

การพัฒนาต้นแบบกระบวนการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับปรดซินไบโอติกส์

DEVELOPMENT OF THE PROTOTYPE FOR PRODUCTION OF SYNBIOTICS
MANGO MIXED WITH PINEAPPLE JUICE.

ขวัญฤทัย แก้วนารี

KHWANREUTHAI KAEWNAREE

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร

คณะวิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2566

KMITL-2023-EN-M-117-168



DEVELOPMENT OF THE PROTOTYPE FOR PRODUCTION OF SYNBIOTICS
MANGO MIXED WITH PINEAPPLE JUICE.

KHWANREUTHAI KAEWNAREE

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF ENGINEERING IN FOOD ENGINEERING
SCHOOL OF ENGINEERING
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2023
KMITL-2023-EN-M-117-168

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'K. Kaewnaree', is located in the bottom right corner of the page.

COPYRIGHT 2023

SCHOOL OF ENGINEERING

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การพัฒนาต้นแบบกระบวนการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์
นักศึกษา	นางสาวขวัญฤทัย แก้วนารี
รหัสประจำตัว	62601121
ปริญญา	วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิศวกรรมอาหาร
พ.ศ.	2566
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาเพื่อให้ได้ต้นแบบกระบวนการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์ โดยใช้วิธีการออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken ปัจจัยที่ต้องการศึกษา ได้แก่ ระยะเวลาเตรียมหัวเชื้อ (X_1) หมักที่ 12, 18 และ 24 ชั่วโมง ปริมาณพรีไบโอติก galacto-oligosaccharide (X_2) ที่ 0, 1 และ 2% และเวลาหมักน้ำมะม่วงผสมน้ำสับปะรด (X_3) ที่ 3, 6 และ 9 ชั่วโมง จากนั้นได้ทำการศึกษาคุณภาพในด้านต่าง ๆ คือ คุณภาพด้านทางกายภาพ ได้แก่ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ สี และความหนืด คุณภาพด้านเคมี ได้แก่ ค่าพีเอช ปริมาณกรดแลคติก และคุณภาพด้านจุลินทรีย์ จากผลการทดลองพบว่าสภาวะของกระบวนการผลิตที่ดีที่สุดคือ การเตรียมหัวเชื้อที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณพรีไบโอติกส์(GOS) 2 เปอร์เซ็นต์ และหมักน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์ ที่ 6 ชั่วโมง โดยผลการวิเคราะห์ให้ปริมาณจุลินทรีย์ *L. casei* มากที่สุด มีค่า $10.5 \pm 0.3 \log \text{CFU/ml}$ จากนั้นได้ผลิตตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์จากสภาวะที่เหมาะสมในระดับปฏิบัติการ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์ค่าคุณภาพเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์พบว่า ในสัปดาห์ที่ 4 มะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ลดลงจากเริ่มต้น 14.8 ± 0.1^a เป็น 14.2 ± 0.1^c %Brix ค่าพีเอชลดลงจาก 4.13 ± 0.01^a เป็น 3.68 ± 0.01^c ปริมาณกรดแลคติกเพิ่มขึ้นจาก 0.63 ± 0.01^e เป็น 1.12 ± 0.02^a ปริมาณจุลินทรีย์มีค่าเพิ่มขึ้นจาก 10.3 ± 0.2^d เป็น $12.5 \pm 0.3^a \log \text{CFU/ml}$ ค่าความหนืดมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 1180.3 ± 23.71^b เป็น $1289.7 \pm 10.26^a \text{ cP}$ และเมื่อเปรียบเทียบค่าความแตกต่างของสี (ΔE) จากเริ่มต้นเทียบกับสัปดาห์ที่ 1 2 3 และ 4 มีค่า 0.69 1.2 1.69 และ 2.13 ตามลำดับ

Thesis	Development of the prototype for production of synbiotics mango mixed with pineapple juice.
Student	Miss.Khwanreuthai Kaewnaree
Student ID.	62601121
Degree	Master of Engineering
Program	Food Engineering
Year	2023
Thesis Advisor	Asst.Prof.Dr. Pimpen Pornchaloempong

ABSTRACT

This research aims to obtain a prototype of the mango juice mixed with pineapple juice synbiotics. The experimental design was Box-Behnken method and several factors were conducted in this study : The inoculation preparation time (X1) was fermented at 12, 18 and 24 hours, the prebiotic content of galacto-oligosaccharide (X2) was at 0, 1 and 2%, and the mango and pineapple juice fermentation time (X3) was fermented at 3, 6 and 9 hours. The properties of the mango juice mixed with pineapple juice synbiotics were analyzed in physical properties (Total soluble solid, color and viscosity), chemical properties (pH value and lactic acid content) and microbial properties. The results showed that the best condition of the production process was inoculation at 24 hours, 2% of prebiotics (GOS) content and the time of fermented synbiotics mango and pineapple juice at 6 hours. With this condition, it showed the highest amount of microorganism (*L. casei*) with 10.5 ± 0.3 logCFU/ml. Samples of mango juice mixed with pineapple juice synbiotics were then produced under optimum conditions at the laboratory level. And stored at 4-10 °C. For 4-week quality analysis, it was found that in the 4 week, the total soluble solids content of mango juice mixed with pineapple juice synbiotics decreased from 14.8 ± 0.1^a to 14.2 ± 0.1^c %Brix, pH decreased from 4.13 ± 0.01^a to 3.68 ± 0.01^e , total lactic acid content increased from 0.63 ± 0.01^e % to 1.12 ± 0.02^a %, microbial initiative increased from 10.3 ± 0.2^d to 12.5 ± 0.3^a logCFU/ml, Viscosity value increased from 1180.3 ± 23.71^b to 1289.7 ± 10.26^a cP and color difference (ΔE) from 0 week compared to 1, 2, 3 and 4 week were 0.69, 1.2, 1.69 and 2.13, respectively.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สามารถสำเร็จได้ด้วยความรู้จากอาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญพรเฉลิมพงศ์ ที่ให้ทุนการศึกษา ความช่วยเหลือ ให้คำชี้แนะ ช่วยแก้ปัญหา ตลอดจนให้ความรู้และประสบการณ์ที่ดีแก่ข้าพเจ้า จนในที่สุดทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ และขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่าน รวมถึงภาควิชาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และ FACTory Classroom ที่เอื้อเฟื้ออุปกรณ์และสถานที่ในการทำงานวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร.ปิ่นมณี ขวัญเมือง จากคณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและเทคโนโลยี ผศ.ดร.ปนัดดา นนทนา และดร.ระจิตร์ สุวพานิช จากคณะอุตสาหกรรมอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ชี้แนะข้อมูล ให้คำปรึกษา และอำนวยความสะดวกทางด้านอุปกรณ์วิทยาศาสตร์ในการทำวิจัย อีกทั้งยังได้ให้ความอนุเคราะห์ให้ใช้ห้องปฏิบัติการนอกระบบราชการ

สุดท้ายต้องขอขอบคุณบุพการีและคนในครอบครัวที่คอยในการสนับสนุน รวมถึง คุณอริสา สุนทรวัฒน์ คุณณัฐชา เฉลยจิตรธรรม คุณพร กัญญา ม้าวิไล และคุณธัชพงษ์ พงศ์สุทธิยากร อีกทั้ง คุณสุวิชา ประกอบแสง คุณวสันต์ อินทร์ตา คุณ ไกรสุวิทย์ ศรีสวัสดิ์ คุณดวงดาว โหมดวัฒน์ คุณมณีรัตน์ ชูชาติ คุณพัชรีพร ทองสร้อย คุณสุชาวดี เวชจิระสิทธิ์ คุณบุศสะบา แก้วบุณเฮือง คุณรอรیتی โบ และคุณประทุม คล้าย สุบรรณ และพี่ ๆ น้อง ๆ ทุกคนใน FACTory Classroom ที่คอยให้กำลังใจ คำแนะนำ ความช่วยเหลือในการทำทดลอง และการทำงานอย่างดียิ่งเสมอมา

สำหรับคุณงามความดีอันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบให้กับบิดามารดา ซึ่งเป็นที่รักและเคารพยิ่ง ตลอดจนครูอาจารย์ที่เคารพทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้และถ่ายทอดประสบการณ์ที่ดีให้แก่ข้าพเจ้า

ขวัญฤทัย แก้วนารี

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	IV
สารบัญ.....	V
สารบัญตาราง.....	VII
สารบัญภาพ.....	IX
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 ข้อมูลทั่วไปของมะม่วง.....	3
2.1.1 มะม่วงมหาชนก.....	3
2.1.2 น้ำมะม่วง.....	4
2.2 ตลาดเครื่องดื่มในประเทศไทย.....	4
2.3 โพรไบโอติกส์ (Probiotic)	5
2.3.1 ประเภทของโพรไบโอติกส์.....	6
2.4 พรีไบโอติกส์ (Prebiotic)	7
2.4.1 ประเภทของพรีไบโอติกส์.....	8
2.5 ซินไบโอติก (Synbiotic)	11
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	11
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	14
3.1 วัตถุประสงค์ เครื่องมือ และอุปกรณ์.....	14
3.1.1 วัตถุประสงค์.....	16
3.1.2 สารเคมี.....	14
3.1.3 เครื่องมือและอุปกรณ์.....	14

สารบัญ (ต่อ)

3.2	การศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของ <i>Lactobacillus casei</i> ในน้ำสับปะรด.....	15
3.3	ศึกษา optimization กระบวนการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์..	15
3.3.1	การเตรียมตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมน้ำสับปะรด.....	17
3.4	การเตรียมตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์ในระดับห้องปฏิบัติการ.....	18
3.4.1	การเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus casei</i> 431®.....	18
3.4.2	กระบวนการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์ในระดับห้องปฏิบัติการ.....	19
3.5	การวิเคราะห์คุณภาพ.....	22
3.5.1	ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total Soluble Solid, TSS)	22
3.5.2	ค่าพีเอช (pH)	22
3.5.3	ค่าสีและความแตกต่างของสีทั้งหมด (color and total color difference)	22
3.5.4	กรดแลคติก (Lactic acid)	22
3.5.5	ปริมาณจุลินทรีย์ผลิตกรดแลคติก (Lactic acid bacteria, LAB).....	23
3.5.6	ความหนืด (Viscosity)	23
3.5.7	ศึกษาอายุการเก็บรักษา.....	23
3.6	การเตรียมตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์ในระดับเชิงพาณิชย์.....	23
3.6.1	การเตรียมบรรจุภัณฑ์.....	23
3.6.2	การเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus casei</i> 431® และการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์ในระดับเชิงพาณิชย์.....	24
3.7	การวิเคราะห์ทางสถิติ (Statistical analysis).....	26
บทที่ 4	ผลการทดลองและการอภิปราย.....	27
4.1	อัตราการเจริญเติบโตของ <i>Lactobacillus casei</i> ในน้ำสับปะรด.....	27
4.2	ผลศึกษา optimization กระบวนการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์	28
4.3	ศึกษาอายุการเก็บรักษา.....	33

สารบัญ (ต่อ)

4.4 ศึกษาต้นแบบกระบวนการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับปะรดขึ้นไอน้ำในโรงเรือนระดับเชิงพาณิชย์.....	38
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	44
5.1 สรุปผลการทดลอง.....	44
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	45
บรรณานุกรม.....	46
ภาคผนวก ก.....	53
ภาคผนวก ข.....	113
ภาคผนวก ค.....	124
ภาคผนวก ง.....	131
ประวัติผู้เขียน.....	141

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
3.1 ช่วงและระดับที่ต้องการศึกษา.....	18
3.2 การออกแบบการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยวิธี RSM โดยใช้การทดลองแบบ Box-Behnken.....	18
3.3 ส่วนประกอบและวิธีการเตรียมวัตถุดิบของน้ำมะม่วงผสมสับประรดซินไบโอติกส์.....	19
3.4 รายละเอียดขั้นตอน วิธีการ และกระบวนการทำหัวเชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus casei</i>	21
3.5 รายละเอียดขั้นตอน วิธีการ และกระบวนการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับประรดซินไบโอติกส์ ในระดับห้องปฏิบัติการ.....	23
3.6 รายละเอียดควบคุมคุณภาพ.....	23
3.7 รายละเอียดการเตรียมบรรจุภัณฑ์ในการทดลอง.....	24
3.8 ส่วนประกอบน้ำมะม่วงผสมสับประรดซินไบโอติกส์.....	25
4.1 แสดงค่าอัตราการการเจริญของจุลินทรีย์โดยการวัดค่า OD เทียบกับค่า <i>L. casei</i>	26
4.2 การออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken และการนับจุลินทรีย์ (LAB (logCFU/ml)) และความหนืด (Viscosity (cP)) ของน้ำมะม่วงผสมสับประรดซินไบโอติกส์.....	28
4.3 ค่าคุณภาพของตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับประรดซินไบโอติกส์	32
4.4 ส่วนประกอบน้ำมะม่วงผสมสับประรดซินไบโอติกส์ในระดับเชิงพาณิชย์.....	39
4.5 รายละเอียดและวิธีการของกระบวนการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับประรดซินไบโอติกส์ในระดับเชิงพาณิชย์.....	40
4.6 เปอร์เซ็นต์ผลได้ระหว่างกระบวนการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับประรดซินไบโอติกส์.....	42
4.7 ค่าคุณภาพของน้ำมะม่วงผสมสับประรดซินไบโอติกส์ในระดับเชิงพาณิชย์.....	42
4.8 การประเมินทางประสาทสัมผัส (Sensory test) ในระดับเชิงพาณิชย์.....	43

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1.1 สถิติการส่งออกผลไม้และผลิตภัณฑ์ ปี 2560-2563.....	2
2.1 ต้นมะม่วงมหาชนก (ก.) ลักษณะของผลมะม่วงมหาชนก (ข.).....	4
2.2 ตลาดเครื่องดื่ม(ก.) การบริโภคเครื่องดื่มทั่วโลก(ข.).....	5
2.3 สัดส่วนมูลค่าตลาดเครื่องดื่มที่ไม่มีแอลกอฮอล์.....	5
2.4 Inulin	8
2.5 Fructo-oligosaccharide.....	9
2.6 Xylo-Oligosaccharide	10
2.7 Galacto-oligosaccharide.....	10
3.1 การเตรียมวัตถุดิบมะม่วง.....	17
3.2 การเตรียมวัตถุดิบสับปะรด.....	17
3.3 การเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus casei</i> 431®.....	18
3.4 กระบวนการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับปะรดชีโนไบโอติกส์ในระดับห้องปฏิบัติการ.....	20
3.5 ชุดเครื่องจักร Functional Drink (โครงการเครื่องจักรตัวต่อ, Thailand).....	24
3.6 (a) ถังผสมขนาด 300 ลิตร และเครื่องฆ่าเชื้อ (Pasteurizer) (b) เครื่องลดอุณหภูมิ (Cooler & Chiller) (c) ถังรักษาอุณหภูมิขนาด 200 ลิตร และถังหมักขนาด 50 ลิตร (d) เครื่องบรรจุและเครื่องปิดฝา (Filler & Capper)	25
4.1 แสดงอัตราการเจริญเติบโตของ <i>L. casei</i>	27
4.2 Surface plot ของผลปฏิสัมพันธ์ระหว่างกาแลคโตโอริโกแซคคาไรด์ (%GOS, X_2) และระยะเวลาการหมัก (Fermentation, X_3) กับปริมาณจุลินทรีย์ <i>L. casei</i> (logCFU/ml).....	29
4.3 Surface plot ของผลปฏิสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาหมักหัวเชื้อ (Starter, X_1) และระยะเวลาการหมัก (Fermentation, X_3) กับปริมาณจุลินทรีย์ <i>L. casei</i> (logCFU/ml)	30
4.4 Surface plot ของผลปฏิสัมพันธ์ระหว่างหมักหัวเชื้อ (Starter, X_1) และกาแลคโตโอริโกแซคคาไรด์ (%GOS, X_2) กับปริมาณจุลินทรีย์ <i>L. casei</i> (logCFU/ml)	30

สารบัญญภาพ (ต่อ)

4.5 Surface plot ของผลปฏิสัมพันธ์ระหว่างกาแลคโตโอริโกแซคคาไรด์ (%GOS, X_2) และระยะเวลาการหมัก (Fermentation, X_3) กับความหนืด(Viscosity)	31
4.6 Surface plot ของผลปฏิสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาหมักหัวเชื้อ (Starter, X_1) และระยะเวลาการหมัก (Fermentation, X_3) กับความหนืด (Viscosity).....	31
4.7 Surface plot ของผลปฏิสัมพันธ์ระหว่างหมักหัวเชื้อ (Starter, X_1) และกาแลคโตโอริโกแซคคาไรด์ (%GOS, X_2) กับความหนืด(Viscosity).....	32
4.8 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับปะรดชินไปโอติกส์ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียสตลอดอายุการเก็บรักษา 4 สัปดาห์ ค่าที่แสดงในกราฟ คือ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน.....	34
4.9 ค่าพีเอชของตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับปะรดชินไปโอติกส์ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียสตลอดอายุการเก็บรักษา 4 สัปดาห์ ค่าที่แสดงในกราฟ คือ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน	34
4.10 ปริมาณกรดแลคติกของตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับปะรดชินไปโอติกส์ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียสตลอดอายุการเก็บรักษา 4 สัปดาห์ ค่าที่แสดงในกราฟ คือ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน.....	35
4.11 ปริมาณจุลินทรีย์ของตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับปะรดชินไปโอติกส์ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียสตลอดอายุการเก็บรักษา 4 สัปดาห์ ค่าที่แสดงในกราฟ คือ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน.....	36
4.12 ค่าความหนืดของตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับปะรดชินไปโอติกส์ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียส ตลอดอายุการเก็บรักษา 4 สัปดาห์ ค่าที่แสดงในกราฟ คือ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน.....	37
4.13 ค่าสีของตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับปะรดชินไปโอติกส์ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียส ตลอดอายุการเก็บรักษา 4 สัปดาห์ ค่าที่แสดงในกราฟ คือ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน.....	38
4.14 กระบวนการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับปะรดชินไปโอติกส์ในระดับเชิงพาณิชย์.....	39
4.15 กระบวนการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับปะรดชินไปโอติกส์ในระดับเชิงพาณิชย์.....	41
4.16 ผลการประเมินทางประสาทสัมผัส (Sensory test) ในระดับเชิงพาณิชย์.....	43

บทที่ 1

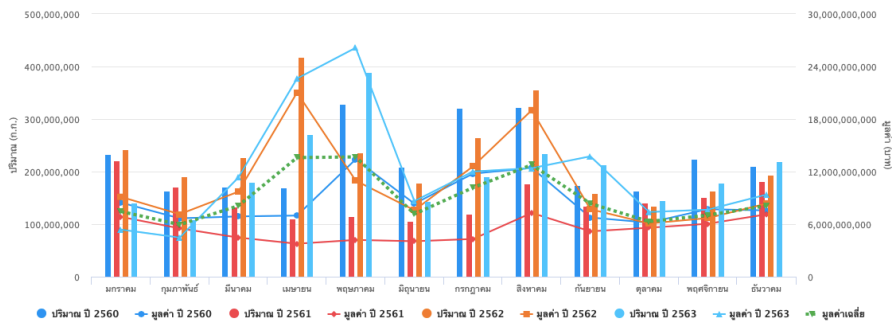
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ผู้บริโภคในปัจจุบันมีความตระหนักมากขึ้นเกี่ยวกับการบริโภคเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ นอกเหนือจากคุณค่าทางโภชนาการพื้นฐาน ซึ่งในปี พ.ศ. 2563-2564 มีเทรนด์อาหารและเครื่องดื่มที่น่าสนใจ ผู้บริโภคสนใจดื่มเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพที่ช่วยในเรื่องของระบบขับถ่าย เครื่องดื่มที่เสริมสร้างภูมิคุ้มกัน รวมถึงเครื่องดื่มที่ลดน้ำตาล[1] แนวโน้มการบริโภคอาหารและเครื่องดื่มได้มีมูลค่าการเติบโตขึ้น โดยข้อมูลจากสำนักข่าวกรุงเทพธุรกิจระบุข้อมูลเป็นตัวเลขในปี พ.ศ. 2561-2563 ระบุมูลค่าการบริโภคดังนี้ ในปี 2561 มูลค่าการบริโภคอาหารและเครื่องดื่ม มีมูลค่าประมาณ 86,648 ล้านบาท ในปีพ.ศ. 2562 มีอัตราการขยายตัว 2.4% มูลค่าประมาณ 88,731 ล้านบาท และในปีพ.ศ. 2563 มีอัตราการขยายตัวเพิ่มขึ้นไม่ต่ำกว่าแสนล้านบาท [2]

เครื่องดื่มโพรไบโอติกส์มีคุณสมบัติในการเสริมประสิทธิภาพการทำงานของระบบทางเดินอาหาร ช่วยให้ขับถ่ายง่าย ป้องกันและลดความเสี่ยงการเป็นมะเร็งลำไส้ เสริมสร้างภูมิคุ้มกัน และลดคอเลสเตอรอล เช่น *Lactobacillus casei* จะช่วยย่อยสลายคอเลสเตอรอล และยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลผ่านผนังลำไส้ อาหารและเครื่องดื่มโพรไบโอติกส์อาจได้มาจากการหมักจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติ หรือโดยการเติมลงไปในผลิตภัณฑ์ เช่น เครื่องดื่ม เครื่องดื่มโพรไบโอติกส์แบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ เครื่องดื่มที่ได้จากนม ซึ่งเป็นที่รู้จักกันโดยทั่วไป ได้แก่ โยเกิร์ต นมเปรี้ยว และเครื่องดื่มโพรไบโอติกส์ที่ไม่ใช้นม[3] อย่างไรก็ตามการบริโภคนมเปรี้ยวอาจมีข้อจำกัดสำหรับผู้ที่ไม่แพ้นม เนื่องจากมีภาวะพร่องของเอนไซม์ย่อยน้ำตาลแลคโทส (lactose intolerance) ดังนั้นการนำพืชมาเป็นวัตถุดิบในการทำเครื่องดื่มโพรไบโอติกส์จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจ และในการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกส์ในเครื่องดื่มต้องเป็นไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ซึ่งระบุว่าต้องมีปริมาณจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์ไม่น้อยกว่า 10^6 CFU/ml ตลอดอายุการเก็บรักษา[4]

วิกฤตโรคระบาด Covid-19 ส่งผลกระทบต่อการส่งออกผลไม้และผลิตภัณฑ์ของประเทศไทย โดยสถิติการส่งออกผลไม้และผลิตภัณฑ์ของประเทศไทยในปี พ.ศ. 2560-2563 ซึ่งระบุเป็นตัวเลขจากสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตรระบุว่า ในปี พ.ศ. 2560 ปริมาณการส่งออกผลไม้และผลิตภัณฑ์มีมูลค่า 103,122,868,966 บาท ในปี พ.ศ. 2561 ได้ลดลง 34.42% มูลค่า 64,350,142,496 บาท ในปี พ.ศ. 2562 เพิ่มขึ้น 56.73% มีมูลค่า 125,961,671,409 บาท และในปี พ.ศ. 2563 ปริมาณการส่งออกผลไม้และผลิตภัณฑ์ซึ่งลดลง 12.60% มีมูลค่า 141,130,472,181 บาท โดยปัจจัยหลักที่ส่งผลกระทบต่อการส่งออกคือการระบาดของโรคระบาดไวรัส Covid-19 [5]



ภาพที่ 1.1 สถิติการส่งออกผลไม้และผลิตภัณฑ์ ปี 2560-2563 [6]

ตั้งนั้นงานวิจัยนี้จึงมีความสนใจในการนำผลไม้มาผลิตเป็นเครื่องดื่มชיןไปโอติกส์ โดยมีจุดมุ่งหมายศึกษาการผลิตเครื่องดื่มชיןไปโอติกส์ในระดับห้องปฏิบัติการ รวมถึงการหาสภาวะที่เหมาะสมในหมักจุลินทรีย์โพรไบโอติกในน้ำผลไม้เพื่อเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ และระยะเวลาการเก็บรักษา

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับปะรดชיןไปโอติกส์ในระดับปฏิบัติ

1.2.2 ศึกษาอายุการเก็บรักษาน้ำมะม่วงผสมสับปะรดชיןไปโอติกส์

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1.3.1 มะม่วงพันธุ์มหาชนก ปลุกในจังหวัดเชียงใหม่ ที่ระดับความสุก 15 – 20%Brix และกำหนดค่าพีเอช 4.0-4.5 และสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย ที่ระดับความสุก 12 – 18%Brix และกำหนดค่าพีเอช 3.5-4.0

1.3.2 ระยะเวลาหมักหัวเชื้อโพรไบโอติก (Starter) ที่ 12 , 18 และ 24 ชั่วโมงในระดับปฏิบัติการ

1.3.3 ปริมาณของพรีไบโอติกส์ ที่ 0, 1 และ 2% ต่อการเจริญเติบโตของโพรไบโอติกส์

1.3.4 ศึกษาระยะเวลาการหมักที่ 3, 6 และ 9 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ต่อปริมาณของจุลินทรีย์โดยต้องไม่ต่ำกว่า 10^6 CFU/ml

1.3.5 ศึกษาคุณภาพระหว่างการเก็บรักษา 4 สัปดาห์ ได้แก่ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ค่าพีเอช สี ความหนืด ปริมาณจุลินทรีย์ และปริมาณกรดแลคติก เริ่มตรวจตั้งแต่สัปดาห์ที่ 0 1 2 3 4 สัปดาห์

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ต้นแบบกระบวนการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับปะรดชיןไปโอติกส์ และอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

1.4.2 สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะคล้ายกันในเชิงพาณิชย์ได้

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้อมูลทั่วไปของมะม่วง

มะม่วง (*Mangifera indica* L.) จัดอยู่ในวงศ์มะม่วง (ANACARDIACEAE) เป็นไม้ผลที่เจริญได้ดีในแถบภูมิประเทศเขตร้อน เช่น ประเทศอินเดีย ฟิลิปปินส์ และไทย ประเทศไทยมีการปลูกมะม่วงทั่วทุกภาคมะม่วงจัดเป็นไม้ผลที่สำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทยที่มีการส่งออกไปต่างประเทศ มะม่วงเป็นผลไม้พื้นบ้านของไทย เป็นที่นิยมปลูกกันมาก มีการปลูกหลากหลายสายพันธุ์ มีคุณประโยชน์และมีสรรพคุณทางยาหลายอย่าง ๆ ได้ ในมะม่วงสุกพบเบต้าแคโรทีนในปริมาณสูง มะม่วงน้ำหนัก 100 กรัม ให้พลังงาน 60 กิโลแคลอรี (USDA Agricultural) การแปรรูปมะม่วงจึงเป็นแนวทางหนึ่ง que เพิ่มมูลค่า และเพิ่มความหลากหลายให้กับผลิตภัณฑ์มะม่วง นำมาเป็นผลไม้ใช้รับประทานใช้ประกอบอาหารและทำเครื่องดื่มต่าง ๆ มะม่วงที่ปลูกในประเทศไทยมีหลายสายพันธุ์ เช่น มะม่วงน้ำดอกไม้ มะม่วงอกร่อง มะม่วงมหาชนก เป็นต้น

2.1.1 มะม่วงมหาชนก

มะม่วงมหาชนก มีชื่อภาษาอังกฤษคือ Mahachanok หรือ Rainbow mango และมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ คือ *Mangifera indica* L. เป็นมะม่วงพันธุ์ใหม่ที่เกิดจากการผสมระหว่างมะม่วงหนังกกลางวันกับพันธุ์มะม่วงพันธุ์ชั้นเขตของอินเดีย รูปร่างผลยาวคล้ายมะม่วงหนังกกลางวัน มีลักษณะเด่นที่เปลือกผล เมื่อผลแก่หรือสุกมีผิวสีแดงสวยงาม หรือสีเหลืองเข้มปนแดง ขนาดผล กว้าง 6-7.6 เซนติเมตร ยาว 15.6-17.3 เซนติเมตร หนา 5.1-6.3 เซนติเมตร ซึ่งโดยทั่วไปจะมีน้ำหนักผลประมาณ 350-500 กรัม มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ประมาณ 15-18 องศาบริกซ์ (°Brix) [7] นิยมปลูกทางภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน ลำปาง และเชียงราย [8] อุดมไปด้วยสารอาหาร ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต วิตามิน ซึ่งพบวิตามินเอ (vitamin a) มากในรูปเบต้าแคโรทีน (β -carotene) และแร่ธาตุ เช่น แคลเซียม และโพแทสเซียม สามารถบริโภคได้ทั้งในรูปผลสดและแปรรูปเพื่อเพิ่มมูลค่าและยืดอายุการเก็บรักษา ซึ่งทำให้มะม่วงมหาชนกเป็นหนึ่งในผลไม้เศรษฐกิจของประเทศไทยที่มีแนวโน้มจะได้รับจากตลาดโลกมากขึ้น สร้างรายได้แก่ประเทศ [9,10]



(ก.)



(ข.)

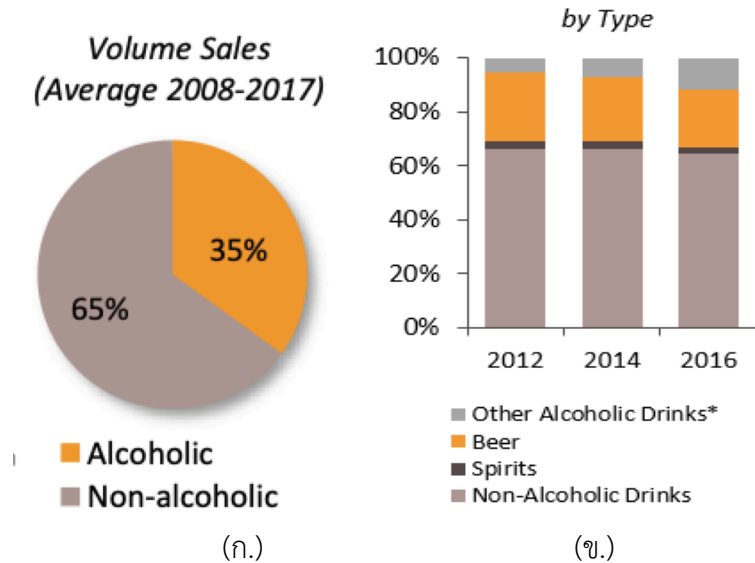
ภาพที่ 2.1 ต้นมะม่วงมหาชนก (ก.) ลักษณะของผลมะม่วงมหาชนก (ข.) [11]

2.1.2 น้ำมะม่วง

น้ำมะม่วง หมายถึง เครื่องดื่มที่ได้จากการนำผลมะม่วงสุกที่อยู่ในสภาพดีมาล้างให้สะอาด ปอกเปลือก ตัดแต่งแล้วหั่นเป็นชิ้น นำไปบดโดยอาจผสมน้ำหรือไม่ก็ได้ กรอง บรรจุแต่งรสด้วยน้ำตาลหรือน้ำผึ้ง น้ำเชื่อม เกลือ อาจผสมน้ำ หรือเนื้อผลไม้อื่น เช่น น้ำเสาวรส น้ำสับปะรด เนื้อสับปะรด กระบวนการผลิตน้ำมะม่วงทำโดยนำส่วนผสมต่าง ๆ มาผสมเข้าด้วยกัน จากนั้นต้มฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสม บรรจุในภาชนะบรรจุขณะร้อนแล้วทำให้เย็นทันที สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2547, มพข. 701/2547) ได้กำหนดคุณลักษณะที่ต้องการของน้ำมะม่วง ได้แก่ น้ำมะม่วง มีลักษณะทั่วไป คือ ต้องเป็นของเหลวขุ่น อาจตกตะกอนเมื่อตั้งทิ้งไว้ ต้องมีสี กลิ่น รสตามธรรมชาติของส่วนประกอบที่ใช้ ปราศจากกลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์ เช่น กลิ่นเหม็น รสบูดหรือขม และน้ำมะม่วงต้องปราศจากเปลือก ก้าน เส้น จุดดำ แมลงและชิ้นส่วนของแมลง และสิ่งแปลกปลอมอื่น ๆ [12]

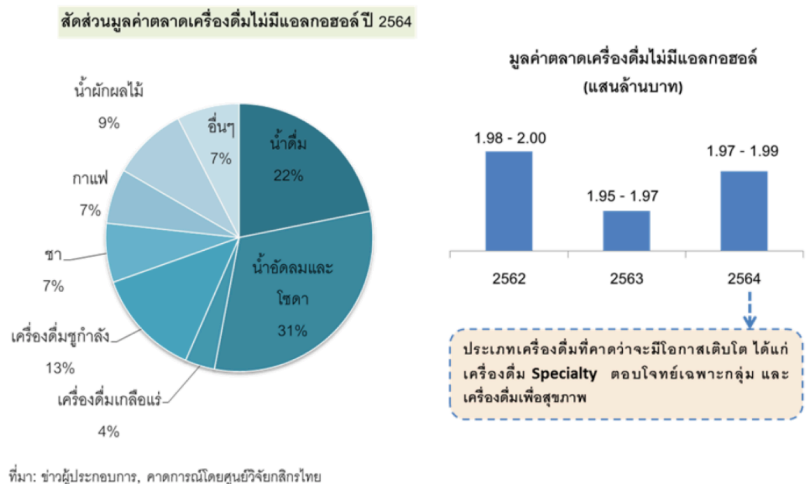
2.2 ตลาดเครื่องดื่มในประเทศไทย

ตลาดเครื่องดื่มแบ่งออกเป็น 2 ส่วนใหญ่ ๆ คือ 1. เครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ (alcoholic Beverages) และ 2. เครื่องดื่มที่ไม่มีแอลกอฮอล์ (Non-alcoholic Beverages) ซึ่งเครื่องดื่มที่มีส่วนแบ่งตลาดมากที่สุด วิเคราะห์ตามปริมาณการบริโภคในแต่ละปี คือ เครื่องดื่มประเภทไม่มีแอลกอฮอล์ ซึ่งมีส่วนแบ่งถึง 65% ของตลาด ส่วนเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์มีเพียง 35% ของตลาด [13]



ภาพที่ 2.2 ตลาดเครื่องดื่ม(ก.) การบริโภคเครื่องดื่มทั่วโลก(ข.) [13]

เครื่องดื่มประเภทไม่มีแอลกอฮอล์ คือ เครื่องดื่มที่ไม่มีแอลกอฮอล์เป็นส่วนประกอบ ไม่ผ่านการหมักหรือ กลั่น เป็นแอลกอฮอล์ [14] โดยทั่วไปเครื่องดื่มประเภทนี้ได้แก่ ชา กาแฟ น้ำดื่ม น้ำผักผลไม้ น้ำอัดลม เครื่องดื่มเกลือแร่ เป็นต้น[15] ในปัจจุบันผู้บริโภคส่วนใหญ่หันมาใส่ใจสุขภาพมากขึ้น ทำให้เครื่องดื่มประเภทไม่มีแอลกอฮอล์เป็นที่นิยมอย่างมาก โดยคาดการณ์ว่าอาจมีมูลค่าถึง 2 แสนล้านบาท ซึ่งมีการคาดว่าธุรกิจเครื่องดื่มที่ไม่มีแอลกอฮอล์ประเภทเฉพาะกลุ่ม และเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพหรือเครื่องดื่มที่มีซินไบโอติกส์มีแนวโน้มเติบโตขึ้นในอนาคต



ภาพที่ 2.3 สัดส่วนมูลค่าตลาดเครื่องดื่มที่ไม่มีแอลกอฮอล์ [15]

2.3 โพรไบโอติกส์ (Probiotic)

โพรไบโอติกส์ คือ จุลินทรีย์ที่มีชีวิต เมื่อรับประทานเข้าไปในปริมาณที่มากพอ จะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อร่างกายของผู้บริโภค[16] คือ ช่วยเสริมให้สุขภาพแข็งแรง สามารถทำงานได้ดีในระบบ

ทางเดินอาหาร และสร้างสมดุลของลำไส้ ด้วยการทำงาน 2 กลไก คือ ผลิตสารยับยั้งจุลินทรีย์อื่น ๆ ในลำไส้ เช่น กรดแลคติก แบคทีเรียโพรไบโอติก เป็นต้น และแย่งพื้นที่จุลินทรีย์ก่อโรค โดยเฉพาะสายพันธุ์ *Lactobacillus* จะสร้างกรดแลคติก กรดอะซิติก ส่งผลต่อการลดลงของค่าพีเอช[17] ปัจจุบันมี จุลินทรีย์มากกว่า 20 ชนิดที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกส์ เช่น ยีสต์ แบคทีเรีย โดยเฉพาะแบคทีเรีย ในกลุ่ม Lactic acid bacteria ที่สำคัญคือ *Lactobacillus* sp. เช่น *Lactobacillus paracasei* โดย จุลินทรีย์กลุ่มนี้ถูกนำมาใช้ประโยชน์ในการผลิตอาหารหมักและเครื่องดื่มโพรไบโอติกส์หลายชนิด เช่น นมเปรี้ยว โยเกิร์ต เมื่อผู้บริโภครับประทานอาหารที่มีโพรไบโอติกส์เข้าไปแล้วจุลินทรีย์พวกนี้จะทน ต่อเอนไซม์ในทางเดินอาหาร ต้านทานกรด น้ำดี น้ำย่อยในกระเพาะและลำไส้เล็ก จนสามารถเดินทางเข้าไปสู่ลำไส้ใหญ่เพื่อเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ที่ดี[18] *Lactobacillus* เป็นจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็น โพรไบโอติกส์ โดยสายพันธุ์ที่รู้จักและมีการใช้ประโยชน์เชิงการค้า ได้แก่ *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, , *Lactobacillus acidophilus* เป็นต้น ซึ่งเป็นหนึ่งในจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์ตามประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาเรื่อง หลักเกณฑ์และแนวทางปฏิบัติการ ใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกส์ในอาหาร ตามเอกสารแนบท้ายรายชื่อเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์สำหรับใช้ในอาหารตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่องการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกส์ในอาหาร (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 346) พ.ศ. 2555 เรื่อง การใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกส์ในอาหาร (ฉบับที่ 2) จุลินทรีย์ *Lactobacillus* แต่ละชนิดสามารถเจริญได้ในอุณหภูมิที่เหมาะสมที่แตกต่างกัน เช่น *Lactobacillus casei* เหมาะกับการเจริญที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส *Lactobacillus plantarum* ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และ *Lactobacillus helveticus* เหมาะกับการเจริญที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นต้น[19] นอกจากนั้นจุลินทรีย์สายพันธุ์ *Lactobacillus* ยังสามารถทนกรดได้ดีกว่าจุลินทรีย์สายพันธุ์อื่น การเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์ในระบบทางเดินอาหารก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์ อาหารสำหรับจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์ที่สำคัญ นอกจากสารอาหารประเภทน้ำตาลชนิดต่าง ๆ แล้วพรีไบโอติกส์เป็นอาหารที่สำคัญสำหรับส่งเสริมและกระตุ้นการเจริญของโพรไบโอติกส์ [20]

2.3.1 ประเภทของโพรไบโอติกส์

โพรไบโอติกส์ถูกแบ่งเป็น 2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ แบคทีเรียและยีสต์ โดยประเภทของแบคทีเรีย แบ่งเป็นกลุ่มของ *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* ส่วนประเภทของยีสต์คือกลุ่มของ *Saccharomyces* [21]

- *Lactobacillus*

Lactobacillus เป็นโพรไบโอติกส์แกรมบวก มีรูปร่างเป็นแท่ง และไม่สร้างสปอร์ได้ แต่สามารถย่อยน้ำตาลให้เป็นกรดแลคติกได้ โดยส่วนใหญ่โพรไบโอติกส์ชนิดนี้สามารถพบได้ในร่างกายที่ระบบทางเดินอาหาร ทางเดินปัสสาวะ และช่องคลอด นอกจากนี้ในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทนมยังนิยมนำมาใช้หมักเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น นมเปรี้ยวและโยเกิร์ต [21][39]

ประโยชน์ของ *Lactobacillus*

- ช่วยรักษาสมดุลในลำไส้
- รักษาอาการท้องเสียที่เกิดจากการติดเชื้อ
- ท้องเสียเฉียบพลันในเด็ก
- มีรายงานว่า การรับประทานอาหารเสริมที่มี *L. casei* ส่งผลให้ความวิตกกังวลและภาวะซึมเศร้าลดลง

- *Bifidobacterium*

Bifidobacterium เป็นโพรไบโอติกส์แกรมบวก มีรูปร่างเป็นแท่งได้หลายแบบ และไม่สร้างสปอร์ รวมถึงไม่สร้างเอนไซม์คาตาเลส สามารถย่อยน้ำตาลให้เป็นกรดซิตริกและกรดแลคติกได้ มักอาศัยอยู่ในปาก ลำไส้ และช่องคลอด นอกจากนี้ในผลิตภัณฑ์อาหารพบได้ในโยเกิร์ต มิโสะ ผักดอง กิมจิ และไวน์บางชนิด [21][39]

ประโยชน์ของ *Bifidobacterium*

- รักษาโรคทางเดินอาหาร
- รักษาผู้ที่มีอาการลำไส้แปรปรวน
- รักษาผู้ที่มีอาการลำไส้ใหญ่อักเสบเป็นแผล

- *Saccharomyces*

Saccharomyces เป็นยีสต์ ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ยีสต์ชนิดนี้เป็นโพรไบโอติกส์ โดยส่วนใหญ่สามารถพบได้ในเครื่องดื่มหมักและผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร โดยสายพันธุ์ที่นิยมใช้คือ *Saccharomyces boulardii* [21][39]

ประโยชน์ของ *Saccharomyces*

- ป้องกันโรคท้องร่วงได้หลายชนิด รวมทั้งอาการท้องร่วงในเด็กและทารก
- อาการท้องเสียในผู้ป่วยที่ให้อาหารทางสายยาง
- อาการท้องเสียระหว่างการเดินทางและโรคอุจจาระร่วงที่เกิดจากเชื้อ *Clostridium difficile* [21][39]

2.4 พรไบโอติก (Prebiotic)

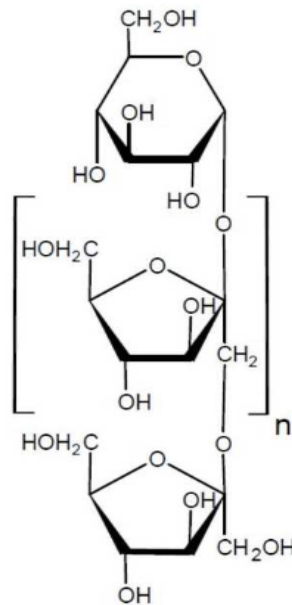
พรไบโอติกส์ คือ ส่วนประกอบของอาหารที่ไม่ถูกย่อยในทางเดินอาหาร โดยพรไบโอติกส์จะไปกระตุ้นการเจริญเติบโตและ/หรือการออกฤทธิ์ของแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่กลุ่มจำเพาะหรือจำนวนหนึ่ง เช่น *Bifidobacterium* และ *Lactobacillus* บางชนิดสามารถจับกับจุลินทรีย์ก่อโรคได้อย่างเฉพาะเจาะจง เช่น *Salmonella* และ *E. coli*[22] ซึ่งส่งผลให้ระบบทางเดินอาหารมีการทำงานที่ดีขึ้น และมีประโยชน์ต่อสุขภาพ องค์ประกอบในอาหารที่เป็นพรไบโอติกส์ ได้แก่ อินนูลิน (inulin) ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructo-oligosaccharide) ไชโลโอลิโกแซคคาไรด์ (xylo-oligosaccharide)

และกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (galacto-oligosaccharide) สามารถพบได้ทั่วไปในพืชผักผลไม้หลายชนิด [23]

2.4.1 ประเภทของพรีไบโอติกส์

- อินนูลิน

อินนูลิน (Inulin) มีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติกส์ ซึ่งอยู่ในกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์ (oligosaccharide) เป็นสารอาหารกลุ่มคาร์โบไฮเดรต รวมถึงอินนูลินยังเป็นพรีไบโอติกส์ที่เป็นใยอาหาร โครงสร้างของอินนูลินมีลักษณะเป็นสายโพลิเมอร์ของน้ำตาลฟรุกโทส(fructose) เรียงกัน 2-60 โมเลกุล โดยเชื่อมกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก และปลายด้านหนึ่งของอินนูลินเป็นน้ำตาลกลูโคส (glucose) อินนูลินเป็นสารอาหารที่มีแคลอรีต่ำเพียง 1.5 kcal/g [24] [25] อินนูลินสามารถละลายน้ำได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 50-100 องศาเซลเซียส ซึ่งสภาพแวดล้อมที่พีเอชต่ำ อุณหภูมิสูง เป็นตัวแปรสำคัญสำหรับการไฮโดรไลซิสของอินนูลิน นอกจากนี้อินนูลินยังมีประโยชน์ต่อร่างกาย คือ ลดน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยเบาหวาน ลดความอ้วน ลดแคลอรี เพิ่มการดูดซึมแคลเซียม สร้างสมดุลให้กับร่างกายและบรรเทาอาการท้องผูก ซึ่งปริมาณอินนูลิน 20-40 กรัม/วัน มีผลในการบรรเทาอาการท้องผูก [26] [27]

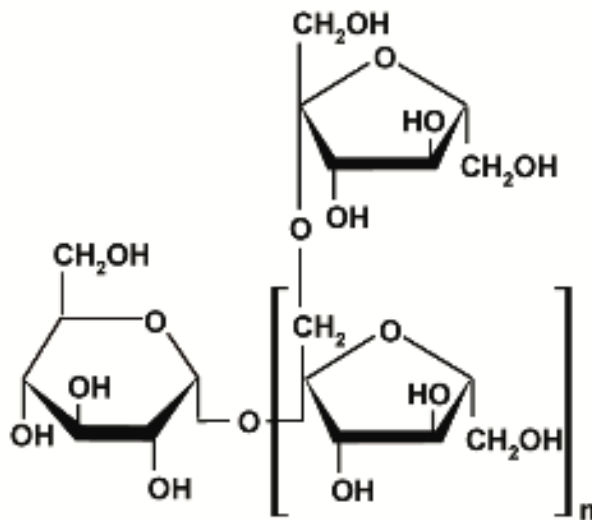


ภาพที่ 2.4 Inulin [27]

- ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์

ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructo-oligosaccharide) จัดเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ประเภทอินนูลิน เป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีแคลอรีต่ำให้ความหวานคล้ายกับซูโครสและซอร์บิทอล ประกอบด้วยหน่วยฟรุคโตสเชื่อมกับกลูโคสที่ส่วนปลายด้วยพันธะ β 2-1 ไกลโคซิดิก ซึ่งจะไม่ถูกย่อยโดยมนุษย์ [28] ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์มีความคงตัวในอาหารที่มีค่าพีเอชประมาณ 4.0-7.0 ฟรุคโตโอลิโกแซค

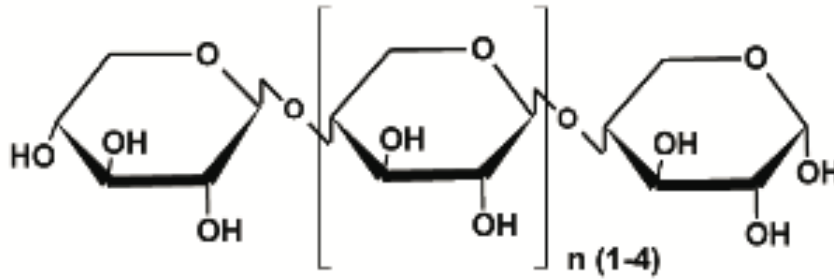
คาร์โบไฮเดรตสามารถพบได้ตามธรรมชาติ เช่น กล้วย กระจ่าง น้ำผึ้ง ต้นหอม เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถพบพริกแทนได้ทั้งแบบที่เรียและเชื้อรา เช่น *Aspergillus japonicus*, *Rhizopus stolonifera* เป็นต้น [29] ประโยชน์ของพริกโตโอริโกแซคาไรด์จะคล้ายคลึงกับอินนูลิน คือ ช่วยลดอาการท้องผูก ช่วยเรื่องการขับถ่าย และช่วยเพิ่มการดูดซึมแร่ธาตุโดยเฉพาะแคลเซียมอีกด้วย [30]



ภาพที่ 2.5 fructo-oligosaccharide [31]

- ไซโลโอลิโกแซคคาไรด์

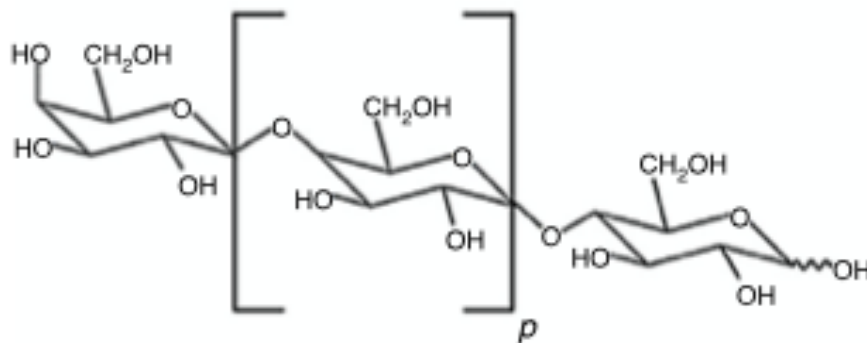
ไซลูลิโกแซคคาไรด์ (xylo-oligosaccharide) เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ มีอยู่ในไซโลส โมโนแซคคาไรด์สายโซ่หลักซึ่งมีขนาด 2-10 หน่วยเชื่อมโยงกันด้วยพันธะ β -1,4-xylosidic ถูกผลิตขึ้นโดยการไฮโดรไลซิสด้วยเอนไซม์ของไซแลน โดยไซลูลิโกแซคคาไรด์ย่อยโพรบิโอดีคัสแบบจำเพาะ โดยเฉพาะโพรบิโอดีคัสสกุล *bifidobacteria* ซึ่งโพรบิโอดีคัส สามารถใช้ไซโลลิโกแซคคาไรด์ได้ แต่ไม่สามารถใช้ไซแลนได้ ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการกระตุ้นการเจริญเติบโตของโพรบิโอดีคัสได้ไม่ดีเหมือนโพรบิโอดีคัสชนิดอื่น [32] ความเสถียรของโพรบิโอดีคัสชนิดนี้ทนความเป็นกรดที่ช่วงพีเอช 2.5-8 และทนอุณหภูมิสูงกว่า 100 องศาเซลเซียส [33]



ภาพที่ 2.6 xylo-oligosaccharide [31]

- กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์

กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Galacto-oligosaccharide, GOS) ประกอบด้วยน้ำตาล 2 ชนิด ได้แก่ กาแลคโตส (Galactose) และกลูโคส (Glucose) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (Glycosidic)[34] GOS อุดมไปด้วยกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีความเข้มข้นสูงมากกว่าร้อยละ 70 และกาแลคโตซิลแลคโตส ซึ่งองค์ประกอบใกล้เคียงกับน้ำนมแม่ให้พลังงานต่ำ และมีความหวานประมาณร้อยละ 40 ของน้ำตาลทราย ทนความร้อนสูงถึง 160 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ทนต่อสภาวะพีเอช pH 4-7 จึงสามารถประยุกต์ใช้ได้กับผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น เครื่องดื่ม นม โยเกิร์ต และผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร เป็นต้น[35] GOS เป็นพรีไบโอติกส์ ซึ่งร่างกายไม่สามารถย่อยได้ แต่จะเป็นแหล่งอาหารของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย GOS สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย ในกลุ่ม *Bifidobacterium* และ *Lactobacillus* ซึ่งช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค เนื่องจากเกิดการผลิตกรดแลคติกส่งผลให้สภาวะในลำไส้เป็นกรด ซึ่งมีประโยชน์ในทางเดินอาหารของมนุษย์[36] นอกจากนี้ GOS ยังมีประโยชน์ในการบำรุงผิวพรรณ ช่วยเพิ่มระบบภูมิคุ้มกัน เพิ่มการดูดซึมแร่ธาตุ และลดอาการท้องผูก เป็นต้น[37]



ภาพที่ 2.7 Galacto-oligosaccharide [38]

2.5 ซินไบโอติกส์(Synbiotics)

ซินไบโอติกส์ (Synbiotics) คือ การทำงานร่วมกันระหว่างจุลินทรีย์โพรไบโอติกและพรีไบโอติก ซึ่งโพรไบโอติกคือจุลินทรีย์ที่ดีที่มีชีวิตในระบบทางเดินอาหาร สิ่งนี้มีประโยชน์ต่อสุขภาพของโฮสต์ โดยพรีไบโอติกจะช่วยเสริมการทำงานของจุลินทรีย์โพรไบโอติก [39] ซึ่งหากไม่มีพรีไบโอติกส์ อาจส่งผลให้โพรไบโอติกส์ไม่สามารถอยู่รอดได้ เนื่องจากถ้าไม่มีแหล่งอาหารที่จำเป็นสำหรับจุลินทรีย์ที่ดี ซึ่งอาจก่อให้เกิดการแพ้ออกซิเจน และค่า pH ต่ำ รวมถึงอุณหภูมิไม่เหมาะสมในลำไส้ แต่เมื่อใช้พรีไบโอติกและโพรไบโอติกด้วยกันจะทำให้จำนวนของแบคทีเรียที่ดีเพิ่มขึ้นหลายเท่าในระบบย่อยอาหาร [40]

นอกจากนั้นจากการศึกษาผลของซินไบโอติกส์ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์พบว่า เมื่อรับประทานผลิตภัณฑ์ซินไบโอติกส์แล้วจะช่วยในเรื่องของระบบเผาผลาญ การเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน ช่วยในการขับถ่าย ลดอัตราการติดเชื้อแบคทีเรีย ช่วยให้ตับดีขึ้นในผู้ป่วยโรคตับแข็ง รวมถึงช่วยลดอาการอักเสบหลังการผ่าตัด และจากการเสริมซินไบโอติกส์อาจมีผลเสริมฤทธิ์กันในการรักษาโรคลำไส้อักเสบเรื้อรัง [41]

ปัจจุบันได้มีเครื่องดื่มจากการหมักซินไบโอติกส์ที่ไม่ใช้นมเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากเกิดการแพ้ น้ำตาลแลคโตสในมนุษย์ จึงทำให้มีการหมักในผลไม้และธัญพืช เช่น การนำถั่วเหลืองและควินัวมาทำเป็นเครื่องดื่มผสมซินไบโอติกส์ โดยใช้ *Lactobacillus casei LC-1* และฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ และทำการประเมินการมีชีวิตของจุลินทรีย์ พบว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์เพิ่มขึ้น ค่าพีเอชของเครื่องดื่มจากธัญพืชลดลง และความเป็นกรดเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์มีการเจริญเติบโตได้ดีมีการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นกรดแลคติก[42]

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ปัจจุบันเครื่องดื่มโพรไบโอติกจากพืชเป็นเครื่องดื่มที่ได้รับความสนใจจากผู้บริโภค ปีนมณี (2561) [43] จึงได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการผลิตเครื่องดื่มโพรไบโอติกจากพืชซึ่งเป็นแนวทางการเพิ่มมูลค่าให้กับผลิตผลทางการเกษตร โดยการผลิตเครื่องดื่มโพรไบโอติกจากพืชเป็นการนำวัตถุดิบจากพืชซึ่งใช้ได้ทั้งน้ำผัก ผลไม้ มาเตรียมเป็นน้ำสำหรับเตรียมหัวเชื้อ และนำมาเป็นวัตถุดิบในการหมัก นำมาปรับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดให้ได้ประมาณ 10-15 องศาบริกซ์ แล้วนำไปฆ่าเชื้อโดยการพาสเจอร์ไรซ์ จากนั้นปล่อยให้เย็น เติมหเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกลงไป และนำไปหมักโดยควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส ใช้ระยะเวลา 24 ชั่วโมง หรือดูปริมาณกรดโดยการทดสอบชิม มีรสชาติพอดี ไม่เปรี้ยวจนเกินไป ความเปรี้ยวของผลิตภัณฑ์เป็นที่ยอมรับของผู้ชิม โดยจำนวนจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักยังคงหลงเหลืออยู่ไม่น้อยกว่า 10^6 CFU/ml

สุคนธ์ และคณะ (มปป.) [44] ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิในการหมักต่อการเจริญและการอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์แลคโตบาซิลลัส โดยใช้จุลินทรีย์ *Lactobacillus casei TISTR 390* และ *Lactobacillus plantarum TISTR 863* ในน้ำลำไยธรรมชาติ และ น้ำลำไยเติมน้ำตาลกับน้ำผึ้ง ที่

อุณหภูมิ 30 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่าเชื้อทั้งสองชนิดเจริญได้ดีในน้ำลำไยธรรมชาติเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แต่เมื่อเก็บรักษาในตู้แช่เย็นเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าน้ำลำไยหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีปริมาณจุลินทรีย์เหลือทั้งสองสายพันธุ์รอดมากกว่าจากการบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และ น้ำลำไยที่เติมซูโคสและน้ำผึ้งมีปริมาณการเหลือรอดของจุลินทรีย์ทั้งสองมากกว่าน้ำลำไยแบบธรรมชาติ

Gamage *et al.* (2016) [45] ได้ทำการศึกษาเครื่องดื่มน้ำนมที่มียีส *Lactobacillus casei* 431 เป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติก ระยะเวลาการหมัก 2, 4 และ 6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เครื่องดื่มน้ำนมที่หมักเป็นเวลา 2 ชั่วโมงให้การยอมรับทางประสาทสัมผัสโดยรวมสูงสุด *L. casei* 431 สามารถเติบโตได้ดีถึง 10^8 CFU/ mL แม้ว่าการเลี้ยงแลคติกในเครื่องดื่มน้ำนมหมักจะค่อยๆ สูญเสียความสามารถในการดำรงชีวิตในระหว่างการเก็บรักษาในตู้แช่เย็น แต่จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของจุลินทรีย์กรดแลคติกยังคงอยู่ที่ 10^6 – 10^8 CFU/มิลลิลิตร หลังจาก 4 สัปดาห์ของการเก็บในความเย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดที่ไตเตรทได้เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญจาก 5.5 ± 0.05 เป็น 4.9 ± 0.01 ($P \leq 0.05$) ระหว่างการเก็บรักษา

Elizabeth *et al.* (2018) [46] ได้มีความสนใจในการเสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติกลงในเครื่องดื่มน้ำผลไม้ เนื่องจากต้องการพัฒนาเครื่องดื่มน้ำผลไม้เพื่อสุขภาพที่ปราศจากแลคโตส โดยศึกษาสายพันธุ์โพรไบโอติกเชิงพาณิชย์สามสายพันธุ์ (*L. paracasei*, *L. casei* และ *L. rhamnosus*) ในเครื่องดื่มน้ำมะม่วง ผลการทดสอบความทนทานต่อกรดและจำนวนจุลินทรีย์ใน MRS Broth และในเครื่องดื่มน้ำมะม่วงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ สามารถสรุปได้ว่าสายพันธุ์ที่เหมาะสมที่สุดที่จะใช้ในการผลิตเครื่องดื่มน้ำมะม่วงคือ *L. casei* ซึ่งปริมาณของ *L. casei* มีประมาณ 7 Log CFU/มิลลิลิตร มากที่สุด

Alwis *et al.* (2016) [47] ได้ทำการศึกษาจุลินทรีย์โพรไบโอติก *Lactobacillus casei* 431® ในน้ำแครอท ซึ่งแครอทมีสารประกอบฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ((Fructo-oligosaccharide (FOS) และ อินนูลิน) การศึกษานี้ทำขึ้นเพื่อกำหนดความเหมาะสมในการผลิตเครื่องดื่มน้ำแครอทโพรไบโอติก โดยผสม *L. casei* 431® ลงในน้ำแครอทและหมักเป็นเวลา 0, 2 และ 4 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่าในการทดสอบทางประสาทสัมผัสเครื่องดื่มน้ำแครอทที่หมัก 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ทำให้ผู้บริโภคยอมรับได้มากที่สุด และจากนั้นนำไปเก็บรักษาเป็นเวลา 6 สัปดาห์ ที่ $5 \pm$ องศาเซลเซียส มีปริมาณของ *L. casei* 431® อยู่ที่ 10^8 CFU/มิลลิลิตร ซึ่งปริมาณจุลินทรีย์ยังคงอยู่ในเกณฑ์ตามมาตรฐานของเครื่องดื่มน้ำแครอทโพรไบโอติก

Thatyane *et al.* (2018) [48] ได้ทำการศึกษาผลในกระบวนการแปรรูปเครื่องดื่มน้ำแครอทโพรไบโอติก ต่อคุณสมบัติของฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์พบว่า GOS เหมาะแก่การจะเติมลงในเครื่องดื่มน้ำผลไม้ เนื่องจากมีความเสถียรมากต่อสภาวะที่เป็นกรดและอุณหภูมิสูง ในขณะที่ FOS จะถูกไฮโดรไลซ์บางส่วน เนื่องจากไม่สามารถทนความร้อนที่อุณหภูมิสูงและกรดได้ ในรายงานของ Voragen พบว่า

การให้ความร้อน FOS ที่อุณหภูมิ 145 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วินาที พีเอชที่ 3.5 ส่งผลให้มีการไฮโดรไลซิสประมาณ 10% ของ FOS ซึ่งลดลงอย่างมีนัยสำคัญ[49]

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ เครื่องมือ และอุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบ

- มะม่วงพิวเร่แช่แข็งพันธุ์มหาชนก จากโรงงานต้นแบบแห่งการเรียนรู้ (FACTORY classroom) ที่ Total Soluble Solid 18 – 20 %Brix และกำหนดค่าพีเอช 4.0-4.5
- สับปะรดพิวเร่แช่แข็งพันธุ์ปัตตาเวีย (บริษัท ไทยริชฟู้ดส์ กรุ๊ป จำกัด) ที่ Total Soluble Solid 15 – 18 %Brix และ กำหนดค่าพีเอช 3.5-4.0

3.1.2 สารเคมี

- กาแลคโตโอลิโก แซคคาไรด์ (Galacto-oligosaccharides) (บริษัท เพียว เคมี กัลส์ จำกัด (Neo Cremer, Korea))
- Peracetic Acid (PAA) (บริษัทแคลวาทิส-เอเชีย แปซิฟิก จำกัด)

3.1.3 เครื่องมือและอุปกรณ์

- ชุดเครื่องจักร Functional Drink (PATKOL, Thailand)
- เครื่องวัด pH meter (S-610L, PEAK instrument inc, USA)
- เครื่อง Refractometer (digital hand Pocket refractometer)
- เครื่องวัดสี (Color Flex, Color Global, U.S.A)
- เครื่องชั่งน้ำหนัก 2 ตำแหน่ง (UX-3200G, SHIMADZU, Japan)
- เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง (BSA2245-CW, Sartorius, Germany)
- เครื่องเขย่าสาร (Vortex) (G560E, Scientific Industries, USA)
- ปีกเกอร์ และหลอดทดลอง
- ขวดปรับปริมาตร 100 250 และ 1000 มิลลิลิตร
- ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer Flask) ปริมาตร 125 และ 500 มิลลิลิตร
- ปีเปต ปริมาตร 5 และ 10 มิลลิลิตร
- บิวเรต ปริมาตร 50 มิลลิลิตร
- กระดาษกรอง (Whatman, England)
- เครื่อง UHT/HTST (Lab 25 EDH HA Reseach, MicroThermics, USA)
- เครื่องบรรจุผลิตภัณฑ์สเตอไรส์ Combined sterile product outlet and automatic filling control

(MicroThermics, USA)

- ตู้บ่ม Incubator (DIN12880-2007-K1:1, Memmert, Germany)

- เครื่อง spectrophotometer (UV-3100PC, VWR)
- ตู้แช่เย็น (Panasonic, SBC-P2DSA 26.9 Q)
- ตู้แช่แข็ง (Panasonic, SF-PC997, Japan)
- เครื่องวัด pH meter (S-610L, PEAK instrument inc, USA)
- เครื่อง Refractometer (digital hand Pocket refractometer)
- เครื่องวัดสี (Color Flex, Color Global, U.S.A)
- เครื่องชั่งน้ำหนัก 2 ตำแหน่ง (UX-3200G, SHIMADZU, Japan)
- เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง (BSA2245-CW, Sartorius, Germany)
- เครื่องชั่ง 15 กิโลกรัม
- เครื่องเขย่าสาร (Vortex) (G560E, Scientific Industries, USA)
- เตามแม่เหล็กไฟฟ้า (Turbor, IC-505, China)
- ปีกเกอร์ และหลอดทดลอง
- ขวดปรับปริมาตร 100 250 และ 1000 มิลลิลิตร
- ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer Flask) ปริมาตร 125 และ 500 มิลลิลิตร
- ปิเปต ปริมาตร 5 และ 10 มิลลิลิตร
- บิวเรต ปริมาตร 50 มิลลิลิตร
- กระดาษกรอง (Whatman, England)
- ขวดแก้วขนาด 180 มิลลิลิตร

3.2 การศึกษาอัตราการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus casei* ในน้ำสับประรด

นำตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับประรดชนิดไปโอดิกส์วัดอัตราการเจริญเติบโตด้วยการวัดค่าวัดความขุ่น O.D. (optical density) ด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ 600 นาโนเมตร เทียบกับวิธีการ standard plate count method บนอาหาร MRS agar (Hi Media - India) [50]

3.3 ศึกษา optimization กระบวนการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับประรดชนิดไปโอดิกส์

ศึกษา optimization เกี่ยวกับกระบวนการน้ำมะม่วงผสมสับประรดชนิดไปโอดิกส์ โดยศึกษา 3 ปัจจัย 3 ระดับ คือ 1. ศึกษาระยะเวลาหมักหัวเชื้อโพรไปโอดิก(Starter) ที่ 12 , 18 และ 24 ชั่วโมง ในระดับปฏิบัติการ 2. ศึกษาปริมาณของพรไปโอดิกส์ ที่ 0, 1 และ 2% และ 3. ศึกษาระยะเวลาการหมักที่ 3, 6 และ 9 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ด้วยวิธี Box-Behnken

ตารางที่ 3.1 ช่วงและระดับที่ต้องการศึกษา

Independent	Code	Code variable		
		-1	0	1
หมักหัวเชื้อ (ชั่วโมง)	X_1	12	18	24
กาแลคโตโอริโกแซคคาไรด์ (%)	X_2	0	1	2
หมัก (ชั่วโมง)	X_3	3	6	9

ตารางที่ 3.2 การออกแบบการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยวิธี RSM โดยใช้การทดลองแบบ

Box-Behnken

Code	Factor		
	X_1	X_2	X_3
1	-1 (12)	-1 (0)	0 (6)
2	+1 (24)	-1 (0)	0 (6)
3	-1 (12)	+1 (2)	0 (6)
4	+1 (24)	+1 (2)	0 (6)
5	-1 (12)	0 (1)	-1 (3)
6	+1 (24)	0 (1)	-1 (3)
7	-1 (12)	0 (1)	+1 (9)
8	+1 (24)	0 (1)	+1 (9)
9	0 (18)	-1 (0)	-1 (3)
10	0 (18)	+1 (2)	-1 (3)
11	0 (18)	-1 (0)	+1 (9)
12	0 (18)	+1 (2)	+1 (9)
13	0 (18)	0 (1)	0 (6)
14	0 (18)	0 (1)	0 (6)
15	0 (18)	0 (1)	0 (6)

3.3.1 การเตรียมตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมน้ำสับปะรด

วัตถุดิบที่ใช้ในการศึกษา คือ มะม่วงพิวเร่แช่แข็งพันธุ์มหาชน จากโรงงานต้นแบบแห่งการเรียนรู้ (FACTory classroom) น้ำสับปะรดพิวเร่แช่แข็งพันธุ์ปัตตาเวีย (บริษัท ไทยริชฟู้ตส์ กรุ๊ป จำกัด) น้ำRO และกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Galacto-oligosaccharides) (บริษัท เพียว เคมีกัลส์) โดยแสดงวิธีการเตรียมวัตถุดิบแสดงดังตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 ส่วนประกอบและวิธีการเตรียมวัตถุดิบของน้ำมะม่วงผสมสับปะรดชนิดโพลีติกส์

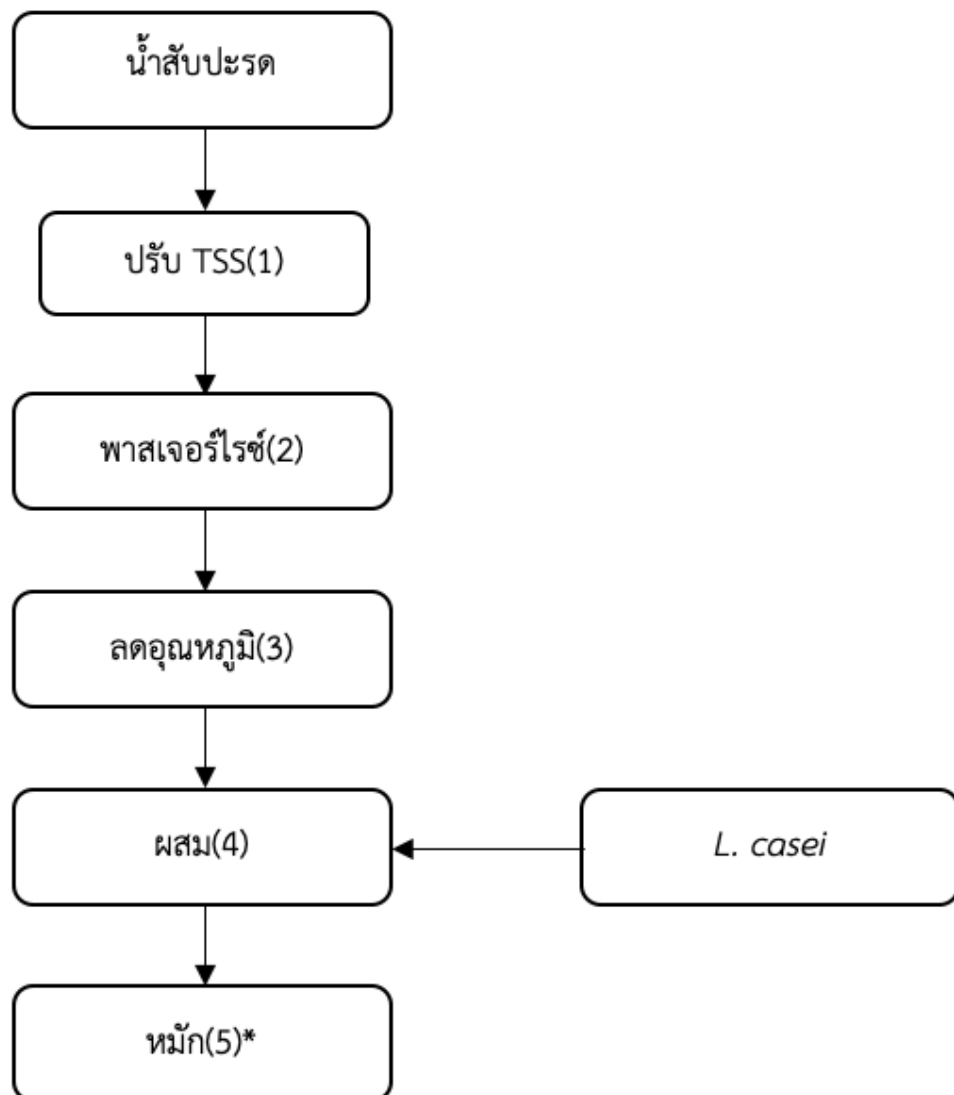
ส่วนประกอบ	วิธีการเตรียม
มะม่วงพิวเร่แช่แข็งพันธุ์มหาชน	<p>ละลายโดยแช่ตู้แช่เย็นไว้ 15 ชั่วโมง จากนั้นวางเรียงในถาด ถาดละ 3 ถุง ใส่ น้ำลงในถาดและแช่ไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 ชั่วโมง (เปลี่ยนน้ำทุก 15 นาที) จากนั้นกรองด้วยตะแกรงสแตนเลส เพื่อนำเส้นใยและตะกอนออก</p>  <p>ภาพที่ 3.1 การเตรียมวัตถุดิบมะม่วง</p>
น้ำสับปะรดพิวเร่แช่แข็งพันธุ์ปัตตาเวีย	<p>ละลายโดยวางเรียงบนถาด ถาดละ 8 ถุง และแช่ตู้แช่เย็นอุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง จากนั้นกรองด้วยตะแกรงสแตนเลส เพื่อนำเส้นใยและตะกอนออก</p>  <p>ภาพที่ 3.2 การเตรียมวัตถุดิบสับปะรด</p>

เมื่อดำเนินการเตรียมวัตถุดิบน้ำมะม่วงผสมน้ำสับปรดโพรไบโอติกและพรีไบโอติก โดยนำมะม่วงพิวเร่ พันธุ์มหาชนและน้ำสับปรดพิวเร่ พันธุ์ปัดดาเวียที่ผ่านการละลายแล้ว นำมารองด้วยตะแกรงสแตนเลส เพื่อนำกากใยออก และเพื่อนำไปศึกษาต่อในขั้นตอนต่อไป

3.4 การเตรียมตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับปรดซินไบโอติกส์ในระดับห้องปฏิบัติการ

3.4.1 การเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* 431®

จุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ใช้ในการทดลองนี้ คือ จุลินทรีย์เชิงการค้า *Lactobacillus casei* 431® จาก CHR-HANSON ซึ่งอยู่ในรูปแบบของพรีสตราย โดยนำมาผสมในน้ำสับปรดในอัตราส่วนจุลินทรีย์ 1 กรัมต่อน้ำสับปรด 1 ลิตร จากนั้นหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12, 18 และ 24 ชั่วโมง รายละเอียดแสดงดังภาพที่ 3.3 และรายละเอียดขั้นตอน แสดงดังตารางที่ 3.4 เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการหมักน้ำมะม่วงผสมสับปรดต่อไป



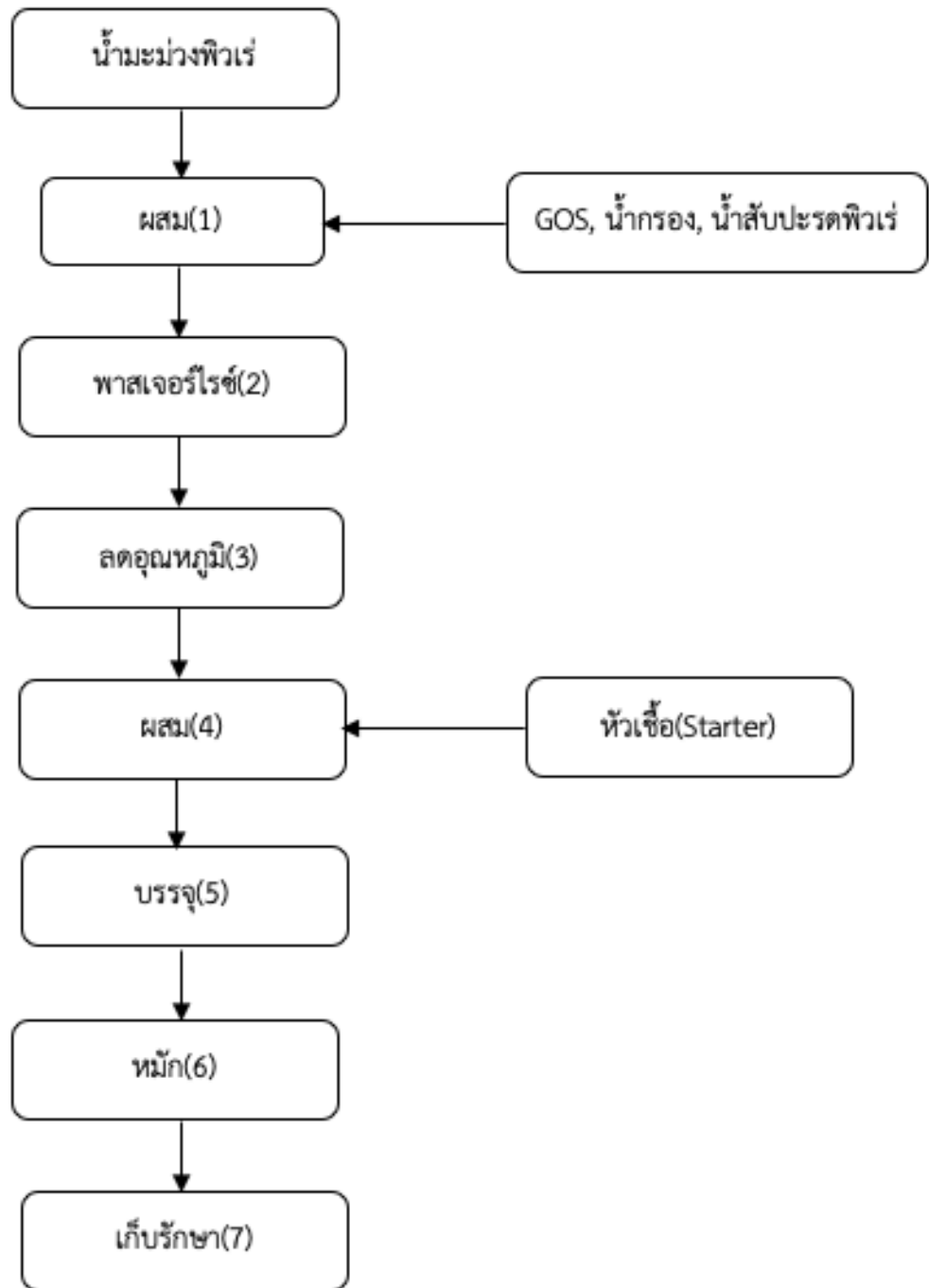
ภาพที่ 3.3 การเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* 431®

ตารางที่ 3.4 รายละเอียดขั้นตอน วิธีการ และกระบวนการทำหัวเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei*

ขั้นตอน(A)	วิธีการ
(1A) ปรับ TSS	นำน้ำสับปะรดปรับ TSS ด้วยน้ำRO ให้ได้ 10-15 %Brix จากนั้นบรรจุลงในขวดดูแลน
(2A) พาสเจอร์ไรซ์	ให้ความร้อนโดยการนำขวดดูแลนการต้มในน้ำด้วยเตาแม่เหล็กไฟฟ้าจนกระทั่งอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วินาที
(3A) ลดอุณหภูมิ	จากนั้นนำน้ำสับปะรดลดอุณหภูมิลงด้วยน้ำที่อุณหภูมิห้อง จนน้ำสับปะรดมีอุณหภูมิประมาณ 35 องศาเซลเซียส
(4A) ผสม	นำจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus casei</i> ผสมลงในน้ำสับปะรดที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์แล้ว ในอัตราส่วนจุลินทรีย์ 1 กรัมต่อน้ำสับปะรด 1 ลิตร และทำการเขย่าขวดดูแลนเล็กน้อยเพื่อให้เชื้อผสมกับน้ำสับปะรด
(5A) หมัก*	นำน้ำสับปะรดที่ใส่จุลินทรีย์บ่มที่ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12, 18 และ 24 ชั่วโมง เพื่อเป็นหัวเชื้อในการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับปะรดต่อไป

3.4.2 กระบวนการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์ในระดับห้องปฏิบัติการ

การผลิตน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์ในระดับห้องปฏิบัติการจะทำการพาสเจอร์ไรซ์น้ำมะม่วงผสมน้ำสับปะรดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วินาทีด้วย จากนั้นผสมหัวเชื้อ *L. casei* และบรรจุลงในขวดแก้วขนาด 180 มิลลิลิตร รายละเอียดกระบวนการผลิตแสดงดังภาพที่ 3.4 และรายละเอียดขั้นตอน แสดงดังตารางที่ 3.5



ภาพที่ 3.4 กระบวนการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับปรดซินไบโอติกส์ในระดับห้องปฏิบัติการ

ตารางที่ 3.5 รายละเอียดขั้นตอน วิธีการ และกระบวนการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับประรดซินไบโอติกส์ใน
ระดับห้องปฏิบัติการ

ขั้นตอน	วิธีการ
(1) ผสม	นำ GOS ละลายลงในน้ำ RO จากนั้นเทน้ำ RO ที่มี GOS ผสมแล้ว และน้ำ สับประรดผสมลงในน้ำมะม่วงพิวเร่ กวนผสมให้เข้ากันในหม้อขนาด 32 ลิตร
(2) พาสเจอร์ไรซ์ (pasteurization)	ให้ความร้อนน้ำมะม่วงผสมน้ำสับประรดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็น เวลา 15 วินาที
(3) ลดอุณหภูมิ(Cooling)	จากนั้นลดอุณหภูมิของมะม่วงผสมน้ำสับประรดลงให้มีอุณหภูมิ 37 องศา เซลเซียส ด้วยน้ำเย็นอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส
(4) ผสม	นำหัวเชื้อ <i>L. casei</i> ที่เตรียมได้จากข้อ 2.4.1 ผสมลงในน้ำมะม่วงผสมน้ำ สับประรด โดยผสมในอัตราส่วน หัวเชื้อ <i>L. casei</i> 50 มิลลิลิตร ต่อ มะม่วง ผสมน้ำสับประรด 1000 มิลลิลิตร
(5) บรรจุ	จากนั้นน้ำมะม่วงผสมสับประรดซินไบโอติกส์บรรจุลงในขวดแก้วขนาด 180 มิลลิลิตร
(6) หมักเชื้อ	นำน้ำมะม่วงผสมสับประรดซินไบโอติกส์ที่บรรจุลงในขวดแก้วแล้วหมักในตู้บ่ม Incubator (DIN12880-2007-K1:1, Memmert, Germany) และตู้ บ่ม Incubator (EN500, NUVE, Turkey) เป็นเวลา 3, 6 และ 9 ชั่วโมง
(7) เก็บรักษา	เมื่อครบระยะเวลาที่กำหนด เก็บรักษาตัวอย่างที่ตู้แช่เย็น (Panasonic, SBC-P2DSA 26.9 Q) เพื่อตรวจวัดคุณภาพในด้านต่าง ๆ

3.5 การวิเคราะห์คุณภาพ

ตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับประรดชนิดโอบิดิกส์ผลิตในระดับปฏิบัติการ นำไปวิเคราะห์ค่าคุณภาพต่าง ๆ เช่น ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total Soluble Solid, TSS) พีเอช (pH) สี (color) กรดแลคติก (Lactic acid) ปริมาณจุลินทรีย์ผลิตกรดแลคติก (Lactic acid bacteria, LAB) และความหนืด(Viscosity)

3.5.1 ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total Soluble Solid, TSS)

สุ่มตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับประรดชนิดโอบิดิกส์วัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ด้วยเครื่อง เครื่อง Refractometer (digital hand Pocket refractometer) จำนวนทั้งหมด 3 ซ้ำ

3.5.2 ค่าพีเอช (pH)

สุ่มตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับประรดชนิดโอบิดิกส์วัดค่าพีเอช ด้วยเครื่องวัด pH meter (S-610L, PEAK instrument inc, USA) โดยปรับมาตรฐานเครื่องมือ ด้วยบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอช ที่ 4 7 และ 10 จากนั้นวัดค่าพีเอชของตัวอย่าง จำนวนทั้งหมด 3 ซ้ำ

3.5.3 ค่าสีและความแตกต่างของสีทั้งหมด (color and total color difference)

ตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับประรดชนิดโอบิดิกส์ตรวจค่าสีด้วยเครื่องวัดสี (Color Flex, Color Global, U.S.A) โดยใช้ระบบสี CIE L* a* และ b* ที่สภาวะแสง D₆₅ Observer 10° จำนวนทั้งหมด 3 ซ้ำ รายงานค่า L* a* b* และ คำนวณค่าความแตกต่างของสีรวม (ΔE^*) ดังสมการที่ (1)

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2} \quad (1)$$

- ΔL^* คือ ค่าความแตกต่างของค่า L* ระหว่างผลิตภัณฑ์ก่อนและหลัง
- Δa^* คือ ค่าความแตกต่างของค่า a* ระหว่างผลิตภัณฑ์ก่อนและหลัง
- Δb^* คือ ค่าความแตกต่างของค่า b* ระหว่างผลิตภัณฑ์ก่อนและหลัง

3.5.4 กรดแลคติก (Lactic acid)

การวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติกด้วยวิธีการไทเทรต (AOAC, 2005) โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์(NaOH) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ และใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ [51] วิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความเป็นกรดแลคติก ได้จากสมการที่ (2)

$$\%Acid = \frac{N \times V_1 \times Eg.wt \times 100}{V_2 \times 1000} \quad (2)$$

- N = Normality ของ NaOH (นอร์มอล)
- V₁ = ปริมาตรของ NaOH (มิลลิลิตร)
- V₂ = ปริมาตรตัวอย่าง (มิลลิลิตร)
- Eg.wt = น้ำหนักกรัมสมมูลของกรดแลคติก (กรัม)

3.5.5 ปริมาณจุลินทรีย์ผลิตกรดแลคติก (Lactic acid bacteria, LAB)

การวิเคราะห์จุลินทรีย์ของตัวอย่างหัวเชื้อ *Lactobacillus casei* 431® และตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับประดชินไปโอติกส์หมัก จะถูกตรวจด้วยวิธีการ standard plate count method บนอาหาร de Man, Rogosa and Sharpe medium (MRS) agar (Hi Media - India) ตัวอย่างถูกเจือจางในอัตราส่วนที่เหมาะสม (10^{-1} ถึง 10^{-10}) ปมที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง [52]

3.5.6 ความหนืด (Viscosity)

เครื่องวัดความหนืด BROOKFIELD VISCOMETERS รุ่น DV - II +™ Pro Viscometer ใช้หัว Spindle LV - 1(61) ใช้กับน้ำมะม่วงผสมสับประดชินไปโอติกส์หมัก

3.5.7 ศึกษาอายุการเก็บรักษา

ตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับประดชินไปโอติกส์ผลิตในระดับปฏิบัติการ จะถูกเก็บรักษาภายในตู้แช่เย็น (Panasonic, SBC-P2DSA 26.9 Q) ที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียสตลอดอายุการเก็บรักษา 4 สัปดาห์ และตัวอย่างจะถูกนำมาวิเคราะห์ทุก ๆ 1 สัปดาห์ โดยวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total Soluble Solid, TSS) พีเอช (pH) สี (color) กรดแลคติก (Lactic acid) ปริมาณจุลินทรีย์ผลิตกรดแลคติก (Lactic acid bacteria, LAB) และความหนืด(Viscosity)

3.6 การเตรียมตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับประดชินไปโอติกส์ในระดับเชิงพาณิชย์

ตารางที่ 3.6 รายละเอียดการควบคุมคุณภาพ

รายละเอียด	มะม่วงมหาชนก	สับประดพันธุ์ปัตตาเวีย
แหล่งที่มาของวัตถุดิบ	จาก Factory Classroom บรรจุลงถุง น้ำหนัก 5 kg	สับประด พันธุ์ปัตตาเวีย จาก บริษัท ไทยริชฟู้ดส์ กรุ๊ป จำกัด พีวเร่บรรจุลงถุง น้ำหนัก 1 kg
คุณภาพด้านกายภาพ เคมี (Raw material specification, Physical, chemical, Microbial)	%TSS = 15-20 %Brix pH = 4.00-4.50	%TSS = 12-18 %Brix pH = 3.5-4.0
การเก็บรักษาก่อนการแปรรูป (Storage condition before processing)	มะม่วงมหาชนกพีวเร่บรรจุลง แช่ในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -18 °C	สับประดพันธุ์ปัตตาเวียพีวเร่ บรรจุลง แช่ในตู้แช่แข็งที่ อุณหภูมิ -18°C

3.6.1 การเตรียมบรรจุภัณฑ์

กระบวนการผลิตในระดับเชิงพาณิชย์ได้มีการเลือกใช้บรรจุภัณฑ์ คือ ขวดแก้วขนาด 180 มิลลิลิตร ทำความสะอาดโดยนำขวดแก้วมาล้างด้วย PAA 0.4% เป็นเวลา 15 นาที การเตรียมบรรจุภัณฑ์แสดงขั้นตอนอย่างละเอียดในตารางที่ 3.7

ตารางที่ 3.7 รายละเอียดการเตรียมบรรจุภัณฑ์ที่ใช้ในการทดลอง

ชนิดบรรจุภัณฑ์	ขั้นตอน	รายละเอียด
ขวดแก้ว	ขนาดขวด	ขนาด 180 มิลลิลิตร
	ทำความสะอาด	นำขวดแก้วมาล้างด้วย PAA เข้มข้น 80 ppm โดยกรอก PAA เข้มข้น 80 ppm ลงในขวด ปิดฝา เขย่าเล็กน้อย จากนั้นตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบเวลาที่กำหนดเขย่าขวดแก้ว และเทน้ำ PAA ออกจากขวด [31] จากนั้นคว่ำขวดเพื่อไม่ให้จุลินทรีย์ หรือสิ่งสกปรกลงในขวด

3.6.2 การเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* 431® และกระบวนการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์ในระดับเชิงพาณิชย์

การผลิตน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์จะผลิตด้วยชุดเครื่องจักรผลิตเครื่องดื่มเชิงหน้าที่ (รูปที่ 3.5) โดยนำวัตถุดิบน้ำมะม่วงปิวเร่และสับปะรดปิวเร่ที่ผ่านการกรองแล้ว น้ำ RO และกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ เทลงถังผสม กวนผสมให้เข้ากันโดยเปิดใบกวนเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส โดยผ่านอุปกรณ์แลกเปลี่ยนผ่านความร้อน (Heat exchanger) คงอุณหภูมิไว้เป็นเวลา 16 วินาทีในท่อคงอุณหภูมิ และลดอุณหภูมิลงที่ 4 องศาเซลเซียส โดยผ่านอุปกรณ์แลกเปลี่ยนความร้อน (Heat exchanger) หลังจากนั้นส่งไปพักลงถังรักษาอุณหภูมิขนาด 200 ลิตร เพื่อผสมหัวเชื้อ ดูดหัวเชื้อที่เตรียมไว้จากถังหมักขนาด 50 ลิตร ลงในถังรักษาอุณหภูมิขนาด 200 ลิตร จากนั้นกวนผสมให้เข้ากัน



ภาพที่ 3.5 ชุดเครื่องจักร Functional Drink (โครงการเครื่องจักรตัวต่อ, Thailand)



(a)



(b)



(c)



(d)

ภาพที่ 3.6 (a) ถังผสมขนาด 300 ลิตร และเครื่องฆ่าเชื้อ (Pasteurizer) (b) เครื่องลดอุณหภูมิ (Cooler & Chiller) (c) ถังรักษาอุณหภูมิขนาด 200 ลิตร และถังหมักขนาด 50 ลิตร (d) เครื่องบรรจุและเครื่องปิดฝา (Filler & Capper)

ตารางที่ 3.8 แสดงส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์น้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์ที่จะใช้ในการผลิตในระดับเชิงพาณิชย์ โดยมีการกำหนดอัตราส่วนการใช้ *L. casei* 431 ในการทำหัวเชื้อ รวมถึงอัตราส่วนของหัวเชื้อต่อน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์

ตารางที่ 3.8 ส่วนประกอบน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์ในระดับเชิงพาณิชย์

ส่วนประกอบ	ร้อยละ	กิโลกรัม
น้ำมะม่วงมหาชนก	50	100
น้ำสับปะรด	30	60
กาแลคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ (GOS)	2	4
น้ำ RO	18	36
รวม	100	200
หัวเชื้อ <i>L. casei</i> 431 (<i>L. casei</i> 1 กรัม : น้ำสับปะรด 1 ลิตร)	หัวเชื้อ 50 มิลลิลิตร : น้ำมะม่วงผสม สับปะรดซินไบโอติกส์ 1 ลิตร	10

3.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ (Statistical analysis)

งานวิจัยนี้ใช้แผนการทดลองแบบวิเคราะห์พื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology: RSM) ออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken ศึกษา 3 ปัจจัย 3 ระดับ คือ

1. ระยะเวลาการหมักหัวเชื้อในระดับปฏิบัติการ
2. ปริมาณกาแลคโตโอริโกแซคคาไรด์ต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์
3. ระยะเวลาการหมักแตกต่างกันต่อคุณภาพของตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับประรดชนิดโอบ

ติกส์ผลิตในระดับปฏิบัติการ

โดยใช้โปรแกรม Minitab statistic software วิเคราะห์พื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology: RSM) และวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance ; ANOVA) โดยใช้วิธีของ Duncan เพื่อหาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS-25.0 สำหรับระบบ Mac OS (SPSS, Inc., เมืองชิคาโก, รัฐอิลลินอยส์)

บทที่ 4

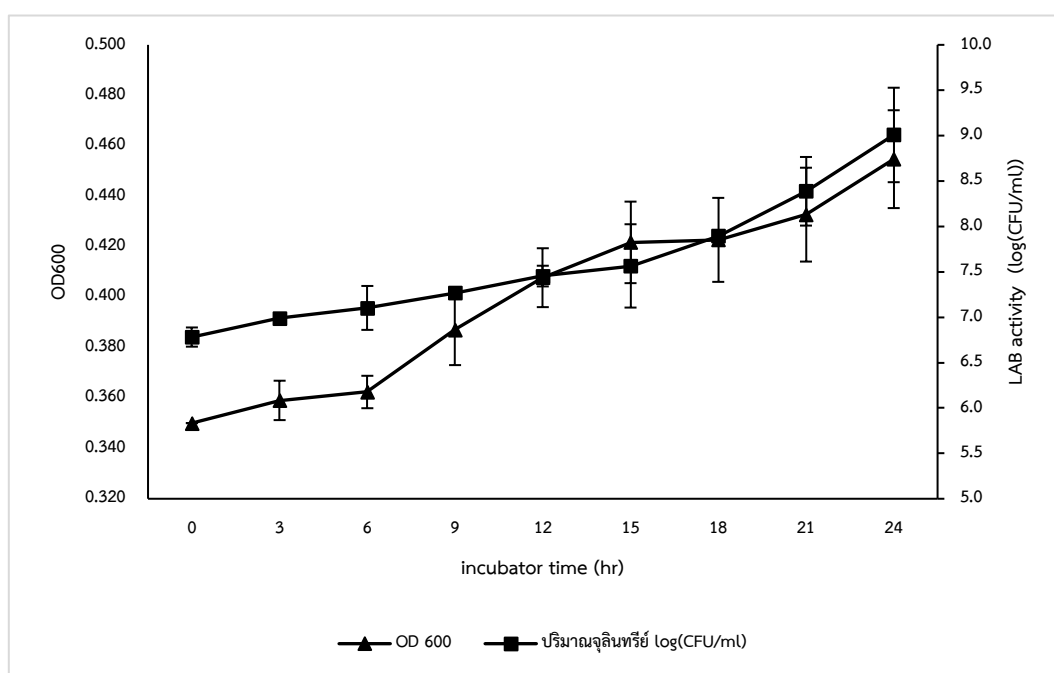
ผลการทดลอง

4.1 อัตราการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus casei* ในน้ำสับปะรด

เมื่อศึกษาอัตราการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติก *Lactobacillus casei* 431 ในน้ำสับปะรด โดยบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สุ่มตัวอย่างที่ระยะเวลาต่าง ๆ (0, 3, 6, 9, 12, 15, 18, 21, 24 ชั่วโมง) จากนั้นทำการวัดค่าดูดกลืนแสง (OD) ที่ 600 นาโนเมตร พร้อมทั้งวิเคราะห์ปริมาณของจุลินทรีย์โดยวิธี plate count แสดงผลค่าแสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงค่าอัตราการการเจริญของจุลินทรีย์โดยการวัดค่า OD เทียบกับค่า *L. casei*

Incubator time (hr.)	OD ₆₀₀	<i>L. casei</i> (log(CFU/ml))
0	0.350±0.001 ^d	6.8±0.1 ^f
3	0.359±0.008 ^d	7.0±0.0 ^{ef}
6	0.362±0.006 ^d	7.1±0.2 ^{def}
9	0.387±0.014 ^c	7.3±0.1 ^{def}
12	0.408±0.012 ^{bc}	7.5±0.1 ^{cde}
15	0.422±0.016 ^b	7.6±0.5 ^{cd}
18	0.423±0.017 ^b	7.9±0.0 ^{bc}
21	0.433±0.019 ^{ab}	8.4±0.4 ^b
24	0.455±0.019 ^a	9.0±0.5 ^a



ภาพที่ 4.1 แสดงอัตราการเจริญเติบโตของ *L. casei*

จากการพิจารณาค่าดูดกลืนแสง OD₆₀₀ และปริมาณจุลินทรีย์ *L. casei* พบว่าเมื่อระยะเวลาเพิ่มมากขึ้นค่าดูดกลืนแสง และปริมาณจุลินทรีย์มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้น โดยช่วงแรกของการวัดค่าดูดกลืนแสงในช่วงที่ 0-3 มีค่าประมาณ 0.350 – 0.362 ซึ่งมีค่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่เมื่อเข้าสู่ช่วงที่ 9-12 มีค่าประมาณ 0.387-0.408 พบว่ามีความแตกต่างเมื่อเทียบกับช่วงแรก(0-3ชั่วโมง)อย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ช่วงชั่วโมงที่ 12 ของค่าดูดกลืนแสงมีค่าไม่แตกต่างเมื่อเทียบกับชั่วโมงที่ 15-21 ซึ่งมีค่าประมาณ 0.422-0.433 และเมื่อเข้าสู่ชั่วโมงที่ 24 ค่าดูดกลืนแสงมีค่า 0.455±0.019 ซึ่งมีความแตกต่างจากชั่วโมงที่ 0-18 แต่ไม่มีความแตกต่างเมื่อเทียบกับชั่วโมงที่ 21 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และในการวิเคราะห์การเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์จากชั่วโมงที่ 0-24 พบว่าในชั่วโมงที่ 0-9 ปริมาณจุลินทรีย์มีค่า 6.8-7.3 logCFU/ml ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ชั่วโมงที่ 12 มีปริมาณจุลินทรีย์ 7.5±0.1 logCFU/ml ซึ่งปริมาณจุลินทรีย์มีค่าไม่แตกต่างกันเมื่อเทียบกับชั่วโมงที่ 3-9 และในชั่วโมงที่ 15 ปริมาณจุลินทรีย์มีค่า 7.6±0.5 logCFU/ml ซึ่งค่าไม่มีความแตกต่างกันกับชั่วโมงที่ 12-18 ชั่วโมงที่ 18 ปริมาณจุลินทรีย์มีค่า 7.9±0.0 logCFU/ml เมื่อเทียบกับชั่วโมงที่ 12-21 พบว่าปริมาณจุลินทรีย์มีค่าไม่แตกต่างกัน ชั่วโมงที่ 21 ปริมาณจุลินทรีย์มีค่า 8.4±0.4 logCFU/ml ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกันกับชั่วโมงที่ 18 และ ชั่วโมงที่ 24 มีปริมาณจุลินทรีย์ 9.0±0.5 logCFU/ml เมื่อเทียบกับปริมาณจุลินทรีย์ในชั่วโมงที่ 0-21 ซึ่งมีค่า 6.8±0.1, 7.0±0.0, 7.1±0.2, 7.3±0.1, 7.5±0.1, 7.6±0.5, 7.9±0.0, 8.4±0.4 ตามลำดับ พบว่าปริมาณจุลินทรีย์มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4.2 ผลศึกษา optimization กระบวนการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์

ในการศึกษากระบวนการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์ การหาสภาวะที่เหมาะสมด้วยวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง(RSM) โดยวิธี Box-Behnken โดยศึกษา 3 ปัจจัย คือ ระยะเวลาการเตรียมหัวเชื้อ(12, 18, 24 ชั่วโมง), ปริมาณโพรไบโอติกส์(GOS 0, 1, 2 เปอร์เซ็นต์) และระยะเวลาการหมักน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์(3, 6, 9 ชั่วโมง) แสดงผลดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 การออกแบบการทดลองแบบ Box-Behnken และการนับจุลินทรีย์ (LAB (logCFU/ml)) และความหนืด (Viscosity (cP)) ของน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์

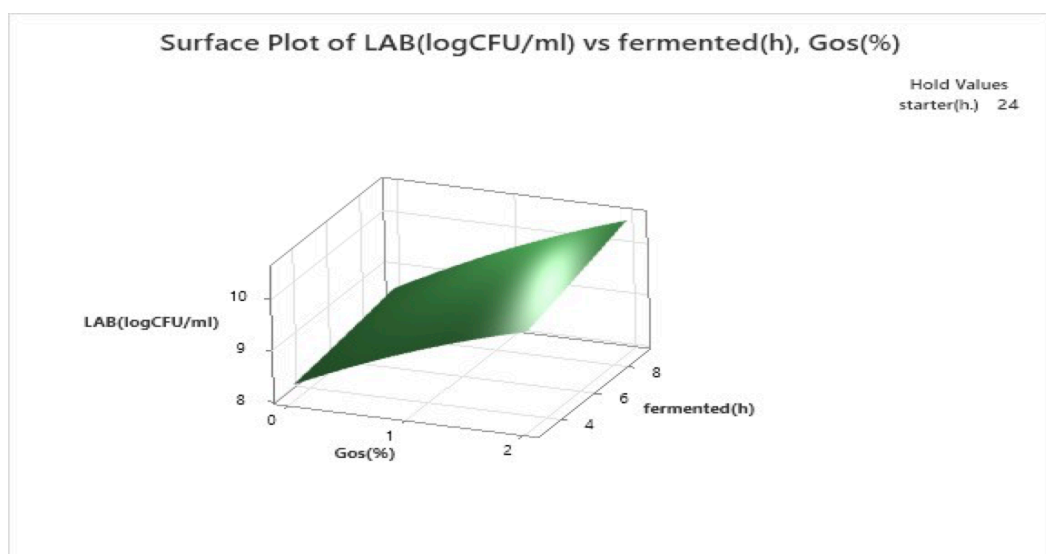
Code	<i>L. casei</i> (logCFU/ml)	Viscosity (cP)
1	6.7±0.4 ^h	624.4±31.8 ^s
2	8.1±0.6 ^{efg}	664.0±44.2 ^{fg}
3	8.8±0.0 ^{cd}	1182.5±44.6 ^a
4	10.5±0.3 ^a	1184.1±45.8 ^a
5	7.6±0.4 ^s	922.3±26.1 ^{cd}
6	9.0±0.3 ^c	936.3±8.6 ^{cd}

7	8.1±0.5 ^{efg}	889.0±39.5 ^{cd}
8	9.9±0.2 ^b	885.9±12.7 ^{cd}
9	8.1±0.1 ^{efg}	666.8±89.8 ^{fg}
10	8.9±0.1 ^c	1074.1±114.2 ^{ab}
11	7.8±0.1 ^{fg}	413.8±15.2 ^h
12	8.9±0.2 ^c	1111.0±65.8 ^a
13	8.3±0.7 ^{def}	984.0±66.8 ^{bc}
14	8.7±0.1 ^{cde}	756.1±109.8 ^{ef}
15	8.6±0.1 ^{cde}	833.0±125.9 ^{de}

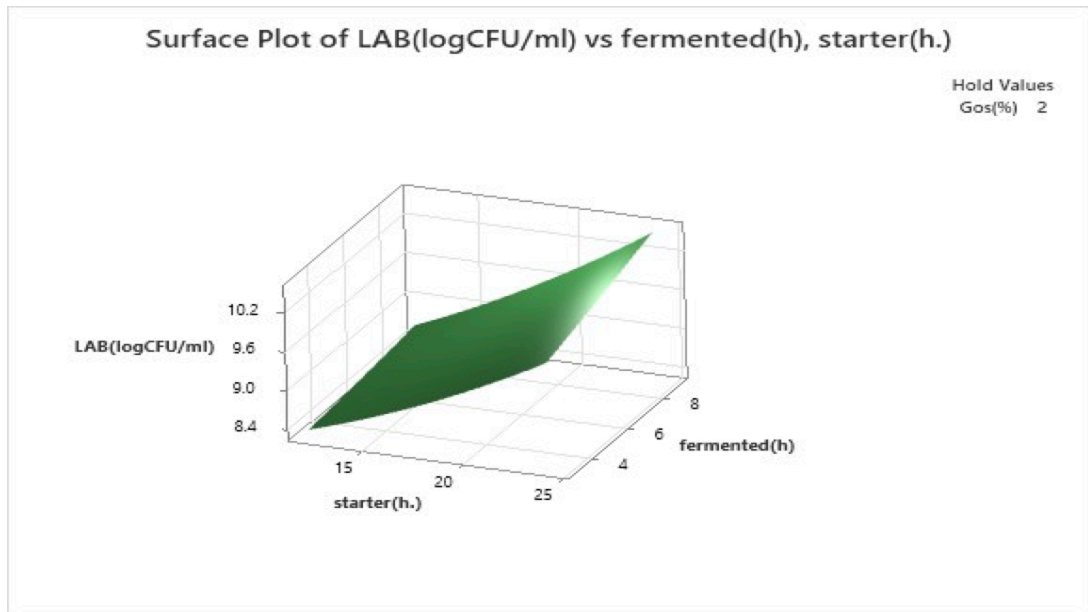
หมายเหตุ : ตัวอักษร a b c d e f g และ h ที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ค่าที่แสดงในตาราง คือ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากผลการทดลองพบว่าของปริมาณจุลินทรีย์ *L. casei* ของน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์มีค่าอยู่ในช่วง 6.7-10.5 logCFU/ml ซึ่งสถานะของกระบวนการผลิตที่ดีที่สุดคือ การเตรียมหัวเชื้อที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณพรีไบโอติกส์(GOS) 2 เปอร์เซ็นต์ และหมักน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์ ที่ 6 ชั่วโมง โดยผลการวิเคราะห์ให้ปริมาณจุลินทรีย์ *L. casei* มากที่สุด มีค่า 10.5 ± 0.3 logCFU/ml โดยความสัมพันธ์ของปัจจัยที่ต้องการศึกษากับค่าการตอบสนองของปัจจัย สามารถวิเคราะห์ได้โดยใช้แบบจำลอง พบว่าแบบจำลองมีค่า $R^2 = 0.89$, R^2 adjusted = 0.69 แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองมีความแม่นยำของการทดลอง โดยมีสมการดังนี้

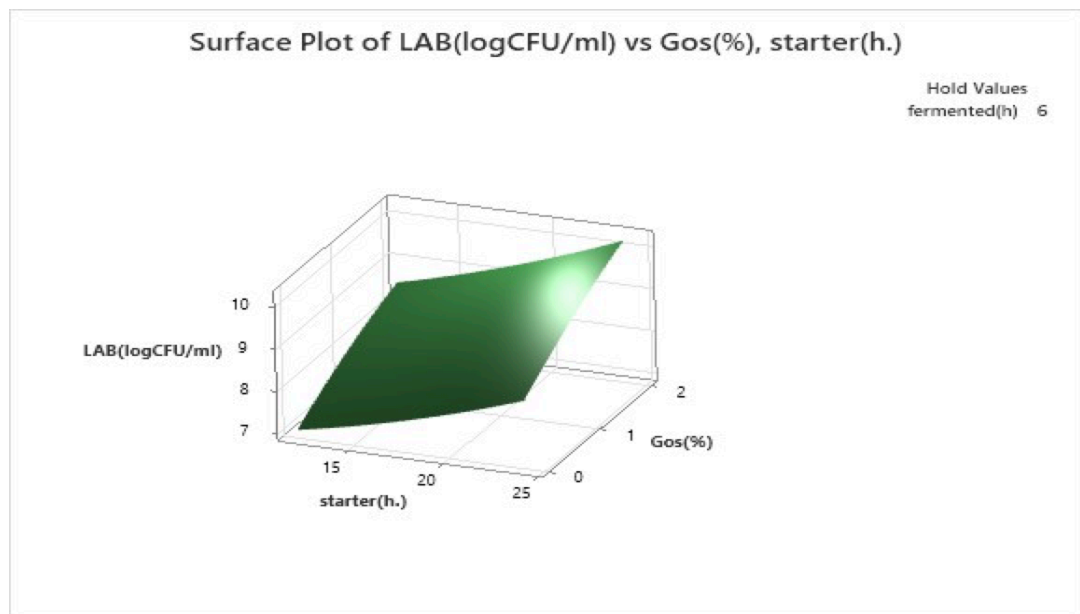
$$L. casei(\log cfu/ml) = 6.96 - 0.023X_1 + 0.66X_2 - 0.090X_3 + 0.00301X_1^2 - 0.117X_2^2 + 0.0009X_3^2 + 0.0125X_1X_2 + 0.0056X_1X_3 + 0.0250X_2X_3$$



ภาพที่ 4.2 Surface plot ของผลปฏิสัมพันธ์ระหว่างกาแลคโตโอริโกแซคคาไรด์ (%GOS, X_2) และระยะเวลาการหมัก (Fermentation, X_3) กับปริมาณจุลินทรีย์ *L. casei* (logCFU/ml)



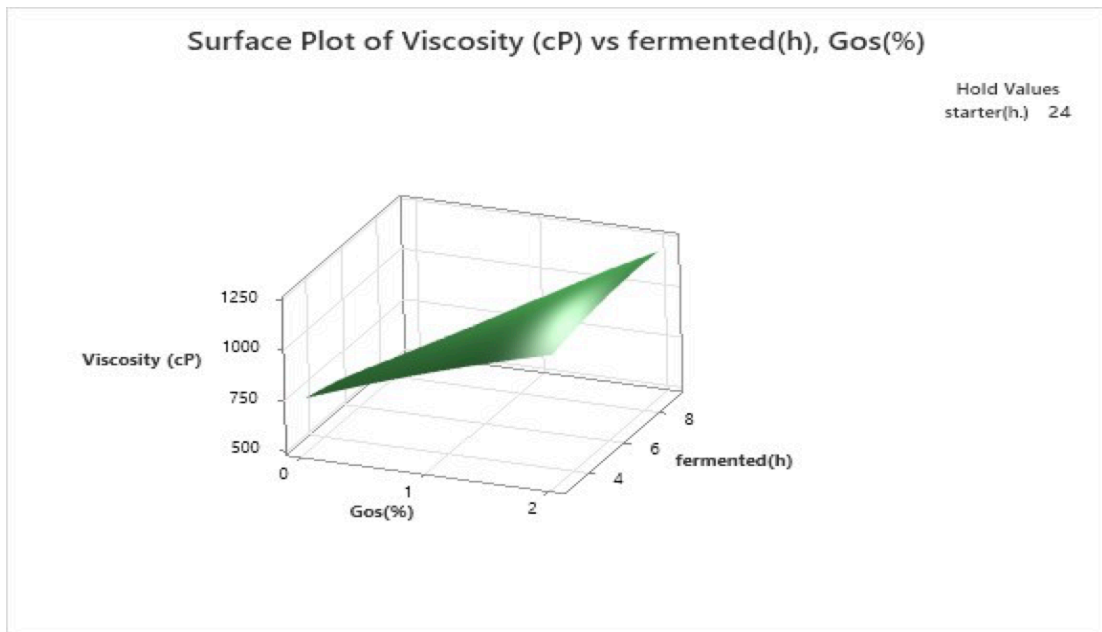
ภาพที่ 4.3 Surface plot ของผลปฏิสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาหมักหัวเชื้อ (Starter, X_1) และระยะเวลาการหมัก (Fermentation, X_2) กับปริมาณจุลินทรีย์ *L. casei* (logCFU/ml)



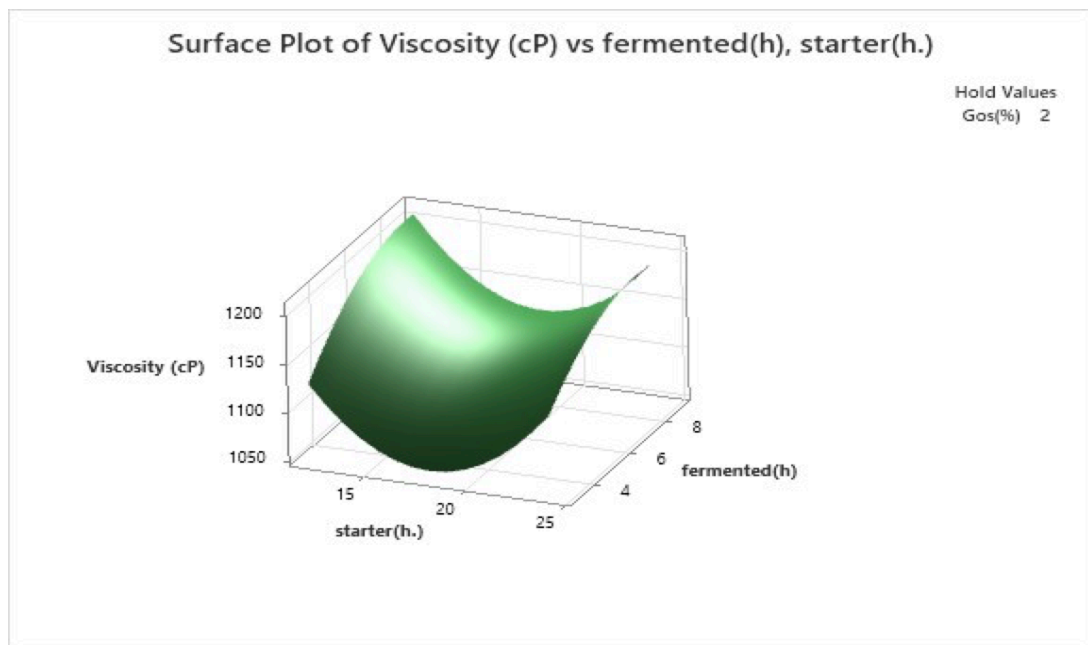
ภาพที่ 4.4 Surface plot ของผลปฏิสัมพันธ์ระหว่างหมักหัวเชื้อ (Starter, X_1) และกาแลคโตโอริโกแซคคาไรด์ (%GOS, X_2) กับปริมาณจุลินทรีย์ *L. casei* (logCFU/ml)

จากผลการทดลองปริมาณความหนืด(Viscosity) ของน้ำมะม่วงผสมสับประรดชินไปโอติกส์มีค่าอยู่ในช่วง 413.8-1184.1 cP โดยความหนืดที่มีค่ามากที่สุดเท่ากับ 1184.1 ± 45.8 cP ซึ่งมาจากกระบวนการผลิตการเตรียมหัวเชื้อที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณพรีไบโอติกส์ (GOS) 2 เปอร์เซ็นต์ และหมักน้ำมะม่วงผสมสับประรดชินไปโอติกส์ ที่ 6 ชั่วโมง โดยความสัมพันธ์ของปัจจัยที่ต้องการศึกษากับค่าการตอบสนองของปัจจัย สามารถวิเคราะห์ได้โดยใช้แบบจำลอง พบว่าแบบจำลองมีค่า $R^2 = 0.96$, R^2 adjusted = 0.88 แสดงให้เห็นว่าแบบจำลองมีความแม่นยำของการทดลอง โดยมีสมการดังนี้

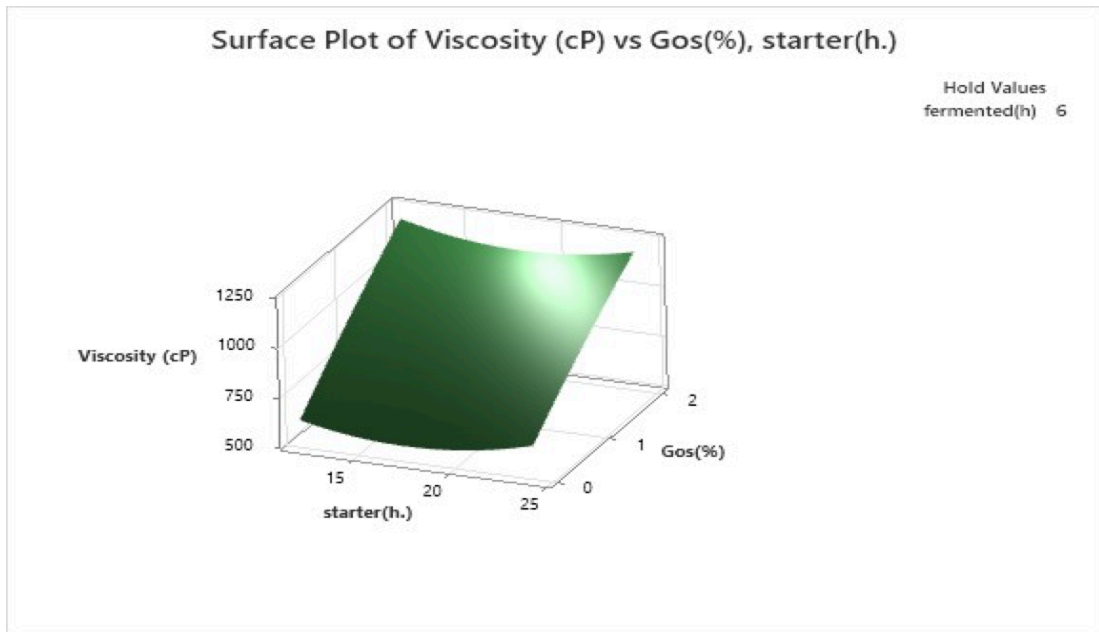
$$\text{Viscosity(cP)} = 1286 - 69.9 X_1 + 192 X_2 - 1.3 X_3 + 2.06 X_1 * X_1 - 18.0 X_2 * X_2 - 2.59 X_3 * X_3 - 1.58 X_1 * X_2 - 0.24 X_1 * X_3 + 24.2 X_2 * X_3$$



ภาพที่ 4.5 Surface plot ของผลปฏิสัมพันธ์ระหว่างกาแลคโตโอริโกแซคคาไรด์ (%GOS, X_2) และระยะเวลาการหมัก (Fermentation, X_3) กับความหนืด(Viscosity)



ภาพที่ 4.6 Surface plot ของผลปฏิสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาหมักหัวเชื้อ (Starter, X_1) และระยะเวลาการหมัก (Fermentation, X_3) กับความหนืด(Viscosity)



ภาพที่ 4.7 Surface plot ของผลปฏิสัมพันธ์ระหว่างหมักหัวเชื้อ (Starter, X₁) และกาแลคโตโอริโกแซคคาไรด์ (%GOS, X₂) กับความหนืด(Viscosity)

นอกจากนี้ในการศึกษาน้ำมะม่วงผสมสับปะรดขึ้นไบโอติกส์ได้มีการศึกษาคุณภาพของแต่ละปัจจัยของการทดลอง โดยทำการวิเคราะห์ค่าคุณภาพในด้านต่าง ๆ ดังนี้ ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด(Total Soluble Solid, TSS) พีเอช(pH) สี(color) กรดแลคติก(Lactic acid) ได้แสดงผลดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ค่าคุณภาพของตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับปะรดขึ้นไบโอติกส์

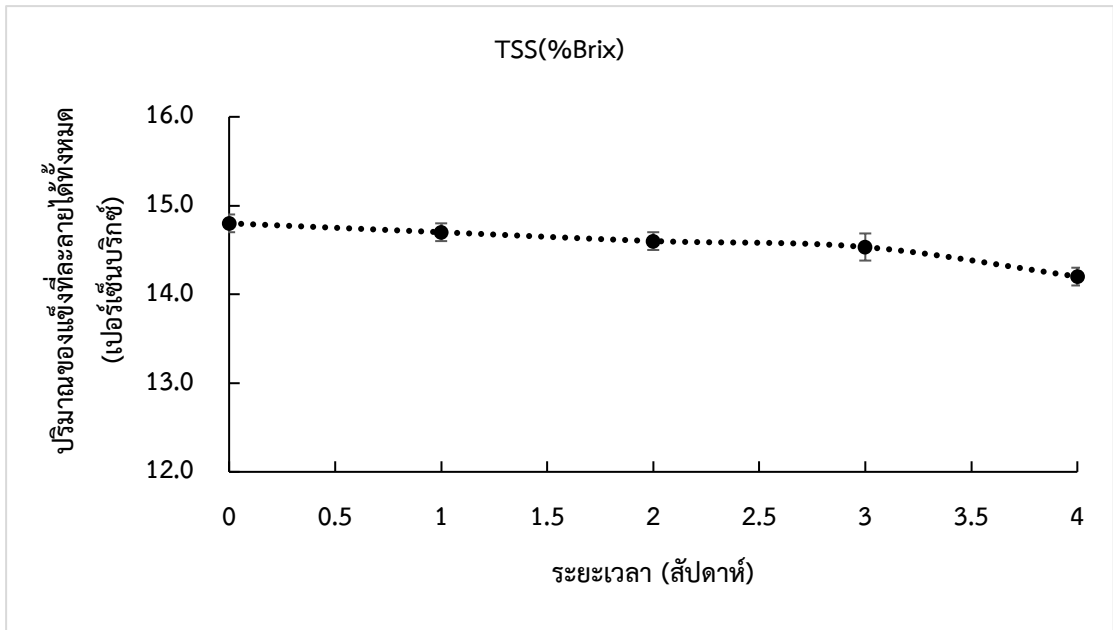
Code	TSS (%Brix)	pH	Acid (%)	L*	Color a*	b*
1	12.5±0.2	3.91±0.04	0.51±0.00	56.61±0.07	10.79±0.13	53.73±0.17
2	13.0±0.2	4.21±0.01	0.59±0.00	53.99±0.44	9.86±0.21	46.65±2.02
3	14.4±0.1	3.90±0.04	0.47±0.00	57.38±0.55	11.30±0.19	59.54±1.23
4	14.8±0.1	4.15±0.02	0.61±0.01	53.54±0.23	10.13±0.08	45.23±0.99
5	13.6±0.1	3.98±0.01	0.45±0.00	54.56±0.13	10.73±0.25	56.21±1.16
6	13.6±0.2	4.17±0.02	0.57±0.01	52.55±1.27	9.58±0.32	43.94±0.73
7	13.5±0.0	3.74±0.06	0.58±0.01	53.33±0.44	10.53±0.22	55.12±1.01
8	13.6±0.0	4.16±0.03	0.63±0.01	54.41±0.31	9.93±0.17	46.75±1.19
9	12.8±0.1	4.04±0.03	0.46±0.01	54.50±0.35	9.50±0.06	48.54±1.05

10	14.6±0.1	4.07±0.02	0.52±0.00	54.53±0.95	9.67±0.35	48.81±0.93
11	12.5±0.1	3.89±0.01	0.55±0.03	57.88±0.74	10.56±0.14	53.32±1.12
12	14.4±0.0	3.88±0.03	0.58±0.01	57.24±0.87	10.40±0.08	52.88±1.04
13	13.5±0.1	3.97±0.02	0.55±0.01	55.93±0.33	10.19±0.13	50.47±0.85
14	13.8±0.2	4.04±0.01	0.49±0.00	55.96±0.60	10.13±0.45	53.19±2.65
15	13.6±0.1	3.97±0.04	0.55±0.00	57.71±0.63	10.30±0.10	52.25±1.46

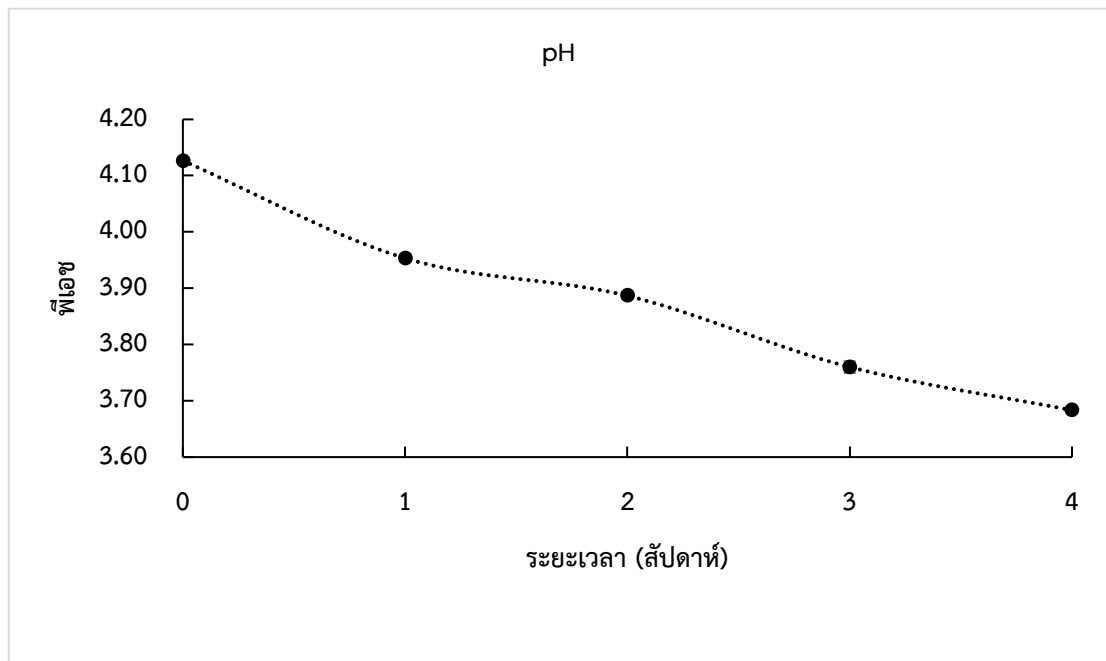
เมื่อนำตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับประรดซินไบโอติกส์มาวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดพบว่า เมื่อปริมาณพรีไบโอติกแตกต่างกัน(0%, 1%, 2%) ส่งผลทำให้ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้นตามปริมาณของพรีไบโอติกอย่างมีนัยสำคัญ โดยปริมาณพรีไบโอติก 0% มีค่าประมาณ 12.5±0.2 - 13.0±0.2%Brix ปริมาณพรีไบโอติก 1% มีค่าประมาณ 13.5±0.0 - 13.8±0.2%Brix และที่ปริมาณพรีไบโอติก 2% ค่าประมาณ 14.4±0.0 - 14.8±0.1%Brix ตามลำดับ และเมื่อนำตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับประรดซินไบโอติกส์ทำการหมักที่ระยะเวลาต่าง ๆ (3, 6, 9 ชั่วโมง) พบว่าเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มมากขึ้นค่าพีเอชจะลดลง ปริมาณกรดจะเพิ่มมากขึ้นเนื่องจากแบคทีเรียได้ใช้น้ำตาลในการเจริญเติบโตและเกิดการผลิตกรดแลคติกในกระบวนการหมักนี้[53]

4.3 ศึกษาอายุการเก็บรักษา

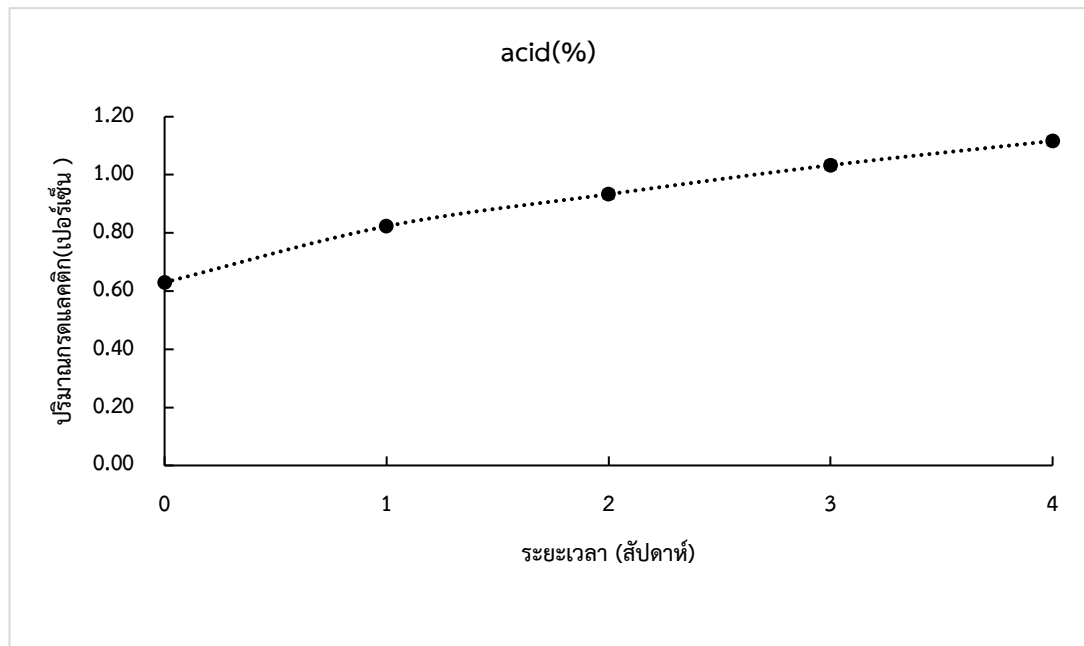
ตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับประรดซินไบโอติกส์ผลิตในระดับปฏิบัติการเก็บรักษาภายในตู้แช่เย็น (Panasonic, SBC-P2DSA 26.9 Q) ที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียสตลอดอายุการเก็บรักษาเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และตัวอย่างจะถูกนำมาวิเคราะห์ทุก ๆ 1 สัปดาห์ โดยวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ทั้งหมด (Total Soluble Solid, TSS) พีเอช (pH) สี (color) กรดแลคติก (Lactic acid) ปริมาณจุลินทรีย์ผลิตกรดแลคติก (Lactic acid bacteria, LAB) และความหนืด (Viscosity)



ภาพที่ 4.8 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับปะรดจีนไปโอติกส์ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียสตลอดอายุการเก็บรักษา 4 สัปดาห์ ค่าที่แสดงในกราฟ คือ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน



ภาพที่ 4.9 ค่าพีเอชของตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับปะรดจีนไปโอติกส์ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียสตลอดอายุการเก็บรักษา 4 สัปดาห์ ค่าที่แสดงในกราฟ คือ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน



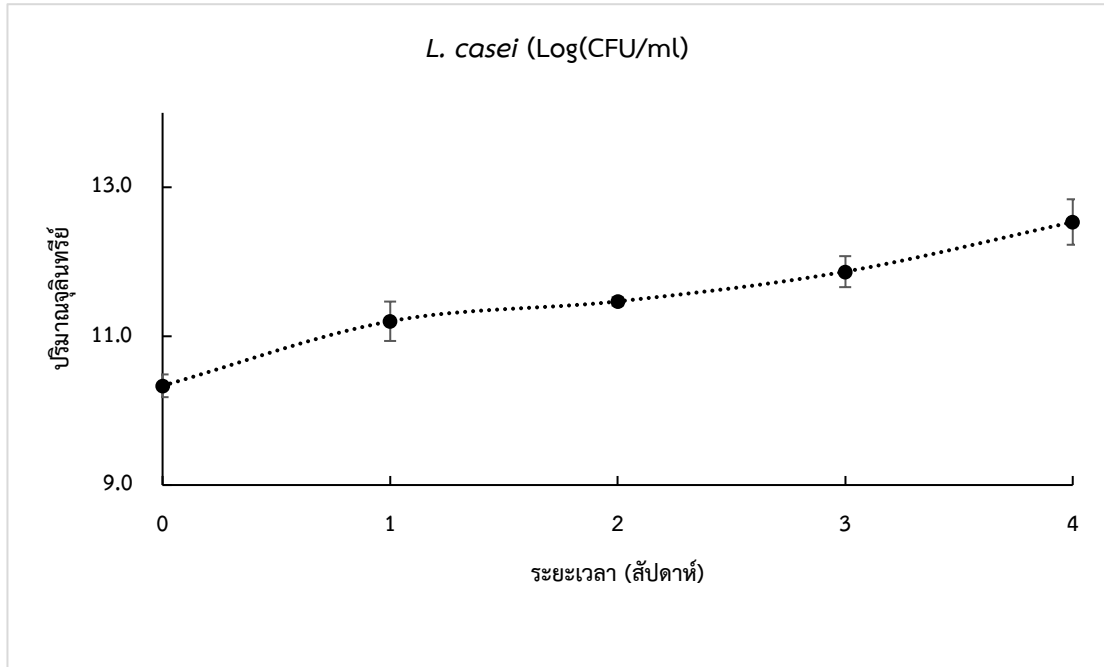
ภาพที่ 4.10 ปริมาณกรดแลคติกของตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับปะรดชิ้นไปโอดิกส์ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียสตลอดอายุการเก็บรักษา 4 สัปดาห์ ค่าที่แสดงในกราฟ คือ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ในการศึกษาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด(TSS) ตลอดอายุการเก็บรักษาพบว่า เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด(TSS) มีแนวโน้มลดลง แสดงดังรูป 4.8 โดยเริ่มต้นมีค่า 14.8 ± 0.1^a %Brix เมื่อระยะเวลาผ่านไป 4 สัปดาห์ มีค่าเป็น 14.7 ± 0.1^{ab} 14.6 ± 0.1^{ab} 14.5 ± 0.2^b และ 14.2 ± 0.1^c %Brix ตามลำดับ เมื่อนำค่าตั้งแต่เริ่มต้นในวันที่ 0-4 สัปดาห์มาเปรียบเทียบกัน พบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด(TSS) แต่ละช่วงเวลาของตัวอย่างตลอดอายุการเก็บรักษามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยเมื่อเทียบกับช่วงแรก (0-2 สัปดาห์) ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่จะแตกต่างกับช่วง 3 และ 4 สัปดาห์อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

เมื่อพิจารณาค่าพีเอชและปริมาณกรดแลคติกของตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับปะรดชิ้นไปโอดิกส์ ระหว่างการเก็บรักษา 0-4 สัปดาห์ พบว่าค่าพีเอชมีแนวโน้มลดลง แสดงดังรูป 4.9 โดยเริ่มต้นพีเอชมีค่า 4.13 ± 0.01^a จากนั้นได้ลดลงเป็น 3.95 ± 0.01^b 3.89 ± 0.01^c 3.76 ± 0.01^d และ 3.68 ± 0.01^e ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกันในแต่ละสัปดาห์ของตัวอย่างตลอดอายุการเก็บรักษา ค่าพีเอชมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เช่นเดียวกันกับค่าของปริมาณกรดแลคติกที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ แสดงดังรูป 4.10 โดยเริ่มต้นปริมาณกรดแลคติกมีค่า 0.63 ± 0.01^e % จากนั้นได้เพิ่มขึ้นเป็น 0.82 ± 0.01^d 0.93 ± 0.02^c 1.03 ± 0.02^b และ 1.12 ± 0.02^a % ตามลำดับ

จากผลการทดลองอายุการเก็บรักษาข้างต้นสรุปได้ว่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS)ของน้ำมะม่วงผสมสับปะรดชิ้นไปโอดิกส์มีแนวโน้มลดลง พีเอชลดลง แต่ปริมาณกรดมีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ($p < 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Sagar และคณะ ซึ่งได้ทำการทดลองประเมินคุณภาพและศึกษาอายุการเก็บรักษาของเครื่องต้มชิ้นไปโอดิกส์จากผลบัวหิมะ พบว่า

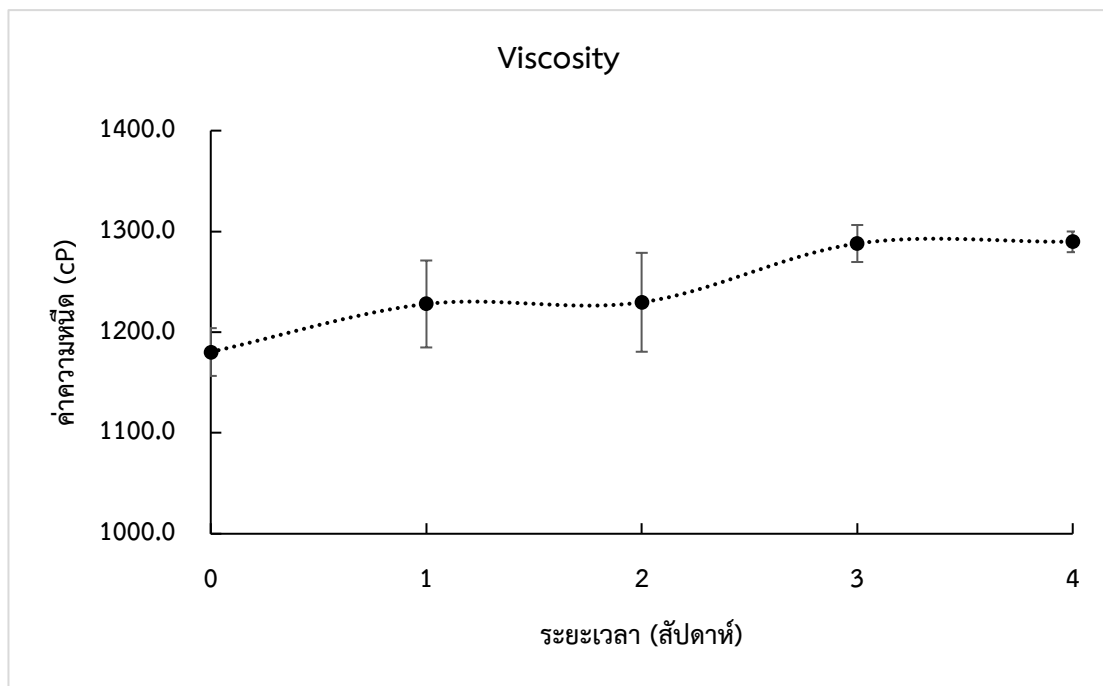
เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 27 วัน มีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งที่ละลายได้จากกราฟลดลงอย่างเห็นได้ชัด พีเอชลดลงจาก 4.58 เป็น 4.02 ± 0.02 และปริมาณกรดเพิ่มขึ้นจาก 0.609 ± 0.02 เป็น 0.80 ± 0.02 อย่างมีนัยยะสำคัญ [54]



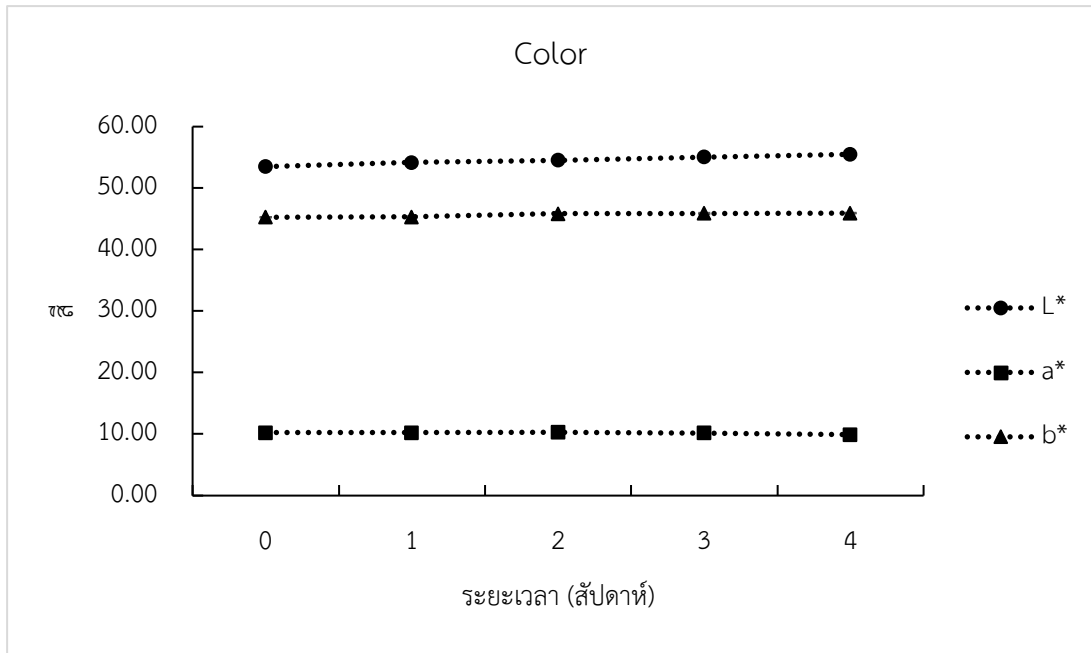
ภาพที่ 4.11 ปริมาณจุลินทรีย์ของตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับประรดซินไบโอติกส์ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียสตลอดอายุการเก็บรักษา 4 สัปดาห์ ค่าที่แสดงในกราฟ คือ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เนื่องจากในตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับประรดซินไบโอติกส์นี้ได้มีการเสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติกเข้าไปในผลิตภัณฑ์ จึงได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ โดยโพรไบโอติกที่ใช้ในตัวอย่างคือ *Lactobacillus casei* 431 ซึ่งปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นมีค่า 10.3 ± 0.2^d logCFU/ml เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ปริมาณจุลินทรีย์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น มีค่าเท่ากับ 11.2 ± 0.3^c 11.5 ± 0.1^c 11.9 ± 0.2^b และ 12.5 ± 0.3^a logCFU/ml ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่าปริมาณจุลินทรีย์โพรไบโอติกในน้ำมะม่วงผสมสับประรดซินไบโอติกส์นี้มีค่าตามกฎหมายกำหนด คือมากกว่า 10^6 ตลอดอายุการเก็บรักษา[4] และได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Elizabeth และคณะ ซึ่งได้ทำการทดลองประเมินความมีชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติกในเครื่องดื่มมะม่วง จากการทดลองของ Elizabeth และคณะแสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์ *L. casei* สามารถอยู่รอดได้ในน้ำมะม่วงได้ตลอดการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เนื่องจากในเครื่องดื่มน้ำมะม่วงมีการเติมแอสคอร์บิกและวิตามิน ซึ่งมีความสามารถในการดัดจับออกซิเจนที่ละลายแล้ว สร้างสภาพแวดล้อมที่ไม่ใช้ออกซิเจน ซึ่งเป็นสาเหตุต่อการดำรงชีพในเครื่องดื่มได้[55] รวมทั้งน้ำมะม่วงผสมสับประรดซินไบโอติกส์มีการเพิ่มโพรไบโอติกซึ่งเป็นอาหารของจุลินทรีย์จึงเป็นอีกสาเหตุหนึ่งต่อการดำรงชีพตลอดอายุการเก็บรักษา

นอกจากนี้ได้ทำการวิเคราะห์ค่าความหนืด (Viscosity) ของน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา พบว่าน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์ได้มีความหนืดเพิ่มมากขึ้นจากเริ่มต้น 1180.3 ± 23.71^b cP เป็น 1228.0 ± 43.14^{ab} 1229.7 ± 49.07^{ab} 1288.0 ± 18.36^a และ 1289.7 ± 10.26^a cP ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Heba และคณะได้ทำการการศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของโพรไบโอติกและพรีไบโอติกต่อคุณลักษณะด้านคุณภาพของน้ำมะม่วง โดยใช้เชื้อ *Lb. rhamnosus* และ *Bifidobacterium breve* พบว่าระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 3 สัปดาห์ น้ำมะม่วงที่ใส่อินนูลินมีความหนืดเพิ่มขึ้นจากวันแรก และเมื่อเทียบกันระหว่าง *Lb. rhamnosus* และ *Bifidobacterium breve* พบว่าน้ำมะม่วงที่ใช้ *Lb. rhamnosus* ผสมกับอินนูลินมีค่าความหนืดมากที่สุดซึ่งอาจเกิดจากความสามารถของ *Lactobacillus* ในการผลิตเอ็กโซโพลีแซ็กคาไรด์ทำให้ความหนืดเพิ่มขึ้น[56]



ภาพที่ 4.12 ค่าความหนืดของตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียส ตลอดอายุการเก็บรักษา 4 สัปดาห์ ค่าที่แสดงในกราฟ คือ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน



ภาพที่ 4.13 ค่าสีของตัวอย่างน้ำมะม่วงผสมสับปรดชินไปโอติกส์ระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียส ตลอดอายุการเก็บรักษา 4 สัปดาห์ ค่าที่แสดงในกราฟ คือ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

การวิเคราะห์ค่าสีของน้ำมะม่วงผสมสับปรดชินไปโอติกส์ได้วิเคราะห์ในระบบ CIE ตลอดอายุการเก็บรักษา ในระยะเวลา 0-4 สัปดาห์ โดยตัวอย่างเริ่มต้นมีค่า L* (ความสว่าง) ค่า a* (ค่าสีแดง) และ ค่า b* (ค่าสีเหลือง) ค่าเฉลี่ยเป็น 53.49 ± 0.06^e , 10.21 ± 0.05^{ab} และ 45.26 ± 0.04^b ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างของสี (ΔE) เริ่มต้น(สัปดาห์ที่ 0) เทียบกับตัวอย่างการเก็บรักษาที่ระยะเวลา 1, 2, 3 และ 4 สัปดาห์ พบว่าความแตกต่างของสี (ΔE) ของน้ำมะม่วงผสมสับปรดชินไปโอติกส์มีค่าเป็น 0.69, 1.20, 1.69 และ 2.13 ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบค่าสี L* a* b* ของแต่ละสัปดาห์ของตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาพบว่าค่า L* มีค่าเพิ่มขึ้น จาก 53.49 ± 0.06^e เป็น 55.50 ± 0.06^a ค่า a* ลดลงจาก 10.21 ± 0.05^{ab} เป็น 9.92 ± 0.06^c และค่า b* เพิ่มขึ้น 45.26 ± 0.04^b เป็น 45.93 ± 0.06^a อย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.4 ศึกษาต้นแบบกระบวนการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับปรดการในระดับเชิงพาณิชย์

จากผลการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมของกระบวนการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับปรดชินไปโอติกส์โดยด้วยวิธีวิเคราะห์พื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology: RSM) คือกระบวนการเตรียมหัวเชื้อที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง ปริมาณพรีไบโอติกส์ (GOS) 2 เปอร์เซ็นต์ และหมักน้ำมะม่วงผสมสับปรดชินไปโอติกส์ ที่ 6 ชั่วโมง จากนั้นนำมาผลิตในระดับเชิงพาณิชย์ โดยใช้ชุดเครื่องจักรผลิตเครื่องดื่มเชิงหน้าที่โดยมีผลการศึกษาในระดับเชิงพาณิชย์

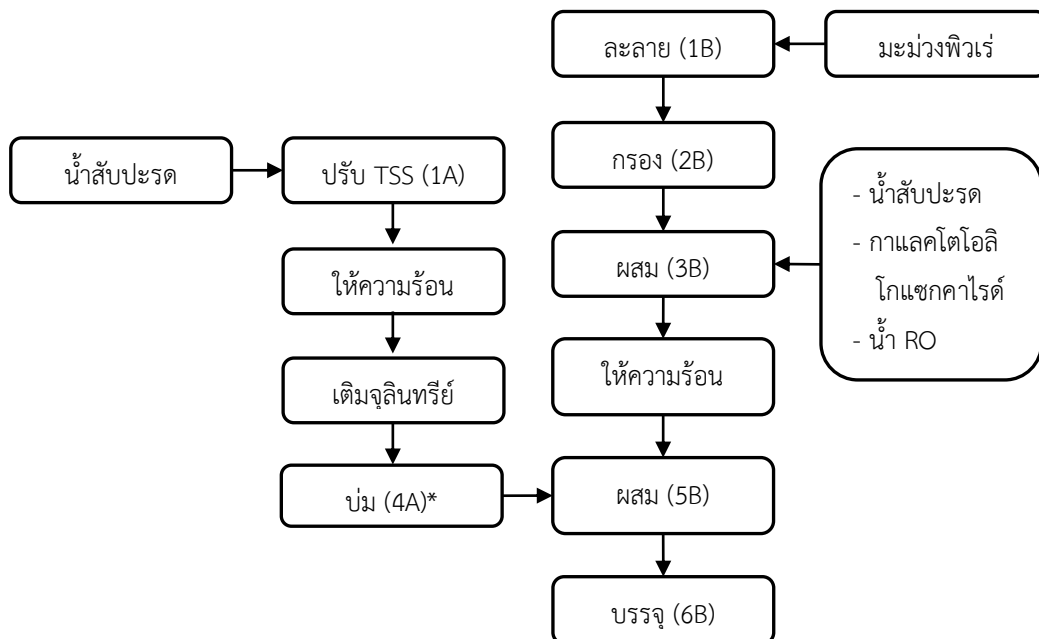
4.4.1 กระบวนการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับปรดการในระดับเชิงพาณิชย์

ในการศึกษาต้นแบบกระบวนการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับปรดซินไบโอติกส์ในระดับเชิงพาณิชย์ ได้มีการปรับกระบวนการผลิตเนื่องจากข้อกำหนดในการใช้ถังหมัก 50 ลิตร มีการกำหนดปริมาณ โดยต้องมีปริมาณน้ำผลไม้ไม่มากกว่า 35 ลิตรเพื่อให้ปริมาณทวมไบโควมรวมถึงเหมาะสมกับการใช้เครื่องจักรดังกล่าวในการวัดอุณหภูมิภายในผลิตภัณฑ์ จึงมีการปรับกระบวนการผลิต และเก็บข้อมูลต่าง ๆ ดังนี้

ตารางที่ 4.4 ส่วนประกอบน้ำมะม่วงผสมสับปรดซินไบโอติกส์ในระดับเชิงพาณิชย์

ส่วนประกอบ	ร้อยละ	กิโลกรัม	กิโลกรัม*
น้ำมะม่วงมหาชนก	50	100	100
น้ำสับปรด	30	60	30*
กาแลคโตโอลิโกแซกคาไรด์ (GOS)	2	4	4
น้ำ RO	18	36	36
รวม	100	200	170
หัวเชื้อ <i>L. casei</i> 431 (<i>L. casei</i> 1 กรัม : น้ำสับปรด 1 ลิตร)	หัวเชื้อ 50 มิลลิลิตร : น้ำมะม่วงผสมสับปรดซินไบโอติกส์ 1 ลิตร	10	40*
รวม		210	210

*แบ่งน้ำสับปรดจากสูตรน้ำมะม่วงผสมสับปรดมาเพื่อเตรียมหัวเชื้อ เนื่องจากน้ำสับปรดในถังต้องมากกว่า 35 ลิตร



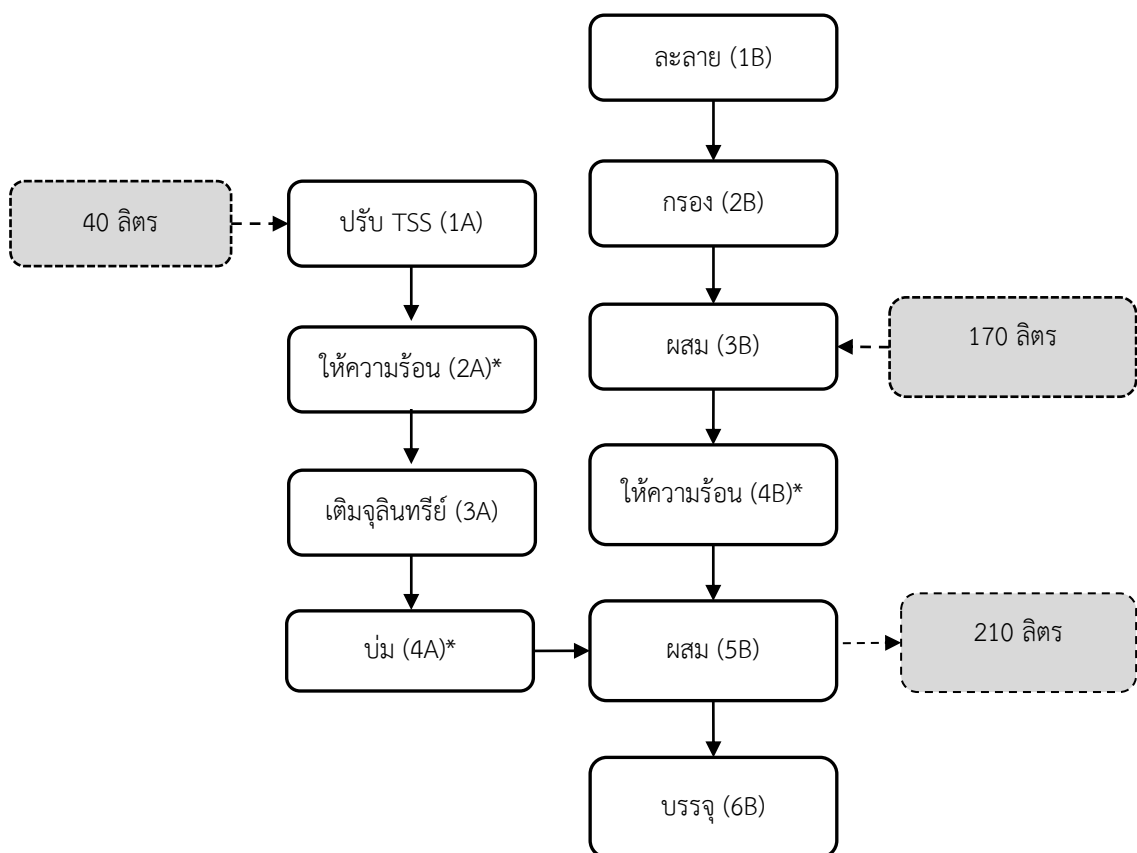
ภาพที่ 4.14 กระบวนการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับปรดซินไบโอติกส์ในระดับเชิงพาณิชย์

ตารางที่ 4.5 รายละเอียดและวิธีการของกระบวนการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับประรดขึ้นไปโอดีกส์

ขั้นตอน	วิธีการ	อุปกรณ์
(1A) ปรับ TSS	นำน้ำสับประรดพิวเร่ผสมกับน้ำกรอง เพื่อปรับ Total soluble solid ให้ได้ 10-15 %Brix	- เครื่องวัด TSS(°Brix)
(2A)ให้ความร้อน	ให้ความร้อนน้ำสับประรด โดยใช้ถังบ่มขนาด 50 ลิตร จนกระทั่งน้ำสับประรดมีอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วินาที แล้วลดอุณหภูมิจนกระทั่งอุณหภูมิ น้ำสับประรดเหลือ 37 องศาเซลเซียส	- ชุดเครื่องจักรผลิตเครื่องดื่มเชิงหน้าที่
(3A) เติมจุลินทรีย์	เติมจุลินทรีย์ <i>Lactobacillus casei</i> . ลงในถัง ด้วยการสูมน้ำสับประรดจากถังบ่มขนาด 50 ลิตรมาละลายจุลินทรีย์ แล้วเทกลับลงไปในถัง ใช้ใบกวนผสมให้เข้ากัน	- ขวดแก้วฆ่าเชื้อ
(4A)บ่ม	จากนั้นบ่มน้ำสับประรดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง	- ชุดเครื่องจักรผลิตเครื่องดื่มเชิงหน้าที่
(1B) ละลาย	ละลายมะม่วงมหาชนกพิวเร่ และน้ำสับประรดพิวเร่ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียส	- ตู้เย็น
(2B) กรอง	กรองมะม่วงมหาชนกพิวเร่ และน้ำสับประรดพิวเร่โดยใช้ตะแกรง	- ตะแกรง - หม้อ - ทัพพี
(3B) ผสม	ผสมน้ำสับประรด น้ำกรอง กาแลคโตโอดีโกแซกคาไรด์ (GOS) และน้ำมะม่วงในถังผสม เปิดมอเตอร์กวน 15% เพื่อผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 5 นาที	- ชุดเครื่องจักรผลิตเครื่องดื่มเชิงหน้าที่
(4B) ให้ความร้อน	ให้ความร้อนน้ำมะม่วงผสมน้ำสับประรดโดยผ่านเครื่องฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสแล้วคงอุณหภูมิในท่อคงอุณหภูมิ 16 วินาที จากนั้นลดอุณหภูมิ น้ำมะม่วงผสมน้ำสับประรดให้เหลืออุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสส่งไปรอในถังบ่มขนาด 200 ลิตรเพื่อผสมเชื้อตั้งต้นที่ได้จากการบ่มน้ำสับประรดในถัง 50 ลิตร รักษาอุณหภูมิไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส	- ชุดเครื่องจักรผลิตเครื่องดื่มเชิงหน้าที่
(6B) ผสม	ส่งเชื้อตั้งต้นที่ได้จากการบ่มน้ำสับประรดที่เตรียมไว้จากถังบ่มขนาด 50 ลิตร ผสมในถังบ่มขนาด 200 ลิตร เปิดมอเตอร์กวนผสมให้เข้ากัน	- ชุดเครื่องจักรผลิตเครื่องดื่มเชิงหน้าที่

ขั้นตอน	วิธีการ	อุปกรณ์
(7B) บรรจุ	บรรจุลงขวดแก้วขนาด 180 ml ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ โดยเปิดมอเตอร์กวนผสมในถังบรรจุขนาด 200 ลิตรเพื่อความสม่ำเสมอในการบรรจุ (เปิดใบกวน 100 รอบ/นาที) แล้วปิดฝา	<ul style="list-style-type: none"> - ชุดเครื่องจักรผลิตเครื่องดื่มเชิงหน้าที่ - ตะกร้าพลาสติกสีน้ำเงิน - ถังแช่เย็น

4.4.2 เปอร์เซ็นต์ผลได้ (Percent Yield)



ภาพที่ 4.15 กระบวนการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไปโอติกส์ในระดับเชิงพาณิชย์

จากกระบวนการผลิตข้างต้นพบว่าระหว่างกระบวนการได้มีการสูญเสียเปอร์เซ็นต์ผลได้ระหว่างกระบวนการผลิต ซึ่งแต่ละขั้นตอนได้คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ระหว่างกระบวนการดังนี้

ตารางที่ 4.6 เปอร์เซ็นต์ผลได้ระหว่างกระบวนการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับประดชินไปโอติกส์

กระบวนการ	ปริมาตร (ลิตร)	เปอร์เซ็นต์ผลได้ระหว่างกระบวนการ (ร้อยละ)
ผสม	210	100.00
บรรจุ	175.00	83.33

ปริมาณน้ำมะม่วงผสมสับประดชินไปโอติกส์และเปอร์เซ็นต์ผลได้ระหว่างกระบวนการได้แสดงในตารางที่ 4.6 โดยปริมาณน้ำมะม่วงโพธิ์ไปโอติกส์ก่อนผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ 170 ลิตร หลังกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์และบรรจุเหลือ 135 ลิตร รวมกับปริมาณเชื้อตั้งต้นที่บ่มด้วยน้ำสับประดอีก 40 ลิตรรวมเป็น 175 ลิตร ซึ่งคิดเป็นร้อยละผลได้ 83.33 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณที่สูญเสียไปเกิดจากกระบวนการใช้ตัวอย่างไล่น้ำภายในท่อและตัวอย่างที่ถูกล้างน้ำไล่ออกจากท่อประมาณ 33 ลิตรและสูญเสียขณะบรรจุอีกประมาณ 2 ลิตร

4.4.3 ค่าคุณภาพน้ำมะม่วงผสมสับประดชินไปโอติกส์ในระดับเชิงพาณิชย์

ในการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับประดชินไปโอติกส์ในระดับเชิงพาณิชย์ ได้ทำการวัดค่าคุณภาพ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้(TSS) พีเอช(pH) ปริมาณกรด(Lactic acid (%)) ปริมาณจุลินทรีย์(CFU/ml) ของวัตถุดิบ และค่าสี ระหว่างกระบวนการผลิต (ตารางที่ 4.7) นอกจากนี้ยังมี การทดสอบทางประสาทสัมผัสแสดงค่าดังตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.7 ค่าคุณภาพน้ำมะม่วงผสมสับประดชินไปโอติกส์ในระดับเชิงพาณิชย์

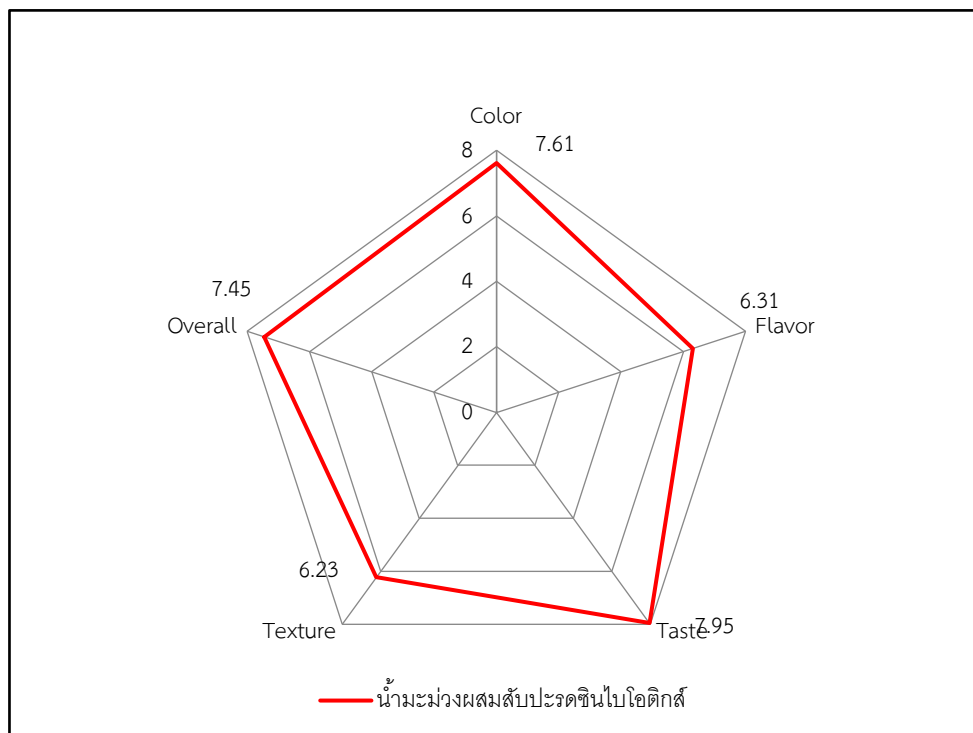
ตัวอย่าง	TSS	pH	Lactic acid (%)	Lactic acid Bacteria (CFU/ml)	color			ΔE
	(%Brix)				L*	a*	b*	
น้ำมะม่วงผสมสับประดก่อนให้ความร้อน	18.6±0.1	4.12±0.01	-		53.58±0.06	16.93±0.03	60.85±0.17	3.19
น้ำมะม่วงผสมสับประดหลังให้ความร้อน	17.7±0.1	4.07±0.01	-		54.85±0.03	14.92±0.09	58.72±0.02	
น้ำมะม่วงผสมสับประดชินไปโอติกส์	15.7±0.1	3.98±0.01	0.69	2.8×10^{10}	55.66±0.09	13.04±0.09	53.74±0.03	-

หลังจากเสร็จสิ้นกระบวนการผลิตแล้ว ได้นำผลิตภัณฑ์น้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์ แล้วเก็บตัวอย่างมาวัดค่าคุณภาพของผลิตภัณฑ์พบว่า น้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์ มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ $15.7 \pm 0.1\%$ Brix ค่าพีเอช 3.86 ± 0.01 ปริมาณกรดแลคติก 0.69% ปริมาณจุลินทรีย์ *L. casei* 2.8×10^{10} CFU/ml และค่าสีของ $L^* a^*$ และ b^* มีค่า 55.66 ± 0.09 13.04 ± 0.09 และ 53.74 ± 0.03 ตามลำดับ

การประเมินทางประสาทสัมผัส (Sensory test) โดยใช้ผู้ทดสอบที่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 10 คน พบว่า ค่าเฉลี่ยคะแนนคุณภาพด้านสี รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมของผลิตภัณฑ์น้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์ พบว่ามีคะแนนด้านสี รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมมีค่ามากกว่าเกณฑ์ที่ตั้งไว้ คือ มากกว่าหรือเท่ากับ 6 คะแนน แสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีโอกาสดำเนินการยอมรับจากผู้บริโภค

ตารางที่ 4.8 การประเมินทางประสาทสัมผัส (Sensory test) ในระดับเชิงพาณิชย์

คุณภาพ	คะแนนการทดสอบ
สี (Color)	7.61 ± 1.28
กลิ่น (Flavor)	6.31 ± 1.41
รสชาติ (Taste)	7.95 ± 1.29
เนื้อสัมผัส (Texture)	6.23 ± 1.41
ความชอบรวม (Overall)	7.35 ± 1.39



ภาพที่ 4.16 ผลการประเมินทางประสาทสัมผัส (Sensory test) ในระดับเชิงพาณิชย์

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

เมื่อศึกษาอัตราการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติก *Lactobacillus casei* 431 ในน้ำสับปะรด ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยพิจารณาค่าดูดกลืนแสง OD₆₀₀ และการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ใน MRS agar พบว่าเมื่อระยะเวลาเพิ่มมากขึ้นค่าดูดกลืนแสง และปริมาณจุลินทรีย์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยเมื่อเปรียบเทียบปริมาณจุลินทรีย์รวมถึงค่าดูดกลืนแสงที่ระยะเวลาต่าง ๆ (0-24 ชั่วโมง) ปริมาณจุลินทรีย์ในช่วงระยะเวลา 12 ชั่วโมงอยู่ในช่วงlag phase ซึ่งจุลินทรีย์มีการปรับตัวในน้ำสับปะรด จากนั้นเข้าสู่ช่วง Log phase คือ 18 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับซึ่งมีค่าเพิ่มมากขึ้นอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของต้นแบบกระบวนการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์ ด้วยวิธีการทดลองแบบ Box-Behnken ศึกษา 3 ปัจจัย คือ ระยะเวลาการเตรียมหัวเชื้อ(12, 18, 24 ชั่วโมง), ปริมาณพรไบโอติกส์ (GOS 0, 1, 2 เปอร์เซ็นต์) และระยะเวลาการหมักน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์(3, 6, 9 ชั่วโมง) จากการทดลองแสดงให้เห็นว่า สภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์ คือการเตรียมหัวเชื้อในน้ำสับปะรดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง ใช้ปริมาณพรไบโอติก(GOS) 2 เปอร์เซ็นต์ และทำการหมักมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 ชั่วโมง ซึ่งจะได้ปริมาณจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์มากที่สุด คือมีค่า $10.5 \pm 0.3 \log \text{CFU/ml}$

การผลิตต้นแบบน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์ในระดับปฏิบัติการ จากกระบวนการผลิตที่เหมาะสม ทำการศึกษาระยะเวลาการเก็บรักษา 4 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิแช่เย็น 10 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อผ่านไป 4 สัปดาห์ มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 14.2 ± 0.1^c %Brix ค่าพีเอช 3.68 ± 0.01^e ปริมาณกรดแลคติก 1.12 ± 0.02^a เปอร์เซ็นต์ ปริมาณจุลินทรีย์มีค่า $12.5 \pm 0.3^a \log \text{CFU/ml}$ ความหนืดมีค่า 1289.7 ± 10.26^a cP ซึ่งปริมาณจุลินทรีย์ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์นี้มีค่ามากกว่า 10^6CFU/ml หรือ $6 \log \text{CFU/ml}$ แสดงให้เห็นว่าน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์มีปริมาณจุลินทรีย์เป็นไปตามกฎหมายกำหนด ตลอดระยะเวลาเก็บรักษา

จากนั้นได้ทำการศึกษากระบวนการผลิตน้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์ในระดับเชิงพาณิชย์โดยใช้ชุดเครื่องจักรผลิตเครื่องดื่มเชิงหน้าที่ พบว่าเมื่อผลิตในระดับเชิงพาณิชย์ได้ปรับกระบวนการผลิตให้เหมาะสมกับเครื่องจักรที่ใช้ คือ การเตรียมหัวเชื้อ *L. casei* 10 กรัมในน้ำสับปะรด 40 กิโลกรัม บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง และในการเตรียมน้ำมะม่วงผสมสับปะรด คือใช้มะม่วงมหาชนก 100 กิโลกรัม น้ำสับปะรด 30 กิโลกรัม ปริมาณ - พรไบโอติก(GOS) 4 กิโลกรัม และน้ำ 36 กิโลกรัม ซึ่งจะได้ปริมาณจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์มีค่า $10.45 \log \text{CFU/ml}$ ซึ่งจะได้น้ำมะม่วงผสมสับปะรดซินไบโอติกส์จำนวน 950 ขวด

5.2 ข้อเสนอแนะ

ในการทดลองนี้เป็นการทดลองทำต้นแบบกระบวนการผลิตมะม่วงผสมสับปะรดจีนไปโอติกส์ ดังนั้นเมื่อขยายกำลังผลิตสู่ระดับอุตสาหกรรมอาจต้องมีการปรับกระบวนการต้นแบบเพื่อให้เหมาะสมกับระดับอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ รวมถึงมีการปรับใช้กับผลิตภัณฑ์อื่น ๆ ที่คล้ายกัน

บรรณานุกรม

- [1] สำนักส่งเสริมการค้าสินค้าเกษตรและอุตสาหกรรม กรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ. **แนวโน้มอาหารและเครื่องดื่มในตลาดโลก ปี 2021**. [Online]. เข้าถึงได้จาก : https://www.ditp.go.th/contents_attach/721577/721577.pdf
- [2] สำนักข่าวกรุงเทพธุรกิจ. **“มูลค่าการบริโภคอาหารและเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ” เทรนด์อาหารเทรนด์สุขภาพยุค New Normal**. [Online]. เข้าถึงได้จาก : <https://www.bangkokbiznews.com/news/detail/910930>
- [3] Yoon Y.K., E.E. Woodams and Y.D. Hang. 2006. **Production of probiotic cabbage juice by lactic acid bacteria**. Bioresour Technol. 97, pp. 1427–1430
- [4] สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. คำชี้แจงประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง การใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติกในอาหาร และประกาศกระทรวงสาธารณสุข(ฉบับที่ 456) พ.ศ.2555 เรื่อง การใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติกในอาหาร (ฉบับที่ 2). [Online]. เข้าถึงได้จาก : http://food.fda.moph.go.th/law/data/announ_fda/Probiotics%20339%20&%2034.pdf.2556
- [5] สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. **“สถิติการส่งออกผลไม้และผลิตภัณฑ์ ปี 2560-2563”** สถิติการส่งออก. [Online]. เข้าถึงได้จาก : http://impexp.oae.go.th/service/export.php?S_YEAR=2560&E_YEAR=2563&PRODUCT_GROUP=5252&PRODUCT_ID=&wf_search=&WF_SEARCH=Y
- [6] สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. **“สถิติการส่งออกผลไม้และผลิตภัณฑ์ ปี 2560-2563”** สถิติการส่งออก. [Online]. เข้าถึงได้จาก : http://impexp.oae.go.th/service/export.php?S_YEAR=2560&E_YEAR=2563&PRODUCT_GROUP=5252&PRODUCT_ID=&wf_search=&WF_SEARCH=Y
- [7] วชิร เทพโยธิน, วาสนา รุ่งตระกูลไทย และสายสมร บุตรพรม. 2020. **การยอมรับของผู้บริโภคและคุณภาพของน้ำมะม่วงมหาชนกพร้อมดื่ม Consumer Acceptance and Quality of Ready to Drink Mahajanaka Mango Juice**.วารสารวิชาการและวิจัย มทร.พระนคร การประชุมวิชาการมหาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 5 (พิเศษ), หน้า 132 – 140.
- [8] ลาภิสรา วงศ์แก้ว และสิทธิณี ลิขิตตระกูลรุ่ง. 2552. **“โรคภัยของมะม่วงมหาชนก”** หนังสือพิมพ์ กสิกร. ปีที่ 82(6), หน้าที่ 43-47.

บรรณานุกรม(ต่อ)

- [9] ภัทรามาศ กาญจนบัตร. 2547. กิจกรรมเอนไซม์เปอร์ออกซิเดส โพลีฟีนอลออกซิเดส และ ปริมาณแคโรทีนอยด์ระหว่างการเก็บรักษา แบบแช่เยือกแข็งของเนื้อมะม่วงพันธุ์มหาชนก. วิทยานิพนธ์สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. หน้า 1 – 48.
- [10] ธาวิตา ศิริสัมพันธ์. 2560. “มหาชนก มะม่วงพันธุ์ไทย นามพระราชทาน”เทคโนโลยีชาวบ้าน. [online]. เข้าถึงได้จาก : https://www.technologychaoban.com/royal-funeral-pyre-report/article_34146.
- [11] Dinnagan garden. 2020. Mahachanok. [Online]. Available : <https://dinnaganorganic.com/product/organic-mahachanok-thailand/>.
- [12] สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำมะม่วง (มผช. 701/2557). [online]. เข้าถึงได้จาก: [http://tcps.tisi.go.th/pub/tcps0701_57\(น้ำมะม่วง\)](http://tcps.tisi.go.th/pub/tcps0701_57(น้ำมะม่วง)). 2560.
- [13] ธนาคารกรุงศรีฯ. 2562. แนวโน้มธุรกิจ/อุตสาหกรรมปี 2562-2564: อุตสาหกรรมเครื่องดื่ม. [online]. เข้าถึงจาก : <https://www.krungsri.com/th/research/industry/industry-outlook/FoodBeverage/Beverage/IO/io-beverage-20-th>
- [14] ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับเครื่องดื่มประเภทต่าง ๆ. [online]. เข้าถึงจาก : [http://old-book.ru.ac.th/e-book/h/HO306\(54\)/chapter6.pdf](http://old-book.ru.ac.th/e-book/h/HO306(54)/chapter6.pdf).
- [15] ประชาชาติธุรกิจ. 2564. ตลาดเครื่องดื่มที่ไม่มีแอลกอฮอล์ปี64 คาดว่าแตะ 2 แสนล้าน. [online]. เข้าถึงจาก : <https://www.prachachat.net/marketing/news-603102>
- [16] FAO/WHO Experts' Report. 2001. Health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria. [online]. Available : <http://www.fao.org/3/a0512e/a0512e.pdf>.
- [17] อติสร เสวตวิวัฒน์. 2015. Probiotics and the hundred trillion creatures living inside you. Heath and nutrition focus. pp. 22-35
- [18] Randheera, R.D.C.S., S.K. Baines and M.C. Adams. 2010. Importance of food in probiotic efficacy. Food Res. 43, pp. 1–7.
- [19] สุนทร ตันติไพบูลย์วุฒิ, อัมพวัน หวานแก้ว และ รุจี กรเจริญพรพงศ์. ผลของอุณหภูมิต่อการหมัก น้ำตาลและน้ำผึ้งต่อการเจริญและการอยู่รอดของเชื้อแบคทีเรียแลคโตบาซิลลัสในนม. [online]. เข้าถึงได้จาก : <https://www.lib.ku.ac.th/KUCONF/2555/KC4906014.pdf>

บรรณานุกรม(ต่อ)

- [20] ปริมาณการเกิดทรัพย์สิน และ วรากร เกิดทรัพย์สิน. 2561. “ผลของการเตรียมหัวเชื้อด้วยสภาวะที่เป็นกรดต่อการรอดชีวิตของ *Lactobacillus casei* ในสภาวะกรดและในน้ำผลไม้จำลอง” วิศวกรรมสารเกษมบัณฑิต. ปีที่ 8(3), หน้า 29-50
- [21] Mega wecare. โพรไบโอติกส์มิตรแก่ระบบทางเดินอาหาร. [online]. เข้าถึงได้จาก : <https://www.megawecare.co.th/content/5486/probiotic-probiotic-friend-of-the-digestive-system-probiotics->
- [22] วิชมนิ ยืนยงพุทธกาล, สันทัด วิเชียรโชติ และอุดมลักษณ์ สุอิตตา. 2560. “การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารเจลเพื่อสุขภาพสำหรับผู้สูงอายุจากผลไม้ไทย ที่มีองค์ประกอบของสารพรีไบโอติกส์โดยใช้เยลลี่ข้าวไรซ์เบอร์รี่ เป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบ”โครงการวิจัย มหาวิทยาลัยบูรพา. หน้า. 17 – 20.
- [23] กัญชัญญา ตีมีชัย. 2558. “การศึกษาประสิทธิภาพของการใช้ซินไบโอติกส์ชนิดแคปซูลในการบรรเทาอาการท้องผูกของกลุ่มประชากรในชุมชนหนองจอก” สารนิพนธ์สาขาวิทยาการชะลอวัยและฟื้นฟูสุขภาพ คณะวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิต. หน้า. 11 – 12.
- [24] ผู้ช่วยศาสตราจารย์.ดร.ภญ.บุญจิตา มระกุล. ทำความรู้จักกับอินูลิน (Inulin) และประโยชน์ของอินูลินต่อสุขภาพ. [Online]. เข้าถึงได้จาก : <https://pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article/585/อินูลินต่อสุขภาพ/>
- [25] Andrianto. D., Bintang. M., Aziz. I. A., Hermita. S. 2022. Characterization of chemical of inulin isolate from yacom tuber. Journal of food technology and industry. pp 111-118
- [26] สำนักโภชนาการ. 2564. ประโยชน์ของ ”อินูลิน” จากพืชหัว ลดคอเลสเตอรอล-ลดความอ้วน. [Online]. เข้าถึงได้จาก : <https://nutrition2.anamai.moph.go.th/th/rrhlnews/207862>
- [27] Shoaib, M., Shehzad A., Omar M., Rakha A., Raza H., Sharif H. R., Shakeel A., Ansari A., Niazi S. 2016. Inulin: properties, health benefits and food applications. Cabohydrate polymer.
- [28] Sherif M. A., Abdelmoneim H. A., Anwar N., Sherif M. A., Sobia N., Al-Farga A., Amr M. B. 2017. Inulin as Prebiotics and its Applications in Food Industry and Human Health; A Review. International Journal of Agriculture Innovations and Research. 5(1)

บรรณานุกรม(ต่อ)

- [29] Chityal G. K., Sarada S., Yedla P. 2018. **Status and Future Prospects of Fructooligosaccharides as Nutraceuticals**. *Materials Science in Food Bioengineering*. pp 451-503.
- [30] รศ. ดร. ครรชิต จุดประสงค์. **อินนูลินและฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์อาหารเพื่อสุขภาพกำลังมาแรง**. [online]. เข้าถึงได้จาก : https://inmu2.mahidol.ac.th/th/wp-content/uploads/2021/10/KN_392.pdf.
- [31] H. Gawande. 2013. **Peroxyacetic Acid: A Potent Food Industry Sanitizer**. *Indian Food Industry Mag*. 32(3), pp. 26-30
- [31] ประกานต์ ฤดีกุลธำรง และ จารุณี ควรพิบูลย์. 2555. **พรีไบโอติก: อาหารส่งเสริมสุขภาพ**. *ธรรมศาสตร์เวชสาร*. 12(2). หน้า 362-369.
- [32] Marcel B. Roberfroid. 2008. **Prebiotics**. [Online]. Available : <https://www.routledgehandbooks.com/doi/10.1201/9780849381829.ch3>. pp 54-55
- [33] Kim Kley V-D., Luciana P. de S. V., Sabrina V., Luis D. G-M., Patricia B. G. de M., Maria C. M., Vanete T. S., Carlos R. S., 2023. **The Potential of Xylooligosaccharides as Prebiotics and Their Sustainable Production from Agro-Industrial by-Products**. [Online]. Available : <https://www.mdpi.com/2304-8158/12/14/2681>.
- [34] Duarte P.M. Torres, Maria do Pilar F. Goncalves, Jose´ A. Teixeira, and L´igia R. Rodrigues. 2010. **Galacto-Oligosaccharides: Production, Properties, Applications, and Significance as Prebiotics**. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. 9.
- [35] สุวัฒนา พฤกษ์ศรี. **พรีไบโอติก “กาแลคโคโอริโก แซคคาไรด์”**. 2012. *วิชาการ ภาคเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปกร*. 42(3), หน้า 186-190.
- [36] Gibson GR, Rastall RA, editors. 2006. **Prebiotics: Development and Application**: John Wiley & Sons, Ltd.
- [37] Yang H. H., Un J. C., Young S. K., Eun Y. J., Hyung J. S. 2017. **Dietary galacto-oligosaccharides improve skin health: a randomized double blind clinical trial**. *Asia Pac J Clin Nutr* 2017;26(4):613-618.
- [38] Ibio. 2020. **Galacto-oligosaccharide**. [Online]. Available : <https://www.ibioworld.com/Ingredients0000000280>

บรรณานุกรม(ต่อ)

- [39] De Verse, M., and J. Sczezenmeir. 2008. **Probiotics, prebiotics, and synbiotics. "Food Biotechnol"**. 111, pp.1-66.]
- [40] Jitendra K. Malik., Abul H. Ahmad., Starling Kalpana., Atul Prakash., Ramesh C. Gupta. 2016. **Synbiotics: Safety and Toxicity Considerations**. [Online]. เข้าถึงได้จาก :
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128021477000577>
- [41] Jitendra K. Malik., Abul H. Ahmad., Starling Kalpana., Atul Prakash., Ramesh C. Gupta. 2016. **Synbiotics: Safety and Toxicity Considerations**. [Online]. เข้าถึงได้จาก :
<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B97801280214770007>
- [41] Markowiak. P., Slizewska. K. 2017. **Effect of Probiotic, Prebiotic and Synbiotic on human health**. Nutrient 9(9). 1021.
- [42] Salmeron I., 2017. **Fermentation cereal beverages: from probiotic, prebiotic and synbiotic towards nanoscience designed healthy drinks**. Applied Microbiology. 65(2). Pp 114-124.
- [43] ปิ่นมณี ขวัญเมือง. 2561. **เครื่องดื่มโพรไบโอติกส์จากพืช : ทางเลือกเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ**. วารสารครุศาสตร์อุตสาหกรรม. 17 (1), หน้า. 212 – 221
- [44] สுகนธ์ ตันติไพบูลย์วุฒิ, อัมพวัน หวานแก้ว และ รุจี กรเจริญพรพงศ์. **ผลของอุณหภูมิในการหมัก น้ำตาลและน้ำผึ้งต่อการเจริญและการอยู่รอดของเชื้อแบคทีเรียแลคโตบาซิลลัสในน้ำผลไม้**. [online]. เข้าถึงได้จาก :
<https://www.lib.ku.ac.th/KUCONF/2555/KC4906014.pdf>
- [45] 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**. Ruhuna Journal of Science. 7, pp. 64-69.
- [46] Elizabeth A. M., Carolina G. C., Maribel G. M., and Consuelo D. M. 2018. **Evaluation of viability of probiotic bacteria in mango (*Mangifera indica* L. Cv. "Tommy Atkins") beverage**. Revista DYNA, 85(207), pp. 84-92.
- [47] Alwis A. D. P. S., Perera O. D. A. N., and Weerahewa H. L. D. 2016. **Development of a Novel Carrot-based Synbiotic Beverage using *Lactobacillus casei* 431®**. The Journal of Agricultural Sciences. 11(3), pp. 178-185.

บรรณานุกรม(ต่อ)

- [48] Thatyane V. F., and Sueli R., 2018. **Prebiotic in fruit juice: processing challenges, advances, and perspectives.** Current Opinion in Food Science. 22, pp. 55–61.
- [49] Voragen a. 1998. **Technological aspects of functional food-related carbohydrates.** Trends Food Sci Technol. 9, pp. 328-335.
- [50] Hernandez O. H., A. Muthaiyan , Moreno F.J., Montilla A., Sanz M.L, Ricke S.C., 2012. **Effect of prebiotic carbohydrates on the growth and tolerance of Lactobacillus.**
[Online].Available:<https://digital.csic.es/bitstream/10261/51651/4/Effect%20of%20Prebiotic%20Carbohydrates.pdf>
- [51] AOAC. (2005). **Official Methods of Analysis.** 17th ed. Washington, DC. The Association of Official Analytical Chemists.
- [52] De Man, J.D., Rogosa, M., and Sharpe, M.E. 1960. **A Medium for the Cultivation of Lactobacilli.** *Journal of Applied Bacteriology* 23, pp 130–135.
- [53] S.M Gamage., M.K.S. Mihirani., O.D.A.N Perera. H.L.D. Weerahewa. 2016. **“Development of symbiotic beverage from beetroot juice using beneficial probiotic Lactobacillus Casei 431.”** Ruhunajournal of science. 7 :64-69
- [54] D. Dagar., O. Pravin., K. B. Tika., 2022. **“Function quality evaluation and shelf life study of synbiotic yacon juice”** Food Science&Nutrition 8(3) : 1546-1553
- [55] A.M. Elizabeth., G.C. Carolina., G.M. Maribel. D.M. Consuelo. 2018. **“Evaluation of viability of probiotic bacteria in mango(Mangifera indica L. CV. “Tommy atkins”)beverage”** Revista DYNA 85(207) : 84-92
- [56] Heba Y. Nasef., G.A. Ibrahim., Abd El-Aziz N. Shehata., Eman F. Mohamed., Ahmed A. Farrag., 2020. **Study of functional properties of probiotic and prebiotic on quality Characteristics of mango juice.** Current Science International. 9(3): pp.387-406.]

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก. คู่มือการใช้งานชุดเครื่องจักรเชิงหน้าที่

ภาคผนวก ข. ข้อมูลการวิเคราะห์ Box-Behnken Design

และการวิเคราะห์ทางสถิติ

ภาคผนวก ค. กฎหมายการใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในอาหาร

ภาคผนวก ง. งานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์

ภาคผนวก ก.
คู่มือการใช้งานชุดเครื่องจักรเชิงหน้าที่

1 การตรวจสอบก่อนเริ่มใช้งาน

1.1 ปรับแรงดันที่ตู้ (แรงดัน 7 บาร์)



- ปรับหมุนซ้ายเพื่อเพิ่มแรงดัน
- ปรับหมุนขวาเพื่อลดแรงดัน

1.2 เปิดวาล์ว

- VHU2101-01 ข้างชุดให้ความร้อน



- VHU2103-01 ข้างบนเพลทคูลลิ่ง



- VHU2104-01 ข้างบนเพลทชีวเลอร์

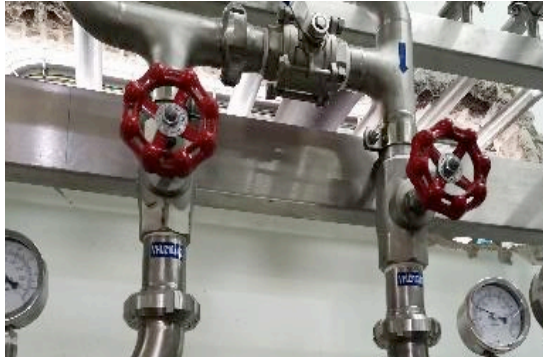


- VHU2101-13 ข้างบนถังผสม



1.3 ปิดวาล์ว

- VHU2103-02 และ VHU2103-03 ข้างบนเพลาทคูลิ่ง



- VHU2104-02 และ VHU2104-03 ข้างบนเพลาทชีวเลอร์



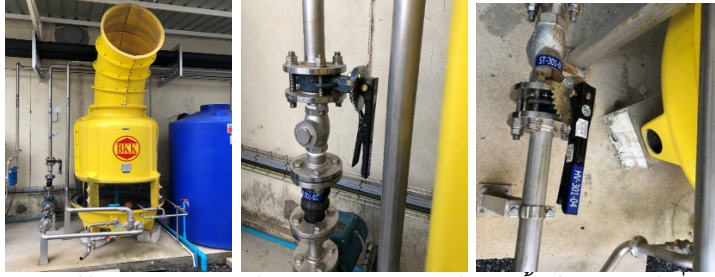
- VHU2101-12 ข้างบนถังผสม

1.4 ใช้ระดับน้ำในถังคูลิ่งทาวเวอร์ และชีวเลอร์

- เปิดวาล์วลมด้านนอกทั้งหมด



- เปิดวาล์ว HV-301-03 และ HV-301-04 ข้างถังคูลิ่งทาวเวอร์



- เติมน้ำในคูลลิ่งทาวเวอร์ด้วยการเปิดวาล์ว HV-301-02 หน้าคูลลิ่งทาวเวอร์เมื่อเต็มแล้วปิดวาล์ว HV-301-02



- เปิดวาล์ว HV-301-05 HV-301-06 HV-301-08 HV-301-09 HV-301-14 HV-102-21 และ VH2104-01 ด้านข้างและด้านหลังชุดชีวเลอร์



- เติมน้ำในชีวเลอร์ด้วยการเปิดวาล์ว HV-301-15 ข้างถังชีวเลอร์เมื่อเต็มแล้วปิดวาล์ว HV-301-02



- ปิดวาล์ว HV-301-10 HV-301-12 และ HV-301-13 ด้านข้างถังชีวเลอร์



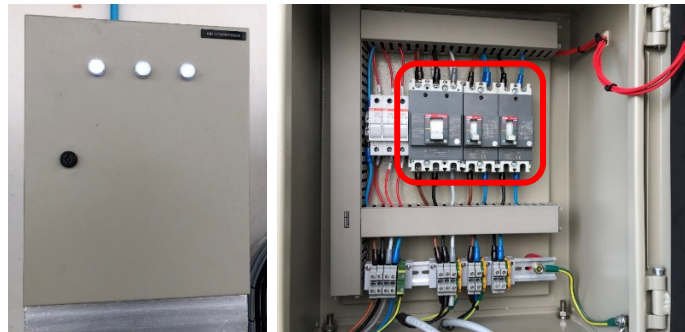
2 เปิดใช้งานหน่วยสนับสนุน

2.1 เปิดเบรกเกอร์ในตู้ไฟ

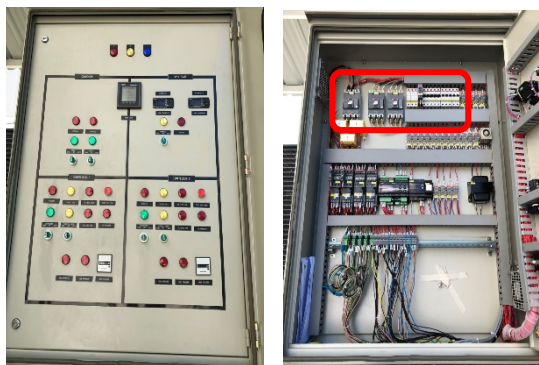
- ตู้ไฟควบคุมคลิงค์ทาวเวอร์และปั๊มชีวเลอร์ 2 เบรกเกอร์



ตู้ไฟควบคุมลม 3 เบรกเกอร์

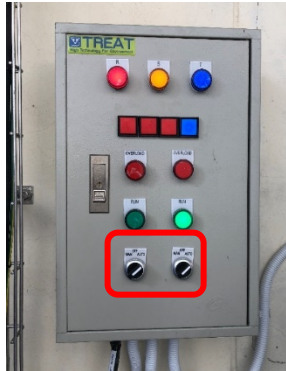


- ตู้ไฟชีวเลอร์ 9 เบรกเกอร์



2.2 เปิดสวิตช์

- เปิดสวิตช์หน้าตู้ไฟน้ำกรองทั้ง 2 สวิตช์ไปที่ Auto



- เปิดสวิตช์เครื่องควบคุมปั๊มลมขึ้นชั้นบน



- เปิดสวิตช์ปั้มน้ำของคูลิ่งค์ทาวเวอร์สวิตซ์ 2 ตัวบนและชีวเลอร์สวิตซ์ 2 ตัวล่างไปที่ LOG

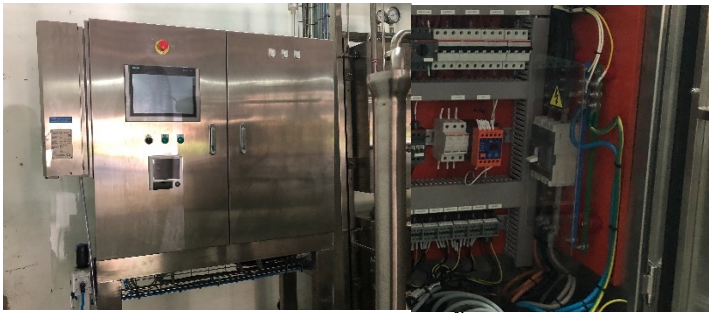


- เปิดสวิตช์ชีวลอเตอร์ตามลำดับ 1 - 7

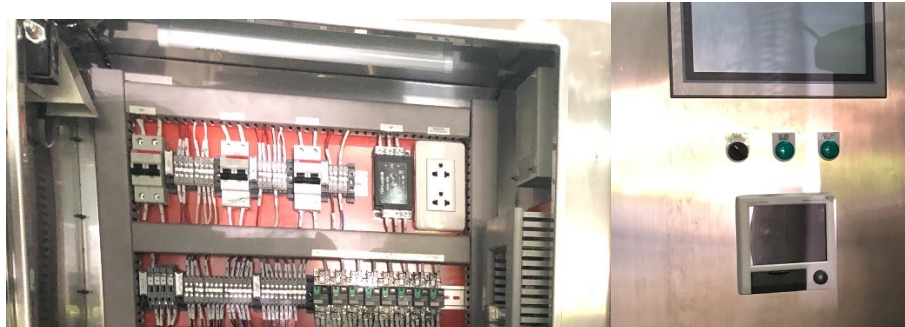


3 เปิดเครื่องควบคุม

3.1 เปิดเบรกเกอร์



เปิดเบรกเกอร์ตู้ควบคุมกระบวนกรฆ่าเชื้อ

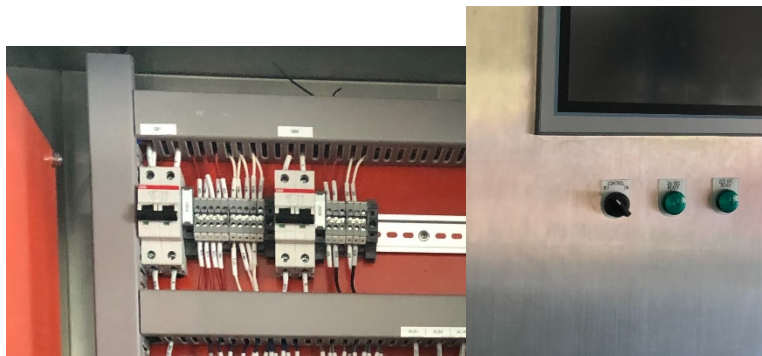


- เปิดเบรกเกอร์ตู้ควบคุมกระบวนกรบ่ม

3.2 เปิดสวิตช์



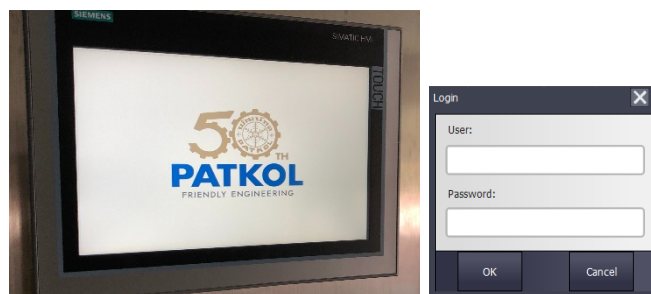
- เปิดสวิตช์ตู้ควบคุมกระบวนการฆ่าเชื้อ



- เปิดสวิตช์ตู้ควบคุมกระบวนการต้ม

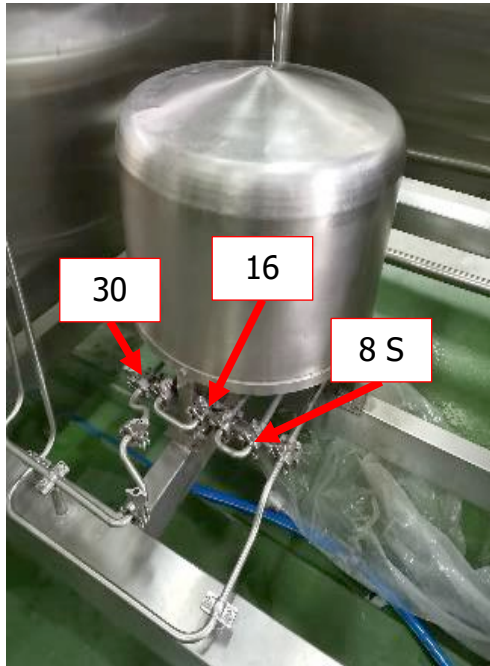
3.3 Login โปรแกรม

- Login โปรแกรมควบคุมกระบวนการฆ่าเชื้อ User : bas Pass : 666



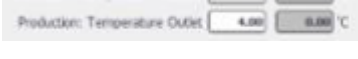



- Login โปรแกรมควบคุมกระบวนการต้ม User : nick Pass : 555



4 การใช้งานชุดฆ่าเชื้อ
4.1 สลับท่อคงอุณหภูมิ



4.2 ตั้งค่าการฆ่าเชื้อ

- กดเลือกหน้าการตั้งค่าที่ปั๊ม 
- ตั้งค่าอุณหภูมิฆ่าเชื้อ ในช่อง 
- ตั้งค่าอุณหภูมิบรรจุ 
- ตั้งค่าอัตราการไหล 

4.3 เริ่มการทำงานของโปรแกรม

- กดเลือกเข้าหน้าขั้นตอนการทำงาน 
- หากปั๊มเป็นสัญญาณลักษณะ  ให้กดปั๊มแล้วกด Reset



- กดเลือก



- กดปุ่ม แล้วกด Start



4.4 ถ่ายน้ำเก่าในระบบออก



- เปิดวาล์ว VH2101-01 ใต้ถังผสม



- เปิดวาล์ว VH2101-10 ข้างเครื่องฮอโมจีไนเซอร์



- เปิดวาล์ว VH2101-18 ช้างปัม CIP



- เปิดวาล์ว VH2103-01 บนเพลทคูลิ่งค



- เปิดวาล์ว VH2104-01 บนเพลทฮีวเลอร์



- น้ำเก่าออกจนหมดแล้วกดปุ่ม

4.5 เติมน้ำในถัง



- ปิดวาล์ว VH2101-01 ใต้ถังผสม



- ปิดวาล์ว VH2101-18 ข้างปั๊ม CIP



- เปิดวาล์ว VH2101-02 ใต้ถังผสม

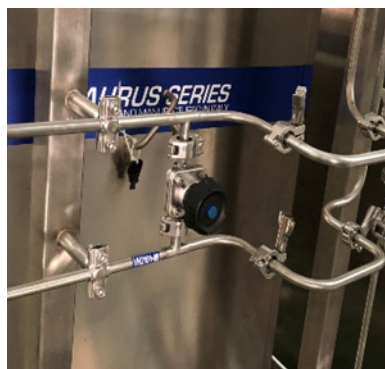


- เปิดวาล์ว VHU2102-05 ข้างถังผสมเพื่อเติมน้ำ



- เปิดวาล์ว VH2101-04 อยู่ระหว่างถังผสมกับสกรูปั่นด้านล่าง

**หากใช้เครื่องโฮโมจิไนเซอร์ ให้ปิดวาล์ว VH2101-09 ข้างเครื่องโฮโมจิไนเซอร์



- เมื่อน้ำในถังผสมมีประมาณ 100 ลิตร หรือประมาณ 2 นาทีให้เปิดวาล์ว VHU2102-05 ข้างถังผสมเพื่อ



- จากนั้นกดปุ่ม



4.6 ใส่น้ำในระบบ



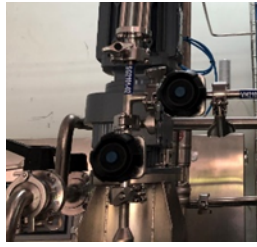
- เปิดวาล์ว VH2101-05 ข้างถังด้านล่าง



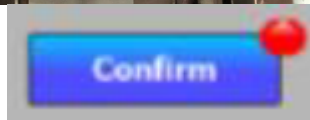
- เปิดวาล์ว VH2101-12 บนถังผสม
- เปิดวาล์ว VH2101-14 อยู่ระหว่างถังผสมกับสกรูบีบด้านล่าง



- ปิดวาล์ว VH2101-13 บนถังผสม



- ปิดวาล์ว VH2102-04 อยู่ระหว่างถังผสมกับสกรูบีมด้านบน
- ปิดวาล์วสเปร์บอล VH2101-19 และ VH2101-20 บนถังผสมสลับกันด้านละ 30 วินาที



- จากนั้นกดปุ่ม

4.7 เตรียมฆ่าเชื้อท่อ



- ปิดวาล์ว VH2101-04 อยู่ระหว่างถังผสมกับสกรูบีมด้านล่าง



- ปิดวาล์ว VHU2102-04 อยู่ระหว่างถังผสมกับสกรูบีมด้านบน



- ปิดวาล์ว VHU2102-19 และ VHU2102-20 บนถังผสม

- เปิดวาล์ว VHU2114-04 และ VHU2114-05 อยู่ที่ชุดแลกเปลี่ยนความร้อนด้านล่าง



- เปิดวาล์ว VHU2114-01 และ VHU2114-02 อยู่ที่ชุดแลกเปลี่ยนความร้อนด้านบน

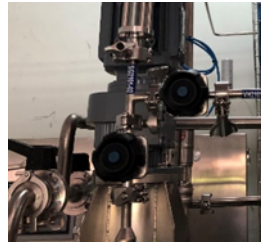


- กดปุ่ม



4.8 ฆ่าเชื้อถึงผสม

- เปิดวาล์ว VH2101-13 บนถังผสม



- ปิดวาล์ว VH2101-12 บนถังผสม



** ควบคุมแรงดันในชุดแลกเปลี่ยนความร้อนให้อยู่ในช่วง 2.5-3 บาร์

- เพิ่มแรงดันด้วยการเปิดวาล์ว P2114-01 ข้างชุดแลกเปลี่ยนความร้อน แล้วปิด



- ลดความดันด้วยการเปิดวาล์ว VHU2114-03 อยู่ที่ชุดแลกเปลี่ยนความร้อนด้านบน



แล้วปิด

- รออุณหภูมิถึงขาเข้าปั๊ม 75 องศาเซลเซียสแล้วคงอุณหภูมิไว้ 20 นาทีจากนั้นกดปุ่ม



4.8 ฆ่าเชื้อท่อ

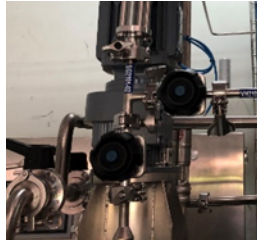
- เปิดวาล์ว VH2101-03 ใต้ถังผสม



- เปิดวาล์ว VH2101-12 บนถังผสม



- ปิดวาล์ว VH2101-13 บนถังผสม



- ปิดวาล์ว VH2101-02 ใต้ถังผสม



- รออุณหภูมิขาออกถึง 75 องศาเซลเซียสและคงอุณหภูมิไว้ 20 นาทีจากนั้นกดปุ่ม



4.9 ลดอุณหภูมิ

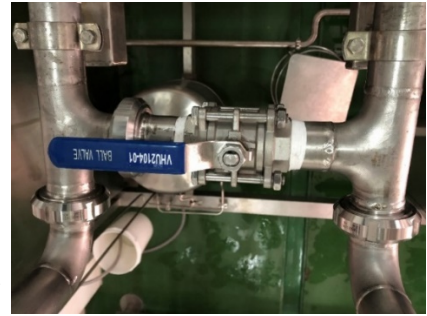
***หากบรรจুর้อนให้ข้ามไปกดควบคุมให้อุณหภูมิฆ่าเชื้อเลย

- เปิดวาล์ว VHU2103-02 และ VHU2103-03 ก่อนจากนั้นปิดวาล์ว VHU2103-01 บนเพลาทคูลิ่งค์

- เปิดวาล์ว VHU2104-02 และ VHU2104-03 บนเพลทชีวเลออร์



- จากนั้นปิดวาล์ว VHU2104-01 บนเพลทชีวเลออร์
- ควบคุมให้อุณหภูมิเข้าเชื้อและอุณหภูมิขาออกให้ถึงค่าที่กำหนด



- กดปุ่ม



4.10 ถ่ายน้ำออกจากถัง

- เปิดวาล์ว VH2101-01 ได้ถึงพสม



ถ่ายน้ำออกให้หมดถึงปิดวาล์ว

- จากนั้นกดปุ่ม

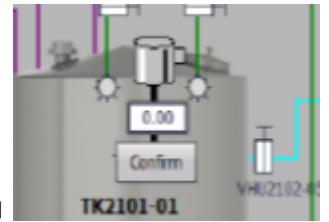


4.11 ผสมผลิตภัณฑ์



- ใส่ผลิตภัณฑ์

- เปิดมอเตอร์กวนผสมให้เข้ากันด้วยการกดปุ่ม confirm บนจอควบคุม เมื่อผสมกันดีแล้วกดอีกครั้ง



- จากนั้นกดปุ่ม



4.9 ผลิตภัณฑ์ใส่น้ำ

- เปิดวาล์ว VH2101-04 อยู่ระหว่างถังผสมกับสกรูบีบด้านล่าง



- เปิดวาล์ว VH2101-02 ได้ถังผสม





- ปิดวาล์ว VH2101-03 ใต้ถังผสม



- กดปุ่ม

4.10 ซ้ำการผลิตภัณฑ์



- เปิดวาล์ว HV100-22 เหนือเครื่องบรรจุ
บรรจุ

ให้ผลิตภัณฑ์ไหลไปส่วน

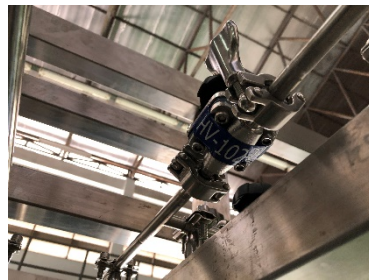


- ปิดวาล์ว HV100-24 เหนือเครื่องบรรจุ
- เมื่อผลิตภัณฑ์เหลือน้อยกว่า 1 ใน 20 ของถัง



- กดปุ่ม

4.11 น้ำไล่ผลิตภัณฑ์



- เปิดวาล์ว HV100-24 เหนือเครื่องบรรจุ



- ปิดวาล์ว HV100-22 เนื้อเครื่องบรรจุ



- เปิดวาล์ว VH2102-05 ข้างถังผสม

เติมน้ำเข้าถัง



- เปิดวาล์ว VHU2104-01 บนเพลทชีวเลอร์



- ปิดวาล์ว VHU2104-02 บนเพลทชีวเลอร์

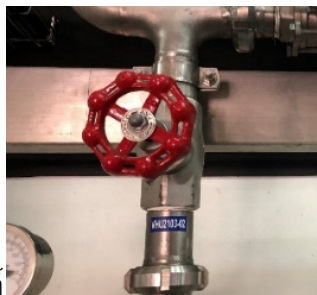


- ปิดวาล์ว VHU2104-03 บนเพลทชีวเลอร์



- เปิดวาล์ว VHU2103-01 บนเพลทคูลลิ่งค

- ปิดวาล์ว VHU2103-02 บนเพลทคูลิ่งค์



- ปิดวาล์ว VHU2103-03 บนเพลทคูลิ่งค์



- เปิดวาล์ว VH2101-04 อยู่ระหว่างถึงผสมกับสกรูบี๊มด้านล่าง
- ไล่ผลิตภัณฑ์จนหมดท่อ



- กดปุ่ม



- กดปุ่ม



แล้วเลือกการทำงานต่อไปว่าจะฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ต่อให้ทำในข้อ 4.3 ใหม่อีกรอบ
หรือจะทำความสะอาดท่อในหัวข้อถัดไป

4.12 ถ่ายน้ำออกจากระบบ

- เปิดวาล์ว VH2101-01 ได้ถึงผสม



- กดปุ่ม



- เปิดวาล์ว VHU2102-05 ข้างถังผสม

เติมน้ำเข้าถัง



- เปิดวาล์ว VH2101-04 อยู่ระหว่างถังผสมกับสกรูบีบด้านล่าง

- กดปุ่ม



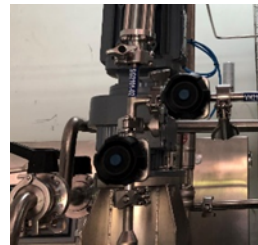
- เปิดวาล์ว VHU2102-04 อยู่ระหว่างถังผสมกับสกรูบีบด้านบน

- เปิดวาล์วสเปร์บอล VH2101-19 และ VH2101-20 บนถังผสม สลับกันให้ถังสะอาด



- กดปุ่ม

4.13 ทำความสะอาดท่อด้วยกรดหรือด่าง



- เปิดวาล์ว และ VH2101-13 บนถังผสม



- ปิดวาล์ว VH2101-12 บนถังผสม



เปิดวาล์ว VHU2102-05 ช้างถังผสม เติมน้ำ 1 ใน 4 ของถังแล้วปิดวาล์ว VHU2102-05

- เติมกรดหรือด่าง ประมาณ 1 ลิตร

- กดปุ่ม



- เปิดวาล์ว VH2101-06 อยู่ระหว่างถังผสมกับปั๊ม CIP ด้านล่าง



- เปิดวาล์ว VH2101-07 อยู่ระหว่างถังผสมกับปั๊ม CIP ด้านล่าง



- ปิดวาล์ว VH2101-05 อยู่ระหว่างถังผสมกับปั๊ม CIP ด้านล่าง

** ถ้าใช้เครื่องโฮโมจิไนเซอร์ เปิดวาล์ว VH2101-09 ข้างเครื่องโฮโมจิไนเซอร์



- รอกอุณหภูมิฆ่าเชื้อถึง 65 องศาเซลเซียส ปิดวาล์ว VHU2102-04 อยู่ระหว่างถังผสมกับสกรูปั่นด้านบน



- เปิดวาล์ว VH2101-08 อยู่ระหว่างถังผสมกับสกรูปั่นด้านบน



- เปิดวาล์วสเปร์บอล VH2101-19 และ VH2101-20 บนถังผสม สลับกันทำความสะอาดเป็นเวลา 20 นาที

- กดปุ่ม

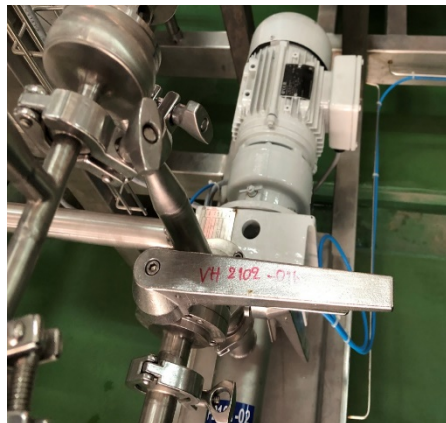


- เปิดวาล์ว VH2101-03 ได้ถึงผสม

- เปิดวาล์ว VH2101-15 อยู่ระหว่างถึงผสมกับสกรูปี้มด้านล่าง



-



- เปิดวาล์ว VH2101-16 บนสกรูปี้ม



- ปิดวาล์ว VH2101-14 อยู่ระหว่างถังผสมกับสกรูปั่นด้านล่าง
- ทำความสะอาดเป็นเวลา 20 นาที



- เปิดวาล์ว VH2101-12 บนถังผสม



- เปิดวาล์ว VH2101-14 อยู่ระหว่างถังผสมกับสกรูปั่นด้านล่าง



- ปิดวาล์ว VH2101-13 บนถังผสม

- ปิดวาล์ว VH2101-15 อยู่ระหว่างถึงผสมกับสกรูบีมด้านล่าง



- ปิดวาล์ว VH2101-16 บนสกรูบีม

- รออุณหภูมิขาออกถึง 65 องศาเซลเซียสแล้วกดปุ่ม
4.14 ถ้างน้ำ



- เปิดวาล์ว VH2101-04 อยู่ระหว่างถึงผสมกับสกรูบีมด้านล่าง





- เปิดวาล์ว VHU2102-05 ข้างถังผสม เติมน้ำ



- เปิดวาล์ว VHU2102-04 อยู่ระหว่างถังผสมกับสกรูบีบด้านบน



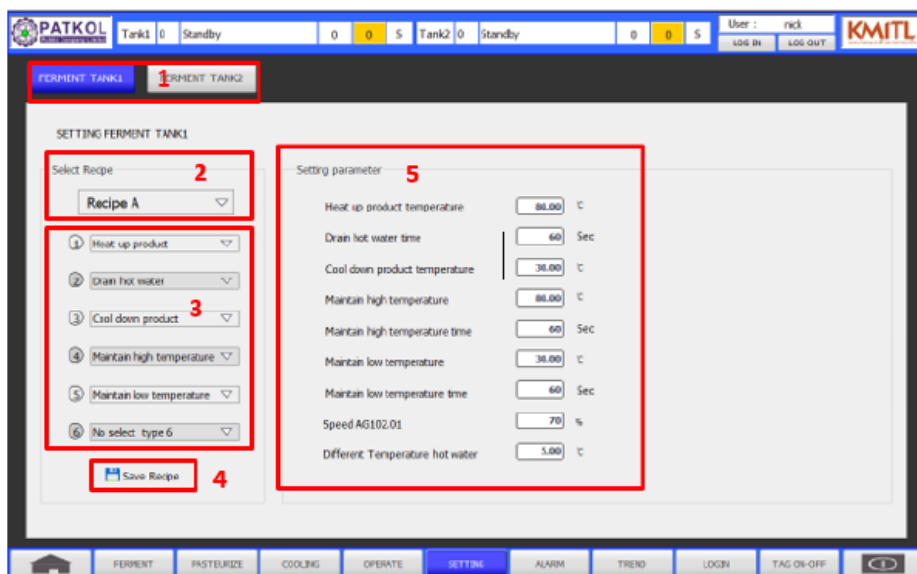
- ล้างน้ำเป็นเวลา 10 นาทีแล้วกดปุ่ม

- กดเลือกทำความสะอาดต่ออีกรอบตั้งแต่ข้อ 4.6 ในส่วนที่ของสารกรดหรือต่างอีกสาร

5 การใช้งานชุดบ่ม

5.1 ตั้งค่าการบ่ม

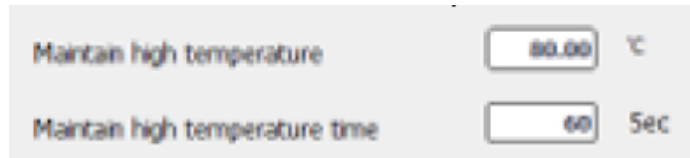
- เลือกถังบ่มในการตั้งค่าในช่องที่ 1



- เลือก Recipe ที่ต้องการตั้งค่าในช่องที่ 2
- กำหนดอุณหภูมิในการฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์




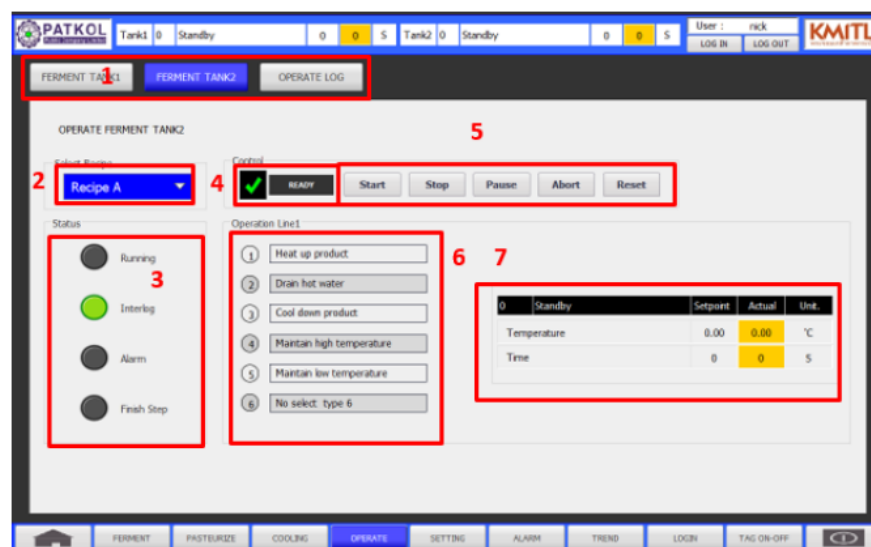
- กำหนดค่าอุณหภูมิและระยะเวลาในการต้ม



- กำหนดขั้นตอนในการทำงาน
 1. Heat up product ในการฆ่าเชื้อถัง
 2. Drain hot water ถ่ายน้ำร้อนออกจากถังสวม
 3. Cool down product ลดอุณหภูมิ
 4. Drain hot water ถ่ายน้ำเย็นออกจากถังสวม
 5. Maintain high temperature รักษาอุณหภูมิในการต้ม
- เซฟ Recipe ที่กำหนดขั้นตอน

5.2 เริ่มการใช้งาน

- กดเข้าหน้า Operate 
- เลือกถังต้มที่จะใช้งานในช่องที่ 1
- เลือก Recipe ในช่องที่ 2
- กด Start เริ่มการทำงานในช่อง 5



5.3 เติมน้ำใส่ถัง

1. ถัง 50 ลิตร



- ปิดวาล์ว HV-101-18 ได้ถึง



- ปิดวาล์ว HV-101-16 บนถังด้านหลัง



- เปิดวาล์ว HV-101-16 บนถังด้านหลัง เมื่อน้ำถึง 4 ใน 5 ของถังให้ปิดวาล์ว HV-101-16 2. ถึง 200 ลิตร



- ปิดวาล์ว HV-102-18 ได้ถึง

- ปิดวาล์ว HV-102-13 ด้านบนระหว่างถังป่ม 50 ลิตรกับ 200 ลิตร



- ปิดวาล์ว HV-102-14 ด้านบนระหว่างถังป่ม 50 ลิตรกับ 200 ลิตร



- เปิดวาล์ว HV-102-15 ด้านบนระหว่างถังป่ม 50 ลิตรกับ 200 ลิตร



- เปิดวาล์ว HV-102-16 บนถังทางซ้าย



- เมื่อน้ำถึง 4 ใน 5 ของถังให้ปิดวาล์ว HV-102-15 ด้านบนระหว่างถังบ่ม 50 ลิตรกับ 200 ลิตร



และวาล์ว HV-102-16 บนถังทางซ้าย



5.3 ฆ่าเชื้อถังบ่ม

1. ถัง 50 ลิตร

- ให้ความร้อนรอกอุณหภูมิถึงที่ตั้งไว้ เป็นเวลา 20 นาที



- เปิดวาล์ว HV-101-18 ใต้ถัง



- เปิดวาล์ว HV-101-21 ใต้ถัง



- ปิดวาล์ว HV-101-07 บนถังด้านหลัง



- เปิดวาล์ว HV-101-11 บนถังด้านหลัง ให้ความดันไม่เกิน 1 บาร์
- 2. ถึง 200 ลิตร
- ให้ความร้อนรออุณหภูมิถึงที่ตั้งไว้ เป็นเวลา 20 นาที



- เปิดวาล์ว HV-102-18 ได้ถึง



- ปิดวาล์ว HV-102-07 บนถังด้านหลัง



- เปิดวาล์ว HV-102-11 บนถังด้านหลัง
- 5.4 ฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์
1. ถึง 50 ลิตร

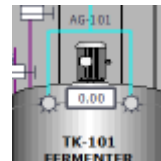


- เปิดวาล์ว HV-101-07 บนถังด้านหลัง



- ปิดวาล์ว HV-101-18 ใต้ถัง

- เปิดฝาใส่ผลิตภัณฑ์



- ปิดฝาเปิดมอเตอร์ใบกวน รอกอุณหภูมิถึงที่ตั้งไว้

- ถ่ายน้ำในถังสวมออก

- ลดอุณหภูมิ

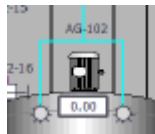
2. ถึง 200 ลิตร



- เปิดวาล์ว HV-102-07 บนถังด้านหลัง



- ปิดวาล์ว HV-102-18 ใต้ถัง
- ใส่ผลิตภัณฑ์



- ปิดฝาเปิดมอเตอร์ใบกวน รอรออุณหภูมิถึงที่ตั้งไว้
- ถ่ายน้ำในถังส้อมออก
- ลดอุณหภูมิ

5.5 บ่ม

1. ถึง 50 ลิตร
- รักษาอุณหภูมิให้ครบเวลา



- ปิดวาล์ว HV-101-07 บนถังด้านหลัง



- ปิดวาล์ว HV-101-21 ใต้ถัง
- ***ส่งไปผสมในถังบ่ม 200 ลิตร



- ต่อก่อเข้าถัง 200 ลิตร

- ปิดวาล์ว HV-102-15 ด้านบนระหว่างถังบ่ม 50 ลิตรกับ 200 ลิตร



- เปิดวาล์ว HV-101-18 ได้ถัง

- เปิดวาล์ว HV-102-13 ด้านบนระหว่างถังบ่ม 50 ลิตรกับ 200 ลิตร



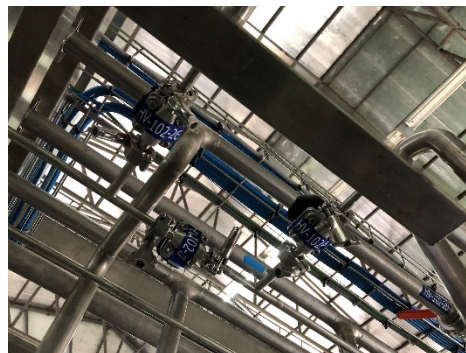


- เปิดวาล์ว HV-102-16 บนถังทางซ้าย

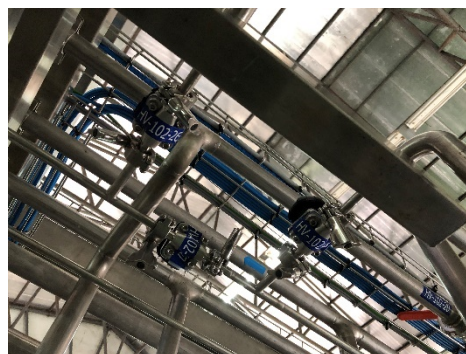
***ส่งไปบรรจุ



- ต่อท่อตั้งภาพ



- ปิดวาล์ว HV-102-27



- เปิดวาล์ว HV-102-28



- เปิดวาล์ว HV-101-11 บนถังด้านหลัง ให้ความดันไม่เกิน 1 บาร์แล้วปิดวาล์ว



- ผลิตรกัณฑ์หมดถังให้เปิดวาล์ว HV-102-07 บนถังด้านหลัง

2. ถึง 200 ลิตร

- รักษาอุณหภูมิให้ครบเวลา



- ปิดวาล์ว HV-102-07 บนถังด้านหลัง



- เปิดวาล์ว HV-102-18 ได้ถึง

- ปิดวาล์ว HV-102-27



- ปิดวาล์ว HV-102-28



- ปิดวาล์ว HV-102-11บนถึงด้านหลัง
แล้วปิดวาล์ว



ให้ความดันไม่เกิน 1 บาร์

5.6 ทำความสะอาดถัง

1. ถังบ่ม 50 ลิตร

- ต่อท่อถ่ายน้ำออกที่วาล์ว HV-101-21 ได้ถึง แล้วเปิดวาล์ว



- เปิดวาล์ว HV-101-18 ใต้ถัง



- เปิดวาล์ว HV-101-02 บนถัง



- เปิดวาล์วสเปร์ย์บอล HV-101-03 และ HV-101-04 ด้านบนถัง

- เปิดมอเตอร์ AG-101 ที่ความเร็ว 50 เปอร์เซ็นต์



- ล้างถังให้สะอาดแล้วปิดวาล์ว HV-101-02 บนถัง



- เมื่อน้ำหมดถังปิดวาล์ว HV-101-18 ใต้ถัง





- ปิดวาล์ว HV-101-21 ได้ถึง



- เปิดวาล์ว HV-101-02 บนถัง เติมน้ำ 4 ส่วนใน 5 ส่วนของถังแล้วปิดวาล์ว HV-101-02
- ให้ความร้อนถึง 80 องศาเซลเซียสคงอุณหภูมิไว้เป็นเวลา 20 นาที



- เปิดวาล์ว HV-101-18 ได้ถึง



- เปิดวาล์ว HV-101-21 ได้ถึง



- เมื่อน้ำหมดถังปิดวาล์ว HV-101-18 ได้ถึง



- ปิดวาล์ว HV-101-21 ใต้ถัง
- 2. ถังป่ม 200 ลิตร



- ต่อท่อถ่ายน้ำออกที่วาล์ว HV-102-18 ใต้ถัง



- เปิดวาล์ว HV-102-02 บนถัง



- เปิดวาล์ว HV-102-18 ใต้ถัง



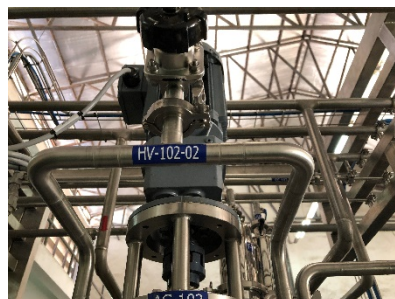
- เปิดวาล์วสเปร์ย์บอล HV-102-03 และ HV-102-04 บนถัง
- เปิดมอเตอร์ AG-101 ที่ความเร็ว 50 เปอร์เซนต์



- ล้างถังให้สะอาดแล้วปิดวาล์ว HV-102-02 บนถัง



- เมื่อน้ำหมดถังปิดวาล์ว HV-102-18 ได้ถัง



- เปิดวาล์ว HV-102-02 บนถัง เติมน้ำ 4 ส่วนใน 5 ส่วนของถังแล้วปิดวาล์ว HV-101-02
- ให้ความร้อนถึง 80 องศาเซลเซียสคงอุณหภูมิไว้เป็นเวลา 20 นาที



- เปิดวาล์ว HV-102-18 ได้ถึง เมื่อน้ำหมดถึงปิดวาล์ว HV-102-18

6 ใช้งานเครื่องโฮโมจิไนเซอร์



6.1 เปิดสวิตช์ไปที่ LOG

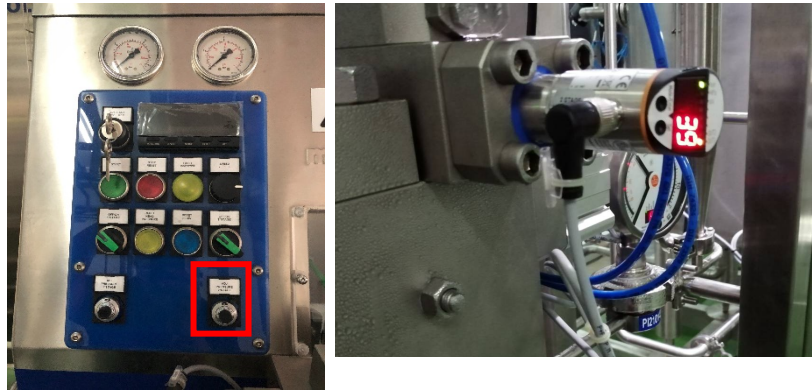


6.2 กดรีเซ็ตอัตราการไหล



6.3 กดรีเซ็ตความดันขาเข้า

6.4 หมุนเปิด State 2 ไปทางขวาให้ความดันอยู่ที่ประมาณ 40 บาร์



6.6 หมุนเปิด State 1 ไปทางขวาให้ความดันอยู่ที่ประมาณ 200 บาร์



***หากความดันเกินให้หมุนปุ่ม State 1 ไปทางซ้ายเพื่อลดความดันลงและเลี้ยงความดันไว้

ภาคผนวก ข.

ข้อมูลการวิเคราะห์ทางสถิติและข้อมูลการวิเคราะห์ Box-Behnken Design

ข้อมูลการวิเคราะห์ทางสถิติ

ข.1 ตาราง ANOVA

ก.1.1 อัตราการการเจริญของจุลินทรีย์ *L. casei* โดยการวัดค่า *L. casei* (N=3) และและการวัดค่า OD (N=3)

ตารางที่ ข.1 การวิเคราะห์ทางสถิติอัตราการการเจริญของจุลินทรีย์โดยการวัดค่า *L. casei* (N=3) และการวัดค่า OD (N=3)

ANOVA

		ANOVA				
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
OD	Between Groups	.033	8	.004	21.623	.000
	Within Groups	.003	18	.000		
	Total	.036	26			
Micro	Between Groups	12.370	8	1.546	18.310	.000
	Within Groups	1.520	18	.084		
	Total	13.890	26			

Post Hoc Tests (Duncan) อัตราการการเจริญของจุลินทรีย์โดยการวัดค่า *L. casei* (N=3)

		Micro						
		Subset for alpha = 0.05						
	เวลา	N	1	2	3	4	5	6
Duncan ^a	0	3	6.767					
	3	3	6.967	6.967				
	6	3	7.100	7.100	7.100			
	9	3	7.267	7.267	7.267			
	12	3		7.433	7.433	7.433		
	15	3			7.567	7.567		
	18	3				7.900	7.900	
	21	3					8.367	
	24	3						9.000
	Sig.			.067	.086	.086	.078	.065

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Post Hoc Tests (Duncan) อัตราการการเจริญของจุลินทรีย์โดยการวัดค่า OD (N=3)

		OD				
		Subset for alpha = 0.05				
	เวลา	N	1	2	3	4
Duncan ^a	0	3	.35000			
	3	3	.35900			
	6	3	.36233			
	9	3		.38700		
	12	3		.40767	.40767	
	15	3			.42167	
	18	3			.42267	
	21	3			.43267	.43267
	24	3				.45467
		Sig.		.312	.082	.054

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ข.1.2 ค่าคุณภาพของน้ำมะม่วงผสมสับปะรดขึ้นไปโอดิกส์ระหว่างอายุการเก็บรักษา

ตารางที่ ข.2 การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Total Soluble Solid, TSS)

(n=3)

ANOVA

ANOVA					
TSS	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.627	4	.157	12.368	.001
Within Groups	.127	10	.013		
Total	.753	14			

Post Hoc Tests (Duncan)

TSS					
	number	N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
Duncan ^a	4	3	14.2000		
	3	3		14.5333	
	2	3		14.6000	14.6000
	1	3		14.7000	14.7000
	0	3			14.8000
	Sig.			1.000	.114

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ข.1.3 ค่าคุณภาพของน้ำมะม่วงผสมสับปะรดชนิดไปโอติกส์ระหว่างอายุการเก็บรักษา

ตารางที่ ข.3 การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าพีเอช (pH) (n=3)

ANOVA

ANOVA					
pH					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.358	4	.089	1917.714	.000
Within Groups	.000	10	.000		
Total	.358	14			

Post Hoc Tests (Duncan)

pH							
number	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	
Duncan ^a	4	3	3.6833				
	3	3		3.7600			
	2	3			3.8867		
	1	3				3.9533	
	0	3					4.1267
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ข.1.4 ค่าคุณภาพของน้ำมะม่วงผสมสับปะรดชนิดไปโอติกส์ระหว่างอายุการเก็บรักษา
ตารางที่ ข.4 การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าปริมาณกรดแลคติก (Lactic acid) (n=3)
ANOVA

ANOVA					
Acid	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.433	4	.108	649.540	.000
Within Groups	.002	10	.000		
Total	.435	14			

Post Hoc Tests (Duncan)

Acid							
number	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	
Duncan ^a	0	3	.6300				
	1	3		.8233			
	2	3			.9333		
	3	3				1.0333	
	4	3					1.1167
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ข.1.5 ค่าคุณภาพของน้ำมะม่วงผสมสับปะรดชนิดอินทรีย์ระหว่างอายุการเก็บรักษา
 ตารางที่ ข.5 การวิเคราะห์ทางสถิติของการนับจุลินทรีย์ (LAB (logCFU/ml)) (n=3)

ANOVA

ANOVA					
LAB	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7.957	4	1.989	42.629	.000
Within Groups	.467	10	.047		
Total	8.424	14			

Post Hoc Tests (Duncan)

LAB						
		Subset for alpha = 0.05				
	number	N	1	2	3	4
Duncan ^a	0	3	10.3333			
	1	3		11.2000		
	2	3		11.4667		
	3	3			11.8667	
	4	3				12.5333
	Sig.			1.000	.162	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
 a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ข.1.6 ค่าคุณภาพของน้ำมะม่วงผสมสับปะรดชนิดอินทรีย์ระหว่างอายุการเก็บรักษา
 ตารางที่ ข.6 การวิเคราะห์ทางสถิติของความหนืด (Viscosity (cP)) (n=3)

ANOVA

ANOVA					
Viscosity	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	25597.733	4	6399.433	6.067	.010
Within Groups	10548.000	10	1054.800		
Total	36145.733	14			

Post Hoc Tests (Duncan)

Viscosity				
		Subset for alpha = 0.05		
	number	N	1	2
Duncan ^a	0	3	1180.3333	
	1	3	1228.0000	1228.0000
	2	3	1229.6667	1229.6667
	3	3		1288.0000
	4	3		1289.6667
	Sig.			.106

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ข.1.7 ค่าคุณภาพของน้ำมะม่วงผสมสับปะรดชนิดไปโอดิกส์ระหว่างอายุการเก็บรักษา

ตารางที่ ข.7 การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าสี L* (Color) (n=3)

ANOVA

ANOVA					
L					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	7.254	4	1.814	615.449	.000
Within Groups	.029	10	.003		
Total	7.284	14			

Post Hoc Tests (Duncan)

L							
		Subset for alpha = 0.05					
	number	N	1	2	3	4	5
Duncan ^a	0	3	53.4933				
	1	3		54.1833			
	2	3			54.5267		
	3	3				55.0700	
	4	3					55.4967
	Sig.			1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ ข.8 การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าสี a* (Color) (n=3)

ANOVA

ANOVA					
a					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.255	4	.064	23.768	.000
Within Groups	.027	10	.003		
Total	.282	14			

Post Hoc Tests (Duncan)

a					
Subset for alpha = 0.05					
	number	N	1	2	3
Duncan ^a	4	3	9.9167		
	3	3		10.1833	
	0	3		10.2100	10.2100
	1	3		10.2333	10.2333
	2	3			10.2933
	Sig.			1.000	.286

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ ข.9 การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าสี b* (Color) (n=3)

ANOVA

ANOVA					
b					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1.299	4	.325	41.029	.000
Within Groups	.079	10	.008		
Total	1.378	14			

Post Hoc Tests (Duncan)

b				
		Subset for alpha = 0.05		
	number	N	1	2
Duncan ^a	0	3	45.2567	
	1	3	45.3233	
	2	3		45.8533
	3	3		45.8733
	4	3		45.9333
	Sig.			.380

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ข้อมูลการวิเคราะห์ Box-Behnken Design

ข.11 การวิเคราะห์ Box-Behnken Design โดยมีอัตราการการเจริญของจุลินทรีย์โดยการวัดค่า L case1 (N=3)

Response Surface Regression: LAB(logcfu/ml) versus X1, X2, X3

Regression Equation in Uncoded Units

$$\text{LAB}(\log\text{cfu/ml}) = 6.96 - 0.023 X_1 + 0.66 X_2 - 0.090 X_3 + 0.00301 X_1^2 X_1 - 0.117 X_2^2 X_2 + 0.0009 X_3^2 X_3 + 0.0125 X_1 X_2 + 0.0056 X_1 X_3 + 0.0250 X_2 X_3$$

Fits and Diagnostics for Unusual Observations

Obs	LAB(logcfu/ml)	Fit	Resid	Std Resid
1	8.100	7.562	0.538	2.11 R
3	8.900	9.437	-0.537	-2.11 R

R Large residual

Response Surface Regression: Viscosity(cP) versus X1, X2, X3

Coded Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	857.7	44.2	19.41	0.000	
X1	6.5	27.1	0.24	0.819	1.00
X2	272.8	27.1	10.08	0.000	1.00
X3	-37.5	27.1	-1.39	0.225	1.00
X1*X1	74.0	39.8	1.86	0.122	1.01
X2*X2	-18.0	39.8	-0.45	0.671	1.01
X3*X3	-23.3	39.8	-0.59	0.583	1.01
X1*X2	-9.5	38.3	-0.25	0.814	1.00
X1*X3	-4.3	38.3	-0.11	0.915	1.00
X2*X3	72.5	38.3	1.89	0.117	1.00

Response Surface Regression: LAB(logcfu/ml) versus X1, X2, X3

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0.508767	88.95%	69.06%	0.00%

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Model	9	10.4192	1.15769	4.47	0.057
Linear	3	10.2325	3.41083	13.18	0.008
X1	1	4.9612	4.96125	19.17	0.007
X2	1	5.1200	5.12000	19.78	0.007
X3	1	0.1512	0.15125	0.58	0.479
Square	3	0.1017	0.03389	0.13	0.938
X1*X1	1	0.0433	0.04333	0.17	0.699
X2*X2	1	0.0503	0.05026	0.19	0.678
X3*X3	1	0.0003	0.00026	0.00	0.976
2-Way interaction	3	0.0850	0.02833	0.11	0.951
X1*X2	1	0.0225	0.02250	0.09	0.790
X1*X3	1	0.0400	0.04000	0.15	0.710
X2*X3	1	0.0225	0.02250	0.09	0.760
Error	5	1.2942	0.25883		
Lack-of-Fit	3	1.2075	0.40250	9.29	0.099
Pure Error	2	0.0867	0.04333		
Total	14	11.7133			

ข.12 การวิเคราะห์ Box-Behnken Design โดยมีอัตราการการเจริญของจุลินทรีย์โดยการวัดความหนืด (Viscosity (cP)) (n=3)

Response Surface Regression: Viscosity(cP) versus X1, X2, X3

Regression Equation in Uncoded Units

$$\text{Viscosity(cP)} = 1286 - 69.9 X_1 + 192 X_2 - 1.3 X_3 + 2.06 X_1^2 X_1 - 18.0 X_2^2 X_2 - 2.59 X_3^2 X_3 - 1.56 X_1^2 X_2 - 0.24 X_1^2 X_3 + 24.2 X_2^2 X_3$$

Fits and Diagnostics for Unusual Observations

Obs	Viscosity(cP)	Fit	Resid	Std Resid
6	984.0	857.7	126.3	2.02 R

R Large residual

Response Surface Regression: LAB(logcfu/ml) versus X1, X2, X3

Coded Coefficients

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	8.533	0.294	29.05	0.000	
X1	0.787	0.180	4.38	0.007	1.00
X2	0.800	0.180	4.45	0.007	1.00
X3	0.137	0.180	0.76	0.479	1.00
X1*X1	0.108	0.265	0.41	0.699	1.01
X2*X2	-0.117	0.265	-0.44	0.678	1.01
X3*X3	0.008	0.265	0.03	0.976	1.01
X1*X2	0.075	0.254	0.29	0.780	1.00
X1*X3	0.100	0.254	0.39	0.710	1.00
X2*X3	0.075	0.254	0.29	0.780	1.00

Response Surface Regression: Viscosity(cP) versus X1, X2, X3

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
76.5203	95.71%	88.00%	85.54%

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Model	9	653625	72625	12.40	0.006
Linear	3	607097	202366	34.56	0.001
X1	1	339	339	0.06	0.819
X2	1	595522	595522	101.71	0.000
X3	1	11235	11235	1.92	0.225
Square	3	25083	8361	1.43	0.339
X1*X1	1	20219	20219	3.45	0.122
X2*X2	1	1190	1190	0.20	0.671
X3*X3	1	2009	2009	0.34	0.583
2-Way Interaction	3	21445	7148	1.22	0.393
X1*X2	1	361	361	0.06	0.814
X1*X3	1	73	73	0.01	0.915
X2*X3	1	21011	21011	3.59	0.117
Error	5	29277	5855		
Lack-of-Fit	3	2392	797	0.06	0.977
Pure Error	2	26884	13442		
Total	14	682902			

ภาคผนวก ค.
กฎหมายการใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ในอาหาร

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง การใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหาร

โดยที่เป็นการสมควรกำหนดหลักเกณฑ์ วิธีการ และเงื่อนไขการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติก ให้เป็นไปอย่างถูกต้องเหมาะสม และปลอดภัยต่อการบริโภค

อาศัยอำนาจตามความในมาตรา ๕ และมาตรา ๖ (๓) (๔) (๕) และ (๑๐) แห่งพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. ๒๕๒๒ อันเป็นกฎหมายที่มีบทบัญญัติบางประการเกี่ยวกับการจำกัดสิทธิและเสรีภาพของบุคคล ซึ่งมาตรา ๒๙ ประกอบกับมาตรา ๓๓ มาตรา ๔๑ มาตรา ๔๓ และมาตรา ๔๕ ของรัฐธรรมนูญแห่งราชอาณาจักรไทยบัญญัติให้กระทำได้โดยอาศัยอำนาจตามบทบัญญัติแห่งกฎหมาย รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข ออกประกาศไว้ ดังต่อไปนี้

ข้อ ๑ ในประกาศนี้

“จุลินทรีย์โพรไบโอติก (Probiotic)” หมายความว่า จุลินทรีย์ที่มีชีวิต ซึ่งเมื่อร่างกายได้รับ ในปริมาณที่เพียงพอจะทำให้เกิดผลที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ ทั้งนี้ไม่รวมถึง

- (๑) จุลินทรีย์ ที่ใช้เป็นสารชีวบำบัด (biotherapeutic agents)
- (๒) จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ (beneficial microorganisms) ที่ไม่ใช้ในอาหาร
- (๓) จุลินทรีย์ที่ได้จากการดัดแปลงพันธุกรรม (Genetically Modified Microorganism, GMM)
- (๔) จุลินทรีย์ บักเทรี แบททีเรีย หรือยีสต์ ตามที่กำหนดไว้ในประกาศกระทรวงสาธารณสุข ดังต่อไปนี้

(๔.๑) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ ๑๔๔ (พ.ศ. ๒๕๓๕) เรื่อง อาหารในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท ลงวันที่ ๒ กรกฎาคม พ.ศ. ๒๕๓๕ ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ ๓๐๑) พ.ศ. ๒๕๔๔ เรื่อง อาหารในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท (ฉบับที่ ๔) ลงวันที่ ๒๘ กันยายน พ.ศ. ๒๕๔๔

(๔.๒) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ ๑๕๖ (พ.ศ. ๒๕๓๗) เรื่อง นมดัดแปลงสำหรับทารกและนมดัดแปลงสูตรต่อเนื่องสำหรับทารกและเด็กเล็ก ลงวันที่ ๑๔ ตุลาคม พ.ศ. ๒๕๓๗

(๔.๓) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ ๑๕๗ (พ.ศ. ๒๕๓๗) เรื่อง อาหารทารกและอาหารสูตรต่อเนื่องสำหรับทารกและเด็กเล็ก ลงวันที่ ๑๔ ตุลาคม พ.ศ. ๒๕๓๗

(๔.๔) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ ๑๕๘ (พ.ศ. ๒๕๓๗) เรื่อง อาหารเสริมสำหรับทารกและเด็กเล็ก ลงวันที่ ๑๔ ตุลาคม พ.ศ. ๒๕๓๗

(๔.๕) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ ๒๖๖) พ.ศ. ๒๕๔๕ เรื่อง นมปรุงแต่ง ลงวันที่ ๑๙ ธันวาคม พ.ศ. ๒๕๔๕

(๔.๖) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ ๒๖๗) พ.ศ. ๒๕๔๕ เรื่อง ผลิตภัณฑ์ของนม ลงวันที่ ๑๙ ธันวาคม พ.ศ. ๒๕๔๕

(๕) จุลินทรีย์ตามที่กำหนดไว้ในบัญชีแนบท้ายประกาศฉบับนี้ ที่ใช้เพื่อวัตถุประสงค์อื่นตามความจำเป็นในกระบวนการผลิตอาหารและได้ปฏิบัติตามประกาศว่าด้วยเรื่องนั้น ๆ แล้ว

“การกล่าวอ้างทางสุขภาพ (Health Claim)” หมายความว่า การแสดงรูป รูปภาพ รอยประดิษฐ์ เครื่องหมาย เครื่องหมายการค้า หรือข้อความใด ๆ บนฉลาก ที่เกี่ยวข้องกับอาหาร ส่วนประกอบของอาหาร หรือสารอาหารซึ่งเกี่ยวข้องกับสุขภาพทั้งทางตรงและทางอ้อม แบ่งเป็น ๓ ลักษณะ ได้แก่

(๑) การกล่าวอ้างหน้าที่สารอาหาร (Nutrient function claim) หมายความว่า การแสดงสรรพคุณ หรือคุณประโยชน์เกี่ยวกับบทบาทของสารอาหารที่มีผลต่อสรีรวิทยาของร่างกาย เช่น การเจริญเติบโต การพัฒนา หรือการกระทำหน้าที่ตามปกติของร่างกาย ซึ่งผ่านการพิสูจน์และเป็นที่ยอมรับในทางวิชาการแล้ว เช่น แคลเซียมช่วยให้กระดูกและฟันแข็งแรง

(๒) การกล่าวอ้างหน้าที่อื่น (Other function claim) หมายความว่า การแสดง สรรพคุณ หรือคุณประโยชน์นอกเหนือจาก (๑) ของอาหารหรือส่วนประกอบของอาหารที่มีผลในทางเสริมสุขภาพอย่างเฉพาะเจาะจง (specific beneficial effects) หรือช่วยในการกระทำหน้าที่ให้ดียิ่งขึ้น (improvement of function) เช่น การกล่าวอ้างหน้าที่ส่วนประกอบของอาหารที่มีผลช่วยกระตุ้นการดูดซึมแคลเซียม

(๓) การกล่าวอ้างการลดความเสี่ยงของการเกิดโรค (Reduction of disease risk claim) หมายความว่า การแสดงสรรพคุณ คุณประโยชน์ของอาหาร หรือส่วนประกอบของอาหาร ที่มีผลในการลดความเสี่ยงของการเกิดโรค อากาศ หรือสภาวะใด ๆ ที่เกี่ยวข้องกับสุขภาพ (health-related condition) โดยเป็นการเปลี่ยนแปลงปัจจัยเสี่ยงหลัก (major risk factor) สำหรับโรคนั้น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ เช่น การกล่าวอ้างว่าอาหารที่มีแคลเซียมสูงมีผลช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคกระดูกพรุน

ข้อ ๒ อาหารที่มีการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกต้องได้รับอนุญาตจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา และต้องใช้จุลินทรีย์ตามที่กำหนดไว้ในบัญชีแนบท้ายประกาศฉบับนี้ และมีปริมาณจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ยังมีชีวิตอยู่ คงเหลืออยู่ไม่น้อยกว่า 10^6 CFU ต่ออาหาร ๑ กรัม ตลอดอายุการเก็บรักษาของอาหารนั้น

การใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกอื่นนอกเหนือจากที่กำหนดไว้ในบัญชีแนบท้ายประกาศฉบับนี้ ผู้ผลิตหรือผู้นำเข้าต้องส่งมอบหลักฐานแสดงผลการประเมินความปลอดภัย และคุณสมบัติการเป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติก ตามหลักการใน Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food, ปี ค.ศ. ๒๐๐๒ พร้อมรายละเอียดข้อมูลประกอบการยื่นขออนุญาต ดังนี้

(๑) การตรวจเอกลักษณ์ของสกุล (genus) ชนิด (species) สายพันธุ์ (strain) ด้วยวิธีการที่ถูกต้องและเป็นปัจจุบัน ทั้งทางลักษณะ (phenotype) และทางพันธุกรรม (genotype) และการเรียกชื่อ (nomenclature) ของจุลินทรีย์นั้นต้องเป็นชื่อที่ใช้อยู่ในปัจจุบันและเป็นที่ยอมรับกัน ในทางวิทยาศาสตร์

- (๒) การทดสอบคุณสมบัติการเป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติก ดังนี้
- (๒.๑) การทนต่อสภาวะความเป็นกรดในกระเพาะอาหาร (resistance to gastric acidity)
 - (๒.๒) การทนต่อสภาวะของเกลือน้ำดี (bile salt resistance)
 - (๒.๓) ความสามารถในการเกาะติดกับเยื่อเมือก หรือ เซลล์ผิวเยื่อของมนุษย์หรือเซลล์ไลน์ (adherence to mucus and/or human epithelial cells and cell line)
 - (๒.๔) ฤทธิ์ของเอนไซม์ไฮโดรเลสในการย่อยเกลือน้ำดี (bile salt hydrolase activity)
- และ
- (๒.๕) คุณสมบัติอื่น ๆ (ถ้ามี) แล้วแต่กรณี
- (๓) การประเมินความปลอดภัยของจุลินทรีย์โพรไบโอติกต่อมนุษย์ โดยการทดสอบ นอกกาย (in vitro) หรือในสัตว์ (in vivo) และการศึกษาในมนุษย์ เพื่อประเมินความปลอดภัย และปฏิกิริยาของร่างกายต่อจุลินทรีย์โพรไบโอติก ดังนี้
- (๓.๑) การติดต่อสารปฏิชีวนะ
 - (๓.๒) การประเมินฤทธิ์ทางเมแทบอลิก เช่น การผลิตดี - แลกเตต (D-lactate) หรือการสลายเกลือน้ำดี เป็นต้น
 - (๓.๓) การประเมินผลข้างเคียงระหว่างการศึกษามนุษย์
 - (๓.๔) การเฝ้าระวังทางระบาดวิทยาของอุบัติการณ์ที่ไม่พึงประสงค์ในผู้บริโภค หลังออกจำหน่ายในท้องตลาด
 - (๓.๕) การสร้างสารพิษ กรณีที่สายพันธุ์ที่ประเมินนั้นเป็นจุลินทรีย์ชนิดที่มีการผลิตสารพิษ และ
 - (๓.๖) ฤทธิ์ทางฮีมโกลิต กรณีที่สายพันธุ์ที่ประเมินนั้นอยู่ในกลุ่มของจุลินทรีย์ ชนิดที่มีโอกาสทำให้เกิดการแตกของเม็ดเลือดแดง
- ข้อ ๓ การกล่าวอ้างทางสุขภาพสำหรับการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหารต้องเป็นไปตามหลักเกณฑ์ วิธีการและเงื่อนไข ดังนี้
- (๑) ผู้ผลิต หรือผู้นำเข้าต้องแจ้งรายละเอียดของอาหารและส่วนประกอบของอาหารในส่วนที่เกี่ยวข้องกับการกล่าวอ้างนั้นให้ครบถ้วนและเพียงพอ และต้องส่งมอบผลการศึกษามนุษย์อย่างน้อยจากสองสถาบัน เพื่อประกอบการพิจารณาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์โพรไบโอติกต่อสุขภาพ ดังนี้
 - (๑.๑) การศึกษามนุษย์ที่มีการออกแบบอย่างดี (well design human intervention study) หรือ
 - (๑.๒) การศึกษามนุษย์ที่มีการออกแบบอื่น ๆ ที่เหมาะสมโดยมีจำนวน ตัวอย่าง และผลการศึกษาเบื้องต้นที่เพียงพอที่จะพิจารณาประสิทธิภาพของสายพันธุ์หรืออาหาร
- การออกแบบการศึกษามนุษย์ตามข้อ (๑.๑) และข้อ (๑.๒) ต้องมีการออกแบบการศึกษาที่คำนึงถึงรายละเอียดดังต่อไปนี้

(ก) กลุ่มศึกษาต้องเป็นตัวแทนของกลุ่มประชากรเป้าหมายได้ (study groups that are representative of the target group)

(ข) กลุ่มควบคุม (control) ต้องเหมาะสม (appropriate control)

(ค) ช่วงระยะเวลาที่ได้รับสัมผัสที่เพียงพอและมีการติดตามเพื่อแสดงผลที่มุ่งหมายให้เกิดขึ้น (an adequate duration of exposure and follow up to demonstrate the intended effect)

(ง) การแสดงพื้นฐานการบริโภคอาหารและรูปแบบการใช้ชีวิตด้านอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องของกลุ่มศึกษา (characterization of the study groups' background diet and other aspects of relevant of lifestyle)

(จ) ปริมาณของอาหารและส่วนประกอบของอาหารที่สอดคล้องกับรูปแบบการบริโภคที่มุ่งหมาย (an amount of the food or food component consistent with it intended pattern of consumption)

(ฉ) ประเภทและบริบทของอาหารที่ส่งผลต่อหน้าที่ของจุลินทรีย์ โปรไบโอติก (the influence of the food matrix and dietary context on the functional effect of the component)

(ช) การตรวจติดตามความเป็นไปตามข้อกำหนดในการบริโภคอาหารหรือส่วนประกอบของอาหารที่ใช้ทดลองของกลุ่มศึกษา (monitoring of subjects' compliance concerning intake of food or food component under test)

(ซ) วิธีทางสถิติที่มีความหนักแน่นและเหมาะสมในการทดสอบสมมติฐาน (the statistical power to test the hypothesis)

ผลการศึกษาดำข้อ (๑.๑) และข้อ (๑.๒) ดังกล่าว อย่างน้อยต้องระบุตัวแปร หรือปัจจัยที่กำหนด (parameter) ที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ ชนิดและประเภทของอาหาร ขนาดหน่วยบริโภค ปริมาณของจุลินทรีย์โปรไบโอติก และระยะเวลาที่ทำให้เกิดผลตามความมุ่งหมายในการใช้ กรณีที่ผลการศึกษานั้นไม่สามารถวัดจุดสิ้นสุด (endpoint) โดยตรงได้ เนื่องจากผลกระทบต่อสุขภาพหรือ ประโยชน์หลักที่ต้องใช้เวลาเนิ่นนานจึงจะปรากฏให้เห็น ความเป็นไปได้หรือประเด็นทางจริยธรรม และข้อจำกัดทางทรัพยากร เช่น ค่าตรวจวิเคราะห์ที่มีค่าใช้จ่ายสูง อาจใช้ตัวชี้วัด (markers) ที่เหมาะสมแทน โดยตัวชี้วัดดังกล่าวต้องมีความถูกต้องทางชีวภาพซึ่งสัมพันธ์ต่อผลลัพธ์สุดท้ายและความแปรผันภายในประชากรกลุ่มเป้าหมาย และต้องมีความถูกต้องทางวิธีการวิเคราะห์คุณลักษณะ ของตัวชี้วัดนั้น

(๒) การกล่าวอ้างทางสุขภาพต้องพิสูจน์ได้ทางวิทยาศาสตร์ โดยคำนึงถึงความครบถ้วนสมบูรณ์ของข้อมูลและหลักฐานที่มีน้ำหนักเพียงพอในประเด็นต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

(๒.๑) ผลที่ได้สอดคล้องกับผลจากหลักฐานหรือวิธีการอื่น

(๒.๒) ความถูกต้องตามวิธีการด้านเทคโนโลยีการอาหาร

(๒.๓) การเก็บตัวอย่างเป็นแบบสุ่มเลือก

(๒.๔) ความสัมพันธ์ด้านการตอบสนองระหว่างปริมาณอาหารหรือส่วนประกอบของอาหาร และผลทางสุขภาพที่เกี่ยวข้อง

(๒.๕) ความเป็นไปได้ทางชีวภาพ

(๓) เงื่อนไขการแสดงผลการกล่าวอ้างทางสุขภาพบนฉลาก ต้องเป็นดังนี้

การกล่าวอ้างทางสุขภาพต้องไม่ทำให้เข้าใจว่าการบริโภคอาหาร ส่วนประกอบของอาหาร หรือสารอาหารนั้น สามารถบำบัด บรรเทา รักษา หรือป้องกันโรคได้ และต้องแสดงข้อความเป็นภาษาไทย ด้วยขนาดตัวอักษรที่ใกล้เคียงกัน เห็นได้ง่าย อ่านได้ชัดเจน และอาจมีข้อความเป็นภาษาอื่นที่มีความหมายทำนองเดียวกันกับภาษาไทยแสดงไว้ด้วยก็ได้ และข้อความแสดงรายละเอียดดังต่อไปนี้

(๓.๑) ข้อความว่า “ผลิตภัณฑ์นี้ไม่ใช่สำหรับรักษา บำบัด บรรเทา หรือป้องกันโรค”

(๓.๒) สกุล (Genus) ชนิด (Species) และสายพันธุ์ (Strain) ของจุลินทรีย์ โปรไบโอติก ที่เป็นส่วนผสม

(๓.๓) ปริมาณและช่วงระยะเวลาที่แนะนำให้บริโภคซึ่งให้ผลต่อสุขภาพตามกล่าวอ้าง

(๓.๔) ข้อความกล่าวอ้างทางสุขภาพ เช่น “จุลินทรีย์โปรไบโอติก” “โปรไบโอติก” หรือข้อความกล่าวอ้างอื่น

(๓.๕) ข้อแนะนำการใช้ และสภาวะการเก็บรักษาที่เหมาะสม

(๓.๖) ช่องทางสำหรับให้ข้อมูลแก่ผู้บริโภค เช่น สถานที่ติดต่อ หมายเลข โทรศัพท์ หรือเว็บไซต์

ข้อ ๔ การแสดงฉลากของอาหารที่มีจุลินทรีย์โปรไบโอติกให้เป็นไปตาม

(๑) ประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง ฉลาก

(๒) ประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง ฉลากโภชนาการ

(๓) ประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่องของอาหารนั้น

ข้อ ๕ ให้ผู้ผลิตหรือนำเข้าอาหารตามข้อ ๒ อยู่ก่อนวันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ ปฏิบัติให้เป็นไปตามประกาศฉบับนี้ภายในหนึ่งปีนับแต่วันที่ประกาศนี้มีผลใช้บังคับ และให้ใช้ฉลากเดิมที่เหลืออยู่ต่อไปได้ แต่ไม่เกินหนึ่งปี นับแต่วันที่ประกาศนี้มีผลใช้บังคับ

ข้อ ๖ ประกาศฉบับนี้ ให้ใช้บังคับตั้งแต่วันถัดจากวันประกาศในราชกิจจานุเบกษาเป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ ๒๗ มิถุนายน พ.ศ. ๒๕๕๔

จурินทร์ ลักขณวิศิษฎ์

รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข

บัญชีรายชื่อเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติกสำหรับใช้ในอาหาร
แบบท้ายประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง การใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหาร

๑. บาซิลลัส โคแอกกูแลน	<i>Bacillus coagulans</i>
๒. บีฟิโดแบคทีเรียม อะโดเลสเซนทิส	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>
๓. บีฟิโดแบคทีเรียม อะนิมอลิส	<i>Bifidobacterium animalis</i>
๔. บีฟิโดแบคทีเรียม บีฟิดัม	<i>Bifidobacterium bifidum</i>
๕. บีฟิโดแบคทีเรียม เบรเว	<i>Bifidobacterium breve</i>
๖. บีฟิโดแบคทีเรียม อินฟานทิส	<i>Bifidobacterium infantis</i>
๗. บีฟิโดแบคทีเรียม แล็กทิส	<i>Bifidobacterium lactis</i>
๘. บีฟิโดแบคทีเรียม ลองกัม	<i>Bifidobacterium longum</i>
๙. บีฟิโดแบคทีเรียม ซูโดลองกัม	<i>Bifidobacterium pseudolongum</i>
๑๐. เอ็นเทอโรค็อกคัส ดูแรน	<i>Enterococcus durans</i>
๑๑. เอ็นเทอโรค็อกคัส เฟเซียม	<i>Enterococcus faecium</i>
๑๒. แล็กโทบาซิลลัส แอซิโดฟิลัส	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
๑๓. แล็กโทบาซิลลัส คริสปาทัส	<i>Lactobacillus crispatus</i>
๑๔. แล็กโทบาซิลลัส แก็สเซอร์	<i>Lactobacillus gasserii</i>
๑๕. แล็กโทบาซิลลัส จอห์นสัน	<i>Lactobacillus johnsonii</i>
๑๖. แล็กโทบาซิลลัส พาราเคซี	<i>Lactobacillus paracasei</i>
๑๗. แล็กโทบาซิลลัส เรูเทอริ	<i>Lactobacillus reuteri</i>
๑๘. แล็กโทบาซิลลัส รามโนซัส	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
๑๙. แล็กโทบาซิลลัส ซาลิวาเรียส	<i>Lactobacillus salivarius</i>
๒๐. แล็กโทบาซิลลัส ซีอี	<i>Lactobacillus zeae</i>
๒๑. โพรพิโอนิแบคทีเรียม อะราบินอซุม	<i>Propionibacterium arabinosum</i>
๒๒. สแตปฟีโลคอคคัส ไสค์ยูริ	<i>Staphylococcus sciuri</i>
๒๓. แซ็กคาโรไมซีส เซร์วิซีอี สับสปีชีส์ บัวลาดีอี	<i>Saccharomyces cerevisiae subsp. Boulardii</i>

อ้างอิงจาก *Bulletin of the International Dairy Federation No.377/2002*

ภาคผนวก ง.
งานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์

Fermentation of Mahachanok Mango juice mixed with pineapple juice by *Lactobacillus casei* 431

Khwanreuthai Kaewnaree^{1,*}, Suchawadee Wetchirasit¹, Panadda Nonthanum²,
Rachit Suwapanich², Pinmanee Kwanmuang³ Pimpen Pornchaloempong¹

¹Department of Food Engineering, Faculty of Engineering,

²Department of Agro-Industry, Faculty of Agro-Industry,

³Department of Agricultural Education, Faculty of Industrial Education and Technology
King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand

*corresponding author, E-mail: 62601121@kmitl.ac.th

Abstract

This research aimed to study the quality of fermented fruit juice. The mixture of mango juice and pineapple juice was supplemented with prebiotic galacto-oligosaccharide (GOS) and fermented by probiotic *Lactobacillus casei* 431. The fermented juice samples at different fermentation time (0-12 hrs) were collected for the analysis of viability of probiotic bacteria and physicochemical characteristics of the fermented juice. The results showed that the amount of *Lactobacillus casei* 431 cells increased from 8.22 log CFU/ml at the initial fermentation time of 0 hr to 8.22, 8.38, 8.80, and 9.25 log CFU/ml at the fermentation time of 3, 6, 9, and 12 hrs, respectively. The pH values of the fermented juice decreased continuously from 4.17 to 3.73 as fermentation time increased. When the fermented juice was stored at 4 °C for 5 weeks, the probiotic cells of the fermented juice at 0, 3, 6, 9, and 12 hrs were 6.64, 6.91, 7.88, 7.95, and 8.02 log CFU/ml, respectively. The lightness (L*) and the yellowness (b*) values of the products were slightly decreased during storage. The results of this study could be applied for further commercial production of healthy fruit drinks.

Keywords: Mango juice, *Lactobacillus casei*, galacto-oligosaccharide, lactic acid fermentation

1. INTRODUCTION

Nowadays, Consumers are increasingly aware of the consumption of healthy food and beverages in addition to the basic nutritional value, fermented foods and beverages are obtained through spontaneous fermentation or by starter or probiotic addition. Addition of active bacterial cultures can be considered by the consumer as an added value and a marker of high quality. Historically, the use of probiotics in dairy beverages has been widely investigated, whereas it was less documented in other matrices Lactic acid bacteria (LAB) metabolize different substrates, leading to biochemical changes in composition [1]. Lactic acid fermentation is recognized to improve nutritional properties, flavor, and health-related aspects of food products [2]. This process improves the organoleptic properties of food matrixes and their acceptability on top of shelf-life properties [2]-[3]. Fermentation of fruit and vegetable

juices for a beverage is an option for consumers who cannot consume fermented milk beverages. Vegetables and fruits are good sources of vitamins, minerals, dietary fibers, antioxidants, and bioactive compounds which have a positive effect on some vital organs in the body. The health benefits of probiotic juices mainly depend on the concentration of probiotics in the juices, along with their ability to survive the unfavourable conditions of the gastrointestinal tract. Two important criteria to be fulfilled by fruit juices are to maintain the viability (at least $10^6 - 10^7$ cells/ml) and activity of probiotics in the final product at the end of the shelf life [4]. Mangos are fruit that can be grown in all regions of Thailand. These mangos can be consumed both raw and ripe mango. Ripe mango products include mango jam, preserved mango and mango juice, which mango juice is a beverage that high nutritional value. However, mango juice is further fermented by fermentation into mango wine, vinegar, and probiotic mango juice, which is a fermented juice that has been fermented with probiotic microorganisms, such as lactic acid bacteria. Probiotic bacteria are used widely in producing foods based on their positive qualities. Recent studies have revealed that other novel probiotics such as fruits juices, cereals and chocolate are better and superior carriers for the delivery of probiotics. Mango juice is a staple with many nutrients, suitable for the growth of *Lactobacillus* spp. for probiotic beverage. Lactic acid bacteria constitute a diverse group of organisms providing considerable benefits to humans, some as natural inhabitants of the intestinal tract and others as fermentative lactic acid bacteria used in food industry, imparting flavor, texture and possessing preservative properties [5]. *Lactobacillus paracasei* CASEI 431® or *Lactobacillus casei* 431 is a probiotic strain that has been used in food and dietary supplements [6]. Probiotics need access to prebiotics to work effectively. Prebiotic oligosaccharides are noncariogenic, non digestible oligosaccharides (NDO) and low calorific compounds stimulating the growth and development of gastrointestinal microflora described as probiotic bacteria [7]. Dietary carbohydrates that show prebiotic ability include fructooligosaccharides (FOS), galactooligosaccharides (GOS), polydextrose, resistant starch, soyoligosaccharides, xylooligosaccharides, lactulose and isomaltooligosaccharides, [8] which galacto-oligosaccharides are an important class of dietary prebiotics that exert beneficial effects on intestinal microbiota and gut barrier function.

In view of the above, the aim of this research are studying the quality of the fermented mango juice for probiotic beverage, evaluate the amount of *Lactobacillus casei* 431, pH values, lactic acid content in fermented mango juice at the different time intervals (0, 3, 6, 9 and 12 h) at 37 °C and evaluate their viability in cold storage conditions. This study would give an opportunity to introduce a novel probiotic fruit (mango) drink with inherent health benefits.

2. MATERIAS AND METHODS

Starter culture of *Lactobacillus casei* 431 preparation

Freeze dry commercial culture of *Lactobacillus casei* 431® (CHR-HANSON - Denmark) 1.0 g. was cultured in 1000 ml of pasteurized pineapple juice, at 37 °C for 24 hrs. and was used as an inoculum for Mahachanok mango juice fermentation.

Mahachanok Mango juice preparation

Raw materials in this study were used freezed Mahachanok mango puree, pineapple juice, galacto-oligosaccharidesand (GOS) and water. One liter of mango juice was consisted of 500 g., freezed Mahachanok mango puree; 300 g., pineapple juice; 20 g., GOS and 180 ml., water. Mixed all the ingredients together, transferred to a glass bottle and pasteurized at 80 °C for 15 s, cooled at room temperature until the temperature of 45 °C, the broth commercial culture of *Lactobacillus casei* 431® (CHR-HANSON - Denmark) was added.

Mahachanok mango juice fermentation

The fermentation of mango juice was conducted in 180 ml sterilized glass bottle each containing 180 ml of pasteurized mango juice. All samples were inoculated with 5% (10^8 CFU/ml) of 24 hrs culture, and incubated at 37°C for 0, 3, 6, 9, and 12 hrs. The variation of viable cell number, pH, lactic acid content and total soluble solid content were monitored periodically during incubation. The fermented mango juice samples in each time intervals were stored under refrigerated conditions ($4\pm 1^\circ\text{C}$) for 5 weeks and measured at weekly intervals.

Analytical methods

The pH of the fermented mango juices was measured by using a pH meter (Lab 855, SI Analytics, Germany)

The total acidity was determined using standard titrating against 0.1 N NaOH in the presence of phenolphthalein as an indicator [9]. Then, the acidity (%) was calculated as a lactic acid by inserting the amount of NaOH added into the following equation:

$$\text{Acidity (\%)} = (\text{NaOH added} \times \text{NaOH factor} \times 90.08 / \text{Sample volume} \times 100)$$

The total soluble solid (TSS) content was measured by using a Refractometer (HI 96800, HANNA, Romania) pH meter (Lab 855, SI Analytics, Germany) in terms of °Brix [10].

Color analysis method with Hunter Lab (Color Flex, Color Global, U.S.A). Find the mean and calculate the color difference from the following equation:

$$\Delta E^* = [(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2]^{1/2}$$

Viable counts of *Lactobacillus casei* 431 of the fermented mango juice were measured by standard plate count method in triplicate on solid MRS medium agar (Hi Media - India) [11]. 1.0 mL samples were added to 9.0 mL of sterile Ringers solution and appropriate dilutions were made (10^{-1} to 10^{-10}). Three plates were incubated in incubator at 37 ° C. Colony forming units were enumerated in plates containing 30 to 300 colonies after 48 hrs of incubation at 37 ° C.

Statistical analysis

All experiments were carried out in triplicate, and each sample was analyzed in duplicate. The results are expressed as mean \pm S.D. (standard deviation). The Microsoft Excel statistical computer package was used to analyze the experimental data (Microsoft, USA).

3. RESULTS AND DISCUSSION

The present study was carried out to investigate the possibility of producing novel synbiotic beverage by incorporating probiotic microorganism *L. casei* 431® into Mahachanok mango juice mixed with pineapple juice and fermented for different time intervals (0, 3, 6, 9 and 12 h) at 37 ° C. The fermented mango juice samples in each time intervals were stored under refrigerated conditions ($4\pm 1^\circ\text{C}$) for 5 weeks and measured at weekly intervals.

At the incubation times of 0, 3, 6, 9 and 12 hrs. The results indicated that, the total soluble solid were decreased from 14.20 to 14.00, 14.00, 13.90 and 13.80 °Brix (Fig. 1 (a)), pH value were decreased from 4.17 to 4.17 4.06 3.86 and 3.73 (Fig. 1(b)), respectively, while lactic

acid content were increased from 0.76% to 0.85%, 0.93%, 0.93%, and 1.10% (Fig. 1-c), respectively and the viable cell counts of *Lactobacillus casei* 431 were increased 8.22, 8.22, 8.38 8.80 and 9.25 log CFU/ml, respectively. (Fig. 1-d), *Lactocalillus casei* 431 is a homofermentative lactic acid bacteria which can only produce lactic acid by fermentating carbohydrate such as sucrose, fructose, glucose and probiotic, sucrose consumption of *Lactocalillus casei* 431 has been correlate with the lactic acid accumulation in the beverage [12]. The metabolism of probiotic lactic acid bacteria may result in the production of metabolites and can affect the flavour and aroma of the food product. Among various probiotics, lactobacilli were found to survive in fruit juices with pH ranging 4.30 to 3.70 [13].

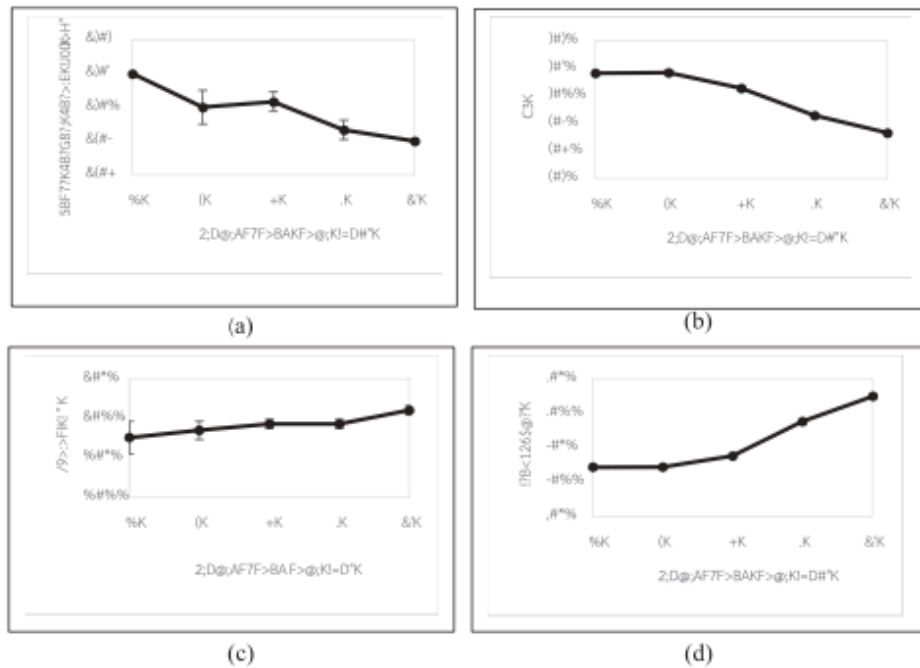


Fig. 1 Change of Total soluble solid (a), pH value (b), Acidity (c), and viable cell of *Lactobacillus casei* 431 (d) in mixed mango juice fermentation at time intervals 0, 3, 6, 9 and 12 hrs

The analysis of chromatic values in the CIE system showed that, with more incubation time, the brightness (L^*) tended to slightly increase from 54.83 ± 0.06 to 55.64 ± 0.11 , 55.79 ± 0.08 , 56.61 ± 0.10 and 57.73 ± 0.27 . The color difference (ΔE) of the original mango mixed with pineapple compared with the mango and pineapple juice after maturing for 3, 6, 9 and 12 hours were 3.53, 2.96, 5.13 and 5.03, respectively (Table 1). The longer incubation time, the fermented Mango Juice is brighter. As the number of microorganisms increases

Table 1 Color component L* a* b* in mixed mango juice fermentation at time intervals 0, 3, 6, 9 and 12 hrs

Color value	Fermentation (hr.)				
	0	3	6	9	12
L*	54.83±0.06	55.64±0.11	55.79±0.08	56.61±±0.10	57.73±0.27
a*	16.24±0.04	16.52±0.13	16.84±0.02	17.29±0.12	17.28±0.01
b*	56.29±0.06	59.71±0.58	59.03±0.48	60.99±0.24	60.27±0.96
ΔE		3.53	2.96	5.13	5.03

Mean ± S.D.

The shelf life study was carried out by storage the fermented probiotic mixed mango juice at fermentation times 0, 3, 6, 9, 12 hrs under refrigerated ($4 \pm 1^\circ\text{C}$) conditions for 5 weeks, and measured at weekly intervals. The results at the end of 5 week indicated that, total soluble solids were decreased from 14.20, 14.00, 14.00, 13.90 and 13.80 °Brix to 13.80, 13.80, 13.70, 13.70 and 13.40 °Brix (Fig.2-a), pH were decreased from 4.17 4.17 4.06 3.86 and 3.73 to 3.65 3.61 3.58 3.37 3.29 (Fig. -b), lactic acid content were increased from 0.76% to 0.85%, 0.93%, 0.93%, and 1.10% to 1.02% 1.24% 1.38% 1.59% and 1.66% (Fig.2-c). The viable cell counts of *Lactobacillus casei* 431 were increased 8.22, 8.22, 8.38 8.80 and 9.25 log CFU/ml to 8.17 8.32 8.68 8.90 and 9.31 log CFU/ml (Fig.2-d). According to legislation in different countries for minimum probiotic viability in products during shelf life, the number of viable probiotic bacteria ranges from 10^5 to 5×10^8 CFU/mL [14]-[15].

Lactobacillus casei 431 can be growth and use of nutrients for growth and produced lactic acid at low temperature, which is consistent with the study of cashew juice fermentation was conducted with *Lactobacillus casei* NRRL B-442 and stored at 4°C for 42 days, during storage 1-5 week, lactic acid increased and pH decreased, indicating that *L. casei* could produce acid even at low temperatures. [16]

Lactobacillus bacteria used in this study is *Lactobacillus casei* 431® which a novel bacterial strain developed by Chro-hansen, Denmark. The research carried out by CHR-HENSEN in Denmark indicated a probiotic bacteria *Lactobacillus casei* 431® survive in the low acid juices up to at least 8 weeks. *Lactobacillus casei* 431® incorporated juice has been designed to give the best results in many types of healthy fruit juices from citrus to apples, pears, berries and coconuts (www.chr-hansen.com). *Lactobacillus casei* 431® is proven to beneficially enhance the body natural defense which may increase protection and reduce risk of infections [17].

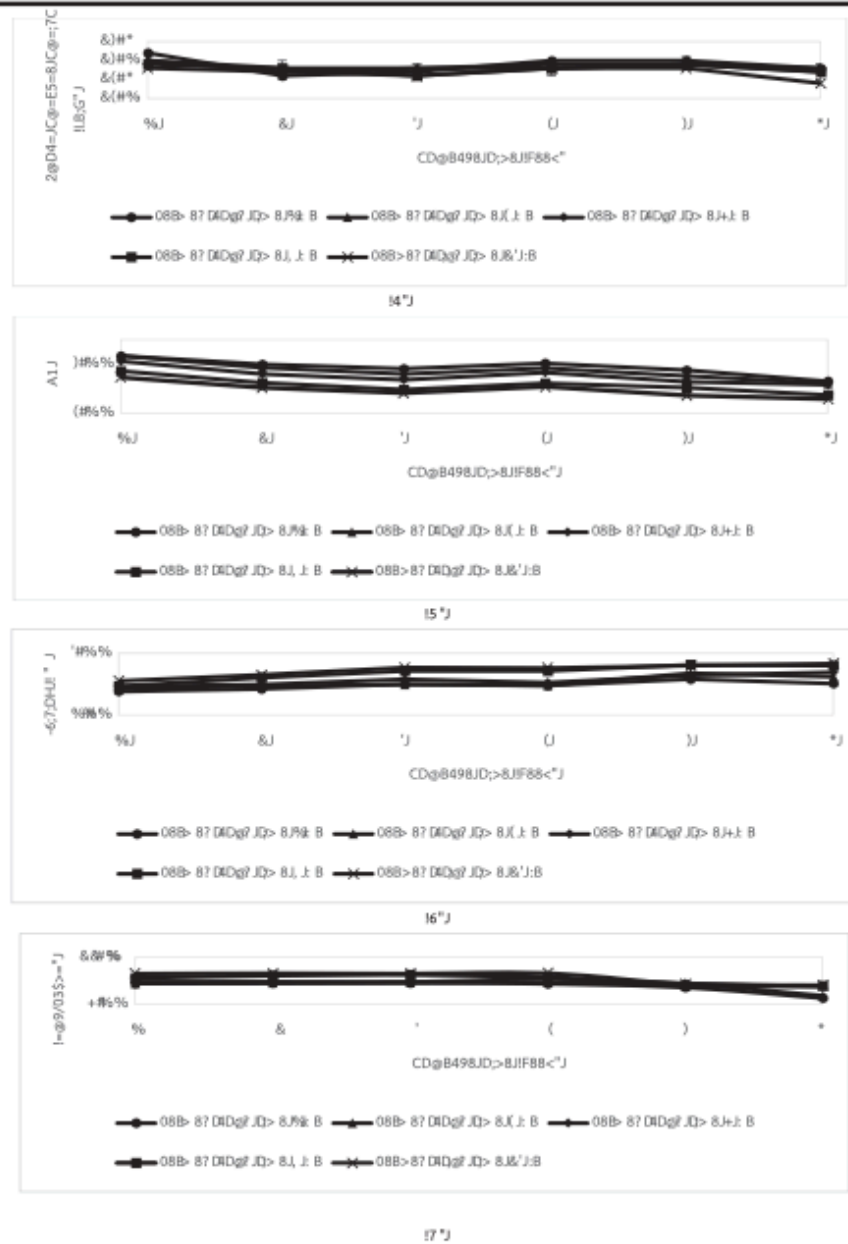


Fig. 2 Change of Total soluble solid (a), pH value (b), Acidity (c), and viable cell of *Lactobacillus casei* 431 (d) of fermented mixed mango juice at storage time 0, 1, 2, 3, 4, and 5 weeks

Table 2 Color component L* a* b* of fermented mixed mango juice at storage time 0, 1, 2, 3, 4, and 5 weeks

Incubation time (h)	Color value	Storage times refrigerated ($4 \pm 1^\circ\text{C}$) conditions (week)					
		0	1	2	3	4	5
0	L*	54.83±0.06	52.36±0.02	52.88±0.03	54.81±0.02	54.83±0.06	53.55±0.04
	a*	16.24±0.04	15.39±0.05	16.48±0.58	15.61±0.04	16.24±0.04	15.31±0.02
	b*	56.29±0.06	60.55±0.12	59.29±2.01	52.73±0.30	59.46±0.31	51.14±0.36
	ΔE						
3	L*	55.64±0.16	52.90±0.04	54.20±0.28	54.54±0.12	55.64±0.11	54.81±0.02
	a*	16.52±0.13	15.80±0.02	16.80±0.43	16.02±0.08	16.52±0.13	15.75±0.06
	b*	59.71±0.58	61.24±0.33	61.12±4.54	55.38±0.35	59.71±0.58	53.48±0.35
	ΔE	3.53	0.97	2.28	2.69	3.37	2.69
6	L*	55.79±0.08	53.98±0.04	54.65±0.19	55.32±0.05	55.79±0.08	55.83±0.04
	a*	16.84±0.02	16.19±0.06	16.79±0.16	16.14±0.11	16.84±0.02	15.88±0.06
	b*	59.03±0.48	62.30±0.16	62.52±0.52	55.74±1.01	59.03±0.48	54.61±0.18
	ΔE	2.96	2.51	3.69	3.11	2.81	4.19
9	L*	56.61±0.10	54.90±0.02	57.03±0.37	56.79±0.99	56.61±0.10	56.29±0.22
	a*	17.29±0.10	16.62±0.02	16.89±0.09	16.94±0.19	17.29±0.12	16.20±0.66
	b*	60.99±0.24	63.09±0.10	63.31±0.38	60.35±3.12	60.99±0.24	58.12±0.26
	ΔE	5.13	3.79	5.80	8.04	4.98	7.55
12	L*	57.73±0.27	55.21±0.03	57.18±0.08	56.66±0.19	57.54±0.48	56.70±0.03
	a*	17.28±0.27	16.90±0.04	16.71±0.08	16.85±0.24	17.20±0.14	17.16±0.07
	b*	60.27±0.96	64.58±0.16	60.86±0.15	58.95±0.41	61.14±0.57	60.09±0.35
	ΔE	5.03	5.16	4.59	6.61	5.49	9.67

Delta-E (ΔE) = a single number that represents the 'distance' between incubation time intervals and storage times

The initial fermented probiotic mixed mango juice color values were L* (brightness), a* value (red value) and b* (yellow value) were mean 54.83 ± 0.06 , 16.24 ± 0.04 and 56.29 ± 0.06 . Respectively, when incubated for 3, 6, 9, and 12 hrs, L* (brightness) values were 55.64 ± 0.11 , 55.79 ± 0.08 , 56.61 ± 0.10 and 57.73 ± 0.27 a* value (red value) 16.52 ± 0.13 , 16.84 ± 0.02 , 17.29 ± 0.12 and 17.28 ± 0.01 and b* values (yellow value) 56.29 ± 0.06 , 59.03 ± 0.48 , 60.99 ± 0.24 and 60.27 ± 0.96 , respectively, color difference (ΔE) of fermented probiotic mixed mango juice. The initial probiotic mixed mango juice compared with fermented probiotic mixed mango juice after fermentation for 3, 6, 9 and 12 hrs was 3.53, 2.96, 5.13 and 5.03 respectively, i.e. with more fermentation time. Have more brightness As the microbial count increased and after 5 weeks storage, the brightness (L*) was found to decrease due to the decrease in the microbial count.

4. CONCLUSION

Based on the results of this study, it can be concluded that mango juice mixed with pineapple juice and supplemented with prebiotic galacto-oligosaccharide is a good substrate for the growth of *Lactobacillus casei* 431®, can be utilized in the production of probiotic beverage and should be a potential alternative functional food matrix. The amount of probiotic *Lactobacillus casei* 431 at fermentation times 12 hrs was within the standards (8.00 log CFU/mL) until the end of the 5 weeks under refrigerated ($4 \pm 1^\circ\text{C}$) conditions. Probiotic beverages based on mango and pine apple have been proposed as new products containing probiotic strains; essentially, fruit and vegetable juices have been reported as a novel suitable carrier medium for probiotic that could be applied for further commercial production of healthy fruit drinks.

ACKNOWLEDGMENT

This research was funded by National Research Council of Thailand (NRCT) and Faculty of Engineering, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang.

REFERENCES

- [1] Tamang, J. Plant-based fermented foods and beverages of Asia. In Handbook of Plant-Based Fermented Food and Beverage Technology, 2nd ed.; CRC Press: Boca Raton, FL, USA, 2012; pp. 49–90.
- [2] Karovičová, J.; Kohajdová, Z. (2011). Lactic acid fermented vegetable juices. *Hortic. Sci.*, 30, 152–158.
- [3] Fessard, A.; Kapoor, A.; Patche, J.; Assemat, S.; Hoarau, M.; Bourdon, E.; Bahrun, T.; Remize, F. Lactic fermentation as an efficient tool to enhance the antioxidant activity of tropical fruit juices and teas. *Microorganisms* (2017), 5, 2.
- [4] Nualkaekul, S. and Charalampopoulos, D. (2011). Survival of *Lactobacillus plantarum* in model solutions and fruit juices. *Int. J. Food Microbiol.* 146, 111–117.
- [5] Grajek W., Olejnik A. and Sip A. (2005). Probiotics, prebiotics and antioxidants as functional foods, *Acta Biochimica Polonica*, Vol. 52, pp 665–671.
- [6] Zheng J, Wittouck S. et al., (2020) 'A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae*'. *Int.J.Syst.Evol.Microbiol.* 70(4): 2782-2858. DOI: 10.1099/ijsem.0.004107
- [7] Barreteau H., Delattre C. and Michaud P. (2006). Production of Oligosaccharides as Promising New Food Additive Generation Food Technol. *Biotechnology*. 44 (3), pp 323–333.
- [8] Gibson G. R, Ottaway P. B. and Rastal R. A. (2000). *Prebiotics*. Chandos Publishing (Oxford) Ltd, Oxford, England: pp 1-20.
- [9] AOAC. (2005). Official Methods of Analysis. 17th ed. Washington, DC. The Association of Official Analytical Chemists.
- [10] Varakumar S, Kumar YS and Reddy, OVS (2011). Carotenoid composition of mango (*Mangifera indica* L.) wine and its antioxidant activity. *J. of Food Biochemistry*. 35: 1538-1547.
- [11] De Man, J.D., Rogosa, M., and Sharpe, M.E. (1960). A Medium for the Cultivation of *Lactobacilli*. *Journal of Applied Bacteriology* 23, pp 130–135. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2672.1960.tb00188.x>
- [12] Hedberg M, Hasslof P, Sjöström I, Twetman S, Stecksén-Blicks C. (2008) Sugar fermentation in probiotic bacteria – an in vitro study. *Oral Microbiol Immunol* : 23: 482–485
- [13] Tripathi, M.K., Giri, S.K. (2014). Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage. *J. Funct. Foods*.9, 225–241.
- [14] Sadaghdar Y, Mortazavian AM, Ehsani MR. (2012) Survival and activity of 5 probiotic lactobacilli strains in 2 types of flavored fermented milk. *Food Sci. Biotechnol.* 21: 151-157.
- [15] FAO/WHO (2001) Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Acid Bacteria. Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation, Córdoba, Argentina. http://www.who.int/foodsafety/publications/fs_management/en/probiotics.pdf?ua=1

-
- [16] Pereira, F. A. L., Maciel, T. C., Rodrigues, S. (2011). Probiotic beverage from cashew apple juice fermented with *Lactobacillus casei*. Food Research International. 44 : 1276-1283
- [17] Rizzardini G., Eskesen D., Calder P.C., Capetti A.J., Jespersen L. and Clerici M. (2012). Evaluation of the immune benefits of two probiotic strains Bifidobacterium animalis ssp. lactis, BB-12® and *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*, *L. casei* 431® in an influenza vaccination model: a randomised, double-blind, placebo-controlled study British Journal of Nutrition. Vol. 107, pp 876-884. <http://dx.doi.org/10.1017/s000711451100420x>

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล นางสาววิญญูทัย แก้วนารี
วัน เดือน ปีเกิด 5 สิงหาคม 2537
ที่อยู่ 17 อ่อนนุช 13 เขตสวนหลวง แขวงสวนหลวง กรุงเทพมหานคร
โทร. 0807826236 E-mail. 62601121@kmitl.ac.th

ประวัติการศึกษา
2560 วิทยาศาสตร์บัณฑิต
คณะอุตสาหกรรมเกษตร สาขาวิศวกรรมแปรรูปอาหาร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง