



การเสริมโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์มะม่วงกวน



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต

ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2566

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศิลปากร

การเสริมโปรไบโอติกในผลิตภัณฑ์มะม่วงกวน



โดย
นางสาวชลิตา พุกบ้านยาง

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต

ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร

มหาวิทยาลัยศิลปากร

ปีการศึกษา 2566

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยศิลปากร

PROBIOTIC FORTIFICATION IN MANGO LEATHER



By

MISS Chalita PUKBANYANG

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for Master of Science FOOD TECHNOLOGY

Department of FOOD TECHNOLOGY

Academic Year 2023

Copyright of Silpakorn University

หัวข้อ	การเสริมโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์มะม่วงกวน
โดย	นางสาวชลิตา พุกบ้านยาง
สาขาวิชา	เทคโนโลยีอาหาร แผนก ก แบบ ก 2 ระดับปริญญามหาบัณฑิต
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	รองศาสตราจารย์ ดร. บุศราภรณ์ มหาโยธี
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร. ปราโมทย์ คุวิจิตรจารุ

คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร ได้รับพิจารณาอนุมัติให้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

.....	คณบดีคณะวิศวกรรมศาสตร์และ เทคโนโลยีอุตสาหกรรม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรุณศรี ลีจรรย์เนียร)	
พิจารณาเห็นชอบโดย	
.....	ประธานกรรมการ
(อาจารย์ ดร. ภาريكا รุ่งพิชัยพิเชฐ)	
.....	อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร. บุศราภรณ์ มหาโยธี)	
.....	อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร. ปราโมทย์ คุวิจิตรจารุ)	
.....	ผู้ทรงคุณวุฒิภายนอก
(รองศาสตราจารย์ ดร. บัณฑิต อินณวงศ์)	

630920019 : เทคโนโลยีอาหาร แผน ก แบบ ก 2 ระดับปริญญาโทบัณฑิต

คำสำคัญ : มะม่วงกวน แลคโตบาซิลลัส แพลนทาร์รัม แลคโตบาซิลลัส แรมโนซัส โพรไบโอติก

นางสาว ชลิตา พุกบ้านยาง: การเสริมโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์มะม่วงกวน อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : รองศาสตราจารย์ ดร. บุศราภรณ์ มหาโยธี

โพรไบโอติกมีส่วนช่วยในการปรับสมดุลจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อระบบทางเดินอาหาร ส่งผลให้ประสิทธิภาพของระบบย่อยและดูดซึมสารอาหารมีประสิทธิภาพที่ดียิ่งขึ้น รวมถึงช่วยในเรื่องของระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษากราฟการเจริญเติบโตเพื่อหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการบ่มแบคทีเรียโพรไบโอติกแกรมบวก ชนิด *Lactobacillus plantarum* และ *Lactobacillus rhamnosus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth พบว่าระยะเวลาที่เหมาะสมในการบ่มเชื้อ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* คือระยะเวลา 16 ชั่วโมง ซึ่งเป็นช่วง late-log phase ในระยะนี้เชื้อมีการเจริญเติบโตและแบ่งตัวได้สมบูรณ์ที่สุด จึงได้เลือกจุลินทรีย์จากระยะนี้มาเตรียมสารแขวนลอยโพรไบโอติกใส่ในเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้น และนำมาทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบภาคที่อุณหภูมิ 50 และ 60 °C เป็นเวลา 12 และ 8 ชั่วโมง ตามลำดับ พบว่ามะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกมีจำนวนจุลินทรีย์ *L. plantarum* ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ ที่อุณหภูมิ 50 และ 60 °C เท่ากับ 8.61 ± 0.13 และ 8.80 ± 0.06 logCFU/g ตามลำดับ และจำนวนจุลินทรีย์ *L. rhamnosus* ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ ที่อุณหภูมิ 50 °C เท่ากับ 3.04 ± 0.18 logCFU/g แต่ไม่พบเชื้อ *L. rhamnosus* ที่อุณหภูมิ 60 °C และจากการศึกษาอิทธิพลของการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง พบว่ามะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง มีจำนวนจุลินทรีย์ (*L. plantarum* และ *L. rhamnosus*) ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้เท่ากับ 8.26 ± 0.12 และ 8.29 ± 0.11 logCFU/g ตามลำดับ โดยมีจำนวนเชื้อคงเหลือมากกว่า 6 logCFU/g ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อาหารเสริมโพรไบโอติกของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา นอกจากนี้เมื่อนำมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกไปทำแห้งด้วยระบบอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์ พบว่าไม่พบจำนวนจุลินทรีย์ (*L. plantarum* และ *L. rhamnosus*) ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ในมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกที่ความชื้น 10 เท่า

630920019 : Major FOOD TECHNOLOGY

Keyword : Mango leather Lactobacillus plantarum Lactobacillus rhamnosus Probiotic

MISS Chalita PUKBANYANG : Probiotic fortification in mango leather Thesis

advisor : Associate Professor Busarakorn Mahayothee

Probiotics help to balance microbes that are beneficial to the digestive system. As a result, the efficiency of the digestive system and absorption of nutrients will be better. Including helping with the immune system This research studied the growth curves to determine the appropriate time for incubating Gram-positive probiotic bacteria Lactobacillus plantarum and lactobacillus rhamnosus in MRS broth media. It was found that the appropriate time for incubation was L. plantarum and L. rhamnosus is a period of 16 hours which is the late-log phase. During this period the bacteria are growing and dividing most completely. Therefore, microorganisms from this stage were selected to prepare a probiotic suspension and placed in concentrated, finely blended mango pulp. and dried in a hot air tray oven at 50 and 60 °C for 12 and 8 hours, respectively. It was found that mango stir-fry supplemented with probiotics had countable numbers of live L. plantarum microorganisms. at 50 and 60 °C were 8.61 ± 0.13 and 8.80 ± 0.06 logCFU/g, respectively, and the number of live L. rhamnosus microorganisms counted at 50 °C was 3.04 ± 0.18 logCFU/g, but no L. rhamnosus at a temperature of 60 °C and by studying the influence of freeze drying. It was found that concentrated mango puree that had been freeze dried The number of live microorganisms (L. plantarum and L. rhamnosus) counted was 8.26 ± 0.12 and 8.29 ± 0.11 logCFU/g, respectively, with the remaining number of bacteria being more than 6 logCFU/g, which complies with dietary supplement product standards. Food and Drug Administration Probiotics. In addition, when mango pulp supplemented with probiotics is dried using a solar drying system, It was found that no countable number of live microorganisms (L. plantarum and L. rhamnosus) were found in mango paste supplemented with probiotics at a 10-fold dilution.

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. บุศราภรณ์ มหาโยธี ที่ให้ความรู้ คำปรึกษา คำแนะนำ และแนวทางให้การส่งเสริมในด้านการคิดวิเคราะห์ในการทำวิจัย ตลอดจนตรวจสอบเล่มวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์ และ ดูแลในหลายๆด้านจนกระทั่งงานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. ปราโมทย์ คุวิจิตรจากรู ที่ให้คำแนะนำ ความช่วยเหลือ และคำปรึกษาในเรื่องการวิเคราะห์เคราะห์ข้อมูล

ขอขอบพระคุณอาจารย์ และนักวิทยาศาสตร์ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยศิลปากรทุกท่านที่ให้คำแนะนำในการจัดทำงานวิจัยให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร ที่ให้การสนับสนุนด้านอุปกรณ์ เครื่องมือ และสถานที่

ขอขอบคุณ ดร.นิโลบล โกมลสิงห์ สำหรับคำแนะนำและความช่วยเหลือในการทำเล่มวิทยานิพนธ์ ตลอดจนการสนับสนุนต่างๆเพื่อให้งานสำเร็จลุล่วง

และสุดท้ายขอขอบพระคุณบุคคลในครอบครัว และเพื่อนร่วมงานที่ให้กำลังใจ ให้ความช่วยเหลือ และสนับสนุนในการทำงานของดิฉันเสมอมา



ชลิตา พุกบ้านยาง

2.2 มะม่วง	40
2.2.1 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมีในระหว่างการสุก	41
2.3 มะม่วงกวน	44
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	46
3.1 วัตถุประสงค์ สารเคมี เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย	46
3.1.1 สารเคมี.....	46
3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ	46
3.1.3 วัตถุประสงค์	47
3.2 วิธีการทดลอง.....	49
3.2.1 การวิเคราะห์คุณภาพเริ่มต้นของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้น	49
3.2.2 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์จากหลอดเชื้อแห้งแข็ง (Revival of Freeze-Dried Culture).....	54
3.2.3 การศึกษาลักษณะสัณฐานของแบคทีเรียโพรไบโอติก	56
3.2.4 การเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์ (Cryostock).....	57
3.2.5 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการบ่มจุลินทรีย์จากกราฟการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ <i>L. plantarum</i> และ <i>L. rhamnosus</i>	59
3.2.6 การหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำแห้ง จากการศึกษาพฤติกรรมการทำแห้งของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่เติมน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และอบแห้งด้วยตู้อบแห้งลมร้อนแบบถาดที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส	61
3.2.7 การเตรียมสารแขวนลอยโพรไบโอติก.....	63
3.2.8 ศึกษาอิทธิพลของพารามิเตอร์การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบถาด ต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ <i>L. plantarum</i> และ <i>L. rhamnosus</i> ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ในมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก	65
3.2.9 การวิเคราะห์คุณภาพเริ่มต้นของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก	68
3.2.10 ศึกษาอิทธิพลของการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ต่อและและจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติก (<i>L. plantarum</i> และ <i>L. rhamnosus</i>) ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ และคุณภาพของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง	71

3.2.11	ศึกษาอิทธิพลของวิธีการทำแห้งต่อคุณภาพของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก และจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติก (<i>L. plantarum</i> และ <i>L. rhamnosus</i>) ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้	73
3.2.12	การวิเคราะห์ทางสถิติ	75
บทที่ 4	ผลการทดลอง	76
4.1	ระยะเวลาที่เหมาะสมในการบ่มจุลินทรีย์จากกราฟการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ <i>L. plantarum</i> และ <i>L. rhamnosus</i>	76
4.2	ลักษณะสัณฐานของแบคทีเรียโพรไบโอติก	79
4.4	ระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำแห้ง จากการศึกษาพฤติกรรมการทำแห้งของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่เติมน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และอบแห้งด้วยตู้อบแห้งลมร้อนแบบถาดที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส	80
4.3	อิทธิพลของพารามิเตอร์การทำแห้ง ต่อจำนวนจุลินทรีย์ (<i>L. plantarum</i> และ <i>L. rhamnosus</i>) ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ในมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกและคุณภาพของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก	85
4.3.1	ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์	85
4.3.2	ศึกษาผลของระยะเวลาในการทำแห้งต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ <i>L. plantarum</i>	94
4.4	ศึกษาอิทธิพลของการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ต่อจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติก (<i>L. plantarum</i> และ <i>L. rhamnosus</i>) ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้และคุณภาพของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง	102
4.5	ศึกษาอิทธิพลของวิธีการทำแห้งต่อคุณภาพของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก และจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติก (<i>L. plantarum</i> และ <i>L. rhamnosus</i>) ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้	107
4.5.1	ปริมาณความชื้นและค่าวอเตอร์แอกติวิตีหลังการทำแห้ง	109
4.5.2	ลักษณะปรากฏและค่าสี	109
4.5.3	จำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติก (<i>L. plantarum</i> และ <i>L. rhamnosus</i>) ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ในมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกที่ผ่านการทำแห้ง 3 วิธี	113
บทที่ 5	สรุปผลการทดลอง	117

รายการอ้างอิง.....	118
ภาคผนวก ก.....	132
ประวัติผู้เขียน.....	134

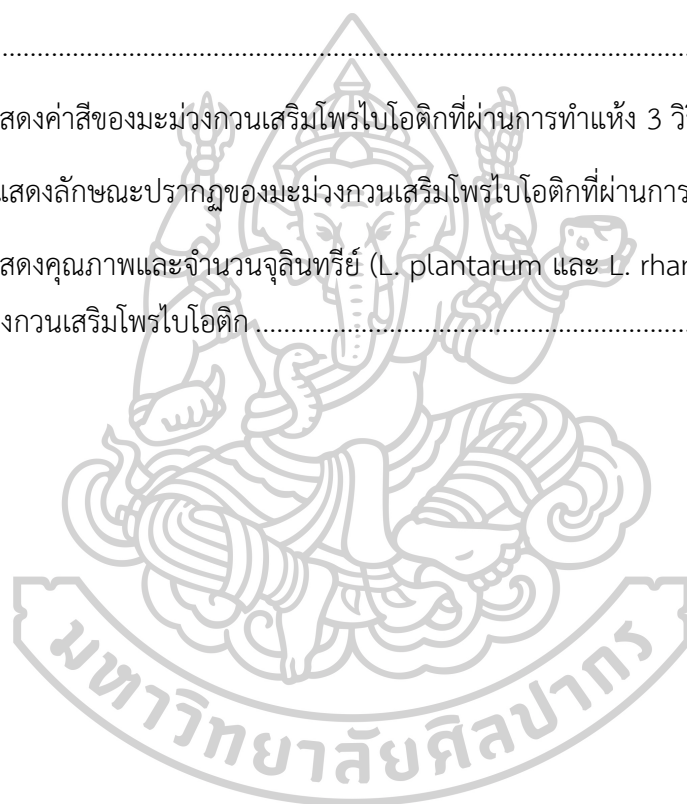


สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 1 สายพันธุ์จุลินทรีย์โพรไบโอติกตามประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.)	23
ตารางที่ 2 แสดงตัวอย่างผลิตภัณฑ์จากผลไม้ที่เสริมโพรไบโอติกในตลาด	30
ตารางที่ 3 องค์ประกอบที่พบในเนื้อมะม่วงสุก 100 กรัม	41
ตารางที่ 4 แสดงคุณภาพทางเคมีและทางกายภาพของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้น	80
ตารางที่ 5 แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่ใช้ในการทำนายพฤติกรรมการทำแห้งมะม่วงกวน	83
ตารางที่ 6 ค่าพารามิเตอร์สำหรับการทำแห้งเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่เติมน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร	85
ตารางที่ 7 คุณภาพทางเคมีและทางกายภาพของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นก่อนและเสริมโพรไบโอติก (n=2)	86
ตารางที่ 8 แสดงปริมาณความชื้น และค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก (n=2)	87
ตารางที่ 9 แสดงลักษณะปรากฏของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก	89
ตารางที่ 10 แสดงค่าสีของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก	90
ตารางที่ 11 จำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติก (<i>L. plantarum</i> และ <i>L. rhamnosus</i>) ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ในมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก (n=2)	93
ตารางที่ 12 คุณภาพทางเคมีและทางกายภาพของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นก่อนและหลังเสริมโพรไบโอติก	95
ตารางที่ 13 แสดงปริมาณความชื้น และค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก (n=2)	96
ตารางที่ 14 แสดงค่าสีของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกที่ระยะเวลาการทำแห้งต่างๆ	98
ตารางที่ 15 แสดงลักษณะปรากฏของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก	99
ตารางที่ 16 จำนวนจุลินทรีย์ (<i>L. plantarum</i>) ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ในมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก	101
ตารางที่ 17 คุณภาพทางเคมีและทางกายภาพของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นก่อนและเสริมโพรไบโอติก (n=2)	103

ตารางที่ 18 แสดงคุณภาพและจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติก (<i>L. plantarum</i> และ <i>L. rhamnosus</i>) ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ในเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (n=2).....	104
ตารางที่ 19 แสดงลักษณะปรากฏและค่าสีของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (n=2)	106
ตารางที่ 20 คุณภาพทางเคมีและทางกายภาพของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นก่อนและหลังเสริมโพรไบโอติก.....	108
ตารางที่ 21 แสดงปริมาณความชื้น และค่าวอเตอร์แอคทิวิตี้ของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก (n=1)	109
ตารางที่ 22 แสดงค่าสีของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกที่ผ่านการทำแห้ง 3 วิธี	111
ตารางที่ 23 แสดงลักษณะปรากฏของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกที่ผ่านการทำแห้ง 3 วิธี.....	112
ตารางที่ 24 แสดงคุณภาพและจำนวนจุลินทรีย์ (<i>L. plantarum</i> และ <i>L. rhamnosus</i>) ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ในมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก	114



สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ <i>B. longum</i> subsp. <i>longum</i> strains (A) ลักษณะโคโลนี; (B) สัณฐานวิทยาของการย้อมสีแกรม; (C) กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด สัณฐานวิทยาของ <i>B. longum</i> subsp. <i>longum</i> strains ที่ $\times 10.0$ K.....	24
ภาพที่ 2 ลักษณะโครงสร้างของเชื้อ <i>Lactobacillus plantarum</i> ที่ถ่ายด้วยกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electromicroscopy, SEM).....	25
ภาพที่ 3 ลักษณะโครงสร้างของเชื้อ <i>Lactobacillus plantarum</i> ที่ถ่ายด้วยกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electromicroscopy, SEM).....	26
ภาพที่ 4 ปริมาณการคงอยู่ของ <i>L.rhamnosus</i> หลังจากแช่ในสารละลายออสโมติกของซูโครส 50% (w/w) เป็นเวลา 30, 120, 210 และ 300 นาที ที่ 35 °C.....	34
ภาพที่ 5 ปริมาณการคงอยู่ของ <i>L.rhamnosus</i> ในกล้วยที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่เก็บรักษาเป็นเวลา 42 วันและ 25 °C ที่กิจกรรมทางน้ำต่างๆ เส้นแนวนอนระบุจำนวนจุลินทรีย์ขั้นต่ำผลิตภัณฑ์ที่เสริมของโพรไบโอติก ซึ่งมีค่า 10^6 – 10^7 CFU/g db.....	34
ภาพที่ 6 แสดงการเปลี่ยนแปลง (log CFU/g) ของ <i>L. paracasei</i> ของชิ้นแอปเปิลที่การเก็บรักษา 28 วัน.....	36
ภาพที่ 7 แสดงผลของการเก็บรักษาต่อปริมาณการคงอยู่ของโพรไบโอติก <i>L. plantarum</i>	37
ภาพที่ 8 แสดงเซลล์ <i>L. casei</i> ที่มีชีวิตที่เวลาต่างๆในระหว่างการทำแห้งที่อุณหภูมิต่างกันโดยการทำให้แห้งแบบ conventional (a) และ แบบร่วมกับอัลตราซาวด์ (b).....	38
ภาพที่ 9 แสดงการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการมีชีวิตของ <i>B.coagulans</i> ในการแปรรูปและการเก็บรักษาสตอเบอรี่ผ่าครึ่ง	39
ภาพที่ 10 ปริมาณ <i>L.casei</i> เมื่อเก็บรักษา 28 วัน.....	40
ภาพที่ 11 สูตรโครงสร้างของ β -carotene.....	43
ภาพที่ 12 ผลิตภัณฑ์มะม่วงกวนที่วางขายในตลาด.....	45
ภาพที่ 13 แสดงขั้นตอนกระบวนการบรรจุและขนส่งเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดจากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนสตรีแปรรูปผลไม้ ในหัวข้อ 3.2.6, 3.2.8 และ 3.2.10.....	48

ภาพที่ 14 แสดงขั้นตอนกระบวนการบรรจุและขนส่งเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดจากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนสตรีแปรรูปผลไม้ สำหรับศึกษาในหัวข้อ 3.2.11.....	49
ภาพที่ 15 หลอดบรรจุผงเชื้อจุลินทรีย์ <i>L. plantarum</i> และ <i>L. rhamnosus</i> จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย	49
ภาพที่ 16 ขั้นตอนและอุปกรณ์การวัดสี	50
ภาพที่ 17 อุปกรณ์ที่ใช้ในการถ่ายภาพลักษณะปรากฏ	50
ภาพที่ 18 การเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์ปริมาณความชื้น.....	51
ภาพที่ 19 ขั้นตอนการวิเคราะห์หาค่าวอเตอร์แอกติวิตี	52
ภาพที่ 20 กระบวนการเตรียมเชื้อ <i>L. plantarum</i> และ <i>L. rhamnosus</i>	54
ภาพที่ 21 แสดงวิธีการเพาะจุลินทรีย์จากหลอดเชื้อแห้งแข็ง (Revival of Freeze-Dried Culture)	56
ภาพที่ 22 แสดงวิธีการย้อมแกรมแบคทีเรียโพโรไปโอติก.....	57
ภาพที่ 23 แสดงขั้นตอนการเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์	58
ภาพที่ 24 แสดงขั้นตอนการวัดการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์	60
ภาพที่ 25 แสดงขั้นตอนการหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำแห้งมะม่วงกวนที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส	62
ภาพที่ 26 แสดงขั้นตอนการเตรียมสารแขวนลอยโพโรไปโอติก.....	64
ภาพที่ 27 แสดงขั้นตอนการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์.....	66
ภาพที่ 28 แสดงขั้นตอนการศึกษาผลของระยะเวลาในการทำแห้งต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ <i>L. plantarum</i>	67
ภาพที่ 29 ขั้นตอนและอุปกรณ์การวัดสี	68
ภาพที่ 30 ขั้นตอนการวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์โพโรไปโอติก	70
ภาพที่ 31 แสดงขั้นตอนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นเสริมโพโรไปโอติก.....	72

ภาพที่ 32 แสดงขั้นตอนการทำแห้งมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกด้วยระบบอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์.....	74
ภาพที่ 33 กราฟการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ <i>L. plantarum</i> และ <i>L. rhamnosus</i> ใน MRS broth ที่ป่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส.....	78
ภาพที่ 34 ลักษณะของจุลินทรีย์โพรไบโอติก ก) ลักษณะโคโลนี <i>L. plantarum</i> TISTR 543 ข) ลักษณะโคโลนี <i>L. rhamnosus</i> TISTR 2443 ค) รูปร่างลักษณะของ <i>L. plantarum</i> TISTR 543 และ ง) รูปร่างลักษณะของ <i>L. rhamnosus</i> TISTR 2443 เมื่อย้อมด้วยสีแกรมและตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยาย 100 เท่า.....	79
ภาพที่ 35 พฤติกรรมการทำแห้งของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่เติมน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และอบแห้งด้วยตู้อบแห้งลมร้อนแบบถาดที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส.....	81
ภาพที่ 36 พฤติกรรมการทำแห้งของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่เติมน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ต่อจลนพลศาสตร์การทำแห้ง.....	84
ภาพที่ 37 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนโพรไบโอติกคงเหลือและวิธีการในการทำแห้ง . 105	
ภาพที่ 38 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า ΔE และวิธีการในการทำแห้ง.....	107
ภาพที่ 39 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์กับเวลา.....	115
ภาพที่ 40 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเร็วลมและความชื้นสัมพัทธ์กับเวลา.....	115

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โพรไบโอติก (probiotic) เป็นจุลินทรีย์ชนิดดีที่มีชีวิต การรับประทานผลิตภัณฑ์เสริมโพรไบโอติกเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่มีส่วนช่วยในการปรับสมดุลจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อระบบทางเดินอาหาร ทั้งเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยและดูดซึมสารอาหารให้ดีขึ้น (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2563) การเติมจุลินทรีย์โพรไบโอติกเข้าไปในอาหารช่วยให้อาหารมีความปลอดภัยจากจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen) โดยจุลินทรีย์โพรไบโอติกจะผลิตกรด ทำให้อาหารมีค่าพีเอช (pH) ลดจนเกิดสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรค จุลินทรีย์โพรไบโอติกยังสามารถผลิตสารออกฤทธิ์ที่มีคุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์ก่อโรคแต่ไม่ส่งผลเสียต่อสุขภาพของมนุษย์ ได้แก่ แบคทีริโอซิน (bacteriocins) รูเทอริน (reuterin) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) เป็นต้น (Islam และคณะ, 2023) นอกจากนี้การรับประทานอาหารที่มีจุลินทรีย์โพรไบโอติกยังช่วยส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกัน เนื่องจากส่วนประกอบของเซลล์ เช่น เพพทิโดไกลแคน (peptidoglycan) ในผนังเซลล์ เยื่อหุ้มเซลล์ หรือส่วนที่เป็นลิโปโพลีแซคคาไรด์ (lipopolysaccharide) และโปรตีน ซึ่งสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดการตอบสนองของภูมิคุ้มกันได้ดีขึ้น (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2563) ผลิตภัณฑ์เสริมโพรไบโอติกที่มีจำหน่ายในท้องตลาดส่วนใหญ่เป็นผลิตภัณฑ์นม (dairy product) ได้แก่ โยเกิร์ต นมเปรี้ยว ซีสบางชนิด ไอศกรีม เป็นต้น อาหารหมักดอง ได้แก่ กิมจิ นัตโตะ มิโซะ อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์เหล่านี้อาจไม่เหมาะกับกลุ่มผู้บริโภคที่มีอาการแพ้แลคโตสในนม และผู้ที่ไม่ชอบอาหารหมักดอง จึงมีการการพัฒนาผลิตภัณฑ์เสริมโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์อื่น ๆ มากขึ้น เช่น น้ำผลไม้ ผลไม้อบแห้ง ขนมปัง (Aspri และคณะ, 2020)

จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการเป็นโพรไบโอติก ได้แก่ แบคทีเรียสายพันธุ์ *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, และ *Bacillus* (Markowiak และ Slizewska, 2017; Sanders และคณะ, 2018; Zommiti และคณะ, 2020) ยีสต์บางสายพันธุ์ที่อยู่ในสกุล *Saccharomyces* เช่น *S. cerevisiae* var *boulardii* เป็นต้น (Cosme และคณะ, 2022; Lazo-Vélez และคณะ, 2018) ซึ่งการเลือกใช้โพรไบโอติกขึ้นอยู่กับความเหมาะสมของสภาวะและสารอาหารที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต ได้แก่ อุณหภูมิ ค่าพีเอช ค่าออกซิเจน แอคติวิตี และปริมาณออกซิเจน เป็นต้น (Corsetti และ Valmorri, 2011; Fu และ Mathews, 1999)

มะม่วงกวนเป็นผลิตภัณฑ์อบแห้งที่นิยมบริโภคในประเทศไทย หาซื้อได้ง่ายตามท้องตลาด มีรสชาติหวาน มะม่วงกวนสามารถเก็บได้นานและยังเป็นการลดปัญหาผลผลิตล้นตลาด และช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับมะม่วงสุก จากการสำรวจของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตรในปีพ.ศ. 2566 พบว่ามีผลผลิตมะม่วงถึง 139,290.10 ตัน การผลิตมะม่วงกวนทำโดยการนำเนื้อมะม่วงสุกมาปั่นละเอียด และทำให้เข้มข้นขึ้นโดยการกวนเพื่อลดปริมาณน้ำ แล้วทำแห้งด้วยการตากแดด (sun drying) หรือใช้ระบบอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์ (solar drying) ดังนั้นการเสริมโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์มะม่วงกวนจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะสร้างความแตกต่าง เพิ่มมูลค่า เพิ่มคุณค่าทางโภชนาการเป็นอีกทางเลือกหนึ่งให้กับผู้บริโภค (Kuria และคณะ, 2021)

โดยทั่วไปผลไม้ไม่มีค่าพีเอช ต่ำ และมีกรดอินทรีย์สูงซึ่งมีฤทธิ์ต้านจุลชีพส่งผลต่อความสามารถในการดำรงชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติก (Champagne และคณะ, 2008; Sheehan และคณะ, 2007) จากการศึกษาการเสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติก *L. plantarum* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth และปรับพีเอชเป็น 4, 5, 6, 7 และ 8 พบว่าสภาวะที่ *L. plantarum* มีอัตราการเจริญเติบโตได้สูงที่สุดคือที่พีเอช 6 (Giraud และคณะ, 1991) นอกจากนี้ได้มีการศึกษาการปรับพีเอชด้วยกรดซิตริก ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ที่พีเอช 3-6 พบว่า *L. plantarum* NCIMB 8826 มีอัตราการรอดชีวิตในน้ำแครนเบอร์รี่ที่พีเอช 2.7 และน้ำทับทิม ที่พีเอช 3.5 (Mizzi และคณะ, 2020)

อย่างไรก็ตามเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่ใช้ในการผลิตมะม่วงกวนมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 4.1-5.4 (Islam และคณะ, 2013) และมีปริมาณน้ำตาลประมาณ 30 องศาบริกซ์ ซึ่งอาจส่งผลต่อการคงอยู่ของโพรไบโอติก โดยปริมาณน้ำตาลสูงทำให้สภาพภายนอกเซลล์แบคทีเรียแกรมบวกมีความเข้มข้นสูงกว่าภายในเซลล์ ทำให้เกิดความเครียดจากการออสโมติก (osmotic stress) และเกิดการสะสมตัวละลายภายในเซลล์เพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำออกจากเซลล์ จนทำให้เกิดสมดุลออสโมลาติตีภายนอกและคงความ turgor ของเซลล์ไว้ (H. M. Jayaprakasha และคณะ, 1997) ทำให้อัตราการเติบโตลดลง (Rojas และ Huang, 2018) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงทำการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการบ่มจุลินทรีย์จากกราฟการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์โพรไบโอติก ศึกษาอิทธิพลของพารามิเตอร์การทำแห้ง และอิทธิพลของการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ต่อจำนวนคงเหลือของจุลินทรีย์ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* และคุณภาพของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการบ่มจุลินทรีย์จากกราฟการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus*

1.2.2 เพื่อศึกษาอิทธิพลของพารามิเตอร์การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบถาด ต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ ในมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก

1.2.3 เพื่อศึกษาอิทธิพลของการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ต่อคุณภาพของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก และจำนวนจุลินทรีย์ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้

1.2.4 ศึกษาอิทธิพลของการทำแห้งด้วยลมร้อน (ตู้อบลมร้อนแบบถาด ระบบอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์แบบพาราโบลาโดม และการตากแดด) ต่อคุณภาพของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก และจำนวนจุลินทรีย์ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้

1.3 สมมติฐานของการศึกษา

วิธีการทำแห้งอาจจะส่งผลต่อจำนวนคงเหลือของจุลินทรีย์ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* เนื่องจากอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญของ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* อยู่ในช่วง 15-45 องศาเซลเซียส (Corsetti และ Valmorri, 2011; Fu และ Mathews, 1999; G-Alegria และคณะ, 2004; Giraud และคณะ, 1991; Machielsen และคณะ, 2010) ซึ่งอุณหภูมิที่ใช้ในการทำแห้งด้วยความร้อนมีค่าสูงกว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการของจุลินทรีย์ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* จึงอาจจะส่งผลให้เชื้อจุลินทรีย์ไม่สามารถทนต่อความร้อนและมีจำนวนจุลินทรีย์ลดลง (Niro และคณะ, 2022) แต่การใช้การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งจะสามารถรักษาปริมาณคงเหลือของจุลินทรีย์โพรไบโอติกได้มากกว่า

1.4 ขอบเขตของการศึกษา

1.4.1 เชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ศึกษา คือ *Lactobacillus plantarum* TISTR 543 และ *Lactobacillus rhamnosus* TISTR 2443 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ซึ่งเชื้อที่ใช้เป็นแบคทีเรียกรดแลคติก และนำมาเตรียมเป็นหัวเชื้อเริ่มต้น (stock culture หรือ Cryostock) โดยการผสมเชื้อจุลินทรีย์กับกลีเซอรอลในหลอดไมโครทิวป์ และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส ซึ่งมีจำนวนเชื้อเริ่มต้นมากกว่า 10^9 CFU/g จากนั้นนำมาเตรียมเป็นสารแขวนลอยโพรไบโอติกโดยต้องมีจำนวนเชื้อเริ่มต้นมากกว่า 10^{11} CFU/g

1.4.2 วัตถุดิบที่ใช้ในการศึกษาในหัวข้อที่ 1.2.1 ถึง 1.2.3 คือ เนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่มีการเติมน้ำตาลทรายและกรดซิตริกจากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนสตรีแปรรูปผลไม้ อ.บางคล้า จ. ฉะเชิงเทรา ประเทศไทย ที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) เท่ากับ 31.1 ± 0.6 °Brix และมี pH 4.10 ± 0.03 ทำการบรรจุลงในถุงซิลิโคนสุญญากาศไนลอน ขนาด 20 เซนติเมตร x 25

เซนติเมตร น้ำหนักถูละ 1.0 กิโลกรัม จำนวน 60 ถู ขนส่งมายังห้องปฏิบัติการโดยบรรจุลงในกล่อง โฟม กล่องละ 20 ถู รักษาอุณหภูมิให้เย็นตลอดระยะเวลาการขนส่งที่อุณหภูมิกึ่งกลางกล่องโฟม เท่ากับ 12.6-13.6 องศาเซลเซียส ด้วยน้ำแข็งจำนวน 1 กระสอบต่อกล่อง ใช้ระยะเวลาการขนส่ง 4 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเก็บรักษาในตู้แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาทำการทดลอง

1.4.3 วัตถุประสงค์ที่ใช้ในการศึกษาในหัวข้อที่ 1.2.4 คือ เนื่อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่ไม่มีการเติมน้ำตาลทรายและกรดซิตริกจากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนสตรีแปรรูปผลไม้ อ.บางคล้า จ.ฉะเชิงเทรา ประเทศไทย ที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) เท่ากับ $28.1 \pm 0.18^{\circ}\text{Brix}$ และมี pH 5.29 ± 0.03 ทำการบรรจุลงในถุงซิลิโคนสุญญากาศในลอน ขนาด 20 เซนติเมตร x 25 เซนติเมตร น้ำหนักถูละ 250 กรัม จำนวน 96 ถู ขนส่งมายังห้องปฏิบัติการโดยบรรจุลงในกล่องโฟม กล่องละ 20 ถู รักษาอุณหภูมิให้เย็นตลอดระยะเวลาการขนส่งที่อุณหภูมิกึ่งกลางกล่องโฟมเท่ากับ 12.6-13.6 องศาเซลเซียส ด้วยน้ำแข็งแห้งจำนวน 4 กิโลกรัมต่อกล่อง ใช้ระยะเวลาการขนส่ง 4 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเก็บรักษาในตู้แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาทำการทดลอง

1.4.4 อุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองจะต้องมีการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ก่อนการทดลอง โดยอุปกรณ์ที่เป็นเครื่องแก้ว โลหะ และวัสดุที่ไม่มียางเป็นส่วนประกอบ จะใส่ในกล่องหรือห่ออะลูมิเนียมฟอยด์ ก่อนนำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ส่วนอุปกรณ์ที่มียางเป็นส่วนประกอบ อาหารเลี้ยงเชื้อ และเครื่องมือต่าง ๆ จะนำมาฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัตโนมัติ (autoclave) ภายใต้อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 1.1 kg/cm^2 เป็นเวลา 15 นาที และขณะทำการทดลองจะต้องมีการฆ่าเชื้อบริเวณที่ใช้การทดลองด้วยแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 70 และผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหลอดไฟยูวีในตู้ปลอดเชื้อ

1.4.5 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการบ่มจุลินทรีย์จากกราฟการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สุ่มตัวอย่างทุก ๆ 4 ชั่วโมง จนครบ 36 ชั่วโมง ทำการวิเคราะห์จำนวน 2 ซ้ำ

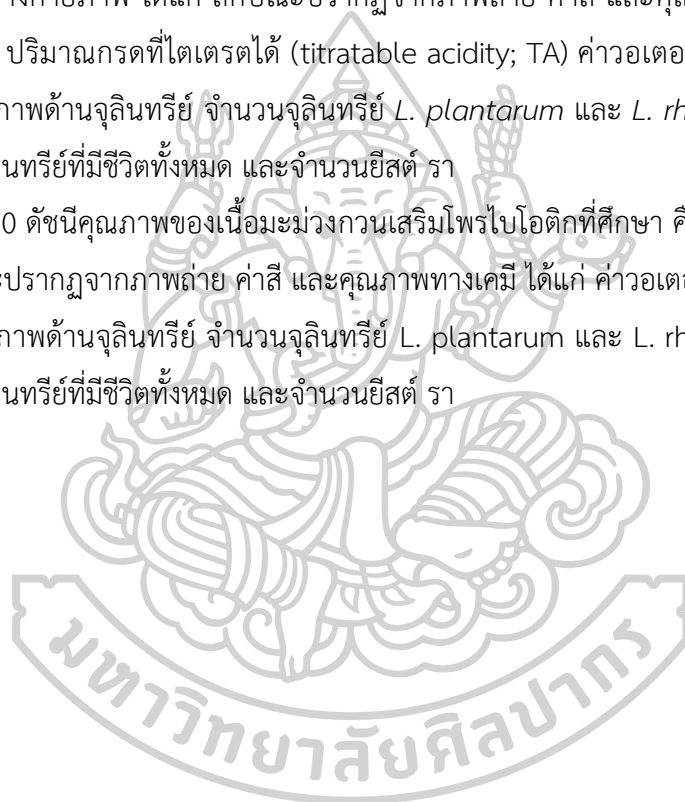
1.4.6 ศึกษาอิทธิพลของพารามิเตอร์การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบถาด ต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ ในมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก ต้องทำการหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำแห้ง จากการศึกษาพฤติกรรมการทำแห้งของเนื่อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่เติมน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบถาดที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส จนกระทั่งผลิตภัณฑ์มีค่าวอเตอร์แอกติวิตี (water activity; a_w) เท่ากับ 0.55 และปริมาณความชื้น (moisture content) ร้อยละ 25 ทำการวิเคราะห์จำนวน 2 ซ้ำ

1.4.7 ศึกษาอิทธิพลของการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ต่อคุณภาพของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก และจำนวนจุลินทรีย์ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ ทำการวิเคราะห์จำนวน 2 ซ้ำ

1.4.8 ศึกษาอิทธิพลของการทำแห้งด้วยลมร้อน (ตู้อบลมร้อนแบบถาด ระบบอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์แบบพาราโบลาโดม และการตากแดด) ต่อคุณภาพของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก และจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้

1.4.9 ดัชนีคุณภาพของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นก่อนและหลังเสริมโพรไบโอติกที่ศึกษา คือ คุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ ลักษณะปรากฏจากภาพถ่าย ค่าสี และคุณภาพทางเคมี ได้แก่ ค่า TSS ค่าพีเอช ปริมาณกรดที่ไตเตรตได้ (titratable acidity; TA) ค่าวอเตอร์แอกติวิตี และปริมาณความชื้น คุณภาพด้านจุลินทรีย์ จำนวนจุลินทรีย์ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* ที่มีชีวิตอยู่ที่นับ จำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด และจำนวนยีสต์ รา

1.4.10 ดัชนีคุณภาพของเนื้อมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกที่ศึกษา คือ คุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ ลักษณะปรากฏจากภาพถ่าย ค่าสี และคุณภาพทางเคมี ได้แก่ ค่าวอเตอร์แอกติวิตี และปริมาณความชื้น คุณภาพด้านจุลินทรีย์ จำนวนจุลินทรีย์ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* ที่มีชีวิตอยู่ที่นับ จำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด และจำนวนยีสต์ รา



บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 โพรไบโอติก

นิยามของจุลินทรีย์โพรไบโอติกคือเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพโดยทั่วไปจะต้องเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิต ไม่เป็นจุลินทรีย์ก่อโรคและก่อให้เกิดประโยชน์ต่อร่างกายของมนุษย์ซึ่งจะต้องได้รับในปริมาณที่เหมาะสม (FAO/WHO, 2006) นอกจากนี้โพรไบโอติกยังหมายถึง สารอาหารที่ไม่มีชีวิตไม่ถูกย่อยในกระเพาะอาหารเมื่อรับประทานเข้าไป แต่จะไปช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตหรือการทำงานของแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย และมีบทบาทช่วยในการปรับสมดุลของลำไส้และเสริมภูมิคุ้มกันในระบบทางเดินอาหาร มีความทนทานต่อกรดและด่าง ทำให้ลำไส้แข็งแรง เมื่ออยู่ที่บริเวณผิวของเยื่อลำไส้ จะสามารถผลิตสารต่อต้านหรือกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ดีได้ ทำให้มีการนำกลุ่มจุลินทรีย์โพรไบโอติก ไปเสริมลงในผลิตภัณฑ์อาหารฟังก์ชัน (functional food products) สำหรับคนและสัตว์ ตลอดจนมีการผลิตออกจำหน่ายในรูปแบบผงเชื้อแห้งเพื่อขงดื่มหรือเสริมในผลิตภัณฑ์ต่างๆ และเนื่องจากผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกถือเป็นนวัตกรรมอาหารเพื่อสุขภาพ เป็นอุตสาหกรรมอาหารแห่งอนาคตที่ได้รับความนิยมทั่วโลก (กัญญาภัก, 2566) การนำโพรไบโอติกไปเป็นส่วนประกอบหลักของผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่มจึงมีการเติบโตเพิ่มขึ้นทุกปี โดยที่ขนาดของตลาดโพรไบโอติกทั่วโลกสูงถึง 59.1 พันล้านดอลลาร์สหรัฐในปีพ.ศ. 2565 และคาดว่าจะขนาดตลาดจะสูงถึง 92.7 พันล้านดอลลาร์สหรัฐภายในปี พ.ศ. 2571 โดยมีอัตราการเติบโต (CAGR) ร้อยละ 7.4 ในช่วงปี พ.ศ. 2566-2571 (Imarc, 2023) ในขณะที่ตลาดโพรไบโอติกของประเทศไทยคาดว่าจะมีอัตราการเติบโตเฉลี่ยต่อปีที่ร้อยละ 11.18 โดยจะเติบโตเป็น 308.973 ล้านดอลลาร์สหรัฐฯ ภายในปี พ.ศ. 2571 จาก 147.183 ล้านดอลลาร์สหรัฐฯ ในปี พ.ศ. 2564 (Nowledgesourcingintelligence, 2023) ซึ่งจุลินทรีย์โพรไบโอติกในร่างกายมีอยู่หลากหลายประเภทและส่งผลดีต่อร่างกายแตกต่างกันไป โดยการใช้โพรไบโอติกเป็นส่วนผสมในอาหาร ต้องได้รับการอนุญาตจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.) ตามหลักเกณฑ์วิธีการและเงื่อนไขที่กำหนด

ผลิตภัณฑ์ที่เสริมโพรไบโอติกจะต้องมีจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ยังมีชีวิตอยู่ คงเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์ไม่น้อยกว่า 10^6 CFU/g ตลอดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2556) ซึ่งสอดคล้องกับ WHO (2001) ที่แนะนำให้มีการบริโภคอาหารที่มีโพรไบโอติกระหว่าง 10^6 - 10^8 CFU/g ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมโพรไบโอติก เช่น โยเกิร์ต นมเปรี้ยว ผักดอง ผลไม้ดอง ขนมปัง ไส้กรอกเปรี้ยว อาหารธัญพืช อาหารเสริม และอาหารหมักต่างๆ

จากรายงานของกรมการปกครอง กระทรวงมหาดไทย (2566) พบว่ามีประชากรผู้สูงอายุในประเทศไทยมีจำนวนมากขึ้นเป็นร้อยละ 20.08 ของจำนวนประชากรทั้งหมด ซึ่งผู้สูงอายุและบุคคลทั่วไปมักมีปัญหาในเรื่องของระบบทางเดินอาหาร การเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ในลำไส้ของผู้สูงอายุ อาจเกิดจากภาวะสุขภาพโดยรวมลดลง แต่ภาวะทุพโภชนาการ และความต้องการยาที่เพิ่มขึ้น เช่น ยาปฏิชีวนะ และยาแก้ปวดที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ (NSAIDs) (Dethlefsen และคณะ, 2008) ซึ่งส่งผลเสียต่อร่างกาย เช่น ประสิทธิภาพของระบบภูมิคุ้มกันลดลง และโอกาสการติดเชื้อในทางเดินอาหารสูงขึ้น ซึ่งจะพบได้บ่อยในผู้สูงอายุมากกว่าในวัยหนุ่มสาว (Lovat, 1996) ดังนั้นการรับประทานผลิตภัณฑ์ที่เสริมโพรไบโอติกจึงมีความสำคัญในการปรับสมดุลจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในระบบทางเดินอาหาร เพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยและดูดซึมสารอาหารได้ดีขึ้น รวมถึงช่วยในเรื่องของระบบภูมิคุ้มกัน

การวิจัยพบว่าปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อการอยู่รอดของโพรไบโอติกในน้ำผลไม้ ได้แก่ พีเอช ระดับของกรดอินทรีย์ โยอาหาร โพรตีน ฟีนอลทั้งหมด และออกซิเจน (Champagne และคณะ, 2008; Garcia และคณะ, 2016; Nualkaekul และคณะ, 2013; Shah, 2011) ปริมาณเส้นใยอาหาร และโพรตีนสูงแสดงให้เห็นว่าเอื้ออำนวยต่อการอยู่รอดของโพรไบโอติกในระหว่างการเก็บรักษาในตู้เย็นในน้ำผลไม้ เช่น ส้ม แอปเปิ้ล เกรฟฟรุต แบล็คเคอแรนท์ สับปะรด และมะนาว

2.1.1 ชนิดของจุลินทรีย์โพรไบโอติก

จุลินทรีย์ที่นิยมนำมาใช้เป็นโพรไบโอติกมากที่สุด คือ สายพันธุ์ *Bifidobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, และ *Bacillus* (Markowiak และ Slizewska, 2017; Sanders และคณะ, 2018; Zommiti และคณะ, 2020) และยีสต์บางสายพันธุ์ที่อยู่ในสกุล *Saccharomyces* คือ *S. cerevisiae* var *bouardii* (Cosme และคณะ, 2022; Lazo-Vélez และคณะ, 2018) นอกจากนี้ *Bifidobacterium* และ *Lactobacillus* เป็นโพรไบโอติกที่พบบ่อยซึ่งส่งผลดีต่อระบบประสาทส่วนกลาง โดยรายชื่อสายพันธุ์จุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ได้รับการรับรองในประเทศไทย อ้างอิงจากประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 346) พ.ศ.2555 เรื่องการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหาร (ฉบับที่ 2) แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สายพันธุ์จุลินทรีย์โพรไบโอติกตามประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา (อย.)

<i>Bacillus coagulans</i>	<i>Lactobacillus crispatus</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Lactobacillus gasseri</i>
<i>Bifidobacterium animalis</i>	<i>Lactobacillus johnsonii</i>
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Lactobacillus paracasei</i>
<i>Bifidobacterium breve</i>	<i>Lactobacillus reuteri</i>
<i>Bifidobacterium infantis</i>	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>
<i>Bifidobacterium lactis</i>	<i>Lactobacillus salivarius</i>
<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Lactobacillus zeae</i>
<i>Bifidobacterium pseudolongum</i>	<i>Propionibacterium arabinosum</i>
<i>Enterococcus durans</i>	<i>Staphylococcus sciuri</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae subsp. boulardii</i>
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactobacillus plantarum strain 299V</i>

ที่มา : http://food.fda.moph.go.th/law/data/announ_fda/61_Probiotic_Bacteria.pdf

เข้าถึงเมื่อ 28 พฤศจิกายน 2566

2.1.2 แบคทีเรียโพรไบโอติกที่ผลิตกรดแลคติก

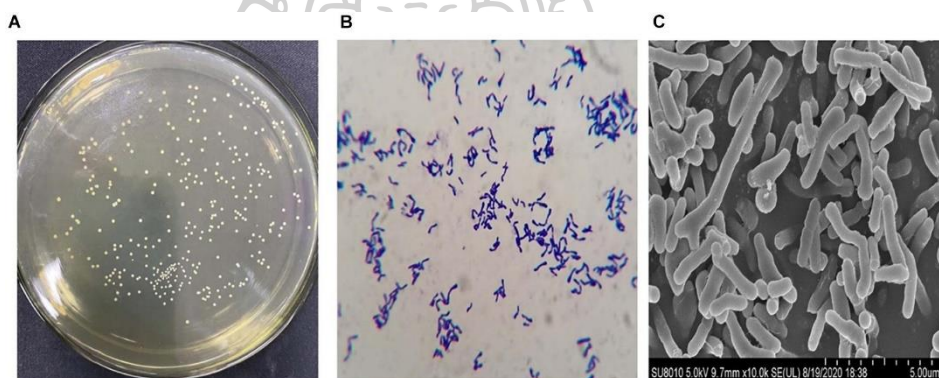
แบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการเป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติกส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก (Lactic acid bacteria) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่เคลื่อนที่ (non-motile) ไม่สร้างสปอร์ (non-spore forming) ไม่สร้างเอนไซม์แคตาเลส (catalase negative) ลักษณะทางสัณฐานวิทยา คือมีรูปร่างแท่งและกลม การจัดเรียงกลุ่มในแบคทีเรียแลคติกจะขึ้นอยู่กับรูปร่าง รูปแบบการหมัก น้ำตาลกลูโคส การใช้น้ำตาลชนิดต่าง ๆ และการเจริญเติบโตที่อุณหภูมิต่าง ๆ แบคทีเรียกรดแลคติกสามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีความเข้มข้นเกลือสูง และทนต่อกรดหรือด่าง ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้จะเจริญในสภาวะที่ไม่มีอากาศ แต่ในสภาวะที่มีอากาศแบคทีเรียกลุ่มนี้ก็ยังไม่ตาย

แบคทีเรียกรดแลคติกจะผลิตกรดแลคติกซึ่งเป็นกรดอินทรีย์ที่ได้จากกระบวนการหมักน้ำตาลเฮกโซสแบบ homofermentation และได้กรดอะซิติก เอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์เพิ่มเติมจากการหมักแบบ heterofermentation ซึ่งการเกิดกรดอินทรีย์จะส่งผลต่อการลดลงของค่าพีเอช ทำให้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ (Lindgren และ Dobrogosz, 1990) นอกจากกรดอินทรีย์แล้วยังสามารถผลิตสารยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่น ได้แก่ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ไดอะซีติล

คาร์บอนไดออกไซด์ และแบคทีเรียโอซิน แบคทีเรียกรดแลคติกที่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร ได้แก่ แบคทีเรียในกลุ่มบิฟิโดแบคทีเรีย *L. plantarum* และ *L. rhamnosus*

2.1.2.1 กลุ่มบิฟิโดแบคทีเรีย (bifidobacterium)

บิฟิโดแบคทีเรีย ลักษณะเป็นรูปแท่งคล้ายตัวอักษรวาย (bifid rod) ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ ย้อมติดสีแกรมบวก ส่วนใหญ่ไม่ใช้ออกซิเจนในการเจริญ สามารถหมักน้ำตาลกลูโคสได้กรดซิตริก และกรดแลคติก แต่ไม่ผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Lee และคณะ, 2001) และพบในมนุษย์จำนวน 9 สปีชีส์ ได้แก่ *B. adolescentis*, *B. angulatum*, *B. breve*, *B. bifidum*, *B. catenulatum*, *B. dentium*, *B. bifidum*, *B. bifidum*, *B. pseudolongum*, และ *B. pseudocatenulatum* (Germond และคณะ, 2002)



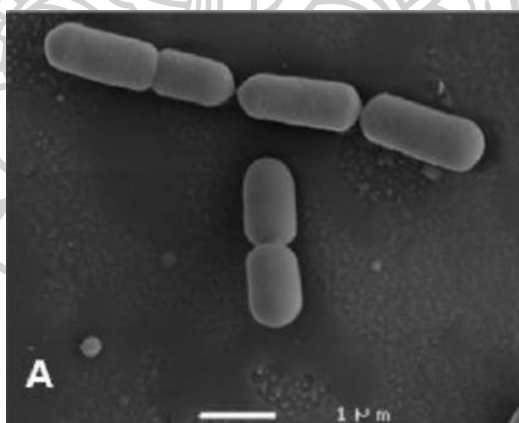
ภาพที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *B. longum* subsp. *longum* strains (A) ลักษณะโคโลนี; (B) สัณฐานวิทยาของการย้อมสีแกรม; (C) กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด สัณฐานวิทยาของ *B. longum* subsp. *longum* strains ที่ $\times 10.0$ K ที่มา: Zhao และคณะ (2021)

2.1.2.2 *Lactobacillus plantarum*

Lactobacillus plantarum เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (gram-positive) ไม่สร้างสปอร์ (non-spore forming) ไม่เคลื่อนที่ (non-motile) มีรูปร่างแบบแท่งตรงที่มีปลายมน ขนาด $0.9-1.2 \times 3.0-8.0$ ไมโครเมตร เกิดขึ้นในลักษณะเดี่ยวๆ เป็นคู่ หรือเป็นโซ่สั้น (short chains) พบได้ในทางเดินอาหารของมนุษย์ และอาหารหมักดอง (Corsetti และ Valmorri, 2011; Dalcanton และคณะ, 2018; Matejčeková และคณะ, 2016)

L. plantarum เป็นจุลินทรีย์สายพันธุ์หนึ่งใน Lactic acid bacteria (LAB) แบบ heterofermentative ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่หมักคาร์โบไฮเดรต เช่น น้ำตาลกลูโคส เปลี่ยนเป็นกรดแลคติก ประมาณร้อยละ 50 นอกนั้นเป็นกรดอะซิติก เอทานอล คาร์บอนไดออกไซด์ (Stevens และคณะ, 2008) นอกจากนี้ยังเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่เรียกว่า ไมโครแอโรไฟล์ (microaerophile) ซึ่งเมแทบอลิซึมสารอาหารด้วยกระบวนการหมัก (fermentation) ในสภาวะที่มีอากาศเพียงเล็กน้อย และยังเป็น mesophilic bacteria ที่ชอบอุณหภูมิปานกลาง อุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญ (optimum temperature) อยู่ในช่วง 15-45 องศาเซลเซียส ซึ่งไม่พบการเจริญเติบโตที่อุณหภูมิสูงกว่า 45 องศาเซลเซียส และค่าพีเอชที่จุลินทรีย์สามารถเจริญเติบโตได้อยู่ในช่วง 4.0-8.0 แต่อัตราการเจริญเติบโตจะน้อยกว่าที่พีเอช 6 (Corsetti และ Valmorri, 2011; Fu และ Mathews, 1999; G-Alegría และคณะ, 2004; Giraud และคณะ, 1991; Machielsen และคณะ, 2010) เนื่องจากค่าพีเอชที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเซลล์จุลินทรีย์คือ 5.5-6.5 (Giraud และคณะ, 1991; Śliżewska และ Chlebicz-Wójcik, 2020)

ผลิตภัณฑ์ที่ได้จาก *L. plantarum* ในการหมักในสภาวะที่ไม่มีอากาศทำให้เกิดเอทานอลขึ้น ซึ่งเป็นสารที่ช่วยยับยั้งจุลินทรีย์ นอกจากนี้ยังเกิด diacetyl หรือ 2,3-butanediol จากการย่อยสารอาหารจาก *L. plantarum* ซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ แต่เป็นสารที่ให้กลิ่นในผลิตภัณฑ์นมหมัก ทำให้มีกลิ่นรบกวน (Corsetti และ Valmorri, 2011)



ภาพที่ 2 ลักษณะโครงสร้างของเชื้อ *Lactobacillus plantarum* ที่ถ่ายด้วยกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electromicroscopy, SEM)

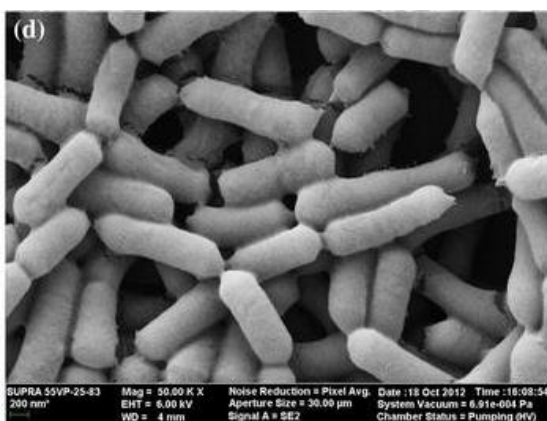
ที่มา : van Bokhorst-van de Veen และคณะ (2011)

2.1.2.3 *Lactobacillus rhamnosus*

Lactobacillus rhamnosus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (gram-positive) ไม่สร้างสปอร์ (non-spore forming) ไม่เคลื่อนที่ (non-motile) มีรูปร่างเป็นท่อนเดี่ยว หรือโซ่สั้นๆ ขนาดของ

เซลล์มีความกว้าง 0.8-1.0 ไมโครเมตร ความยาว 2.0-4.0 ไมโครเมตร สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีหรือไม่มีออกซิเจน (facultatively anaerobic) (Valík และคณะ, 2008)

L. rhamnosus เป็นจุลินทรีย์สายพันธุ์หนึ่งใน Lactic acid bacteria (LAB) แบบ heterofermentative และเป็นแบคทีเรียที่เจริญได้ในช่วงอุณหภูมิปานกลาง (mesophilic) สามารถเจริญได้ที่ช่วงอุณหภูมิ 15-40 องศาเซลเซียส และค่าพีเอชที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของเซลล์อยู่ในช่วง 4.5-6.4 (Valík และคณะ, 2008)



ภาพที่ 3 ลักษณะโครงสร้างของเชื้อ *Lactobacillus plantarum* ที่ถ่ายด้วยกล้องอิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electromicroscopy, SEM)
ที่มา : Terraf และคณะ (2016)

2.1.2.4 ผลลัพธ์ที่เกิดขึ้นในระหว่างการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกรดแลคติก

ในระหว่างการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกรดแลคติกจะทำการผลิตสารต่าง ๆ ได้แก่

1) กรดอินทรีย์ (Organic acid) กระบวนการหมักของแบคทีเรียกรดแลคติกจะได้กรดแลคติก และกรดอะซิติก การสะสมของกรดอินทรีย์สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย เนื่องจากกรดอินทรีย์ที่เป็นกรดอ่อนเมื่ออยู่ในรูปไม่แตกตัวจะละลายในไขมัน ทำให้กรดสามารถแพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ ดังนั้นภายในเซลล์จะมีค่าพีเอช สูงกว่านอกเซลล์ กรดอินทรีย์ในเซลล์จะแตกตัวเป็นไฮโดรเจนไอออน (hydrogen ion; H⁺) ซึ่งจะไปรบกวนกระบวนการเมทาบอลิซึมของเซลล์แบคทีเรียแกรมบวก แกรมลบ ยีสต์ และรา (Hauser และคณะ, 2016)

2) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide; H₂O₂) แบคทีเรียกรดแลคติกจะผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ในสภาวะที่มีออกซิเจน โดยการทำงานของฟลาโวโปรตีนออกซิเดส

(flavoprotein oxidase) และซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase) เพื่อกำจัดอิเล็กตรอนส่วนเกินออกจาก NADH โดยไม่มีการสร้าง ATP ในสภาวะที่ไม่มีธาตุเหล็ก แบคทีเรียกรดแลคติกไม่สามารถสร้างเอนไซม์แคตาเลส ทำให้ไม่สามารถสลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ไปเป็นน้ำและออกซิเจน ดังนั้นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะถูกปล่อยออกมาออกเซลล์ ซึ่งแบคทีเรียแลคติกจะทนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มากกว่าแบคทีเรียชนิดอื่น แต่ถ้าสะสมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มากเกินไปจะไปยังยังแบคทีเรียกรดแลคติกได้

3) คาร์บอนไดออกไซด์ เป็นผลิตภัณฑ์หลักในแบคทีเรียผลิตภัณฑ์กรดแลคติกกลุ่ม heterofermentative ที่ผ่านกระบวนการหมักน้ำตาลเฮกโซส โดยการยับยั้งจุลินทรีย์ด้วยก๊าซ คาร์บอนไดออกไซด์จะทำให้เกิดสภาวะไร้อากาศ เกิดจากการแทนที่โมเลกุลของออกซิเจนด้วย คาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งจะไปยังยังการเกิด decarboxylations นอกจากนี้การสะสม คาร์บอนไดออกไซด์ในไขมันเยื่อหุ้มเซลล์จะมีผลต่อสมบัติการเลือกผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์ จึงทำให้สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้หลายชนิด

4) ไดอะซีทิล (Diacetyl) หรือ 2,3-butanedione เป็นสารที่ให้กลิ่นรสในเนย เนยแข็ง และผลิตภัณฑ์นม ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ทั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารและที่ทำให้อาหารเน่าเสีย ซึ่งไดอะซีทิลคือผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้จากการเมทาบอลิซึมของไพรูเวท (pyruvate) ทั้งแบบใช้และไม่ใช้ออกซิเจนจากแบคทีเรียกรดแลคติกที่หมักซีเตรทได้ (Hugenholtz, 1993) ไดอะซีทิลสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์ และรา ได้มีประสิทธิภาพดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวก และแบคทีเรียกรดแลคติก เนื่องจากไดอะซีทิลจะไปทำปฏิกิริยากับ arginine-binding protein ของแบคทีเรียแกรมลบ จึงมีผลต่อการใช้อาร์จินิน (arginine) ภายในเซลล์ ซึ่งส่งผลต่อการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบมากกว่าแกรมบวกที่มีผนังเซลล์หนากว่า

2.1.3 การทดสอบคุณสมบัติการเป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติก

การทดสอบคุณสมบัติการเป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติกมักเอาวัตถุประสงค์การใช้งานมาเป็นข้อกำหนดการคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์โพรไบโอติก (สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2563) ดังนี้

1) การทนต่อสภาวะความเป็นกรดในกระเพาะอาหาร (resistance to gastric acidity)

เนื่องจากภายในกระเพาะอาหารจะมีสภาพเป็นกรดที่เกิดจากการหลั่งกรดไฮโดรคลอริกออกมาเพื่อทำให้โปรตีนเสียสภาพและง่ายต่อการทำงานของเอนไซม์ ซึ่งการทำงานร่วมกันของเอนไซม์และกรดไฮโดรคลอริกก่อให้เกิดความเสียหายต่อผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวก ทำให้

แบคทีเรียตาย ดังนั้นจึงต้องมีการทดสอบความทนต่อกรดของจุลินทรีย์โพรไบโอติก โดยจะทดสอบที่พีเอชอยู่ในช่วง 2-3

2) การทนต่อสภาวะของเกลือน้ำดี (bile salt resistance)

น้ำดีที่สังเคราะห์จากคอเลสเตอรอลโดยเซลล์ pericentral hepatocytes ของตับ ซึ่งมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 7.5-8.0 โดยหน้าที่หลักของน้ำดีคือทำให้ไขมันแตกตัวและเข้ากับน้ำได้ดีขึ้น ส่งผลต่อการรอดชีวิตของแบคทีเรียในทางเดินอาหาร เนื่องจากเกลือน้ำดีจะไปละลายไขมันในโครงสร้างฟอสโฟลิปิดของเยื่อหุ้มเซลล์แบคทีเรียให้เสียหาย ส่งผลให้เยื่อหุ้มเซลล์แยกออกจากกัน ซึ่งความเสียหายจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของเกลือน้ำดีในระบบทางเดินอาหาร นอกจากนี้ยังมีเอนไซม์ Pancreatin จากตับอ่อนที่ส่งผลต่อการรอดชีวิตของจุลินทรีย์โพรไบโอติก ดังนั้นในการทดสอบการทนต่อสภาวะของเกลือน้ำดีจะทดสอบที่สภาวะค่าพีเอชเท่ากับ 8 และมีเอนไซม์ Pancreatin ร่วมด้วยความสามารถในการเกาะติดกับเยื่อเมือก หรือเซลล์เยื่อบุของมนุษย์ หรือเซลล์ไลน์ (Adherence to mucus and/or human epithelial cell and cell line) คุณสมบัติที่สำคัญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกคือความสามารถในการยึดเกาะผนังของลำไส้ เนื่องจากการเคลือบด้วยจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ผนังลำไส้จะแย่งพื้นที่จับกับผนังลำไส้ เกิดการก่อตัว (Colonize) และการเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติกขึ้นในบริเวณนั้น ซึ่งช่วยลดปริมาณการยึดเกาะของเชื้อก่อโรค และกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของเจ้าบ้าน ซ่อมแซมผนังทางเดินอาหาร และต่อต้านจุลินทรีย์ก่อโรค ฤทธิ์ของเอนไซม์ไฮโดรเลสในการย่อยเกลือน้ำดี (Bile salt hydrolase activity)

2.1.4 การใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหาร

ผลิตภัณฑ์ที่มีจุลินทรีย์โพรไบโอติกส่วนใหญ่เป็นผลิตภัณฑ์นม ได้แก่ โยเกิร์ต ไอศกรีม ชีส นม นมเปรี้ยว และคีเฟอร์ (Saarela, 2007) แต่ผลิตภัณฑ์เหล่านี้อาจไม่เหมาะกับกลุ่มผู้บริโภคที่มีอาการแพ้แลคโตสในนม จึงมีการพัฒนาผลิตภัณฑ์เสริมโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์อื่น ๆ มากขึ้น ได้แก่ น้ำผลไม้ ผลไม้อบแห้ง ขนมปัง อาหารธัญพืช อาหารเสริม เป็นต้น (Aspri และคณะ, 2020)

ผักและผลไม้เป็นอาหารเพื่อสุขภาพ เนื่องจากมีสารอาหารที่เป็นประโยชน์หลายอย่าง เช่น ไฟโตเคมิคอลต่างๆ สารต้านอนุมูลอิสระ แร่ธาตุ วิตามิน และเส้นใยอาหาร (Slavin และ Lloyd, 2012) มีปริมาณสารอาหารและน้ำตาลสูงซึ่งมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของโพรไบโอติก และเมื่อรวมกับการผ่านอย่างรวดเร็วในสภาวะที่เป็นกรดที่รุนแรงของกระเพาะอาหารจะส่งผลให้เซลล์โพรไบโอติกคงเหลืออยู่สูง (Kandyli และคณะ, 2016) ผลไม้และผักไม่มีสารก่อภูมิแพ้ แลคโตส และ

โคเลสเทอรอล รับประทานแล้วช่วยให้สดชื่นและรสชาติที่หลากหลาย ซึ่งตรงกันข้ามกับผลิตภัณฑ์นมที่ส่งผลเสียต่อประชากรบางกลุ่ม (Panghal และคณะ, 2018)

ผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้เสริมโพรไบโอติกหลายประเภทได้รับการพัฒนาและจำหน่าย รวมถึงน้ำผลไม้และผัก ผลไม้แห้ง ผักหมัก และของหวานสำหรับผู้ทานมังสวิรัต ตัวอย่างบางส่วนของน้ำผลไม้ที่ใช้เป็นอาหารสำหรับการขนส่งโพรไบโอติก เช่น สับปะรด แครนเบอร์รี่ สตรอว์เบอร์รี่ มะนาว หวาน มะม่วง องุ่น แอปเปิล มะม่วงหิมพานต์ มะกอก แครอท ปืทรูท และส้ม

แม้ว่าจะมีการศึกษาจำนวนมากที่แสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการผสมผสานแบคทีเรียโพรไบโอติกเข้ากับผักและผลไม้ แต่พบว่าการมีชีวิตและความเสถียรของแบคทีเรียโพรไบโอติกนั้นขึ้นอยู่กับความเครียดสูง (Rivera-Espinoza และ Gallardo-Navarro, 2010) โพรไบโอติกที่ใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้ที่เสริมโพรไบโอติกส่วนใหญ่เป็นสปีชีส์ของ *Lactobacillus* และ *Bifidobacteria* เช่น *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum* และ *Bifidobacterium bifidum* (Aspri และคณะ, 2020)

น้ำผลไม้หลายชนิดมีสภาพเป็นกรดมีค่าพีเอช 2.5-3.8 ซึ่งเป็นอันตรายต่อแบคทีเรียส่วนใหญ่ (Sheehan และคณะ, 2007) จึงเป็นปัญหาสำคัญสำหรับการพัฒนาน้ำผลไม้เพื่อเป็นพาหะในการจัดส่งโพรไบโอติก อย่างไรก็ตามเซลล์จำนวนมากจะตายในระหว่างกระบวนการผลิตและการเก็บรักษาเนื่องจากสภาวะพีเอชต่ำ ดังนั้นวิธีการห่อหุ้มแบคทีเรียโพรไบโอติกถูกนำมาใช้เพื่อเพิ่มการอยู่รอดของแบคทีเรียในน้ำผลไม้ที่มีสภาวะเป็นกรด

ผลไม้อบแห้งสามารถเป็นพาหะของโพรไบโอติก ซึ่งโพรไบโอติกจะแพร่เข้าสู่ชั้นผลไม้อบแห้งได้โดยการแช่ในสารแขวนลอยโพรไบโอติกที่ความดันบรรยากาศ (atmospheric pressure) (Akman และคณะ, 2019; Rodrigues และคณะ, 2018; Valerio และคณะ, 2020) การแช่ภายใต้สภาวะสุญญากาศ (vacuum impregnation) (Cui และคณะ, 2018; Noorbakhsh และคณะ, 2013; Valerio และคณะ, 2020) หรือการทำแห้งด้วยวิธีออสโมซิส (osmotic dehydration) (Emser และคณะ, 2017; Rascón และคณะ, 2018) การผสมผสานแขวนลอยเชื้อโพรไบโอติก (Zhu และคณะ, 2020) การเคลือบด้วยสารเคลือบร่วมกับโพรไบโอติก (Probiotic coating) (Oliveira และคณะ, 2021; Rodrigues และคณะ, 2018) และการฉีดพ่น (Barbu และคณะ, 2020) ตัวอย่างผลิตภัณฑ์จากผลไม้ที่เสริมโพรไบโอติกในตลาด แสดงดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงตัวอย่างผลิตภัณฑ์จากผลไม้ที่เสริมโพรไบโอติกในตลาด

ชื่อผลิตภัณฑ์	เชื้อโพรไบโอติกที่เสริม	ภาพผลิตภัณฑ์
mariani FAMILY - Probiotic apricots - Probiotic raisins - Probiotic berries & plums - Probiotic cranberries	- <i>B. coagulans</i> GBI-30 6086	
Dr.John's - Berry probiotic pops - Assorted probiotic drops	- <i>B. subtilis</i> DE111-FB	
Nature's Garden - Probiotic antiox berry	- <i>L.rhamnosus</i> - <i>L. plantarum</i>	
Nature's Garden - Probiotic apricots	- <i>S. boulardii</i> - <i>L. rhamnosus</i> GG	
EatWELL - Probiotic dried cranberries - Probiotic dried pineapple - Probiotic dried mango dice	- <i>L.paracasei</i>	

2.1.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการเสริมโพรไบโอติกในอาหาร

การเสริมโพรไบโอติกลงในผลิตภัณฑ์อาหารเป็นทางเลือกหนึ่งที่จะทำให้ผู้บริโภคได้รับจุลินทรีย์โพรไบโอติกในปริมาณที่เพียงพอที่จะช่วยให้เกิดผลดีต่อร่างกาย อัตราการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในอาหารจะเพิ่มขึ้นหรือลดลงขึ้นอยู่กับสภาพแวดล้อมหรือปัจจัยต่างๆในกระบวนการแปรรูป ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการเสริมโพรไบโอติกในอาหารมีดังนี้

2.1.5.1 ปัจจัยของวิธีการเสริมโพรไบโอติก

Röβle และคณะ (2010) ได้ศึกษาการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติก *L. rhamnosus* GG (LGG) ซึ่งเป็นแบคทีเรียกรดแลคติกที่ช่วยในการรักษาโรคท้องเสียที่เกิดจากการติดเชื้อ ร่วมกับขึ้นแอบเปิล โดยนำแอบเปิลที่ผ่านการตัดแต่งแล้วจุ่มในสารละลายบัฟเฟอร์โพรไบโอติก (อัตราส่วน 1:1 ซึ่งมี LGG 10^{10} CFU/ml) 10 นาที จากนั้นสะเด็ดน้ำและจุ่มในสารละลายยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลอีก 2 นาที จากนั้นเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 2-4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน พบว่าปริมาณการคงอยู่ของโพรไบโอติกอยู่ในช่วง 10^7 - 10^8 CFU/g

Russo และคณะ (2015) ได้ศึกษารนำแคนตาลูปตัดแต่งมาจุ่มในสารละลายบัฟเฟอร์กรดซิตริก-โซเดียมซิเตรต (pH 3.8) ร่วมกับโพรไบโอติก *L. plantarum* B2 และ *Lactobacillus fermentum* PBCC11.5 (5×10^9 CFU/ml) เป็นเวลา 2 นาที ร่วมกับการแช่ จากนั้นสะเด็ดน้ำ และบรรจุใส่ถุงแบบ passive-modified atmosphere packaging จากนั้นเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 11 วัน โดยนำชิ้นตัวอย่างมาวิเคราะห์ในวันที่ 0, 4, 8 และ 11 พบว่าในวันที่ 11 ปริมาณการคงอยู่ของ *L. plantarum* B2 มีค่า 3×10^8 CFU/g ซึ่งเกือบจะคงที่ตลอดการเก็บรักษา แต่ปริมาณการคงอยู่ของ *L. fermentum* PBCC11.5 มีค่า 7.8×10^7 CFU/g ซึ่งมีค่าลดลงเล็กน้อย แต่ยังคงมากกว่า 10^6 CFU/g ตามที่มาตรฐานกำหนด

Shigematsu และคณะ (2018) ได้ศึกษาการเคลือบด้วยสารที่สามารถรับประทานได้โดยใช้โซเดียมอัลจิเนต 1.75 g, กลีเซอรอล 0.5 g, น้ำมันดอกทานตะวัน 0.0075 g, Tween 80 0.0025 g และน้ำ 100 g ร่วมกับโพรไบโอติก *L. acidophilus* La-14 (แบบผง) 0.67 g ความอยู่รอดของเชื้อโพรไบโอติก คือ $7.36 \log$ CFU/g เป็นสารละลายที่ใช้ในการเคลือบ โดยนำชิ้นแครอทที่ผ่านการตัดแต่งมาแช่ในสารละลายโซเดียมอัลจิเนตร่วมกับโพรไบโอติก เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นนำไปแช่ในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 1% เป็นเวลา 1 นาที จากนั้นผึ่งให้เกิดการคายน้ำบางส่วนของสารเคลือบที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ก่อนนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 19 วัน พบว่าปริมาณการคงอยู่ของ *L. acidophilus* La-14 เพิ่มขึ้นช่วงเวลาที่ 0-6 วัน ก่อนจะเริ่มลดลงและคงที่ในวันที่ 13-19 แต่ปริมาณการคงอยู่มีค่ามากกว่า 10^7 CFU/g ซึ่งผลการศึกษาเป็นในทางเดียวกับ Tapia และคณะ (2007) ที่ได้ศึกษาการเคลือบมะละกอและแอบเปิลด้วยโซเดียมอัลจิเนต 2% ร่วมกับ *Bifidobacterium lactis* Bb-12 และเก็บรักษาเป็นเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิ 2 องศาเซลเซียส พบว่าเริ่มต้นสารเคลือบมีปริมาณโพรไบโอติก 9.93 และ 9.67 \log CFU/g แต่หลังจากเคลือบในมะละกอปริมาณการคงอยู่ของโพรไบโอติกลดลงคือ 6.89 และ 7.52 \log CFU/g ส่วนแอบเปิลมีค่า 7.91 และ 7.78 \log CFU/g เมื่อเก็บรักษาในวันที่ 10 ปริมาณการคงอยู่ของโพรไบโอติกมีค่าอยู่ระหว่าง 6-7 \log CFU/g

Khodaei และ Hamidi-Esfahani (2019) ได้ศึกษาอิทธิพลของสารเคลือบร่วมกับ *L. plantarum* ต่อคุณภาพของสตรอเบอร์รี่สด ซึ่งสารเคลือบที่สามารถกินได้คือ คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (Carboxymethyl cellulose; CMC) โดยการนำสตรอเบอร์รี่แช่ในน้ำกลั่น 1 นาที จากนั้นนำสตรอเบอร์รี่ไปเคลือบด้วยสารละลายที่มี CMC ร่วมกับ *L. plantarum* ที่มีความเข้มข้นโพไบโอติก 0, 5.32×10^{11} , 2.92×10^{13} , 3.98×10^{13} , 5.76×10^{13} และ 9.80×10^{13} CFU/ml สารละลายเคลือบเตรียมโดยการละลาย CMC 4 g ในน้ำกลั่น 400 มิลลิลิตร และกวนผสมเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้ละลายหมด จากนั้นเติมกลีเซอรอล 30% (w/w) และกวนผสมเป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นนำสารละลายไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ก่อนผสมจุลินทรีย์โพไบโอติก และนำสตรอเบอร์รี่มาจุ่มลงในสารละลายเคลือบเป็นเวลา 30 วินาที จากนั้นสะเด็ดน้ำ และนำสตรอเบอร์รี่บรรจุในบรรจุภัณฑ์ที่มีการซีมผ่านของออกซิเจนและความชื้นต่ำ ก่อนนำมาเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 วัน พบว่า ปริมาณการคงอยู่ของ *L. plantarum* ลดลงแต่มีค่ามากกว่า $6 \log$ CFU/g ในทุกหริตเมนต์ และช่วยลดการเจริญเติบโตของยีสต์และเชื้อราบนพื้นผิวของสตรอเบอร์รี่

Barbu และคณะ (2020) ได้ศึกษาการฉีดพ่นเชื้อ *L. plantarum* MIUG BL3 ที่มีจำนวนเชื้อ 10^{12} CFU/g บนเนื้อเยื่อของพืชที่มีเมทริกซ์ของบิทรูตต่างกัน 3 ประเภท คือ แบบสด อบแห้ง และแบบผงที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง โดยบิทรูตสดจะฉีดพ่นที่อัตราส่วน 5:1 (w/v) จากนั้นแบ่งครึ่งหนึ่งมาทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งก่อนนำมาบดเป็นผง ส่วนแบบอบแห้งจะฉีดพ่นเชื้อหลังทำแห้งที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ในอัตราส่วน 3:1 (w/v) จากนั้นเก็บรักษาเป็นเวลา 21 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าจำนวนเชื้อ *L. plantarum* MIUG BL3 ในบิทรูตสดมีมากที่สุด รองลงมาคือบิทรูตแบบผง และบิทรูตอบแห้ง ตามลำดับ

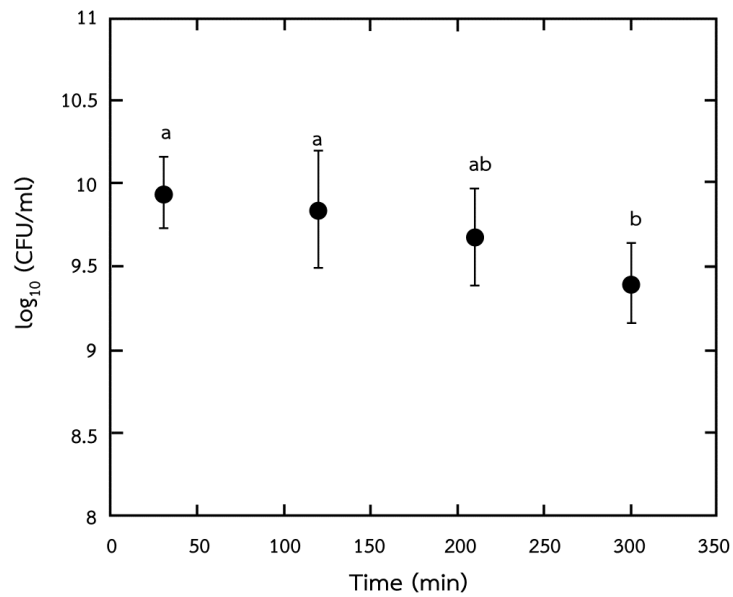
2.1.5.2 ปัจจัยของค่าพีเอช

Vera-Peña และ Rodriguez-Rodriguez (2020) ได้ศึกษาอิทธิพลของค่าพีเอช ต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ Lactic acid bacteria สายพันธุ์ *Leuconostoc mesenteroides* 67-1, *L. plantarum* 60-1 และ *Streptococcus infantarius* 46-3 ที่แยกได้จากครีมเปรี้ยว โดยนำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส, อาหารเลี้ยงเชื้อ M17 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ซึ่งค่าพีเอชที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ พีเอช 4, 5, 6 และ 7 พบว่าค่าพีเอชส่งผลต่อการเจริญเติบโตของ Lactic acid bacteria โดย ค่าพีเอชที่เหมาะสมของ *L. mesenteroides* 67-1 คือ pH 4-5, ค่า pH ที่เหมาะสมของ *S. infantarius* 46-3 คือ พีเอช 5-6 และค่าพีเอชที่เหมาะสมของ *L. plantarum* 60-1 คือ พีเอช 6 (Vera-Peña และ Rodriguez-Rodriguez, 2020)

Olivares และคณะ (2019) ได้ศึกษาการเตรียมเชื้อ *L. casei* ทั้งหมด 2 แบบ คือ แบบเซลล์อิสระ กับแบบห่อหุ้มเซลล์ และศึกษาในน้ำผลไม้ 3 ชนิด คือ น้ำสับปะรด น้ำส้ม และน้ำราสเบอร์รี่ จากนั้นเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน พบว่าการอยู่รอดของ *L. casei* ระหว่างการเก็บรักษาขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำผลไม้ โดยในกรณีของน้ำสับปะรด (pH=3.28) เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษาไมโครแคปซูลมีความอยู่รอด 100% (2.3×10^7 CFU/g) ในกรณีของน้ำส้ม (pH=3.45) พบว่าการอยู่รอดของ *L. casei* ในไมโครแคปซูลมากกว่า 91% (5.5×10^6 CFU/g) และน้ำราสเบอร์รี่ (pH=2.75) ปริมาณการอยู่รอดของ *L. casei* อิสระ (ไม่ได้อยู่ในไมโครแคปซูล) ลดลงอย่างรวดเร็ว และหายไปเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษา เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในน้ำผลไม้ เช่น แอนโธไซยานินในน้ำราสเบอร์รี่ และวิตามินซีในน้ำส้ม ซึ่งเป็นสารต้านจุลชีพ (Nualkaekul และคณะ, 2013) จึงส่งผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *L. casei* มากกว่าอิทธิพลของพีเอช (pH=2.5-3.7)

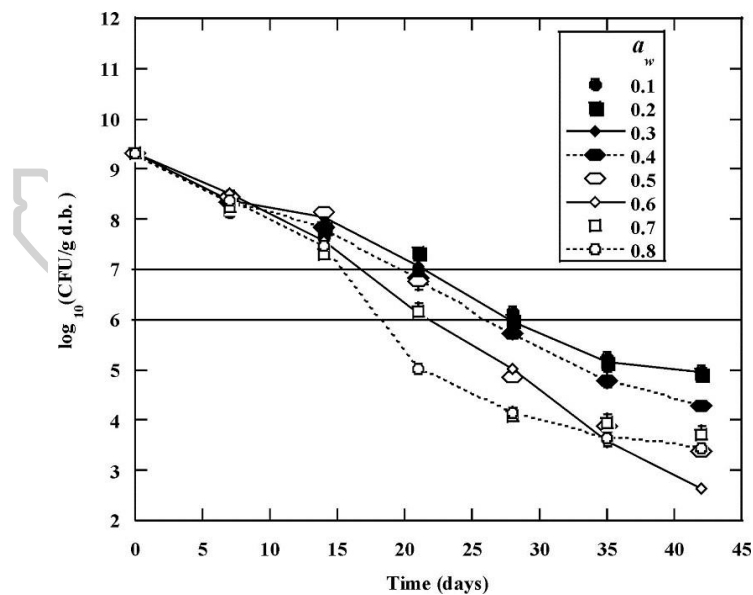
2.1.5.3 ปัจจัยของสารละลายออสโมติก และค่าวอเตอร์แอกทิวิตี

Rascón และคณะ (2018) ได้ศึกษาการแช่ซึ้นกล้วยในสารละลายไฮเปอร์โทนิกที่มีซูโครส 50% (w/w) ร่วมกับ *L. rhamnosus* LC705 (1×10^{10} CFU/ml) ซึ่งเป็นแบคทีเรียโพรไบโอติกที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการแพร่กระจายของแบคทีเรียก่อโรคในมนุษย์ ปรับกระบวนการย่อยอาหารและกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (DebMandal และคณะ, 2012; Kim และคณะ, 2014) โดยซึ้นกล้วยจะแช่ในสารละลายออสโมติกร่วมกับโพรไบโอติกที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ในอัตราส่วนผลไม้/สารละลายที่ 1:20 (w/w) เป็นเวลา 30, 120, 210 และ 300 นาที จากนั้นนำไปอบแห้งแบบสุญญากาศที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าปริมาณ *L. rhamnosus* ในสารละลายออสโมติกซูโครส 50% ที่ 35 องศาเซลเซียส เริ่มต้นเท่ากับ 10 ± 0.1 log CFU/ml และเมื่อผ่านไป 300 นาที จะมีปริมาณลดลงเป็น 9.40 ± 0.23 log CFU/ml ซึ่งการลดลงการคงอยู่ของจุลินทรีย์เกิดจากความเครียดจากออสโมติก (osmotic stress) ที่ทำให้เซลล์สะสมตัวละลายภายในเซลล์เพื่อให้สมดุลออสโมลาลิตีภายนอกและคงความ turgor ของเซลล์ไว้ (H. Jayaprakasha และคณะ, 1997) นอกจากนี้ยังได้นำกล้วยที่เสริม *L. rhamnosus* ในสารละลายออสโมติก 35 นาที มาทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง จากนั้นเก็บตัวอย่างที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 42 วัน ในเครื่องดูดความชื้นที่มีสารละลายเกลืออิมิตัวต่างกัน ซึ่งให้ค่า a_w ที่ต่างกัน (a_w เท่ากับ 0.115, 0.234, 0.329, 0.443, 0.536, 0.654, 0.765 และ 0.846) พบว่าที่ค่า a_w อยู่ในช่วง 0.115-0.327 มีปริมาณ *L. rhamnosus* คงที่ตลอดการเก็บรักษา 20-28 วัน ซึ่งถ้าค่า a_w ที่สูงขึ้นจะทำให้เวลาในการเก็บลดลง เช่นที่ $a_w = 0.654$ จำนวนจุลินทรีย์คงที่เป็นระยะเวลา 17-21 วัน ในขณะที่ $a_w = 0.846$ ช่วงเวลาการเก็บรักษาลดลงเป็น 15-18 วัน



ภาพที่ 4 ปริมาณการคงอยู่ของ *L.rhamnosus* หลังจากแช่ในสารละลายออสโมติกของซูโครส 50% (w/w) เป็นเวลา 30, 120, 210 และ 300 นาที ที่ 35 °C

ที่มา : Rascón และคณะ (2018)



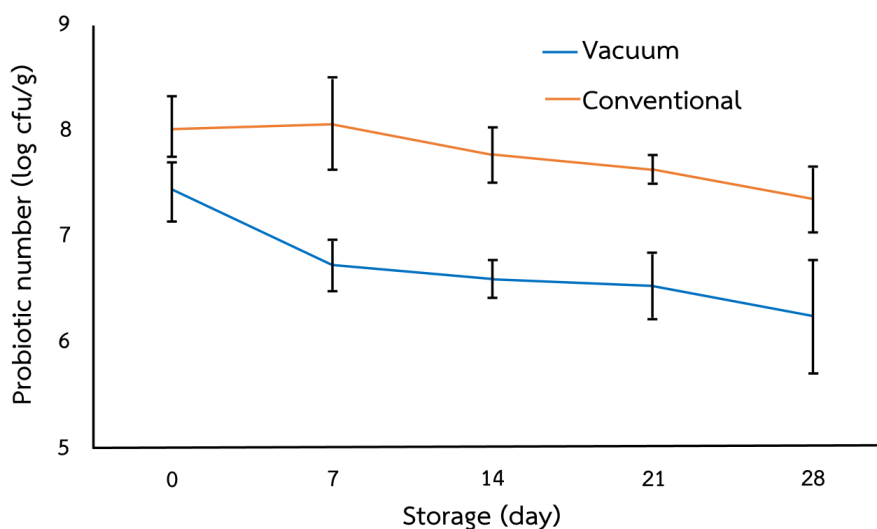
ภาพที่ 5 ปริมาณการคงอยู่ของ *L.rhamnosus* ในกล้วยที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่เก็บรักษาเป็นเวลา 42 วัน และ 25 °C ที่กิจกรรมทางน้ำต่างๆ เส้นแนวนอนระบุจำนวนจุลินทรีย์ขั้นต่ำผลิตภัณฑ์ที่เสริมของโพรไบโอติก ซึ่งมีค่า 10^6 – 10^7 CFU/g db

ที่มา : Rascón และคณะ (2018)

2.1.5.4 ปัจจัยของอุณหภูมิ

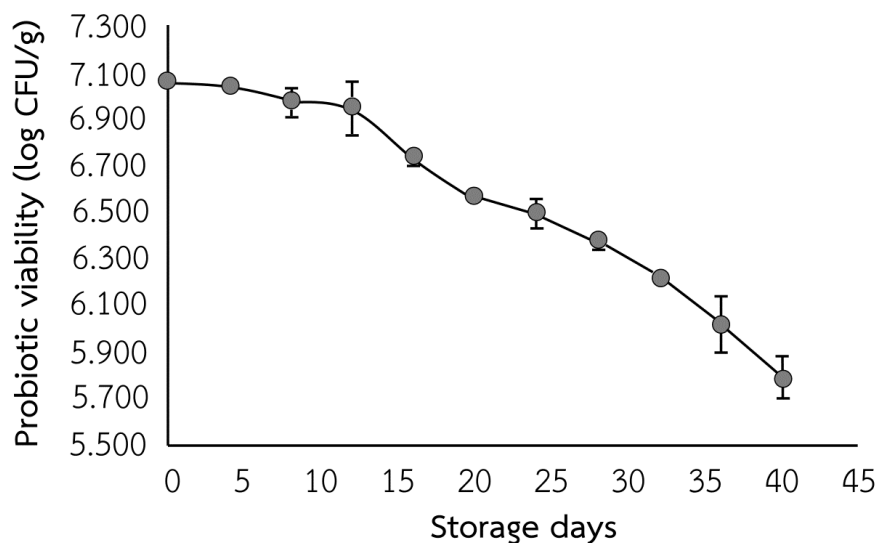
Barbosa และคณะ (2015) ได้ศึกษาการอยู่รอดของ Lactic acid bacteria 2 สายพันธุ์ คือ *L. plantarum* 299v และ *Pediococcus acidilactici* HA-6111-2 ในผงสัสมี่ผ่านการทำแห้งที่ต่างกัน 3 วิธี คือ การทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray drying) การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drying) และการทำแห้งด้วยลมร้อนแบบพาความร้อน (Convective hot air drying) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และเก็บรักษาเป็นเวลา 180 วัน ที่อุณหภูมิต่างกันคือที่ 4 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง ในที่ที่มีแสงและไม่มีแสงส่องถึง พบว่าจาก 3 วิธีการทำให้แห้งที่ศึกษา การทำแห้งแบบพ่นฝอยและแบบเยือกแข็งเป็นเทคนิคที่ส่งผลให้จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตลดลงในระหว่างกระบวนการทำให้แห้ง แต่จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตในช่วงเริ่มต้นสูงเมื่อเทียบกับการทำแห้งด้วยลมร้อน ส่งผลให้จำนวนเซลล์ทั้งหมดที่รอดชีวิตจากสภาวะการเก็บรักษาทั้ง 2 วิธีมากกว่าวิธีการทำแห้งด้วยลมร้อน

Akman และคณะ (2019) ได้ศึกษาการผลิต apple snack โดยนำแอปเปิลมาลวกที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นแช่ในสารละลาย *Lactobacillus paracasei* LL13 อัตราส่วน 1:5 (w/v) เป็นเวลา 10 นาที พร้อมกับกวนไปด้วย จากนั้นนำขึ้นมาวางพัก 20 นาที ก่อนนำไปอบแห้ง 2 วิธีคือ อบแห้งแบบสุญญากาศ และอบแห้งแบบทั่วไป ที่ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4.5 และ 6 ชั่วโมงตามลำดับ จากนั้นเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าในช่วงเริ่มต้นการเก็บรักษาจำนวนจุลินทรีย์ในแอปเปิลที่อบแห้งแบบทั่วไปและแบบสุญญากาศมีค่า 7.99 และ 7.42 log CFU/g ตามลำดับ และเมื่อครบ 4 สัปดาห์ จำนวนจุลินทรีย์ที่คงอยู่มีปริมาณลดลง แต่มีมากกว่า 7 และ 6 log CFU/g ตามลำดับ ซึ่งบ่งชี้ว่าเซลล์แบคทีเรียรอดชีวิตบนพื้นผิวแอปเปิลที่อบแห้งแบบทั่วไปได้ดีกว่าอบแห้งด้วยสุญญากาศ



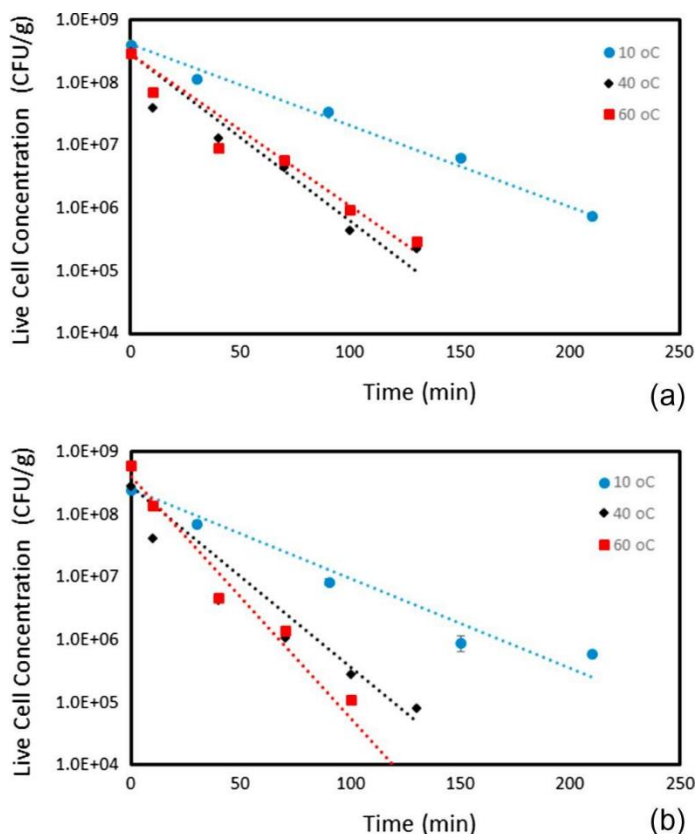
ภาพที่ 6 แสดงการเปลี่ยนแปลง (log CFU/g) ของ *L. paracasei* ของชิ้นแอปเปิลที่การเก็บรักษา 28 วัน
ที่มา :Akman และคณะ (2019)

Vivek และคณะ (2020) ได้ศึกษาผงน้ำผลไม้ที่เสริมด้วยโพรไบโอติก โดยนำผล *Sohiong* (*Prunus nepalensis*) มาล้างและนำไปปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นพรีทรีตเมนต์ด้วยอัลตราซาวด์ และนำน้ำ *Sohiong* ที่สกัดด้วยเอนไซม์มาหมักด้วย *L. plantarum* เป็นเวลา 72 ชั่วโมงที่ 37 องศาเซลเซียส เพื่อให้ได้ปริมาณแบคทีเรีย 10 log CFU/ml ก่อนการพ่นแห้งแบบพ่นฝอยภายใต้สภาวะที่เหมาะสมที่ 120 องศาเซลเซียส จากนั้นเก็บรักษาที่ 25 องศาเซลเซียส และ 50% RH โดยวิเคราะห์คุณภาพทุก ๆ 4 วันจนกระทั่งเซลล์ที่มีชีวิตมีปริมาณ 6.0 log CFU/g พบว่าความอยู่รอดของโพรไบโอติกที่ยอมรับได้ที่ 6.12 log CFU/g ได้รับที่ 36 วันของระยะเวลาการเก็บรักษา



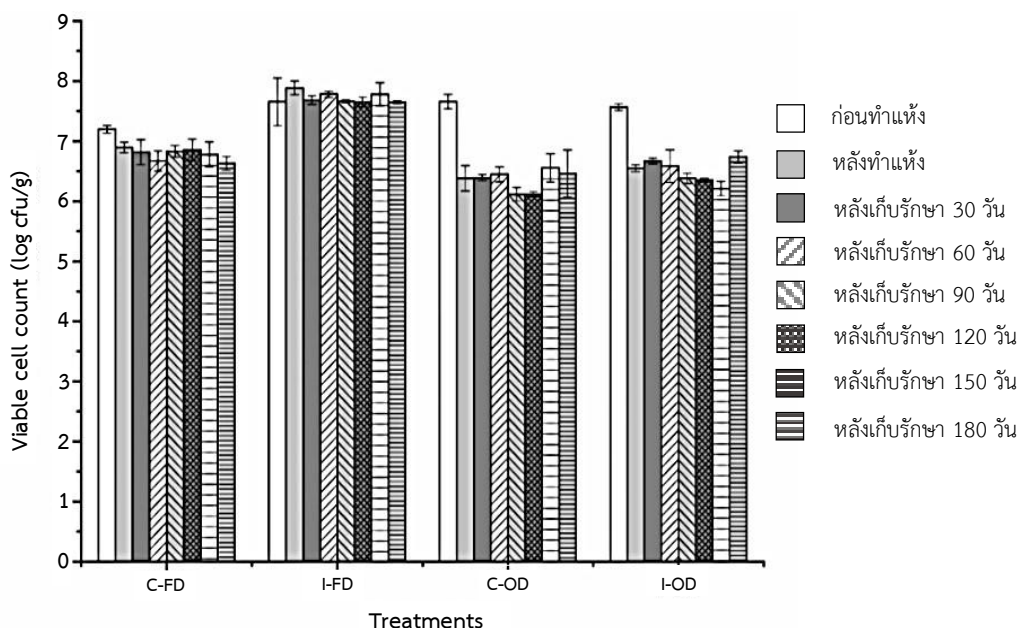
ภาพที่ 7 แสดงผลของการเก็บรักษาต่อปริมาณการคงอยู่ของโพรไบโอติก *L. plantarum* ที่มา : Vivek และคณะ (2020)

Rodrigues และคณะ (2018) ได้ศึกษาการผลิตแอปเปิลอบแห้งเสริมโพรไบโอติก โดยนำชิ้นแอปเปิลมาล้าง ปอกเปลือก และตัดแต่งให้มีขนาด $8.7 \times 8.7 \times 8.7 \text{ mm}^3$. จากนั้นนำไปแช่ในสารละลาย 1% citric acid และ 2% ascorbic acid เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำไปแช่ในสารละลายที่มี *Lactobacillus casei* NRRL B-442 พร้อมกวนเบาๆเป็นเวลา 5 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นทำแห้งที่ 10, 40 และ 60 องศาเซลเซียส โดยมีหรือไม่มีการใช้อัลตราซาวนด์ร่วมด้วย ซึ่งการทำแห้งที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส จะทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบเดียวกัน แต่ทำภายในห้องควบคุมอุณหภูมิ พบว่าการทำแห้งจะลดจำนวนจุลินทรีย์ในชิ้นแอปเปิลอบแห้ง แต่จำนวนจุลินทรีย์คงอยู่ยังอยู่ในมาตรฐาน (10^6 CFU/g) และ การใช้อัลตราซาวนด์จะช่วยลดเวลาในการทำแห้งโดยไม่ส่งผลต่อการมีชีวิตของจุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญ



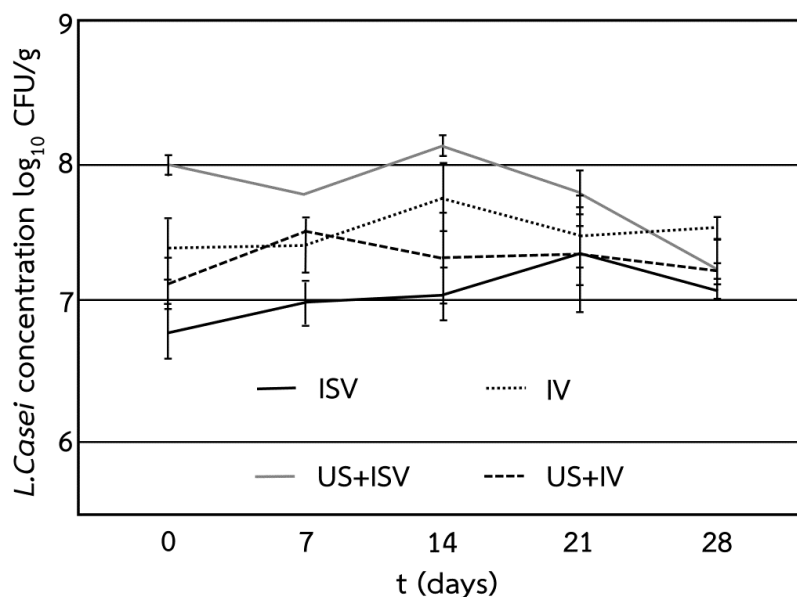
ภาพที่ 8 แสดงเซลล์ *L. casei* ที่มีชีวิตที่เวลาต่างๆ ในระหว่างการทำแห้งที่อุณหภูมิต่างกันโดยการทำให้แห้งแบบ conventional (a) และ แบบร่วมกับอัลตราซาวนด์ (b)
ที่มา : Rodrigues และคณะ (2018)

Oliveira และคณะ (2021) ได้ศึกษาสตรอบอร์ร็อบแห้งเสริมโพรไบโอติก โดยนำสตรอบอร์รี่มาผ่าครึ่งซีก และนำไปแช่ผสมกับ *Bacillus coagulans* BC4 ด้วยวิธี impregnation และ alginate coating จากนั้นนำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (FD) และทำแห้งในตู้อบแห้ง (OD) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นเก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือนที่ 25 องศาเซลเซียส พบว่าการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งสามารถรักษาคุณสมบัติในการแปรรูป และความคงอยู่ของโพรไบโอติกได้ดีกว่าการอบแห้งด้วยตู้อบแห้ง และการผสมผสานระหว่างการทำให้ชุ่มและการทำแห้งแบบเยือกแข็งส่งผลให้ *B.coagulans* BC4 มีความคงอยู่สูงสุดตลอดการเก็บรักษา (8 log cfu/g ตลอด 6 เดือน



ภาพที่ 9 แสดงการเปลี่ยนแปลงความสามารถในการมีชีวิตของ *B.coagulans* ในการแปรรูปและการเก็บรักษาสตอร์เออร์รี่ผ้าครึ่ง
ที่มา : Oliveira และคณะ (2021)

Bernardino และคณะ (2021) ได้ศึกษาการใช้อัลตราซาวด์กับความเข้มข้นของโปรไบโอติกและการเก็บรักษาขุนอบแห้งที่เสริมด้วย *Lactobacillus casei* โดยนำขุนมาตัดแต่งและฆ่าเชื้อด้วยสารละลายคลอรีน 1.5% เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนทดลองให้นำชิ้นขุนมาละลายที่ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นตัดแต่งให้มีขนาด 2.0 × 2.0 cm.หนา 5.0 mm. และแช่ในสารละลายที่มี *Lactobacillus casei* อัตราส่วน 1:2 ภายใต้สภาวะ 1.) ความดันบรรยากาศ 2.) สูญญากาศ 3.) ความดันบรรยากาศร่วมกับอัลตราซาวด์ 4.) สูญญากาศร่วมกับอัลตราซาวด์ จากนั้นนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และเก็บรักษาที่สภาวะสูญญากาศที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน พบว่าการแช่ขุนที่สภาวะความดันบรรยากาศร่วมกับอัลตราซาวด์เป็นวิธีที่มีจำนวนการคงอยู่ของ *L.casei* มากที่สุด (7.99 log₁₀ CFU/g) ซึ่งขุนหลังอบแห้งมีความเข้มข้นของโปรไบโอติกระหว่าง 6.79 ± 0.20 ถึง 7.99 ± 0.07 log₁₀ CFU/g ในวันที่ 0 และระหว่าง 7.08 ± 0.06 และ 7.54 ± 0.08 log₁₀ CFU/g ในวันที่ 28



ภาพที่ 10 ปริมาณ *L.casei* เมื่อเก็บรักษา 28 วัน

ที่มา : Bernardino และคณะ (2021)

2.2 มะม่วง

มะม่วง (*Mangifera indica* L.) เป็นผลไม้เขตร้อนที่ได้รับฉายาว่าเป็น “ราชาแห่งผลไม้” และเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคทั่วโลกเนื่องจากมีรสหวานฉ่ำ มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เป็นแหล่งสำคัญของสารอาหารที่ให้พลังงาน แร่ธาตุ และสารที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย (Ribeiro และ Schieber, 2010) ได้แก่ โปรวิตามินเอ แคโรทีนอยด์ และวิตามินซี (Guiamba และคณะ, 2016) ซึ่งองค์ประกอบทางเคมีที่พบในมะม่วงสุกในปริมาณ 100 กรัม แสดงดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 องค์ประกอบที่พบในเนื้อมะม่วงสุก 100 กรัม

องค์ประกอบ	ค่าต่ำสุด - ค่าสูงสุด
พลังงาน (kcal)	62.1-190
ความชื้น (กรัม)	78.9-82.8
ไขมัน (กรัม)	0.34-0.52
คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	16.20-17.18
เส้นใย (กรัม)	0.85-1.06
โปรตีน (กรัม)	0.36-0.40
แคลเซียม (มิลลิกรัม)	7-16
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม)	10-18
เหล็ก (มิลลิกรัม)	0.09-0.41
วิตามินซี (มิลลิกรัม)	13.2-92.8
โพแทสเซียม (มิลลิกรัม)	120-211
โซเดียม (มิลลิกรัม)	0-3
เบต้า-แคโรทีน (ไมโครกรัม)	1,990
ปริมาณแคโรทีนทั้งหมด	2,210

ที่มา: Maldonado-Celis และคณะ (2019)

2.2.1 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมีในระหว่างการสุก

ในระหว่างการบ่มมะม่วงเกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ เคมี และทางสรีระวิทยา เนื่องจากมะม่วงเป็นผลไม้ประเภท climacteric fruit ซึ่งสามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงภายหลังการเก็บเกี่ยวได้ กระบวนการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระหว่างการสุกมีดังนี้

2.1.1.1 กระบวนการหายใจ

การสุกของผลไม้ที่มีการเปลี่ยนแปลงอัตราการหายใจหลังการเก็บเกี่ยว (climacteric fruit) มีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของแก๊สที่เกิดจากกระบวนการหายใจ และเอทิลีน (Bapat และคณะ, 2010) โดย (Nordey และคณะ, 2016) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงอัตราการหายใจและปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ (CO₂) ของมะม่วงพันธุ์ Cogshall ที่เก็บเกี่ยวในวันที่ 113 หลังติดผล ติดตามการเปลี่ยนแปลงอัตราการหายใจและปริมาณ CO₂ พบว่ามะม่วงมีอัตราการหายใจและการปลดปล่อย CO₂ เพิ่มมากขึ้นที่ระยะการเก็บรักษานานขึ้น เมื่อมะม่วงมีอัตราการหายใจเพิ่มสูงขึ้นจะเกิดการสร้างเอทิลีนออกมาในปริมาณมาก ส่งผลให้มะม่วงเกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางเคมีและกายภาพอย่างรวดเร็ว ทำให้มะม่วงมีอายุการเก็บรักษาสั้น โดยปัจจัยที่มีผลต่อการหายใจ ได้แก่

ระยะเวลาในการเก็บเกี่ยว บาดแผลจากการหั่น สายพันธุ์ของผลไม้ และอุณหภูมิ เป็นต้น การเก็บรักษามะม่วงที่อุณหภูมิต่ำจะช่วยให้มะม่วงมีอัตราการหายใจช้าลง Nordey และคณะ (2016) รายงานว่า การลดอุณหภูมิในการเก็บรักษามะม่วงพันธุ์ Cogshall จากอุณหภูมิ 20, 12 และ 7 องศาเซลเซียส ที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส จะทำให้มะม่วงเข้าสู่การเปลี่ยนแปลงอัตราการหายใจช้าลง นอกจากนี้มะม่วงที่ผ่านการอบไอน้ำจะช่วยชะลออัตราการหายใจของมะม่วงให้ลดลงได้

2.1.1.2 การเปลี่ยนแป้งไปเป็นน้ำตาล

ผลไม้จะเก็บสะสมอาหารอยู่ในรูปของแป้งหรือคาร์โบไฮเดรต ซึ่งจากการศึกษาของ Castrillo และคณะ (1992) พบว่าเมื่อมะม่วงสายพันธุ์ Haden ที่บ่มที่อุณหภูมิ 20.3 ± 0.02 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 85 ปริมาณแป้งลดลงอย่างช้า ๆ ซึ่งตรงกันข้ามกับปริมาณน้ำตาลซูโครสที่มากขึ้นอย่างรวดเร็วในวันที่บ่มที่ 6-8 วัน นอกจากนี้ Wongmetha และคณะ (2015) รายงานว่า ปริมาณแป้งที่ลดลงมีความสัมพันธ์กับการทำงานของเอนไซม์อะไมเลส เมื่อมะม่วงเข้าสู่กระบวนการสุกเอนไซม์จะย่อยแป้งเป็นน้ำตาล ทำให้มะม่วงมีรสชาติหวานมากขึ้น Medlicott และ Thompson (1985) ได้ศึกษาปริมาณน้ำตาลในมะม่วงพันธุ์ Keitt ในระหว่างการเข้าสู่กระบวนการสุกที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 85-90% พบว่า มะม่วงมีปริมาณน้ำตาลเพิ่มขึ้นโดยน้ำตาลที่ถูกพบมากที่สุดได้แก่ น้ำตาลซูโครส (57%) ฟรุคโทส (28%) และกลูโคส (25%) ซึ่งปริมาณน้ำตาลมีความสัมพันธ์กับค่าความหวานหรือค่า TSS (Liu และคณะ, 2013)

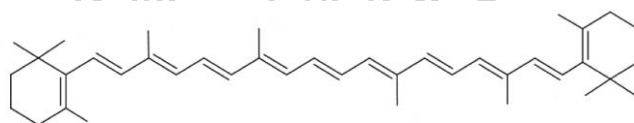
2.1.1.3 การลดลงของกรดอินทรีย์

กรดอินทรีย์ในมะม่วงจะมีปริมาณมากในผลอ่อน ทำให้มีสภาพความเป็นกรดภายในผลสูง ค่าพีเอชต่ำ ซึ่งจะช่วยป้องกันมะม่วงจากโรคและจุลินทรีย์ต่างๆ เนื่องจากสภาวะดังกล่าวไม่เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์ (Mitra, 1997) และลดลงเมื่อผลไม้เข้าสู่กระบวนการสุก เนื่องจากการใช้กรดซิตริกในกระบวนการหายใจ และนำไปใช้ในกระบวนการสร้างน้ำตาลส่งผลให้ปริมาณกรดลดลง (Baloch และ Bibi, 2012) ซึ่งส่งผลให้ค่าพีเอชสูงขึ้นภายหลังการเก็บเกี่ยว Medlicott และ Thompson (1985) ได้ทำการศึกษาปริมาณกรดในมะม่วงพันธุ์ Keitt ในระหว่างเข้าสู่กระบวนการสุกที่อุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 85-90% พบว่า ปริมาณกรดในมะม่วงมีค่าลดลงเมื่อระดับการสุกมากขึ้น โดยกรดอินทรีย์ที่พบมากที่สุด ได้แก่ กรดซิตริก และกรดมาลิก นอกจากนี้ยังพบกรดทาร์ทาริก ออกซาลิก แอสคอร์บิก และกรดแอลฟา-คีโตกลูตาริก แต่พบในปริมาณน้อย ในการศึกษาปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (TA) ของมะม่วงมีความสัมพันธ์กับกรดอินทรีย์ จากรายงานของ Ibarra-Garza และคณะ (2015) พบว่าค่า TA ของมะม่วงพันธุ์ Keitt มีค่าลดลงอยู่ในช่วง 0.90 - 0.65 % เมื่อมะม่วงเข้าสู่กระบวนการสุก ยังพบการลดลงของค่า TA ในระหว่างเข้าสู่กระบวนการสุกในมะม่วงพันธุ์ Tommy Atkins (Vásquez-Caicedo และคณะ, 2006) และ Dashehari (Jha และคณะ, 2006) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาในมะม่วงพันธุ์เคนท์ (Kent) ซึ่งจะมีปริมาณกรดลดลงเมื่อ

มะม่วงเริ่มแก่ขึ้น โดยกรดซิตริกเป็นกรดที่ลดลงมากที่สุด และกรดมาลิกในช่วงผลแก่จะมีปริมาณน้อย แต่จะลดลงมากในช่วงผลสุก สอดคล้องกับที่พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ malate dehydrogenase เพิ่มขึ้นระหว่างผลสุก โดยเกิดในช่วง climacteric peak (Medlicott และ Thompson, 1985)

2.1.1.4 ปริมาณแคโรทีนอยด์

มะม่วงมีสีเหลืองส้มเนื่องจากอุดมไปด้วยสารประกอบแคโรทีนอยด์ (carotenoids) ซึ่งเป็นรงควัตถุที่ไม่ละลายน้ำ ละลายได้ดีในน้ำมัน ดูดกลืนคลื่นแสงในช่วง 430 ถึง 450 นาโนเมตร มีสูตรโมเลกุลคือ $C_{40}H_{56}$ ซึ่งประกอบไปด้วย ไอโซพรีน 8 หน่วย และวงแหวนเบต้าไอโอโนนที่ปลายของโมเลกุลทั้งสองข้าง แคโรทีนอยด์ที่พบในมะม่วง ได้แก่ เบต้าแคโรทีน (β -carotene) ไวโอลาแซนทิน (violaxanthin) คริปโตแซนทิน (cryptoxanthin) ซีแซนทิน (zeaxanthin) นีโอแซนทิน (neoxanthin) ลูทีโอแซนทิน (luteoxanthin) ซึ่งแคโรทีนอยด์ที่พบมากที่สุดในมะม่วงคือ เบต้าแคโรทีน (Mercadante และ Rodriguez-Amaya, 1998) โครงสร้างของเบต้าแคโรทีนที่พบในมะม่วงแสดงดังภาพที่ 11



ภาพที่ 11 สูตรโครงสร้างของ β -carotene
ที่มา: Pénicaud และคณะ (2011)

เบต้าแคโรทีนที่พบในผลไม้ส่วนใหญ่มีโครงสร้างเป็น all-trans- β -carotene (Pénicaud และคณะ, 2011) เบต้าแคโรทีนมีคุณสมบัติในการเป็นสารแอนติออกซิเดชันช่วยป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ ช่วยลดความเสี่ยงจากการเกิดโรคต่าง ๆ เช่น มะเร็ง หลอดเลือดหัวใจ โรคต่อกระจุกและต่อหีน เป็นต้น (Anand และคณะ, 2022; Laophongphit และคณะ, 2023) นอกจากนี้แคโรทีนอยด์ยังเป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ (vitamin A) ซึ่งสามารถเปลี่ยนโครงสร้างให้อยู่ในรูปเรตินอล (retinol) และดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย (Giuliano และคณะ, 2008) trans- β -carotene มีคุณสมบัติในการเปลี่ยนโครงสร้างเป็นเรตินอลได้มากกว่า cis ไอโซเมอร์ โดย all-trans จะเปลี่ยนแปลงโครงสร้างเป็น cis ไอโซเมอร์ได้ด้วยความร้อนสูง แสง และกรด ซึ่งเป็นสาเหตุของการสูญเสียวิตามินเอ นอกจากนี้ การเกิดออกซิเดชันจากแสงทำให้ β -carotene เสื่อมสภาพได้

ในมะม่วงสายพันธุ์อื่น เช่น มะม่วงแก้ว Keitt และ Tommy Atkins มีปริมาณ all-trans- β -carotene เท่ากับ 11,680 4,580 และ 3,650 ไมโครกรัมต่อหนึ่งร้อยกรัมน้ำหนักแห้ง (Pott และ

คณะ, 2003) ปริมาณเบต้าแคโรทีนของมะม่วงที่พบจะมีปริมาณที่แตกต่างกัน เนื่องจากอิทธิพลของระดับการสุกที่เปลี่ยนแปลงไป และสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ การเปลี่ยนแปลงระดับการสุกจากมะม่วงดิบแก่เป็นมะม่วงสุกส่งผลให้พบปริมาณ all-trans- β -carotene ของมะม่วง Keitt มีค่าสูงขึ้นจาก 1.7 เป็น 6.7 ไมโครกรัมต่อกรัมตัวอย่าง

2.1.1.5 การผลิตเอทิลีน

เอทิลีน (C_2H_4) เป็นสารประกอบที่มีบทบาทสำคัญต่อการสุกของผลไม้โดยจะไปกระตุ้นการเปลี่ยนแปลงต่างๆ เช่น การสลายคลอโรฟิลล์ การเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล รวมไปถึงกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ต่างๆของผลไม้ ส่งผลให้มะม่วงสุก ซึ่งผลไม้จะมีการสังเคราะห์เอทิลีนจำนวนมากในระหว่างการสุก

2.1.1.6 ดัชนีการสุก (Ripening Index, RPI)

จากการเปลี่ยนแปลงภายหลังการเก็บเกี่ยวของมะม่วงส่งผลต่อคุณภาพที่เปลี่ยนแปลงไปของมะม่วง ได้แก่ ความแน่นเนื้อ TSS, TA, pH, ค่าสี ความชื้น ปริมาณแคโรทีนอยด์ และแอนติออกซิแดนท์ เป็นต้น (Baloch และ Bibi, 2012; Mahayothee และคณะ, 2007) ค่า RPI คำนวณจากความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนหวานเปรี้ยว (TSS/TA) กับค่าความแน่นเนื้อ ซึ่งเป็นคุณภาพพื้นฐานที่สัมพันธ์กับการสุกของมะม่วงที่ส่งผลกระทบต่อรสชาติ โดยค่า RPI ที่ได้สามารถอธิบายการสุกของมะม่วง ซึ่งมะม่วงสุกจะมีค่า RPI น้อยลงและมะม่วงดิบจะมีค่า RPI มากขึ้น (Mahayothee และคณะ, 2007; Vásquez-Caicedo และคณะ, 2005)

มะม่วงเป็นผลไม้ประเภท climacteric fruit ซึ่งสามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงภายหลังการเก็บเกี่ยวได้ ดังนั้นมะม่วงจึงมีอายุการเก็บรักษาสั้นและเน่าเสียง่าย และสูญเสียสารอาหารที่มีคุณค่าไปในช่วงหลังการเก็บเกี่ยว และส่งผลให้มูลค่าทางการตลาดลดลง (Ntsoane และคณะ, 2019) ดังนั้นจึงมีการแปรรูปที่เหมาะสม เช่น การทำแห้ง หรือการทำมะม่วงกวน

2.3 มะม่วงกวน

มะม่วงกวน หรือมะม่วงแผ่นตากแห้ง เป็นการแปรรูปโดยใช้มะม่วงที่มีรสเปรี้ยวหรือสุกเกินไปไม่เหมาะกับการบริโภค จึงนำมาทำเป็นผลิตภัณฑ์มะม่วงกวน ซึ่งการกวนจะทำให้น้ำตาลส่วนหนึ่งเปลี่ยนไปเป็น invert sugar ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีเนื้อเหนียว ผิวเยิ้ม และรสเปรี้ยวหวาน ซึ่งต่างจากมะม่วงกวนที่มีกรดน้อย ทำให้มะม่วงกวนมีผิวแห้ง (นิยมวิทย์, 2530)

ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน มพช.๓๕/๒๕๔๖ ผลไม้กวนมีขอบข่ายที่ครอบคลุมถึงผลไม้ทุกชนิดที่สามารถนำมากวนได้ อาจเป็นทั้งผลหรือส่วนหนึ่งของผล และผลไม้กวนหมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำผลไม้ที่อยู่ในสภาพดี ไม่เน่าเสีย มากวนโดยใช้ความร้อนตามความเหมาะสม เพื่อลด

ความชื้น โดยอาจนำไปผ่านกรรมวิธีอื่นจนได้ลักษณะที่ต้องการ ทั้งนี้อาจปรุงแต่งสี กลิ่น รส หรือเนื้อสัมผัสด้วยส่วนประกอบอื่นที่เหมาะสม เช่น น้ำตาล เกลือ กะทิ นอกจากนี้คุณภาพทางจุลินทรีย์ต้องมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดต้องไม่เกิน 1×10^4 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม ผลผลิตภัณฑ์มะม่วงกวนที่พบในท้องตลาดแสดงดังภาพที่ 12

นอกจากนี้ในต่างประเทศยังให้นิยามมะม่วงกวนหรือ Mango leather คือการนำเนื้อผลไม้สด หรือส่วนผสมของน้ำผลไม้และส่วนผสมอื่นๆ ที่เกี่ยวข้องกับการลดปริมาณน้ำในมะม่วงกวน จากนั้นทำแห้งที่อุณหภูมิ 30–80 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมงหรือจนกระทั่งปริมาณความชื้น 12–20% (Kuria และคณะ, 2021) มะม่วงกวนสามารถใช้มะม่วงได้หลายสายพันธุ์ โดยที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) ทั้งหมด ซึ่งบ่งชี้ถึงความหวาน อยู่ระหว่าง 12.0 ถึง 23.0 °Brix ของพันธุ์มะม่วงสุก ในขณะที่ปริมาณกรดแอสคอร์บิกอยู่ระหว่าง 0.68 ถึง 3.88 mg/kg (Jha และคณะ, 2010)



ภาพที่ 12 ผลผลิตภัณฑ์มะม่วงกวนที่วางขายในตลาด

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัตถุดิบ สารเคมี เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

3.1.1 สารเคมี

- อาหารเลี้ยงเชื้อ Lactobacillus MRS broth (Himedia™, India)
- อาหารเลี้ยงเชื้อ Lactobacillus MRS agar (Himedia™, India)
- โซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride, AR.grade, Qrec, Newzealand)
- น้ำกลั่น (distilled water, Vunique, Thailand)
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide) 0.1 นอร์มัล (Merck, Germany)
- แผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ aerobic count plate (PetriFilm, 3M, MN, USA)
- แผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อ yeast and mold count plates (PetriFilm, 3M, MN, USA)
- คริสตัลไวโอเล็ต (crystal violet, mpimpex, Thailand)
- สารละลายไอโอดีน (gram iodine, mpimpex, Thailand)
- ซาฟรานิน (safranin, mpimpex, Thailand)
- เอทิลแอลกอฮอล์ 95% (ethyl alcohol, mpimpex, Thailand)
- กลีเซอรอล 99.5% (glycerol, KemAus™, Australia)

3.1.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

- เครื่องวัดสี (ColorFlex EZ Spectrophotometer, Hunterlab, Reston, VI, USA)
- เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง (analytical balance รุ่น BP 221, Sartorius AG, Inc., Germany)
- เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 2 ตำแหน่ง (analytical balance, รุ่น TE 3102S, Sartorius AG, Inc., Germany)
- เครื่องวัดค่าวอเตอร์แอกติวิตี (benchtop water activity meter รุ่น AQUALAB 4TE, METER Group, Inc., USA)
- เครื่องอบแห้งลมร้อนแบบถาด (tray dryer, บริษัทกล้วยน้ำไท เทรตดิง กรุ๊ป จำกัด, ประเทศไทย)
- ตู้แช่เยือกแข็งแบบปกติ (conventional freezer, ยี่ห้อ Panasonic)
- ตู้แช่เยือกแข็งแบบเร็ว (air blast freezer, ยี่ห้อ HIBER รุ่น GCM015s, Italy)
- เครื่องวัดค่าพีเอช (pH-meter รุ่น S220 SevenCompact™ pH/Ion, USA)
- ตู้อบลมร้อนแบบมีพัดลม (hot air oven, รุ่น FD53, Binder, Germany)

- มาตราวัดดัชนีหักเห (digital refractometer, รุ่น Pal 1, Atago Co.Ltd., Japan)
- เครื่องปั่นละเอียด (homogenizer รุ่น Ultra Turax T25 basic IKA, Germany)
- เครื่องตีบดตัวอย่าง (stomacher Lab blender, รุ่น 400 Circulator, ยี่ห้อ Seward, England)
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath, รุ่น MEM-1, Memmert, Germany)
- เครื่องหม้อนึ่งอัตโนมัติ (autoclave, รุ่น SS-325, TOMY SEIKO Co., Ltd., Japan)
- ตู้บ่มเพาะเชื้อ (incubator รุ่น IF450, ขนาด 449 ลิตร, MEMMERT, Germany)
- ตู้ปลอดเชื้อ (laminar flow hood) (HBB 2448 Holten Laminar Air, Thermo Scientific, MA, USA)
- เครื่องแยกสารแบบหมุนเหวี่ยง (centrifuge, ยี่ห้อ Hettich รุ่น Universal 16)
- เครื่องเขย่าสาร (vortex-Genie 2 G560E, Scientific Industries, NY, USA)
- เครื่องกวนสารละลาย (low Speed Magnetic Stirrer, ยี่ห้อ OkWell, Progress Technical Co.,Ltd., Thailand)
- เครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง (laboratory freeze dryer, ยี่ห้อ Telstar รุ่น Lyoq, Meditop Co., Ltd., Thailand)
- หลอดไฟฆ่าเชื้อทึบ (ยี่ห้อ Philips รุ่น 30W T8, พูจิสยาม ๘๘๘ จำกัด., Thailand)

3.1.3 วัตถุดิบ

เนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่มีการเติมน้ำตาลทรายและกรดซิตริก เพื่อปรับให้ค่า TSS เท่ากับ 31.14 ± 0.61 และค่าพีเอช เท่ากับ 4.09 ± 0.03 จากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนสตรีแปรรูปผลไม้ อำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทรา สำหรับศึกษาในหัวข้อ 3.2.6, 3.2.8 และ 3.2.10 ทำการบรรจุลงในถุงซีลสุญญากาศไนลอน ขนาด 20 เซนติเมตร x 25 เซนติเมตร น้ำหนักถุงละ 1.0 กิโลกรัม จำนวน 60 ถุง ขนส่งมายังห้องปฏิบัติการโดยบรรจุลงในกล่องโฟม กล่องละ 20 ถุง รักษาอุณหภูมิให้เย็นตลอดระยะเวลาการขนส่งที่อุณหภูมิกึ่งกลางกล่องโฟมเท่ากับ 12.6-13.6 องศาเซลเซียส ด้วยน้ำแข็งแห้งจำนวน 4 กิโลกรัมต่อกล่อง ใช้ระยะเวลาการขนส่ง 4 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเก็บรักษาในตู้แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส ก่อนทำการทดลองจะนำตัวอย่างจำนวน 1.0 กิโลกรัม มาละลายในตู้แช่เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทำการวัดคุณภาพทางเคมี ได้แก่ ปริมาณความชื้น, ค่าวอเตอร์แอกติวิตี, ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ค่าพีเอช และปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ คุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ ค่าสี และคุณภาพทางจุลินทรีย์ ได้แก่ จำนวนจุลินทรีย์

ทั้งหมด ปริมาณยีสต์และรา จำนวน 2 ซ้ำ กระบวนการบรรจุและขนส่งเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดแสดง
 ดังภาพที่ 13



เนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้น บรรจุถุงละ 1 kg ใส่ลังโฟม เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 °C
 ขนส่งมาห้องปฏิบัติการ

ภาพที่ 13 แสดงขั้นตอนกระบวนการบรรจุและขนส่งเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดจากกลุ่มวิสาหกิจชุมชน
 สตรีแปรรูปผลไม้ ในหัวข้อ 3.2.6, 3.2.8 และ 3.2.10

เนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่ไม่มีการเติมน้ำตาลทรายและกรดซิตริก มีค่า TSS เท่ากับ
 28.14 ± 0.18 °Brix และค่าพีเอช เท่ากับ 5.29 ± 0.03 จากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนสตรีแปรรูปผลไม้
 อำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทรา สำหรับศึกษาในหัวข้อ 3.2.11 ทำการบรรจุลงในถุงซิลิโคนสุญญากาศ
 ไนลอน ขนาด 20 เซนติเมตร x 25 เซนติเมตร น้ำหนักถุงละ 250 กรัม จำนวน 96 ถุง ขนส่งมายัง
 ห้องปฏิบัติการโดยบรรจุลงในกล่องโฟม กล่องละ 32 ถุง รักษาอุณหภูมิให้เย็นตลอดระยะเวลาการ
 ขนส่งที่อุณหภูมิที่กลางกล่องโฟมเท่ากับ 12.6-13.6 องศาเซลเซียส ด้วยน้ำแข็ง 1 กระสอบต่อกล่อง
 ใช้ระยะเวลาการขนส่ง 4 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเก็บรักษาในตู้แช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -18 องศา
 เซลเซียส ก่อนทำการทดลองจะนำตัวอย่างจำนวน 250 กรัม มาละลายในตู้แช่เย็นอุณหภูมิ 4 องศา
 เซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทำการวัดคุณภาพทางเคมี ได้แก่ ปริมาณความชื้น, ค่าวอเตอร์แอกติ
 วิตี, ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ค่าพีเอช และปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ คุณภาพทางกายภาพ
 ได้แก่ ค่าสี และคุณภาพทางจุลินทรีย์ ได้แก่ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ปริมาณยีสต์และรา จำนวน 2
 ซ้ำ กระบวนการบรรจุและขนส่งเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดแสดงดังภาพที่ 14



เนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้น

บรรจุแบบสุญญากาศในถุงซิลิโคนลอน
(250 กรัม/ถุง)96 ถุง บรรจุลงในกล่องโฟม
ขนส่งไปยังห้องปฏิบัติการ
(32ถุง/กล่อง) และเก็บในตู้แช่
เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -18 °C

ภาพที่ 14 แสดงขั้นตอนกระบวนการบรรจุและขนส่งเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดจากกลุ่มวิสาหกิจชุมชน สตรีแปรรูปผลไม้ สำหรับศึกษาในหัวข้อ 3.2.11

เชื้อจุลินทรีย์ที่ศึกษา ได้แก่ *Lactobacillus plantarum* TISTR 543 และ *Lactobacillus rhamnosus* TISTR 2443 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ซึ่งเป็นผงเชื้อจุลินทรีย์ที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง แสดงดังภาพที่ 15



ภาพที่ 15 หลอดบรรจุผงเชื้อจุลินทรีย์ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* จากสถาบันวิจัย วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การวิเคราะห์คุณภาพเริ่มต้นของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้น ได้แก่

3.2.1.1 คุณภาพทางกายภาพ

(1) ค่าสี

วิเคราะห์ค่าด้วยด้วยเครื่องวัดสี (Colorflex EZ 45-0(LAV), HunterLab, USA) ในหน่วย CIE $L^*a^*b^*$ โดยใส่เนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้น 25 กรัม ในถ้วยควอตซ์ และนำมาวางบนช่องวัด ตัวอย่างขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.4 เซนติเมตร ดังภาพที่ 22 จากนั้นนำค่า L^* , a^* และ b^* มา คำนวณหาค่า Chroma (C^*), Hue angle (h^*) และ ΔE ดังสมการที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ ทำการ วิเคราะห์ 2 ซ้ำ ต่อ 1 ทริตเมนต์

$$\text{Chroma} = \sqrt{a^2 + b^2}$$

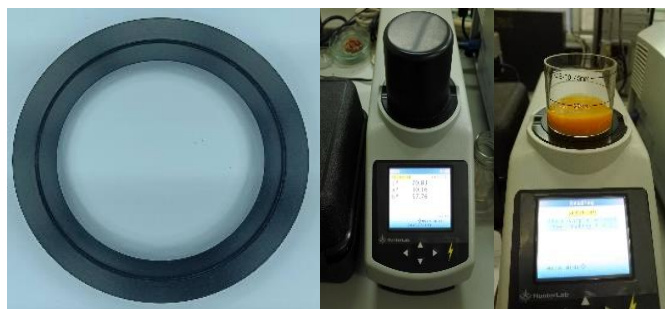
สมการที่ 1

$$\text{hue angle} = \tan^{-1} \frac{b^*}{a^*}$$

สมการที่ 2

$$\Delta E = \sqrt{\Delta L^* + \Delta a^* + \Delta b^*}$$

สมการที่ 3



ภาพที่ 16 ขั้นตอนและอุปกรณ์การวัดสี

(2) ลักษณะปรากฏ

การถ่ายภาพจะใช้กล้องถ่ายภาพยี่ห้อ Nikon รุ่น 1J5 โดยนำเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นใส่ถ้วยควอตซ์ 25 กรัม และนำมาวางในกล่องถ่ายภาพทรงสี่เหลี่ยมมุมฉากที่มีการควบคุมแสงโดยบุผนังด้วยผ้ากำมะหยี่สีดำภายในตู้ ขนาด กว้าง 38.5 cm สูง 40 cm ลึก 38.0 cm โดยปริมาตรพื้นที่ที่แสงกระจายขนาด กว้าง 38.5 ซม. สูง 16.5 ซม. ลึก 38.0 ซม. ดังแสดงในภาพที่ 23 แหล่งกำเนิดแสงคือ DAI-CHI ชุดหลอดโคมไฟเพดานแบบ LED กำลังไฟฟ้า 24 วัตต์ แรงดันไฟฟ้า 220-240 โวลต์ การสั่นสะเทือนของกระแสไฟฟ้า 50/60 Hz



ภาพที่ 17 อุปกรณ์ที่ใช้ในการถ่ายภาพลักษณะปรากฏ

3.2.1.2 คุณภาพทางเคมี

(1) ปริมาณความชื้น (moisture content; MC)

นำกระป๋องอะลูมิเนียมมาอบไล่ความชื้นที่ตู้อบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเก็บในโถดูดความชื้นก่อนนำมาใช้งาน ทำการวิเคราะห์เนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้น โดยชั่งน้ำหนักกระป๋องอะลูมิเนียม และชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 5.00 ± 0.05 กรัม ด้วยเครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง และบันทึกน้ำหนักกระป๋องอะลูมิเนียมรวมกับตัวอย่าง จากนั้นนำไปเข้าตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (AOAC, 1990) จนความชื้นเข้าสู่สมดุลหรือจนน้ำหนักคงที่ จากนั้นบันทึกน้ำหนักหลังอบแห้ง พร้อมทั้งคำนวณค่าปริมาณความชื้นฐานแห้ง ดังสมการที่ 4 ทำการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ ต่อ 1 ทรีตเมนต์ โดยวิธีการทดลองแสดงดังภาพที่ 18

$$MC (w.b.) = \left(\frac{W_i - W_t}{W_i} \right) \times 100$$

สมการที่ 4

เมื่อ MC หมายถึง ปริมาณความชื้นฐานเปียกในหน่วยเปอร์เซ็นต์

W_i คือ น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

W_t คือ น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)



ภาพที่ 18 การเตรียมตัวอย่างและการวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

(2) ค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ (water activity; aw)

ทำการวิเคราะห์เนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้น โดยใส่ตัวอย่างมะม่วงกวนบดละเอียดใส่ถ้วย สำหรับวิเคราะห์ค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ และนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่องวัดค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ ที่อุณหภูมิ 25 ± 0.2 °C ดังภาพที่ 18 ทำการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ ต่อ 1 ทริตเมนต์



ภาพที่ 19 ขั้นตอนการวิเคราะห์หาค่าวอเตอร์แอกติวิตี้

(3) วิเคราะห์ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (TA)

ทำการวิเคราะห์เนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นก่อนและหลังเสริมโพรบิโอติก โดยชั่งตัวอย่างเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นใส่ขวดรูปชมพู่ให้ได้น้ำหนัก 5.00 ± 0.05 กรัม จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาณ 100 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องโฮโมจีไนซ์ (homogenizer รุ่น Ultra Turax T25 basic IKA, Germany) เป็นระยะเวลา 1 นาที แล้วหยดฟีนอล์ฟทาลีน 3-4 หยด และนำไปไทเทรตด้วย 0.1 N NaOH จนกระทั่งสารละลายสีเหลืองเปลี่ยนเป็นสีชมพูอมส้ม บันทึกปริมาตรของ 0.1 NaOH ที่ใช้ และนำมาวิเคราะห์ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ และคำนวณค่า % TA โดยเทียบกับกรดซิตริก ตามสมการที่ 5 และทำการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ ต่อ 1 ทริตเมนต์

$$TA (\%) = \frac{\text{ปริมาตร NaOH (ml)} \times (0.1 \text{ N NaOH}) \times 0.064 \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (g)}} \quad \text{สมการที่ 5}$$

เมื่อ 0.064 คือ citric acid equivalent

(4) วิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (TSS)

นำเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นมาปั่นให้ละเอียดอีกครั้งด้วยเครื่องโฮโมจีไนซ์เป็นเวลา 1 นาที กรองผ่านผ้าขาวบาง และวัดด้วยเครื่องวัดค่าความหวานแบบดิจิตอล (Digital refractometer, รุ่น Pal 1, Atago Co.Ltd., Japan) ดังภาพที่ 26 ทำการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ ต่อ 1 ทริตเมนต์

(5) วิเคราะห์ค่าพีเอช

นำเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นมากรองผ่านผ้าขาวบางและวิเคราะห์ค่าพีเอชด้วยเครื่อง pH meter (pH-meter รุ่น S220 SevenCompact™ pH/lon, USA) ดังภาพที่ 27 ทำการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ ต่อ 1 ทริตเมนต์

3.2.1.3 คุณภาพทางจุลินทรีย์

(1) การวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด

ทำการวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดโดยประยุกต์จากวิธีของ (AOAC, 2000) โดยนำเนื้อมะม่วงกวนปั่นละเอียดเข้มข้นมาชั่งตัวอย่างจำนวน 10 ± 0.05 กรัม ผสมกับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.9 (w/v) ที่ปลอดเชื้อ 90 มิลลิลิตร ก่อนนำไปตีบดตัวอย่างด้วยเครื่องตีบดตัวอย่าง และนำมาทำ serial dilution ด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.9 (w/v) ที่ปลอดเชื้อ ที่ความเข้มข้น 10^{-1} , 10^{-2} และ 10^{-3} จากนั้นปิเปตมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปแบบรวดเร็ว 3M Petrifilm Rapid Plate สำหรับทดสอบแอโรบิกแบคทีเรีย (AC) ทำการกดไล่อากาศออกจากแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปแบบรวดเร็ว รอประมาณ 1 นาที หรือจนเจลแข็งตัวจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง นับโคโลนีในช่วง 25-250 โคโลนี และคำนวณหาเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกเป็น CFU/g ตามสมการที่ 6 โดยทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ ต่อ 1 ทริตเมนต์

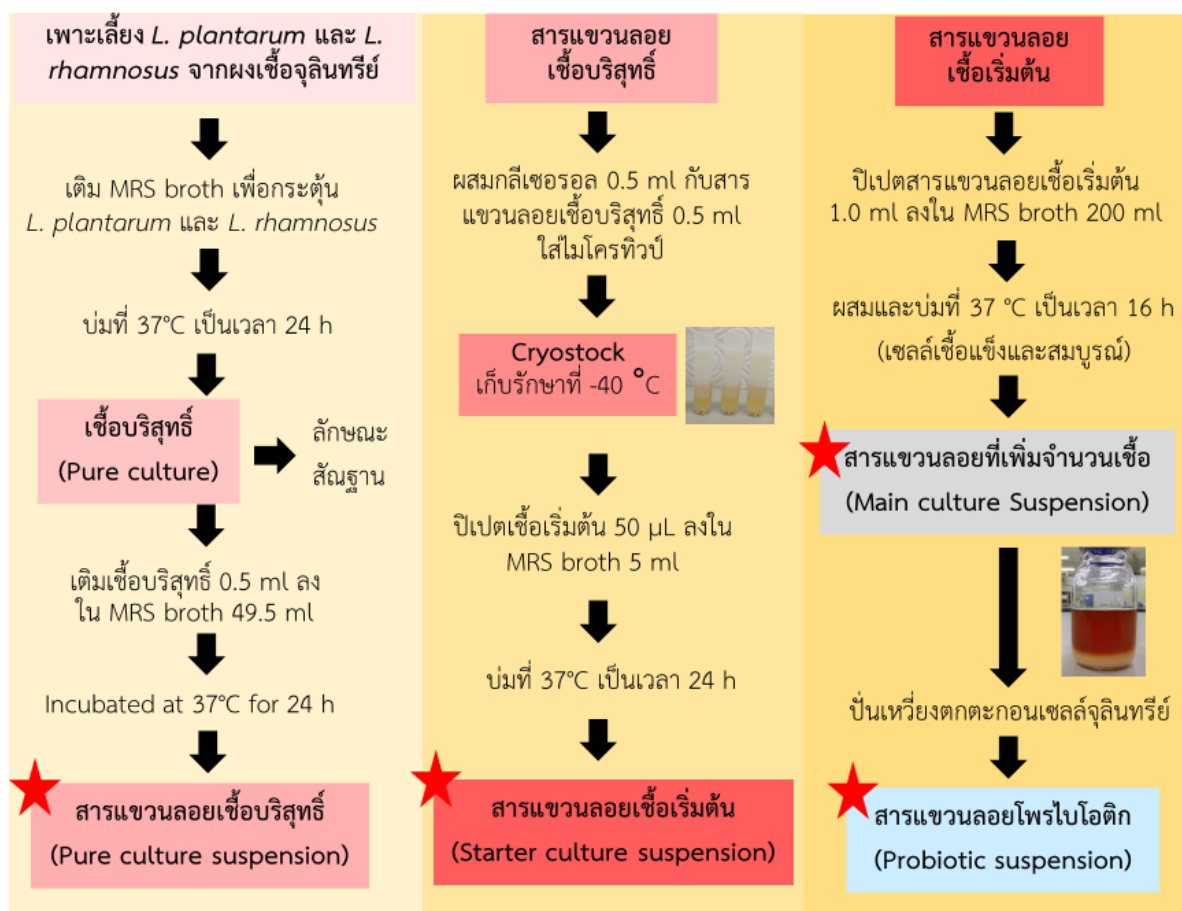
$$\text{จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด} = \frac{\text{จำนวนโคโลนีที่นับได้}}{\text{ปริมาตรของตัวอย่าง} \times \text{ระดับความเจือจางที่นับได้}} \quad \text{สมการที่ 6}$$

(2) การวิเคราะห์ปริมาณยีสต์และรา

ทำการวิเคราะห์ปริมาณยีสต์และรา โดยนำเนื้อมะม่วงกวนปั่นละเอียดเข้มข้นมาชั่งจำนวน 10 ± 0.05 กรัม ผสมกับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.9 (w/v) ที่ปลอดเชื้อ 90 มิลลิลิตร ก่อนนำไปตีบดตัวอย่างด้วยเครื่องตีบดตัวอย่าง และนำมาทำ serial dilution ด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.9 (w/v) ที่ปลอดเชื้อ ที่ความเข้มข้น 10^{-1} , 10^{-2} และ 10^{-3} จากนั้นปิเปตมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปแบบรวดเร็ว 3M Petrifilm Rapid Plate สำหรับทดสอบยีสต์และ รา (YM) ทำการกดไล่อากาศออกจากแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปแบบรวดเร็ว รอประมาณ 1 นาที หรือจนเจลแข็งตัวจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศา

เซลล์เชื้อส เป็นเวลา 3-5 นับโคโลนีในช่วง 25-250 โคโลนี และคำนวณหาปริมาณยีสต์และราเป็น CFU/g ตามสมการที่ 6 โดยทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ ต่อ 1 ทริตเมนต์

ในการทดลองจะต้องทำการเตรียมจุลินทรีย์โพรไบโอติกก่อนการทดลอง โดยมีกระบวนการทดลองโดยรวมตั้งแต่การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์จากผงเชื้อจุลินทรีย์ที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งไปจนถึงการเตรียมสารแขวนลอยโพรไบโอติกที่ใช้ในการทดลอง ดังภาพที่ 20



ภาพที่ 20 กระบวนการเตรียมเชื้อ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus*

3.2.2 การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์จากหลอดเชื้อแห้งแข็ง (Revival of Freeze-Dried Culture)

ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์จากหลอดเชื้อแห้งแข็ง คือ *L. plantarum* TISTR 543 และ *L. rhamnosus* TISTR 2443 ตามวิธีของสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยดังภาพที่ 21 ดังนี้

3.2.2.1 ใช้กระดาศทึชชูปแอลกอฮอล์ 70% พอหมดเขตบริเวณรอบๆ หลอดจูลินทรี (ampoule) จากนั้นใช้ตะไบเหล็ก เลื่อยลงบนหลอดบริเวณกึ่งกลางสำลึให้เป็นรอยลึกลงไปในเนื้อแก้ว

3.2.2.2 ใช้ผ้าที่มีความหนาและสะอาดรองและมีกระดาศทึชชูปแอลกอฮอล์ 70% (จากข้อ 3.2.1.1) หุ้มหลอดจูลินทรีไว้

3.2.2.3 ทำการหักหลอดจูลินทรี โดยใช้นิ้วหัวแม่มือทั้งสองกดเบาๆ บริเวณที่ด้านตรงข้ามกับรอยเลื่อยนั้น

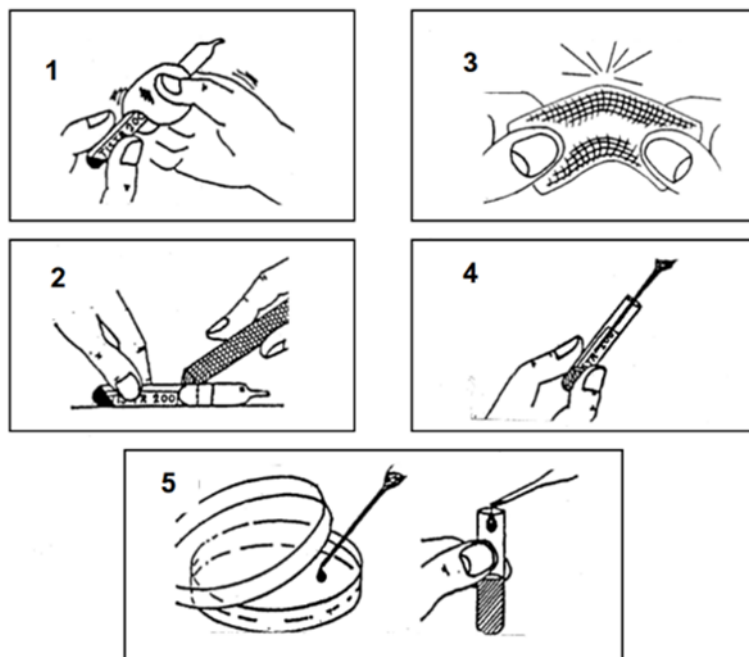
3.2.2.4 ดึงปลายหลอดจูลินทรีและสำลึทิ้งในขวดน้ำยาฆ่าเชื้อ ใช้ Pasture pipette ดูดอาหารเหลวที่เหมาะสมกับจูลินทรีแต่ละชนิด ประมาณ 0.3-0.4 มิลลิลิตร จากปริมาตร 5 มิลลิลิตร ถ่ายลงในหลอดจูลินทรี เพื่อละลายสารผสมเซลล์จูลินทรีในหลอด ต้องทำในสภาพที่ปลอดเชื้อ

3.2.2.5 ดูดสารละลายผสมเซลล์จูลินทรี จากหลอดจูลินทรีให้หมด พร้อมกับเชี่ยกระดาศรหส์เชื้อใส่ลงในหลอดอาหารเหลวเดิม จากนั้นหยดสารละลายเซลล์จูลินทรีลงบนจานอาหารแข็ง (agar plate) จำนวน 1 หยด สารละลายเซลล์จูลินทรีที่เหลือทั้งหมดถ่ายใส่ลงในอาหารเหลวในข้อ

3.2.2.4 สำหรับเซลล์จูลินทรีที่หยดลงบนจานอาหารแข็งใช้ห่วงเหล็ก (loop) ฆ่าเชื้อเชี่ยกระจายเชื้อ (streak plate) ให้ได้เป็นโคโลนีเดี่ยวๆ

3.2.2.6 จูลินทรีที่ถ่ายลงในอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว (ทั้งในจานอาหารเลี้ยงเชื้อแบบแข็งและในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลว) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ และเวลาที่เหมาะสมของจูลินทรีแต่ละชนิด เพื่อดูการเจริญของจูลินทรี

หมายเหตุ : ในกรณีที่ยังไม่เปิดหลอดจูลินทรี ควรเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียส เพื่อยืดอายุการใช้งาน



ภาพที่ 21 แสดงวิธีการเพาะจุลินทรีย์จากหลอดเชื้อแห้งแข็ง (Revival of Freeze-Dried Culture)
ที่มา : สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (2560)

3.2.3 การศึกษาลักษณะพื้นฐานของแบคทีเรียโพโรไบโอติก

เป็นการศึกษาเซลล์ของแบคทีเรียร่วมกับกล้องจุลทรรศน์ใช้แสง (light microscope) เพื่อส่องดูลักษณะของเซลล์แบคทีเรียว่ามีลักษณะ กลม หรือแท่ง เคลื่อนที่หรือไม่เคลื่อนที่ ถ้าเป็นแบคทีเรียแกรมลบจะติดสีแดงของซาฟรานิน (safranin) ขณะที่แบคทีเรียแกรมบวกจะไม่ติดสีแดง และยังคงสีม่วงของคริสตัลไวโอเลต (crystal violet) เหมือนเดิม วิธีการย้อมแกรมแสดงดังภาพที่ 16 โดยเริ่มตั้งแต่การเกลี่ยเชื้อ (smear) บนสไลด์ให้กระจายเป็นฟิล์มบาง ๆ ไม่ให้หนาแน่นมากเกินไป และปล่อยให้แห้งในอากาศ (air dry) ทำการตรึงเชื้อ (fix) ให้ติดแน่นกับสไลด์ ทำให้ไม่หลุดออกขณะย้อมสี การตรึงเชื้อทำได้โดยการผ่านสไลด์ที่เกลี่ยเชื้อไว้แล้วไปบนเปลวไฟอย่างรวดเร็ว 2-3 ครั้ง จากนั้นหยดสีคริสตัลไวโอเลตบนรอยเกลี่ยของเชื้อให้ท่วม ทิ้งไว้ 1 นาที แล้วเทสีทิ้ง ตามด้วยหยดสารละลายไอโอดีน (lugol's iodine) บนรอยเกลี่ยของเชื้อ ทิ้งไว้ 1 นาที เทสารละลายทิ้ง สารละลายไอโอดีนทำหน้าที่เป็นมอร์แดนต์ (mordant) ช่วยให้เซลล์ติดสีย้อมได้ดีขึ้น และล้างสีออก (decolorize) ด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ 95% ทิ้งไว้ประมาณ 15 วินาที ล้างน้ำสะอาด ขั้นตอนการล้างน้ำนี้สำคัญมากเพราะเป็นการหยุดปฏิกิริยาการล้างสี สุดท้ายหยดสีซาฟรานินบนรอยเกลี่ย ทิ้งไว้ประมาณ 15-30 วินาที ล้างน้ำและซับให้แห้งจากนั้นตรวจดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ แสดงดังภาพที่ 22



ภาพที่ 22 แสดงวิธีการย้อมแกรมแบคทีเรียโพรโปโตติก

3.2.4 การเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์ (Cryostock)

นำเชื้อจุลินทรีย์ที่เพาะเลี้ยงไว้ในข้อที่ 3.2.2 มาเตรียมทำหัวเชื้อต่อ โดยดูดเชื้อ *L. plantarum* TISTR 543 และ *L. rhamnosus* TISTR 2443 มา 0.05 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 5 มิลลิลิตร และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำหลอดทดลองที่มีเชื้อแบคทีเรียมาเพาะเลี้ยงต่อ โดยปิเปตสารแขวนลอยเชื้อ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* มา 0.5 มิลลิลิตร ใส่ในขวดดูแรนที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 49.5 มิลลิลิตร และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการฆ่าเชื้ออุปกรณ์และกลีเซอรอล โดยนำไปเข้าเครื่องนิ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส และใช้ไมโครปิเปตดูดกลีเซอรอลใส่หลอดไมโครทิวป์ หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร ทั้งหมด 80 หลอด และปิเปตสารแขวนลอยเชื้อ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* ในขวดดูแรนที่บ่มไว้ ใส่หลอดไมโครทิวป์ หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร สายพันธุ์ละ 40 หลอด เขย่าให้ผสมกันด้วยเครื่องเขย่าสาร จากนั้นนำไปเก็บรักษาที่ตู้แช่เยือกแข็ง อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส ก่อนนำมาทดลองให้นำออกมาละลายก่อนเป็นเวลา 10 นาที ก่อนนำไปใช้งาน ขั้นตอนการเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์แสดงดังภาพที่ 23

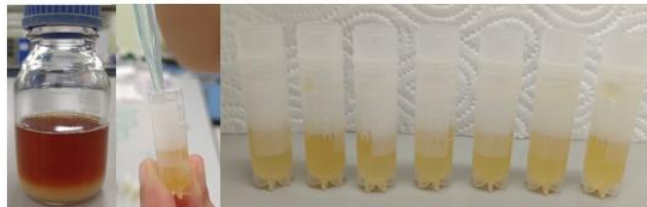
ปิเปตเชื้อ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* ที่เพาะเลี้ยงไวโนซ้อที่ 3.2.1 มา 0.05 มล. ใส่ MRS broth 5 มล. และนำไปบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง



เพาะเลี้ยงต่อโดยปิเปตเชื้อ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* มา 0.5 มล. ใส่ในขวดตูแรนที่มี MRS broth 49.5 มล. และนำไปบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง



ปิเปตกลีเซอรอลใส่หลอดไมโครทิวป์ หลอดละ 0.5 มล. และนำไปฆ่าเชื้อ



ปิเปตเชื้อ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* ใส่หลอดไมโครทิวป์ หลอดละ 0.5 มล.



เก็บรักษาที่ตู้แช่เยือกแข็ง อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส

ภาพที่ 23 แสดงขั้นตอนการเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์

3.2.5 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการบ่มจุลินทรีย์จากกราฟการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus*

การวัดความขุ่นเป็นวิธีการวัดการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเหลว โดยที่จุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตแล้วทำให้อาหารขุ่น จึงวัดความขุ่นด้วยวิธีการวัดค่าการดูดกลืนแสง (optical density; OD) ที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ซึ่งตัดแปลงจากจรรยาและคณะ (2541) ดังนี้

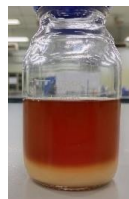
นำเชื้อจุลินทรีย์ที่เพาะเลี้ยงไว้ในข้อที่ 3.2.4 มาเตรียมทำหัวเชื้อโพรไบโอติก โดยปิเปตเชื้อ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* มา 0.05 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 5 มิลลิลิตร และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำหลอดทดลองที่มีเชื้อมาเพาะเลี้ยงต่อ โดยปิเปตเชื้อ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* มา 3 มิลลิลิตร ใส่ในขวดคูแรนที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 600 มิลลิลิตร และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในระหว่างการบ่มให้สุ่มตัวอย่างมาวัดความขุ่นด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร (OD630) และตรวจนับเซลล์จุลินทรีย์ที่เวลา 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32 และ 36 ชั่วโมง ทำการปิเปตสารแขวนลอยแบคทีเรียโพรไบโอติก *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* มา 3 มิลลิลิตร ลงในคิวเวตควอตซ์ และนำมาวัดความขุ่นที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร โดยใช้ MRS broth เป็น blank และนับจำนวนเชื้อโดยการใช้การตรวจนับเซลล์จุลินทรีย์แบบ viable plate count ด้วยวิธี pour plate ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงและจำนวนเซลล์จุลินทรีย์ที่ได้ไปสร้างกราฟการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติก *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* ขั้นตอนการวัดการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์แสดงดังภาพที่ 24



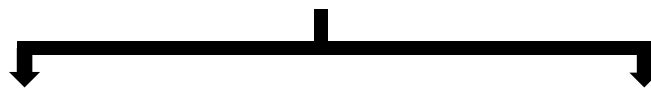
ขยายหัวเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก *Lactobacillus plantarum* และ *Lactobacillus rhamnosus* ลงใน MRS broth และนำไปบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง



ปิเปตเชื้อ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* ที่ผ่านการบ่ม 3 มล. ลงใน MRS broth 600 มล. และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส



สุ่มตัวอย่างที่เวลา 0, 4, 8, 12, 16, 20, 24, 28, 32 และ 36 ชั่วโมง



ตรวจนับเซลล์จุลินทรีย์แบบ viable plate count ด้วยวิธี pour plate ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar นำไปบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง



วัดความขุ่นด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร

ภาพที่ 24 แสดงขั้นตอนการวัดการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

3.2.6 การหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำแห้ง จากการศึกษาพฤติกรรมการทำแห้งของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่เติมน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และอบแห้งด้วยตู้อบแห้งลมร้อนแบบถาดที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส

นำเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นแช่แข็งจากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนสตรีแปรรูปผลไม้ อ.บางคล้า จ.ฉะเชิงเทรา จำนวน 1 ถุง มาละลายในตู้แช่เย็นอุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และวัดคุณภาพของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นตามวิธีในข้อที่ 3.2.1 ก่อนนำมาทำการทดลอง จากนั้นชั่งเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นมา 100 กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร และเติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.9 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมลงไปเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้น จากนั้นกวนผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ด้วยเครื่องกวนสารละลายที่ความเร็วรอบการหมุนของมอเตอร์ 250 รอบต่อนาที และวัดคุณภาพของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นหลังเติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.9 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ตามวิธีในข้อที่ 3.2.1 จากนั้นชั่งน้ำหนักตะแกรงและแผ่นรองอบ และจัดบันทึกน้ำหนัก จากนั้นนำเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.9 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร มาเกลี่ยลงพิมพ์วงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ซม. หนา 0.5 ซม. ชั่งน้ำหนักเริ่มต้นและจัดบันทึก ก่อนนำไปทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบถาดที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส ซึ่งในระหว่างการทำแห้งให้นำตะแกรงออกมาชั่งน้ำหนักและจัดบันทึก ทุกๆ 1 ชั่วโมง จนกระทั่งน้ำหนักคงที่ จากนั้นสุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์ค่าปริมาณความชื้น ค่าสี และค่าวอเตอร์แอกติวิตี แสดงดังภาพที่ 25





นำเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นมาละลาย ในตู้แช่เย็น เป็นเวลา 12 ชั่วโมง



ชั่งเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นมา 100 กรัม และเติมสารละลาย NaCl 2.5 มล. กวนผสมเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่ความเร็วรอบการหมุนของมอเตอร์ 250 รอบต่อนาที



ซึ่งนำหน้ากระดาษกรองกับแผ่นรองอบ และเกลี่ยเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นลงพิมพ์ วงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ซม.หนา 0.5 ซม. ซึ่งนำหน้าเริ่มต้นและจัดบันทึก



ก่อนนำไปทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบถาดที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส

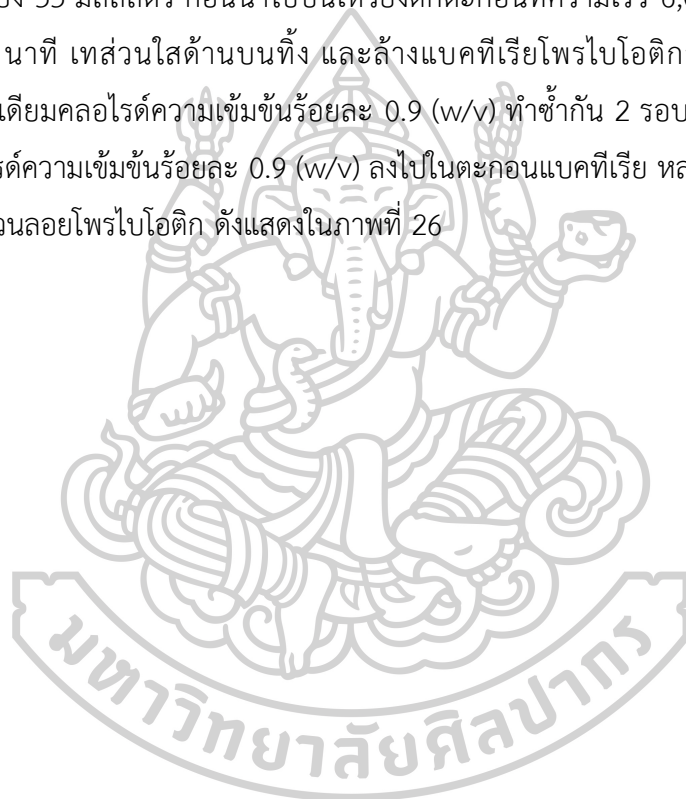


ในระหว่างการแห้งให้นำกระดาษกรองออกมาซึ่งนำหน้าและจัดบันทึก ทุกๆ 1 ชั่วโมง จนกระทั่งนำหน้าคงที่

ภาพที่ 25 แสดงขั้นตอนการหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำแห้งมะม่วงกวนที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส

3.2.7 การเตรียมสารแขวนลอยโพรไบโอติก

แบคทีเรียโพรไบโอติกที่ใช้ในการศึกษาคือ คือ *L. plantarum* TISTR 543 และ *L. rhamnosus* TISTR 2443 ที่ได้จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย นำหัวเชื้อจุลินทรีย์ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* จากข้อ 3.2.4 มาปิเปตเชื้อ 0.05 มิลลิลิตร ใส่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 5 มิลลิลิตร และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นดูดมา 1 มิลลิลิตร ใส่ขวดดูแรนที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth 200 มิลลิลิตร จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง จนกระทั่งอาหารเลี้ยงเชื้อขุ่นขึ้น และเทใส่หลอดปั่นเหวี่ยง 33 มิลลิลิตร ก่อนนำไปปั่นเหวี่ยงตกตะกอนที่ความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที (rpm) เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสด้านบนทิ้ง และล้างแบคทีเรียโพรไบโอติกส่วนที่เป็นตะกอนด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.9 (w/v) ทำซ้ำกัน 2 รอบ จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.9 (w/v) ลงไปในตะกอนแบคทีเรีย หลอดละ 2.5 มิลลิลิตร จะได้เป็นสารแขวนลอยโพรไบโอติก ดังแสดงในภาพที่ 26





ขยายหัวเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก *Lactobacillus plantarum* และ *Lactobacillus rhamnosus* ลงใน MRS broth และนำไปบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง



ปิเปตเชื้อ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* ที่ผ่านการบ่มลงใน MRS broth และบ่มเป็นเวลา 16 ชั่วโมง



นำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกตะกอน



เทส่วนใสด้านบนทิ้ง ล้างตะกอน และเติมสารละลาย NaCl ได้เป็นสารแขวนลอยโพรไบโอติก
ภาพที่ 26 แสดงขั้นตอนการเตรียมสารแขวนลอยโพรไบโอติก

3.2.8 ศึกษาอิทธิพลของพารามิเตอร์การทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบภาค ต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ในมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก

นำเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นแช่แข็งจากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนสตรีแปรรูปผลไม้ อ.บางคล้า จ.ฉะเชิงเทรา จำนวน 1 ถุง มาละลายในตู้แช่เย็นอุณหภูมิตั้งที่ 4-5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และวัดคุณภาพของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นก่อนนำมาทำการศึกษา ตามวิธีในข้อที่ 3.2.1 จากนั้นชั่งเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นมา 100 กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำ แขนวลอยโพรไบโอติกปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร (*L. plantarum* และ *L. rhamnosus*) จากข้อที่ 3.2.7 ผสมลงไปเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้น จากนั้นกวนผสมให้เข้ากันเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ด้วยเครื่องกวนสารละลายที่ความเร็วรอบการหมุนของมอเตอร์ 250 รอบต่อนาที และวัดคุณภาพเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่เสริมโพรไบโอติก ตามวิธีในข้อที่ 3.2.1 และ 3.2.9.3 และนำมาเกลี่ยลงพิมพ์วงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ซม. หนา 0.5 ซม.

1.) การศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์

นำไปทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบภาคที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง จากนั้นวัดคุณภาพมะม่วงกวนอบแห้งเสริมโพรไบโอติกตามวิธีในข้อ 3.2.9 และวิธีการทดลองแสดงดังภาพที่ 27

2.) การศึกษาผลของระยะเวลาในการทำแห้งต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ *L. plantarum*

นำไปทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบภาคที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8, 10 และ 12 ชั่วโมง จากนั้นวัดคุณภาพมะม่วงกวนอบแห้งเสริมโพรไบโอติก ตามวิธีในข้อ 3.2.9 และวิธีการทดลองแสดงดังภาพที่ 28



นำเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นมาละลายในตู้แช่เย็น เป็นเวลา 12 ชั่วโมง



ชั่งเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นมา 100 กรัม และเติมสารแขวนลอยโพรโปติค 2.5 มล.
กวนผสมเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่ความเร็วรอบการหมุนของมอเตอร์ 250 รอบต่อนาที



เกลี่ยเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นลงพิมพ์วงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ซม.หนา 0.5 ซม.



ก่อนนำไปทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบถาดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา
12 ชั่วโมง และ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง

ภาพที่ 27 แสดงขั้นตอนการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์



นำเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นมาละลายในตู้แช่เย็น เป็นเวลา 12 ชั่วโมง



ซึ่งเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นมา 100 กรัม และเติมสารแขวนลอยไฟรโปไอติก 2.5 มล. กวนผสมเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่ความเร็วรอบการหมุนของมอเตอร์ 250 รอบต่อนาที



เกลี่ยเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นลงพิมพ์วงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ซม. หนา 0.5 ซม.



ก่อนนำไปทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบถาดที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8, 10 และ 12 ชั่วโมง

ภาพที่ 28 แสดงขั้นตอนการศึกษาผลของระยะเวลาในการทำแห้งต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวน จุลินทรีย์ *L. plantarum*

3.2.9 การวิเคราะห์คุณภาพเริ่มต้นของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก

3.2.9.1 คุณภาพทางกายภาพ

(1) ค่าสี

วิเคราะห์ค่าด้วยด้วยเครื่องวัดสี (Colorflex EZ 45-0(LAV), HunterLab, USA) ในหน่วย CIE L*a*b* โดยนำชิ้นมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกมาวางบนช่องวัดตัวอย่างขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6.4 เซนติเมตร ดังภาพที่ 29 ใช้ตัวอย่างจำนวน 2 ชิ้น ทำการวิเคราะห์ขึ้นละ 2 ตำแหน่ง (หน้า-หลัง) จากนั้นนำค่า L*, a* และ b* มาคำนวณหาค่า Chroma (C*), Hue angle (h*) และ ΔE ดังสมการที่ 1, 2 และ 3 ตามลำดับ ทำการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ ต่อ 1 ทริตเมนต์



ภาพที่ 29 ขั้นตอนและอุปกรณ์การวัดสี

(2) ลักษณะปรากฏ

การถ่ายภาพจะใช้กล้องถ่ายภาพยี่ห้อ Nikon รุ่น 1J5 โดยนำมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกจำนวน 2 ชิ้น มาวางในกล่องถ่ายภาพทรงสี่เหลี่ยมมุมฉากที่มีการควบคุมแสงโดยบุผนังด้วยผ้ากำมะหยี่สีดำภายในตู้ ขนาด กว้าง 38.5 cm สูง 40 cm ลึก 38.0 cm โดยปริมาตรพื้นที่ที่แสงกระจายขนาด กว้าง 38.5 ซม. สูง 16.5 ซม. ลึก 38.0 ซม. แหล่งกำเนิดแสงคือ DAI-ICHI ชุดหลอดโคมไฟเพดานแบบ LED กำลังไฟฟ้า 24 วัตต์ แรงดันไฟฟ้า 220-240 โวลต์ การสั่นสะเทือนของกระแสไฟฟ้า 50/60 Hz

3.2.9.2 คุณภาพทางเคมี

(1) ปริมาณความชื้น

นำกระป๋องอะลูมิเนียมมาอบไล่ความชื้นที่ตู้อบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเก็บในโถดูดความชื้นก่อนนำมาใช้งาน และหั่นชิ้นมะม่วงกวนอบแห้งเสริมโพรไบโอติกให้มีขนาดเล็กกลง จากนั้นชั่งน้ำหนักกระป๋องอะลูมิเนียม และชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 3.00 ± 0.05 กรัม ด้วยเครื่องชั่งละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง และบันทึกน้ำหนักกระป๋องอะลูมิเนียมรวมกับตัวอย่าง จากนั้นนำไปเข้าตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็น

เวลา 24 ชั่วโมง (AOAC, 1990) จนความชื้นเข้าสู่สมดุลหรือจนน้ำหนักคงที่ จากนั้นบันทึกน้ำหนักหลังอบแห้ง พร้อมทั้งคำนวณค่าปริมาณความชื้นฐานแห้ง ดังสมการที่ 4 ทำการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ ต่อ 1 ทริตเมนต์

(2) ค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ (water activity; aw)

ทำการวิเคราะห์ขึ้นมะม่วงกวนอบแห้งเสริมโพรไบโอติก โดยหั่นมะม่วงกวนอบแห้งเสริมโพรไบโอติกเป็นชิ้นเล็กๆ และใส่ถ้วยสำหรับวิเคราะห์ค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ และนำมาวิเคราะห์ด้วยเครื่องวัดค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ ที่อุณหภูมิ 25 ± 0.2 องศาเซลเซียสทำการวิเคราะห์ 2 ซ้ำ ต่อ 1 ทริตเมนต์

3.2.9.3 คุณภาพทางจุลินทรีย์

(1) จำนวนคงเหลือของจุลินทรีย์โพรไบโอติก

ทำการวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติกโดยประยุกต์จากวิธีของ (Akman และคณะ, 2019) โดยนำเนื้อมะม่วงกวนปั่นละเอียดเข้มข้นเสริมโพรไบโอติก และมะม่วงกวนอบแห้งเสริมโพรไบโอติกมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ก่อนนำมาชั่งตัวอย่างจำนวน 10 ± 0.05 กรัม ผสมกับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.9 (w/v) ที่ปลอดเชื้อ 90 มิลลิลิตร ก่อนนำไปตีบดตัวอย่างด้วยเครื่องตีบดตัวอย่าง และนำมาทำ serial dilution ด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.9 (w/v) ที่ปลอดเชื้อ ที่ความเข้มข้น 10^{-1} ถึง 10^{-8} จากนั้นตรวจนับเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี pour plate โดยปิเปต 1 มิลลิลิตร ลงบนจานเพาะเลี้ยงเชื้อ และเติมอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar ปริมาตร 20 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง นับโคโลนีในช่วง 25-250 โคโลนี ดังภาพที่ 28 และคำนวณหาจำนวนเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกเป็น CFU/g และคำนวณหาร้อยละการรอดชีวิต ตามสมการที่ 6 และ 7 โดยทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ ต่อ 1 ทริตเมนต์

$$\text{ร้อยละการรอดชีวิต} = \frac{\text{จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตหลังการทดลอง}}{\text{จำนวนเซลล์เริ่มต้น}} \times 100$$

สมการที่ 7



ภาพที่ 30 ขั้นตอนการวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติก

(2) การวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด

ทำการวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดโดยประยุกต์จากวิธีของ (AOAC, 2000) โดยนำมะม่วงกวนอบแห้งเสริมโพรไบโอติกมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ก่อนนำมาชั่งตัวอย่างจำนวน 10 ± 0.05 กรัม ผสมกับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.9 (w/v) ที่ปลอดเชื้อ 90 มิลลิลิตร ก่อนนำไปตีบดตัวอย่างด้วยเครื่องตีบดตัวอย่าง และนำมาทำ serial dilution ด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.9 (w/v) ที่ปลอดเชื้อ ที่ความเข้มข้น 10^{-1} , 10^{-2} และ 10^{-3} จากนั้นเปิดมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปแบบรวดเร็ว 3M Petrifilm Rapid Plate สำหรับทดสอบแอโรบิกแบคทีเรีย (AC) ทำการกดไล่อากาศออกจากแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปแบบรวดเร็ว รอประมาณ 1 นาที หรือจนเจลแข็งตัวจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง นับโคโลนีในช่วง 25-250 โคโลนี และคำนวณหาเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกเป็น CFU/g ตามสมการที่ 6 โดยทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ ต่อ 1 ทริตเมนต์

(3) การวิเคราะห์ปริมาณยีสต์และรา

ทำการวิเคราะห์ปริมาณยีสต์และรา โดยนำมะม่วงกวนอบแห้งเสริมโพรไบโอติกมาหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ก่อนนำมาชั่งตัวอย่างจำนวน 10 ± 0.05 กรัม ผสมกับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.9 (w/v) ที่ปลอดเชื้อ 90 มิลลิลิตร ก่อนนำไปตีบดตัวอย่างด้วยเครื่องตีบดตัวอย่าง และนำมาทำ serial dilution ด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.9 (w/v) ที่ปลอดเชื้อ

ที่ความเข้มข้น 10^{-1} , 10^{-2} และ 10^{-3} จากนั้นปิเปตมา 1 มิลลิลิตร ใส่ในแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปแบบรวดเร็ว 3M Petrifilm Rapid Plate สำหรับทดสอบยีสต์และ รา (YM) ทำการกดไล่อากาศออกจากแผ่นอาหารเลี้ยงเชื้อสำเร็จรูปแบบรวดเร็ว รอประมาณ 1 นาที หรือจนเจลแข็งตัวจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-5 นับโคโลนีในช่วง 25-250 โคโลนี และคำนวณหาปริมาณยีสต์และราเป็น CFU/g ตามสมการที่ 6 โดยทำการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ ต่อ 1 ทริตเมนต์

3.2.10 ศึกษาอิทธิพลของการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ต่อและและจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติก (*L. plantarum* และ *L. rhamnosus*) ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ และคุณภาพของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

นำเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นแช่แข็งจากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนสตรีแปรรูปผลไม้ อ.บางคล้า จ.ฉะเชิงเทรา จำนวน 1 ถัง มาละลายในตู้แช่เย็นอุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และวัดคุณภาพของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นก่อนนำมาทำการศึกษา จากนั้นชั่งเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้น 100 กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร และเติมสารแขวนลอยโพรไบโอติก *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตรจากข้อที่ 3.2.6 ผสมลงไปเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้น จากนั้นกวนให้เข้ากันเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ด้วยเครื่องกวนสารละลายที่ความเร็วรอบการหมุนของมอเตอร์ 250 rpm และวัดคุณภาพเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่เสริมโพรไบโอติกทางกายภาพ ทางเคมี และคุณภาพทางจุลินทรีย์ จากนั้นชั่งเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่เสริมโพรไบโอติกจากข้อ 3.2.8.3 ปริมาณ 20 กรัม ใส่ถ้วยพลาสติก K-resin 3 ออนซ์ ขนาด 75x56x43.5 มม. และนำไปแช่เยือกแข็งที่ -40 องศาเซลเซียสด้วยเครื่องแช่เยือกแข็งแบบเร็ว (air blast freezer) เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากนั้นทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze drying; FD) เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง แสดงดังภาพที่ 31 และนำไปวัดคุณภาพทางกายภาพของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก (ค่าสีและลักษณะปรากฏ) คุณภาพทางเคมี (ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณความชื้น ค่าวอเตอร์แอกติวิตี) คุณภาพทางจุลินทรีย์ (จำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติก)



นำเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นมาละลาย ในตู้แช่เย็น เป็นเวลา 12 ชั่วโมง



ซึ่งเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นมา 100 กรัม และเติมสารแขวนลอยโพรโปอิดิก 2.5 มล. กวนผสมเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่ความเร็วรอบการหมุนของมอเตอร์ 250 รอบต่อนาที



ซึ่งเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นปริมาณ 20 กรัม ใส่ถ้วยพลาสติก และนำไปแช่เยือกแข็งที่ -40 องศาเซลเซียส ด้วยเครื่องแช่เยือกแข็งแบบเร็ว เป็นเวลา 4 ชั่วโมง

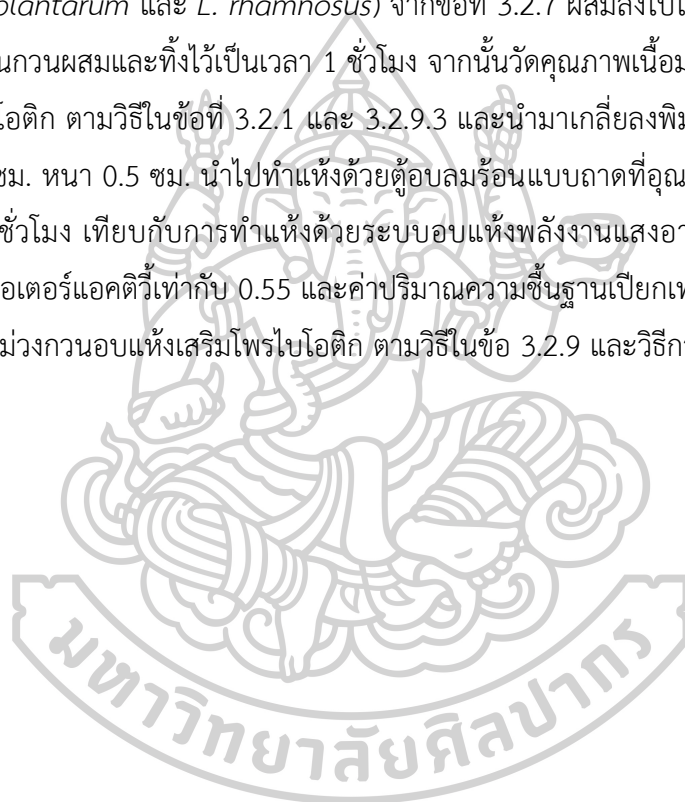


ทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง เป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง

ภาพที่ 31 แสดงขั้นตอนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นเสริมโพรโปอิดิก

3.2.11 ศึกษาอิทธิพลของวิธีการทำแห้งต่อคุณภาพของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก และจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติก (*L. plantarum* และ *L. rhamnosus*) ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้

นำเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นแช่แข็งจากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนสตรีแปรรูปผลไม้ อ.บางคล้า จ.ฉะเชิงเทรา ที่มีค่า TSS เท่ากับ 28.14 ± 0.18 °Brix และพีเอชเท่ากับ 5.29 ± 0.03 จำนวน 1 ถูกลงมาละลายในตู้แช่เย็นอุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และวัดคุณภาพของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นก่อนนำมาทำการศึกษา ตามวิธีในข้อที่ 3.2.1 จากนั้นชั่งเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นมา 100 กรัม ลงในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมน้ำตาลทรายขาวป่นปริมาณ 2.5 มิลลิลิตร (*L. plantarum* และ *L. rhamnosus*) จากข้อที่ 3.2.7 ผสมลงไปเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้น จากนั้นกวนผสมและทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นวัดคุณภาพเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่เสริมโพรไบโอติก ตามวิธีในข้อที่ 3.2.1 และ 3.2.9.3 และนำมาเกลี่ยลงพิมพ์วงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ซม. หนา 0.5 ซม. นำไปทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบถาดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 13 ชั่วโมง เทียบกับการทำแห้งด้วยระบบอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์ และการตากแดดจนกระทั่งค่าวอเตอร์แอกทีวี่เท่ากับ 0.55 และค่าปริมาณความชื้นฐานเปียกเท่ากับร้อยละ 25 จากนั้นวัดคุณภาพมะม่วงกวนอบแห้งเสริมโพรไบโอติก ตามวิธีในข้อ 3.2.9 และวิธีการทดลองแสดงดังภาพที่





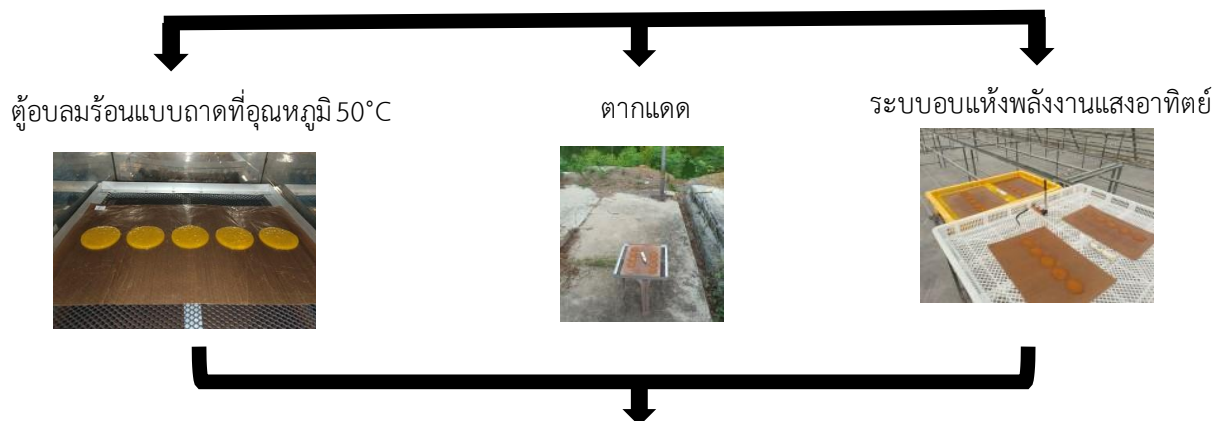
นำเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นมาละลาย ในตู้แช่เย็น เป็นเวลา 12 ชั่วโมง



ชั่งเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นมา 100 กรัม และเติมสารแขวนลอยโพรไบโอติก 2.5 มล.
จากนั้นกวนผสมและทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง



เกลี่ยเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นลงพิมพ์วงกลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6 ซม. หนา 0.5 ซม.



สุ่มตัวอย่าง 4 ชั้น และวิเคราะห์หาค่า MC, a_w , ค่าสี และจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติก (*L. plantarum* และ *L. rhamnosus*) ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้

ภาพที่ 32 แสดงขั้นตอนการทำแห้งมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกด้วยระบบบอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์

3.2.12 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ในการศึกษาการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ ในการศึกษาครั้งนี้ใช้โปรแกรมทางสถิติ SPSS Statistics version 23 ทำการเปรียบเทียบคุณภาพทางกายภาพ เคมี และทางจุลินทรีย์ของเนื้อมะม่วงปิ่นละเอียดเข้มข้นเสริมโพรไบโอติก และมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกจากการทดลองโดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance; ANOVA) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Univariate และ Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p = 0.05$)



บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ระยะเวลาที่เหมาะสมในการบ่มจุลินทรีย์จากกราฟการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *L.*

plantarum และ *L. rhamnosus*

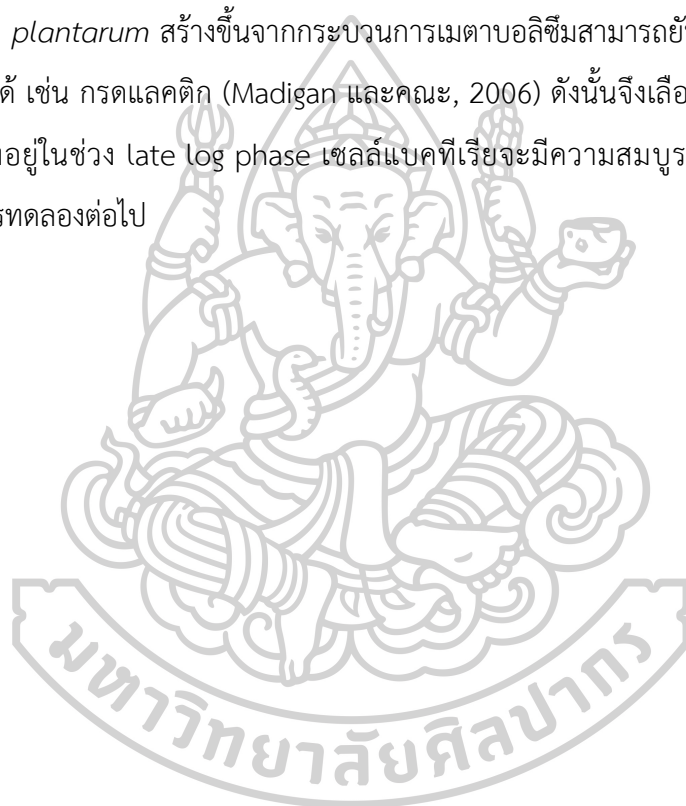
ในการติดตามการเจริญเติบโตของ *L. plantarum* TISTR 543 และ *L. rhamnosus* TISTR 2443 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ที่อัตราส่วน 1:200 โดยจะสุ่มตัวอย่างทุก ๆ 4 ชั่วโมง เพื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร โดยหลักการที่ใช้คือการฉายแสงผ่าน suspension ของแบคทีเรีย และแสงส่วนหนึ่งจะถูกเซลล์แบคทีเรียดูดซับเอาไว้ ซึ่งปริมาณแสงที่ดูดซับจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับจำนวนเซลล์ของแบคทีเรียทั้งหมด และวิเคราะห์จำนวนเชื้อ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* ด้วยวิธี pour plate และนำไปสร้างกราฟการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* กับระยะเวลาในการบ่ม (ภาพที่ 33)

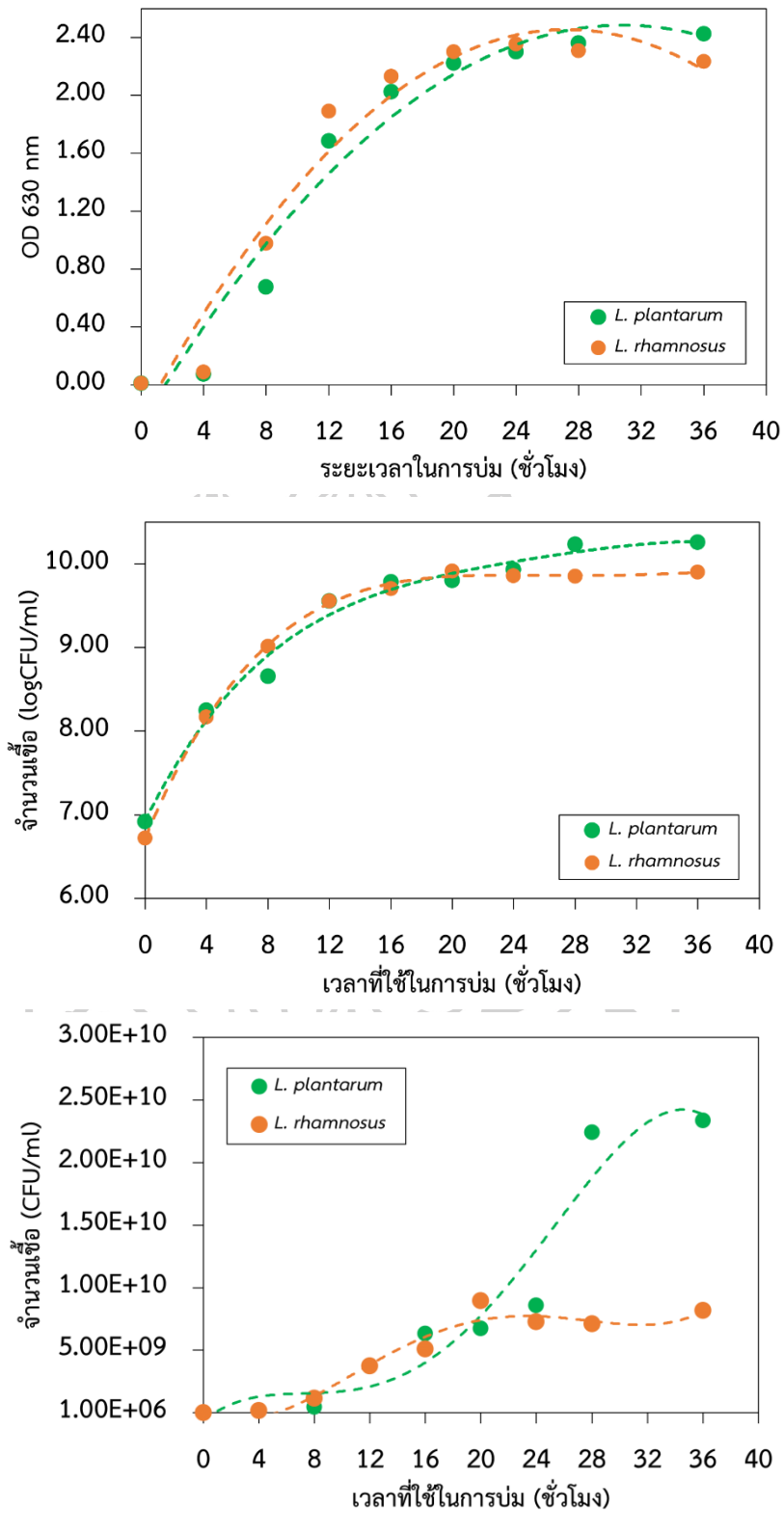
จากภาพที่ 33ก จะเห็นได้ว่าเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นค่า OD₆₃₀ มีค่าสูงขึ้น แสดงให้เห็นว่ามีการเพิ่มจำนวนของเชื้อ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* อย่างหนาแน่นในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ทำให้อาหารมีความขุ่นและมีค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มสูงขึ้น แต่ความขุ่นที่เกิดขึ้นแสดงถึงความหนาแน่นของเซลล์แบคทีเรียที่มีชีวิตและเซลล์ที่ตายแล้ว ดังนั้นจึงต้องทำการแสดงจำนวนเชื้อ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* กับระยะเวลาในการบ่ม ดังภาพที่ 33ข

จากภาพที่ 33ข พบว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติกทั้งสองชนิดมีการเติบโตที่คล้ายกัน โดยที่ระยะเวลาในการบ่มที่ 0-4 ชั่วโมง แสดงช่วง lag phase ในระยะนี้มีการเติมเชื้อ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth แบคทีเรียจะมีการปรับตัวให้เข้ากับปริมาณอาหาร และสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนไป เซลล์แบคทีเรียจะมีขนาดใหญ่ขึ้น เนื่องจากมีการสังเคราะห์สารต่าง ๆ ที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์ รวมทั้งเอนไซม์ดีเอ็นเอ และอาร์เอ็นเอ แต่จะไม่มีการแบ่งเซลล์ (คันธโชติ, 2545) เมื่อถึงระยะเวลาในการบ่มที่ 4 ชั่วโมง จำนวนเชื้อ *L. plantarum* จะเพิ่มจำนวนขึ้นจาก 6.92 เป็น 8.25 log CFU/ml และ *L. rhamnosus* เพิ่มจำนวนขึ้นจาก 6.72 เป็น 8.17 log CFU/ml ที่ระยะเวลาในการบ่ม 4-12 ชั่วโมง แสดงช่วง mid-log phase เป็นระยะที่เชื้อแบคทีเรียค่อยๆ แบ่งตัวและเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็วด้วยอัตราการแบ่งตัวคงที่ และมีอัตราการเจริญสูงกว่าระยะอื่น (คันธโชติ, 2545) โดยอาหารจะถูกใช้ไปอย่างรวดเร็วเพื่อใช้ในการสังเคราะห์ส่วนประกอบของเซลล์ ในระยะนี้มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* เพิ่มขึ้นถึง 9.56 log CFU/ml จากนั้นจะเข้าสู่ช่วง late-log phase ที่ระยะเวลาในการบ่ม 12-20

ชั่วโมง ในช่วงนี้เป็นช่วงก่อนที่จะเข้าสู่ระยะ stationary phase ซึ่งมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ *L. plantarum* อยู่ในช่วง 9.56-9.80 log CFU/ml และ *L. rhamnosus* อยู่ในช่วง 9.56-9.91 log CFU/ml ช่วงนี้เป็นระยะที่แบคทีเรียมีองค์ประกอบเซลล์ที่สมบูรณ์และแข็งแรงที่สุด

ภาพที่ 33ข แสดงให้เห็นว่า ภายหลังจาก 20 ชั่วโมงจะสู่ช่วง stationary phase เป็นระยะที่เซลล์แบคทีเรียมีจำนวนมากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาใน *L. plantarum* ที่มีค่า OD สูงสุดที่เวลา 36 ชั่วโมง (Marwah และคณะ, 2023; Rezvani และคณะ, 2017) แต่ในช่วงนี้อัตราการเกิดเท่ากับอัตราการเสียชีวิต เนื่องจากอาหารถูกแบคทีเรียใช้ไปเกือบหมด และเกิดการสะสมของผลิตภัณฑ์ที่แบคทีเรีย *L. plantarum* สร้างขึ้นจากกระบวนการเมตาบอลิซึมสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ได้ เช่น กรดแลคติก (Madigan และคณะ, 2006) ดังนั้นจึงเลือกระยะเวลาในการบ่มที่ 16 ชั่วโมง ซึ่งอยู่ในช่วง late log phase เซลล์แบคทีเรียจะมีความสมบูรณ์และเหมาะสมในการนำมาใช้ในการทดลองต่อไป

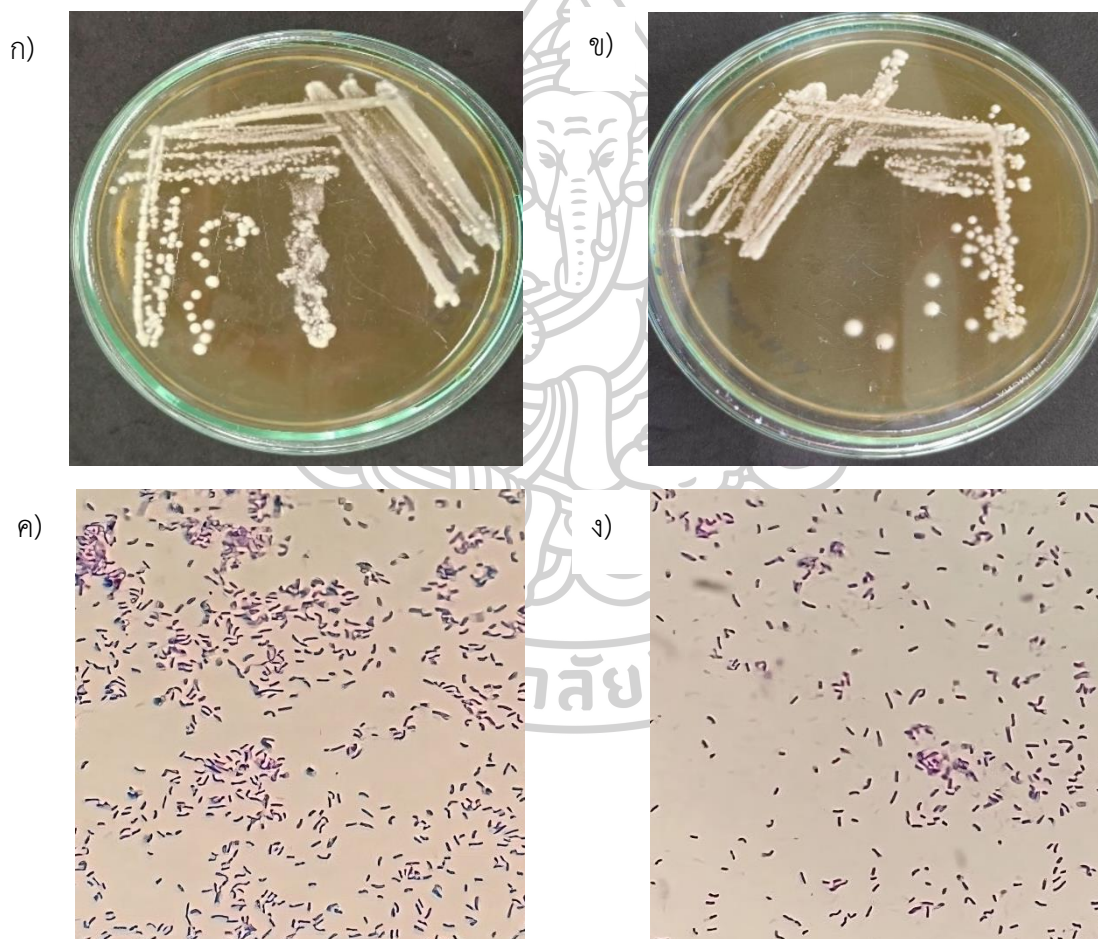




ภาพที่ 33 กราฟการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* ใน MRS broth ที่ปมที่อุณหภูมิต่ำ 37 องศาเซลเซียส

4.2 ลักษณะสัณฐานของแบคทีเรียโพรไบโอติก

จากการสังเกตโคโลนีของจุลินทรีย์โพรไบโอติก *L. plantarum* TISTR 543 และ *L. rhamnosus* TISTR 2443 ที่ใช้ในการทดลองด้วยตาเปล่าพบว่าลักษณะโคโลนีที่ได้มีสีขาวขุ่น มันวาว กลมมน ขอบเรียบ ซึ่งแสดงคุณลักษณะเด่นของสายพันธุ์ *Lactobacillus* (Corsetti และ Valmorri, 2011; Valík และคณะ, 2008) นอกจากนี้การส่องผ่านกล้องจุลทรรศน์เพื่อศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา โดยใช้กำลังขยาย 100 เท่าพบว่า จุลินทรีย์โพรไบโอติกมีรูปร่างเป็นท่อนยาว ไม่มีสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ และย้อมติดสีม่วงของคริสตัลไวโอเลตจึงสามารถยืนยันได้ว่าเป็นแบคทีเรียแกรมบวกและเป็นจุลินทรีย์สายพันธุ์ *lactobacillus* แสดงดังภาพที่ 34



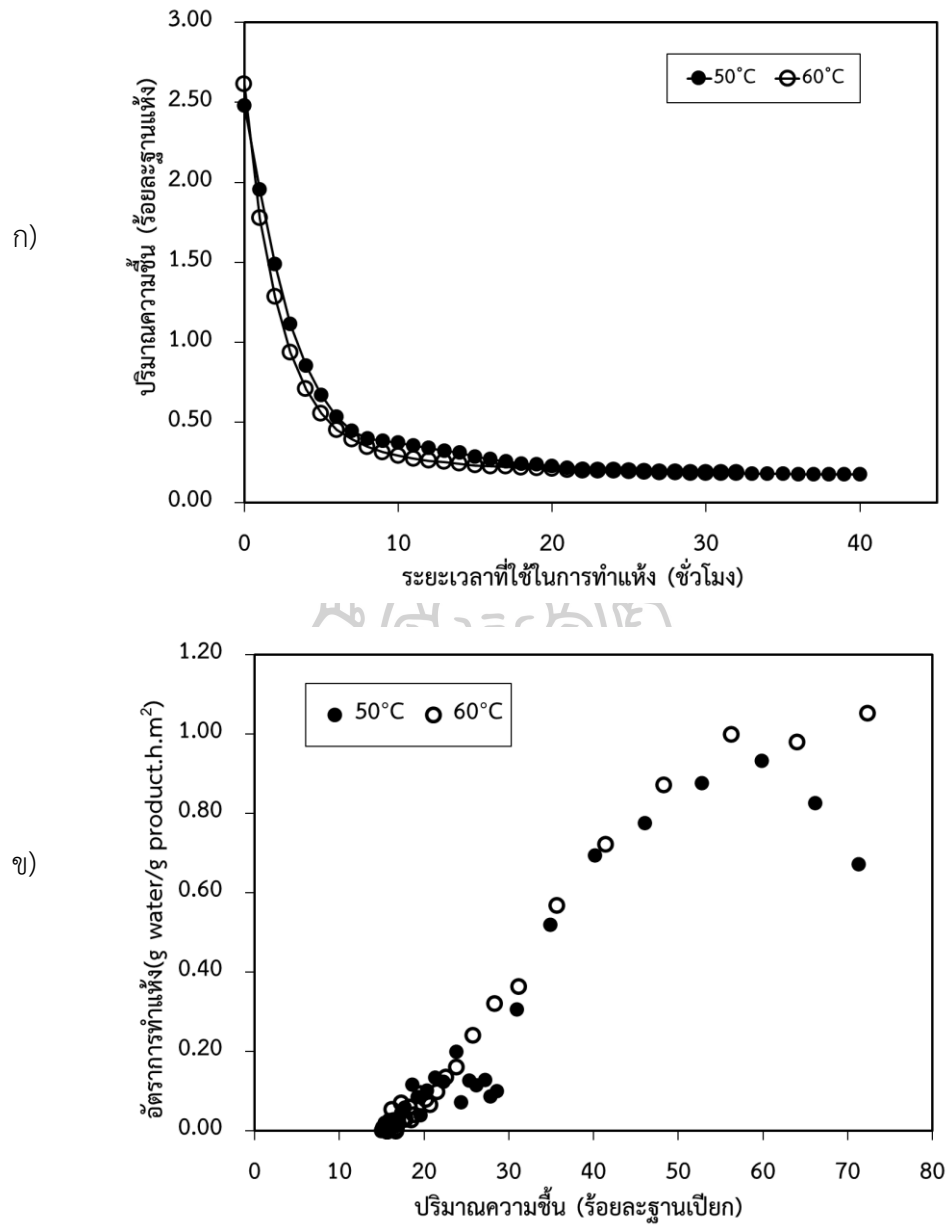
ภาพที่ 34 ลักษณะของจุลินทรีย์โพรไบโอติก ก) ลักษณะโคโลนี *L. plantarum* TISTR 543 ข) ลักษณะโคโลนี *L. rhamnosus* TISTR 2443 ค) รูปร่างลักษณะของ *L. plantarum* TISTR 543 และ ง) รูปร่างลักษณะของ *L. rhamnosus* TISTR 2443 เมื่อย้อมด้วยสีแกรมและตรวจดูภายใต้กล้องจุลทรรศน์ที่มีกำลังขยาย 100 เท่า

4.4 ระยะเวลาที่เหมาะสมในการทำแห้ง จากการศึกษาพฤติกรรมการทำแห้งของเนื้อมะม่วงปั่น ละเอียดเข้มข้นที่เติมน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และอบแห้งด้วย ตู้อบแห้งลมร้อนแบบถาดที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส

จากกระบวนการผลิตมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกจะเติมสารแขวนลอยโพรไบโอติกปริมาณ 2.5 มิลลิลิตร ลงไปในเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นก่อนนำไปทำแห้ง ดังนั้นจึงได้ศึกษากราฟการทำแห้ง ของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่เติมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.9 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และนำไปทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส เพื่อหาระยะเวลาที่เหมาะสมใน การทำแห้งมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกที่ได้ค่าปริมาณความชื้นร้อยละ 25 และค่าวอเตอร์แอกติวิตี 0.55 แสดงดังภาพที่ 34 และคุณภาพทางเคมีและทางกายภาพของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่ใช้ ในการทดลองตอนนี้ แสดงดังตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงคุณภาพทางเคมีและทางกายภาพของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้น

คุณภาพ	มะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้น
ปริมาณความชื้น (% wb)	71.27 ± 0.71
ค่าวอเตอร์แอกติวิตี (a_w) (T = 25°C)	0.9652 ± 0.0041
ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (°Brix)	32.07 ± 0.63
พีเอช (pH)	4.10 ± 0.01
ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (% acidity) ^{ns}	1.12 ± 0.04
L*	49.35 ± 1.90
a*	14.80 ± 0.16
b*	61.43 ± 1.38
C*	63.19 ± 1.36
h°	76.45 ± 0.28



ภาพที่ 35 พฤติกรรมการทำแห้งของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่เติมน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และอบแห้งด้วยตู้อบแห้งลมร้อนแบบถาดที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส

ก) ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความชื้น (ร้อยละฐานแห้ง) และระยะเวลาที่ใช้ในการทำแห้ง

ข) ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการทำแห้งและปริมาณความชื้น (ร้อยละฐานเปียก)

ภาพที่ 35 ก อัตราการทำแห้งในช่วงแรกเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เมื่อเวลาผ่านไปน้ำในเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นระเหยเป็นไออย่างต่อเนื่องจนเข้าสู่อัตราการทำแห้งลดลงเมื่อปริมาณน้ำในเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นเหลือน้อย ซึ่งเป็นพฤติกรรมการทำแห้งของผักและผลไม้ทั่วไป โดยการทำแห้งที่อุณหภูมิสูงขึ้นส่งผลให้อัตราการทำแห้งสูงขึ้น และระยะเวลาที่ใช้ในการทำแห้งสั้นลง (Janjai และคณะ, 2011) เนื่องจากที่อุณหภูมิต่ำลมนร้อนจะมีความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity) ต่ำ ทำให้อัตราการระเหยความชื้นออกจากเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นได้ดีช้า แต่การทำแห้งที่อุณหภูมิสูงลมนร้อนจะมีความสามารถในการอุ้มน้ำสูง จึงสามารถพาเอาความชื้นในเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นออกมาได้มาก โดยน้ำจากภายในชิ้นเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นจะเคลื่อนที่จากภายในแพร่ออกมายังผิวหน้าของชิ้นเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นอย่างต่อเนื่อง จึงทำให้การทำแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสมีระยะเวลาในการทำแห้งสั้นกว่าการทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และปริมาณความชื้นสุดท้ายของชิ้นมะม่วงกวนหลังอบแห้งที่สภาวะต่าง ๆ อยู่ในช่วงร้อยละ 14.80 ถึง 15.57 ฐานเปียก

ภาพที่ 35 ข พบว่าที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ไม่มีช่วงอัตราทำแห้งคงที่ (constant drying rate period) และที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ไม่มีช่วงการให้ความร้อนเบื้องต้น (preheat period) แต่พบเพียงช่วงอัตราการทำแห้งลดลง (falling drying rate period) เท่านั้น และไม่พบช่วงค่าปริมาณความชื้นวิกฤติ (critical moisture content) ซึ่งสอดคล้องกับ Akoy และคณะ (2008) และ Goyal และคณะ (2006) ที่ศึกษาในชิ้นมะม่วงอบแห้ง ซึ่งการถ่ายเทความร้อนและมวลไม่ได้เกิดขึ้นเฉพาะที่ผิวหน้าของอาหารเท่านั้น แต่จะเกิดที่ผิวหน้าและภายในเนื้อของอาหารด้วยการเคลื่อนที่ของน้ำในอาหารมายังผิวหน้าช้ากว่าการพาความชื้นจากผิวหน้าไปยังอากาศ ทำให้เกิดแค่อัตราการทำแห้งลดลง เช่นเดียวกับ Kc และคณะ (2022) ที่ศึกษาการทำแห้งในผลไม้กวน

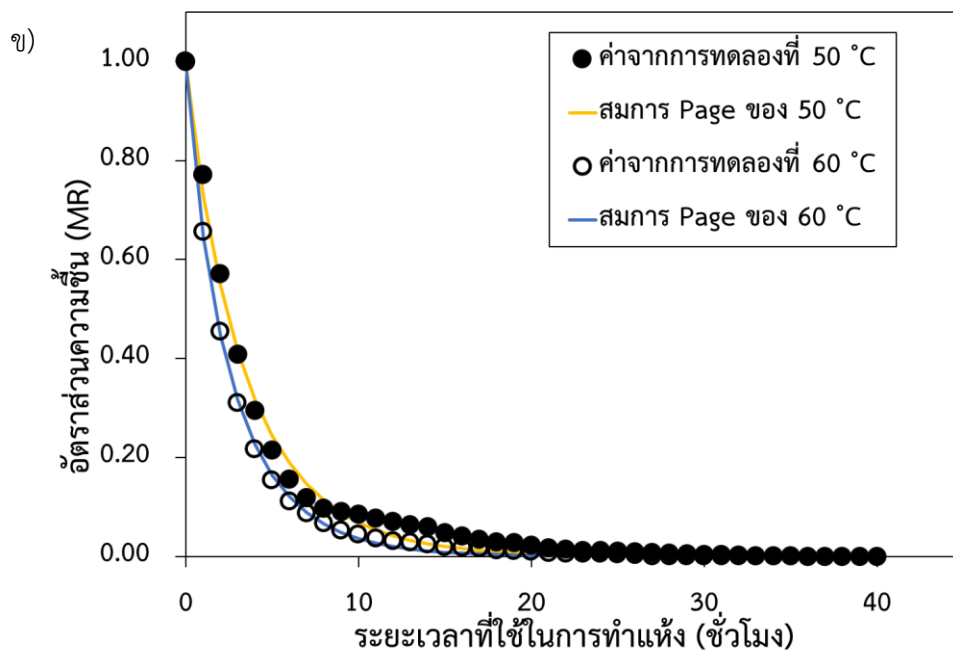
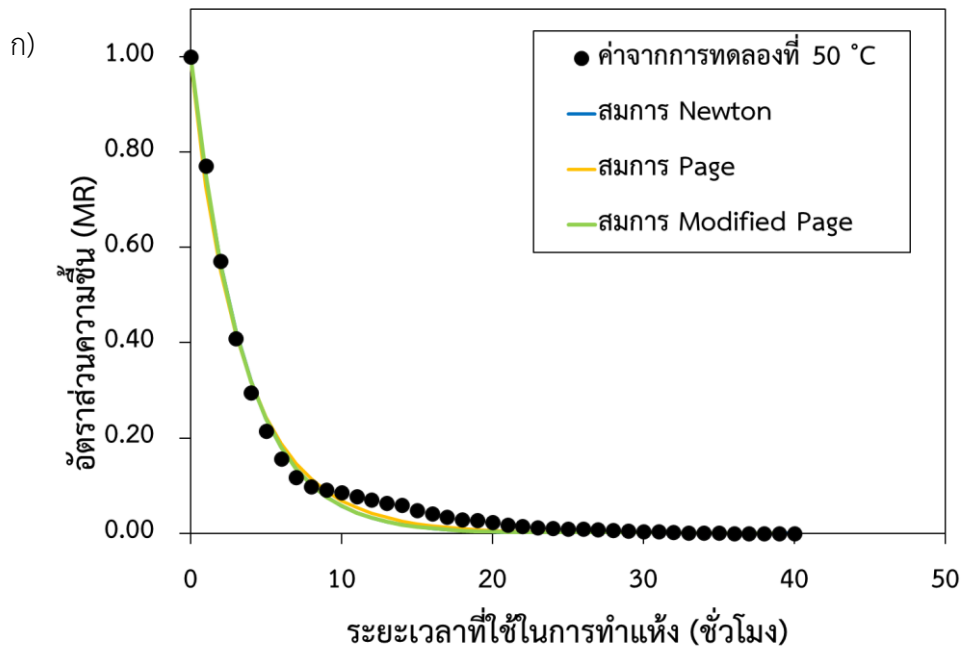
ดังนั้นจากการศึกษาพฤติกรรมการทำแห้งของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส เพื่อหาระยะเวลาในการทำแห้งมะม่วงกวนที่เหมาะสม โดยกำหนดให้ผลิตภัณฑ์มีค่าวอเตอร์แอกติวิตี เท่ากับ 0.5574 ± 0.00 และค่าปริมาณความชื้นมีค่าเท่ากับร้อยละ 25.34 ± 0.28 ฐานเปียก ซึ่งเป็นค่าปริมาณความชื้นที่ได้จากการวัดมะม่วงกวนที่ขายตามท้องตลาด เมื่อพิจารณาจากข้อกำหนดดังกล่าวพบว่าจะใช้ระยะเวลาและอุณหภูมิในการทำแห้งเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นดังนี้ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสจะใช้ระยะเวลาในการทำแห้ง 12 ชั่วโมง และที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จะให้ระยะเวลาในการทำแห้ง 8 ชั่วโมง

นอกจากนั้นได้นำมาวิเคราะห์หาสมการทำแห้งชั้นบาง (thin-layer) ที่เหมาะสมสำหรับทำนายจลนพลศาสตร์ของการทำแห้งมะม่วงกวน ดำเนินการโดยนำค่าอัตราส่วนความชื้นที่ได้จากการทดลอง มาวิเคราะห์เปรียบเทียบเพื่อหาค่าพารามิเตอร์หรือค่าคงที่ของสมการทำแห้งชั้นบาง ได้แก่ สมการ ของนิวตัน (Newton) เพจ (Page) และโมดิฟายด์เพจ (Modified Page) แสดงดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่ใช้ในการทำนายพฤติกรรมการทำแห้งมะม่วงกวน

ชื่อแบบจำลอง	แบบจำลอง	อ้างอิง
Lewis (Newton)	$MR = \exp(-kt)$	Roberts และคณะ (2008)
Page	$MR = \exp(-kt^n)$	Mundada และคณะ (2010)
Modified Page	$MR = \exp(-kt)^n$	White และคณะ (1978)

พิจารณาเลือกสมการทำแห้งที่สามารถทำนายลักษณะการทำแห้งเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่เติมน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ได้เหมาะสมที่สุดโดยพิจารณาสมการที่ให้ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (coefficient of determination; R^2) สูงที่สุด และค่า RMSE (root mean square Error) ต่ำที่สุด ซึ่งค่า RMSE จะได้จากการคำนวณค่าความแตกต่างระหว่างอัตราส่วนความชื้นที่ได้จากการทดลองกับอัตราส่วนความชื้นที่ได้จากการคำนวณผ่านสมการทำแห้งชั้นบาง ดังตารางที่ 6 จากการวิเคราะห์แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ทั้ง 3 สมการพบว่าแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ของ Page สามารถใช้อธิบายพฤติกรรมของการทำแห้งเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่เติมน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ได้ดีทุกสภาวะการทำแห้ง ซึ่งสอดคล้องกับ Akoy และคณะ (2008) ที่ใช้สมการ Page ในการทำนายการทำแห้งชั้นมะม่วง เช่นเดียวกับ Goyal และคณะ (2006) และสอดคล้องกับการศึกษาของ Lzli และคณะ (2017) ที่ได้ศึกษาอิทธิพลของวิธีการทำแห้งต่อพารามิเตอร์การทำแห้งมะม่วงสไลด์ โดยใช้ตู้อบลมร้อนที่ 60, 70 และ 80 °C พบว่า Two-term และ Page เป็นโมเดลที่สามารถอธิบายการทำแห้งได้ดีที่สุด เมื่อพิจารณาค่า R^2 , RMSE และ x^2 ซึ่งเมื่อนำค่าที่ได้จากการคำนวณตามสมการของ Page มาเปรียบเทียบกับผลการทดลองพบว่ามีค่าสอดคล้องกันเป็นอย่างดี แสดงดังภาพที่ 35



ภาพที่ 36 พฤติกรรมการทำแห้งของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่เติมน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ต่อจลนพลศาสตร์การทำแห้ง

ก) ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนความชื้นที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสและเวลาที่ใช้ในการทำแห้ง

ข) ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนความชื้นที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียสและเวลาที่ใช้ในการทำแห้ง โดยเปรียบเทียบระหว่างค่าที่ได้จากการทดลองกับค่าที่ได้จาก แบบจำลองทางคณิตศาสตร์

ตารางที่ 6 ค่าพารามิเตอร์สำหรับการทำแห้งเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่เติมน้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 0.9 ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร

โมเดล	อุณหภูมิในการ ทำแห้ง (°C)	พารามิเตอร์	R ²	RMSE
Newton	50	k=0.2856	0.9919	0.0191
	60	k=0.3791	0.9962	0.0130
Page	50	k=0.3166 n=0.9266	0.9927	0.0181
	60	k=0.4386 n=0.8774	0.9988	0.0074
Modified page	50	k=0.5711 n=0.5000	0.9919	0.0191
	60	k=0.3791 n=1.0000	0.9962	0.0130

4.3 อิทธิพลของพารามิเตอร์การทำแห้ง ต่อจำนวนจุลินทรีย์ (*L. plantarum* และ *L. rhamnosus*) ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ในมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกและคุณภาพของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก

4.3.1 ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์

4.3.1.1 คุณภาพทางเคมีและทางกายภาพของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นเสริมโพรไบโอติก

คุณภาพทางเคมีและทางกายภาพของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นเสริมโพรไบโอติก แสดงดังตารางที่ 7 จะเห็นได้ว่ามีค่าปริมาณความชื้น ค่าวอเตอร์แอกติวิตี ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ และค่าพีเอชของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นก่อนเสริมและหลังเสริมโพรไบโอติกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากเมื่อใส่จุลินทรีย์โพรไบโอติกและกวนผสมเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จุลินทรีย์จะเกิดการเจริญเติบโตโดยใช้สารอาหารที่ได้จากเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้น ซึ่งภายหลังจากการเสริมโพรไบโอติกจะมีค่าพีเอชมีค่าลดลง และปริมาณกรดที่ไทเทรตได้มีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kuria และคณะ (2021) ที่ศึกษาการหมักเชื้อ *L. casei* และ *L. plantarum* ในเนื้อมะม่วงปั่นละเอียด เป็นเวลา 24,

48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าค่าปริมาณกรดที่ไทเทรตได้มีค่าเพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมง จากนั้นจะคงที่จนครบ 72 ชั่วโมง ในขณะที่ค่าพีเอชมีค่าลดลงจากค่าเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญใน 24 ชั่วโมงแรก เนื่องจากการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์โพรไบโอติก ซึ่งแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก (LAB) จะเติบโตและมีการใช้น้ำตาลในเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นเพื่อผลิตกรดอินทรีย์ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นกรดแลคติก (Di Cagno และคณะ, 2013; Pérez และ Saguir, 2012) ดังนั้นค่าพีเอชที่ลดลงระหว่างการปั่นผสมเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นและจุลินทรีย์ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* เป็นเวลา 1 ชั่วโมงเกิดจากการสะสมของกรดอินทรีย์โดยเฉพาะกรดแลคติก (Urbonaviciene และคณะ, 2015) ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 คุณภาพทางเคมีและทางกายภาพของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นก่อนและเสริมโพรไบโอติก (n=2)

คุณภาพ	เนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นเสริมโพรไบโอติก		
	ก่อนเสริม	หลังเสริม <i>L. plantarum</i>	หลังเสริม <i>L. rhamnosus</i>
ปริมาณความชื้น (% wb)	70.82 ± 0.57 ^b	72.15 ± 0.47 ^a	72.17 ± 0.70 ^a
ค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ (a_w) (T = 25°C)	0.9574 ± 0.0078 ^b	0.9629 ± 0.0062 ^{ab}	0.9654 ± 0.0038 ^a
ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (°Brix) ^{ns}	31.02 ± 0.55	30.49 ± 0.80	30.52 ± 0.51
พีเอช (pH)	4.09 ± 0.03 ^a	4.05 ± 0.03 ^b	4.06 ± 0.02 ^b
ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (% acidity)	1.12 ± 0.03 ^b	1.14 ± 0.02 ^b	1.24 ± 0.04 ^a
L*	48.76 ± 0.81 ^b	50.94 ± 0.59 ^a	51.06 ± 0.48 ^a
a*	14.19 ± 0.48 ^b	14.69 ± 0.05 ^a	14.72 ± 0.33 ^a
b*	59.70 ± 1.22 ^b	61.70 ± 0.64 ^a	61.93 ± 0.52 ^a
C*	61.36 ± 1.23 ^b	63.42 ± 0.63 ^a	63.65 ± 0.58 ^a
h ^{°ns}	76.63 ± 0.44	76.60 ± 0.11	76.63 ± 0.20

หมายเหตุ : a และ b หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบในแถวเดียวกัน

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบในแถวเดียวกัน

4.3.1.2 ปริมาณความชื้นและค่าวอเตอร์แอกติวิตีหลังการทำแห้ง

พารามิเตอร์การทำแห้งมีผลต่อปริมาณความชื้นและค่าวอเตอร์แอกติวิตีของผลิตภัณฑ์มะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* แสดงดังตารางที่ 8 พบว่าความชื้นของผลิตภัณฑ์ลดลงในระหว่างการทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส จนหยุดกระบวนการทำแห้งที่เวลา 12 และ 8 ชั่วโมง ตามลำดับ อย่างไรก็ตามทุกการทดลองมีค่าวอเตอร์แอกติวิตีต่ำกว่า 0.6 ซึ่งเป็นค่าที่ความปลอดภัยต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค (Prabhakar และ Mallika, 2014) โดยกำหนดให้ผลิตภัณฑ์มีค่าวอเตอร์แอกติวิตีใกล้เคียงกับ 0.5574 ± 0.00 และค่าปริมาณความชื้นค่าใกล้เคียงกับร้อยละ 25.34 ± 0.28 ฐานเปียก ซึ่งเป็นค่าปริมาณความชื้นที่ได้จากการวัดมะม่วงกวนจากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนสตรีแปรรูปผลไม้ อำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทรา ตารางที่ 8 แสดงปริมาณความชื้น และค่าวอเตอร์แอกติวิตีของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก (n=2)

ชนิดจุลินทรีย์	อุณหภูมิในการ ทำแห้ง (°C)	ระยะเวลาในการ ทำแห้ง (ชั่วโมง)	ปริมาณความชื้น (%wet basis) ^{ns}	ค่าวอเตอร์แอกติวิตี ^{ns}
<i>L. plantarum</i>	50	12	25.41 ± 0.18	0.5533 ± 0.0110
	60	8	25.56 ± 0.17	0.5521 ± 0.0086
<i>L. rhamnosus</i>	50	12	25.63 ± 0.17	0.5595 ± 0.0024
	60	8	25.59 ± 0.28	0.5576 ± 0.0057

หมายเหตุ : ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบในแถวเดียวกัน

4.3.1.3 ลักษณะปรากฏและค่าสี







ลักษณะปรากฏและค่าสีของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกที่ผ่านการทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 9 และ 10) พบว่าจากลักษณะปรากฏของชิ้นมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกที่ผ่านการทำแห้งมีสีที่คล้ำขึ้น โดยที่อุณหภูมิสูงชิ้นมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกจะมีสีคล้ำกว่าที่อุณหภูมิต่ำ

จากการศึกษาพารามิเตอร์การทำแห้งต่อคุณภาพค่าสีของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก พบว่าอุณหภูมิในการทำแห้งมีผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ต่อค่า L^* , a^* , Hue angle และ ΔE ดังแสดงในตารางที่ 10 โดยค่า L^* และ b^* มีค่าลดลง เนื่องจากมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก

เกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ในช่วงแรกของการทำแห้ง และช่วงท้ายของการทำแห้งจะเกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (Korbel และคณะ, 2013) นอกจากนี้ยังอาจเกิดการสลายตัวของสารเบต้าแคโรทีนจากความร้อนและออกซิเจน ส่งผลให้ค่า b* ลดลง สีของชิ้นมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกจึงมีสีเหลืองคล้ำขึ้นภายหลังการทำแห้ง โดยมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกที่ผ่านการทำแห้งที่อุณหภูมิสูง จะมีสีคล้ำกว่าเนื่องจากการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ เช่น ปฏิกิริยาเมลลาร์ด ที่เกิดขึ้นระหว่างน้ำตาลรีดิวซ์กับกรดอะมิโน โปรตีน หรือ สารประกอบไนโตรเจนอื่นๆ โดยมีความร้อนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ผลผลิตที่ได้จากปฏิกิริยาเมลลาร์ดจะมีสารประกอบที่ให้สีน้ำตาล ซึ่งส่งผลต่อการเปลี่ยนสีของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก (Yitayew และ Fenta, 2021)



ตารางที่ 9 แสดงลักษณะปรากฏของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก

ชนิดจุลินทรีย์	อุณหภูมิในการทำแห้ง (°C)	ระยะเวลาในการทำแห้ง (ชั่วโมง)	ลักษณะปรากฏ
<i>L. plantarum</i>	ก่อนทำแห้ง	0	
	50	12	
	60	8	
	ก่อนทำแห้ง	0	
<i>L. rhamnosus</i>	50	12	
	60	8	

ตารางที่ 10 แสดงค่าสีของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก

ชนิดจุลินทรีย์	อุณหภูมิในการทำ แห้ง (°C)	ระยะเวลาในการทำแห้ง (ชั่วโมง)	L*	a*	b*	C*	h°	ΔE
<i>L. plantarum</i>	ก่อนทำแห้ง	0	50.94 ± 0.59 ^a	14.69 ± 0.05 ^a	61.70 ± 0.64 ^a	63.42 ± 0.63 ^a	76.60 ± 0.11 ^a	-
		50	34.31 ± 0.86 ^b	13.22 ± 1.61 ^b	30.45 ± 2.10 ^b	33.21 ± 2.38 ^b	66.57 ± 2.05 ^c	35.48 ± 1.90 ^b
		60	32.34 ± 1.61 ^c	11.42 ± 0.84 ^c	29.38 ± 2.95 ^b	31.53 ± 2.95 ^b	68.68 ± 1.48 ^b	37.48 ± 2.74 ^a
<i>L. rhamnosus</i>	ก่อนทำแห้ง	0	51.08 ± 0.57 ^a	14.66 ± 0.38 ^a	61.94 ± 0.67 ^a	63.65 ± 0.73 ^a	76.69 ± 0.20 ^a	-
		50	34.30 ± 0.94 ^b	12.93 ± 0.64 ^b	29.56 ± 3.20 ^b	32.27 ± 3.16 ^b	66.20 ± 1.49 ^b	36.30 ± 3.04 ^b
		60	32.15 ± 1.30 ^c	12.33 ± 0.99 ^b	27.71 ± 3.15 ^b	30.33 ± 3.27 ^b	65.92 ± 0.80 ^b	38.99 ± 3.11 ^a

หมายเหตุ : a, b และ c หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างอุณหภูมิ ที่เชื้อโพรไบโอติกชนิดเดียวกัน

4.3.1.4 จำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติก (*L. plantarum* และ *L. rhamnosus*) ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ในมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกหลังการทำแห้ง

เมื่อเติมสารแขวนลอยโพรไบโอติกเชื้อ *L. plantarum* ที่มีจำนวน 11.31 ± 0.22 logCFU/ml และ *L. rhamnosus* ที่มีจำนวน 11.08 ± 0.48 logCFU/ml ลงไปเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้น พบว่าหลังกวนเป็นเวลา 1 ชั่วโมง มีจำนวนเชื้อ *L. plantarum* เท่ากับ 9.94 ± 0.36 และมีจำนวนเชื้อ *L. rhamnosus* เท่ากับ 9.45 ± 0.14 logCFU/g และเมื่อนำไปทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส พบว่าจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติกมีจำนวนลดลง แสดงดังตารางที่ 11 และเมื่อหยุดกระบวนการทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 12 ชั่วโมง พบว่ามีจำนวนเชื้อ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* ลดลงเหลือ 8.67 ± 0.19 และ 3.04 ± 0.18 logCFU/g ตามลำดับ และที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 8 ชั่วโมง พบว่ามีจำนวนเชื้อ *L. plantarum* ลดลงเหลือ 9.14 ± 0.34 logCFU/g และไม่พบเชื้อ *L. rhamnosus* ที่ระดับความเจือจาง 10 เท่า (10^{-1}) ดังนั้นจากผลการทดลองเชื้อจุลินทรีย์ *L. plantarum* จึงมีร้อยละการรอดชีวิตสูงกว่าเชื้อจุลินทรีย์ *L. rhamnosus* และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างอุณหภูมิในการทำแห้งของจุลินทรีย์ *L. plantarum* พบว่าที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส จำนวนจุลินทรีย์ *L. plantarum* ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ในมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกมีจำนวนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นจากการทดลองนี้ จึงได้นำจุลินทรีย์ *L. plantarum* มาศึกษาผลของระยะเวลาในการทำแห้งต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์

อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์มะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกมีจำนวนเชื้อ *L. plantarum* เป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์เสริมโพรไบโอติกซึ่งระบุว่าต้องมีจำนวนเชื้อคงเหลือไม่ต่ำกว่า 10^6 CFU/g (สำนักงานอาหารและยา, 2554) ซึ่งการลดลงภายหลังการทำแห้งเนื่องจาก *L. plantarum* สามารถเจริญเติบโตได้ในช่วงอุณหภูมิ 25–42 องศาเซลเซียส (Axelsson และ Salminen, 1993; Machielsen และคณะ, 2010) จึงไม่สามารถเจริญเติบโตและตายในสภาวะที่อุณหภูมิสูงขึ้น นอกจากนี้การทำแห้งเป็นการพาเอาความชื้นในชิ้นมะม่วงกวนออกมาทำให้เกิดการสูญเสียน้ำส่งผลให้เชื้อจุลินทรีย์เกิดความเครียดจากออสโมติกและความเครียดจากความร้อน ซึ่งสามารถทำลายเซลล์จุลินทรีย์โพรไบโอติก และทำให้จำนวนเซลล์จุลินทรีย์ลดลง (Niro และคณะ, 2022) เนื่องจากการคายน้ำ–การคั้นน้ำจะเกิดการซึมผ่านของเมมเบรนที่นำไปสู่การตายของเซลล์ (Dupont และคณะ, 2010; Schwab และคณะ, 2007)

Cyril Iaconelli และคณะ (2015) ได้ศึกษาผลของกระบวนการทำแห้งต่อการรอดชีวิต และการทำงานของจุลินทรีย์โพรไบโอติก *Lactobacillus plantarum*, *Bifidobacterium bifidum* และ *Lactobacillus zeae* พบว่ากระบวนการคายนํ้าจะเกี่ยวกับการกำจัดนํ้าในเซลล์จุลินทรีย์ ซึ่งจะเปลี่ยนโครงสร้างของเซลล์จุลินทรีย์ และทำให้เซลล์จุลินทรีย์ตายได้ ซึ่งความเค้น (Stress) ที่เกิดกับจุลินทรีย์ผ่านกระบวนการทำแห้ง และการสูญเสียนํ้าจะทำให้เกิดความเค้นเชิงกล ซึ่งส่วนใหญ่เกิดที่เยื่อหุ้มเซลล์ และพลาสมาเมมเบรนส่งผลให้เซลล์จุลินทรีย์บาดเจ็บในระหว่างการสูญเสียนํ้าภายในเซลล์ (Beney และคณะ, 2007; Ragoonanan และคณะ, 2008) ซึ่งในระหว่างการคายนํ้า การเพิ่มขึ้นของอัตราส่วนพื้นผิวต่อปริมาณของเซลล์อาจทำให้เกิดการเสียรูปของเมมเบรนหรือเนื้อเยื่อได้

จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์บางชนิดสามารถทนต่อความเครียดและสามารถรักษาคุณสมบัติของแบคทีเรียที่มีชีวิตได้ แม้ว่าจุลินทรีย์จะสูญเสียความสามารถในการเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งก็ตาม (Trevors, 2012) และจากการศึกษาของ Nivoliez และคณะ (2012) แสดงให้เห็นว่ากระบวนการผลิตมีอิทธิพลต่อคุณสมบัติของโพรไบโอติก *Lactobacillus rhamnosus* Lcr35

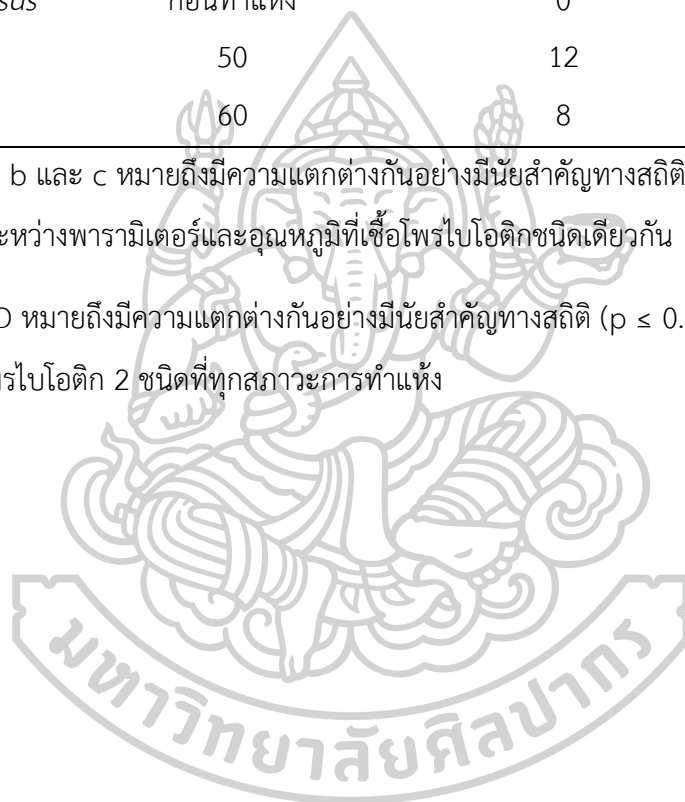
เนื่องจากสภาพภายนอกเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวกมีความเข้มข้นสูงกว่าภายในเซลล์และเกิดความเครียดจากการออสโมติก (osmotic stress) นอกจากนี้เซลล์ยังมีการสะสมตัวละลายภายในเซลล์เพื่อป้องกันการสูญเสียนํ้าออกจากเซลล์ทำให้เกิดสมดุลออสโมลิตีภายนอกและคงแรงดันเต่งของเซลล์ไว้ (H. Jayaprakasha และคณะ, 1997; Rojas และ Huang, 2018)

ตารางที่ 11 จำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติก (*L. plantarum* และ *L. rhamnosus*) ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ในมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก (n=2)

ชนิดจุลินทรีย์	อุณหภูมิในการทำแห้ง (°C)	ระยะเวลาในการทำแห้ง (ชั่วโมง)	จำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ (logCFU/g)
<i>L. plantarum</i>	ก่อนทำแห้ง	0	9.94 ± 0.38 ^{aA}
	50	12	8.62 ± 0.03 ^{bB}
	60	8	8.79 ± 0.07 ^{bB}
<i>L. rhamnosus</i>	ก่อนทำแห้ง	0	9.45 ± 0.14 ^{aA}
	50	12	3.04 ± 0.18 ^{bC}
	60	8	ไม่พบที่ความเจือจาง 10 เท่า

หมายเหตุ : a, b และ c หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างพารามิเตอร์และอุณหภูมิที่เชื้อโพรไบโอติกชนิดเดียวกัน

A, B, C และ D หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างเชื้อโพรไบโอติก 2 ชนิดที่ทุกสภาวะการทำแห้ง



4.3.2 ศึกษาผลของระยะเวลาในการทำแห้งต่อการเปลี่ยนแปลงของจำนวนจุลินทรีย์ *L. plantarum*

4.3.2.1 คุณภาพทางเคมีและทางกายภาพของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นเสริมโพรไบโอติก

คุณภาพทางเคมีและทางกายภาพของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นก่อนและหลังเสริมโพรไบโอติก แสดงดังตารางที่ 12 จะเห็นได้ว่ามีค่าปริมาณความชื้น ค่าวอเตอร์แอคทิวิตี ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และค่าพีเอชของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นเสริม *L. plantarum* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ค่าปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อเปรียบเทียบกับคุณภาพของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นในตารางที่ 12 พบว่าเมื่อใส่จุลินทรีย์โพรไบโอติกและกวนผสมเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นเสริมโพรไบโอติกมีค่าพีเอชมีค่าลดลง และปริมาณกรดที่ไทเทรตได้มีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kuria และคณะ (2021) ที่ศึกษาการหมักเชื้อ *L. casei* และ *L. plantarum* ในเนื้อมะม่วงปั่นละเอียด เป็นเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เนื่องจากการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ *L. plantarum* ในขณะกวนผสม ซึ่งแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก (LAB) จะเติบโตและมีการใช้น้ำตาลในเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นเพื่อผลิตกรดอินทรีย์ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นกรดแลคติก (Di Cagno และคณะ, 2013; Pérez และ Saguir, 2012) โดยค่าพีเอชที่ลดลงระหว่างการปั่นผสม 1 ชั่วโมงเกิดจากการสะสมของกรดอินทรีย์โดยเฉพาะกรดแลคติก (Urbanaviciene และคณะ, 2015)

ตารางที่ 12 คุณภาพทางเคมีและทางกายภาพของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นก่อนและหลังเสริมโพรไบโอติก

คุณภาพ	เนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นเสริมโพรไบโอติก	
	ก่อนเสริม	หลังเสริม <i>L. plantarum</i>
ปริมาณความชื้น (% wb)	70.41 ± 0.25 ^b	72.26 ± 0.24 ^a
ค่าวอเตอร์แอกติวิตี (a_w) (T = 25°C)	0.9551 ± 0.0026 ^b	0.9650 ± 0.055 ^a
ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (°Brix)	31.36 ± 0.33 ^a	30.89 ± 0.21 ^b
พีเอช (pH)	4.11 ± 0.03 ^a	4.07 ± 0.03 ^b
ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (% acidity) ^{ns}	1.12 ± 0.06	1.21 ± 0.03
L*	48.33 ± 0.47 ^b	51.08 ± 0.59 ^a
a* ^{ns}	14.78 ± 0.76	14.66 ± 0.33
b*	59.48 ± 1.36 ^b	62.35 ± 0.64 ^a
C*	61.29 ± 1.49 ^b	64.05 ± 0.66 ^a
h°	76.05 ± 0.42 ^b	76.77 ± 0.25 ^a

หมายเหตุ : a และ b หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบในแถวเดียวกัน

4.3.2.2 ปริมาณความชื้นและค่าวอเตอร์แอกติวิตีหลังการทำแห้ง

พารามิเตอร์การทำแห้งมีผลต่อปริมาณความชื้นและค่าวอเตอร์แอกติวิตีของผลิตภัณฑ์มะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก *L. plantarum* แสดงดังตารางที่ 13 พบว่าความชื้นของผลิตภัณฑ์ลดลงในระหว่างการทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8, 10 และ 12 ชั่วโมง อย่างไรก็ตามทุกการทดลองมีค่าวอเตอร์แอกติวิตีต่ำกว่า 0.6 ซึ่งเป็นค่าที่ความปลอดภัยต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค (Prabhakar และ Mallika, 2014) โดยกำหนดให้ผลิตภัณฑ์มีค่าวอเตอร์แอกติวิตี ไกล่เคียงกับ 0.5574 ± 0.00 และค่าปริมาณความชื้นค่าใกล้เคียงกับร้อยละ 25.34 ± 0.28 ฐานเปียก ซึ่งเป็นค่าปริมาณความชื้นที่ได้จากการวัดมะม่วงกวนจากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนสตรีแปรรูปผลไม้ อำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทรา

ตารางที่ 13 แสดงปริมาณความชื้น และค่าอเวอเตอร์แอกติวิตี้ของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก (n=2)

ชนิดจุลินทรีย์	อุณหภูมิในการ ทำแห้ง (°C)	ระยะเวลาในการ ทำแห้ง (ชั่วโมง)	ปริมาณความชื้น (%wet basis)	ค่าอเวอเตอร์แอกติวิตี้
<i>L. plantarum</i>	50	8	33.42 ± 0.24 ^a	0.6822 ± 0.0092 ^a
		10	29.64 ± 0.12 ^b	0.6084 ± 0.0036 ^b
		12	25.73 ± 0.36 ^c	0.5593 ± 0.0051 ^c
	60	8	25.65 ± 0.12 ^a	0.5519 ± 0.0043 ^a
		10	23.54 ± 0.24 ^b	0.5089 ± 0.0064 ^b
		12	21.77 ± 0.22 ^c	0.4810 ± 0.0066 ^c

หมายเหตุ : a, b และ c หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบในคอลัมน์เดียวกัน

4.3.2.3 ลักษณะปรากฏและค่าสี

ลักษณะปรากฏและค่าสีของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกที่ผ่านทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส ที่ผ่านการทำแห้งเป็นระยะเวลา 8, 10 และ 12 ชั่วโมง (ตารางที่ 14 และ 15) พบว่าจากลักษณะปรากฏของชิ้นมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกที่ผ่านการทำแห้งมีสีที่คล้ำขึ้น และจากการศึกษาพารามิเตอร์การทำแห้งต่อคุณภาพค่าสีของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก พบว่าอุณหภูมิในการทำแห้งมีผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ต่อค่า L^* , a^* , b^* , Chroma และ Hue angle ดังแสดงในตารางที่ 14 โดยค่า L^* และ b^* มีค่าลดลง เนื่องจากมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกเกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ในช่วงแรกของการทำแห้ง และช่วงท้ายของการทำแห้งจะเกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (Korbet และคณะ, 2013) นอกจากนี้ยังอาจเกิดการสลายตัวของสารเบต้าแคโรทีนจากความร้อนและออกซิเจน ส่งผลให้ค่า b^* ลดลง สีของชิ้นมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกจึงมีสีเหลืองคล้ำขึ้นภายหลังการทำแห้ง โดยมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกที่ผ่านการทำแห้งที่อุณหภูมิสูง และระยะเวลาในการทำแห้งที่นานขึ้นจะมีสีคล้ำกว่า เนื่องจากการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ เช่น ปฏิกิริยาเมลลาร์ด ที่เกิดขึ้นระหว่างน้ำตาลรีดิวซ์กับกรดอะมิโน โปรตีน หรือสารประกอบไนโตรเจนอื่นๆ โดยมีความร้อนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

ผลิตผลที่ได้จากปฏิกิริยาเมลลาร์ดจะมีสารประกอบที่ให้สีน้ำตาล ซึ่งส่งผลต่อการเปลี่ยนสีของมะม่วง
กวนเสริมโพรไบโอติก (Yitayew และ Fenta, 2021)






ตารางที่ 14 แสดงค่าสีของมะม่วงความสุริมีโพธิ์โตที่ระยะเวลาการทำแห้งต่างๆ

ชนิดจุลินทรีย์	อุณหภูมิในการทำแห้ง (°C)	อุณหภูมิในการทำ	ระยะเวลาในการทำแห้ง (ชั่วโมง)	L*	a*	b*	C*	h°	
<i>L. plantarum</i>	50	ก่อนทำแห้ง	0	51.08 ± 0.59	14.76 ± 0.30	62.17 ± 0.77	63.90 ± 0.75	76.65 ± 0.31	
			8	37.49 ± 0.32 ^A	13.63 ± 0.38 ^A	39.68 ± 2.67 ^A	41.95 ± 2.63 ^A	71.01 ± 0.85 ^A	
			10	36.38 ± 0.12 ^B	12.66 ± 0.65 ^B	33.80 ± 1.26 ^B	36.10 ± 1.40 ^B	69.48 ± 0.36 ^B	
			12	34.27 ± 0.75 ^C	12.78 ± 1.54 ^{AB}	30.72 ± 2.21 ^C	33.28 ± 2.56 ^C	67.47 ± 1.49 ^C	
	60	ก่อนทำแห้ง	8	31.42 ± 1.82 ^A	11.22 ± 1.20 ^A	28.82 ± 1.83 ^A	30.93 ± 2.08 ^A	68.75 ± 1.24 ^A	
			10	29.58 ± 0.83 ^B	11.31 ± 0.71 ^A	27.72 ± 2.16 ^A	29.98 ± 2.12 ^B	67.62 ± 1.64 ^{AB}	
			12	ก่อนทำแห้ง	27.29 ± 1.52 ^C	9.98 ± 0.79 ^B	23.36 ± 2.73 ^B	25.41 ± 2.75 ^C	66.74 ± 1.30 ^B
				หลังทำแห้ง	27.29 ± 1.52 ^C	9.98 ± 0.79 ^B	23.36 ± 2.73 ^B	25.41 ± 2.75 ^C	66.74 ± 1.30 ^B

หมายเหตุ : A และ B หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบที่อุณหภูมิเดียว

ตารางที่ 15 แสดงลักษณะปรากฏของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก

ชนิดจุลินทรีย์	ก่อนทำแห้ง	อุณหภูมิในการทำแห้ง (°C)	ระยะเวลาในการทำแห้ง (ชั่วโมง)
<i>L. plantarum</i>		50	8
			10
			12
			60
	10		
	12		



4.3.2.4 จำนวนจุลินทรีย์ *L. plantarum* ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ในมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกหลังการทำแห้ง

เมื่อเติมสารแขวนลอยโพรไบโอติกเชื้อ *L. plantarum* ที่มีจำนวน 11.14 ± 0.22 logCFU/ml ลงไปเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้น พบว่าหลังกวนเป็นเวลา 1 ชั่วโมง มีจำนวนเชื้อ *L. plantarum* เท่ากับ 9.61 ± 0.24 logCFU/g และเมื่อนำไปทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 8, 10 และ 12 ชั่วโมง พบว่าจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติกมีจำนวนลดลงเมื่อระยะเวลาในการทำแห้งเพิ่มขึ้น แสดงดังตารางที่ 16 โดยอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาในการทำแห้ง 8 และ 10 ชั่วโมง มีจำนวนจุลินทรีย์ *L. plantarum* ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างระยะเวลาในการทำแห้ง 10 และ 12 ชั่วโมง จำนวนจุลินทรีย์ *L. plantarum* ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส จำนวนจุลินทรีย์ *L. plantarum* ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้นั้นความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างการทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาการทำแห้งต่างๆพบว่าจำนวนจุลินทรีย์ *L. plantarum* หลังการทำแห้งที่ระยะเวลา 10 ชั่วโมง (8.96 ± 0.03 logCFU/g) และ 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (8.67 ± 0.19 logCFU/g) และที่ระยะเวลา 8 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส (8.86 ± 0.09 logCFU/g) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์มะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกมีจำนวนเชื้อ *L. plantarum* เป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์เสริมโพรไบโอติกซึ่งระบุว่าต้องมีจำนวนเชื้อคงเหลือไม่ต่ำกว่า 10^6 CFU/g (สำนักงานอาหารและยา, 2554) แต่ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาในการทำแห้ง 10 และ 12 ชั่วโมง มีจำนวนเชื้อคงเหลือต่ำกว่า 10^6 CFU/g

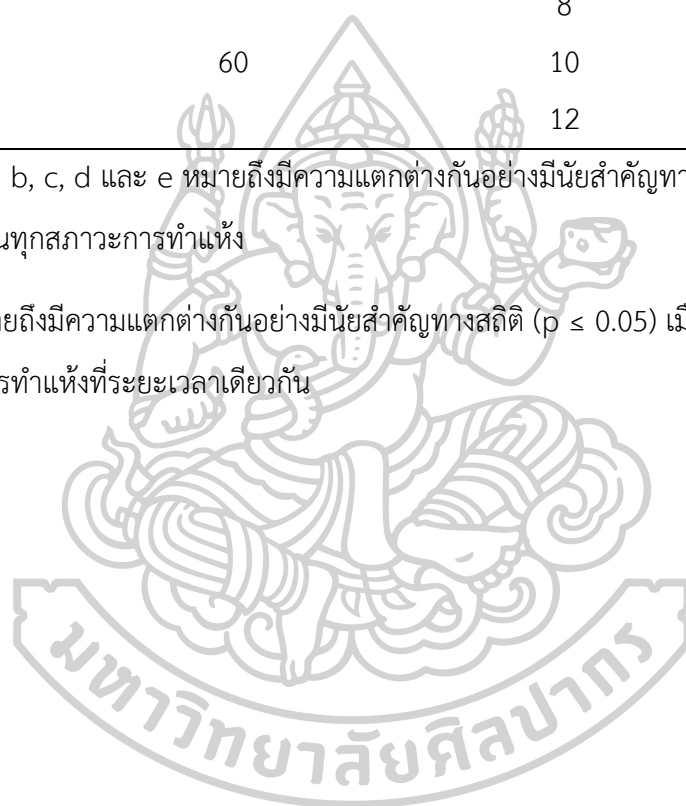
โดยการทำแห้งจะเกี่ยวกับการกำจัดน้ำในเซลล์จุลินทรีย์ ซึ่งจะเปลี่ยนโครงสร้างของเซลล์จุลินทรีย์ และทำให้เซลล์จุลินทรีย์ตายจากความเค้น (Stress) ที่เกิดกับจุลินทรีย์ผ่านกระบวนการทำแห้ง และการสูญเสียน้ำจะทำให้เกิดความเค้นเชิงกล ซึ่งส่วนใหญ่เกิดที่เยื่อหุ้มเซลล์ และพลาสมาเมมเบรนส่งผลให้เซลล์จุลินทรีย์บาดเจ็บในระหว่างการสูญเสียน้ำภายในเซลล์ (Beney และคณะ, 2007; C. Iaconelli และคณะ, 2015; Ragoonanan และคณะ, 2008)

ตารางที่ 16 จำนวนจุลินทรีย์ (*L. plantarum*) ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ในมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก

ชนิดจุลินทรีย์	อุณหภูมิในการทำแห้ง (°C)	ระยะเวลาในการทำแห้ง (ชั่วโมง)	จำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ (logCFU/g)
<i>L. plantarum</i>	ก่อนทำแห้ง	0	9.93 ± 0.33 ^a
	50	8	9.24 ± 0.19 ^{bA}
		10	8.96 ± 0.03 ^{bcA}
		12	8.67 ± 0.19 ^c
		8	8.86 ± 0.09 ^{cB}
	60	10	5.60 ± 0.08 ^{dB}
		12	ไม่พบที่ความเจือจาง 10 เท่า

หมายเหตุ : a, b, c, d และ e หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบในทุกสภาวะการทำแห้ง

A และ B หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบระหว่างอุณหภูมิในการทำแห้งที่ระยะเวลาเดียวกัน



4.4 ศึกษาอิทธิพลของการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ต่อจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติก (*L. plantarum* และ *L. rhamnosus*) ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้และคุณภาพของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

คุณภาพทางเคมีและทางกายภาพของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นก่อนและหลังเสริมโพรไบโอติก แสดงดังตารางที่ 17 จะเห็นได้ว่ามีค่าปริมาณความชื้น ค่าวอเตอร์แอกติวิตี ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และค่าปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นเสริม *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ค่าพีเอชไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากเมื่อใส่จุลินทรีย์โพรไบโอติกและกวนผสมเป็นเวลา 1 ชั่วโมง เนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นเสริมโพรไบโอติกมีค่าพีเอชมีค่าลดลง และปริมาณกรดที่ไทเทรตได้มีค่าเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kuria และคณะ (2021) ที่ศึกษาการหมักเชื้อ *L. casei* และ *L. plantarum* ในเนื้อมะม่วงปั่นละเอียด เป็นเวลา 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เนื่องจากการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ *L. plantarum* ในขณะกวนผสม ซึ่งแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก (LAB) จะเติบโตและมีการใช้น้ำตาลในเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นเพื่อผลิตกรดอินทรีย์ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นกรดแลคติก (Di Cagno และคณะ, 2013; Pérez และ Saguir, 2012) โดยค่าพีเอชที่ลดลงระหว่างการปั่นผสม 1 ชั่วโมงเกิดจากการสะสมของกรดอินทรีย์โดยเฉพาะกรดแลคติก (Urbonaviciene และคณะ, 2015)



ตารางที่ 17 คุณภาพทางเคมีและทางกายภาพของเนื้อมะม่วงป่นละเอียดเข้มข้นก่อนและเสริมโพรไบโอติก (n=2)

คุณภาพ	เนื้อมะม่วงป่นละเอียดเข้มข้นเสริมโพรไบโอติก		
	ก่อนเสริม	หลังเสริม <i>L. plantarum</i>	หลังเสริม <i>L. rhamnosus</i>
ปริมาณความชื้น (% wb)	70.83 ± 0.65 ^b	72.30 ± 0.21 ^a	72.32 ± 0.38 ^a
ค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ (a_w) (T = 25°C)	0.9560 ± 0.0036 ^c	0.9622 ± 0.0037 ^b	0.9666 ± 0.0047 ^a
ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (°Brix)	31.08 ± 0.74 ^a	30.5 ± 0.68 ^{ab}	30.7 ± 0.26 ^b
พีเอช (pH)	4.09 ± 0.03	4.08 ± 0.03	4.07 ± 0.01
ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (% acidity)	1.21 ± 0.05 ^b	1.23 ± 0.03 ^a	1.21 ± 0.07 ^a
L*	48.60 ± 0.42 ^b	51.17 ± 0.74 ^a	51.46 ± 0.29 ^a
a*	14.64 ± 0.37 ^c	14.92 ± 0.36 ^a	14.59 ± 0.26 ^b
b*	59.20 ± 0.78 ^c	62.41 ± 0.88 ^a	61.39 ± 0.72 ^b
C*	60.98 ± 0.82 ^c	64.17 ± 0.81 ^a	63.10 ± 0.65 ^b
h°	76.11 ± 0.28 ^b	76.55 ± 0.44 ^a	76.65 ± 0.35 ^a
ΔE	-	4.15 ± 1.12	3.64 ± 0.60

หมายเหตุ : a, b และ c หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบในแถวเดียวกัน

เมื่อเสริมเชื้อ *L. plantarum* ที่มีจำนวน 11.16 ± 0.15 logCFU/ml และ *L. rhamnosus* ที่มีจำนวน 11.08 ± 0.51 logCFU/ml ลงไปเนื้อมะม่วงป่นละเอียดเข้มข้น และกวนเป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำไปแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง พบว่าเนื้อมะม่วงป่นละเอียดเข้มข้นหลังแช่แข็งที่มีเชื้อ *L. plantarum* มีปริมาณความชื้นร้อยละ 72.30 ± 0.21 ค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ 0.9622 ± 0.00 และจำนวนเชื้อ *L. plantarum* เท่ากับ 9.98 ± 0.69 logCFU/g เนื้อส่วนเนื้อมะม่วงป่นละเอียดเข้มข้นหลังแช่แข็งที่มีเชื้อ *L. rhamnosus* มีปริมาณความชื้นร้อยละ 72.32 ± 0.30 ค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ 0.9666 ± 0.00 และจำนวนเชื้อ *L. rhamnosus* เท่ากับ 9.33 ± 0.21 logCFU/g จากนั้นนำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเป็นเวลา 72 ชั่วโมง พบว่ามีจำนวนเชื้อ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* คงเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์ 8.26 ± 0.12 และ 8.29 ± 0.11

logCFU/g ดังตารางที่ 18 เนื่องจากในกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง จุลินทรีย์จะเผชิญกับความเครียดต่างๆในระหว่างการแช่เยือกแข็งและการระเหิดของน้ำแข็ง ซึ่งนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงภายในเซลล์จุลินทรีย์ เช่น การเสียรูปของเซลล์จุลินทรีย์ การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของลิพิดในเยื่อหุ้มเซลล์ และความเสียหายต่อโครงสร้างเซลล์จากผลึกน้ำแข็งในกระบวนการแช่เยือกแข็ง นอกจากนี้ การเกิดผลึกน้ำแข็งในผลิตภัณฑ์ สารละลายภายในเซลล์จุลินทรีย์จะเข้มข้นขึ้น ซึ่งนำไปสู่การเกิดความเครียดจากออสโมซิส (Kiepiś และ Dembczyński, 2022) อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์เนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีจำนวนเชื้อ *L. plantarum* เป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์เสริมโพรไบโอติกซึ่งระบุว่าต้องมีจำนวนเชื้อคงเหลือไม่ต่ำกว่า 10^6 CFU/g (สำนักงานอาหารและยา, 2554)

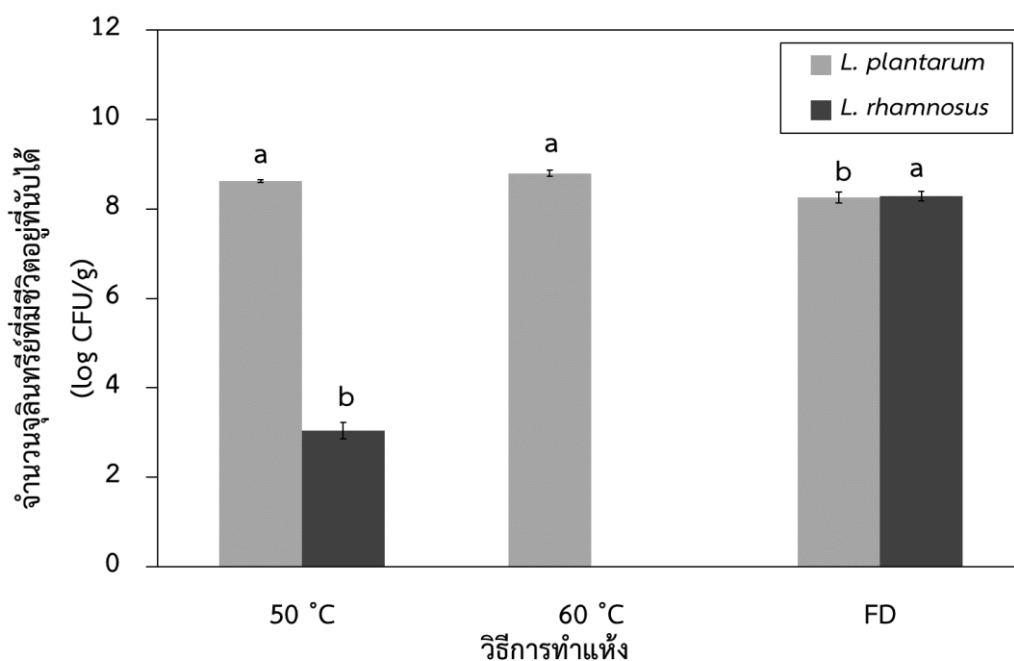
ตารางที่ 18 แสดงคุณภาพและจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติก (*L. plantarum* และ *L. rhamnosus*) ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ในเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (n=2)

คุณภาพ	เนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง	
	<i>L. plantarum</i>	<i>L. rhamnosus</i>
ปริมาณความชื้น (% wb)	8.84 ± 0.53	8.96 ± 0.22
ค่าวอเตอร์แอกติวิตี (a_w) (T = 25 °C)	0.2604 ± 0.0080	0.2676 ± 0.0036
จำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ (logCFU/g)	8.26 ± 0.12	8.29 ± 0.11
การรอดชีวิตของโพรไบโอติก (%)	82.69 ± 1.19 ^a	88.85 ± 1.14 ^b

หมายเหตุ : a และ b หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบในแถวเดียวกัน

เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเชื้อโพรไบโอติก *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* คงเหลือในผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบภาคในหัวข้อที่ 4.3.1 และการทำแห้งด้วยการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ดังภาพที่ 37 พบว่าจำนวนเชื้อ *L. rhamnosus* มีความไวต่อสภาวะการทำแห้งด้วยความร้อน เนื่องจากการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบภาคส่งผลให้จำนวนเชื้อ *L. rhamnosus* มีจำนวนคงเหลือน้อยกว่า *L. plantarum* แต่เชื้อ *L. rhamnosus* มีจำนวนคงเหลือมากที่สุดที่วิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง เนื่องจากวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเป็นการทำแห้งโดยไม่ใช้ความร้อนและเป็นวิธีที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในการรักษาเสถียรภาพของโพรไบโอติกหรือแบคทีเรียผลิตภัณฑ์แลคติก แต่วิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งสามารถหยุดการทำงานของเซลล์จุลินทรีย์ส่วนใหญ่ได้ ซึ่งจะเกิดขึ้นในระหว่างขั้นตอนการแช่แข็ง (Meng และคณะ, 2008) เนื่องจากการก่อตัวของผลึกน้ำแข็ง

นอกเซลล์จะเพิ่มออสโมลิตี้อย่างนอกเซลล์ และเซลล์จะเริ่มขาดน้ำ อย่างไรก็ตามอัตราการแช่แข็งมีอิทธิพลต่อการก่อตัวของผลึกน้ำแข็งนอกเซลล์ โดยการแช่แข็งอย่างรวดเร็วส่งผลให้เกิดการหดตัวของเซลล์มากเกินไปซึ่งส่งผลให้เกิดความเสียหายของเซลล์ (FOWLER และ TONER, 2006)





ภาพที่ 37 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนโพรไบโอติกคงเหลือและวิธีการในการทำแห้ง
 หมายเหตุ : a และ b หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบที่ชนิดจุลินทรีย์เดียวกัน

FD หมายถึงการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

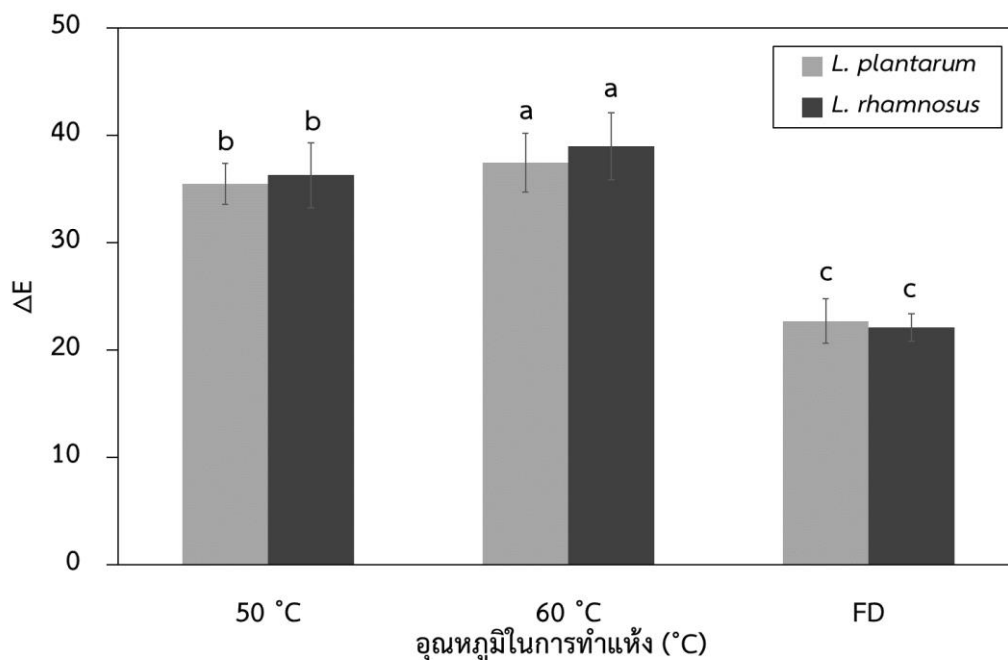
จากตารางที่ 19 พบว่าค่าสีของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีค่า L^* a* b* เป็นค่าบวก และค่า L^* มีค่าเพิ่มขึ้นจากเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นหลังผสมจุลินทรีย์ ซึ่งสอดคล้องกับ Nazmi Izli และคณะ (2017) พบว่าการทำแห้งมะม่วงด้วยวิธีการแช่เยือกแข็งแบบสุญญากาศ เพิ่มค่า L^* ในมะม่วงอบแห้ง เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของอากาศในชั้นมะม่วงต่างจากการทำแห้งด้วยวิธีอื่นที่มีการใช้ความร้อนสูงในกระบวนการทำแห้ง ส่วนค่า ΔE คือหน่วยชี้วัดมาตรฐานค่าความต่างหรือผิดเพี้ยนของสี โดยในการทดลองนี้เทียบจากเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นหลังผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก บ่งบอกค่าความแตกต่างระหว่างจุดสีสองจุดที่กำหนดไว้ในปริภูมิสี พบว่าขึ้นตัวอย่าง *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* ที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีค่า ΔE

เท่ากับ 22.69 ± 1.14 และ 22.51 ± 0.62 ซึ่งทั้ง 2 ค่า ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ และมีค่า ΔE น้อยเมื่อเทียบกับการทำแห้งด้วยลมร้อนในหัวข้อ 4.3.1 ดังภาพที่ 38 เนื่องจากค่า ΔE เป็นค่าที่คำนวณจากค่า L^* a^* b^* ซึ่งการลดลงของค่า L^* และ a^* ของมะม่วงกวนอบแห้งเสริมโพรไบโอติก ส่งผลให้ค่า ΔE มีค่ามากกว่าเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง นอกจากนี้ในกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีขั้นตอนการแช่เยือกแข็งก่อนการทำแห้ง จึงทำให้โครงสร้างหลังการแช่เยือกแข็งรูพรุนมีขนาดเล็กจำนวนมาก โครงสร้างเซลล์ถูกทำลายน้อยจึงรักษาคุณภาพด้านสีไว้ได้ดี (Ceballos และคณะ, 2012)

ตารางที่ 19 แสดงลักษณะปรากฏและค่าสีของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (n=2)

ชนิดจุลินทรีย์โพรไบโอติก	<i>L. plantarum</i>	<i>L. rhamnosus</i>
ลักษณะปรากฏ		
L^* ^{ns}	71.55 ± 1.38	71.30 ± 1.28
a^* ^{ns}	11.61 ± 0.89	11.88 ± 0.75
b^* ^{ns}	53.40 ± 1.61	52.30 ± 1.49
C^* ^{ns}	54.66 ± 1.41	53.65 ± 1.27
h° ^{ns}	77.69 ± 1.26	77.17 ± 1.17
ΔE ^{ns}	22.69 ± 1.14	22.51 ± 0.62

หมายเหตุ : ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบในแถวเดียวกันระหว่างตัวอย่าง *L. plantarum* และ *L. rhamnosus*



ภาพที่ 38 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า ΔE และวิธีการในการทำแห้ง
 หมายเหตุ : FD หมายถึงการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง

4.5 ศึกษาอิทธิพลของวิธีการทำแห้งต่อคุณภาพของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก และจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติก (*L. plantarum* และ *L. rhamnosus*) ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้

จากผลการทดลองในหัวข้อ 4.3 ได้นำสภาวะการทำแห้งที่มีจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติก (*L. plantarum* และ *L. rhamnosus*) ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้มากกว่า 6 logCFU/g คือการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบถาดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสมาเปรียบเทียบกับการทำแห้งด้วยระบบอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์และการตากแดด โดยเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่ใช้ในการทดลองนี้จะต่างเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดในหัวข้อ 4.3 เนื่องจากจุลินทรีย์โพรไบโอติกทั้ง 2 ชนิดนั้นมีค่าพีเอชที่เหมาะสมในการเจริญอยู่ที่พีเอช 5-6 ซึ่งจากตารางที่ 20 ค่าพีเอชของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นก่อนเสริมโพรไบโอติกมีค่า 5.29 ± 0.03 และจากค่า L^* , a^* , b^* , chroma และ hue angle แสดงให้เห็นว่าเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่มีสีเหลือง เมื่อนำเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นไปวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์และรา พบว่ามีจำนวนโคโลนีน้อยกว่า 25 โคโลนีที่ระดับความเงื่อนจาง 10 เท่า

เมื่อเติมจุลินทรีย์โพรไบโอติก *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* ลงไปในเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้น พบว่าคุณภาพทางเคมีของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นเสริมโพรไบโอติก มีค่าปริมาณความชื้น ค่าวอเตอร์แอกติวิตี และปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นเสริม *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* มีค่าเพิ่มขึ้นและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นก่อนเสริมโพรไบโอติก แต่เมื่อพิจารณาที่ค่าพีเอช พบว่ามีค่าลดลงเนื่องจากการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์โพรไบโอติก *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* ในขณะกวนผสมเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ซึ่งแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก (LAB) จะเติบโตและมีการใช้น้ำตาลในเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นเพื่อผลิตกรดอินทรีย์ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นกรดแลคติก (Di Cagno และคณะ, 2013; Pérez และ Saguir, 2012)

ตารางที่ 20 คุณภาพทางเคมีและทางกายภาพของเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นก่อนและหลังเสริมโพรไบโอติก

คุณภาพ	เนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้น		
	ก่อนเสริม	หลังเสริม <i>L. plantarum</i>	หลังเสริม <i>L. rhamnosus</i>
ปริมาณความชื้น (% wb)	71.86 ± 0.08 ^c	72.14 ± 0.09 ^b	72.39 ± 0.23 ^a
ค่าวอเตอร์แอกติวิตี (aw) (T = 25 °C)	0.9493 ± 0.011 ^b	0.9643 ± 0.007 ^a	0.9651 ± 0.010 ^a
ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (°Brix)	28.14 ± 0.18 ^a	28.02 ± 0.33 ^a	27.41 ± 0.20 ^b
พีเอช (pH)	5.29 ± 0.03 ^a	5.03 ± 0.01 ^b	5.03 ± 0.03 ^b
ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (% acidity)	0.29 ± 0.02 ^b	0.37 ± 0.01 ^a	0.37 ± 0.03 ^a
L*	47.74 ± 0.36 ^b	48.81 ± 0.22 ^a	49.02 ± 0.40 ^a
a*	19.57 ± 0.43 ^b	20.26 ± 0.32 ^a	20.47 ± 0.37 ^a
b*	66.42 ± 0.45 ^b	67.53 ± 0.30 ^a	67.59 ± 0.41 ^a
C*	69.24 ± 0.39 ^b	70.51 ± 0.31 ^a	70.62 ± 0.31 ^a
h°	73.58 ± 0.40 ^b	73.30 ± 0.26 ^a	73.15 ± 0.37 ^a

หมายเหตุ : a และ b หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อ

เปรียบเทียบในแถวเดียวกัน

4.5.1 ปริมาณความชื้นและค่าวอเตอร์แอกติวิตี้หลังการทำแห้ง

วิธีการทำแห้งไม่ส่งผลต่อปริมาณความชื้นและค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ของผลิตภัณฑ์มะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* แสดงดังตารางที่ 21 เนื่องจากกำหนดให้ผลิตภัณฑ์มีค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ใกล้เคียงกับ 0.5574 ± 0.00 และค่าปริมาณความชื้นค่าใกล้เคียงกับร้อยละ 25.34 ± 0.28 ฐานเปียก ซึ่งเป็นค่าปริมาณความชื้นที่ได้จากการวัดมะม่วงกวนจากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนสตรีแปรรูปผลไม้ อำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทรา อย่างไรก็ตามทุกการทดลองมีค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ต่ำกว่า 0.6 ซึ่งเป็นค่าที่ความปลอดภัยต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค (Prabhakar และ Mallika, 2014)

ตารางที่ 21 แสดงปริมาณความชื้น และค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก (n=1)

ชนิดจุลินทรีย์	วิธีการทำแห้ง	ระยะเวลาในการ ทำแห้ง (ชั่วโมง)	ปริมาณความชื้น (%wet basis)	ค่าวอเตอร์แอกติวิตี้
<i>L. plantarum</i>	ตู้อบลมร้อนแบบถาด 50°C	13 ชั่วโมง	25.10 ± 0.12	0.5567 ± 0.005
	ระบบอบแห้งพลังงาน แสงอาทิตย์	10 ชั่วโมง 30 นาที	24.92 ± 0.19	0.5410 ± 0.010
	ตากแดด	14 ชั่วโมง	25.02 ± 0.09	0.5537 ± 0.013
<i>L. rhamnosus</i>	ตู้อบลมร้อนแบบถาด 50°C	13 ชั่วโมง	25.00 ± 0.08	0.5580 ± 0.007
	ระบบอบแห้งพลังงาน แสงอาทิตย์	10 ชั่วโมง 30 นาที	24.96 ± 0.11	0.5423 ± 0.007
	ตากแดด	14 ชั่วโมง	25.22 ± 0.68	0.5580 ± 0.009

4.5.2 ลักษณะปรากฏและค่าสี

ลักษณะปรากฏและค่าสีของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกที่ผ่านการทำแห้งทั้ง 3 วิธีพบว่าจากลักษณะปรากฏขึ้นมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกที่ผ่านการทำแห้งมีสีที่คล้ำขึ้น โดยเฉพาะขึ้นมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกที่ทำแห้งด้วยระบบอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์จะมีสีคล้ำกว่าวิธีอื่น แสดงดังตารางที่ 22 เนื่องจากอุณหภูมิภายในระบบอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์มีอุณหภูมิอยู่ในช่วง 47.4-72.6 องศาเซลเซียส ซึ่งที่อุณหภูมิสูงจะเกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (Korbel และคณะ, 2013)


จากการศึกษาวิธีการทำแห้งทั้ง 3 วิธีต่อคุณภาพค่าสีของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก พบว่าวิธีการทำแห้งส่งผลต่อค่า L^* , a^* , b^* , Chroma, Hue angle และ ΔE อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 22 และ 23 โดยค่า L^* และ b^* ของมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกมีค่าต่ำสุดในทุกวิธีการทดลอง เนื่องจากมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกเกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ในช่วงแรกของการทำแห้ง และช่วงท้ายของการทำแห้งจะเกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่ไม่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (Korbel และคณะ, 2013) นอกจากนี้ยังอาจเกิดการสลายตัวของสารเบต้าแคโรทีนจากความร้อนและออกซิเจน ส่งผลให้ค่า b^* ลดลง สีของชิ้นมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกจึงมีสีเหลืองคล้ำขึ้นภายหลังการทำแห้ง



ตารางที่ 22 แสดงค่าสีของมะม่วงสวนเสริมโพรไบโอติกที่ผ่านการทำให้แห้ง 3 วิธี

ชนิดจุลินทรีย์	วิธีการทำให้แห้ง	ระยะเวลาในการ ทำให้แห้ง (ชั่วโมง)	L*	a*	b*	C*	h°	ΔE
<i>L. plantarum</i>	ตูบลมร้อนแบบถาด 50°C	13 ชั่วโมง	34.79 ± 0.80	14.33 ± 0.92	22.11 ± 1.56	26.36 ± 1.70	57.03 ± 1.42	47.91 ± 1.76
	ระบบอบแห้งพลังงาน แสงอาทิตย์	10 ชั่วโมง 30 นาที	33.30 ± 0.34	13.87 ± 0.60	19.31 ± 1.31	23.79 ± 1.23	54.26 ± 1.78	51.06 ± 1.24
		14 ชั่วโมง	34.13 ± 0.48	13.78 ± 1.28	19.77 ± 1.45	24.10 ± 1.84	55.14 ± 1.15	50.40 ± 1.60
<i>L. rhamnosus</i>	ตูบลมร้อนแบบถาด 50°C	13 ชั่วโมง	34.60 ± 0.48	15.05 ± 0.49	23.85 ± 1.80	28.21 ± 1.74	57.68 ± 1.38	46.48 ± 1.66
	ระบบอบแห้งพลังงาน แสงอาทิตย์	10 ชั่วโมง 30 นาที	33.18 ± 0.60	13.32 ± 0.62	18.64 ± 1.39	22.92 ± 1.29	54.39 ± 2.02	51.95 ± 1.41
		14 ชั่วโมง	34.79 ± 1.10	14.41 ± 0.41	20.98 ± 2.04	25.47 ± 1.82	55.42 ± 2.23	49.1 ± 2.25

ตารางที่ 23 แสดงลักษณะปรากฏของมะม่วงกวนเสริมไฟเบอร์โอดีที่ผ่านการทำแห้ง 3 วิธี

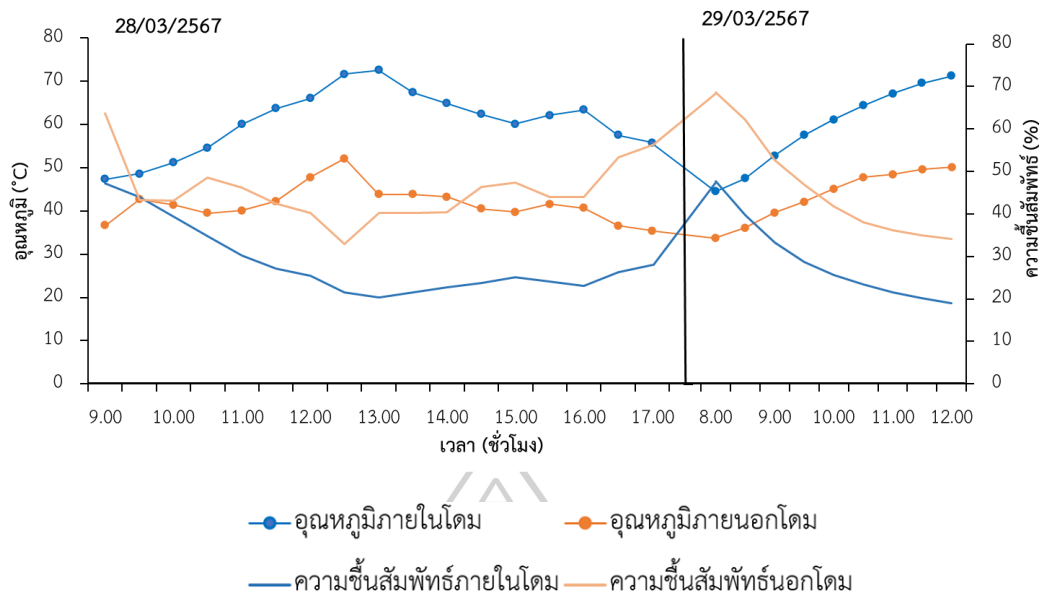
ชนิดจุลินทรีย์	วิธีการทำแห้ง			
	ก่อนทำแห้ง	ตูบลมร้อนแบบถาด	ระบบอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์	ตากแดด
<i>L. plantarum</i>				
<i>L. rhamnosus</i>				

4.5.3 จำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติก (*L. plantarum* และ *L. rhamnosus*) ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ในมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกที่ผ่านการทำแห้ง 3 วิธี

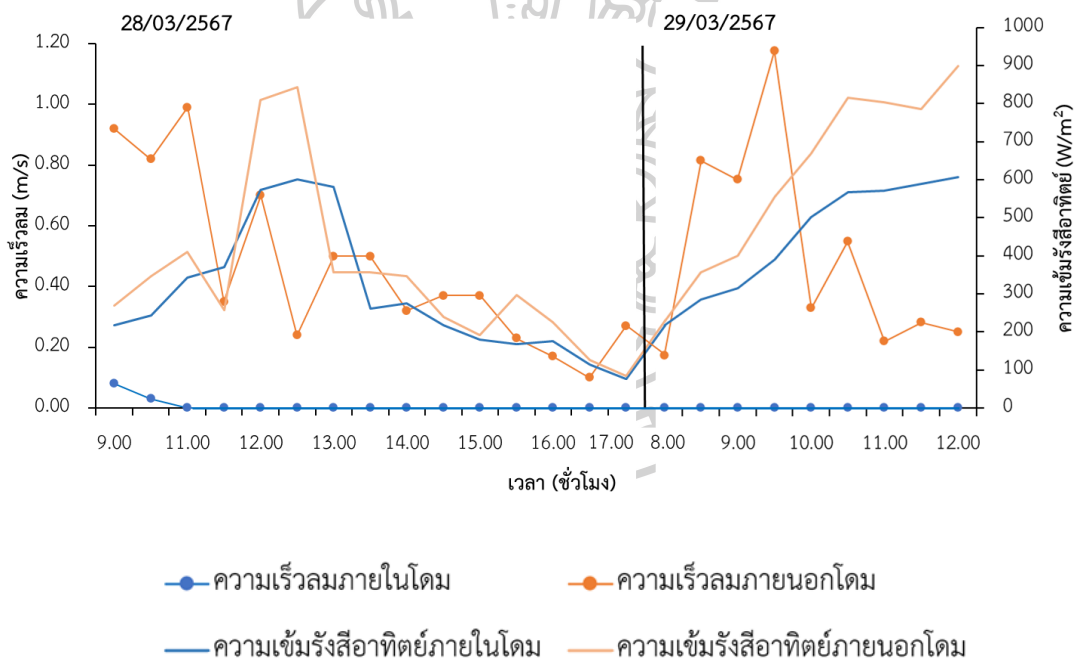
เมื่อเสริมเชื้อ *L. plantarum* ที่มีจำนวน 10.60 ± 0.08 logCFU/ml และ *L. rhamnosus* ที่มีจำนวน 10.99 ± 0.67 logCFU/ml ลงไปเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้น พบว่าหลังกวนเป็นเวลา 1 ชั่วโมง มีจำนวนเชื้อ *L. plantarum* เท่ากับ 9.20 ± 0.02 และมีจำนวนเชื้อ *L. rhamnosus* เท่ากับ 9.28 ± 0.14 logCFU/g และเมื่อนำไปทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบถาดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส พบว่าจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติกมีจำนวนลดลง แสดงดังตารางที่ 18 และเมื่อหยุดกระบวนการทำแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 13 ชั่วโมง พบว่ามีจำนวนเชื้อ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* ลดลงเหลือ 6.01 ± 0.06 และ 5.84 ± 0.02 logCFU/g ตามลำดับ และมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกที่ผ่านการทำแห้งด้วยระบบอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์ พบว่าไม่พบเชื้อ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* ที่ระดับความเจือจาง 10^1 เท่า (10^{-1}) เนื่องจากอุณหภูมิภายในระบบอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์มีอุณหภูมิอยู่ในช่วง 47.4-72.6 องศาเซลเซียส ดังแสดงในภาพที่ 37 ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสมกับการรอดชีวิตของจุลินทรีย์โพรไบโอติก และจากการทำแห้งด้วยการตากแดดพบว่าจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติก (*L. plantarum* และ *L. rhamnosus*) ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ในมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกเท่ากับ 4.46 ± 0.09 และ 4.01 ± 0.04 logCFU/g ตามลำดับ ซึ่งไม่ปฏิบัติตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์เสริมโพรไบโอติกซึ่งระบุว่าต้องมีจำนวนเชื้อคงเหลือไม่ต่ำกว่า 10^6 CFU/g (สำนักงานอาหารและยา, 2554) เนื่องจากการทำแห้งด้วยระบบอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์และการตากแดดมีการสัมผัสกับออกซิเจนและได้รับรังสีจากแสงอาทิตย์ แม้ว่า *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* จะสามารถทนต่อออกซิเจนได้ในระดับหนึ่ง แต่การได้รับออกซิเจนที่มีความเข้มข้นสูงเป็นเวลานานอาจนำไปสู่ความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ความเสียหายของ DNA และความรอดชีวิตลดลง นอกจากนี้แสงอาทิตย์ยังประกอบไปด้วยรังสียูวีซึ่งอาจก่อให้เกิดความเสียหายต่อ DNA ของจุลินทรีย์ และเกิดไทมินไคเมอร์ซึ่งขัดขวางความสามารถในการขยายพันธุ์และการอยู่รอดของจุลินทรีย์ แต่จากการศึกษาของ Müller และคณะ (2015) พบว่า *Lactobacillus plantarum* BFE 5092 สามารถทนทานต่อรังสี UV-C ได้ดีกว่า *E. coli* DH5 α ดังนั้นแม้การตากแดดจะเป็นการทำแห้งที่ไม่ใช้อุณหภูมิสูง แต่จากปัจจัยด้านความเข้มข้นของออกซิเจนและระยะเวลาในการรับรังสียูวีจึงส่งผลให้จุลินทรีย์โพรไบโอติกอยู่ในซึนมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกลดลง แต่ยังสามารถตรวจนับได้ ซึ่งต่างจากการทำแห้งด้วยระบบอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์ที่จะมีช่วงที่อุณหภูมิสูง ซึ่งความร้อนเป็นปัจจัยหลักในการทำให้จำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติกลดลงในมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติก

ตารางที่ 24 แสดงคุณภาพและจำนวนจุลินทรีย์ (*L. plantarum* และ *L. rhamnosus*) ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ในระยะเวลาว่างความเสริมโปรไบโอติก

ชนิดจุลินทรีย์	อุณหภูมิในการทำแห้ง (°C)	ระยะเวลาในการทำแห้ง (ชั่วโมง)	จำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ (logCFU/g)	ร้อยละการรอดชีวิต
<i>L. plantarum</i>	ก่อนทำแห้ง	0 ชั่วโมง	9.20 ± 0.02 ^A	100 ^A
	ตู้อบลมร้อนแบบบด 50°C	13 ชั่วโมง	6.01 ± 0.06 ^B	65.33 ± 0.63 ^{Ba}
	ระบบอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์	10 ชั่วโมง 30 นาที	ไม่พบที่ความเจือจาง 10 เท่า	-
	ตากแดด	14 ชั่วโมง	4.46 ± 0.09 ^{Ca}	48.45 ± 0.93 ^{Ca}
	ก่อนทำแห้ง	0 ชั่วโมง	9.28 ± 0.14 ^A	100 ^A
<i>L. rhamnosus</i>	ตู้อบลมร้อนแบบบด 50°C	13 ชั่วโมง	5.84 ± 0.02 ^B	62.93 ± 0.21 ^{Bb}
	ระบบอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์	10 ชั่วโมง 30 นาที	ไม่พบที่ความเจือจาง 10 เท่า	-
	ตากแดด	14 ชั่วโมง	4.01 ± 0.04 ^{Cb}	43.25 ± 0.48 ^{Cb}



ภาพที่ 39 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์กับเวลา



ภาพที่ 40 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเร็วลมและความเข้มรังสีอาทิตย์กับเวลา

จากภาพที่ 39 พบว่าในช่วงระยะเวลาในการทำเหมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกในวันแรกเป็นเวลา 9.00 – 17.00 น. และวันที่สองที่ระยะเวลา 8.00 – 12.00 น. อุณหภูมิภายในระบบอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์มีอุณหภูมิสูงกว่าภายนอกอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์ (ตากแดด) เนื่องจากภายในระบบอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์มีแหล่งสะสมความร้อน และเป็นระบบปิด แต่ภายนอกอบแห้ง

อบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์ไม่เกิดการสะสมพลังงานความร้อนทำให้มีอุณหภูมิต่ำกว่า โดยอุณหภูมิจะสูงสุดในช่วง 12.00-13.00 น. ซึ่งภายในระบบอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์มีอุณหภูมิอยู่ในช่วง 47.4-72.6 องศาเซลเซียส มีค่าเฉลี่ย 60.59 องศาเซลเซียส และภายนอกระบบอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์มีอุณหภูมิอยู่ในช่วง 34.3-52.1 องศาเซลเซียส ส่วนความชื้นสัมพัทธ์ภายในระบบอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์มีค่าต่ำกว่าความชื้นสัมพัทธ์ภายนอกอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์ (ตากแดด) โดยอยู่ในช่วงร้อยละ 19.1-47.7 และร้อยละ 32.4-68.7 ตามลำดับ ซึ่งเป็นผลที่แปรผกผันกับอุณหภูมิ และส่งผลให้การทำให้แห้งในระบบอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์เร็วกว่าการตากแดด เนื่องจากความชื้นในชั้นมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกสามารถระเหยน้ำออกจากตัวอย่างได้ดีกว่าการตากแดด

จากภาพที่ 40 พบว่าความเร็วลมและความเข้มรังสีอาทิตย์ภายในระบบอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์มีค่าน้อยกว่าภายนอกอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์ เนื่องจากภายในระบบอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์เป็นระบบปิด และมีทางเข้าของอากาศแค่ด้านหน้าระบบอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์ ส่งผลให้ความเร็วลมในระบบอบแห้งฯ มีค่าน้อยกว่าเมื่อเทียบกับภายนอกอบแห้งฯ นอกจากนี้ยังมีแผ่นโพลีคาร์บอเนตเป็นแผ่นสำหรับกรองแสงจึงส่งผลให้ความเข้มรังสีอาทิตย์ภายในระบบอบแห้งฯ มีค่าน้อยกว่าภายนอกอบแห้งฯ โดยมีค่าความเร็วลมภายในระบบอบแห้งฯ อยู่ในช่วง 0.00-0.08 m/s และภายนอกอบแห้งฯ อยู่ในช่วง 0.1-0.99 m/s ค่าความเข้มรังสีอาทิตย์ภายในระบบอบแห้งฯ อยู่ในช่วง 80.3-607.3 W/m² และภายนอกอบแห้งฯ อยู่ในช่วง 3130.8-8999 W/m²

เมื่อชั้นมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกได้รับความร้อนจากการแผ่รังสีอาทิตย์จากดวงอาทิตย์ (Radiation) และพลังงานความร้อนจากลมร้อนด้วยวิธีการพาความร้อน (Convection) ส่งผลให้โมเลกุลของน้ำมีพลังงานจลน์มากจนสามารถเอาชนะแรงยึดเหนี่ยวระหว่างโมเลกุลของน้ำได้ และส่งผลให้น้ำระเหยได้ นอกจากนี้ปริมาณความชื้นสัมพัทธ์ภายในระบบอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์มีค่าต่ำกว่าภายนอกอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์หรือการตากแดด ทำให้เกิดผลต่างระหว่างของความดันไอที่บริเวณชั้นมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกกับความดันไอในอากาศสูงจึงเกิดการถ่ายเทมวลของน้ำจากชั้นมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกไปยังอากาศได้ดีขึ้น

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

จากกราฟการเจริญเติบโตเพื่อหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการบ่มแบคทีเรียโพรไบโอติกแกรมบวกชนิด *L. plantarum* TISTR 543 และ *L. rhamnosus* TISTR 2443 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth พบว่าระยะเวลาที่เหมาะสมในการบ่มเชื้อ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* คือระยะเวลา 16 ชั่วโมง ซึ่งเป็นช่วง late-log phase ในระยะนี้เชื้อมีการเจริญเติบโตและแบ่งตัวได้สมบูรณ์ที่สุด จึงได้เลือกจุลินทรีย์จากระยะนี้มาเตรียมสารแขวนลอยโพรไบโอติกใส่ในเนื้อมะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้น และนำมาทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบถาดที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 และ 8 ชั่วโมง ตามลำดับ พบว่ามะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกมีจำนวนคงเหลือของเชื้อ *L. plantarum* ที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส เท่ากับ 8.61 ± 0.13 และ 8.80 ± 0.06 logCFU/g ตามลำดับ และจำนวนคงเหลือของเชื้อ *L. rhamnosus* ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เท่ากับ 3.04 ± 0.18 logCFU/g แต่ไม่พบเชื้อ *L. rhamnosus* ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และจากการศึกษาอิทธิพลของการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง พบว่ามะม่วงปั่นละเอียดเข้มข้นที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งมีจำนวนเชื้อ *L. plantarum* และ *L. rhamnosus* คงเหลือเท่ากับ 8.26 ± 0.12 และ 8.29 ± 0.11 logCFU/g ตามลำดับ โดยมีจำนวนเชื้อคงเหลือมากกว่า 6 logCFU/g ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อาหารเสริมโพรไบโอติกของสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา แต่เชื้อ *L. rhamnosus* ที่ผ่านการทำแห้งด้วยตู้อบลมร้อนแบบถาดมีจำนวนเชื้อคงเหลือน้อยกว่า 6 logCFU/g จึงไม่เหมาะกับการนำมาใส่ในผลิตภัณฑ์มะม่วงกวน นอกจากนี้เมื่อนำมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกไปทำแห้งด้วยระบบอบแห้งพลังงานแสงอาทิตย์ พบว่าไม่พบจำนวนจุลินทรีย์ (*L. plantarum* และ *L. rhamnosus*) ที่มีชีวิตอยู่ที่นับได้ในมะม่วงกวนเสริมโพรไบโอติกที่ความเจือจาง 10 เท่า และจากการทดลองจะเห็นว่าจุลินทรีย์ *L. plantarum* tistr 543 สามารถทนในสภาวะการทำแห้งได้ดีกว่า *L. rhamnosus* tistr 2443 แต่เนื่องจากจุลินทรีย์ *L. plantarum* tistr 543 เป็นจุลินทรีย์นอกเหนือจากที่กำหนดไว้ในบัญชีตามประกาศ อย. ดังนั้นจึงต้องส่งหลักฐานแสดงผลการประเมินความปลอดภัย และคุณสมบัติการเป็นโพรไบโอติก 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. 2002 เพื่อขอขึ้นทะเบียนจุลินทรีย์โพรไบโอติกในประเทศไทย

รายการอ้างอิง

- Akman, P. K., Uysal, E., Ozkaya, G. U., Tornuk, F. และ Durak, M. Z. (2019). Development of probiotic carrier dried apples for consumption as snack food with the impregnation of *Lactobacillus paracasei*. *LWT*, 103, 60-68.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.12.070>
- Akoy, E., Hoersten, D. และ Luecke, W. (2008). *Drying Kinetics and Colour Change of Mango Slices as Affected by Drying Temperature and Time*.
- Anand, R., Mohan, L. และ Bharadvaja, N. (2022). Disease Prevention and Treatment Using β -Carotene: the Ultimate Provitamin A. *Rev Bras Farmacogn*, 32(4), 491-501.
doi:10.1007/s43450-022-00262-w
- Aspri, M., Papademas, P. และ Tsaltas, D. (2020). Review on Non-Dairy Probiotics and Their Use in Non-Dairy Based Products. *Fermentation*, 6(1), 30. Retrieved from <https://www.mdpi.com/2311-5637/6/1/30>
- Axelsson, L. และ Salminen, S. (1993). *Lactic acid bacteria: classification and physiology*.
- Baloch, M. และ Bibi, F. (2012). Effect of harvesting and storage conditions on the post harvest quality and shelf life of mango (*Mangifera indica* L.) fruit. *South African Journal of Botany*, 83, 109-116.
- Bapat, V. A., Trivedi, P. K., Ghosh, A., Sane, V. A., Ganapathi, T. R. และ Nath, P. (2010). Ripening of fleshy fruit: molecular insight and the role of ethylene. *Biotechnology advances*, 28(1), 94-107.
- Barbosa, J., Borges, S., Amorim, M., Pereira, M. J., Oliveira, A., Pintado, M. E. และ Teixeira, P. (2015). Comparison of spray drying, freeze drying and convective hot air drying for the production of a probiotic orange powder. *Journal of Functional Foods*, 17, 340-351. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.001>
- Barbu, V., Cotârleț, M., Bolea, C. A., Cantaragiu, A., Andronoiu, D. G., Bahrim, G. E. และ Enachi, E. (2020). Three Types of Beetroot Products Enriched with Lactic Acid Bacteria. *Foods*, 9(6), 786. Retrieved from <https://www.mdpi.com/2304-8158/9/6/786>
- Beney, L., Simonin, H., Mille, Y. และ Gervais, P. (2007). Membrane physical state as key

parameter for the resistance of the gram-negative *Bradyrhizobium japonicum* to hyperosmotic treatments. *Archives of Microbiology*, 187(5), 387-396.

doi:10.1007/s00203-006-0203-8

Bernardino, A. V. S., Rocha, N. S., Silva, E. M. d., Medeiros, R. A. B. d., Silva Júnior, E. V. d., Shinohara, N. K. S., . . . Azoubel, P. M. (2021). Effect of ultrasound on cell viability and storage of dehydrated jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) impregnated with *Lactobacillus casei*. *LWT*, 139, 110790.

doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110790>

Castrillo, M., Kruger, N. J. และ Whatley, F. (1992). Sucrose metabolism in mango fruit during ripening. *Plant science*, 84(1), 45-51.

Ceballos, A. M., Giraldo, G. I. และ Orrego, C. E. (2012). Effect of freezing rate on quality parameters of freeze dried soursop fruit pulp. *Journal of Food Engineering*, 111(2), 360-365. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.02.010>

Champagne, C., Raymond, Y. และ Gagnon, R. (2008). Viability of *Lactobacillus rhamnosus* R0011 in an apple-based fruit juice under simulated storage conditions at the consumer level. *Journal of food science*, 73(5), M221-M226.

Corsetti, A. และ Valmorri, S. (2011). Lactic Acid Bacteria | *Lactobacillus* spp.: *Lactobacillus plantarum*. In J. W. Fuquay (Ed.), *Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition)* (pp. 111-118). San Diego: Academic Press.

Cosme, F., Inês, A. และ Vilela, A. (2022). Consumer's acceptability and health consciousness of probiotic and prebiotic of non-dairy products. *Food Research International*, 151, 110842. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110842>

Cui, L., Niu, L.-y., Li, D.-j., Liu, C.-q., Liu, Y.-p., Liu, C.-j. และ Song, J.-f. (2018). Effects of different drying methods on quality, bacterial viability and storage stability of probiotic enriched apple snacks. *Journal of Integrative Agriculture*, 17(1), 247-255. doi:[https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(17\)61742-8](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(17)61742-8)

Dalcanton, F., Carrasco, E., Pérez-Rodríguez, F., Posada-Izquierdo, G. D., Falcão de Aragão, G. M. และ García-Gimeno, R. M. (2018). Modeling the Combined Effects of Temperature, pH, and Sodium Chloride and Sodium Lactate Concentrations on the Growth Rate of *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014. *Journal of Food*

Quality, 2018, 1726761. doi:10.1155/2018/1726761

- DebMandal, M., Mandal, S. และ Pal, N. K. (2012). Detection of intestinal colonization of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* by stool culture in modified selective media. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2(3), 205-210.
- Dethlefsen, L., Huse, S., Sogin, M. L. และ Relman, D. A. (2008). The Pervasive Effects of an Antibiotic on the Human Gut Microbiota, as Revealed by Deep 16S rRNA Sequencing. *PLOS Biology*, 6(11), e280. doi:10.1371/journal.pbio.0060280
- Di Cagno, R., Coda, R., De Angelis, M. และ Gobbetti, M. (2013). Exploitation of vegetables and fruits through lactic acid fermentation. *Food Microbiology*, 33(1), 1-10. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.09.003>
- Dupont, S., Beney, L., Ritt, J.-F., Lherminier, J. และ Gervais, P. (2010). Lateral reorganization of plasma membrane is involved in the yeast resistance to severe dehydration. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1798(5), 975-985. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2010.01.015>
- Emser, K., Barbosa, J., Teixeira, P. และ Morais, A. M. M. B. (2017). *Lactobacillus plantarum* survival during the osmotic dehydration and storage of probiotic cut apple. *Journal of Functional Foods*, 38. doi:10.1016/j.jff.2017.09.021
- FOWLER, A. และ TONER, M. (2006). Cryo-Injury and Biopreservation. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1066(1), 119-135. doi:<https://doi.org/10.1196/annals.1363.010>
- Fu, W. และ Mathews, A. P. (1999). Lactic acid production from lactose by *Lactobacillus plantarum*: kinetic model and effects of pH, substrate, and oxygen. *Biochemical Engineering Journal*, 3(3), 163-170. doi:[https://doi.org/10.1016/S1369-703X\(99\)00014-5](https://doi.org/10.1016/S1369-703X(99)00014-5)
- G-Alegría, E., López, I., Ruiz, J. I., Sáenz, J., Fernández, E., Zarazaga, M., . . . Ruiz-Larrea, F. (2004). High tolerance of wild *Lactobacillus plantarum* and *Oenococcus oeni* strains to lyophilisation and stress environmental conditions of acid pH and ethanol. *FEMS Microbiology Letters*, 230(1), 53-61. doi:10.1016/s0378-1097(03)00854-1
- Garcia, E. F., Luciano, W. A., Xavier, D. E., da Costa, W. C. A., de Sousa Oliveira, K., Franco, O. L., . . . de Souza, E. L. (2016). Identification of Lactic Acid Bacteria in

- Fruit Pulp Processing Byproducts and Potential Probiotic Properties of Selected Lactobacillus Strains. *Frontiers in Microbiology*, 7. doi:10.3389/fmicb.2016.01371
- Germond, J. E., Mamin, O. และ Mollet, B. (2002). Species specific identification of nine human Bifidobacterium spp. in feces. *Syst Appl Microbiol*, 25(4), 536-543. doi:10.1078/07232020260517670
- Giraud, E., Lelong, B. และ Raimbault, M. (1991). Influence of pH and lactate concentration on the growth of Lactobacillus plantarum. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 36. doi:10.1007/BF00164706
- Giuliano, G., Tavazza, R., Diretto, G., Beyer, P. และ Taylor, M. A. (2008). Metabolic engineering of carotenoid biosynthesis in plants. *Trends in biotechnology*, 26(3), 139-145.
- Goyal, R. K., Kingsly, A. R. P., Manikantan, M. R. และ Ilyas, S. M. (2006). Thin-layer Drying Kinetics of Raw Mango Slices. *Biosystems Engineering*, 95(1), 43-49. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2006.05.001>
- Guiamba, I., Ahrné, L., Khan, M. A. M. และ Svanberg, U. (2016). Retention of β -carotene and vitamin C in dried mango osmotically pretreated with osmotic solutions containing calcium or ascorbic acid. *Food and Bioproducts Processing*, 98, 320-326. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fbp.2016.02.010>
- Hauser, C., Thielmann, J. และ Muranyi, P. (2016). Chapter 46 - Organic Acids: Usage and Potential in Antimicrobial Packaging. In J. Barros-Velázquez (Ed.), *Antimicrobial Food Packaging* (pp. 563-580). San Diego: Academic Press.
- Hugenholtz, J. (1993). Citrate metabolism in lactic acid bacteria. *FEMS Microbiology Reviews*, 12(1-3), 165-178. doi:10.1111/j.1574-6976.1993.tb00017.x
- Iaconelli, C., Lemetals, G., Kechaou, N., Chain, F., Bermúdez-Humarán, L. G., Langella, P., . . . Beney, L. (2015). Drying process strongly affects probiotics viability and functionalities. *Journal of Biotechnology*, 214, 17-26. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2015.08.022>
- Iaconelli, C., Lemetals, G., Kechaou, N., Chain, F., Bermúdez-Humarán, L. G., Langella, P., . . . Beney, L. (2015). Drying process strongly affects probiotics viability and functionalities. *J Biotechnol*, 214, 17-26. doi:10.1016/j.jbiotec.2015.08.022

- Ibarra-Garza, I. P., Ramos-Parra, P. A., Hernández-Brenes, C. และ Jacobo-Velázquez, D. A. (2015). Effects of postharvest ripening on the nutraceutical and physicochemical properties of mango (*Mangifera indica* L. cv Keitt). *Postharvest Biology and Technology*, 103, 45-54.
- Imarc, G. (2023). *Probiotics Market*. Retrieved from
- Islam, M. K., Khan, M. Z., Sarkar, M. A. R., Yeasmin, S., Ali, M. K. และ Uddin, M. H. (2013). Postharvest quality of mango (*Mangifera indica* L.) fruit affected by different levels of gibberellic acid during storage. *Malaysian Journal of Analytical Sciences*, 17, 499-509.
- Islam, S., Biswas, S., Jabin, T., Moniruzzaman, M., Biswas, J., Uddin, M. S., . . . Zaman, S. (2023). Probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* DMR14 for preserving and extending shelf life of fruits and fruit juice. *Heliyon*, 9(6), e17382. doi:<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e17382>
- Janjai, S., Precoppe, M., Lamert, N., Mahayothee, B., Bala, B. K., Nagle, M. และ Müller, J. (2011). Thin-layer drying of litchi (*Litchi chinensis* Sonn.). *Food and Bioprocess Technology*, 8(3), 194-201. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fbp.2010.05.002>
- Jayaprakasha, H., Jayaraj Rao, K. และ Lokesh Kumar, W. (1997). Studies on the influence of water activity (aw) on the stability of foods: A critical appraisal. *Journal of food science and technology (Mysore)*, 34(4), 273-285.
- Jayaprakasha, H. M., Jayaraj Rao, K. และ Lokesh Kumar, W. A. (1997). Studies on the influence of water activity (aw) on the stability of foods - A critical appraisal. *Journal of Food Science and Technology*, 34(4), 273-285. Retrieved from <https://www.scopus.com/inward/record.uri?eid=2-s2.0-3943079968&partnerID=40&md5=85c04176af3d8c2bd0ea5747a0b45e05>
- Jha, S., Kingsly, A. และ Chopra, S. (2006). Physical and mechanical properties of mango during growth and storage for determination of maturity. *Journal of Food Engineering*, 72(1), 73-76.
- Jha, S. N., Narsaiah, K., Sharma, A. D., Singh, M., Bansal, S. และ Kumar, R. (2010). Quality parameters of mango and potential of non-destructive techniques for their measurement — a review. *Journal of Food Science and Technology*, 47(1), 1-14. doi:10.1007/s13197-010-0004-6

- Kandylis, P., Pissaridi, K., Bekatorou, A., Kanellaki, M. และ Koutinas, A. A. (2016). Dairy and non-dairy probiotic beverages. *Current Opinion in Food Science*, 7, 58-63.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.cofs.2015.11.012>
- Kc, Y., Dangal, A., Thapa, S., Rayamajhi, S., Chalise, K., Shiwakoti, L., . . . Katuwal, N. (2022). Nutritional, phytochemicals, and sensory analysis of Lapsi (*Choerospondias axillaris*) fruit leather. *International Journal of Food Properties*, 25, 960-975. doi:10.1080/10942912.2022.2070203
- Khodaei, D. และ Hamidi-Esfahani, Z. (2019). Influence of bioactive edible coatings loaded with *Lactobacillus plantarum* on physicochemical properties of fresh strawberries. *Postharvest Biology and Technology*, 156, 110944.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2019.110944>
- Kieps, J. และ Dembczyński, R. (2022). Current Trends in the Production of Probiotic Formulations. *Foods*, 11(15). doi:10.3390/foods11152330
- Kim, H.-J., Kim, Y.-J., Lee, S.-H., Yu, J., Jeong, S. K. และ Hong, S.-J. (2014). Effects of *Lactobacillus rhamnosus* on allergic march model by suppressing Th2, Th17, and TSLP responses via CD4+ CD25+ Foxp3+ Tregs. *Clinical immunology*, 153(1), 178-186.
- Kuria, M. W., Matofari, J. W. และ Nduko, J. M. (2021). Physicochemical, antioxidant, and sensory properties of functional mango (*Mangifera indica* L.) leather fermented by lactic acid bacteria. *Journal of Agriculture and Food Research*, 6, 100206.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100206>
- Laophongphit, A., Siripornadulsil, S. และ Siripornadulsil, W. (2023). Improvements in the functions of probiotic-based mango pulp rich in phenolic and proline antioxidants by treatment with pectinase and fermentation with lactic acid bacteria. *LWT*, 181, 114756. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2023.114756>
- Lazo-Vélez, M. A., Serna-Saldívar, S. O., Rosales-Medina, M. F., Tinoco-Alvear, M. และ Briones-García, M. (2018). Application of *Saccharomyces cerevisiae* var. *boulardii* in food processing: a review. *Journal of Applied Microbiology*, 125(4), 943-951.
doi:<https://doi.org/10.1111/jam.14037>
- Lee, K.-Y., So, J.-S. และ Heo, T.-R. (2001). Thin layer chromatographic determination of

- organic acids for rapid identification of bifidobacteria at genus level. *Journal of Microbiological Methods*, 45(1), 1-6. doi:[https://doi.org/10.1016/S0167-7012\(01\)00214-7](https://doi.org/10.1016/S0167-7012(01)00214-7)
- Lindgren, S. E. และ Dobrogosz, W. J. (1990). Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations. *FEMS Microbiol Rev*, 7(1-2), 149-163. doi:10.1111/j.1574-6968.1990.tb04885.x
- Liu, F.-X., Fu, S.-F., Bi, X.-F., Chen, F., Liao, X.-J., Hu, X.-S. และ Wu, J.-H. (2013). Physico-chemical and antioxidant properties of four mango (*Mangifera indica* L.) cultivars in China. *Food chemistry*, 138(1), 396-405.
- Lovat, L. B. (1996). Age related changes in gut physiology and nutritional status. *Gut*, 38(3), 306-309. doi:10.1136/gut.38.3.306
- Machielsen, R., van Alen-Boerrigter, I. J., Koole, L. A., Bongers, R. S., Kleerebezem, M. และ Van Hylckama Vlieg, J. E. (2010). Indigenous and environmental modulation of frequencies of mutation in *Lactobacillus plantarum*. *Appl Environ Microbiol*, 76(5), 1587-1595. doi:10.1128/aem.02595-09
- Madigan, M. T., Martinko, J. M. และ Brock, T. D. (2006). *Brock biology of microorganisms* (11th ed.). Upper Saddle River, NJ: Pearson Prentice Hall.
- Mahayothee, B., Neidhart, S., Carle, R. และ Mühlbauer, W. (2007). Effects of variety, ripening condition and ripening stage on the quality of sulphite-free dried mango slices. *European Food Research and Technology*, 225(5), 723-732.
- Maldonado-Celis, M. E., Yahia, E. M., Bedoya, R., Landázuri, P., Loango, N., Aguillón, J., . . . Guerrero Ospina, J. C. (2019). Chemical Composition of Mango (*Mangifera indica* L.) Fruit: Nutritional and Phytochemical Compounds. *Front Plant Sci*, 10, 1073. doi:10.3389/fpls.2019.01073
- Markowiak, P. และ Slizewska, K. (2017). Effects of Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics on Human Health. *Nutrients*, 9(9), 1021. Retrieved from <https://www.mdpi.com/2072-6643/9/9/1021>
- Marwah, S., Poernomo, T. และ Hendradi, E. (2023). Study of Growth Curve of *Lactobacillus plantarum* FNCC 0026 and Its Antibacterial Activity. *JURNAL FARMASI DAN ILMU KEFARMASIAN INDONESIA*, 10, 38-43. doi:10.20473/jfiki.v10i12023.38-43

- Matejčková, Z., Liptáková, D., Spodniaková, S. และ Valík, Ľ. (2016). Characterization of the growth of *Lactobacillus plantarum* in milk in dependence on temperature. *Acta Chimica Slovaca*, 9. doi:10.1515/acs-2016-0018
- Medlicott, A. P. และ Thompson, A. K. (1985). Analysis of sugars and organic acids in ripening mango fruits (*Mangifera indica* L. var Keitt) by high performance liquid chromatography. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 36(7), 561-566. doi:<https://doi.org/10.1002/jsfa.2740360707>
- Meng, X. C., Stanton, C., Fitzgerald, G. F., Daly, C. และ Ross, R. P. (2008). Anhydrobiotics: The challenges of drying probiotic cultures. *Food Chemistry*, 106(4), 1406-1416. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.076>
- Mercadante, A. Z. และ Rodriguez-Amaya, D. B. (1998). Effects of ripening, cultivar differences, and processing on the carotenoid composition of mango. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(1), 128-130.
- Mitra, S. K. (1997). Postharvest physiology and storage of tropical and subtropical fruits. (No Title).
- Mizzi, L., Maniscalco, D., Gaspari, S., Chatzitzika, C., Gatt, R. และ Valdramidis, V. P. (2020). Assessing the individual microbial inhibitory capacity of different sugars against pathogens commonly found in food systems. *Lett Appl Microbiol*, 71(3), 251-258. doi:10.1111/lam.13306
- Müller, A., Pietsch, V. L., Schneelee, J. S., Stahl, M. R., Greiner, R. และ Posten, C. (2015). Effect of temperature and pH value on the UV-C sensitivity of *Escherichia coli* and *Lactobacillus plantarum*. *LWT - Food Science and Technology*, 64(2), 699-705. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.06.013>
- Mundada, M., Hathan, B. S. และ Maske, S. (2010). Convective dehydration kinetics of osmotically pretreated pomegranate arils. *Biosystems Engineering*, 107(4), 307-316. doi:<https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2010.09.002>
- Nazmi Izli, İzli, G. และ Taşkın, O. (2017). Influence of different drying techniques on drying parameters of mango. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 37. doi:10.1590/1678-457x.28316
- Niro, C. M., Medeiros, J. A. d., Bresolin, J. D., Dionísio, A. P., Salgaço, M. K., Sivieri, K. และ

- Azeredo, H. M. C. (2022). Banana leathers as influenced by polysaccharide matrix and probiotic bacteria. *Food Hydrocolloids for Health*, 2, 100081. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fhfh.2022.100081>
- Nivoliez, A., Camares, O., Paquet-Gachinat, M., Bornes, S., Forestier, C. และ Veisseire, P. (2012). Influence of manufacturing processes on in vitro properties of the probiotic strain *Lactobacillus rhamnosus* Lcr35®. *Journal of Biotechnology*, 160(3), 236-241. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2012.04.005>
- Noorbakhsh, R., Yaghmaee, P. และ Durance, T. (2013). Radiant energy under vacuum (REV) technology: A novel approach for producing probiotic enriched apple snacks. *Journal of Functional Foods*, 5(3), 1049-1056. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jff.2013.02.011>
- Nordey, T., Léchaudel, M., Génard, M. และ Joas, J. (2016). Factors affecting ethylene and carbon dioxide concentrations during ripening: Incidence on final dry matter, total soluble solids content and acidity of mango fruit. *Journal of plant physiology*, 196, 70-78.
- Nowledgesourcingintelligence. (2023). *Thailand Probiotics Market* Retrieved from
- Ntsoane, M. L., Zude-Sasse, M., Mahajan, P. และ Sivakumar, D. (2019). Quality assesment and postharvest technology of mango: A review of its current status and future perspectives. *Scientia Horticulturae*, 249, 77-85. doi:<https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.01.033>
- Nualkaekul, S., Cook, M. T., Khutoryanskiy, V. V. และ Charalampopoulos, D. (2013). Influence of encapsulation and coating materials on the survival of *Lactobacillus plantarum* and *Bifidobacterium longum* in fruit juices. *Food Research International*, 53(1), 304-311. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.04.019>
- Olivares, A., Soto, C., Caballero, E. และ Altamirano, C. (2019). Survival of microencapsulated *Lactobacillus casei* (prepared by vibration technology) in fruit juice during cold storage. *Electronic Journal of Biotechnology*, 42, 42-48. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2019.10.002>
- Oliveira, A. S., Niro, C. M., Bresolin, J. D., Soares, V. F., Ferreira, M. D., Sivieri, K. และ Azeredo, H. M. C. (2021). Dehydrated strawberries for probiotic delivery:

- Influence of dehydration and probiotic incorporation methods. *LWT*, 144, 111105. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111105>
- Panghal, A., Janghu, S., Virkar, K., Gat, Y., Kumar, V. และ Chhikara, N. (2018). Potential non-dairy probiotic products – A healthy approach. *Food Bioscience*, 21, 80-89. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2017.12.003>
- Pénicaud, C., Achir, N., Dhuique-Mayer, C., Dornier, M. และ Bohuon, P. (2011). Degradation of β -carotene during fruit and vegetable processing or storage: reaction mechanisms and kinetic aspects: a review. *Fruits*, 66(6), 417-440.
- Pérez, M. B. และ Saguir, F. (2012). Transfer and subsequent growth and metabolism of *Lactobacillus plantarum* in orange juice medium during storage at 4 and 30° C. *Letters in applied microbiology*, 54(5), 398-403.
- Pott, I., Marx, M., Neidhart, S., Mühlbauer, W. และ Carle, R. (2003). Quantitative determination of β -carotene stereoisomers in fresh, dried, and solar-dried mangoes (*Mangifera indica* L.). *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(16), 4527-4531.
- Ragoonanan, V., Malsam, J., Bond, D. R. และ Aksan, A. (2008). Roles of membrane structure and phase transition on the hyperosmotic stress survival of *Geobacter sulfurreducens*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 1778(10), 2283-2290. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bbamem.2008.06.006>
- Rascón, M. P., Huerta-Vera, K., Pascual-Pineda, L. A., Contreras-Oliva, A., Flores-Andrade, E., Castillo-Morales, M., . . . González-Morales, I. (2018). Osmotic dehydration assisted impregnation of *Lactobacillus rhamnosus* in banana and effect of water activity on the storage stability of probiotic in the freeze-dried product. *LWT*, 92, 490-496. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.02.074>
- Rezvani, F., Ardestani, F. และ Najafpour, G. (2017). Growth kinetic models of five species of *Lactobacilli* and lactose consumption in batch submerged culture. *Braz J Microbiol*, 48(2), 251-258. doi:10.1016/j.bjm.2016.12.007
- Ribeiro, S. M. R. และ Schieber, A. (2010). Chapter 34 - Bioactive Compounds in Mango (*Mangifera indica* L.). In R. R. Watson & V. R. Preedy (Eds.), *Bioactive Foods in Promoting Health* (pp. 507-523). San Diego: Academic Press.

- Rivera-Espinoza, Y. และ Gallardo-Navarro, Y. (2010). Non-dairy probiotic products. *Food Microbiology*, 27(1), 1-11. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.06.008>
- Roberts, J. S., Kidd, D. R. และ Padilla-Zakour, O. (2008). Drying kinetics of grape seeds. *Journal of Food Engineering*, 89(4), 460-465. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.05.030>
- Rodrigues, S., Silva, L. C. A., Mulet, A., Cárcel, J. A. และ Fernandes, F. A. N. (2018). Development of dried probiotic apple cubes incorporated with *Lactobacillus casei* NRRL B-442. *Journal of Functional Foods*, 41, 48-54. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.12.042>
- Rojas, E. R. และ Huang, K. C. (2018). Regulation of microbial growth by turgor pressure. *Curr Opin Microbiol*, 42, 62-70. doi:10.1016/j.mib.2017.10.015
- Rößle, C., Auty, M. A. E., Brunton, N., Gormley, R. T. และ Butler, F. (2010). Evaluation of fresh-cut apple slices enriched with probiotic bacteria. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(1), 203-209. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ifset.2009.08.016>
- Russo, P., Peña, N., de Chiara, M. L. V., Amodio, M. L., Colelli, G. และ Spano, G. (2015). Probiotic lactic acid bacteria for the production of multifunctional fresh-cut cantaloupe. *Food Research International*, 77, 762-772. doi:<https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.08.033>
- Saarela, M. (2007). *Functional dairy products Volume 2*. Woodhead Publishing Limited.
- Sanders, M. E., Merenstein, D., Merrifield, C. A. และ Hutkins, R. (2018). Probiotics for human use. *Nutrition Bulletin*, 43(3), 212-225. doi:10.1111/nbu.12334
- Schwab, C., Vogel, R. และ Gänzle, M. G. (2007). Influence of oligosaccharides on the viability and membrane properties of *Lactobacillus reuteri* TMW1.106 during freeze-drying. *Cryobiology*, 55(2), 108-114. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cryobiol.2007.06.004>
- Shah, N. P. (2011). BACTERIA, BENEFICIAL | *Bifidobacterium* spp.: Morphology and Physiology. In J. W. Fuquay (Ed.), *Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition)* (pp. 381-387). San Diego: Academic Press.
- Sheehan, V. M., Ross, P. และ Fitzgerald, G. F. (2007). Assessing the acid tolerance and the

- technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 8(2), 279-284.
- Shigematsu, E., Dorta, C., Rodrigues, F. J., Cedran, M. F., Giannoni, J. A., Oshiiwa, M. และ Mauro, M. A. (2018). Edible coating with probiotic as a quality factor for minimally processed carrots. *Journal of Food Science and Technology*, 55(9), 3712-3720. doi:10.1007/s13197-018-3301-0
- Slavin, J. L. และ Lloyd, B. (2012). Health Benefits of Fruits and Vegetables. *Advances in Nutrition*, 3(4), 506-516. doi:10.3945/an.112.002154
- Śliżewska, K. และ Chlebicz-Wójcik, A. (2020). Growth Kinetics of Probiotic Lactobacillus Strains in the Alternative, Cost-Efficient Semi-Solid Fermentation Medium. *Biology (Basel)*, 9(12). doi:10.3390/biology9120423
- Tapia, M. S., Rojas-Graü, M. A., Rodríguez, F. J., Ramírez, J., Carmona, A. และ Martin-Belloso, O. (2007). Alginate- and Gellan-Based Edible Films for Probiotic Coatings on Fresh-Cut Fruits. *Journal of Food Science*, 72(4), E190-E196. doi:<https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00318.x>
- Terraf, M., Juárez Tomás, M., Rault, L., Le Loir, Y., Even, S. และ Nader-Macías, M. (2016). Biofilms of vaginal Lactobacillus reuteri CRL 1324 and Lactobacillus rhamnosus CRL 1332: kinetics of formation and matrix characterization. *Archives of Microbiology*, 198. doi:10.1007/s00203-016-1225-5
- Trevors, J. T. (2012). Can dead bacterial cells be defined and are genes expressed after cell death? *Journal of Microbiological Methods*, 90(1), 25-28. doi:<https://doi.org/10.1016/j.mimet.2012.04.004>
- Urbonaviciene, D., Viskelis, P., Bartkiene, E., Juodeikiene, G. และ Vidmantiene, D. (2015). The use of lactic acid bacteria in the fermentation of fruits and vegetables— technological and functional properties. *Biotechnology*, 135-164.
- Valerio, F., Volpe, M. G., Santagata, G., Boscaino, F., Barbarisi, C., Di Biase, M., . . . Lavermicocca, P. (2020). The viability of probiotic Lactobacillus paracasei IMPC2.1 coating on apple slices during dehydration and simulated gastrointestinal digestion. *Food Bioscience*, 34, 100533. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100533>

- Valík, L., Medved'ová, A. และ Liptakova, D. (2008). Characterization of the growth of *Lactobacillus rhamnosus* GG in milk at suboptimal temperatures. *Journal of food and nutrition research*, 47, 60-67.
- van Bokhorst-van de Veen, H., Abee, T., Tempelaars, M., Bron, P., Kleerebezem, M. และ Marco, M. (2011). Short- and Long-Term Adaptation to Ethanol Stress and Its Cross-Protective Consequences in *Lactobacillus plantarum*. *Applied and environmental microbiology*, 77, 5247-5256. doi:10.1128/AEM.00515-11
- Vásquez-Caicedo, A. L., Heller, A., Neidhart, S. และ Carle, R. (2006). Chromoplast morphology and β -carotene accumulation during postharvest ripening of mango Cv. 'Tommy Atkins'. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(16), 5769-5776.
- Vásquez-Caicedo, A. L., Sruamsiri, P., Carle, R. และ Neidhart, S. (2005). Accumulation of all-trans- β -carotene and its 9-cis and 13-cis stereoisomers during postharvest ripening of nine Thai mango cultivars. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(12), 4827-4835.
- Vera-Peña, M. Y. และ Rodriguez-Rodriguez, W. L. (2020). Effect of pH on the growth of three lactic acid bacteria strains isolated from sour cream. *Universitas Scientiarum*, 25(2), 341-358. doi:10.11144/Javeriana.SC25-2.eopo
- Vivek, K., Mishra, S. และ Pradhan, R. C. (2020). Characterization of spray dried probiotic Sohiong fruit powder with *Lactobacillus plantarum*. *LWT*, 117, 108699. doi:<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.108699>
- White, J. G., Albertson, D. G. และ Anness, M. A. (1978). Connectivity changes in a class of motoneurone during the development of a nematode. *Nature*, 271(5647), 764-766. doi:10.1038/271764a0
- Wongmetha, O., Ke, L.-S. และ Liang, Y.-S. (2015). The changes in physical, bio-chemical, physiological characteristics and enzyme activities of mango cv. Jinhwang during fruit growth and development. *NJAS: Wageningen Journal of Life Sciences*, 72(1), 7-12.
- Yitayew, T. และ Fenta, T. (2021). The Effect of Drying Method on the Texture, Color, Vitamin C and β -Carotene Content of Dried Mango Slices (Cv. Apple and Kent).

In (pp. 97-109).

Zhao, L., Wang, S., Dong, J., Shi, J., Guan, J., Liu, D., . . . Huo, G. (2021). Identification, Characterization, and Antioxidant Potential of *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* Strains Isolated From Feces of Healthy Infants. *Frontiers in Microbiology*, 12. doi:10.3389/fmicb.2021.756519

Zhu, W., Lyu, F., Naumovski, N., Ajlouni, S. และ Ranadheera, C. S. (2020). Functional Efficacy of Probiotic *Lactobacillus sanfranciscensis* in Apple, Orange and Tomato Juices with Special Reference to Storage Stability and In Vitro Gastrointestinal Survival. *Beverages*, 6(1), 13. Retrieved from <https://www.mdpi.com/2306-5710/6/1/13>

Zommiti, M., Feuilloley, M. และ Connil, N. (2020). Update of Probiotics in Human World: A Nonstop Source of Benefactions till the End of Time. *Microorganisms*, 8. doi:10.3390/microorganisms8121907

กัญญาภักดิ์, ท. (2566). 'ฮารูน่า' ผงผักพรีไบโอติก อนาคตยูนิคอร์นสายเฮลท์เทค. Retrieved from สืบค้นจาก <https://www.bangkokbiznews.com/tech/innovation/1100125>

คันธโชติ, ด. (2545). (พิมพ์ครั้งที่ 1 ed.). กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

นิยมวิทย์, ณ. (2530). มะม่วงและผลิตภัณฑ์จากมะม่วง.

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. (2563). โพรไบโอติก *Probiotics*. ปทุมธานี: สำนักสื่อสารองค์กรสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.).

ภาคผนวก ก



การเตรียมสารละลายสำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและทางจุลินทรีย์

1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth

ชั่งผง MRS broth 55.15 กรัม ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง นำมาละลายด้วยน้ำกลั่น คนผสมและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร ก่อนเทใส่ขวดดูแวน และนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที และทิ้งให้เย็นก่อนนำมาใช้งาน

2. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar

ชั่งผง MRS agar 67.15 กรัม ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง นำมาละลายด้วยน้ำกลั่น คนผสมและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร ก่อนเทใส่ขวดดูแวน และนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นอุ่นอาหารเลี้ยงเชื้อที่อ่างควบคุมอุณหภูมิที่ 45 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันไม่ให้อุ่นแข็งก่อนนำมาใช้งาน

3. การเตรียมสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.9% (w/v)

ชั่งผงโซเดียมคลอไรด์ 9 กรัม ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง นำมาละลายด้วยน้ำกลั่น คนผสมและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตรขนาด 1000 มิลลิลิตร ก่อนเทใส่ขวดดูแวน และนำไปฆ่าเชื้อด้วยเครื่องนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที และทิ้งให้เย็นก่อนนำมาใช้งาน

4. โซเดียมไฮดรอกไซด์มาตรฐานความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม ด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง นำมาละลายด้วยน้ำกลั่น และคนให้เข้ากันจนเป็นสารละลายเนื้อเดียวกันปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตร ขนาด 1000 มิลลิลิตร ทำการเก็บในขวดพลาสติกเมื่อไม่ใช้งาน

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	ชลิตา พุกบ้านยาง
วุฒิการศึกษา	สำเร็จการศึกษาปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยี อุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร
ผลงานตีพิมพ์	Chalita Pukbanyang, Busarakorn Mahayothee and Pramote Khuwijtjaru. (2021) Effect of calcium pretreatment prior to freezing on quality of dried mango. Food Innovation Asia Conference 2021 (FIAC 2021) Virtual Conference, 17-18 June, 2021 (Poster, ไม่มี full paper) ชลิตา พุกบ้านยาง และ บุศรากรณ์ มหาโยธี. (2566). การเสริมโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์มะม่วงกวน. การประชุมวิชาการบัณฑิตศึกษาระดับชาติครั้งที่ 13. 22-23 มิถุนายน 2566 (full paper)

