98 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน และทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำตัวอย่างไปวัดการดูดกลืนแสงที่ช่วงความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร นำค่าที่ได้เปรียบเทียบกับกราฟกลูโคสมาตรฐานในข้างต้น และคำนวณเป็นปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ในหน่วยไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

**2) การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยดัดแปลงจาก Shirazi *et al.* (2014) และ Chidambara (2002)**

**2.1) การเตรียมสารละลายกรดแกลลิกมาตรฐาน**

เตรียมโดยชั่งกรดแกลลิก 0.1 กรัม ละลายในเอทานอลบริสุทธิ์ และปรับปริมาตรด้วยเอทานอลบริสุทธิ์จนครบ 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายกรดแกลลิกความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการเจือจางความเข้มข้นสารละลายด้วยเอทานอล ดังนี้ 0 50 100 200 400 600 800 และ 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารละลายในแต่ละความเจือจาง ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ใส่ลงใน 96-Well plate และเติมสาระละลาย Folin-Ciocalteu phenol ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 6 นาที และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 80 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วง 765 นาโนเมตร และนำค่ามาสร้างกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ในหน่วย µgGAE/ml ดังรูปภาพที่ ข-2




**รูปภาพที่ 4.9** ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร และความเข้มข้นของกรดแกลลิก (µgGAE/ml)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2) การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด**

นำตัวอย่างที่ผ่านการปั่นเหวี่ยง ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลาย Folin-Ciocalteu phenol ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ใน 96-Well plate ทิ้งไว้ 6 นาที และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 80 ไมโครลิตร หลังจากนี้ทำเช่นเดียวกับกรดแกลลิกมาตรฐาน เมื่อได้ค่าจากการดูดกลืนแสง นำค่าที่ได้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก และคำนวณผลเป็นหน่วย µgGAE/ml จากสมการดังต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด} = \left(\frac{A765-B}{M}\right) \times D$$

(ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อมิลลิลิตร)

เมื่อ A765 = ค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วง 765 นาโนเมตร

B = จุดตัดแกน Y ของกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

M = ความชันของกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

D = ระดับการเจือจางของตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ค
# การวิเคราะห์ทางด้านประสาทสัมผัส

## แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มซินไบโอติกจากน้ำมังคุด

โครงการวิจัย: การผลิตเครื่องดื่มซินไบโอติกจากน้ำมังคุด โดยเชื้อ *Lactobacillus casei* 431®

ชื่อผู้ทดสอบ.....อายุ.....ปี เพศ.....

**คำแนะนำ** กรุณาทดสอบตัวอย่างผลิตภัณฑ์ตามลำดับที่นำเสนอ ดื่มน้ำเปล่าก่อนชิมตัวอย่างทุกครั้งและให้คะแนนความชอบตามคุณลักษณะต่าง ๆ ของผลิตภัณฑ์

**คำชี้แจง** แบบประเมินนี้ใช้สำหรับสำรวจข้อมูลความคิดเห็น และความพึงพอใจของผู้ทดสอบ

เพื่อ นำไปใช้ในการปรับปรุงคุณภาพ และรสชาติของผลิตภัณฑ์ โดยกำหนดให้

1 = ไม่ชอบมากที่สุด 2 = ไม่ชอบมาก 3 = ไม่ชอบปานกลาง

4 = ไม่ชอบเล็กน้อย 5 = เฉยๆ 6 = ชอบเล็กน้อย

7 = ชอบปานกลาง 8 = ชอบมาก 9 = ชอบมากที่สุด

| **รหัสตัวอย่าง** | **ลักษณะทางประสาทสัมผัส** | | | |
|---|---|---|---|---|
| | **สี** | **กลิ่น** | **รสชาติ** | **ความชอบโดยรวม** |
| | | | | |
| | | | | |
| | | | | |

**ข้อเสนอแนะ**

.....

.....

.....

.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ประวัติผู้เขียน

| | |
|---|---|
| ชื่อ | นางสาวยุวดี ศิลปาจารย์ |
| วัน เดือน ปีเกิด | 9 กันยายน 2539 |
| ที่อยู่ปัจจุบัน | เลขที่ 61/167 หมู่ 1 ตำบลบางเมือง อำเภอเมืองสมุทรปราการ จังหวัดสมุทรปราการ 10270 |
| ประวัติการศึกษา | (2561) วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ (สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง) |
| ผลงานทางวิชาการ | Sinlapajan, Y. Kwanmuang, P. and Ochaikul, D. 2022. "Synbiotic Beverage Production from A Mixed Fruit Juice (Mangosteen, Yam Bean and Pineapple) using *Lactobacillus casei 431®*". Proceeding of The 18th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology (ISBB2022). 45-56 pp. |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้