การผลิตโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก

นางณัฐธญาณ์ ศรีสุวอ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2553
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

PRODUCTION OF SET-TYPE LOW-FAT YOGHURT SUPPLEMENTED WITH PREBIOTICS AND BANANA PURÉE MIXED WITH PROBIOTIC CULTURES

Mrs. Nutthaya Srisuvor

A Dissertation Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Doctor of Philosophy Program in Food Technology
Department of Food Technology
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2010

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การผลิตโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก
โดย	นางณัฐธญาณ์ ศรีสุวอ
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	รองศาสตราจารย์ ดร. นินนาท ชินประหัษฐ์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร. สุวรรณา สุภิมารส
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาดุษฎีบัณฑิต

…….. คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร. สุพจน์ หารหนองบัว)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

……ประธานกรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รมณี สงวนดีกุล)

…….. อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(รองศาสตราจารย์ ดร. นินนาท ชินประหัษฐ์)

…… อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุวรรณา สุภิมารส)

…… อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา)

…… กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรภา คงเป็นสุข)

…… กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(อาจารย์ ดร. สิรินดา กุสุมภ์)

ณัฐธญาณ์ ศรีสุวอ : การผลิตโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก (PRODUCTION OF SET-TYPE LOW-FAT YOGHURT SUPPLEMENTED WITH PREBIOTICS AND BANANA PURÉE MIXED WITH PROBIOTIC CULTURES) อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : รศ.ดร. นินนาท ชินประหัษฐ์, อ. ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : รศ.ดร. สุวรรณา สุภิมารส, ผศ.ดร. ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา, 222 หน้า.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการผลิตโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก ในขั้นแรกวิเคราะห์และตรวจสมบัติทางเคมีและกายภาพของกล้วยและ purée พบว่ากล้วยหอมทองมีปริมาณความชื้นสูงที่สุด กล้วยน้ำว้ามีปริมาณกรดทั้งหมดสูงที่สุด และกล้วยไข่มีค่า pH ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ของแข็งทั้งหมด โปรตีน และไขมันสูงที่สุด สภาวะที่เหมาะสมสำหรับผลิต purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก พบว่าอาหารที่เติม purée กล้วยไข่ที่ใช้กับจุลินทรีย์สายพันธุ์ *L. paracasei* Lpc-37 ให้ค่า prebiotic activity score สูงที่สุด และมีจำนวนเซลล์ดังกล่าวที่เก็บใน purée กล้วยไข่ในถุงลามิเนตเพิ่มขึ้น 0.7 $\log_{10}$CFU ต่อกรัม ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 21 วัน ในขณะที่จำนวนเซลล์ *L. acidophilus* สามสายพันธุ์ที่เก็บใน purée กล้วยน้ำว้าลดลง 1 $\log_{10}$CFU ต่อกรัม การคัดเลือกชนิดและปริมาณของพรีไบโอติกในการเป็นสารทดแทนไขมันที่เหมาะสมสำหรับการผลิตโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติก พบว่าตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรสให้สมบัติทางเคมีและกายภาพที่ดีกว่า กล่าวคือ มีปริมาณกรดทั้งหมด ความสามารถในการอุ้มน้ำ และความหนืดปรากฏสูงกว่า และการแยกส่วนของของเหลวต่ำกว่าตัวอย่างที่เติมอินูลิน และเมื่อเติมพรีไบโอติกปริมาณมากขึ้น ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและของแข็งทั้งหมดจะเพิ่มขึ้น แต่ความหนืดปรากฏและความแน่นเนื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 1 และ 2 มีความสามารถในการอุ้มน้ำและความหนืดปรากฏสูงที่สุด และมีการแยกส่วนของของเหลวน้อยที่สุด ตัวอย่างที่เติมอินูลิน ร้อยละ 1 และตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 2 มีคะแนนความชอบทางประสาทสัมผัสทางด้านลักษณะปรากฏ สี ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมสูงกว่าตัวอย่างอื่นๆ ดังนั้นจึงเลือกใช้ purée กล้วยไข่ที่ผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกสายพันธุ์ *L. paracasei* Lpc-37 และโยเกิร์ตที่เติมพอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 2 ในการผลิตโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเพื่อใช้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติด้านต่างๆ ในระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน พบว่าตัวอย่างมีปริมาณ *L. paracasei* Lpc-37 เพิ่มขึ้น 0.8 $\log_{10}$CFU ต่อกรัม ปริมาณทริปโตเฟนและกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้น แต่ค่า pH และการแยกส่วนของของเหลวลดลง ในขณะที่ความหนืดปรากฏเพิ่มขึ้นใน 14 วันแรกของการเก็บรักษา แต่จะมีสมบัติทางกายภาพด้อยลงในวันที่ 21 สำหรับผลทางด้านประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาแบบทั่วไป พบว่าสีขาวครีมของโยเกิร์ต ความเป็นเนื้อเดียวกัน รสหวาน และกลิ่นรสกล้วยลดลง ในขณะที่รสเปรี้ยวและกลิ่นรสนมเปรี้ยวของโยเกิร์ตผสมกล้วยเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ผู้บริโภคทั่วไปให้คะแนนความชอบในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น และความชอบโดยรวมของโยเกิร์ตที่เก็บนาน 21 วัน ในระดับเฉยๆ ถึงชอบเล็กน้อย

ภาควิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร..... ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา.....เทคโนโลยีทางอาหาร..... ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก.....

ปีการศึกษา.....2553..... ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....

ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม.....

4873881423 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY
KEYWORD: SET-TYPE YOGHURT / BANANA PURÉE / PROBIOTIC / PREBIOTIC

NUTTHAYA SRISUVOR : PRODUCTION OF SET-TYPE LOW-FAT YOGHURT SUPPLEMENTED WITH PREBIOTICS AND BANANA PURÉE MIXED WITH PROBIOTIC CULTURES ADVISOR : ASSOC. PROF. NINNART CHINPRAHAST, Ph.D., CO-ADVISOR : ASSOC. PROF. SUWANNA SUBHIMAROS, Dr.Ing., CO-ADVISOR : ASSIST. PROF. CHEUNJIT PRAKITCHAIWATTANA, Ph.D., 222 pp.

The objective of this study was to produce set-type low-fat yoghurt supplemented with prebiotics and banana purées mixed with probiotic cultures. Firstly, chemical and physical properties of three kinds of banana pulps and purées namely kluai hom thong, kluai namwa and kluai khai were appraised and it was found that kluai hom thong had the highest moisture content, whereas kluai namwa had the highest total acidity and kluai khai had the highest pH, total soluble solids, total solids, protein and fat contents. For determination of the most suitable kind of probiotic to be mixed with banana purée, it was revealed that the culture medium added with kluai khai together with the growth of *L. paracasei* Lpc-37 gave the highest prebiotic activity score and its cells (raised in kluai khai purée) increased by 0.7 $\log_{10}$CFU g^{-1} during storage at 4°C for 21 days whereas the cells of three strains of *L. acidophilus* (decreased in kluai namwa purée) decreased by 1 $\log_{10}$CFU g^{-1}. Secondly, selection of suitable type and quantity of prebiotic for preparation of set-type low-fat yoghurt was conducted and it was shown that the sample added with polydextrose had better chemical and physical properties, i.e. higher total acidity, water holding capacity (WHC) and apparent viscosity but lower syneresis than those of inulin. In addition, higher amount of prebiotics resulted in higher total soluble solids and total solids, but lower apparent viscosity and firmness ($p \leq 0.05$). The samples added with 1% and 2% polydextroses had the highest WHC and apparent viscosity but the lowest syneresis. For sensory properties; however, the samples added with 1% inulin or 2% polydextrose had higher scores of appearance, color, texture and overall liking when compared to other samples. Lastly, the sample of kluai khai purée mixed with *L. paracasei* Lpc-37 and the yoghurt added with 2% polydextrose was prepared to study for alterations of its properties during refrigeration (4°C) storage for 21 days. The amount of *L. paracasei* Lpc-37 increased by 0.8 $\log_{10}$CFU g^{-1} as well as the amounts of tryptophan and total acidity during entire storage. However, pH and syneresis decreased but apparent viscosity increased during the first 14 days and most physical properties were inferior at 21 days of storage. For sensory characteristics, it was revealed by quantitative descriptive analysis that creamy white color, homogeneity, sweetness and banana flavor decreased while sourness and fermented milk flavor of yoghurt mixed with banana increased. Furthermore, general consumers gave the liking scores of appearance, color, odor and overall liking of the 21 days stored sample between 'neither like nor dislike' and 'like slightly'.

Department……Food Technology……. Student's Signature…….
Field of Study….Food Technology……. Advisor's Signature……...
Academic Year…….....2010……. Co-advisor's Signature……..
Co-advisor's Signature……..

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. นินนาท ชินประหัษฐ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก รองศาสตราจารย์ ดร. สุวรรณา สุภิมารส และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้ช่วยเหลือให้คำปรึกษา แนะนำแนวทาง และตรวจแก้ไขจนกระทั่งวิทยานิพนธ์เล่มนี้เสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รมณี สงวนดีกุล ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. วรภา คงเป็นสุข และอาจารย์ ดร. สิรินดา กุสุมภ์ จากภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้ให้ข้อเสนอแนะ และเป็นคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ในครั้งนี้

ขอขอบพระคุณคณะกรรมการบริหารหลักสูตรวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีทางอาหาร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้เงินอุดหนุนสำหรับการทำวิจัย และขอขอบคุณ คุณวันเพ็ญ ศิลาวานิชยกุล บริษัท ดีพีโอ (ประเทศไทย) จำกัด คุณปริญญา เริงพิทักษ์ บริษัท รามา โปรดักชัน จำกัด คุณสุวรรษ ยุทธเสรี คุณสุปราณี ทวีรัตนศิลป์ และคุณเลิศเกียรติ พูลผล บริษัท โฟร์โมสต์ อาหารนม (กรุงเทพฯ) จำกัด คุณธาริน นาคศรีอาภรณ์ บริษัท อดินพ จำกัด เจ้าหน้าที่ฝ่ายการตลาดของบริษัท อดิตยา เบอร์ล่า เคมีคัลส์ (ประเทศไทย) จำกัด คุณภัททิรา เรืองพีระกุล บริษัท Danisco (ประเทศไทย) จำกัด และอาจารย์ ดร. ขนิษฐา ธนานุวงศ์ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้คำปรึกษา อนุเคราะห์วัตถุดิบและเชื้อจุลินทรีย์สำหรับงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่าน และขอบคุณเจ้าหน้าที่ทุกคนในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารที่ให้ความรู้ คำแนะนำ ความช่วยเหลือด้านเครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับการวิจัย และการติดต่อประสานงานด้านต่างๆ สุดท้ายนี้ขอขอบคุณนิสิตและบุคลากรภายในจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยทุกท่านที่ได้ช่วยประเมินผลทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์จนทำให้งานวิจัยนี้ลุล่วงไปได้ และวิทยานิพนธ์เล่มนี้เสร็จสมบูรณ์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย)..... ง

บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญ..... ช

สารบัญตาราง..... ฎ

สารบัญภาพ..... ฐ

บทที่

1 บทนำ..... 1

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา..... 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย..... 4

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย..... 4

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 5

2 วารสารปริทัศน์..... 6

2.1 โยเกิร์ต 6

2.1.1 การแบ่งประเภทของโยเกิร์ต 6

2.1.2 การผลิตโยเกิร์ตชนิดเซ็ต 7

2.1.3 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโยเกิร์ต 8

2.1.4 ชีวเคมีของการหมักโยเกิร์ต..... 10

2.1.5 ประโยชน์ของโยเกิร์ต..... 16

2.2 โพรไบโอติก 19

2.2.1 จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นโพรไบโอติก..... 20

2.2.2 โพรไบโอติกที่ใช้กับโยเกิร์ต..... 22

2.2.3 การรอดชีวิตของโพรไบโอติก..... 23

บทที่ **หน้า**

2.2.4 ประโยชน์ของโพรไบโอติก..... 24

2.2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับโพรไบโอติก..... 25

2.3 กล้วย 28

2.3.1 การสุกของกล้วย..... 30

2.3.2 ประโยชน์ของกล้วย..... 35

2.3.3 การแปรรูปกล้วย..... 39

2.3.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับกล้วย..... 42

2.4 พรีไบโอติก..... 44

2.4.1 โอลิโกฟรุคโตส 46

2.4.2 อินูลิน 49

2.4.3 พอลิเดกซ์โตรส 51

2.4.4 ประโยชน์ของพรีไบโอติก..... 53

2.4.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับพรีไบโอติก..... 54

3 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการดำเนินงานวิจัย..... 58

3.1 วัตถุดิบและวัสดุ..... 58

3.1.1 วัตถุดิบ..... 58

3.1.2 วัสดุ..... 59

3.2 เชื้อจุลินทรีย์..... 60

3.3 สารเคมี..... 61

3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ..... 62

3.5 เครื่องมือและอุปกรณ์..... 63

3.5.1 เครื่องมือ..... 63

3.5.2 อุปกรณ์..... 65

บทที่ **หน้า**

3.6 วิธีการดำเนินงานวิจัย..... 66

3.6.1 ศึกษาสมบัติทางเคมีและกายภาพของกล้วย..... 66

3.6.2 ศึกษาสมบัติทางเคมีและกายภาพของ purée กล้วย..... 67

3.6.3 การประเมินค่า prebiotic activity scores ของกล้วยที่มีต่อจุลินทรีย์โพรไบโอติกต่างสายพันธุ์..... 67

3.6.4 การตรวจสอบการอยู่รอดของจุลินทรีย์โพรไบโอติกใน purée กล้วยในระหว่างการเก็บรักษา..... 70

3.6.5 ศึกษาหาชนิดและปริมาณของพรีไบโอติกที่เหมาะสมสำหรับเป็นสารทดแทนไขมันในการผลิตโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ต..... 71

3.6.6 ศึกษาสมบัติด้านต่างๆ ของโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกในระหว่างการเก็บรักษา..... 74

3.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ..... 76

4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง..... 77

4.1 สมบัติทางเคมีและกายภาพของกล้วย..... 77

4.2 สมบัติทางเคมีและกายภาพของ purée กล้วย..... 84

4.3 Prebiotic activity scores ของกล้วยที่มีต่อจุลินทรีย์โพรไบโอติกต่างสายพันธุ์..... 89

4.4 การอยู่รอดของจุลินทรีย์โพรไบโอติกใน purée กล้วยในระหว่างการเก็บรักษา..... 99

4.5 ชนิดและปริมาณของพรีไบโอติกที่เหมาะสมสำหรับเป็นสารทดแทนไขมันในการผลิตโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ต..... 109

4.6 สมบัติด้านต่างๆ ของโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกในระหว่างการเก็บรักษา..... 126

บทที่ **หน้า**

5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ..... 141

5.1 สรุปผลการวิจัย..... 141

5.2 ข้อเสนอแนะ..... 143

รายการอ้างอิง..... 145

ภาคผนวก..... 173

ภาคผนวก ก..... 174

ภาคผนวก ข..... 187

ภาคผนวก ค..... 197

ภาคผนวก ง..... 202

ภาคผนวก จ..... 214

ภาคผนวก ฉ..... 220

ภาคผนวก ช..... 221

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..... 222

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	คุณค่าทางโภชนาการของนมและโยเกิร์ต (ต่อ 100 กรัม).....	18
2.2	จุลินทรีย์โพรไบโอติก lactobacilli และ bifidobacteria ที่ใช้ทางการค้า.....	21
2.3	ค่าเฉลี่ยของพลังงานและคุณค่าทางโภชนาการของกล้วยและผลไม้ชนิดอื่นในเขตร้อนชื้นและเขตกึ่งร้อนกึ่งอบอุ่น.....	36
2.4	คุณค่าทางอาหารของผลกล้วยชนิดต่างๆ.....	37
2.5	ปริมาณฟรุคโตโอลิโกแซ็คคาไรด์ที่พบในพืชและอาหารบางชนิด.....	47
2.6	โอลิโกฟรุคโตสและอินูลินในธรรมชาติ.....	50
4.1	สมบัติทางเคมีและกายภาพของกล้วยต่างชนิด.....	78
4.2	องค์ประกอบของกล้วยต่างชนิด.....	81
4.3	สมบัติทางเคมีและกายภาพของ purée กล้วยต่างชนิด.....	84
4.4	องค์ประกอบของ purée กล้วยต่างชนิด.....	87
4.5	ปริมาณจุลินทรีย์ (log_{10}CFU ต่อมิลลิลิตร) ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมงในอาหารที่เติมกลูโคส พรีไบโอติกทางการค้า และ purée กล้วยต่างชนิด..	90
4.6	ผลของอินูลินและพอลิเดกซ์โตรสในปริมาณต่างๆ ที่มีต่อสมบัติทางเคมีและกายภาพของโยเกิร์ต.....	110
4.7	ผลของอินูลินและพอลิเดกซ์โตรสในปริมาณต่างๆ ที่มีต่อคะแนนความชอบทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ต.....	121
4.8	ค่าสหสัมพันธ์ (r) ระหว่างคะแนนความชอบโดยรวมกับคะแนนทางประสาทสัมผัสแต่ละด้านของโยเกิร์ต.....	123
4.9	ปริมาณทริปโตเฟนในโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกในระหว่างการเก็บรักษา.....	129

ตารางที่ **หน้า**

4.10 ผลการประเมินความชอบทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่มีอายุการเก็บ 21 วัน..... 139

ง. 1 เทอมพรรณนาที่ใช้ในการประเมินทางประสาทสัมผัสโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก..... 206

ง. 2 ตัวอย่างอ้างอิงที่ใช้ประกอบคำอธิบายตามระดับความเข้มในแต่ละเทอมพรรณนาของโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกและใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก..... 208

ง. 3 ข้อมูลส่วนบุคคลและพฤติกรรมในการบริโภคโยเกิร์ตของผู้บริโภคทั่วไป.... 211

ง. 4 จำนวนความถี่และคะแนนความชอบทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคทั่วไปที่มีต่อคุณลักษณะของโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่มีอายุการเก็บรักษา 21 วัน..... 213

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	กระบวนการเมแทบอลิซึมของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกอย่างเดียวและผลิตกรดแลคติกร่วมกับผลิตภัณฑ์ชนิดอื่น.....	11
2.2	การใช้น้ำตาลแลคโตสของจุลินทรีย์ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus*.....	13
2.3	การสังเคราะห์ serotonin.....	39
2.4	โครงสร้างทางเคมีของโอลิโกฟรุคโตส.....	46
2.5	โครงสร้างทางเคมีของอินูลิน.....	49
2.6	โครงสร้างทางเคมีของพอลิเดกซ์โตรส (Litesse®).....	53
4.1	Prebiotic activity scores ของจุลินทรีย์โพรไบโอติกห้าสายพันธุ์ที่เจริญในอาหารที่เติมพรีไบโอติกทางการค้าและ purée กล้วยต่างชนิด.....	95
4.2	การเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติกสายพันธุ์ต่างๆ ที่เจริญใน purée (ก) กล้วยหอมทอง (ข) กล้วยน้ำว้า และ (ค) กล้วยไข่ ที่บรรจุในถุงลามิเนตในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส.....	100
4.3	การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมดของ purée (ก) กล้วยหอมทอง (ข) กล้วยน้ำว้า และ (ค) กล้วยไข่ ที่เติมจุลินทรีย์โพรไบโอติกสายพันธุ์ต่างๆ ที่บรรจุในถุงลามิเนตในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส.....	101
4.4	Scanning electron micrograph ของเซลล์ *L. paracasei* Lpc-37 ที่ยึดเกาะบน purée (ก) กล้วยหอมทอง (ข) กล้วยน้ำว้า และ (ค) กล้วยไข่ ในระหว่างการเก็บรักษา.....	106
4.5	ผลของระยะเวลาการเก็บรักษาที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ของโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก.....	127

ภาพที่ **หน้า**

4.6 ผลของระยะเวลาการเก็บรักษาที่มีต่อปริมาณกรดทั้งหมดและค่า pH ของโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก..... 130

4.7 ผลของระยะเวลาการเก็บรักษาที่มีต่อปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและปริมาณของแข็งทั้งหมดของโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก..... 131

4.8 ผลของระยะเวลาการเก็บรักษาที่มีต่อค่าการแยกส่วนของของเหลวและค่าความหนืดปรากฏของโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก…..... 132

4.9 ผลการประเมินทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาแบบทั่วไปของโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกในระหว่างการเก็บรักษา (ก) ลักษณะปรากฏ (ข) ลักษณะเนื้อสัมผัส และ (ค) รสและกลิ่นรส..... 135

ข. 1 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนแบคทีเรียกับค่า O.D. ที่ความยาวช่วงคลื่น 600 นาโนเมตร..... 188

ช. 1 purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่บรรจุในถุงลามิเนตปิดผนึกแบบสุญญากาศ..... 221

ช. 2 โยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติก..... 221

ช. 3 โยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก..... 221

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ในปัจจุบันผลิตภัณฑ์อาหารธรรมชาติเพื่อสุขภาพกำลังได้รับความนิยมจากผู้บริโภคทั้งในประเทศและต่างประเทศเป็นอย่างมาก โยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์หมักจากนมที่ให้คุณค่าทางโภชนาการและมีประโยชน์แก่สุขภาพ (Deeth และ Tamime, 1981) ส่วนใหญ่ผลิตโดยหัวเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ตแบบดั้งเดิม (traditional yoghurt starter cultures) ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ผสมของ *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* และ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Tamime และ Robinson, 1985) ซึ่งไม่สามารถมีชีวิตอยู่รอดในกระเพาะอาหารและลำไส้ของคนได้ (Nakazawa และ Hosono, 1992) จึงมีการเติมจุลินทรีย์โพรไบโอติก (probiotics) ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้มนุษย์ (Lilly และ Stillwell, 1965; Vanderhoof และ Rosemary, 2002) ลงไปในผลิตภัณฑ์นมหมัก พบว่าสามารถรอดชีวิตและเจริญในระบบทางเดินอาหารได้ (Bezkorovainy, 2001; Teitelbaum และ Walker, 2002) รวมทั้งเป็นแหล่งเอนไซม์เช่น บีตา-กาแลคโตซิเดส (β-galactosidase) ที่ช่วยย่อยน้ำตาลแลคโตส (Gilliland และ Kim, 1984) ช่วยปรับปรุงคุณค่าทางอาหารของนม โดยใช้เอนไซม์ย่อยโปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต สังเคราะห์วิตามินและเกลือแร่ในระหว่างการหมัก (Shahani และ Chandan, 1979; Alm, 1982; Resta, 2009) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติกช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค ช่วยลดความเสี่ยงของการเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่ กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน ลดระดับคอเลสเทอรอลในเลือด และเพิ่มความสามารถในการดูดซึมแคลเซียม (Gilliland, Nelson และ Maxwell, 1985; Perdigon และคณะ, 1995; Brady, Gallaher และ Busta, 2000; Ghanem, Badawy และ Abdel-Salam, 2004)

จุลินทรีย์โพรไบโอติกที่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์นมหมัก ได้แก่ *Lactobacillus acidophilus, L. casei, L. reuteri, Bifidobacterium bifidum, B. longum, B. lactis* เป็นต้น (Vedamuthu, 2006) เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์นมหมักที่มีจุลินทรีย์โพรไบโอติกไว้ที่อุณหภูมิต่ำ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 วัน อัตราการอยู่รอดจะต่ำกว่าจุลินทรีย์โยเกิร์ต และจะลดจำนวนลงอย่างรวดเร็ว (Shin และคณะ, 2000a) ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่มีจุลินทรีย์โพรไบโอติกควรมีจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตมากกว่า 6 $\log_{10}$ colony-forming units (CFU) ต่อกรัม จึงจะให้ประโยชน์ต่อผู้บริโภค (Rybka และ Kailasapathy, 1995; Staff, 1998) ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและการอยู่รอดของจุลินทรีย์โพรไบโอติก ได้แก่ การเพิ่มสารอาหารที่เหมาะสมลงในน้ำนม ซึ่งเป็นทางหนึ่งที่จะช่วยปรับปรุงการอยู่รอดของจุลินทรีย์โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์นมหมักและในระหว่างการเก็บรักษา มีรายงานว่าโอลิโกฟรุคโตส (oligofructose) อินูลิน (inulin) และพอลิเดกซ์โตรส (polydextrose) ช่วยกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์นมหมัก (Shin และคณะ, 2000b; Oliveira และคณะ, 2009) Kolida, Tuohy และ Gibson (2002) รายงานว่าโอลิโกฟรุคโตสและอินูลินมีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก (prebiotic) คือเป็นสารอาหารที่ไม่ถูกย่อยในลำไส้เล็ก แต่จะช่วยกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกในลำไส้ใหญ่ นอกจากนี้อินูลินยังใช้เป็นสารทดแทนไขมันในโยเกิร์ตได้ด้วย (Niness, 1999; Franck และ Coussement, 2001; Guven และคณะ 2005) พอลิเดกซ์โตรสเป็นพรีไบโอติก และยังเป็นสารประกอบที่ไม่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหาร ให้พลังงานต่ำ และเป็นสารทดแทนน้ำตาลและไขมันได้ (Figdor และ Rennhard, 1981; Figdor และ Bianchine, 1983) นอกจากพรีไบโอติกจะช่วยกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกแล้ว ยังช่วยกระตุ้นการเคลื่อนไหวของระบบทางเดินอาหาร ลดความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งที่ลำไส้ มีผลต่อเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตและไขมัน ช่วยปรับปรุงคุณสมบัติของไขมันในเลือด และช่วยดูดซึมแคลเซียมและเกลือแร่ (Wood, 1992; Niness, 1999; Franck และ Coussement, 2001; Gibson, 2004; Franck, 2006; Mussatto และ Mancilha, 2007)

กล้วย (banana) เป็นไม้ผลเขตร้อนที่มีถิ่นกำเนิดในแถบเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ เป็นพืชที่ใช้ต้นทุนการผลิตต่ำ เมื่อปลูกแล้วดูแลรักษาง่าย ให้ผลผลิตเร็ว และเติบโตได้ดีในประเทศไทย กล้วยที่นิยมปลูกเป็นการค้า ได้แก่ กล้วยหอม กล้วยน้ำว้า และกล้วยไข่ (พิจิตร โชคพัฒนา, 2545) ในกล้วยมีโอลิโกฟรุคโตสและอินูลิน ร้อยละ 0.3-0.7 (Coussement, 1999) ทั้งนี้จุลินทรีย์ *Bifidobacterium* spp. ในลำไส้สามารถใช้ประโยชน์จากโอลิโกฟรุคโตสได้ และช่วยสร้างระบบนิเวศที่ดีของจุลินทรีย์หลายชนิดในลำไส้ (Wang and Gibson, 1993; Gibson และคณะ, 1995) กล้วยอุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการ ให้พลังงานสูง แต่มีไขมันต่ำ เป็นอาหารที่แนะนำสำหรับคนชรา ผู้เป็นโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร และเด็กที่ท้องเสียบ่อยๆ (เบญจมาศ ศิลาย้อย, 2545) ในกล้วยยังมีแร่ธาตุ ได้แก่ โซเดียม โพแทสเซียม แคลเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม เหล็ก ทองแดง สังกะสี ไอโอดีน มังกานีส กำมะถัน และคลอรีน รวมทั้งวิตามิน เช่น เรตินอล (วิตามินเอ) ไทอามีน (วิตามินบี 1) ไรโบเฟลวิน (วิตามินบี 2) ไนอะซิน (วิตามินบี 3) ไพรีด็อกซิน (วิตามินบี 6) และวิตามินซี เป็นต้น (เกศิณี ระมิงค์วงศ์, 2528) นอกจากนี้ยังมีกรดอะมิโนที่จำเป็นที่สำคัญ ได้แก่ ไทโรซิน (tyrosine) และทริปโตเฟน (tryptophan) ซึ่งจำเป็นสำหรับร่างกายในการสร้างสารเคมีสำหรับการส่งผ่านคลื่นสมอง (neurotransmission) (Wong, 2007)

ในผลกล้วยยังพบสาร serotonin 25.5 ไมโครกรัมต่อกรัม (Vettorazzi, 1974) ซึ่งนอกจากจะช่วยในการกระตุ้นลำไส้เล็กให้บีบตัวมากขึ้นแล้ว (นฤมล ศรีวิริยะเลิศกุล, 2541) ยังช่วยแก้ปัญหาคนที่มีอารมณ์ซึมเศร้าได้อีกด้วย (วินัย ดะห์ลัน และคณะ, 2545; สมฤดี สายหยุดทอง, 2549) โดยพบสารนี้ในเซลล์ผลไม้ เกล็ดเลือด ลำไส้ และสมอง เป็นสารที่สังเคราะห์ได้จากทริปโตเฟน ปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงนี้ถูกเร่งโดย tryptophan hydroxylase ได้ผลิตภัณฑ์ คือ 5-hydroxytryptophan ซึ่งจะถูกเร่งต่อโดย aromatic amino acid decarboxylase ไปเป็น serotonin (หรือ 5-hydroxytryptamine (5-HT)) ซึ่งทำหน้าที่ในการควบคุมการนอนหลับ อุณหภูมิร่างกาย ความดันโลหิต รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงทางอารมณ์และความรู้สึก (Champe และ Harvey, 1994; Roskoski, 1996)

งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อผลิตโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก โดยหาสภาวะการผลิตที่เหมาะสม และตรวจติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดอะมิโนทริปโตเฟนและคุณสมบัติทางด้านต่างๆ ของโยเกิร์ตในระหว่างการเก็บรักษา โดยคาดว่าผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้นนี้จะเป็นผลิตภัณฑ์รูปแบบใหม่ซึ่งมีสมบัติด้านต่างๆ ที่ดี และเป็นอาหารที่มีคุณสมบัติเชิงหน้าที่ (functional foods) ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในฐานะอาหารเพื่อสุขภาพได้ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก และศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางด้านเคมี กายภาพ จุลินทรีย์ และประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ในระหว่างการเก็บรักษา

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 ศึกษาสมบัติต่างๆ ของกล้วย และ purée กล้วยสามชนิด ได้แก่ กล้วยหอมทอง กล้วยน้ำว้า และกล้วยไข่

1.3.2 ศึกษาชนิดของกล้วยและสายพันธุ์จุลินทรีย์โพรไบโอติกที่เหมาะสมในการผลิต purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก

1.3.2 ศึกษาการอยู่รอดของจุลินทรีย์โพรไบโอติกใน purée กล้วยในระหว่างการเก็บรักษา

1.3.4 ศึกษาชนิดและปริมาณของพรีไบโอติกที่มีต่อสมบัติด้านต่างๆ ของโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ต

1.3.5 ศึกษาสมบัติทางจุลินทรีย์ เคมี กายภาพ และประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกในระหว่างการเก็บรักษา

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วย ผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่สามารถอยู่รอดและคงจำนวนได้ไม่ต่ำกว่า 8 $\log_{10}$CFU ต่อกรัม ในระหว่างการเก็บรักษา และเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติด้านต่างๆ ดี โดยใช้กล้วยที่มีอยู่มากในท้องถิ่นมาแปรรูปเป็น purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับอาหารชนิดอื่นๆ และผลิตในระดับอุตสาหกรรมได้

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 โยเกิร์ต (Yoghurt)

โยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์นมหมัก (fermentative dairy product) ที่มีมาตั้งแต่ดั้งเดิม ทำจากน้ำนมของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมได้หลายชนิด เช่น นมวัว นมแกะ หรือนมแพะ เป็นต้น การผลิตโยเกิร์ตในอดีตทำได้โดยหมักนมด้วยจุลินทรีย์จำเพาะที่อุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส เพื่อให้น้ำตาลแลคโตสในนมเปลี่ยนเป็นกรดแลคติกที่ให้รสเปรี้ยว และช่วยตกตะกอนเคซีน (casein) ทำให้เกิดเจล ต่อมามีการปรับปรุงกระบวนการผลิตทั้งทางด้านฟิสิกส์ วิศวกรรม เคมี และชีวเคมี รวมทั้งการใช้เชื้อจุลินทรีย์และเอนไซม์ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่มีคุณลักษณะเฉพาะตามความต้องการของผู้บริโภค (Tamime และ Robinson, 1999) เช่น การผ่านขั้นตอนการโฮโมจีไนซ์ก่อน การพาสเจอไรซ์ก่อนการเติมจุลินทรีย์ การเติมสารให้กลิ่นรสหลังการพาสเจอไรซ์ หรือการให้ความร้อนเพื่อทำลายจุลินทรีย์ที่ยังมีชีวิตเพื่อยืดอายุการเก็บรักษา (Staff, 1998; Chandan และ O'Rell, 2006a)

2.1.1 การแบ่งประเภทของโยเกิร์ต (Classification of yoghurt)

Tamime และ Robinson (1999) ได้แบ่งโยเกิร์ตเป็นกลุ่มย่อยดังนี้

(ก) แบ่งตามมาตรฐานทางกฎหมาย โดยแบ่งตามองค์ประกอบทางเคมีหรือปริมาณไขมัน เช่น โยเกิร์ตไขมันเต็ม (full fat yoghurt) โยเกิร์ตไขมันต่ำ (skimmed/low fat yoghurt)

(ข) แบ่งตามธรรมชาติทางกายภาพของโปรตีน เช่น โยเกิร์ตชนิดเซ็ต (set yoghurt) โยเกิร์ตชนิดกวน (stirred yoghurt) โยเกิร์ตชนิดดื่ม (fluid/drinking yoghurt) หรือเป็นโยเกิร์ตชนิดกวนไขมันต่ำ (low-fat stirred yoghurt)

(ค) แบ่งตามกลิ่นรส เช่น โยเกิร์ตรสธรรมชาติ (natural/ plain yoghurt) เป็นโยเกิร์ตที่มีรสเปรี้ยวตามธรรมชาติที่ได้จากการหมักตามกระบวนการ ไม่มีการเติมแต่งกลิ่นรส โยเกิร์ตผลไม้ (fruit yoghurt) ได้จากการเติมเนื้อผลไม้ และน้ำตาลลงในโยเกิร์ตรสธรรมชาติ โดยอาจใส่ผลไม้ไว้ที่ก้นภาชนะบรรจุ หรือผสมผลไม้กระจายอยู่ในเนื้อโยเกิร์ตก็ได้ โยเกิร์ตปรุงแต่งกลิ่นรส (flavored yoghurt) เป็นโยเกิร์ตที่มีการเติมแต่งสี น้ำตาล หรือกลิ่นรสผลไม้ เช่น กลิ่นรสสตรอว์เบอร์รี

(ง) แบ่งตามกระบวนการหลังการผลิต โดยอาศัยความแตกต่างของขั้นตอนหลังการหมัก (post-fermentation processing) ซึ่งโยเกิร์ตที่ได้อาจจะนำไปผ่านขั้นตอนต่างๆ ได้แก่ การเติมวิตามิน การให้ความร้อน การแช่แข็ง การทำให้เข้มข้น การทำแห้ง หรือวิธีการอื่นๆ เช่น โยเกิร์ตพาสเจอไรซ์ (pasteurized yoghurt) โยเกิร์ตแช่เยือกแข็ง (frozen yoghurt) โยเกิร์ตเข้มข้น (concentrated yoghurt) โยเกิร์ตผง (dried or instant yoghurt) เป็นต้น

2.1.2 **การผลิตโยเกิร์ตชนิดเซ็ต** (Production of set yoghurt)

การผลิตโยเกิร์ตในปัจจุบันมีการควบคุมกระบวนการการผลิตอย่างดีตั้งแต่การใช้ส่วนผสมของนม นมผง น้ำตาล ผลไม้ กลิ่นรส สี สารให้ความคงตัว (stabilizer) อิมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) และเชื้อแบคทีเรียที่บริสุทธิ์เฉพาะที่ผลิตกรดแลคติก (Lourens-Hattingh และ Viljoen, 2001) โยเกิร์ตชนิดเซ็ต (set yoghurt) คือ ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ผลิตโดยนำน้ำนมมาผ่านการปรับมาตรฐาน โฮโมจีไนซ์ ให้ความร้อน เติมเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ต บรรจุในภาชนะ นำไปหมักให้นมตกตะกอนในภาชนะนั้น แล้วนำไปแช่เย็นเพื่อเก็บรักษาโดยไม่มีการกวน เมื่อจะบริโภคต้องกวนหรือตักรับประทาน สำหรับการผลิตโยเกิร์ตผลไม้ (fruit yoghurt) จะใส่ผลไม้ที่เตรียมไว้แล้วลงในก้นภาชนะก่อน แล้วจึงเติมนมที่ผสมหัวเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ตลงไปหมักต่อจนได้โยเกิร์ตชนิดเซ็ต เมื่อจะบริโภคจะต้องกวนให้โยเกิร์ตและผลไม้ผสมกัน (Robinson, 1993) อาจเรียกโยเกิร์ตชนิดนี้ว่า โยเกิร์ตซันเดย์ (sundae style yoghurt) หรือโยเกิร์ตผลไม้รองก้นถ้วย (fruit-on-the-bottom style yoghurt) (Chandan และ O'Rell, 2006a)

โยเกิร์ตดังกล่าวนี้แบ่งย่อยได้เป็นแบบดั้งเดิม (traditional style) และแบบตะวันตก (Western style) แบบดั้งเดิมจะผลิตโดยให้โยเกิร์ตรสธรรมชาติอยู่ชั้นบนและผลไม้อยู่ชั้นล่างของถ้วย โยเกิร์ตที่อยู่ชั้นบนสามารถผลิตโดยบ่มในถ้วย หรือเติมโยเกิร์ตที่บ่มจากถังขนาดใหญ่ ถ้าบ่มในถ้วยสามารถผลิตโดยไม่ต้องเติมสารให้ความคงตัว แต่ต้องเติมของแข็งที่ไม่ใช่ไขมันนม (nonfat milk solids) เพื่อเพิ่มความแน่นเนื้อ หรืออาจเติมเพกติน อาการ์ หรือเจลาติน ปริมาณที่เหมาะสมเพื่อช่วยรักษาความคงตัวของผลิตภัณฑ์ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา แต่ถ้าเติมโยเกิร์ตที่บ่มจากถังจะต้องเติมสารให้ความคงตัวลงในส่วนที่เป็นโยเกิร์ต แล้วปั๊มลงถ้วยซึ่งมีผลไม้อยู่ที่ก้นถ้วย สำหรับแบบตะวันตกจะให้โยเกิร์ตที่ปรุงแต่งกลิ่นและรสอยู่ด้านบนของถ้วย มีการเติมสารให้ความคงตัว สารให้ความหวาน และกลิ่นรสลงในส่วนของโยเกิร์ต อาจเติมสีเช่นเดียวกับสีของผลไม้ที่อยู่ด้านล่างก็ได้ สามารถบ่มในถ้วยหรือบ่มในถังก็ได้เช่นกัน (Chandan และ O'Rell, 2006a)

2.1.3 **จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโยเกิร์ต (Yoghurt cultures)**

จุลินทรีย์เป็นส่วนประกอบที่สำคัญในการผลิตโยเกิร์ต โดยจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นหัวเชื้อในการผลิตจะต้องไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์อื่น (Bylund, 1995; Vedamuthu, 2006) เจริญได้ดีในส่วนผสมของนมที่ใช้ในการเตรียมโยเกิร์ต ให้กลิ่นรส (flavor) ที่ต้องการ และให้ลักษณะเนื้อสัมผัส (texture) ที่ดี (Bylund, 1995; Tamime และ Robinson, 1999; Chandan และ O'Rell, 2006b) โดยทั่วไปจะใช้หัวเชื้อผสมของ *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* และ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Tamime และ Robinson, 1999; Birollo, Reinheimer และ Vinderola, 2000; Lourens-Hattingh และ Viljoen, 2001; De Noni, Pellegrino และ Masotti, 2004; Irkin และ Eren, 2008)

Streptococcus salivarius subsp. *thermophilus* เป็นแบคทีเรียรูปร่างกลม ติดสีแกรมบวก มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.7-0.9 ไมโครเมตร มักเรียงตัวเป็นคู่หรือต่อกันเป็นสาย เป็น facultative anaerobe สามารถหมักน้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส แมนโนส ซูโครส และแลคโตสได้ ทนความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีได้ดี เจริญได้ที่อุณหภูมิสูงถึง 50 องศาเซลเซียส ไม่เจริญที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญและใช้ในการบ่ม คือ 40-45 องศาเซลเซียส pH ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญ คือ pH 6.5 และไม่เจริญที่ pH ต่ำกว่า 4.2 ในระหว่างการหมักน้ำนม *S. thermophilus* จะผลิตเอนไซม์บีตา-กาแลคโตซิเดส สำหรับย่อยน้ำตาลแลคโตสให้เป็นกลูโคสกับกาแลคโตส สร้าง L (+) lactic acid แล้วทำให้โปรตีนในน้ำนมตกตะกอนได้ แต่ปริมาณกรดแลคติกที่สร้างขึ้นมีเพียงประมาณ ร้อยละ 1 ซึ่งถือว่าค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับแบคทีเรียแลคติกชนิดอื่น แบคทีเรียชนิดนี้สามารถสร้างสารเมแทบอไลต์ทุติยภูมิที่ให้กลิ่นรสได้ (Chandan และ O'Rell, 2006b) นอกจากนี้ *S. thermophilus* ยังผลิตพอลิแซ็คคาไรด์ออกมาภายนอกเซลล์ (exopolysaccharide, EPS) ซึ่งมีผลต่อลักษณะ เนื้อสัมผัสและความข้นหนืดของผลิตภัณฑ์นมหมัก (Hassan, Frank และ Schmidt, 1996a, 1996b; Svensson และคณะ, 2005) โดยทั่วไป *S. thermophilus* จะผลิตลิ่มนม (curd) ที่อ่อนเนื่องจากผลิตกรดในปริมาณต่ำ แต่จะผลิตกรดได้เร็วเมื่อเทียบกับ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* จึงมักมีการใช้ร่วมกับ *L. bulgaricus* ในการหมักโยเกิร์ต (Vedamuthu, 2006)

Lactobacillus delbrueckii subsp. *bulgaricus* เป็นแบคทีเรียรูปท่อน ติดสีแกรมบวก เซลล์อาจมีรูปร่างเป็นท่อน พบอยู่เดี่ยวๆ เป็นคู่ หรือเป็นท่อนยาว 3-4 เซลล์ต่อกัน (0.5-0.8 x 2.0-9.0 ไมโครเมตร) มักจะไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ เป็น facultative anaerobe สามารถทนความร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีได้ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญประมาณ 40-45 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่ม คือ 42 องศาเซลเซียส แบคทีเรียชนิดนี้ทน pH ได้ต่ำกว่า *S. thermophilus* สามารถเจริญได้ดีที่ค่า pH 5.5 และไม่เจริญที่ pH ต่ำกว่า 3.5 เจริญได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจนเพียงเล็กน้อย หรือในสภาพที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ ดังนั้นในช่วงแรกของการหมัก *L. bulgaricus* จะเจริญอย่างช้าๆ จนกว่าออกซิเจนจะถูกใช้ไป

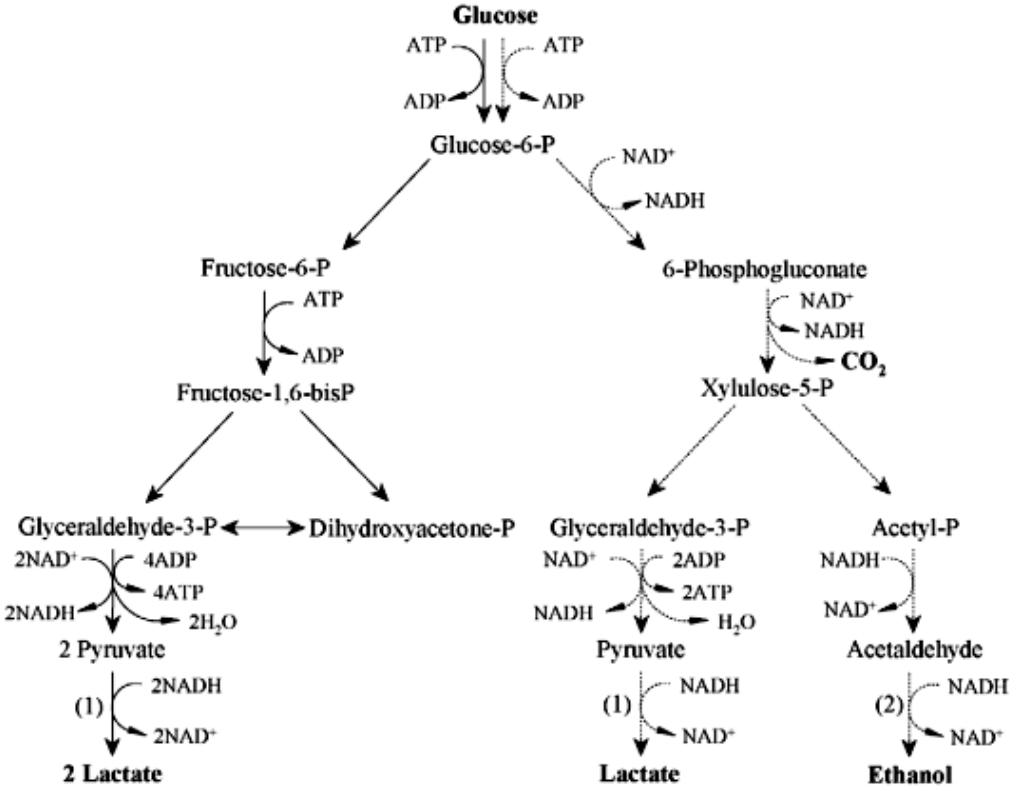
จนหมดโดยแบคทีเรียชนิดอื่น สามารถผลิตเอนไซม์แลคเตสย่อยน้ำตาลแลคโตสให้เป็นกลูโคสและกาแลคโตสได้ โดยกลูโคสถูกเปลี่ยนไปเป็นกรดแลคติก ส่วนกาแลคโตสช่วยกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์ สามารถใช้แลคโตส กลูโคส ฟรุคโตส และกาแลคโตสผลิต D (-) lactic acid ได้มากกว่าร้อยละ 1.8 รวมทั้งไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และสร้างสารให้กลิ่นรสได้ (Chandan และ O'Rell, 2006b) นอกจากนี้ยังสามารถผลิต EPS (exopolysaccharide) ซึ่งมีผลต่อความข้นหนืดของผลิตภัณฑ์นมหมักเช่นเดียวกับ *S. thermophilus* (Cerning, Bouillanne และ Desmazeaud, 1986; Hassan และคณะ, 1996a, 1996b)

เมื่อใช้จุลินทรีย์ *S. thermophilus* ร่วมกับ *L. bulgaricus* ในการหมักนมนั้น *S. thermophilus* จะทนออกซิเจนได้ดีกว่าและมีกิจกรรมของเอนไซม์ peptidase มากกว่า *L. bulgaricus* แต่ย่อยโปรตีนได้ไม่ดีเท่า *L. bulgaricus* โดย *S. thermophilus* จะเจริญก่อนเพราะทนออกซิเจนได้ดีกว่า ส่วน *L. bulgaricus* จะเจริญอย่างช้าๆ พร้อมกับย่อยโปรตีนในปริมาณที่พอเพียงสำหรับการเจริญของ *S. thermophilus* เมื่อ *L. bulgaricus* เจริญได้มากขึ้นพร้อมกับการปลดปล่อยกรดอะมิโนที่ถูกย่อยโดยเอนไซม์ peptidase ที่หลั่งออกมาจาก *S. thermophilus* และสามารถใช้เป็นสารอาหารสำหรับการเจริญต่อไปได้ โดย *S. thermophilus* จะมีปริมาณสูงสุดในนมที่ pH 5.0 หลังจากนั้น *L. bulgaricus* จะทวีจำนวนและมีปริมาณสูงตลอดระยะการหมัก (Vedamuthu, 2006)

2.1.4 **ชีวเคมีของการหมักโยเกิร์ต** (Biochemistry of yoghurt fermentation)

การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของจุลินทรีย์เกี่ยวข้องกับปริมาณการสังเคราะห์เอนไซม์ และการควบคุมการทำงานของเอนไซม์ชนิดต่างๆ รวมทั้งกลไกการย่อยสลายสารอาหาร ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน และส่วนประกอบอื่นๆ ที่มีอยู่ในอาหาร ซึ่งเกี่ยวข้องกับเมแทบอลิซึมและการเจริญของ *S. thermophilus* และ *L. bulgaricus* ที่จะมีผลต่อคุณสมบัติและลักษณะของผลิตภัณฑ์ดังต่อไปนี้

การสร้างกรด (Production of acid) ในการหมักนมจุลินทรีย์จะสร้างพลังงานโดยการหมักคาร์โบไฮเดรต ได้แก่ น้ำตาลแลคโตสซึ่งเป็นน้ำตาลส่วนใหญ่ที่อยู่ในนมผ่าน homo- หรือ heterofermentative metabolic pathways ดังแสดงในภาพที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 กระบวนการเมแทบอลิซึมของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกอย่างเดียว (เส้นทึบ) และผลิตกรดแลคติกร่วมกับผลิตภัณฑ์ชนิดอื่น (เส้นประ) P, phosphate; ADP, adenosine 5'-diphosphate; ATP, adenosine 5'-triphosphate; NAD^+, nicotinamide adenine dinucleotide; NADH, nicotinamide adenine dinucleotide (reduced form); (1) lactate dehydrogenase; (2) alcohol dehydrogenase

ที่มา: Wee, Kim, และ Ryu (2006)

S. thermophilus, *L. bulgaricus* และ *L. acidophilus* จะหมักน้ำตาลแลคโตสแล้วได้กรดแลคติกอย่างเดียว (homolactic fermentation) ส่วน *Bifidobacterium* spp. จะผลิตกรดแลคติกร่วมกับผลิตภัณฑ์อื่นๆ (heterolactic fermentation) (Tamime และ Robinson, 1999) ดังนี้

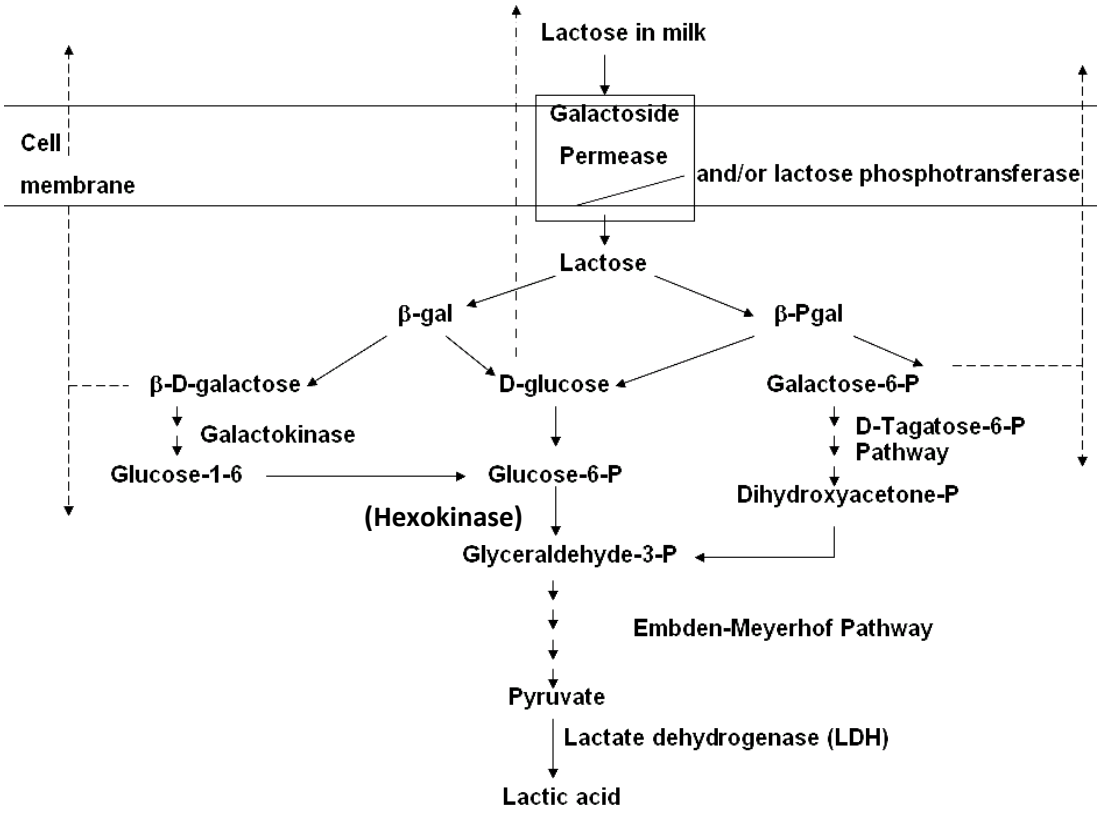
ก) การหมักที่ได้กรดแลคติกอย่างเดียว โดยกลูโคสจะเปลี่ยนไปเป็นกรดแลคติกทั้งหมดโดยอาศัยกระบวนการที่เรียกว่า homolactic acid fermentation ดังสมการ

$$\underset{\text{กลูโคส}}{C_6H_{12}O_6} \xrightarrow[H_2O]{} \underset{\text{กรดแลคติก}}{2CH_3CHOHCOOH}$$

ข) การหมักที่ได้กรดแลคติกร่วมกับผลิตภัณฑ์ชนิดอื่น โดยกลูโคสจะถูกเปลี่ยนไปเป็นกรดแลคติกและผลิตภัณฑ์อื่นๆ เช่น คาร์บอนไดออกไซด์ และเอทานอล ดังสมการ

$$\underset{\text{กลูโคส}}{C_6H_{12}O_6} \xrightarrow[H_2O]{} \underset{\text{กรดแลคติก}}{CH_3CHOHCOOH} + \underset{\text{คาร์บอนไดออกไซด์}}{CO_2} + \underset{\text{เอทานอล}}{C_2H_5OH}$$

สำหรับเมแทบอลิซึมของ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* ในการหมักน้ำตาลแลคโตสที่มีอยู่ในนม โดยนำน้ำตาลแลคโตสผ่านเซลล์เมมเบรนได้ด้วยเอนไซม์ galactoside permease จุลินทรีย์เหล่านี้จะมีเอนไซม์ β-galactosidase (β-gal) ซึ่งจะย่อยน้ำตาลแลคโตสภายในเซลล์ไปเป็น D-glucose และ β-D-galactose ซึ่งจะเมแทบอไลซ์ไปเป็นกรดแลคติก และมีเอนไซม์ชนิดที่สอง คือ β-D-phosphogalactosidase (β-P-gal) ซึ่งจะมีกิจกรรมเมื่อแลคโตสถูกใช้โดยจุลินทรีย์ทั้งสองชนิด ดังนั้นเอนไซม์ β-gal และ β-P-gal จะย่อยแลคโตสภายในเซลล์ได้ D-glucose, β-D-galactose หรือ galactose-6-P ซึ่งแบคทีเรียโยเกิร์ตบางชนิดสามารถหมัก galactose-6-P ได้เป็นกรดแลคติก ผ่านทาง D-tagatose-6-P อย่างไรก็ตาม การผลิตกรดแลคติกมักเกิดขึ้นจากกลูโคสผ่านกระบวนการ glycolysis และจาก galactose-6-P ผ่าน D-tagatose-6-P pathway แต่น้อยกว่า และเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดนี้จะถูกยับยั้งเมื่อมีการหมักน้ำตาลกลูโคสอย่างรวดเร็ว (Tamime และ Robinson, 1985) (ภาพที่ 2.2)



ภาพที่ 2.2 การใช้น้ำตาลแลคโตสของจุลินทรีย์ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus*

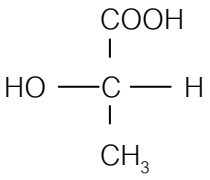
ที่มา: Tamime และ Robinson (1985)

การใช้แลคโตสโดยจุลินทรีย์ *S. thermophilus, L. bulgaricus* และ *L. acidophilus* ส่วนใหญ่จะผลิตกรดแลคติก ส่วน bifidobacteria จะผลิตกรดแลคติกและอะซีติก แม้ว่ากระบวนการในการเปลี่ยนน้ำตาลแลคโตสเป็นกรดแลคติกจะประกอบไปด้วยปฏิกิริยาทางชีวเคมีที่แตกต่างหลายอย่าง แต่สามารถสรุปเป็นสมการง่ายๆ ได้ดังนี้

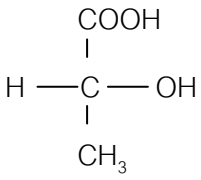
$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O \longrightarrow 4C_3H_6O_3$$

แลคโตส น้ำ กรดแลคติก

กรดแลคติกมีความสำคัญในการผลิตโยเกิร์ต เนื่องจากช่วยตกตะกอนเคซีนไมเซลล์โดยทำให้ค่าความเป็นกรดในระบบของนมเพิ่มขึ้น (pH ลดลง) แล้วทำให้ casein-calcium complex (ในรูปของไมเซลล์) ซึ่งทำให้เกิดเสถียรภาพในนมเหลวตามปกติเปลี่ยนไปเป็น colloidal calcium phosphate (CCP) ที่ละลายน้ำได้ซึ่งจะแพร่กระจายอยู่ในส่วนของเหลว (serum phase) ของนม (Tamime และ Robinson, 1985) ตามปกตินมมี pH 6.7 ซึ่งโปรตีนส่วนใหญ่มีประจุลบ และเคซีนไมเซลล์มีความคงตัวเนื่องจากแรงผลักระหว่างประจุ (electrostatic repulsion) เมื่อ pH ของนมลดลงจาก 6.7 เป็น 6.0 เคซีนไมเซลล์มีประจุลบลดลง จึงทำให้แรงผลักระหว่างประจุลดลง และปริมาณของ CCP จะละลายน้ำเล็กน้อยที่ pH ใกล้เคียง 6.0 เมื่อ pH ของนมลดลงจาก 6.0 เป็น 5.0 ประจุลบของเคซีนลดลงอย่างมาก ทำให้แรงผลักระหว่างประจุยิ่งลดลง ทั้งนี้หาก pH น้อยกว่า 6.0 อัตราการละลายของ CCP จะมากขึ้น ทำให้สมดุลของ calcium phosphate ที่มีอยู่เดิมในเคซีนไมเซลล์เปลี่ยนแปลงไปและโครงสร้างภายในของไมเซลล์อ่อนแอลง และเกิดแรงผลักของ phosphoserine residues ที่ปรากฏให้เห็นเพิ่มขึ้น CCP จะละลายออกมาในส่วนที่เป็นของเหลวของนมอย่างสมบูรณ์เมื่อ pH มีค่าประมาณ 5.0 และเมื่อ pH ต่ำกว่า 5.0 ซึ่งใกล้กับ isoelectric point ของเคซีน (pH 4.6) เคซีนจะมีประจุลบลดลงทำให้แรงผลักระหว่างประจุของเคซีนไมเซลล์ลดลง และในขณะเดียวกันเคซีนไมเซลล์จะจับตัวกันเองเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากอันตรกิริยาแบบไฮโดรโฟบิก (hydrophobic interaction) และอันตรกิริยาแบบอิเล็กโตรสเตติก (electrostatic interaction) ทำให้เกิดการตกตะกอนในลักษณะของลิ่มนมขึ้นได้ในโยเกิร์ต (Lee และ Lucey, 2010) นอกจากนี้กรดแลคติกยังช่วยเพิ่มกลิ่นรสให้กับผลิตภัณฑ์เนื่องจากมีรสชาติที่เปรี้ยวแหลม ทั้งนี้เชื้อแบคทีเรียแลคติกจะมีเอนไซม์ lactate dehydrogenase (LDH) สำหรับสังเคราะห์กรดแลคติกจากกรดไพรูวิค (pyruvic acid) (ภาพที่ 2.2) ซึ่งอาจผลิตได้ในรูปแบบ L(+) หรือ D(-) ซึ่งมีการจับกับหมู่อื่นๆ ของอะตอมคาร์บอนที่สองแตกต่างกัน (Tamime และ Robinson, 1985) ดังนี้



L (+) Lactic acid



D (-) Lactic acid

โดยทั่วไปจุลินทรีย์ *S. thermophilus* จะผลิต L (+) lactic acid ขณะที่เชื้อ *L. bulgaricus* จะผลิต D(-) lactic acid (Turner และ Martley, 1983; Gyosheva, Petrova และ Mutafchieva, 1995; Chandan และ O'Rell, 2006b) ในการหมักโยเกิร์ตโดยทั่วไป *S. thermophilus* จะเจริญในช่วงแรกของการหมัก หลังจากออกซิเจนลดลง *L. bulgaricus* จึงเจริญเพิ่มจำนวนขึ้น ดังนั้นกรดแลคติกในรูปของ L (+) จึงถูกสร้างขึ้นก่อนแล้วกรดแลคติกในรูป D(-) จะถูกสร้างขึ้นภายหลัง ซึ่งอัตราส่วนของ L (+) ต่อ D (-) จะใช้ในการกำหนดคุณภาพของโยเกิร์ต อย่างไรก็ตามคุณภาพของโยเกิร์ต เช่น รสหวานน้อย หรือเปรี้ยวมากยังขึ้นกับความต้องการของผู้บริโภคในแต่ละท้องถิ่นด้วย เช่น โยเกิร์ตที่มีรสเปรี้ยวแหลมจะมีอัตราส่วน L (+) ต่อ D (-) ต่ำ (Tamime และ Robinson,1985)

การผลิตสารให้กลิ่นรส (Production of flavor compounds) จุลินทรีย์จะผลิตสารให้กลิ่นรสของโยเกิร์ตเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งสารเหล่านี้อาจแบ่งเป็น 4 ประเภท คือ (1) กรดที่ไม่สามารถระเหยได้ (non-volatile acid) ได้แก่ แลคติก ไพรูวิก ออกซาลิก หรือซักซินิก (2) กรดที่สามารถระเหยได้ (volatile acid) ได้แก่ ฟอร์มิก อะซีติก โพรพิโอนิก หรือบิวทิริก (3) สารประกอบคาร์บอนิล ได้แก่ อะซีตัลดีไฮด์ อะซีโตน อะซีโตอิน หรือไดอะซีตัล และ (4) สารประกอบอื่นๆ ได้แก่ กรดอะมิโน หรือองค์ประกอบที่เกิดจากการแตกตัว (degradation) ของโปรตีน ไขมัน หรือแลคโตสด้วยความร้อน โดยทั่วไปกลิ่นรสของโยเกิร์ตเกิดจากกรดแลคติกและสารประกอบคาร์บอนิล โดยเฉพาะอะซีตัลดีไฮด์เป็นสำคัญ ทั้งนี้ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* จะสร้างอะซีตัลดีไฮด์หรือสารที่ให้กลิ่นในโยเกิร์ตในปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับการมีเอนไซม์ที่เร่งการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบคาร์บอนิลจากองค์ประกอบนมที่แตกต่างกัน (Tamime และ Robinson, 1985) เช่น การเกิดอะซีตัลดีไฮด์และเอทานอลจากกลูโคสโดยจุลินทรีย์ *L. bulgaricus*

และ *S. thermophilus* เกิดขึ้นโดยการเร่งด้วยเอนไซม์ aldehyde dehydrogenase และ alcohol dehydrogenase นอกจากนี้อะซีตัลดีไฮด์ยังเกิดจากเมแทบอลิซึมของทรีโอนีนโดยเอนไซม์ threonine aldolase ซึ่งจะเกิดจากจุลินทรีย์ *Lactobacillus* sp. มากกว่า *Streptococcus* sp. (Lee และ Jago, 1976)

การผลิตสารประกอบพอลิแซ็คคาไรด์ออกมาภายนอกเซลล์ (Production of exopolysaccharides, EPS) แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกในผลิตภัณฑ์นมหมักหลายๆ ชนิดจะทำให้เกิดลักษณะโครงสร้างเฉพาะของผลิตภัณฑ์โดยการผลิต EPS ซึ่งจุลินทรีย์ *S. thermophilus* และ *L. bulgaricus* สามารถผลิต EPS จากพอลิเมอร์ของน้ำตาล ดังเช่นที่พบในผลิตภัณฑ์นมในทวีปยุโรปตอนเหนือ เช่น viili และ longfil หรือในผลิตภัณฑ์ที่หมักด้วยจุลินทรีย์ *L. lactis* ซึ่งจุลินทรีย์ที่แยกได้จากผลิตภัณฑ์เหล่านี้จะสร้าง EPS จาก nucleotide-sugar precursors ชนิดต่างๆ ทั้งนี้มีงานวิจัยที่ศึกษาการเพิ่มการผลิต nucleotide-sugar ชนิดต่างๆ เพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิต EPS จากแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกให้ได้ปริมาณมากขึ้น นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงขนาดโมเลกุลของ EPS ซึ่งมีอิทธิพลต่อความข้นหนืด และทำให้ลักษณะโครงสร้างของผลิตภัณฑ์นมหมักเปลี่ยนแปลงไปได้ และหากควบคุมขนาดและลักษณะโครงสร้างของโมเลกุลของ EPS ให้เหมาะสมแล้ว จะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์นมหมักที่มีคุณลักษณะที่ดีขึ้น (Hugenholtz และคณะ, 2000)

2.1.5 ประโยชน์ของโยเกิร์ต (Benefits of yoghurt)

ในการผลิตโยเกิร์ต มีการใช้จุลินทรีย์ในการหมักนมซึ่งจะสร้างสารอาหารและสารเคมีออกมาร่วมกับเอนไซม์ และเมื่อกระบวนการหมักสมบูรณ์แล้ว โยเกิร์ตจะมีจุลินทรีย์ที่ยังคงมีชีวิตอยู่ และสามารถดำเนินกิจกรรมการเจริญต่อไปได้ในสภาวะที่เหมาะสม โดยจุลินทรีย์ในโยเกิร์ตจะทำหน้าที่และก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในผลิตภัณฑ์ซึ่งมีประโยชน์ต่อสุขภาพร่างกายของผู้บริโภคดังนี้

คุณค่าทางด้านโภชนาการ (Nutritional value) องค์ประกอบของโยเกิร์ตคล้ายกับนม แต่มีปริมาณแต่ละองค์ประกอบแตกต่างจากนม โดยทั่วไปโยเกิร์ตที่ผลิตจากหางนมจะมีปริมาณของแข็งที่ไม่ใช่ไขมันร้อยละ 8.7 และมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 3.4 อาจเติมหางนมผงหรือโปรตีนเพิ่มเมื่อต้องการความแน่นเนื้อมากขึ้น (Schmidt, 1992) ทำให้โยเกิร์ตมีปริมาณโปรตีนมากกว่านม นอกจากนี้โยเกิร์ตผลไม้จะมีการเติมผลไม้ น้ำตาล สารให้ความคงตัว และสารให้ความข้นหนืด (thickeners) ลงในนม (Schmidt, 1992) จึงทำให้โยเกิร์ตผลไม้มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงกว่าโยเกิร์ตทั่วไป (Gambelli และคณะ, 1999) ดังแสดงในตารางที่ 2.1

โยเกิร์ตเหมาะสมสำหรับผู้บริโภคที่มีปัญหา lactose intolerance ซึ่งไม่มีเอนไซม์ย่อยน้ำตาลแลคโตส (Bresson, 2002) ทั้งนี้น้ำตาลแลคโตสถูกเปลี่ยนไปเป็นกรดแลคติกโดยเอนไซม์บีตา-กาแลคโตซิเดสซึ่งผลิตโดยจุลินทรีย์โยเกิร์ต (Rao และ Dutta, 1977; Cerf-Bensussan, 2002) โยเกิร์ตมีเปปไทด์และกรดอะมิโนอิสระสูงกว่านม เนื่องจากการให้ความร้อนแก่นมและจุลินทรีย์โยเกิร์ตย่อยโปรตีนนมให้มีขนาดอนุภาคลดลง มีปริมาณโปรตีนที่ละลายได้ (soluble protein) ไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน (non-protein nitrogen) และกรดอะมิโนอิสระเพิ่มขึ้น โปรตีนโยเกิร์ตจึงย่อยง่ายกว่าโปรตีนนม (Deeth และ Tamime, 1981) อีกทั้งจุลินทรีย์โยเกิร์ตใช้และสังเคราะห์วิตามินได้หลายชนิด จึงทำให้วิตามินบี 12, ไบโอติน และกรดแพนโทธีนิกลดลง แต่กรดโฟลิกเพิ่มขึ้น (Rao และคณะ, 1984; Chandan และ O'Rell, 2006b) โดย *S. thermophilus* สามารถผลิตวิตามินบี 12 และกรดโฟลิก สำหรับการเจริญเติบโตของ *L. bulgaricus* ดังนั้นถ้าใช้ปริมาณ *S. thermophilus* สูงเมื่อเทียบกับ *L. bulgaricus* จะช่วยเพิ่มปริมาณกรดโฟลิก ซึ่งปกติมีอยู่ในอาหารโดยทั่วไปน้อย และกรดโฟลิกยังเป็นอาหารจำเป็นของหญิงมีครรภ์ ส่วนวิตามินบี 12 เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ purines และ pyrimidines ซึ่งเป็นนิวคลีโอไทด์สำหรับสังเคราะห์ DNA, RNA และโคเอนไซม์ต่างๆ ทำหน้าที่เป็น neurotransmitter ในร่างกายโดยตรง (Hugenholtz และคณะ, 2000) นอกจากนี้สามารถเพิ่มวิตามินในโยเกิร์ตได้โดยการเติมผลไม้ซึ่งเป็นแหล่งที่อุดมของวิตามินลงไป แต่การให้ความร้อนแก่นมและการเก็บรักษาโยเกิร์ตจะทำให้ปริมาณวิตามินลดลง (Deeth และ Tamime, 1981) ส่วนปริมาณเกลือแร่ใน

ตารางที่ 2.1 คุณค่าทางโภชนาการของนมและโยเกิร์ต (ต่อ 100 กรัม)

องค์ประกอบ	นม		โยเกิร์ต [a]		
	ไขมันเต็ม	พร่องมันเนย	ไขมันเต็ม	ไขมันต่ำ	ไขมันต่ำ/ผลไม้
น้ำ (กรัม)	87.8	991.1	81.9	84.9	77.0
พลังงาน (กิโลแคลอรี)	66	33	79	56	90
โปรตีน (กรัม)	3.2	3.3	5.7	5.1	4.1
ไขมัน (กรัม)	3.9	0.1	3.0	0.8	0.7
คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	4.8	5.0	7.8	7.5	17.9
แคลเซียม (มิลลิกรัม)	115	120	200	190	150
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม)	92	95	170	160	120
โซเดียม (มิลลิกรัม)	55	55	80	83	64
โพแทสเซียม (มิลลิกรัม)	140	150	280	250	210
สังกะสี (มิลลิกรัม)	0.4	0.4	0.7	0.6	0.5
เรตินอล (ไมโครกรัม)	52	1	28	8	10
แคโรทีน (ไมโครกรัม)	21	น้อย	21	5	4
ไทอามีน (บี 1) (ไมโครกรัม)	30	40	60	50	50
ไรโบฟลาวิน (บี 2) (ไมโครกรัม)	170	170	270	250	210
ไพรีด็อกซิน (บี 6) (ไมโครกรัม)	60	60	100	90	80
ไซยาโนโคบาลามีน (บี 12) (μg)	0.4	0.4	0.2	0.2	0.2
วิตามินซี (มิลลิกรัม)	1	1	1	1	1
วิตามินดี (มิลลิกรัม)	0.03	น้อย	0.04	0.01	0.01
วิตามินอี (มิลลิกรัม)	90	น้อย	50	10	10
กรดโฟลิก (ไมโครกรัม)	6	5	18	17	16
กรดนิโคตินิก (ไมโครกรัม)	100	100	200	100	100
กรดแพนโทธีนิก (ไมโครกรัม)	350	320	500	450	330
ไบโอติน (ไมโครกรัม)	1.9	1.9	2.6	2.9	2.3

[a] ปริมาณคุณค่าทางโภชนาการของโยเกิร์ตผลไม้จะแปรตามชนิดของผลไม้และสารให้ความคงตัว

ที่มา: Tamime และ Robinson (1999)

โยเกิร์ตไม่มีการเปลี่ยนแปลงมากนักเมื่อเทียบกับนมวัตถุดิบ เนื่องจากการหมักมีผลต่อปริมาณเกลือแร่ในนมเพียงเล็กน้อย (Gurr, 1987) นอกจากนั้นโยเกิร์ตยังเป็นแหล่งที่ดีของแคลเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม และสังกะสี ซึ่งพบว่ามีปริมาณใกล้เคียงกับนม (Chandan และ O'Rell, 2006b)

คุณค่าทางด้านโภชนบำบัด (Therapeutic value) โยเกิร์ตช่วยป้องกันโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร เช่น โรคท้องร่วง โรคลำไส้อักเสบเป็นแผล โรคมะเร็งลำไส้ (Gomes และ Malcata, 1999) ในโยเกิร์ตมีน้ำตาลน้อยซึ่งจะมีผลดีต่อระดับคอเลสเทอรอลในเลือด (Mann, 1977; Hepner และคณะ, 1979) และยังเป็นแหล่งอุดมสมบูรณ์ของแคลเซียม ช่วยเพิ่มการดูดซึมแคลเซียมให้กับร่างกาย และช่วยป้องกันโรคกระดูกพรุน (Smith และคณะ, 1985)

2.2 โพรไบโอติก (Probiotic)

'โพรไบโอติก' ถูกนำมาใช้เป็นครั้งแรกในรายงานวิจัยของ Lilly และ Stillwell (1965) เพื่อกล่าวถึง "สารที่จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งขับออกมาและช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่ง" Parker (1974) ได้ให้คำจำกัดความโพรไบโอติก คือ "สิ่งมีชีวิตหรือสารเคมีที่มีผลต่อสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้" ต่อมา Fuller (1989) อธิบายว่าโพรไบโอติก คือ "อาหารเสริมซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิต สามารถก่อประโยชน์ต่อร่างกายของสิ่งมีชีวิตที่มันอาศัยอยู่ โดยการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในร่างกาย" และ Havenaar และ Huis in't Veld (1992) ได้ขยายคำจำกัดความของโพรไบโอติกว่าไม่ได้จำกัดการใช้เพื่อให้เกิดผลดีเฉพาะในระบบทางเดินอาหารเท่านั้น ยังอาจไปมีผลต่อระบบอื่นๆ เช่น ทางเดินหายใจส่วนต้น หรือระบบปัสสาวะ และระบบสืบพันธุ์ โดยจะต้องประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่มีชีวิตซึ่งอาจมีเพียงชนิดเดียวหรือเป็นส่วนผสมของจุลินทรีย์หลายชนิดที่สามารถปรับปรุงคุณสมบัติของจุลินทรีย์ดั้งเดิมที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์นั้น โดยจุลินทรีย์เหล่านี้อาจอยู่ในรูปของเซลล์แห้งจากกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze-dried cells) หรืออยู่ในรูปผลิตภัณฑ์หมัก นอกจากไปส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นแล้ว ยังทำให้มนุษย์และสัตว์มีสุขภาพดีขึ้นด้วย

2.2.1 **จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นโพรไบโอติก** (Microorganisms as probiotic)

การเลือกจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่จะใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารให้เกิดประโยชน์หรือผลดีต่อสุขภาพจึงมีความสำคัญ ทั้งนี้ Saarela และคณะ (2000) และ Guarner และคณะ (2005) ได้รายงานเกณฑ์การพิจารณาจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นโพรไบโอติกสำหรับผลิตภัณฑ์อาหารว่าต้องมีลักษณะดังนี้

(ก) มีเมแทบอลิซึมภายในระบบลำไส้ของมนุษย์

(ข) เมแทบอไลต์ที่สร้างขึ้นมีความปลอดภัย ไม่เป็นพิษ และไม่ก่อโรค

(ค) ทนกรด น้ำดี และออกซิเจน ซึ่งคุณสมบัตินี้จะทำให้จุลินทรีย์รอดชีวิตได้ดีเมื่ออยู่ในระบบทางเดินอาหาร

(ง) มีความสามารถในการเกาะติดผนังลำไส้ โดยอยู่เป็นกลุ่มในระบบทางเดินอาหาร

(จ) ผลิตสารยับยั้งการเจริญหรือทำลายจุลินทรีย์ก่อโรค

(ฉ) สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกัน และมีประโยชน์ต่อสุขภาพ เช่น ป้องกันความเสี่ยงของการเกิดโรคมะเร็งลำไส้

(ช) สามารถมีชีวิตและอยู่รอดระหว่างกระบวนการผลิตตลอดจนถึงการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์

แบคทีเรียที่ใช้เป็นโพรไบโอติก ได้แก่ *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Bifidobacterium* และ *Enterococcus* spp. โดย lactobacilli และ bifidobacteria ที่ใช้ทางการค้าแสดงในตารางที่ 2.2 สำหรับจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่มีคุณสมบัติในการบำบัดโรค ได้แก่ *L. johnsonii* LA-1, *L. rhamnosus* GG (ATCC 53103), *L. casei* Shirota, *L. acidophilus* NCFB 1478, *B. animalis* BB-12 และ *L. riuteri* (Shah, 2007)

ตารางที่ 2.2 จุลินทรีย์โพรไบโอติก lactobacilli และ bifidobacteria ที่ใช้ทางการค้า

จุลินทรีย์	สายพันธุ์	ผู้ผลิต
Lactobacillus acidophilus	La-5	Chr. Hansen, Denmark
Lactobacillus acidophilus	NCFM	Rhodia, USA
Lactobacillus casei	Shirota	Yakult, Japan
Lactobacillus acidophilus	*Johsonii* La-1	Nestle, Switzerland
Lactobacillus plantarum	299v	Probi, Sweden
Lactobacillus reuteri	MM2	Biogaia, Sweden และ USA
Lactobacillus rhamnosus	GG	Valio, Finland
Bifidobacterium lactis (จัดหมวดหมู่ใหม่เป็น *B. animalis*)	Bb-12	Chr. Hansen, Denmark
Bifidobacterium longum	BB536	Morinaga Milk Industry, Japan
Bifidobacterium longum	SBT-2928	Snow Brand Milk Products, Japan
Bifidobacterium breve		Yakult, Japan
Bifidobacterium lactis Lafti™	B94	DSM, Australia
Bifidobacterium lactis	DR10/HOWARU	Danisco, Denmark
Bifidobacterium longum	UCC 35624	UCCork, Ireland

ที่มา: Shah (2006)

2.2.2 **โพรไบโอติกที่ใช้กับโยเกิร์ต** (Probiotics used for yoghurt)

มีการนำจุลินทรีย์โพรไบโอติกมาเติมในโยเกิร์ตและผลิตภัณฑ์อาหารอื่นๆ เช่น ครีม เนยแข็ง นมผง ไอศกรีม อาหารทารก ช็อกโกแลต ผลิตภัณฑ์จากธัญพืช เครื่องดื่ม เป็นต้น จุลินทรีย์โพรไบโอติกที่นิยมใช้ในโยเกิร์ตส่วนใหญ่ ได้แก่ *L. acidophilus* และ *Bifidobacterium* spp. (Shah, 2007) หรืออาจใช้ *L. acidophilus* ร่วมกับ *Bifidobacterium* spp. (เรียกว่า AB) หรือ *L. acidophilus* ร่วมกับ *Bifidobacterium* spp. และ *L. casei* (เรียกว่า ABC) โดยเติมร่วมกับจุลินทรีย์โยเกิร์ต (*S. thermophilus* และ *L. bulgaricus*) มีรายงานว่าการเติมเชื้อผสมจะช่วยส่งเสริมการทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์ที่ใช้แต่ละชนิด (Rybka และ Kailasapathy, 1995; Shah และคณะ, 1995; Dave และ Shah, 1997d; Shah, 2000) โดยจะให้กลิ่นรสและเนื้อสัมผัสเป็นที่ต้องการ โดยทั่วไปผลิตภัณฑ์ที่หมักด้วย *L. bulgaricus* จะมีความเป็นกรดมากและมีอะซีทัลดีไฮด์สูงซึ่งเป็นกลิ่นรสเฉพาะของโยเกิร์ต การใช้เชื้อผสมระหว่าง *L. acidophilus*, *Bifidobacterium* spp. และ *S. thermophilus* (เรียกว่า ABT) จะทำให้โยเกิร์ตมีกลิ่นรสที่ดีกว่า (Saarela และคณะ, 2000; Bonczar, Wszolek และ Siuta, 2002) รวมทั้งให้ประโยชน์ทางด้านโภชนาการและการบำบัดโรค โยเกิร์ตที่เติมจุลินทรีย์โพรไบโอติกมักจะเรียกว่า ไบโอ-โยเกิร์ต (bio-yoghurt) ซึ่งจะมีจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพในปริมาณมากกว่า 6 $\log_{10}$CFU ต่อกรัม (Tamime และ Robinson, 1999; Lourens-Hattingh และ Viljoen, 2001) จุลินทรีย์โพรไบโอติกที่สำคัญที่ใช้กับโยเกิร์ตมีคุณลักษณะดังต่อไปนี้

Lactobacillus **spp.** มีรูปร่างเป็นท่อน ปลายมน ติดสีแกรมบวก พบเป็นเซลล์เดี่ยวๆ เป็นคู่ หรือเป็นสายสั้นๆ มีขนาดกว้าง 0.6-0.9 ไมโครเมตร และยาว 1.5-6 ไมโครเมตร ไม่เคลื่อนที่ และไม่สร้างสปอร์ ส่วนใหญ่ต้องการออกซิเจนเล็กน้อย หรือไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ ต้องการคาร์โบไฮเดรตเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน รวมทั้งกรดอะมิโนและวิตามินในการเจริญ จุลินทรีย์กลุ่มนี้ส่วนใหญ่หมักฟรุคโตส กลูโคส แลคโตส ซูโครส และกาแลคโตสได้ และให้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดแลคติกเพียงชนิดเดียว (ธวิช อินทรพันธุ์, 2548; Chandan และ O'Rell, 2006b; Vedamuthu, 2006) สกุล *Lactobacillus* มี 56 สายพันธุ์ สำหรับจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นโพรไบโอติก ได้แก่ *L. acidophilus, L. lactis, L. casei, L. plantarum,*

L. rhamnosus, L. ruetiri, L. paracasei, L. fermentum, L. helveticus โดยนิยมใช้ *L. acidophilus* กับอาหารมากกว่าจุลินทรีย์ตัวอื่นๆ เชื้อนี้มีคุณสมบัติในการรักษาโรค สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 28-43 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมประมาณ 35-40 องศาเซลเซียส ค่า pH ที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 5.5-6.0 เจริญได้เล็กน้อยในอาหารที่มี pH 4.5-6.4 และไม่เจริญที่ pH น้อยกว่า 3.6 สามารถทนกรดอยู่ในช่วงร้อยละ 0.3-1.9 (Shah, 2007) พบในลำไส้มนุษย์และสัตว์ ทนกรดและน้ำดีได้ดี เจริญในนมอย่างช้าๆ และผลิตกรดแลคติกในปริมาณมาก (Vedamuthu, 2006)

***Bifidobacterium* spp.** เป็นแบคทีเรียรูปท่อน แกรมบวก มีหลายขนาด พบเป็นเซลล์เดี่ยวหรือเป็นสาย ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ ไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญ แต่สามารถทนออกซิเจนได้ในสภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ เจริญได้ในช่วง 25-45 องศาเซลเซียส แต่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37-41 องศาเซลเซียส และ pH 6.0-7.0 ไม่เจริญที่ pH ต่ำกว่า 4.5 หรือสูงกว่า 8.0 สามารถหมักน้ำตาลกลูโคสให้กรดแลคติกและกรดอะซีติกโดยไม่เกิดคาร์บอนไดออกไซด์ นอกจากนี้ยังสามารถหมักน้ำตาลแลคโตส กาแลคโตส และเพนโตสได้ด้วย บางชนิดพบในอุจจาระของคน สัตว์ และสัตว์ปีก เป็นพวกที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ พบในทางเดินอาหารโดยเฉพาะในเด็กทารกอายุ 2-3 วัน และพบมากในเด็กที่ดื่มนมแม่ บางสายพันธุ์ถูกนำไปเสริมในผลิตภัณฑ์นมเพื่อรักษาปริมาณของแบคทีเรียชนิดนี้ในระบบทางเดินอาหาร (ธวิช อินทรพันธุ์, 2548) ปัจจุบันมี *Bifidobacterium* spp. ทั้งหมด 29 สายพันธุ์ ซึ่งแยกได้จากมนุษย์ 14 สายพันธุ์ จากสัตว์ 12 สายพันธุ์ และจากน้ำผึ้ง 3 สายพันธุ์ สายพันธุ์ที่พบในเด็กทารกได้แก่ *B. angulatum, B. bifidum, B. breve, B. catenulatum, B. infantis* ส่วนสายพันธุ์ที่พบในผู้ใหญ่ ได้แก่ *B. adolescentis* และ *B. longum* (Shah, 2007)

2.2.3 **การรอดชีวิตของโพรไบโอติก** (Survival of probiotic)

จุลินทรีย์โพรไบโอติกจะมีประโยชน์ต่อสุขภาพก็ต่อเมื่อเป็นเซลล์ที่ยังมีชีวิตและมีปริมาณมากกว่า 6 $\log_{10}$CFU ต่อกรัมในผลิตภัณฑ์ (Rybka และ Kailasapathy, 1995) มีการศึกษาการมีชีวิตรอดของจุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหารหลายชนิด พบว่าส่วนใหญ่จุลินทรีย์

โพรไบโอติกจะสามารถรอดชีวิต (คงอยู่) ในผลิตภัณฑ์ได้น้อย (Shah และคณะ, 1995; Shah, Ali และ Ravula, 2000) โยเกิร์ตอาจเป็นแหล่งอาหารที่ดีของจุลินทรีย์โพรไบโอติก แต่มีปัจจัยหลายอย่างที่ส่งผลต่อการมีชีวิตรอดของจุลินทรีย์โพรไบโอติกในโยเกิร์ต เช่น pH ปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษา สารอาหาร ปริมาณออกซิเจนในผลิตภัณฑ์ จำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้น ความไวของหัวเชื้อแบคทีเรียต่อสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผลิตขึ้น และสภาวะการเก็บรักษา (Dave และ Shah, 1997a, 1997b, 1997c, 1997d; Shah, 2000; Tamime และคณะ, 2005) การทำให้จุลินทรีย์โพรไบโอติกเจริญและอยู่รอดทั้งภายในอาหารและระบบทางเดินอาหารได้นั้น อาจมีการเติมจุลินทรีย์โพรไบโอติกให้มีปริมาณ 9 log_{10}CFU ต่อกรัม หรือมีการเติมสารอาหารที่เป็นแหล่งพลังงาน เช่น กลูโคส สารสกัดจากยีสต์ โปรตีนไฮโดรไลเซท วิตามิน เกลือแร่ หรือสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ลงในผลิตภัณฑ์อาหาร เพื่อช่วยส่งเสริมการรอดชีวิตของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกทั้งในระหว่างกระบวนการผลิตและการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ (Dave และ Shah, 1998; Gomes, Malcata และ Klaver, 1998; Saarela และคณะ, 2000)

2.2.4 **ประโยชน์ของโพรไบโอติก** (Benifits of probiotic)

ประโยชน์สำคัญอย่างยิ่งที่ได้รับจากการบริโภคจุลินทรีย์โพรไบโอติก ได้แก่ การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคภายในลำไส้ โดยการสร้างสารต่อต้านจุลินทรีย์ เช่น กรดอินทรีย์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ไดอะซิติล หรือสารยับยั้งแบคทีเรีย (bacteriocins) เป็นต้น (Šuškovic′ และคณะ, 2010) นอกจากนี้จุลินทรีย์กลุ่มนี้ยังแย่งอาหารกับจุลินทรีย์กลุ่มอื่น หรือแย่งพื้นที่ในผนังลำไส้เพื่อการเจริญที่ดีของมัน จึงทำให้ทวีจำนวนและรักษาปริมาณให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม จึงช่วยป้องกันการเกิดโรคท้องร่วง ช่วยซ่อมแซมฟื้นฟูจุลินทรีย์ที่มีตามปกติในร่างกายให้เป็นปกติหลังจากได้รับยาปฏิชีวนะหรือการฉายรังสีในการรักษาโรค ช่วยทำให้เกิดการเคลื่อนที่ภายในลำไส้ ป้องกันโรคท้องผูก โรคริดสีดวงทวาร ช่วยให้ระบบการย่อยและการดูดซึมสารอาหารดีขึ้น โดยบีตา-กาแลคโตซิเดสที่จุลินทรีย์เหล่านี้สร้างขึ้นจะช่วยบรรเทาภาวะที่ไม่สามารถย่อยน้ำตาลแลคโตสในระบบทางเดินอาหารได้ ช่วยส่งเสริมสุขภาพด้วยการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันภายในลำไส้โดยเพิ่มระดับแอนติบอดี เพิ่มประสิทธิภาพของ macrophage ช่วยลดการสร้างแอมโมเนีย ไฮโดรเจนซัลไฟด์ และสารก่อมะเร็งและสารพิษที่จะเป็นอันตรายต่อตับและลำไส้

ลดคอเลสเทอรอลในเลือด ลดการติดเชื้อในลำไส้ ป้องกันโรคกระดูกพรุน และยังช่วยสังเคราะห์สารอาหารโดยเฉพาะวิตามินสำคัญๆ ได้แก่ กรดโฟลิก และวิตามินบี 12 (Rao และคณะ, 1984; Gilliland และคณะ, 1985; Havenaar และ Huis in't Veld, 1992; Walker และ Duffy, 1998; Ziemer และ Gibson, 1998; Salminen และคณะ, 1999; Tamime และ Robinson, 1999; Saarela, 2000; Saarela และคณะ, 2000; Zubillaga และคณะ, 2001; Crittenden, Martinez และ Playne, 2003, Ötles, Çagmdı และ Ahçiçek, 2003; Gibson, 2004; Marks, 2004; Salminen, Playne และ Lee, 2004)

2.2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับโพรไบโอติก (Research related to probiotic)

Betoret และคณะ (2003) ศึกษาการเสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติกในชิ้นแอปเปิ้ลที่เคลือบในสุญญากาศด้วยน้ำแอปเปิ้ลทางการค้าที่มี *Saccharomyces cerevisiae* และนมไขมันเต็มหรือน้ำแอปเปิ้ลที่มี *Lactobacillus casei* (spp. *rhamnosus*) จำนวน 7 หรือ 8 $\log_{10}$CFU ต่อมิลลิลิตร พบว่าชิ้นแอปเปิ้ลที่แช่ในน้ำแอปเปิ้ลทางการค้าและนมไขมันเต็มมีจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตประมาณ 6 และ 7 $\log_{10}$CFU ต่อกรัม ตามลำดับ และเมื่อนำตัวอย่างที่แช่ในอาหารดังกล่าวมาทำให้แห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลลเซียส และเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 เดือน พบว่ายังคงมีจำนวน *L. casei* ที่มีชีวิตมากกว่า 6 $\log_{10}$CFU ต่อกรัม

Lavermicocca และคณะ (2005) ศึกษาการรอดชีวิตของ *L. rhamosus* (3 สายพันธุ์) *L. paracasei* (2 สายพันธุ์) *B. bifidum* (1 สายพันธุ์) และ *B. longum* (1 สายพันธุ์) ที่เกาะติดบนผลมะกอกสำหรับรับประทาน (table olives) ที่เก็บในโถแก้วที่อุณหภูมิห้อง พบว่าหลังจากเก็บนาน 30 วัน ตัวอย่างที่มี Bifidobateria และ *L. rhamnosus* (*Lactobacillus* GG) มีจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตประมาณ 6 $\log_{10}$CFU ต่อกรัม และหลังจาก 3 เดือน ตัวอย่างที่มี *L. paracasei* IMPC2.1 มีจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตมากกว่า 7 $\log_{10}$CFU ต่อกรัม นอกจากนี้อาสาสมัคร 4 ใน 5 คนที่รับประทานผลมะกอกเสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติกสายพันธุ์ *L. paracasei* INPC2.1 จำนวน 10-15 ผลต่อวัน โดยรับประทานก่อนการทดลองเป็นเวลา 1 สัปดาห์ และระหว่างการทดลองเป็นเวลา 10 วัน เก็บตัวอย่างอุจจาระทุกวันในระหว่างการทดลอง และเก็บ

ต่อไปอีก 7 วัน พบว่ามีเซลล์โพรไบโอติกที่มีชีวิตดังกล่าวในตัวอย่างอุจจาระประมาณ 9 ถึง 10 log_{10}CFU ต่อกรัม ทุกวันในระหว่างการทดลอง

Donkor และคณะ (2006) ศึกษาการรอดชีวิตของ *L. acidophilus* LAFTI® L10, *B. lactis* LAFTI® B94 และ *L. paracasei* LAFTI® L26 รวมทั้งกิจกรรมการย่อยโปรตีนของจุลินทรีย์เหล่านี้ในโยเกิร์ตที่ผลิตด้วย *L. delbreuckii* ssp. *bulgaricus* Lb1466 และ *S. thermophilus* St1342 ที่มีค่า pH สุดท้ายแตกต่างกันในระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน พบว่ามีจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติกและจุลินทรีย์โยเกิร์ตในตัวอย่างมากกว่า 6 log_{10}CFU ต่อกรัม และตัวอย่างที่เติม *L. acidophilus* LAFTI® L10 และ *L. paracasei* LAFTI® L26 มีจำนวนจุลินทรีย์มากกว่า 8 และ 7 log_{10}CFU ต่อกรัม ตามลำดับ แต่สำหรับตัวอย่างที่เติม *B. lactis* LAFTI® B94 มีจำนวนลดลง 1 log_{10}CFU ต่อกรัม เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษา เนื่องจากค่า pH ที่ต่ำและปริมาณกรดที่ผลิตสูงขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าโยเกิร์ตที่เสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติกจะช่วยเพิ่มกิจกรรมการย่อยโปรตีนเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่มีแต่เพียงจุลินทรีย์โยเกิร์ต

Maragkoudakis และคณะ (2006) ศึกษาการเติม *L. plantarum* ACA-DC 146 และ *L. paracasei* subsp. *tolerans* ACA-DC 4037 ลงในโยเกิร์ตกรีกชนิดเซ็ตแบบดั้งเดิม พบว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติกทั้งสองสายพันธุ์ผลิตกรดในปริมาณต่ำ และไม่เกิดการยับยั้งจากจุลินทรีย์โยเกิร์ต โดยโยเกิร์ตที่เติม *L. paracasei* subsp. *tolerans* ACA-DC 4037 มีสมบัติทางประสาทสัมผัสดีที่สุด คือ ให้รสชาติแบบดั้งเดิม และมีสมบัติทางเคมีและกายภาพดี นอกจากนี้การเก็บตัวอย่างในตู้เย็นเป็นเวลา 2 สัปดาห์ จะมีจำนวนจุลินทรีย์ดังกล่าวมากกว่า 7 log_{10} CFU ต่อกรัม และสามารถเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ในตัวอย่างโยเกิร์ตได้โดยใช้จุลินทรีย์ที่ผ่านกระบวนการ encapsulation ปริมาณสูงที่ระดับ 10-11 log_{10} CFU ต่อกรัม แต่พบว่าโยเกิร์ตจะใช้เวลาในการหมักนานขึ้นและมีสมบัติทางประสาทสัมผัสที่ไม่ดี

Oneca และคณะ (2007) ได้เติม *L. paracasei* Pa1, Pa2, Pa3 ลงใน curd slurries ที่เตรียมจากนมแกะ เปรียบเทียบกับจุลินทรีย์ทางการค้าซึ่งเป็นตัวอย่างควบคุม วิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนอิสระในวันที่ 0, 2, 5, 7 และ 10 พบว่าในวันที่ 0 ตัวอย่างควบคุมมีปริมาณกรดอะมิโนอิสระทั้งหมด 150 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง แล้วเพิ่มขึ้นเป็น 600 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้งในวันที่ 10 โดยมีตัวอย่างที่เติม *L. paracasei* Pa1 และ Pa3 ให้ผลคล้ายตัวอย่างควบคุม ซึ่งอาจสรุปได้ว่าปริมาณกรดอะมิโนอิสระทั้งหมดในตัวอย่างขึ้นอยู่กับสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ใช้

Guergoletto และคณะ (2010) ศึกษาการรอดชีวิตของ *L. casei* LC-1 เมื่อยึดเกาะบนเส้นใยอาหารแห้งที่เป็นพรีไบโอติก ได้แก่ รำข้าวโอ๊ต แป้งกล้วยดิบ หรือเส้นใยแอปเปิ้ล โดยแช่ตัวอย่างแต่ละชนิดในสารละลายน้ำเกลือ ร้อยละ 0.85 ที่เติมอินูลินและมีจุลินทรีย์ดังกล่าวที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง แล้วทำให้แห้งใน vacuum oven พบว่า *L. casei* LC-1 มีชีวิตรอดในรำข้าวโอ๊ต (ที่มี β-glucan ร้อยละ 9) และแป้งกล้วยดิบคิดเป็นร้อยละ 79 และ 76 ตามลำดับ โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลงทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ ในขณะเดียวกันการเติมน้ำตาล trehalose ลงในสารละลายน้ำเกลือก่อนการแช่เส้นใยอาหารจะช่วยป้องกันเซลล์ให้มีชีวิตรอดมากขึ้น และเมื่อเก็บรักษาตัวอย่างที่อุณหภูมิแตกต่างกัน พบว่าตัวอย่างรำข้าวโอ๊ตมีจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตรอดมากที่สุด (7.1 $\log_{10}$CFU ต่อกรัม) และมากกว่าเซลล์ที่อยู่เป็นอิสระ (2.4 $\log_{10}$CFU ต่อกรัม) เมื่อนำรำข้าวโอ๊ต (เสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติก) ร้อยละ 5 เติมลงในเครื่องดื่มผลไม้ที่มีนมเป็นส่วนผสม พบว่าได้รับการยอมรับทางประสาทสัมผัสจากผู้บริโภคเป็นอย่างดี

Espírto Santo, และคณะ (2010) ศึกษาผลของการเติม açai plup และจุลินทรีย์โพรไบโอติกสายพันธุ์ที่แตกต่างกันในโยเกิร์ตชนิดกวนที่มีต่อปริมาณกรดไขมัน (วิเคราะห์โดย gas chromatography ในวันที่ 1) และจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิต (ในวันที่ 1, 14 และ 28 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส) พบว่าเมื่อสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 4 โยเกิร์ตที่เติม açai plup มีจำนวน *L. acidophilus* L10 และ *B. animalis* ssp. *lactis* BI04 มากกว่า 7 และ 9 $\log_{10}$CFU ต่อกรัม ตามลำดับ ส่วนโยเกิร์ตที่ไม่ได้เติม açai plup มีจำนวนจุลินทรีย์มากกว่า

6 และ 8 $\log_{10}$CFU ต่อกรัม ตามลำดับ การเติม açai plup ในโยเกิร์ตช่วยเพิ่มปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวชนิด mono- และ polyunsaturated fatty acids สำหรับตัวอย่างที่เติม *B. animalis* ssp. *lactis* BI04 และ B94 มีปริมาณ α-linolenic acid และ conjugated linoleic acids เพิ่มขึ้นในระหว่างการหมัก

2.3 **กล้วย** (Banana)

กล้วยจัดอยู่ในอันดับ (order) Scitamineae หรือ Zingiberales ประกอบด้วย 8 วงศ์ (family) ด้วยกัน สำหรับวงศ์ Musaceae เป็นกล้วยที่ปลูกกันมากกว่าวงศ์อื่นๆ และเป็นวงศ์ที่ใหญ่ที่สุด พบว่ามี 2 สกุล (genus) ได้แก่ Ensete คือ กล้วยผาหรือกล้วยที่ไม่แตกหน่อ และ Musa คือ กล้วยแตกหน่อหรือกล้วยที่พบเห็นอยู่ทั่วไป กล้วยในสกุล Musa แบ่งเป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ Australimusa, Callimusa, Eumusa, Rhodochlamys และ Ingentimusa พวกที่กินได้จัดอยู่ในกลุ่ม Eumusa และมีกำเนิดมาจากกล้วยป่า 2 สายพันธุ์ (species) คือ *Musa acuminate* Colla กับ *M. balbisiana* Colla ชนิดแรกขึ้นอยู่ทั่วไปในป่าดิบ พบในประเทศไทยมี 4 ชนิดย่อย ขยายพันธุ์ด้วยการแตกหน่อ หรือใช้เมล็ดปลูกได้ ผลของกล้วยป่าเมื่อสุกกินได้ แต่ไม่นิยมเพราะมีเมล็ดมาก หรืออาจบริโภคผลอ่อนและหัวปลี สำหรับกล้วยตานี *M. balbisiana* Colla ไม่พบในป่า เป็นกล้วยปลูกทั่วๆ ไปในทุกจังหวัด มีถิ่นกำเนิดอยู่แถบประเทศอินเดีย ในประเทศไทยมี 3 ชนิด ได้แก่ กล้วยตานีภาคเหนือ ภาคอีสาน และภาคใต้ แตกต่างกันที่ลำต้นและผล กล้วยเป็นผลไม้ที่ชอบอากาศร้อนชื้น มีถิ่นกำเนิดแรกอยู่แถบเอเชียตอนใต้ ซึ่งจะพบกล้วยพื้นเมืองที่มีเมล็ดและไม่มีเมล็ด นิยมนำมาบริโภคสดและแปรรูปเนื่องจากมีคุณค่าทางอาหารด้านคาร์โบไฮเดรตและวิตามินสูง ในแต่ละปีมีการผลิตกล้วยประมาณ 45 ล้านเมตริกตัน ทวีปเอเชียผลิตกล้วยได้ถึงประมาณร้อยละ 40 ของกล้วยที่ผลิตได้ทั้งหมด (เบญจมาศ ศิลาย้อย, 2545) กล้วยที่นิยมปลูกในประเทศไทยพัฒนามาจากกล้วยป่าและลูกผสมระหว่างกล้วยป่ากับกล้วยตานี (Valmayor และคณะ, 2000) มีการปลูกและบริโภคกันอย่างแพร่หลาย ดังนี้

กล้วยหอมทอง (Kluai Hom Thong) มีชื่อวิทยาศาสตร์ [Musa (AAA group) 'Kluai Hom thong' กลุ่มย่อย Gros Michel] ชื่ออื่นๆ คือ กล้วยหอม ชื่อสามัญ Hom Thong Banana (เบญจมาศ ศิลาย้อย, 2545) นิยมปลูกมากในประเทศไทย เนื่องจากมีรสชาติหอมหวานตรงกับความต้องการของตลาด แต่เป็นพันธุ์ที่สุกเร็ว ขั้วผลไม่เหนียวทำให้ผลหลุดง่าย และเปลือกบางจึงช้ำและเกิดรอยดำง่าย เมื่อตัดเป็นชิ้นสามารถเกิดสีน้ำตาลได้ง่าย ซึ่งก่อให้เกิดปัญหาในการนำไปใช้ในการบริโภคสด เช่น ในสลัด (Moline, Guta และ Newman, 1999) แหล่งปลูกสำคัญในแถบภาคกลาง ได้แก่จังหวัดปทุมธานี และกรุงเทพฯ หรือจังหวัดใกล้เคียง และเป็นสินค้าส่งออกปริมาณมากไปยังฮ่องกง สิงคโปร์ ญี่ปุ่น และยุโรป (เบญจมาศ ศิลาย้อย, 2545)

กล้วยน้ำว้า (Kluai Namwa) มีชื่อวิทยาศาสตร์ [*Musa* (ABB group) 'Kluai Namwa'] ชื่ออื่นๆ คือ กล้วยใต้ (เชียงใหม่, เชียงราย); กล้วยตานีอ่อง (อุบลราชธานี); กล้วยมะลิอ่อง (จันทบุรี), กล้วยอ่อง (ชัยภูมิ) ชื่อสามัญ Pisang Awak ปลูกทั่วไปในประเทศไทย และปลูกเพื่อการค้าทั่วไปในภาคกลาง และในภาคเหนือปลูกมากที่จังหวัดพิษณุโลก บริโภคกันมากในทุกภาคของประเทศ (เบญจมาศ ศิลาย้อย, 2545) กล้วยชนิดนี้มีการใช้ประโยชน์สูงสุดตั้งแต่ผลดิบที่แก่จัดจะใช้ผลิตเป็นกล้วยฉาบชนิดแว่น ชนิดแผ่น และแป้งกล้วย ผลห่ามแต่ยังไม่สุกใช้ทำกล้วยปิ้ง และกล้วยทอด ผลสุกถึงสุกมากใช้บริโภคสดหรือแปรรูปเป็นกล้วยบดเพื่อเป็นอาหารเด็กอ่อน และทำเป็นขนมหลายชนิด เช่น ขนมกล้วย กล้วยแผ่น ทองม้วนกล้วย กล้วยทอด กล้วยบวชชี กล้วยตาก กล้วยฉาบ ส่วนผลกล้วยที่สุกงอมใช้ทำกล้วยกวน (วิชัย หฤทัยธนาสันต์, 2541)

กล้วยไข่ (Kluai Khai) มีชื่อวิทยาศาสตร์ [*Musa* (AA group) 'Kluai Khai' กลุ่มย่อย Sucrier] ชื่ออื่นๆ คือ กล้วยกระ ชื่อสามัญ Pisang Mas ปลูกทั่วๆ ไปในทุกภาคของประเทศไทย และปลูกกันมากเพื่อการค้าที่จังหวัดกำแพงเพชรและเพชรบุรี เป็นกล้วยที่รสชาติดี และใช้ในเทศกาลสารทไทย ผลกินสด หรือเป็นเครื่องเคียงของข้าวเม่าคลุก และกระยาสารท นอกจากนี้กล้วยที่ห่ามเกือบสุกยังใช้ทำกล้วยเชื่อมเพื่อการบริโภคในประเทศ กล้วยที่สุกใช้ทำข้าวเม่าทอดและกล้วยบวชชี นอกจากนี้ยังส่งเป็นสินค้าในรูปผลสดและผลิตภัณฑ์แปรรูปออกไปขายที่ประเทศสิงคโปร์ ญี่ปุ่น และฮ่องกง (เบญจมาศ ศิลาย้อย, 2545)

2.3.1 **การสุกของกล้วย** (Ripening of bananas)

กล้วยเป็นพืชที่มีการสุกของผลเป็นแบบ climacteric type คือ ผลไม้ที่มีการเปลี่ยนแปลงอัตราการหายใจตามอายุแก่อ่อนของผล โดยปกติกล้วยจะสุกขณะที่อยู่บนต้น ดังนั้นถ้าต้องการให้ได้ผลกล้วยที่มีคุณภาพสูงและอายุการเก็บรักษายืนนาน จึงมักเก็บเกี่ยวก่อนที่ผลกล้วยจะสุก คือ เปลือกยังมีสีเขียวและผลแข็ง ขณะที่ผลกล้วยกำลังจะสุกเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลง 2 อย่างด้วยกัน คือ

การเปลี่ยนแปลงของสมบัติทางประสาทสัมผัส (Changes in sensory properties) เป็นการเปลี่ยนแปลงที่สามารถมองเห็น ดมกลิ่น ชิมรส และสัมผัสด้วยมือได้ การสุกของผลกล้วยในเครือจะเริ่มจากหวีบนสุดเรื่อยไปจนถึงหวีสุดท้ายตามลำดับ โดยการเปลี่ยนแปลงของสีและลักษณะเนื้อสัมผัสจะมีความสัมพันธ์กัน ผลกล้วยที่ยังดิบจะมีสีเปลือกเป็นสีเขียวและลักษณะเนื้อแข็งมีสีขาว เมื่อผลเริ่มสุกจะมีเปลือกสีเขียวอ่อนและลักษณะเนื้อสัมผัสเริ่มอ่อนตัวมีสีขาวซีด เนื้อจะเริ่มอ่อนตัวจากข้างในตรงกลางมายังข้างนอกและจากส่วนปลายไปหาส่วนโคนของผล ต่อมาสีเปลือกจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอมเขียวและลักษณะเนื้อสัมผัสอ่อนทั้งผล สีเปลือกจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองยกเว้นที่ส่วนปลายและก้านผลยังคงเขียวอยู่ ในที่สุดผลกล้วยจะเหลืองตลอดผลและลักษณะเนื้อสัมผัสอ่อนนิ่มแต่ยังไม่เละ ระยะนี้เรียก “eating ripe” ซึ่งมีเอนไซม์หลายชนิดที่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลง เมื่อระยะเวลาหลังการเก็บเกี่ยวเนิ่นนานออกไปอีกเปลือกจะกลายเป็นสีน้ำตาล และในท้ายที่สุดจะมีสีน้ำตาลโดยสมบูรณ์ซึ่งเนื้อจะเริ่มเละ (เกศิณี ระมิงค์วงศ์, 2528) โดย Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation (CSIRO) (1972) ได้แบ่งขั้นตอนในการสุกของกล้วยตามลักษณะที่เห็นภายนอกหลังจากตัดมาบ่มดังนี้

ระยะที่ 1 เปลือกเขียว ผลแข็ง ยังไม่สุก

ระยะที่ 2 เริ่มเปลี่ยนสีจากสีเขียวเป็นสีเหลืองเล็กน้อย

ระยะที่ 3 เริ่มเปลี่ยนสีจากสีเขียวเป็นสีเหลืองมากขึ้น แต่ยังมีสีเขียวมากกว่าสีเหลือง

ระยะที่ 4 เริ่มเปลี่ยนสีจากสีเขียวเป็นสีเหลือง และมีสีเหลืองมากกว่าสีเขียว

ระยะที่ 5 เปลือกเป็นสีเหลือง แต่ที่ปลายยังเป็นสีเขียว

ระยะที่ 6 ทั้งผลมีสีเหลือง (ผลสุก)

ระยะที่ 7 ผิวสีเหลืองและเริ่มมีจุดสีน้ำตาล (สุกเต็มที่ มีกลิ่นหอม)

ระยะที่ 8 ผิวสีเหลืองและเริ่มมีจุดสีน้ำตาลมากขึ้น (สุกมากเกินไป เนื้อเริ่มอ่อนตัวและมีกลิ่นแรง)

รสชาติและกลิ่นของกล้วยขณะที่สุกเป็นผลมาจากความหวานของน้ำตาลที่เปลี่ยนแปลงมาจากสารประกอบคาร์โบไฮเดรต และยังเกิดจากสารประกอบเอสเทอร์ที่ระเหยได้ (volatile esters) แทนนิน (tannin) แอลกอฮอล์ และกรดอื่นๆ เช่น กรดไพรูวิค (pyruvic acid) และกรดโอลีอิค (oleic acid) (เกศิณี ระมิงค์วงศ์, 2528)

การเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาและชีวเคมี (Physiological and biochemical changes) เกศิณี ระมิงค์วงศ์ (2528) อธิบายว่าการเปลี่ยนแปลงทางสรีรวิทยาและชีวเคมี รวมเรียกว่า covert changes ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงภายในเนื้อเยื่อที่เกิดโดยกลไกที่ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสี ลักษณะเนื้อสัมผัส กลิ่น และรสของผลกล้วย การเปลี่ยนแปลงเหล่านี้อาจพิจารณาได้เป็น 2 กรณี คือ

ก) การเปลี่ยนแปลงของกล้วยก่อนเก็บเกี่ยว (preharvest change) โดยมีการปล่อยให้สุกคาต้น ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นอย่างไม่ค่อยสม่ำเสมอ และอาจพบได้ในกล้วยหอมทอง โดยที่ปริมาณของแข็งทั้งหมดของผลจะเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ และสูงสุดประมาณร้อยละ 26 เมื่ออายุได้ 80 วัน นับจากวันออกปลี หลังจากนั้นปริมาณของแข็งและแป้งจะลดลง เกิดการสะสมของกลูโคสและฟรุคโตส เกิดการสูญเสียคาร์โบไฮเดรตเนื่องจากการหายใจ มีปริมาณกรดในเปลือกและเนื้อเพิ่มขึ้น เกิดการปริของผิวเปลือกเมื่ออายุ 100-120 วัน นับจากวันออกปลี

ข) การเปลี่ยนแปลงระหว่างการสุกของกล้วยตัด (postharvest change) หลังจากเครือกล้วยถูกตัดออกจากต้นแล้ว ผลกล้วยยังคงมีเมแทบอลิซึมและสามารถสังเคราะห์สารประกอบต่างๆ ได้ โดยเกิดการเปลี่ยนแปลงดังนี้

การหายใจ (respiration) ผลกล้วยดิบในช่วง preclimacteric จะมีอัตราการหายใจต่ำ แล้วจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อผลกล้วยเริ่มเปลี่ยนสี และจะมีอัตราการหายใจสูงที่สุดเมื่อผลกล้วยเริ่มสุกในช่วง climacteric ทั้งนี้อัตราการหายใจอาจเปลี่ยนแปลงได้ตามอุณหภูมิและสภาพแวดล้อม (เกศิณี ระมิงค์วงศ์, 2528)

น้ำ (water) น้ำเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ในเนื้อและเปลือกกล้วย ซึ่งจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นระหว่างการสุก กระบวนการคายน้ำยังคงเกิดขึ้นแม้ตัดเครือกล้วยออกจากต้นแล้ว อัตราการคายน้ำอาจเปลี่ยนแปลงได้ตามอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ ผลกล้วยดิบหลังจากตัดใหม่ๆ อัตราการคายน้ำจะลดลงเล็กน้อย และจะค่อยๆ เพิ่มสูงขึ้นหลังจากนั้น และจะสูงที่สุดเมื่อผลกล้วยเริ่มสุก หลังจากนั้นอัตราการคายน้ำจะลดลง ปริมาณความชื้นในเนื้อของผลลดลงเนื่องจากการคายน้ำ การเกิด starch hydrolysis การเกิดออสโมซิส (ซึ่งทำให้น้ำเคลื่อนที่ไปยังเปลือกและลำต้น) และการหายใจ (เกศิณี ระมิงค์วงศ์, 2528)

คาร์โบไฮเดรต (carbohydrates) การเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลเป็นการเปลี่ยนแปลงหลักในเนื้อผลไม้ทั่วไประหว่างการสุก และสีของเปลือกจะสัมพันธ์กับสัดส่วนของแป้งและน้ำตาล (Stover และ Simmonds, 1987) เมื่อกล้วยสุกเต็มที่ปริมาณแป้งลดลงจากร้อยละ 20-23 เหลือร้อยละ 1-2 ขณะเดียวกันปริมาณน้ำตาลเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 1 เป็นร้อยละ 20 ซึ่งในระหว่างระยะการสุกสัดส่วนของน้ำตาลซูโครส:กลูโคส:ฟรุคโตส เป็น 65:20:15 โดยประมาณ และมีน้ำตาลเฮกโซสเพิ่มขึ้นในเวลาต่อมา (Forsyth, 1980) การเปลี่ยนแป้งไปเป็นน้ำตาลนี้จะใช้เวลามากที่สุด 2 วันหลังจาก ethylene มีปริมาณมากที่สุด (ethylene จะกระตุ้นหรือเร่งให้กล้วยสุกหรือเกิด ripening ได้เนื่องจากกล้วยเป็นผลไม้ชนิด climacteric) และมีการหายใจน้อยลง ทั้งนี้มีเอนไซม์หลายชนิดในการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล และปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดคงที่ระหว่างการสุก (Robinson, 1996)

โปรตีน (proteins) เนื้อกล้วยสดมีปริมาณโปรตีน ร้อยละ 1.1 ซึ่งมีกรดอะมิโนที่จำเป็น เช่น ไลซีน (lysine) 0.05 กรัมต่อ 100 กรัม เมื่อกล้วย Cavendish banana ดิบเปลี่ยนไปเป็นกล้วยสุกมาก จะมีกรดอะมิโนอิสระทั้งหมดเพิ่มขึ้นจาก 330-750 เป็น 2,700-3,500 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม กรดอะมิโนที่มีมากที่สุดในกล้วยที่สุกเต็มที่ ได้แก่ ฮิสติดีน (histidine) แอสพาราจีน (asparagine) และกลูตามีน (glutamine) (Robinson, 1996)

ไขมัน (fats) ในกล้วยมีปริมาณไขมันค่อนข้างคงที่ในระหว่างการสุก เปลือกกล้วยมีไขมันประมาณร้อยละ 1 ของน้ำหนักสด และเนื้อกล้วยมีไขมัน ร้อยละ 0.2 ของน้ำหนักสด ส่วนประกอบของไขมันส่วนใหญ่เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัว (polyunsaturated fatty acids) โดยเฉพาะกรดลิโนเลนิก (linolenic acid) (Robinson, 1996) กรดไขมันที่อยู่ในเนื้อกล้วยสุกเป็นกรดไขมันอิ่มตัวร้อยละ 45 สำหรับการเปลี่ยนแปลงของไขมันในเนื้อกล้วยระหว่างการสุกนั้น พบว่ากรดลิโนเลอิก (linoleic acid) และกรดปาล์มิโตลีอิก (palmitoleic acid) ลดลง 3 เท่า ขณะที่กรดสเตียริก (stearic acid) เพิ่มขึ้น 2 เท่า (Goldstein และ Wick, 1969)

รงควัตถุ (pigments) การเปลี่ยนแปลงของรงควัตถุในระหว่างการสุก ทำให้สีเปลือกของกล้วยเปลี่ยนจากสีเขียวไปเป็นสีเหลือง ปริมาณคลอโรฟิลล์ (chlorophyll) ในเปลือกกล้วยลดลงจาก 50-100 ไปเป็น 0 ไมโครกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสด และปริมาณแคโรทีนอยด์ (carotenoilds) ในเปลือกกล้วยที่สุกเต็มที่เป็น 5-6 ไมโครกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสด ส่วนใหญ่เป็นแอลฟา-แคโรทีน (α-carotene) ร้อยละ 7 บีตา-แคโรทีน (β-carotene) ร้อยละ 14 และลูทีน (lutein) ร้อยละ 56 ส่วนปริมาณรงควัตถุในเนื้อกล้วยเป็น 0.6-1 ไมโครกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสด ประกอบด้วยแอลฟา-แคโรทีน ร้อยละ 31 บีตา-แคโรทีน ร้อยละ 28 และลูทีน ร้อยละ 33 (Stover และ Simmonds, 1987)

สารระเหยได้ (volatile compounds) กลิ่นของกล้วยสุกเกิดจากการผสมผสานกันของสารให้กลิ่นที่ระเหยได้ชนิดต่างๆ ในระหว่างระยะเวลาการสุก ได้แก่ เอสเทอร์ อะซิเตท แอลกอฮอล์ และสารประกอบคาร์บอนิล ระดับของกลิ่นจะเพิ่มขึ้นจนกระทั่งเปลือกกล้วยเริ่มแตกออก โดยในกล้วยสุกมีสารให้กลิ่นมากกว่า 300 ชนิด (Robinson, 1996)

สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) ซึ่งรวมถึงสารกลุ่มแทนนิน ทำให้กล้วยมีความฝาดก่อนการสุก และทำให้เกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลได้ สารเหล่านี้ส่วนใหญ่อยู่ที่เปลือกและเนื้อ ความฝาดจะลดลงระหว่างการสุกเนื่องจากปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรเซชันของสารประกอบฟีนอลิก เช่น dopamine ซึ่งมีประมาณร้อยละ 80 ของแทนนินในเนื้อกล้วย แต่ปริมาณจะลดลงระหว่างการสุก การเกิดสีน้ำตาลเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก (เช่น dopamine) และเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส (polyphenol oxidase) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของพอลิฟีนอล (polyphenols) แล้วให้สีน้ำตาล เปลือกกล้วยมีพอลิฟีนอลมากกว่าเนื้อกล้วย 2 เท่า ขณะเก็บเกี่ยวจะเกิดสีน้ำตาลมากจากสารประกอบฟีนอลิกในเปลือกโดยเฉพาะที่อุณหภูมิต่ำกว่า 13 องศาเซลเซียส ซึ่งการเปลี่ยนแปลงสีของเปลือกนี้ไม่เป็นที่ยอมรับทางการค้า (Robinson, 1996)

เพกติน (pectin) เนื้อกล้วยสุกมีเพกติน ร้อยละ 0.5-0.7 เมื่อกล้วยสุกเพกตินที่ละลายน้ำจะเพิ่มขึ้น และเพกตินที่ไม่ละลายน้ำจะลดลง ซึ่งเป็นผลทำให้เนื้อนิ่ม โดยมีเพกติน เมทิลเอสเทอร์เรส (pectin methyesterase) เป็นตัวเร่งการเปลี่ยนแปลงระหว่างการสุก (Robinson, 1996)

สารประกอบอื่นๆ กรดอินทรีย์ส่วนใหญ่ที่อยู่ในกล้วยเป็นกรดมาลิก กรดซิตริก และกรดออกซาลิก ระหว่างการสุกเนื้อกล้วยจะมีค่า pH ลดลง และปริมาณกรดจะเพิ่มขึ้น และเมื่อสุกเต็มที่จะมีค่า pH ประมาณ 4.0 ในเนื้อกล้วยจะมีเส้นใยอาหาร ร้อยละ 0.84 ส่วนใหญ่จะประกอบด้วยพอลิแซ็คคาไรด์ที่ไม่สามารถละลายน้ำได้ เนื้อกล้วยจะมีโพแทสเซียมปริมาณมาก (460 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม) และมีแคลเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม และกำมะถัน

ในปริมาณน้อยกว่า (7-36 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม) และเป็นแหล่งที่ดีของมีวิตามินเอ วิตามินซี และวิตามินบี 6 (Robinson, 1996)

2.3.2 ประโยชน์ของกล้วย (Benefits of banana)

คุณค่าทางโภชนาการ (Nutritional value) กล้วยเป็นผลไม้ที่เป็นที่นิยมบริโภคมาก เนื่องจากมีกลิ่นรส ลักษณะเนื้อสัมผัสที่น่าพึงพอใจ และสะดวกในการปอกเปลือกรับประทาน ทั้งยังเป็นแหล่งของพลังงานและสารอาหารต่างๆ (Robinson, 1996) ดังแสดงในตารางที่ 2.3 เมื่อเปรียบเทียบกับผลไม้ชนิดอื่นในเขตร้อนชื้นและกึ่งร้อนกึ่งอบอุ่น พบว่ากล้วยจะให้คาร์โบไฮเดรตและเหล็กปริมาณสูงรองลงมาจากอินทผลัม ให้พลังงาน ปริมาณโปรตีนและฟอสฟอรัสรองลงมาจากอาโวกาโดและอินทผลัม แต่มีปริมาณไขมันน้อยเทียบเท่ากับตระกูลส้มและสับปะรด เป็นแหล่งของวิตามินและเกลือแร่ (Davey และคณะ, 2009) นอกจากนี้ยังมีกรดอะมิโนที่จำเป็นที่สำคัญ เช่น ไทโรซิน และทริปโตเฟน (0.009 -0.024 กรัมต่อ 100 กรัม) ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับร่างกายในการสร้าง dopamine และ serotonin สำหรับการส่งผ่านคลื่นสมอง (neurotransmission) (Wong, 2007) นอกจากนี้ผลกล้วยบางชนิดที่นิยมปลูกและบริโภคกันมากในประเทศไทย ได้แก่ กล้วยหอมทอง กล้วยน้ำว้า กล้วยไข่ กล้วยเล็บมือนาง และกล้วยหักมุก ยังมีคุณค่าทางอาหารที่แตกต่างกัน ซึ่งได้รวบรวมและแสดงไว้ดังตารางที่ 2.4

คุณค่าทางการบำบัดรักษาโรค (Therapeutic value) กล้วยประเภท dessert banana เป็นแหล่งอาหารที่ดีสำหรับทารก เนื่องจากย่อยง่าย ให้วิตามิน และเกลือแร่ เป็นแหล่งอาหารที่ดีสำหรับคนชรา เนื่องจากบริโภคได้ปริมาณมากโดยไม่ทำให้อ้วนหรือรบกวนระบบทางเดินอาหาร มีปริมาณโซเดียมต่ำและไขมันน้อยเหมาะสำหรับผู้ป่วยที่มีความดันสูงหรือเป็นโรคหัวใจ และไม่มีสารที่จะช่วยเพิ่มกรดยูริก (uric acid) จึงเหมาะสำหรับผู้ป่วยที่เป็นโรคข้ออักเสบ ใช้เป็นอาหารสำหรับผู้ป่วยโรคไตเนื่องจากมีปริมาณโซเดียมและโปรตีนต่ำ มีการแนะนำให้ผู้ป่วยโรคแผลในลำไส้รับประทานกล้วยที่สุกเต็มที่ผสมกับนม และให้ผู้ป่วยกระเพาะอักเสบรับประทานหลังจากคลื่นไส้อาเจียนด้วย และเนื่องจากกล้วยมีไขมันต่ำ จึงเหมาะเป็นอาหารของผู้ป่วยโรคอ้วน (Robinson, 1996) กล้วยมีคุณค่าทางการบำบัดรักษาอาการผิดปกติต่างๆ เช่น ท้องเสีย (Emery

ตารางที่ 2.3 ค่าเฉลี่ยของพลังงานและคุณค่าทางโภชนาการของกล้วยและผลไม้ชนิดอื่นในเขตร้อนชื้นและเขตกึ่งร้อนกึ่งอบอุ่น

ส่วนที่กินได้	กรัมต่อเนื้อ 100 กรัม				มิลลิกรัมต่อเนื้อ 100 กรัม											
	Kcal	โปรตีน	ไขมัน	คาร์โบไฮเดรต	Ca	P	K	Mg	S	Fe	วิตามินเอ	วิตามินบี1	วิตามินบี2	วิตามินบี5	วิตามินบี6	วิตามินซี
กล้วย	88	1.1	0.2	22	7	27	460	36	34	0.9	0.03	0.04	0.07	0.26	0.51	10
ส้ม	50	1.0	0.2	12	42	20	-	-	-	0.5	0.06	0.07	-	-	-	53
มะม่วง	62	0.4	0.4	16	9	12	-	-	-	0.5	0.30	0.03	-	-	-	30
อาโวกาโด	164	1.5	15	5	10	40	-	-	-	0.8	0.09	0.07	-	-	-	15
มะละกอ	24	0.2	0.5	6	25	14	-	-	-	0.5	0.30	0.03	-	-	-	50
ฝรั่ง	50	1.0	0.3	10	15	24	-	-	-	0.5	0.10	0.05	-	-	-	300
สับปะรด	60	0.4	0.2	15	20	9	-	-	-	0.6	0.03	0.09	-	-	-	50
อินทผลัม (สด)	138	1.8	1.0	36	35	350	-	-	-	6.0	0.01	0.07	-	-	-	30

ที่มา : Robinson (1996)

- หมายถึง ไม่มีข้อมูล

ตารางที่ 2.4 คุณค่าทางอาหารของผลกล้วยชนิดต่างๆ

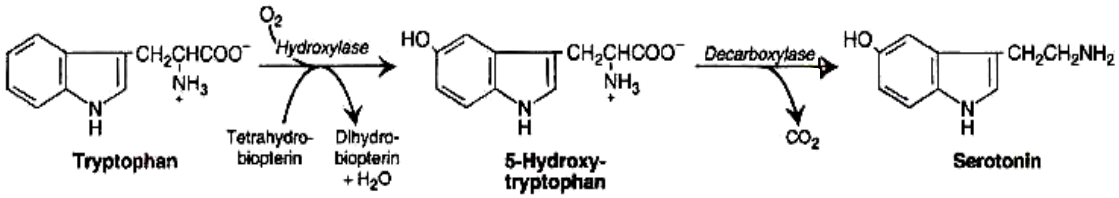
องค์ประกอบทางเคมี	กล้วยหอมทอง	กล้วยน้ำว้า	กล้วยไข่	กล้วยเล็บมือนาง	กล้วยหักมุก
ความชื้น (กรัม)	77.19[a]	67.02[a]	70.66[a]	68.60[c]	72.03[a]
ไขมัน (กรัม)	0.73[c]	0.72[a]	0.84[c]	0.30[c]	0.83[a]
โปรตีน (กรัม)	1.82[c]	0.84[a]	1.45[c]	1.60[c]	1.18[a]
คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	18.42[c]	28.02[b]	18.41[c]	28.50[c]	27.53[b]
เถ้า (กรัม)	0.65[c]	0.95[b]	0.61[c]	0.90[c]	0.93[b]
เส้นใยอาหาร (กรัม)	-	0.57[b]	-	0.1[c]	0.67[b]
แคลเซียม (มิลลิกรัม)	14.27[c]	11.74[b]	13.54[c]	5.20[c]	18.11[b]
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม)	21.09[c]	25.04[a]	24.71[c]	27.80[c]	28.79[a]
เหล็ก (มิลลิกรัม)	8.71[c]	11.39[c]	6.71[c]	0.50[c]	8.27[c]
วิตามินเอ (IU)	-	281.4[b]	-	264[c]	278.5[b]
ไทอะมีน (มิลลิกรัม)	-	-	-	0.06[c]	-
ไรโบเฟลวิน (มิลลิกรัม)	-	-	-	0.08[c]	-
วิตามินซี (มิลลิกรัม)	11.06[c]	15.45[b]	16.91[c]	-	13.24[b]
วิตามินอี (มิลลิกรัม)	0.14[d]	0.06[d]	0.52[d]	-	-
บีตา-แคโรทีน (ไมโครกรัม)	25.2[d]	32.8[d]	58.8[d]	-	-

ที่มา: ชูจิตร สมบัติพานิช[a] (2503); วิไลลักษณ์ รัตนอาภา และคณะ[b] (2532); เบญจมาศ ศิลาย้อย[c] (2545); Charoensiri และคณะ[d] (2009)

- หมายถึง ไม่มีข้อมูล

และคณะ, 1997) ช่วยลดคอเลสเตอรอลและกลูโคสในเลือด (Horigome, Sakaguchi และ Kishimoto, 1992) นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ในด้านการต่อต้านเชื้อรา (antifungal activity) โดยสารสกัดจากผลกล้วยและเปลือกจะให้ฤทธิ์ต่อต้านเชื้อ *Fusarium oxysporum* และ *F. lycopersici* ฤทธิ์ต่อต้านเชื้อแบคทีเรีย (antibacterial activity) ยับยั้งการเจริญของ *Esherichia coli, Staphylococcus aureus, Bacillus subtitis* (นฤมล ศรีวิริยะเลิศกุล, 2541) นอกจากนี้ในเปลือกและเนื้อกล้วยทุกชนิดพบ norepinephrine และ serotonin ซึ่งจะช่วยในการกระตุ้นลำไส้เล็กให้บีบตัวมากขึ้น และช่วยในการยับยั้งการหลั่งของน้ำย่อยกระเพาะอาหารได้ (นฤมล ศรีวิริยะเลิศกุล, 2541) ช่วยแก้ปัญหาคนที่มีภาวะทางอารมณ์ซึมเศร้า (วินัย ดะห์ลัน และคณะ, 2545; สมฤดี สายหยุดทอง, 2549) กล้วยสุกสายพันธุ์ *Musa x paradisiaca* มี norepinephrine 0.83 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัมของสารสกัด (Lyte, 1997) และเนื้อกล้วยสีเหลืองสายพันธุ์ *Musa acuminate* มี norepinephrine น้อยกว่า 3.5 ไมโครกรัมต่อกรัม และ dopamine 42 ไมโครกรัมต่อกรัม ซึ่งเป็นสารสื่อประสาท (neurotransmitters) ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม (Kulma และ Szopa, 2007)

Serotonin ทำหน้าที่ควบคุมความอยากอาหาร การนอน ความจำ การเรียนรู้ การปรับอารมณ์และพฤติกรรม การทำงานของหัวใจ และการหดตัวของกล้ามเนื้อ ส่วน dopamine ทำหน้าที่เกี่ยวกับการรับรู้ แก้ปัญหา ควบคุมอารมณ์ เรียบเรียงความนึกคิด ความเข้าใจ และการทำหน้าที่ของสมองในการควบคุมการเคลื่อนไหว การเต้นของหัวใจ และความดันโลหิต ดังนั้นกล้วยจึงเป็น “happy food” เนื่องจากมีกรดอะมิโนที่จำเป็น คือ ทริปโตเฟน และไทโรซีนที่จะเปลี่ยนไปเป็น serotonin และ dopamine โดยปฏิกิริยา hydroxylation และ decarboxylation ตามลำดับ (Wong, 2007) การสังเคราะห์ serotonin มี 2 ขั้นตอนดังแสดงในภาพที่ 2.3 นอกจากนี้ยังมี gallocatechin ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติ (พบในเปลือกและเนื้อกล้วยปริมาณ 158 และ 29.6 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ) ซึ่งจัดว่ากล้วยเป็นแหล่งที่ดีของสารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติในอาหาร สามารถช่วยป้องกันการเกิดโรคมะเร็งและโรคหัวใจ (Someya, Yoshiki และ Okubo, 2002)



ภาพที่ 2.3 การสังเคราะห์ serotonin

ที่มา: Champe และ Harvey (1994)

2.3.3 การแปรรูปกล้วย

ในการผลิตกล้วยเพื่อจำหน่ายเป็นสินค้าส่งออกนั้น จะต้องมีการคัดเลือกผลผลิตที่มีคุณภาพตามมาตรฐานที่กำหนด ผลผลิตที่มีผิว รูปร่าง และขนาดที่ไม่ได้มาตรฐานหรือมีตำหนิจะถูกคัดทิ้งแต่คุณภาพของเนื้อยังดีอยู่ สามารถนำมาแปรรูปทำให้เก็บได้นานได้ การแปรรูปที่สำคัญและทำกันทั่วไปคือ การทำเป็นอาหารเหลว หรือเรียกว่า “purée” ซึ่งมีทั้งบรรจุกระป๋องและแช่เยือกแข็ง หรืออาจทำกล้วยตาก กล้วยฉาบ และกล้วยกวน เป็นต้น ในบางประเทศทำเป็น flakes คล้าย corn flakes และใช้รับประทานเป็นอาหารเช้า นอกจากนี้ยังใช้เป็นวัตถุดิบในการทำแป้ง (banana starch) น้ำส้มสายชู และไวน์กล้วย ซึ่งทำกันมากในแถบแอฟริกา และได้มีการศึกษาชนิดของกล้วยที่เหมาะในการทำไวน์โดยเฉพาะ (เบญจมาศ ศิลาย้อย, 2545)

การผลิต purée กล้วย สามารถใช้ในอุตสาหกรรมนมและขนมหวาน ไอศกรีม โยเกิร์ต ขนมปังกล้วย ขนมเค้ก ทาร์ต (tarts) มัฟฟิน (muffin) โดนัท พายครีม เครื่องดื่มผสมน้ำผลไม้ เนกตาร์ (nectars) เครื่องดื่มของเด็ก อาหารเด็กทารก อาหารผลไม้สำหรับเด็ก และซอส เป็นต้น (Stover และ Simmonds, 1987) หรือใช้เป็นส่วนผสมในการผลิตอาหารเด็ก ซึ่งจะใช้กล้วยที่สุกเต็มที่ (เปลือกมีสีเหลือง ซึ่งแป้งส่วนใหญ่จะถูกเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาล) การผลิต purée สามารถแบ่งได้ตามกรรมวิธีการผลิตและการเก็บรักษา เป็น 3 แบบ ได้แก่ การปรับความเป็นกรด

แล้วฆ่าเชื้อในกระป๋องแบบปกติ (acidification followed by normal canning) การผลิตโดยวิธีการบรรจุกระป๋องแบบปลอดเชื้อ (aseptic canning) และการแช่เยือกแข็งอย่างรวดเร็ว (quick freezing)

ก) การผลิตโดยการปรับความเป็นกรดแล้วฆ่าเชื้อในกระป๋องแบบปกติ (Acidification followed by normal canning) ซึ่งเป็นวิธีการผลิตแบบดั้งเดิม Guyer และ Erickson (1954) ได้รายงานวิธีการทำ purée ที่มีการปรับค่าความเป็นกรดไว้ว่า ขั้นแรกนำกล้วยมาปอกเปลือกโดยกำจัดส่วน peel rag (vascular bundle) ที่ยึดติดแบบหลวมๆ กับผิวกล้วย (เมื่อปอกเปลือกออกแล้วจะยังเหลืออยู่บนผลกล้วย) และส่วนที่เสียออก เนื่องจากจะเป็นสาเหตุทำให้ purée มีสีที่ผิดปกติ นำผลที่ปอกเปลือกแล้วมาลวกด้วยไอน้ำหรือน้ำเดือด จนกระทั่งอุณหภูมิตรงกลางผลมีสูงถึง 88 องศาเซลเซียส เนื่องจากอุณหภูมินี้จะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ในกล้วย ซึ่งโดยทั่วไปผลขนาดกลางจะใช้เวลาประมาณ 8 นาที ต่อจากนั้นจะนำไปบดแล้วอาจจะเติมกรดซิตริกและน้ำตาลในระหว่างหรือหลังบด ปริมาณที่เติมขึ้นอยู่กับผลการวิเคราะห์วัตถุดิบที่นำมาใช้ ส่วนค่า pH จะต้องปรับให้มีค่าต่ำลง คือ ประมาณ 4.1-4.3 และหากเติมน้ำตาลจะควบคุมปริมาณที่ทำให้ความเข้มข้นของ purée สุดท้ายอยู่ระหว่างร้อยละ 30 และ 35 ซึ่งจะช่วยกลบกลิ่นรสของกรดซิตริก หลังจากนั้นนำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 93 องศาเซลเซียส ประมาณ 1 นาที และบรรจุในกระป๋องขณะร้อน ปิดผนึก จากนั้นนำมาทำให้เย็นอย่างรวดเร็ว

ข) การผลิตโดยวิธีการบรรจุกระป๋องแบบปลอดเชื้อ (aseptic canning) ในระดับอุตสาหกรรมมีวิธีการที่เหมือนกัน คือ ตัดส่วนปลายทั้งสองด้านของกล้วยวางบนสายพานลำเลียงผ่านสเปรย์ล้างน้ำและเข้าเครื่องปอกเปลือก หรืออาจปอกเปลือกด้วยมือ แล้วจะขนส่งไปยังถังเก็บและผ่านเครื่องปั่นให้เป็นเนื้อเดียวกันแล้วเข้าเครื่องกรอง 2 ครั้ง ดูดอากาศออกด้วยเครื่องดูดอากาศ เพื่อลดปริมาณออกซิเจนในเนื้อกล้วยซึ่งจะช่วยลดการเปลี่ยนแปลงของสี แล้วจะเก็บ purée ที่ได้ในถังเก็บภายใต้สุญญากาศ ระยะเวลาที่ purée อยู่ในถังเก็บควรจะสั้น ต่อจากนั้นจะปั๊ม purée ผ่าน scrape heat exchanger พาสเจอไรซ์แบบใช้ระยะเวลาสั้นให้มีค่า F_0 เท่ากับ 4 และทำให้เย็นทันที หลังจากนั้นบรรจุ purée ที่ได้ในกระป๋องที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วย

ไอน้ำมาแล้ว ปิดผนึกในสภาวะปลอดเชื้อ ปัญหาส่วนใหญ่คือเกิดการเปลี่ยนแปลงสีของ purée ซึ่งอาจมีสีน้ำตาลถ้าอุณหภูมิในการให้ความร้อนสูงมากเกินไป หรือใช้เวลาให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงนานเกินไป การทำ purée บรรจุกระป๋องแบบปลอดเชื้อนี้ไม่นิยมใส่สารกันบูดและน้ำตาล สามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์สุดท้ายไว้ที่อุณหภูมิห้องได้เป็นเวลานานกว่า 1 ปี โดยที่ยังคงรักษาสี กลิ่นรส และลักษณะอื่นๆ ของกล้วยสดไว้ได้ (Crowther, 1979; Thompson, 1995) วิธีนี้ใช้กันมากเพราะจะทำให้กล้วยที่บรรจุมีความสดและมีกลิ่นเหมือนผลกล้วยสด นิยมทำกันที่ประเทศฮอนดูรัส ปานามา และสาธารณรัฐโดมินิกัน (เบญจมาศ ศิลาย้อย, 2545)

ค) การผลิตโดยวิธีการแช่เยือกแข็งอย่างรวดเร็ว (Quick freezing) มีขั้นตอนขั้นแรกๆ เหมือนกับการผลิตแบบปลอดเชื้อ หลังจากผ่าน heat exchanger แล้วบรรจุลงในถุง polyethylene ที่ปลอดเชื้อและใส่ลงในกล่องลูกฟูกสองชั้นหรือ fibre-board และผ่านเข้า funnel freezer ที่อุณหภูมิ -37 องศาเซลเซียส นอกจากนั้น Brekke และคณะ (1969) ได้รายงานกรรมวิธีการผลิต purée กล้วยแช่แข็งเพื่อใช้ในการผลิตเบเกอรี โดยการนำกล้วยมาปอกเปลือก และแช่ในสารละลายโซเดียมไบซัลไฟต์ ความเข้มข้นร้อยละ 1.25 เป็นเวลา 3 นาที จากนั้นนำไปลดขนาดแล้วให้ความร้อนอย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส ใน plate heat exchanger และคงไว้ที่อุณหภูมินี้เป็นเวลา 2 นาที และทำให้เย็นลงถึง 30 องศาเซลเซียสอย่างรวดเร็ว นำ purée ที่ได้นี้ไปเข้าเครื่อง finisher ที่สามารถลดขนาดให้เหลือเพียง 0.033 นิ้ว ซึ่งเครื่องนี้สามารถแยกเมล็ดและวัสดุเส้นใยอื่นๆ ที่ไม่ต้องการออกได้ จากนั้นเก็บไว้ในถังพักเพื่อเติมกรดซิตริกในอัตรา 100 กรัมต่อ purée 100 ปอนด์ (หรือ 45 กิโลกรัม) และโพแทสเซียมซอร์เบตที่ความเข้มข้น 200 ppm เพื่อยับยั้งการเสื่อมเสียจากยีสต์ และรา บรรจุ purée ในภาชนะที่ปลอดเชื้อ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส ซึ่งวิธีนี้นิยมทำกันที่ประเทศเม็กซิโก (เบญจมาศ ศิลาย้อย, 2545)

คุณภาพของ purée กล้วย เบญจมาศ ศิลาย้อย (2545) อธิบายรายละเอียดเกี่ยวกับกล้วยที่ใช้เป็นวัตถุดิบ เครื่องมือที่ใช้ผลิต และคุณภาพของ purée กล้วยของบริษัท Chiquita ประเทศสหรัฐอเมริกาไว้ดังนี้

ก) รูปร่างและลักษณะทั่วๆ ไปของผล จะต้องเป็นผลที่มีสภาพปกติ และมีความสุกสม่ำเสมอในระยะที่ 7 เป็นกล้วยที่ไม่มีโรคจากเชื้อรา และไม่เน่าเสีย ไม่มีเปลือกฉีกหรือแตก เมื่อบดผ่านเครื่องแล้วต้องกรองผ่านตะแกรงที่มีรูขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.06 นิ้ว ตะแกรงหรือภาชนะที่ใช้ต้องไม่ใช่เหล็กหรือทองแดง ไม่มีการเติมกลิ่น เนื้อของผลกล้วยเหลวต้องละเอียดนุ่มน่ารับประทาน สีควรเป็นสีครีมปนขาว ไม่ควรมีจุดดำของไส้กล้วย เนื้อจากเปลือก หรือจากส่วนอื่นปะปน

ข) คุณภาพทางเคมี จะต้องมีปริมาณของแข็งทั้งหมดไม่ต่ำกว่าร้อยละ 23 น้ำตาลอยู่ในช่วงร้อยละ 17-22 มี pH 4.7-5.2 ไม่ผสมสารกันบูด สารให้กลิ่น น้ำตาล กรด หรือสี อาจมีแป้งไม่เกินร้อยละ 2.5 และไม่มีสารตกค้างตามที่กระทรวงสาธารณสุขกำหนด

ค) มาตรฐานทางด้านจุลินทรีย์ หลังจากบรรจุกระป๋องและให้ความร้อน นับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ทนความร้อน (total thermophiles) ได้ประมาณ 125-150 สปอร์ต่อ 10 กรัม จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดรสเปรี้ยว (flat sour) ประมาณ 50-75 สปอร์ต่อ 10 กรัม เป็นต้น

Stover และ Simmonds (1987) ได้รายงานองค์ประกอบทางเคมีของ purée กล้วยปลอดเชื้อของบริษัท Chiquita ไว้ดังนี้ ปริมาณของแข็งทั้งหมด ร้อยละ 24.4 กลูโคส ร้อยละ 4.5 ฟรุคโตส ร้อยละ 3.6 ซูโครส ร้อยละ 12.2 คาร์โบไฮเดรตอื่นๆ ร้อยละ 1.2 เส้นใยอาหารหยาบ ร้อยละ 0.06 โปรตีน (N x 6.25) ร้อยละ 1.2 ไขมัน (สกัดด้วยอีเทอร์) ร้อยละ 0.2 เถ้า ร้อยละ 0.8 ความชื้น ร้อยละ 75.6 และมีค่า pH 5.0-5.3

2.3.4 **งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับกล้วย** (Research related to banana)

Vettorazzi (1974) ได้ศึกษาหาปริมาณ serotonin (5-hydroxytryptamine, 5-HT) ในกล้วยและผลิตภัณฑ์ที่มีกล้วยเป็นส่วนประกอบ พบว่าในเนื้อกล้วยจะมีปริมาณ 5-HT ลดลง ในขณะที่เปลือกกล้วยมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อกล้วยสุก และอาหารเด็กทารก 14 ชนิดที่มีกล้วยเป็นส่วนประกอบ เช่น ธัญพืชผสมกล้วย พุดดิ้งกล้วย และเครื่องดื่มน้ำผลไม้ส้ม-แอปเปิ้ล-กล้วย เป็นต้น มี 5-HT โดยเฉลี่ย 24.8 ไมโครกรัมต่อกรัม (6.4-54.1 ไมโครกรัมต่อกรัม) และอาหารอื่นๆ

ที่มีกล้วยเป็นส่วนประกอบอีก 9 ชนิด เช่น พายกล้วย เค้กกล้วย และแซนวิชครีมกล้วย เป็นต้น โดยมี 5-HT โดยเฉลี่ย 25.5 ไมโครกรัมต่อกรัม (10.6-47.3 ไมโครกรัมต่อกรัม)

Helander และคณะ (1992) ได้รายงานว่าในเนื้อกล้วยดิบ (เปลือกสีเขียว) กล้วยสุก (เปลือกสีเหลือง) และกล้วยสุกมาก (เปลือกสีน้ำตาล) มีปริมาณทริปโตเฟน 18, 29 และ 24.3 ไมโครกรัมต่อกรัม ตามลำดับ โดยเนื้อกล้วยสุกที่มีสีเหลืองจำนวน 5 ตัวอย่าง มีปริมาณทริปโตเฟนโดยเฉลี่ยเท่ากับ 16.7 ไมโครกรัมต่อกรัม (8.0-27.5 ไมโครกรัมต่อกรัม)

Lyte (1997) ได้รายงานว่าเมื่อความสุกเพิ่มขึ้น สารสกัดจากเปลือกและเนื้อกล้วยทำให้จำนวนของแบคทีเรียทั้งก่อโรคและไม่ก่อโรคเพิ่มขึ้น โดยสารสกัดจากเปลือกกล้วยเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *Escherichia coli* O157:H7*, Shigella flexneri, Enterobacter cloacae* และ *Salmonella typhimurium* รวมทั้ง *E. coli* ที่ไม่ก่อโรค 2 สายพันธุ์ได้มากกว่าสารสกัดจากเนื้อกล้วย และการเติม norepinephrine และ dopamine จะช่วยเพิ่มจำนวนแบคทีเรียแกรมลบ แต่การเติม serotonin ไม่ให้ผลดังกล่าว ซึ่งแสดงว่า neurochemicals ภายในอาหารมีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคและแบคทีเรียไม่ก่อโรค

Prabha และ Bhagyalakshmi (1998) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของคาร์โบไฮเดรต เอนไซม์ที่ย่อยคาร์โบไฮเดรต โครงสร้างเซลล์ และเนื้อสัมผัสของกล้วยระหว่างการสุก พบว่าแป้ง เพกติน กลูโคส แมนโนส glucan และ xylan มีปริมาณลดลงเมื่อกล้วยสุกมากขึ้น เอนไซม์ที่ย่อยคาร์โบไฮเดรต เช่น polygalacturonase, pectin methyl esterase, xylanase, laminarinase, α-mannosidase, β-galactosidase, amylase, cellulase และ hemicellulase จะเพิ่มขึ้นเมื่อกล้วยสุก ในขณะที่ endo-β-mannanase และ galactanase มีปริมาณต่ำลง ทั้งนี้แป้งมากกว่าร้อยละ 80 จะถูกเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส และซูโครส ปริมาณน้ำตาลที่ละลายได้ทั้งหมดเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 1.8 เป็น 19 ผนังเซลล์จะบางลง แต่ช่องว่างระหว่างเซลล์จะเพิ่มขึ้น เซลล์จะอยู่กันแบบหลวมๆ และไม่ปรากฏเม็ดแป้ง (starch granules) เด่นชัด และพบว่า

การที่กล้วยนิ่มเกิดจากเอนไซม์เพกติเนส (pectinase) มากกว่าเซลลูเลส (cellulase) ส่วนเอนไซม์ amylase, xylanase และ laminarinase อาจทำให้โครงสร้างของเซลล์หลวม

L'homme และคณะ (2001) ได้หาปริมาณ fructans ในแอปเปิ้ล แพร์ พลัม และกล้วยแบบสด และแบบ stewed โดยการวิเคราะห์ด้วย high performance anion-exchange chromatography coupled with pulsed amperometric detector พบว่ากล้วยและพลัมมีปริมาณ fructans มากที่สุด (ประมาณ 6000 ไมโครกรัมต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง) และเมื่อกล้วยสุกจะมีปริมาณ 1-kestose (GF_2) เพิ่มขึ้นจาก 4,323 เป็น 6,020 ไมโครกรัมต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ร่างกายไม่สามารถย่อยได้ จึงมีประโยชน์ทางด้านโภชนาการ

Adão และ Glória (2005) ได้เก็บเกี่ยวกล้วยจากต้นในขณะที่มีสีเขียว 3 ใน 4 ส่วน บรรจุในถุงพอลิเอทิลีน (polyethylene) และเก็บเป็นเวลา 35 วัน ที่อุณหภูมิ 16 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อกล้วยสุกปริมาณแป้งจะลดลง และในวันที่ 7 ปริมาณน้ำตาลซูโครสจะมีมากกว่ากลูโคสและฟรุคโตส ต่อมาปริมาณฟรุคโตสและกลูโคสจะเพิ่มขึ้นในขณะที่ปริมาณซูโครสยังคงมีปริมาณคงที่ และจะลดลงหลังวันที่ 14 ในขณะที่ปริมาณฟรุคโตสจะมากกว่ากลูโคสตลอดเวลา 35 วัน นอกจากนี้ในกล้วยยังมี bioactive amines ได้แก่ putrescine, spermidine และ serotonin ซึ่งมีปริมาณ serotonin มากที่สุด และจะลดลงหลังจากวันที่ 14 ปริมาณ putrescine ค่อนข้างคงที่ และลดลงหลังจากวันที่ 21 ส่วน spermidine มีปริมาณค่อนข้างคงที่

2.4 **พรีไบโอติก** (Prebiotic)

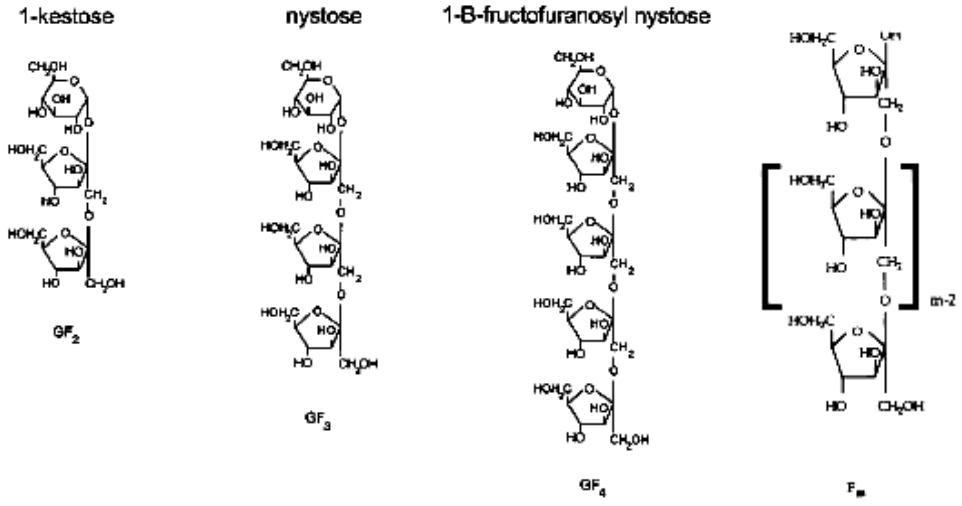
พรีไบโอติก หมายถึง องค์ประกอบของอาหารที่ร่างกายไม่สามารถย่อยหรือดูดซึมได้ หรืออาจย่อยหรือดูดซึมได้น้อย หรืออาจย่อยหรือดูดซึมได้เฉพาะบางส่วนในลำไส้ส่วนบน แต่มีประโยชน์ต่อร่างกายโดยกระตุ้นการเจริญและกิจกรรมของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค ช่วยให้สุขภาพร่างกายดีขึ้น (Gibson และ Roberfroid, 1995; Chow, 2002; Gibson, 2004; Manning และ Gibson, 2004) สามารถทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ต่างๆ ในร่างกายและผ่านไปสู่ลำไส้ใหญ่ได้ (Asp, 1996) ส่วนประกอบบางส่วนของพรีไบโอติกอาจย่อย

สลายหรือไม่ย่อยสลายขึ้นอยู่กับร่างกายสิ่งมีชีวิต แต่พรีไบโอติกจะถูกหมักโดยแบคทีเรียที่ใช้น้ำตาลในการเจริญ เช่น *Bifidobacterium* spp. เพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงานได้ ซึ่งถือว่าเป็น bifidogenic factor (Dubey และ Mistry, 1996; Roberfroid, 1999)

Dietary carbohydrates หรือ non-digestible oligosaccharides (NDOs) เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ทราบกันว่าร่างกายมนุษย์ไม่สามารถย่อยสลายได้ (Asp, 1996) ทั้งนี้มีการอ้างว่า NDOs เป็น dietary fiber และถือว่าเป็นพรีไบโอติก เนื่องจากสารเหล่านี้ช่วยส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อลำไส้ (Gibson และ Roberfroid, 1995; Mussatto และ Mancilha, 2007) การพิจารณาว่าองค์ประกอบของอาหารเป็นพรีไบโอติกหรือไม่ มีหลักเกณฑ์ดังนี้ คือ 1) ต้องไม่ถูกย่อยหรือดูดซึมภายในกระเพาะอาหารและลำไส้ส่วนบน 2) กระตุ้นการเจริญและกิจกรรมของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ 3) ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ในลำไส้โดยส่งเสริมให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพ และ 4) มีประโยชน์ต่อสุขภาพ (Gibson และ Roberfroid, 1995; Fooks, Fuller และ Gibson, 1999) non-digestible carbohydrates ได้แก่ resistant starch และ non-starch polysaccharides จัดว่าเป็น colonic foods และโดยทั่วไปไม่ถือว่าเป็นพรีไบโอติก เนื่องจากไม่ถูกย่อยโดยจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ (Gibson และ Roberfroid, 1995) สำหรับพรีไบโอติกทางการค้าที่ใช้กับมนุษย์และสัตว์ได้แก่ inulin, lactulose, lactitol, lactosucrose, fructo-oligosaccharides, soybean oligosaccharides, galacto-oligosaccharides, isomalto-oligosaccharides, gluco-oligosaccharides และ xylo-oligosaccharides (Crittenden และ Playne, 1996; Franck และ Coussement, 2001; Gibson, 2004; Manning และ Gibson, 2004) การผลิตพรีไบโอติกทำได้โดยการสกัดจากพืชผ่านการใช้เอนไซม์ในการช่วยย่อยเนื้อเยื่อหรือโดยการสังเคราะห์จากไดแซ็คคาไรด์ (Crittenden และ Playne, 1996; Sako, Matsumoto และ Tanaka, 1999; Franck และ Coussement, 2001, Manning และ Gibson, 2004) สำหรับพรีไบโอติกทางการค้าส่วนใหญ่ที่นิยมใช้กับผลิตภัณฑ์อาหาร ได้แก่ โอลิโกฟรุกโตส อินูลิน และพอลิเดกซ์โตรส ซึ่งจะกล่าวถึงรายละเอียดดังต่อไปนี้

2.4.1 **โอลิโกฟรุคโตส** (Oligofructose)

โอลิโกฟรุคโตส หรือฟรุคโตโอลิโกแซ็คคาไรด์ (Fructooligosaccharide, FOS) มีโครงสร้างทางเคมีที่ประกอบไปด้วยโมเลกุลกลูโคสจับกับโมเลกุลฟรุคโตส 2, 3 และ 4 โมเลกุล ดังโครงสร้างของ kestose, nystose และ fructofuranosyl-nystose ในภาพที่ 2.4 โดยมีโครงสร้างและใช้สัญลักษณ์เป็น GF_n หรืออาจมีโครงสร้างและใช้สัญลักษณ์เป็น F_m ซึ่งเป็นน้ำตาลฟรุคโตสเพียงชนิดเดียวและเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β-(2,1) (Coussement, 1999) มี degree of polymerization (DP) 2-8 (ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4) (Roberfroid, 2006, 2007) พบ FOS ตามธรรมชาติใน chicory, salsify, Jerusalem artichokes และ yacon (Voragen, 1998; Vernazza, Rabiu และ Gibson, 2006) และยังมีรายงานปริมาณ FOS ที่พบในพืชและอาหารบางชนิด รวมทั้งปริมาณการบริโภค FOS เฉลี่ยต่อวันดังแสดงในตารางที่ 2.5



ภาพที่ 2.4 โครงสร้างทางเคมีของโอลิโกฟรุคโตส

ที่มา: ดัดแปลงจาก Gibson และ Roberfroid (1995) และ Chow (2002)

ตารางที่ 2.5 ปริมาณฟรุคโตโอลิโกแซ็คคาไรด์ที่พบในพืชและอาหารบางชนิด

อาหาร	องค์ประกอบที่เป็นน้ำ (ร้อยละ)	ปริมาณที่ควรบริโภค (กรัม/กิโลกรัม/วัน) น้ำหนักแห้ง	น้ำหนักเปียก	น้ำหนักเปียก FOS (ร้อยละ)	การบริโภค FOS เฉลี่ยต่อวัน กรัม/กก./วัน	มก./วัน
กล้วย	76	0.224	0.933	0.30	2.80×10^{-3}	164.95
ข้าวบาร์เลย์	11	0.057	0.064	0.15	9.66×10^{-5}	5.69
กระเทียม	61	0.001	0.002	0.60	1.17×10^{-5}	0.69
น้ำผึ้ง	17	0.015	0.018	0.75	1.38×10^{-4}	8.11
หอมใหญ่	89	0.002	0.018	0.23	4.00×10^{-5}	2.36
ข้าวไรย์	11	0.004	0.005	0.50	2.26×10^{-5}	1.33
น้ำตาลทรายแดง	2	0.011	0.011	0.30	3.22×10^{-5}	1.90
มะเขือเทศ	93	0.492	7.029	0.15	1.05×10^{-2}	620.99

ที่มา: สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล (2547)

โอลิโกฟรุคโตสละลายน้ำได้ มีความหวาน 0.3-0.6 เท่าของซูโครส ความหวานขึ้นอยู่กับโครงสร้างทางเคมี ค่า DP และปริมาณโมโน- และไดแซ็คคาไรด์ (Crittenden และ Playne, 1996; Voragen, 1998) ทั้งนี้ความหวานจะลดลงเมื่อโอลิโกฟรุคโตสมีโครงสร้างที่เป็นสายยาวมากขึ้น (Roberfroid และ Slavin, 2000) เป็นสารที่ให้พลังงานต่ำ (1.5 กิโลแคลอรีต่อกรัม) เหมาะสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวาน (Mussatto และ Mancilha, 2007) ไม่สามารถย่อยด้วยเอนไซม์ปกติในร่างกายมนุษย์ได้เนื่องจากขาดเอนไซม์ที่จะย่อยพันธะบีตา แต่ถูกย่อยและใช้ในการเจริญหรือการหมักโดยแบคทีเรียในลำไส้โดยให้ก๊าซไฮโดรเจน คาร์บอนไดออกไซด์ มีเทน อะซีเตต โปรปิโอเนต บิวทีเรต และแลคเตตได้ และมีผลต่อเมแทบอลิซึมของไขมันและการสังเคราะห์สารอาหารต่างๆ (Delzenne และ Roberfroid, 1994) อัตราการหมักขึ้นอยู่กับ DP,

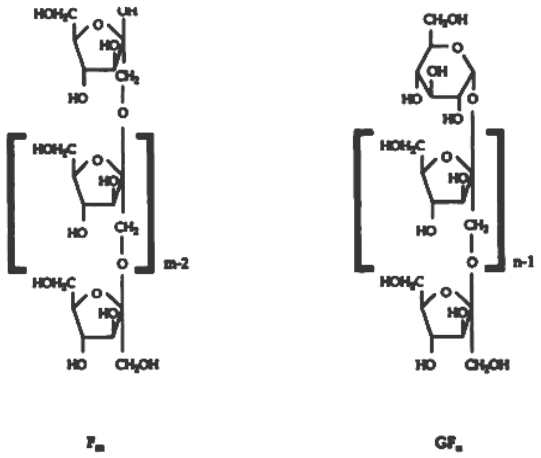
ชนิดของ glycosidic linkage, degree of branching ความสัมพันธ์ร่วมกันระหว่างแบคทีเรียที่ใช้ในการหมัก ความสัมพันธ์ระหว่างอาหารของแบคทีเรียและผลิตภัณฑ์ที่หมัก สภาวะการหมัก และปริมาณน้ำตาล (Voragen, 1998)

การผลิตโอลิโกฟรุคโตสอาจใช้เทคนิคที่แตกต่างกัน 2 วิธี ซึ่งจะทำให้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายแตกต่างกันเล็กน้อย บริษัท Orafti (Belgium) ผลิตโดยใช้ chicory inulin เป็นวัตถุดิบและย่อยบางส่วนด้วยเอนไซม์ endo-inulinase แล้วทำให้แห้งแบบพ่นกระจาย ส่วนบริษัท Meiji Seika Kaisha (Japan), Beghin-Meiji Industries (France) และผู้ผลิตอื่นๆ ใช้วิธีสังเคราะห์จากซูโครสหรืออินูลิน (fructan polymer) โดยใช้เอนไซม์ fructosyl furanosidase ที่มีใน *Aspergillus niger* (Bornet, 1994; Chow, 2002; Roberfroid, 2007) ทั้ง 2 วิธีได้โอลิโกฟรุคโตสที่มีโครงสร้างคล้ายกัน คือ มี ฟรุคโตสต่อกันด้วยพันธะ β-(2-1) และมีกลูโคสอยู่ปลายสุดของสายโซ่และมีขนาดโครงสร้างใกล้เคียงกัน (Crittenden และ Playne, 1996; Roberfroid, 1997) โอลิโกฟรุคโตสมี taste profile และความหนืดคล้ายซูโครส เมื่ออยู่ในรูปบริสุทธิ์มีความหวานร้อยละ 30 ของซูโครส มีความสามารถในการเก็บกักน้ำ (water-retention capacity) มากกว่าซูโครส เป็น non-reducing sugar ไม่เกิด Maillard reaction มีความคงตัวที่ pH มากกว่า 3 และอุณหภูมิมากกว่า 140 องศาเซลเซียส (Bornet, 1994) และมีความคงตัวดีระหว่างผ่านกระบวนการผลิตอาหาร เช่น การแปรรูปด้วยความร้อน (De Leenheer, 1996) โอลิโกฟรุคโตสจะช่วยเพิ่มความข้นหนืด ช่วยปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัสและความรู้สึกในปาก ป้องกันปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากการให้ความร้อนแก่อาหาร และสามารถเปลี่ยนอุณหภูมิจุดเยือกแข็งของอาหารแช่เยือกแข็งได้ มีคุณสมบัติดูดความชื้น และยับยั้งการเกิด retrogradation ของแป้งได้ (Crittenden และ Playne, 1996; Voragen, 1998) มีการใช้โอลิโกฟรุคโตสในผลิตภัณฑ์ขนมอบโดยเป็นสารทดแทนน้ำตาล เพิ่มเส้นใยอาหาร และมีคุณสมบัติรักษาความชื้นที่ดี ให้คุณลักษณะต่างๆ ที่ดีใน cereal bars เพราะใช้ได้สะดวก ให้พลังงานต่ำ ให้รสชาติและความรู้สึกในปากที่นุ่มนวล และยังประโยชน์ทางด้านคุณค่าทางโภชนาการ (Franck และ Coussement, 2001) นอกจากนั้นยังมีการใช้โอลิโกฟรุคโตส ร้อยละ 1-3 ในโยเกิร์ตผลไม้ในช่วงการเตรียมผลไม้ ซึ่งจะช่วยปรับปรุงความรู้สึกในปาก ลดการแยกส่วนของของเหลว และให้ผลร่วมกับสารให้ความหวาน

โดยไม่เพิ่มพลังงาน มีการใช้มากในผลิตภัณฑ์อาหารเด็กทารก ผลิตภัณฑ์นม และ frozen desserts เป็นต้น (Franck, 1999)

2.4.2 **อินูลิน** (Inulin)

อินูลินเป็น β-fructan สายยาวประกอบด้วยโอลิโกแซ็คคาไรด์และพอลิแซ็คคาไรด์ โครงสร้างส่วนใหญ่เป็นพอลิเมอร์ของฟรุคโตส โดยมีโครงสร้างและใช้สัญลักษณ์เป็น F_m หรือมีกลูโคสเป็นองค์ประกอบอยู่บ้างมีโครงสร้างและใช้สัญลักษณ์เป็น GF_n ดังแสดงในภาพที่ 2.5 อินูลินได้จาก chicory (หรือ native inulin) มี DP เท่ากับ 2-60 (ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 12) โดยมีพันธะระหว่างโมเลกุลเป็น β-(2-1) ซึ่งร่างกายไม่สามารถย่อยได้ อินูลินชนิด high-performance มีค่า DP 10-60 (ค่าเฉลี่ยเท่ากับ 25) (Coussement, 1999; Franck และ Coussement, 2001; Roberfroid, 2006, 2007) ทั้งนี้พบอินูลินอยู่ในผักและธัญพืชตามธรรมชาติ เช่น Jerusalem artichoke, chicory, salsify, garlic, leek และ wheat ดังแสดงในตารางที่ 2.6



ภาพที่ 2.5 โครงสร้างทางเคมีของอินูลิน

ที่มา: ดัดแปลงจาก Gibson และ Roberfroid (1995)

ตารางที่ 2.6 โอลิโกฟรุคโตสและอินูลินในธรรมชาติ

แหล่ง	ชื่อวิทยาศาสตร์	ฟรุคโตส [a] (หน่วย)	โอลิโกฟรุคโตส [a] (ร้อยละ)	อินูลิน [b] (ร้อยละ)
Wheat	*Triticum asetivum*	n	1-4	1-6
Onion	*Allium cepa*	2-4	1-8	2-10
Leek	*Allium ampeloprasmus*	n	2-10	3-16
Garlic	*Allium sativum*	n	1-16	9-11
Salsify	*Scorzonera hispanica*	n	4-11	4-10
Globe artichoke	*Cynara scolymus*	2	3-10	2-9
Asparagus shoot	*Asparagus officinalis*	2-4	2-3	1-4
Banana	*Musa* spp.	2	0.3-0.7	0.3-0.7
Jerusalem artichoke	*Heliantus tuberosus*	2	16-22	16-20
Chicory root	*Cichorium intybus*	n	15-24	15-20
Dandelion	*Taraxacum officinale*	n	12-15	-

n หมายถึง มากกว่าหรือเท่ากับ 4 หรือจำนวนหน่วยของฟรุคโตส

ที่มา: Vernazza และคณะ [a] (2006) และ Coussement [b] (1999)

- หมายถึง ไม่มีข้อมูล

อินูลินที่ผลิตเพื่อการค้าโดยบริษัท Orafti (Belgium), Cosucra (Belgium) และ Sensus (Netherlands) สกัดจากราก chicory (*Cichorium intybus*) ซึ่งมีกระบวนการคล้ายการสกัดซูโครสจากจาก sugar beets และทำให้บริสุทธิ์โดยใช้เทคโนโลยีของโรงงานน้ำตาลและแป้ง เช่น การใช้ ion exchanges การระเหย และการทำแห้งแบบพ่นกระจาย (De Leenheer, 1996) chicory inulin เป็นผงสีขาว ไม่มีกลิ่น ไม่มีรสติดค้างหรือกลิ่นรสที่ไม่พึงประสงค์ มีความหวานน้อย

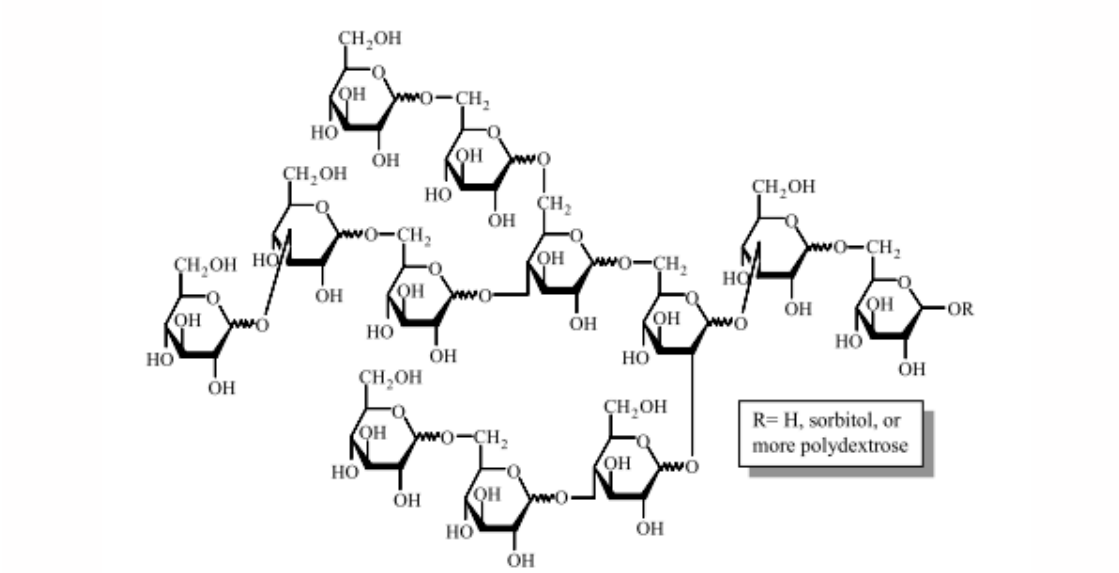
(ร้อยละ 10 เมื่อเทียบกับซูโครส) อินูลินชนิด high performance รสไม่หวาน สามารถรวมกับส่วนผสมอื่นๆ ได้โดยให้กลิ่นรสที่นุ่มนวล สามารถละลายน้ำได้ปานกลาง (มากที่สุด ร้อยละ 10 ที่อุณหภูมิห้อง) และให้ความหนืดต่ำ (De Leenheer, 1996) เมื่อผสมกับน้ำหรือของเหลวอื่นๆ จะเกิดโครงสร้างร่างแหของเจล และให้โครงสร้างเป็นครีมสีขาวที่มีลักษณะเนื้อสัมผัสแบบ short spreadable จึงนำไปใช้เป็นสารทดแทนไขมันในอาหารได้ นอกเหนือจากเป็นสารที่ทำให้เกิดเจลได้แล้ว ยังช่วยปรับปรุงความคงตัวของโฟมและอิมัลชัน เช่นที่พบในขนมหวาน ไอศกรีม และ ซอส โดยสามารถใช้ทดแทนสารให้ความคงตัวชนิดอื่นๆ ในอาหารได้หลายชนิด ในผลิตภัณฑ์ขนมอบและอาหารเช้าจากธัญพืชทำหน้าที่เป็นเส้นใยอาหาร ช่วยรักษาความชื้นของขนมปังและเค้กให้สดและเก็บได้นาน อาจใช้เพื่อให้เส้นใยอาหารในเครื่องดื่ม ผลิตภัณฑ์นม และ table spread (Gibson และ Roberfroid, 2008) ในผลิตภัณฑ์นมไขมันต่ำให้คุณลักษณะการเกิดเจล เพื่อคงไว้ซึ่งเนื้อสัมผัส กลิ่นรส และความรู้สึกที่เป็นครีมในปากอย่างสมดุล ใน frozen desserts ให้ความรู้สึกที่เป็นไขมันได้ดี โดยมีคุณสมบัติการละลายที่ดี มีความคงตัวต่อการแช่เยือกแข็งและการละลาย และยังสามารถใช้ทดแทนไขมันในผลิตภัณฑ์เนื้อ ซอส และ ซุปได้ (Franck และ Coussement, 2001) และยังมีการใช้มากใน functional food ซึ่งเมื่อรับประทานเข้าสู่ระบบทางเดินอาหารจะมีผลต่อการกระตุ้นกิจกรรมของลำไส้ ลดความเสี่ยงของการเกิดโรคโดยทำให้เกิดความสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ (Roberfroid, 2007) อินูลินให้พลังงาน 1.5 กิโลแคลอรีต่อกรัม เมื่อเปรียบเทียบกับคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยได้ซึ่งมีค่า 3.75 กิโลแคลอรีต่อกรัม (Roberfroid, 2006)

2.4.3 **พอลิเดกซ์โตรส** (Polydextrose)

พอลิเดกซ์โตรสเป็นพอลิเมอร์ของกลูโคสที่ต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิกหลายชนิด แต่เป็นพันธะ 1, 6 โดยส่วนใหญ่ และมีซอร์บิทอลและกรดซิตริกปริมาณเล็กน้อยอยู่แบบไม่เป็นระเบียบในสายพอลิเมอร์ มีน้ำหนักโมเลกุลค่อนข้างสูง คือ ประมาณ ร้อยละ 99 มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า 15,000 (ทั้งนี้ ร้อยละ 90 มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า 5,000) ทำหน้าที่เป็น bulking agent คล้ายน้ำตาลซูโครสได้ แต่ให้พลังงานเพียงร้อยละ 25 ของน้ำตาลซูโครส และไม่ทำให้ฟันผุ (Burdock และ Flamm, 1999) เป็นพอลิแซ็คคาไรด์ที่ละลายน้ำได้ ให้พลังงานต่ำ 1 กิโลแคลอรีต่อ

กรัม หรือปริมาณร้อยละ 25 ของน้ำตาลกลูโคส ปริมาณส่วนใหญ่ที่มีในเนื้อเยื่ออาหารจะไม่ถูกย่อยในลำไส้เล็ก และขับออกจากร่างกายร่วมกับอุจจาระ แต่บางส่วนจะเกิดการหมักในลำไส้ใหญ่ พร้อมกับผลิตกรดไขมันที่ระเหยได้ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ พอลิเดกซ์โตรสสามารถใช้เป็นสารทดแทนน้ำตาลและไขมันเพื่อลดปริมาณพลังงานที่ได้รับ (Figdor และ Rennhard, 1981; Figdor และ Bianchine, 1983) และมีคุณสมบัติเป็นเส้นใยอาหาร (dietary fiber) (Craig และคณะ, 1998) เมื่อรับประทานพอลิเดกซ์โตรส 12-15 กรัมต่อวัน จะช่วยเพิ่มมวลและลดระยะเวลาการเคลื่อนตัวของอุจจาระ ช่วยให้อุจจาระนิ่มและมี pH ต่ำ (Endo และคณะ, 1991; Jie และคณะ, 2000) ยับยั้งการผลิตสารก่อมะเร็ง เช่น indole และ p-cresol (Endo และคณะ, 1991) ช่วยกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียในลำไส้ เช่น *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* spp. ในขณะที่จำนวนจุลินทรีย์ *Bacteroides* spp. ลดลง (Jie และคณะ, 2000) ในหลายประเทศมีการใช้พอลิเดกซ์โตรสเป็น bulking agent ในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อช่วยเก็บรักษาความชื้นให้ลักษณะเนื้อสัมผัส ซึ่งใช้ได้กับผลิตภัณฑ์หลายชนิด เช่น ผลิตภัณฑ์นม น้ำสลัด ซอส, frozen desserts ผลิตภัณฑ์ขนมอบ ลูกกวาด พุดดิ้ง ผลิตภัณฑ์เนื้อ หมากฝรั่ง ใช้เป็นส่วนผสมของเค้กและคุกกี้ ครีมหรือน้ำตาลที่ใช้แต่งหน้าเค้ก เป็นต้น (The American Dietetic Association, 1998)

Litesse® เป็นพอลิเดกซ์โตรสทางการค้าชนิดหนึ่ง ซึ่งมีโครงสร้างของกลูโคสต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก โดยส่วนใหญ่จะเป็นชนิด α-1,6 สามารถผลิตโดยใช้กรดซิตริกเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาพอลิเมอไรเซชันที่อุณหภูมิสูงโดยใช้สุญญากาศบางส่วนร่วมด้วยและใช้ซอร์บิทอลเป็น plasticizer โดยมีอัตราส่วนกลูโคส:ซอร์บิทอล:กรดซิตริกเป็น 89:10:1 มี DP ประมาณ 12 มีน้ำหนักโมเลกุลโดยเฉลี่ย 2,000 (Figdor และ Rennhard, 1981; Figdor และ Bianchine, 1983; Craig และคณะ, 1998) มีความสามารถละลายน้ำสูง (ร้อยละ 80 โดยน้ำหนัก) (Viscione, 2007) เป็นพรีไบโอติกที่ไม่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ในร่างกายมนุษย์ ใช้เป็น bulking agent เป็นสารทดแทนน้ำตาลและไขมัน และให้พลังงานต่ำในผลิตภัณฑ์อาหารเพียง 1 กิโลแคลอรีต่อกรัม (Figdor และ Rennhard, 1981; Figdor และ Bianchine, 1983) สามารถนำไปใช้เป็นพรีไบโอติกในผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น พุดดิ้ง เป็นต้น (Helland, Wicklund และ Narvhus, 2004) สูตรโครงสร้างของ Litesse® แสดงในภาพที่ 2.6



ภาพที่ 2.6 โครงสร้างทางเคมีของพอลิเดกซ์โตรส (Litesse®)

ที่มา: Craig และคณะ (1998)

2.4.4 ประโยชน์ของพรีไบโอติก (Benefits of prebiotic)

สารประกอบที่เป็นพรีไบโอติก ได้แก่ โอลิโกฟรุคโตส พอลิเดกซ์โตรส อินูลิน และแลคติตอล (lactitol) เป็นต้น แต่สารประกอบเหล่านี้มีปริมาณน้อยในอาหารที่มนุษย์บริโภค ซึ่งร่างกายควรจะได้รับอย่างน้อย 4 กรัมต่อวัน ถ้าร่างกายได้รับโอลิโกฟรุคโตส 8 กรัมต่อวัน จะได้รับประโยชน์จากจุลินทรีย์ bifidobacteria ที่มีชีวิตในลำไส้ (Rao, 2001; Manning และ Gibson, 2004) ร่างกายมีความต้องการพอลิเดกซ์โตรส 4 -15 กรัมต่อวัน และสามารถรับพอลิเดกซ์โตรสได้ถึง 90 กรัมต่อวัน รับอินูลินและโอลิโกฟรุคโตสได้ 20 กรัมต่อวัน (Sveje, 2008) การบริโภคสารประกอบเหล่านี้จะมีผลต่อระบบทางเดินอาหาร โดยช่วยเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในลำไส้ ได้แก่ *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* spp. ลดจำนวนจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น *Clositridium* และ *Bacteroides* spp. ป้องกันโรคท้องร่วง ลดการติดเชื้อ และป้องกันโรคมะเร็งในลำไส้ ป้องกันโรคท้องผูกโดยช่วยเพิ่มมวลอุจจาระ ลดปริมาณก๊าซที่เกิดจากการหมักของจุลินทรีย์ในลำไส้ ช่วยเพิ่มการดูดซึมแคลเซียมจึงช่วยป้องกันโรคกระดูกพรุน มีคุณสมบัติเป็นเส้นใยอาหาร

ให้พลังงานต่ำเหมาะสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวาน ช่วยกระตุ้นการเผาผลาญไขมันให้เป็นกรดไขมันสายสั้น ป้องกันโรคอ้วนและโรคหัวใจ (Endo และคณะ, 1991; Jie และคณะ, 2000; Franck และ Coussement, 2001; Franck, 2006; Ghoddusi และคณะ, 2007; Mussatto และ Mancilha, 2007)

ในอุตสาหกรรมอาหารสามารถนำพรีไบโอติกไปใช้ประโยชน์ได้มากในผลิตภัณฑ์หลายชนิด เช่น ผลิตภัณฑ์นม เครื่องดื่ม เบเกอรี อาหารเด็ก ธัญพืช ลูกกวาด ซุป ซอส, salad dressings, table spreads, snack bars และ biscuits (Manning และ Gibson, 2004) ในขณะที่จุลินทรีย์โพรไบโอติกส่วนใหญ่มักนำไปใช้กับผลิตภัณฑ์นม นอกจากนั้นยังมีการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกร่วมกับพรีไบโอติกในผลิตภัณฑ์บางชนิด เช่น โยเกิร์ต ซึ่งจะทำให้มีประโยชน์มากยิ่งขึ้น คือ พรีไบโอติกจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของจุลินทรีย์โพรไบโอติก (Sveje, 2008) การใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกและพรีไบโอติกร่วมกัน เรียกว่า “synbiotic” ซึ่งโยเกิร์ตส่วนใหญ่ในตลาดของญี่ปุ่น ออสเตรเลีย สหรัฐอเมริกา และยุโรปมีการเติมจุลินทรีย์โพรไบโอติกร่วมกับพรีไบโอติก (Shah, 2007)

2.4.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับพรีไบโอติก (Research related to prebiotic)

Shin และคณะ (2000b) ศึกษาการเจริญและกิจกรรมของจุลินทรีย์ *Bifidobacterium* spp. (Bf-1 และ Bf-6) ในนมคืนรูปไม่มีไขมันที่เติมฟรุคโตโอลิโกแซ็คคาไรด์ (FOS), กาแลคโตโอลิโกแซ็คคาไรด์ (GOS) และอินูลิน ร้อยละ 0, 0.5, 1, 3 และ 5 นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าจุลินทรีย์แต่ละสายพันธุ์มีชีวิตเมื่อเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยจุลินทรีย์ทั้งสองมีการเจริญและกิจกรรมในการดำรงชีวิตในตัวอย่างที่เติม FOS มากที่สุด รองลงมาคือ ตัวอย่างที่เติม GOS และอินูลิน ตามลำดับ โดยที่ระดับปริมาณร้อยละ 5 มีจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตมากที่สุดและลดลงตามลำดับ

Helland และคณะ (2004) ได้ศึกษาการเจริญและเมแทบอลิซึมของโพรไบโอติก 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *L. acidophilus* LA-5, *L. acidophilus* 1748, *B. animalis* BB-12 และ *L. rhamnosus* GG ในพุดดิ้งที่มีส่วนผสมของนมหรือน้ำที่เติมทั้งแป้งข้าวโพด แป้งข้าวเจ้า และเติมและไม่เติมพอลิเดกซ์โตรส (Litesse®) โดยตรวจติดตามการเปลี่ยนแปลงปริมาณจุลินทรีย์ และค่า pH ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และหลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-6 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน พบว่ามีจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทุกสายพันธุ์ประมาณ 8.0-9.1 $\log_{10}$CFU ต่อกรัมในพุดดิ้งที่มีนมเป็นส่วนผสม แต่มีเพียงจุลินทรีย์ *L. rhamnosus* GG ชนิดเดียวที่มีจำนวน 8.0 $\log_{10}$CFU ต่อกรัมในพุดดิ้งที่มีน้ำเป็นส่วนผสม หลังจากเก็บรักษามีปริมาณกรดแลคติก 0.56-9.80 มิลลิกรัมต่อกรัม และมีปริมาณที่สูงกว่าในพุดดิ้งที่มี *L. rhamnosus* GG และมีนมเป็นส่วนผสม ส่วนค่า pH อยู่ในช่วง 3.4-4.4 สำหรับพุดดิ้งที่มีนมเป็นส่วนผสมและเติมจุลินทรีย์ *L. rhamnosus* GG โดยมีปริมาณ diacetyl 0.018 มิลลิกรัมต่อกรัม นอกจากนั้นโดยส่วนใหญ่แล้วพุดดิ้งที่เติมและไม่เติม Litesse® ให้ผลทดลองที่ไม่แตกต่างกัน

Staffolo และคณะ (2004) ได้ศึกษาผลของเส้นใยอาหารทางการค้าจากแอปเปิ้ล ข้าวสาลี หน่อไผ่ และอินูลิน รวม 4 ชนิด ที่มีต่อคุณสมบัติทางด้านประสาทสัมผัสและ rheology ของโยเกิร์ต พบว่าระยะเวลาการเก็บรักษามีอิทธิพลต่อค่า dynamic viscosity, shear stress และ compression-extrusion แต่ไม่มีผลต่อ pH และการแยกส่วนของของเหลว (syneresis) โยเกิร์ตที่เสริมเส้นใยอาหารจากแอปเปิ้ลให้ค่าสีแตกต่างจากตัวอย่างควบคุม โยเกิร์ตที่เสริมอินูลินได้รับคะแนนทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรสสูงที่สุด ส่วนโยเกิร์ตที่เสริมใยอาหารจากข้าวสาลีมีคะแนนทางประสาทสัมผัสด้านลักษณะเนื้อสัมผัสและกลิ่นสูงที่สุด

Guven และคณะ (2005) ได้ศึกษาผลของการเติมอินูลินที่มีต่อคุณภาพของโยเกิร์ตไขมันต่ำ (low-fat yoghurt) ชนิดเซ็ตโดยการเติมอินูลิน ร้อยละ 1, 2 และ 3 ลงในนมที่มีไขมัน ร้อยละ 0.1 และปรับมาตรฐานของแข็งทั้งหมดในนมให้เป็นร้อยละ 14 ด้วยการเติมหางนมผง เปรียบเทียบกับโยเกิร์ตควบคุมที่ทำจากนมไขมันเต็ม พบว่าการเติมอินูลินมากกว่าร้อยละ 1 จะเพิ่มการแยกส่วนของของเหลวและความข้นหนืด แต่ไม่มีผลต่อปริมาณอะซีตัลดีไฮด์ กรด และ pH นอกจากนี้ตัวอย่างควบคุมมีคะแนนทางด้านประสาทสัมผัสสูงที่สุด ส่วนตัวอย่างที่เติมอินูลิน ร้อยละ 3 มีคะแนนทางด้านประสาทสัมผัสต่ำที่สุด และโยเกิร์ตที่เติมอินูลิน ร้อยละ 1 มีคะแนนความชอบโดยรวมใกล้เคียงกับตัวอย่างควบคุม

Kip, Meyer และ Jellema (2006) ได้ศึกษาผลของการเติมอินูลินต่อคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตไขมันต่ำซึ่งเตรียมจากหางนม โดยใช้อินูลินที่มีความยาวของสายพอลิเมอร์แตกต่างกัน 2 ชนิด แปรปริมาณอินูลิน ร้อยละ 0-4 ใช้ผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสที่ผ่านการฝึกฝนโดยประเมินความรู้สึกในปากในลักษณะที่เป็นครีม (creamy mouthfeel) พบว่าอินูลินช่วยปรับปรุงคุณลักษณะดังกล่าวได้ และการเติมอินูลินในปริมาณที่แตกต่างกันจะให้ค่า thickness, airiness และ stickiness แตกต่างกัน ซึ่งการเติมอินูลินสายยาวเหมาะสมกับการให้ airiness ที่ดีโดยเฉพาะที่ร้อยละ 3

Aryana และ McGrew (2007) ได้ศึกษาผลของโอลิโกฟรุคโตส (Orafti®P95) อินูลินสายกลาง (Orafti®GR) และอินูลินสายยาว (Orafti®HP) ที่มีต่อคุณสมบัติของโยเกิร์ตรสธรรมชาติไม่มีไขมัน (fat-free plain yoghurt) ที่ผลิตด้วยจุลินทรีย์ *S. thermophilus, L. bulgaricus* และ *L. casei* พบว่าความยาวของสายพอลิเมอร์ในอินูลินไม่มีผลต่อค่าความข้นหนืด สี และลักษณะปรากฏของโยเกิร์ต แต่โยเกิร์ตที่เติมอินูลินสายยาวมีการแยกส่วนของของเหลวน้อยกว่าตัวอย่างควบคุม และโยเกิร์ตที่เติมโอลิโกฟรุคโตสมี pH น้อยกว่าตัวอย่างควบคุม ทั้งนี้โยเกิร์ตที่เติมโอลิโกฟรุคโตสมีคะแนนกลิ่นรสสูงกว่าโยเกิร์ตที่เติมอินูลินสายยาว ซึ่งตัวอย่างชนิดหลังนี้มีคะแนนลักษณะเนื้อสัมผัสสูงกว่าตัวอย่างควบคุมและโยเกิร์ตที่เติมโอลิโกฟรุคโตส

Guggisberg และคณะ (2009) ได้ศึกษาผลของการเติมอินูลิน ร้อยละ 0, 1, 2, 3 และ 4 ที่มีต่อสมบัติทาง rheology สมบัติทางเคมี microstructure และสมบัติทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตชนิดเซ็ตที่เตรียมจากนมไขมันต่ำและนมไขมันเต็มโดยมีปริมาณไขมันแตกต่างกัน (ร้อยละ 0.2-3.5) โดยใช้นมผงเป็นวัตถุดิบแล้วเติมครีมเพื่อปรับปริมาณไขมัน พร้อมทั้งปรับมาตรฐานโปรตีนให้มีค่าเท่ากับร้อยละ 4 แล้วเติมอินูลิน พบว่าโยเกิร์ตที่มีอินูลินและไขมันในปริมาณที่ต่างกันจะมีสมบัติด้าน rheology และประสาทสัมผัสที่แตกต่างกัน โดยปริมาณอินูลินไม่มีผลต่อค่า pH และ firmness ของโยเกิร์ต ทั้งนี้ตัวอย่างที่มีไขมัน ร้อยละ 3.5 จะมี firmness สูงที่สุด และเมื่อเติมปริมาณอินูลินเพิ่มขึ้น yield stress และความหนืดมีแนวโน้มสูงขึ้น สำหรับการประเมินทางประสาทสัมผัส พบว่าตัวอย่างที่เติมอินูลินมากที่สุดจะมี firmness และ creaminess สูงที่สุด การเติมอินูลิน ร้อยละ 4 ที่ระดับไขมัน ร้อยละ 3.5 ให้ตัวอย่างที่มี creaminess มากที่สุด ในขณะที่การเติมอินูลิน ร้อยละ 4 ที่ระดับไขมันร้อยละ 0.2 ไม่มีผลต่อสมบัติดังกล่าว นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์ระหว่าง yield stress และ firmness ทางประสาทสัมผัสเป็นไปในทิศทางเดียวกัน ($r = 0.91$) เมื่อศึกษา microstructure โดย confocal laser scanning microscopy (CLSM) พบว่าปริมาณของอินูลินในช่วงที่ศึกษามีผลเล็กน้อยต่อโครงสร้างที่อ่อนแอของโปรตีนซึ่งเป็นผลมาจากอันตรกิริยาระหว่างอินูลินและโครงสร้างร่างแหของโปรตีนนม

Oliveira และคณะ (2009) ได้ศึกษาการใช้แบคทีเรีย 2 ชนิดร่วมกันระหว่าง *L. acidophilus, L. bulgaricus, L. rhamnosus* หรือ *B. lactis* ร่วมกับ *S. thermophilus* ในลักษณะที่เป็น symbiotic และเติมพรีไบโอติกชนิดต่างๆ (ร้อยละ 4) ได้แก่ มอลโตเดกซ์ตริน (maltodextrin) โอลิโกฟรุคโตส และพอลิเดกซ์โตรสในการผลิตนมหมัก ผลการศึกษาบ่งชี้ว่าคุณภาพของผลิตภัณฑ์ขึ้นอยู่กับจุลินทรีย์สองชนิดที่ใช้ร่วมกัน และพบว่าโอลิโกฟรุคโตสและพอลิเดกซ์โตรสจะช่วยกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกได้ดีกว่า ทั้งนี้จุลินทรีย์ *B. lactis* จะเจริญได้มากที่สุด และการเติมพอลิเดกซ์โตรสทำให้ตัวอย่างมีปริมาณกรดแลคติกมากที่สุด และยังพบว่านมที่หมักด้วยจุลินทรีย์ *L. acidophilus* ร่วมกับ *S. thermophilus* ที่เติมมอลโตเดกซ์ตรินมีปริมาณกรดลิโนเลอิกสูงที่สุด และมากกว่าตัวอย่างที่ไม่เติมพรีไบโอติก (ร้อยละ 38)

บทที่ 3

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัตถุดิบและวัสดุ

3.1.1 วัตถุดิบ

กล้วยหอมทอง กล้วยน้ำว้า และกล้วยไข่ ที่เปลือกเขียว ผลแข็ง ยังไม่สุก ซื้อมาครั้งละ 4 หวี จากตลาดซอยพหลโยธิน 1 กรุงเทพมหานคร และเก็บในห้องที่มีอากาศถ่ายเทสะดวกที่อุณหภูมิห้องจนกว่าจะใช้ได้

โอลิโกฟรุคโตส (Orafti®P95, Tienen, Belgium) มี degree of polymerization (DP) อยู่ระหว่าง 2-8 (DP เฉลี่ย 4) ประกอบด้วยโอลิโกฟรุคโตสมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 93.2 กลูโคส ฟรุคโตส และซูโครสน้อยกว่าร้อยละ 6.8 ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท ดีพีโอ (ประเทศไทย) จำกัด

อินูลินสายกลาง (Orafti®GR, Tienen, Belgium) มี DP อยู่ระหว่าง 2-60 (DP เฉลี่ยมากกว่าหรือเท่ากับ 10) ประกอบด้วยอินูลินมากกว่าร้อยละ 90 กลูโคส และฟรุคโตสน้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 4 และซูโครสน้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 8 ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท ดีพีโอ (ประเทศไทย) จำกัด

อินูลินสายยาว (Orafti®HP, Tienen, Belgium) มี DP อยู่ระหว่าง 2-60 (DP เฉลี่ยมากกว่าหรือเท่ากับ 23) ประกอบด้วยอินูลินมากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 99.5 โดยที่เป็นอินูลิน (DP มากกว่าหรือเท่ากับ 5) มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 99 และมีกลูโคส ฟรุคโตส และซูโครสน้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 0.5 ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท ดีพีโอ (ประเทศไทย) จำกัด

พอลิเดกซ์โตรส (Litesse®, Danisco (UK), Surrey, United Kingdom) ประกอบด้วยพอลิเมอร์มากกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 90 มี 1,6 anhydro-D-glucose น้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 4 กลูโคสน้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 4 ซอร์บิทอลน้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 2 และ

ความชื้นน้อยกว่าหรือเท่ากับร้อยละ 4 น้ำหนักโมเลกุลของพอลิเมอร์น้อยกว่าหรือเท่ากับ 22,000 ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท รามา โปรดักชัน จำกัด

นมผงไขมันเต็ม (whole milk powder, Murray Goulburn, Brunswick, Australia) มีปริมาณไขมัน ร้อยละ 27.3 โปรตีน ร้อยละ 24.7 และความชื้น ร้อยละ 2.7 ซื้อจากบริษัทยูไนเต็ดโกลเบิล เอเยนซี (ประเทศไทย) จำกัด

หางนมผง (medium-heat skim milk powder, Darigold, Seattle, USA) มีปริมาณไขมัน ร้อยละ 0.52 โปรตีน ร้อยละ 34.3 และความชื้น ร้อยละ 3.69 ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท โฟร์โมสต์ อาหารนม (กรุงเทพฯ) จำกัด

น้ำตาลทรายขาวบริสุทธิ์ (ตรามิตรผล บริษัท รวมเกษตรกรอุตสาหกรรม จำกัด) ซื้อจากซุปเปอร์มาร์เก็ต กรุงเทพมหานคร

กรดซิตริก และกรดแอสคอร์บิก (food grade) ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท อดินพ จำกัด และโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ (food grade) ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท อดิตยา เบอร์ล่า เคมีคัลส์ (ประเทศไทย) จำกัด

3.1.2 วัสดุ

แผ่นภาชนะบรรจุสารที่ทำปฏิกิริยากับออกซิเจน (Microbiology Anaerocult® A, Merck, Germany) ใช้บรรจุลงในภาชนะบ่มเชื้อจุลินทรีย์ชนิดไม่ต้องการอากาศ

ถุงพลาสติกชนิด high density polyethylene (HDPE) ทึบแสง ดูดความชื้นต่ำ ไม่มีกลิ่น สามารถปิดผนึกด้วยความร้อนได้ดี หนา 0.06 มิลลิเมตร ขนาด 4x6 และ 6x9 นิ้ว ซื้อจากตลาดสามย่าน กรุงเทพมหานคร ใช้บรรจุ purée กล้วยสำหรับแช่เยือกแข็ง

ถุงลามิเนตชนิด OPP/PE/AL/PE/LLDPE หนา 110±10 ไมโครเมตร ซึ่งประกอบด้วยชั้น oriented polypropylene (OPP) หนา 0.025 polyethylene (PE) หนา 0.02 aluminium (AL) หนา 0.012 polyethylene (PE) หนา 0.02 และ linear low density polyethelene (LLDPE) หนา 0.02 ไมโครเมตร ขนาด 10x13.5 และ 13x17 เซนติเมตร มีอัตราการส่งผ่านของไอน้ำเท่ากับ 0.065 กรัมต่อตารางเมตร.วัน และอัตราการส่งผ่านของ

ออกซิเจนเท่ากับ 0.465 ลูกบาศก์เซนติเมตร.วัน.บาร์ ซื้อจากบริษัท เจนจรัส เคมซัพพลาย จำกัด ใช้บรรจุ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกในระหว่างการเก็บรักษา

หลอดหมุนเหวี่ยงขนาดเล็ก (microcentrifuge tube) ขนาด 2 มิลลิลิตร ซื้อจากบริษัท ไซน์ ไดแอกนอสติก แมททีเรียล จำกัด ใช้เก็บจุลินทรีย์แบบแช่เย็นและแช่เยือกแข็ง

3.2 เชื้อจุลินทรีย์

Lactobacillus paracasei subsp. *paracasei* (FD-DVS Lpc-37, Danisco, Madison, USA) ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท Danisco (ประเทศไทย) จำกัด

Lactobacillus acidophilus (FD-DVS NCFM®, Danisco, Madison, USA) ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท Danisco (ประเทศไทย) จำกัด

Lactobacillus acidophilus (FD-DVS La-14, Danisco, Madison, USA) ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท Danisco (ประเทศไทย) จำกัด

Lactobacillus acidophilus (FD-DVS LA-5®, Chr Hansen, Hørsholm, Denmark) ได้รับความอนุเคราะห์จากอาจารย์ ดร. ขนิษฐา ธนานุวงศ์ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Bifidobacterium animalis subsp. *lactis* (FD-DVS BB-12®, Chr Hansen, Hørsholm, Denmark) ได้รับความอนุเคราะห์จากอาจารย์ ดร. ขนิษฐา ธนานุวงศ์ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Escherichia coli (TISTR 780) อยู่ในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dried) ซื้อจากศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

เชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ต (YOMIX™ 505LYO 200 DCU, Danisco, Madison, USA) อยู่ในรูปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ประกอบด้วย *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท Danisco (ประเทศไทย) จำกัด

3.3 สารเคมี

สารเคมี	บริษัทผู้ผลิต	ประเทศ
โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide) (A.R. grade)	Ajax Finechem	Australia
โพแทสเซียม แอซิด พาทาเลต (potassium acid phathalate) (A.R. grade)	Carlo Erba	Italy
ฟีนอล์ฟทาลีน (phenopthalene) (A.R. grade)	Ajax Finechem	Australia
กรดซัลฟูริก (sulfuric acid) (A.R. grade)	J.T. Baker	USA
กรดไฮดรอคลอริก (hydrochloric acid) (A.R. grade)	Ajax Finechem	Australia
กรดบอริก (boric acid) (A.R. grade)	Ajax Finechem	Australia
ซิลิเนียม รีเอเจนต์ มิกซ์เจอร์ (selenium reagent mixture) (A.R. grade)	Merck	Germany
เมทิลีน บลู (methylene blue) (A.R. grade)	Ajax Finechem	Australia
เมทิล เรด (methyl red) (A.R. grade)	Merck	Germany
ปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether) (A.R. grade)	Fisher Scientific	UK
โซเดียมซิเตรท (sodium citrate) (A.R. grade)	Ajax Finechem	Australia
โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (sodium dihydrogen phosphate) (A.R. grade)	Ajax Finechem	Australia
ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (disodium hydrogen phosphate) (A.R. grade)	Ajax Finechem	Australia
โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (potassium dihydrogen phosphate) (A.R. grade)	Fisher Scientific	UK
แอมโมเนียมคลอไรด์ (ammonium chloride) (A.R. grade)	Ajax Finechem	Australia

สารเคมี	บริษัทผู้ผลิต	ประเทศ
โซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride) (A.R. grade)	Ajax Finechem	Australia
แมกนีเซียมซัลเฟต (magnesium sulphate) (A.R. grade)	Ajax Finechem	Australia
ไทอะมีน ไฮดรอคลอริก (thiamine hydrochloric) (A.R. grade)	Ajax Finechem	Australia
แคลเซียมคลอไรด์ (calcium chloride) (A.R. grade)	Ajax Finechem	Australia
กลูตารัลดีไฮด์ (glutaraldehyde) (effective microorganism, E.M. grade)	Sigma	USA
กลีเซอรอล (glycerol) (A.R. grade)	Ajax Finechem	Australia
เอทานอล ร้อยละ 95	องค์การสุรา กรมสรรพสามิต	Thailand

3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อ	บริษัท	ประเทศ
Lactobacilli de Man Rogosa Sharpe broth (Lactobacilli MRS broth)	Difco	USA
Lactobacilli MRS agar	Difco	USA
Tryptic soy broth (TSB)	Difco	USA
Tryptic soy agar (TSA)	Difco	USA
D (+)-glucose anhydrous	Merck	Germany
Lactose broth	Merck	Germany
M17 agar	Difco	USA

3.5 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.5.1 เครื่องมือ

เครื่องมือ	ชื่อเครื่อง/รุ่น	ประเทศ
เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (electric balance 2 digits)	Mettler, AG285	Switzerland
เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (electric balance 4 digits)	Denver, SI-234	UK
เครื่องปั่น (blender)	Moulinex	France
เครื่องกวนสาร (magnetic stirrer)	Steroglass	Italy
เครื่องโฮโมจิไนซ์แบบมือถือ (hand homogenizer)	Ystral®, X10/25	Germany
เครื่องปิดผนึกแบบกึ่งอัตโนมัติ (semi-automatic sealer)	Impulse, PAS 45010D	Thailand
เครื่องปิดผนึกสุญญากาศ (vacuum sealer)	Multivac, A300/16	Germany
ตู้บ่ม (incubator)	Heraeus, B5042	Germany
ตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิ (refrigerated incubator)	SANYO, MIR-153	Japan
ตู้แช่เยือกแข็ง (freezer)	SANYO, MDF-136	Japan
ตู้อบลมร้อน (hot air oven)	Memmert, DO6062	Germany
ชุดย่อยโปรตีน (digestion unit)	Büchi, K-424	Switzerland
ชุดกลั่นโปรตีน (distillation unit)	Büchi, B-324	Switzerland
เครื่องดักจับก๊าซ (scrubber)	Büchi, B-414	Switzerland
เครื่องทำความเย็น (refrigerator)	Neslab, RTE-101	USA
ชุดสกัดไขมัน (Soxhlet apparatus)	Gerhardt, HC61	Germany
เครื่องสูบอากาศ (aspirator)	EYELA, A-35	Japan

เครื่องมือ	ชื่อเครื่อง/รุ่น	ประเทศ
เครื่องระเหยสุญญากาศ (vacuum evaporator)	EYELA, N-N	Japan
เตาเผา (muffle furnace)	Isotemp, 550-58	USA
ตู้ดูดควัน (fume cupboard)	Scientific, 40M27	Thailand
อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath)	Heto, DT-1	Denmark
High Performance Liquid Chromatography	LC-6A, Shimadzu	Japan
คอลัมน์ (HPLC column)ชนิด Na ขนาด 4.0 x 1.5 มิลลิเมตร	Shim-pack ISC-07/S 1504	Japan
เครื่องตรวจวัดชนิดฟลูออเรสเซนส์ (fluorescence detector)	Shimadzu, FLD-6A	Japan
ระบบควบคุม (system controller)	Shimadzu, SCL-6A	Japan
เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)	Cyberscan, 1000	Singapore
รีแฟรกโตมิเตอร์ (refractometer)	Atago® Master-M	Japan
เครื่องวัดความหนืด (viscometer)	Fungilab® Alpha 100062	Spain
เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (Instron texturometer)	Instron, 5565	USA
เครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ (refrigerated centrifuge)	Hermle, Z36HK	Germany
เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)	Spectronic®, 20	USA
หม้อนึ่งความดันไอ (autoclave)	Tomy, SS-320	Japan
เครื่องตบอาหาร (stomacher)	Stomacher®, 400	England

เครื่องมือ	ชื่อเครื่อง/รุ่น	ประเทศ
เครื่องเขย่า (shaker)	Gyrotory®, G-2	USA
เครื่องผสมของเหลวแบบเขย่า (vortex)	Genie2, G-560E	USA
เครื่องดูดจ่ายสารละลายปริมาณต่ำ (micropipette)	pipetman®, Gilson	France
ตู้เขี่ยเชื้อ (laminar flow cupboard)	Issco, BVT123	Thailand
ตู้บ่มเชื้อ (incubator)	Binder, BD400	Thailand
ตู้แช่เย็น (refrigerator)	WRN-57HGG3	Korea
กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope, SEM)	JEOL, JSM-5410-LV	Japan
เครื่องทำแห้ง ณ จุดวิกฤต (critical point dryer)	Balzers, CPD 020	Liechtenstein
เครื่องเคลือบทอง (Ion sputter)	SCD 040, Balzers	Liechtenstein
ภาชนะบ่มเชื้อจุลินทรีย์ชนิดไม่ต้องการอากาศ (microbiology anaerobic jar)	Microbiology Anaerocult®, Merck	Germany

3.5.2 **อุปกรณ์**

เครื่องแก้วชนิดต่างๆ

เทอร์โมมิเตอร์

นาฬิกาจับเวลา

ลังถึง และถาดอลูมิเนียม

หม้อ จาน มีด ทัพพี และช้อนสเตนเลส

3.6 วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.6.1 ศึกษาสมบัติทางเคมีและกายภาพของกล้วย

3.6.1.1 การเตรียมกล้วย

นำกล้วยหอม กล้วยน้ำว้า และกล้วยไข่ ซึ่งมีน้ำหนักเฉลี่ยโดยประมาณ 280, 100 และ 60 กรัมต่อผล ตามลำดับ ที่แก่แต่ยังเขียว (ดัชนีความสุกระยะที่ 1) วางไว้ในที่มีอากาศถ่ายเทสะดวกจนกว่าจะได้ความสุกของกล้วยในระยะที่ 7 คือ เปลือกมีสีเหลืองและเริ่มมีจุดสีน้ำตาล (CSIRO, 1972) ปอกเปลือก ผ่าครึ่งตามยาว เอาแกนกลางที่มีเมล็ดออก บดเฉพาะเนื้อกล้วยให้ละเอียด และวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของกล้วยแต่ละชนิด รายงานผลเป็นค่าเฉลี่ยจากการทำ 3 ซ้ำ

3.6.1.2 การวิเคราะห์และตรวจวัดสมบัติทางเคมีและกายภาพ

- ปริมาณกรดทั้งหมด (Total acidity) โดยวิธีการไตเตรต (titration method) (AOAC, 2005) (ภาคผนวก ก. 1)

- ค่า pH ด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (ภาคผนวก ก. 2)

- ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble solids) ด้วยเครื่องรีแฟรกโตมิเตอร์ (AOAC, 2005) (ภาคผนวก ก. 3)

- ปริมาณของแข็งทั้งหมด (total solids) และปริมาณความชื้นโดยใช้ตู้อบลมร้อน (AOAC, 2005) (ภาคผนวก ก. 4)

- ปริมาณกรดอะมิโนทริปโตเฟน โดยใช้ HPLC (Tabata, Yamasaki และ Ogura, 2004; Nakamura, Iwaizumi และ Yamada, 2007) โดยส่งวิเคราะห์ที่ศูนย์ทดสอบและมาตรวิทยา สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (ภาคผนวก ก. 5)

- องค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ โปรตีน ไขมัน เถ้า เส้นใยอาหาร และคาร์โบไฮเดรต (AOAC, 2005) (ภาคผนวก ก. 6, ก. 7, ก. 8, ก. 9 และ ก. 10 ตามลำดับ)

3.6.2 ศึกษาสมบัติทางเคมีและกายภาพของ purée กล้วย

3.6.2.1 การเตรียม purée กล้วย

นำกล้วยแต่ละชนิด มาล้าง ปอกเปลือก นึ่งด้วยไอน้ำ (Hoan, 1991) ใช้อัตราส่วนกล้วยต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 4 จนอุณหภูมิกึ่งกลางผลเป็น 88 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ให้เย็น แช่กล้วยหอมและกล้วยไข่ลงในสารละลายโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ (ร้อยละ 0.25) นาน 3 นาที และแช่กล้วยน้ำว้าลงในสารละลายโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ (ร้อยละ 0.75) นาน 3 นาที (เบญจพร เพ็งอ้น, 2541) ใช้มีดผ่าครึ่งตามยาว แยกแกนกลางที่มีเมล็ดออก ชั่งน้ำหนักเนื้อกล้วยทั้งหมด ปั่นให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น พร้อมกับเติมน้ำ กรดซิตริก และกรดแอสคอร์บิก (ร้อยละ 15, 0.2 และ 0.05 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ) (Hoan, 1991) ลงในกล้วยแต่ละชนิด วัดค่า pH แล้วบดผ่านตะแกรงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.06 นิ้ว (เบญจมาศ ศิลาย้อย, 2545) บรรจุ purée กล้วยแต่ละชนิดลงในถุงพลาสติก HDPE สำหรับการศึกษาทางด้านจุลินทรีย์ถุงละ 50 กรัม และถุงละ 500 กรัม สำหรับผลิตโยเกิร์ต ปิดผนึกปากถุงด้วยเครื่องปิดผนึกแบบกึ่งอัตโนมัติ และแช่ถุงในน้ำเดือดนาน 10 นาที ทำให้เย็นโดยแช่ในน้ำเย็น และเก็บแบบแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปตรวจวิเคราะห์สมบัติทางด้านต่างๆ ต่อไป รายงานผลเป็นค่าเฉลี่ยจากการทำ 3 ซ้ำ

3.6.2.2 การวิเคราะห์และตรวจวัดสมบัติทางเคมีและกายภาพ

ตรวจวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 3.6.1.2 ยกเว้นไม่วิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนทริปโตเฟน

3.6.3 การประเมินค่า prebiotic activity scores ของกล้วยที่มีต่อจุลินทรีย์โพรไบโอติกต่างสายพันธุ์

3.6.3.1 จุลินทรีย์ที่ใช้และการเก็บรักษา

จุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ใช้ในการทดลองเป็นจุลินทรีย์ทางการค้าห้าสายพันธุ์ ได้แก่ *L. paracasei* Lpc-37, *L. acidophilus* NCFM® และ *L. acidophilus* La-14 (Danisco, USA) *L. acidophilus* LA-5® และ *B. animalis* BB-12® (Chr Hansen, Denmark) ทั้งหมดอยู่ในสภาพทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dried) แบบปลอดเชื้อ นำจุลินทรีย์

แต่ละสายพันธุ์มาเพาะเลี้ยงในหลอดอาหาร Lactobacilli de Man Rogosa Sharpe broth (Lactobacilli MRS broth) 5 มิลลิลิตร ที่อุณหภุมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปิเปตคัลเจอร์ลงในหลอดหมุนเหวี่ยงขนาดเล็ก (microcentrifuge tube) ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และเติมกลีเซอรอล ร้อยละ 30 เก็บที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้งาน

จุลินทรีย์ *E. coli* TISTR 780 (ใช้เป็นตัวแทนของจุลินทรีย์ที่อยู่ในระบบทางเดินอาหาร) ซึ่งอยู่ในรูปผงแห้งโดยวิธีการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งแบบปลอดเชื้อ นำมาเพาะเลี้ยงในหลอดอาหารเหลว tryptic soy broth (TSB) 5 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ให้อากาศโดยการเขย่า 200 รอบต่อนาที นาน 24 ชั่วโมง แล้ว streak ลงบนหลอดอาหารเอียง tryptic soy agar (TSA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในบรรยากาศปกติ นาน 24 ชั่วโมง แล้วเก็บแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะใช้งาน

3.6.3.2 **การเตรียมจุลินทรีย์**

นำจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่เก็บโดยวิธีแช่เยือกแข็งข้างต้น มา streak ลงบนอาหาร MRS แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในภาชนะบ่มจุลินทรีย์ชนิดไม่ต้องการอากาศ นาน 72 ชั่วโมง ใช้ลูป (loop) เขี่ยโคโลนีเดี่ยวส่วนบน 1 โคโลนี มาเพาะเลี้ยงในหลอดอาหารเหลว MRS 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในภาชนะบ่มจุลินทรีย์ชนิดไม่ต้องการอากาศสำหรับ *L. acidophilus* และ *Bifidobacterium* และที่บรรยากาศปกติสำหรับ *L. paracasei* เป็นเวลา18 ชั่วโมง แล้ววัดค่า optical density (O.D.) ที่ความยาวช่วงคลื่น 600 นาโนเมตร เทียบกับกราฟมาตรฐาน (standard curve) ดังแสดงในภาคผนวก ข. 1 เพื่อประเมินจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นสำหรับใช้ในการทดลอง

ส่วน *E. coli* TISTR 780 ที่เก็บด้วยวิธีแช่เย็นข้างต้น นำมา streak ลงบนอาหาร TSA แล้วบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ใช้ลูปเขี่ยโคโลนีเดี่ยวส่วนบน 1 โคโลนี มาเพาะเลี้ยงในหลอดอาหาร TSB 5 มิลลิลิตร ให้อากาศโดยการเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง แล้วถ่ายเชื้อ ร้อยละ 1 โดยปริมาตร จากอาหาร TSB ลงใน

อาหาร M9 minimal medium (ภาคผนวก ข. 2.1) 10 มิลลิลิตร แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ให้อากาศโดยการเขย่าหลอดทดลอง วัดค่า O.D. เทียบกับกราฟมาตรฐาน ปรับให้มีปริมาณเซลล์เริ่มต้น 8 $\log_{10}$CFU ต่อมิลลิลิตร

3.6.3.3 **การประเมินค่า** prebiotic activity scores

เตรียมอาหารสำหรับประเมินค่า prebiotic activity scores โดยเตรียมอาหาร MRS และ M9 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติมกลูโคส โอลิโกฟรุคโตส อินูลินสายกลาง อินูลินสายยาว purée กล้วยหอม purée กล้วยน้ำว้า หรือ purée กล้วยไข่ (จากข้อ 3.6.2.1) ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร นึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำจุลินทรีย์โพรไบโอติกแต่ละชนิด และ *E. coli* TISTR 780 ที่เตรียมจากข้อ 3.6.3.2 มาเพาะเลี้ยงในหลอดอาหารที่เตรียมข้างต้น โดยปิเปตคัลเจอร์จากข้อ 3.6.3.2 จำนวน 0.1 มิลลิลิตร ลงในหลอดอาหาร (ให้มีเซลล์เริ่มต้น 6 $\log_{10}$CFU ต่อมิลลิลิตร) ตรวจนับจุลินทรีย์เริ่มต้น แล้วนำหลอดอาหาร MRS มาเพาะเลี้ยงในภาชนะบ่มจุลินทรีย์ชนิดไม่ต้องการอากาศสำหรับ *L. acidophilus* และ *Bifidobacterium* และที่บรรยากาศปกติสำหรับ *L. paracasei* และหลอดอาหาร M9 มาเพาะเลี้ยงในบรรยากาศปกติที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจนับจุลินทรีย์หลังบ่ม 24 ชั่วโมง (แสดงในภาคผนวก ข. 3 และ ข. 4) ทดลอง 2 ซ้ำ

หลังจากการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติก (Dave และ Shah, 1996; Huebner, Wehling และ Hutkins, 2007) และ *E. coli* TISTR 780 (Huebner และคณะ, 2007; Thaiphanit และ Anprung, 2009) ที่เจริญในอาหาร MRS และ M9 ที่เติมสารอาหารต่างชนิดที่ 0 และ 24 ชั่วโมงแล้ว ประเมินค่า prebiotic activity scores ตามวิธีของ Huebner และคณะ (2007) (ดังแสดงในภาคผนวก ข. 5) โดยเปรียบเทียบอาหารที่เติม purée กล้วยกับอาหารที่เติมพรีไบโอติกทางการค้า และคัดเลือกอาหารที่เติม purée กล้วยที่มีค่า prebiotic activity score สูงที่สุด เพื่อใช้กำหนดชนิดของกล้วยที่เหมาะสมสำหรับใช้ในการผลิต purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก

3.6.4 การตรวจสอบการอยู่รอดของจุลินทรีย์โพรไบโอติกใน purée กล้วยในระหว่างการเก็บรักษา

3.6.4.1 การเตรียมเซลล์โพรไบโอติก

streak จุลินทรีย์โพรไบโอติกจากข้อ 3.6.3.1 ลงบนอาหาร MRS บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในภาชนะบ่มจุลินทรีย์ชนิดไม่ต้องการอากาศ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ใช้ลูปเขี่ยโคโลนีส่วนบน 1 โคโลนี เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว MRS 100 มิลลิลิตร แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในภาชนะบ่มจุลินทรีย์ชนิดไม่ต้องการอากาศ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วัดค่า O.D. ที่ความยาวช่วงคลื่น 600 นาโนเมตร เทียบกับกราฟมาตรฐาน เพื่อให้มีปริมาณเซลล์เริ่มต้น 9 $\log_{10}$CFU ต่อมิลลิลิตร นำไปหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียส และความเร็วรอบ 10,000 x g เป็นเวลา 15 นาที (Maragkoudakis และคณะ, 2006) ทิ้งส่วนใส แล้วล้างเซลล์ด้วยน้ำเกลือ (ความเข้มข้น ร้อยละ 0.85) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงให้เซลล์ตกตะกอน และล้างด้วยน้ำเกลืออีก 2 รอบ แล้วเติมน้ำเกลือ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เพื่อใช้สำหรับเป็น stock cultures ที่มีปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น 10 $\log_{10}$CFU ต่อมิลลิลิตร สำหรับนำไปผสมใน purée กล้วย เพื่อหาจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่อยู่รอดในระหว่างการเก็บรักษาต่อไป

3.6.4.2 การเตรียม purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก

บรรจุ purée กล้วยแต่ละชนิดที่ได้จากการเตรียมในข้อ 3.6.2.1 น้ำหนัก 10 กรัม ลงในถุงลามิเนตชนิด OPP/PE/AL/PE/LLDPE เติม stock cultures ที่มีปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น 10 $\log_{10}$CFU ต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตรลงไป ใช้มือคลึงภายนอกถุงให้กล้วยและเชื้อผสมกัน ปิดผนึกถุงด้วยเครื่องปิดผนึกสุญญากาศ เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน เพื่อตรวจติดตามกิจกรรมของจุลินทรีย์ ทดลอง 3 ซ้ำ

3.6.4.3 ตรวจติดตามกิจกรรมของจุลินทรีย์ในระหว่างการเก็บรักษา

- ตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติกในวันที่ 0, 7, 14 และ 21

- วิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมดโดยวิธีการไตเตรตในวันที่ 0, 7, 14 และ 21

- นำจุลินทรีย์โพรไบโอติกสายพันธุ์ที่เจริญได้ดี (จากการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์และปริมาณกรดทั้งหมด) ใน purée กล้วยแต่ละชนิดที่เก็บเป็นเวลา 21 วัน มาตรวจสอบสัณฐานวิทยาของเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope; SEM) (Betoret และคณะ, 2003; Kourkoutas และคณะ, 2005) โดยส่งวิเคราะห์ที่ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (ดังแสดงในภาคผนวก ข. 6)

3.6.5 ศึกษาหาชนิดและปริมาณของพรีไบโอติกที่เหมาะสมสำหรับเป็นสารทดแทนไขมันในการผลิตโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ต

3.6.5.1 การเตรียมนม

ใช้หางนมผงซึ่งมีปริมาณไขมัน ร้อยละ 0.52 โปรตีน ร้อยละ 34.3 และความชื้น ร้อยละ 3.69 โดยน้ำหนัก และนมผงไขมันเต็ม ซึ่งมีปริมาณไขมัน ร้อยละ 27.3 โปรตีน ร้อยละ 24.7 และความชื้น ร้อยละ 2.7 โดยน้ำหนัก เป็นวัตถุดิบในการเตรียมนมคืนรูป โดยกำหนดมาตรฐานนมที่จะเตรียมเพื่อใช้ผลิตโยเกิร์ตให้มีไขมัน ร้อยละ 1.5 โปรตีน ร้อยละ 4.5 โดยน้ำหนัก เมื่อคำนวณแล้วพบว่าต้องใช้หางนมผง 98.1 กรัม นมผงไขมันเต็ม 56.16 กรัม และน้ำ 901.9 กรัม เตรียมเป็นน้ำนมโดยละลายนมผงไขมันเต็มลงในน้ำ (คุณภาพน้ำดื่ม) อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยใช้เครื่องกวนสารค่อยๆ กวนน้ำพร้อมทั้งเติมนมผงลงไปทีละน้อย จนนมผงละลายหมดแล้วจึงเติมหางนมผงตามลงไป กวนจนส่วนผสมละลายเข้ากันหมด เก็บส่วนผสมไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทิ้งไว้ข้ามคืน (Sandoval-Castilla และคณะ, 2004) เพื่อให้นมผงดูดซับน้ำและละลายอย่างทั่วถึงและสมบูรณ์

3.6.5.2 การเตรียมจุลินทรีย์

เตรียมนมคืนรูป 1 ลิตร ตามข้อ 3.6.5.1 มาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วทำให้เย็นจนมีอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เทจุลินทรีย์โยเกิร์ต (YO-MIX™) ที่บรรจุจุลินทรีย์ทั้งหมด 200 DCU (Danisco Units) อยู่ในถุงลามิเนตลงไปในนม กวนผสมจนกระทั่งเข้ากันดี แบ่งใส่หลอดหมุนเหวี่ยงขนาดเล็ก ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เก็บที่อุณหภูมิ -37 องศาเซลเซียส สำหรับใช้เป็น stock cultures ของจุลินทรีย์โยเกิร์ตที่มีส่วนผสมของจุลินทรีย์ *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* โดยก่อนการผลิตโยเกิร์ตจะนำหัวเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ตออกมาจากตู้แช่แข็ง ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนานประมาณ 2 ชั่วโมงจนละลาย ก่อนนำไปใช้ในการผลิต

3.6.5.3 การผลิตโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติก

เติมน้ำตาลทรายร้อยละ 6 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (Sandoval-Castilla และคณะ, 2004) ลงในนมคืนรูป (3.6.5.1) แปรชนิดและปริมาณของพรีไบโอติก ได้แก่ ตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้เติมพรีไบโอติก ตัวอย่างที่เติมอินูลินสายยาว ร้อยละ 1, 2, และ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 1, 2, และ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ลงในนมที่ผ่านการปรับมาตรฐานแล้ว กวนให้ละลายในหม้อ 2 ชั้น โดยให้ความร้อนจนถึงอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน (homogenize) ด้วยเครื่องโฮโมจิไนซ์แบบมือถือที่ความเร็ว 16,000 รอบต่อนาที นาน 3 นาที และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที (Chandan และ O'Rell, 2006a) นำนมที่พาสจอไรซ์แล้วแช่ในน้ำเย็นจนถึงอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ใส่คัลเจอร์โยเกิร์ต ร้อยละ 2.5 โดยปริมาตร กวนผสมให้เข้ากันแล้วบรรจุลงในถ้วยแก้วสำหรับการวัดลักษณะเนื้อสัมผัสทางกายภาพ (170 กรัม) และสำหรับการวัดค่าความหนืดปรากฏ (60 กรัม) บรรจุลงในหลอดหมุนเหวี่ยงสำหรับการวัดค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (25 กรัม) บรรจุลงในถ้วยพลาสติกสำหรับการวิเคราะห์หาสมบัติทางกายภาพและเคมี (35 กรัม) และสำหรับการประเมินผลทางประสาทสัมผัส (30 กรัม) ปิดฝา และบ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส จนได้ pH 4.5 แล้วนำตัวอย่างมาเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

เพื่อใช้สำหรับการตรวจวัดและประเมินสมบัติด้านต่างๆ ต่อไป (Shihata และ Shah, 2002; Magenis และคณะ, 2006) ทดลอง 3 ซ้ำ

3.6.5.4 การวิเคราะห์และตรวจวัดสมบัติทางเคมีและกายภาพ

นำตัวอย่างที่เตรียมได้ไปตรวจสอบสมบัติต่างๆ ดังนี้

- ปริมาณกรดทั้งหมด โดยวิธีการไตเตรต
- ค่า pH ด้วยเครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง
- ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ด้วยเครื่องรีแฟรกโตมิเตอร์
- ปริมาณของแข็งทั้งหมด โดยใช้ตู้อบลมร้อน
- ค่าการแยกส่วนของของเหลว (syneresis) (Riener และคณะ, 2010) (ภาคผนวก ค. 1)
- ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity) (Sodini, Mattas และ Tong, 2006; Riener และคณะ, 2010) (ภาคผนวก ค. 2)
- ค่าความหนืดปรากฏ (apparent viscosity) ด้วยเครื่องวัดความหนืด (Li และ Guo, 2006; Maragkoudakis และคณะ, 2006) (ภาคผนวก ค. 3)
- ค่าความแน่นเนื้อ (firmness) และค่าความคงตัว (consistency) ด้วยเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (Hassan และคณะ, 1996b; Staffolo และคณะ, 2004) (ภาคผนวก ค. 4)

3.6.5.5 การประเมินสมบัติทางประสาทสัมผัส

ประเมินผลทางประสาทสัมผัสด้านความชอบของผู้บริโภคในวันที่ 4 ของการเก็บรักษาตัวอย่าง ได้แก่ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น ลักษณะเนื้อสัมผัส กลิ่นรส และความชอบโดยรวม โดยใช้สเกลความชอบ 7 คะแนน (7-point hedonic scale) (Larmond, 1977) ใช้ผู้ทดสอบทั่วไป (general consumers) จำนวน 42 คน (วิธีการประเมินและแบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสแสดงในภาคผนวก ง. 1 และ จ. 1)

3.6.6 ศึกษาสมบัติด้านต่าง ๆ ของโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกในระหว่างการเก็บรักษา

3.6.6.1 การเตรียมหัวเชื้อ

เตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่มีปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น 10 $\log_{10}$CFU ต่อมิลลิลิตร (ตามวิธีในข้อ 3.6.4.1) และนำหัวเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ตที่เตรียมไว้ในข้อ 3.6.5.2 ออกมาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องนานประมาณ 2 ชั่วโมง จนละลาย เพื่อใช้ในการผสมและเตรียมตัวอย่างโยเกิร์ต

3.6.6.2 การเตรียม purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก

คัดเลือกชนิดของ purée กล้วย ที่เหมาะสมโดยพิจารณาผลการทดลองจากข้อ 3.6.3 และ 3.6.4 บรรจุ purée กล้วย (ตามวิธีการเตรียมในข้อ 3.6.2.1) ปริมาณ 15 กรัม ลงในถ้วยแก้วที่มีความจุ 60 มิลลิลิตร (ที่ลวกด้วยน้ำร้อนแล้ว) สำหรับวิเคราะห์หาค่าความหนืดปรากฏ และปริมาณอย่างละ 10 กรัม ลงในถ้วยพลาสติกที่มีความจุ 55 มิลลิลิตร (ที่ลวกด้วยน้ำร้อนแล้ว) เพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์และตรวจสอบสมบัติทางจุลินทรีย์ เคมี กายภาพ และประสาทสัมผัส ปิดฝา และนึ่งด้วยไอน้ำเดือดนาน 30 นาที เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์หลังการบรรจุ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น เติมหัวเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกจากข้อ 3.6.6.1 ใส่ลงในถ้วยแก้วและพลาสติกที่บรรจุ purée กล้วยไว้แล้ว ให้แต่ละถ้วยมีปริมาณจุลินทรีย์โพรไบโอติกเริ่มต้นประมาณ 8 $\log_{10}$CFU ต่อกรัม ปิดฝา และรอการบรรจุนม

3.6.6.3 การเตรียมโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก

เตรียมนมสำหรับผลิตโยเกิร์ตตามข้อ 3.6.5.1 เติมน้ำตาลทราย ร้อยละ 6 โดยน้ำหนัก ใส่ชนิดและปริมาณของพรีไบโอติกที่คัดเลือกได้แล้วในข้อ 3.6.5 กวนผสมให้ละลายโดยให้ความร้อนแก่นมในหม้อ 2 ชั้น จนมีอุณหภูมิเท่ากับ 70 องศาเซลเซียส ทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องโฮโมจิไนซ์แบบมือถือที่ความเร็ว 16,000 รอบต่อนาที นาน 3 นาที พาสเจอไรซ์โดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที แช่ในน้ำเย็นจนอุณหภูมิ

ลดลงเป็น 45 องศาเซลเซียส ใส่หัวเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ตในข้อ 3.6.6.1 ร้อยละ 2.5 โดยปริมาตร ลงในนม กวนผสมให้เข้ากัน บรรจุส่วนผสมของนมที่มีเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ตที่ผสมเข้ากันดีแล้วนี้ลงในถ้วยแก้วและพลาสติกที่มี purée กล้วยซึ่งเติมจุลินทรีย์โพรไบโอติกอยู่ด้านล่างของถ้วยแล้วให้มีน้ำหนัก 45 กรัม (สำหรับวิเคราะห์หาค่าความหนืดปรากฏ) และน้ำหนักอย่างละ 30 กรัม (สำหรับการวิเคราะห์และตรวจสอบสมบัติทางจุลินทรีย์ เคมี กายภาพ และประสาทสัมผัส) ทั้งนี้ให้อัตราส่วนของ purée กล้วยและโยเกิร์ตเป็น 1:3 ปิดฝา (ที่ลวกด้วยน้ำร้อนแล้ว) และบ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส จนค่า pH เป็น 4.5 เก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทดลอง 3 ซ้ำ

3.6.6.4 การตรวจสอบสมบัติทางจุลินทรีย์

- ตรวจนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก ในวันที่ 0, 7, 14 และ 21
- ตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Dave และ Shah, 1997a, 1997b, 1997d) ในวันที่ 0, 7, 14 และ 21 (ภาคผนวก ข. 7)
- ตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ *Streptococcus thermophilus* (Birollo และคณะ, 2000; Gueimonde และคณะ, 2004) ในวันที่ 0, 7, 14 และ 21 (ภาคผนวก ข. 8)

3.6.6.5 การวิเคราะห์และตรวจวัดสมบัติทางเคมีและกายภาพ

วิเคราะห์และตรวจวัดสมบัติทางเคมีและกายภาพของตัวอย่างที่ผสมเข้ากันดีแล้วระหว่างโยเกิร์ตกับ purée กล้วย ตามข้อ 3.6.5.4 โดยมีการวิเคราะห์หาปริมาณทริปโตเฟนด้วยเครื่อง HPLC ในวันที่ 1 และ 21 เพิ่มเติม ทั้งนี้มิได้ตรวจวัดค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ และค่าลักษณะเนื้อสัมผัสทางกายภาพ

3.6.6.6 การประเมินสมบัติทางประสาทสัมผัส

ประเมินผลทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในวันที่ 0, 7, 14 และ 21 โดยวิธีวิเคราะห์ทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาแบบทั่วไป (generic descriptive analysis) (Larmond, 1977) ใช้ผู้ทดสอบที่ผ่าน

การฝึกฝน (trained panelists) จำนวน 12 คน ประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตทางด้านลักษณะปรากฏ ลักษณะเนื้อสัมผัส รส และกลิ่นรสในภาคผนวก ง. 2 โดยฝึกฝนผู้ประเมินให้รู้จักการใช้เทอมพรรณนาและตัวอย่างอ้างอิงตามระดับความเข้มจากสเกล 0-15 ในตารางที่ ง. 1 และ ง. 2 โดยใช้แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสในภาคผนวก จ. 2 ทดสอบ 2 ซ้ำ

ประเมินผลทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างในด้านการยอมรับของผู้บริโภคด้วยวิธีการทดสอบความชอบ โดยเก็บโยเกิร์ตไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน ใช้ผู้บริโภคทั่วไปจำนวน 50 คน ทำแบบสอบถามข้อมูลส่วนบุคคลและพฤติกรรมในการบริโภคโยเกิร์ต (ภาคผนวก จ. 3) และประเมินสมบัติด้านต่างๆ ได้แก่ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น ลักษณะเนื้อสัมผัส กลิ่นรส และความชอบโดยรวม ด้วย 7-point hedonic scale (ภาคผนวก จ. 4) และใช้ตัวอย่างโยเกิร์ตซึ่งมีน้ำหนักสุทธิ 40 กรัม (ประกอบด้วยโยเกิร์ตหนัก 30 กรัม อยู่ด้านบน และ purée กล้วยหนัก 10 กรัม อยู่ด้านล่างของถ้วยพลาสติกที่มีขนาดความจุ 55 มิลลิลิตร) มีอุณหภูมิขณะเสิร์ฟไม่เกิน 10 องศาเซลเซียส พร้อมทั้งกำกับรหัสตัวอย่างด้วยเลขสุ่ม 3 หลัก

3.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลการวิเคราะห์สมบัติทางจุลินทรีย์ เคมี และกายภาพ วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design และข้อมูลจากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยวิธีการประเมินความชอบของผู้บริโภค และแบบพรรณนาเชิงปริมาณ วางแผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS version 17 (SPSS Inc., Chicago, IL) เพื่อวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างทรีทเมนต์ โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (Hicks และ Turner, 1999)

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 สมบัติทางเคมีและกายภาพของกล้วย

ในการผลิต purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก ได้นำกล้วยสามชนิด ได้แก่ กล้วยหอมทอง กล้วยน้ำว้า และกล้วยไข่ ซึ่งเป็นที่นิยมบริโภคกันมากมาผลิต purée กล้วย เพื่อคัดเลือกชนิดของกล้วยที่มีคุณสมบัติเหมาะสมเป็นอาหารสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์กลุ่มดังกล่าว และเพื่อใช้เป็น fruit base สำหรับการผลิตโยเกิร์ตชนิดเซ็ตซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์เป้าหมาย โดยศึกษาสมบัติทางเคมีของกล้วยแต่ละชนิดซึ่งมีความสุกในระยะที่ 7 คือ เปลือกกล้วยมีสีเหลืองเริ่มมีจุดสีน้ำตาล (CSIRO, 1972) ซึ่งเป็นระยะที่เหมาะสมในการผลิต purée นำมาปอกเปลือก ตัดเอาเฉพาะส่วนเนื้อกล้วย บดให้ละเอียด วิเคราะห์และตรวจวัดสมบัติทางเคมีและกายภาพของกล้วย ได้แก่ ปริมาณกรดทั้งหมด ค่า pH ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณของแข็งทั้งหมด และปริมาณความชื้น ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.1 รวมทั้งวิเคราะห์องค์ประกอบของกล้วย ได้แก่ ปริมาณทริปโตเฟน โปรตีน ไขมัน เถ้า ใยอาหาร และคาร์โบไฮเดรต ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.2

จากผลการทดลองพบว่าปริมาณกรดทั้งหมด ค่า pH ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณของแข็งทั้งหมด และปริมาณความชื้นแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยกล้วยน้ำว้ามีปริมาณกรดทั้งหมด (ในรูปกรดมาลิก) สูงที่สุด (ร้อยละ 0.54) ส่วนกล้วยหอมทอง และกล้วยไข่มีปริมาณกรดทั้งหมดไม่แตกต่างกัน (ร้อยละ 0.34 และ 0.36 ตามลำดับ) หรืออาจกล่าวได้ว่ากล้วยน้ำว้า กล้วยหอมทอง และกล้วยไข่มีปริมาณกรดทั้งหมด (คำนวณในรูปของกรดซิตริก) เท่ากับ 0.56, 0.36 และ 0.38 ซึ่งค่อนข้างสูงกว่าผลวิจัยของเบญจพร เพ็งอ้น (2541) เล็กน้อย ที่พบว่ากล้วยน้ำว้ามีปริมาณกรดทั้งหมด (ในรูปของกรดซิตริก) มากที่สุด (ร้อยละ 0.44) รองลงมาคือ กล้วยหอมและกล้วยไข่ (ร้อยละ 0.30 และ 0.20) ตามลำดับ อาจเนื่องจาก

ตารางที่ 4.1 สมบัติทางเคมีและกายภาพของกล้วยต่างชนิด

ชนิดกล้วย	ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน				
	กรดทั้งหมด[1] (ร้อยละ)	pH	ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (องศาบริกซ์)	ของแข็งทั้งหมด (ร้อยละ)	ความชื้น (ร้อยละ)
กล้วยหอมทอง	0.34±0.06[b]	5.19±0.26[a]	22.50±0.55[c]	23.79±0.78[b]	76.21±0.78[a]
กล้วยน้ำว้า	0.54±0.05[a]	4.65±0.18[b]	24.0±1.14[b]	27.62±0.64[a]	72.38±0.64[b]
กล้วยไข่	0.36±0.09[b]	5.29±0.12[a]	26.0±1.64[a]	27.41±0.40[a]	72.59±0.40[b]

[1] กรดทั้งหมดแสดงในรูปกรดมาลิก

[a,b...] ตัวอักษรที่ต่างกันภายในแนวตั้งแสดงว่ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

สภาพภูมิอากาศ แหล่งพื้นที่เพาะปลูก ดิน และปุ๋ยที่แตกต่างกัน (Charoensiri และคณะ, 2009) แต่จากการสังเกตผลการทดลองสอดคล้องกันในแง่ที่ว่าปริมาณกรดที่ไตเตรตได้ในกล้วยน้ำว้ามีค่าสูงมากที่สุด และมีงานวิจัยของ Cano และคณะ (1997) ได้รายงานปริมาณกรดที่ไตเตรตได้ (ในรูปของกรดซิตริก) ในกล้วยสายพันธุ์ Spanish Enana, Spanish Gran Enana และ Latin-American พบว่าปริมาณกรดใกล้เคียงกัน คือ ร้อยละ 0.50, 0.35 และ 0.35 ตามลำดับ นอกจากนี้ Shukla, Sharma และ Singh (2003) ยังพบปริมาณกรด (ในรูปของกรดซิตริก) ร้อยละ 0.36 ด้วยเช่นกัน ซึ่งเนื้อกล้วยโดยทั่วไปจะมีปริมาณกรดสูงสุดเมื่อผลกำลังจะสุกหรือระยะหลังจากนั้นเล็กน้อย ต่อมาปริมาณกรดจะลดลงตลอดเวลา กล้วยดิบจะมีกรดออกซาลิคมากที่สุด รองลงมาเป็นกรดมาลิค และกรดซิตริก และเมื่อกล้วยสุกปริมาณกรดออกซาลิคจะลดลง ในขณะที่กรดมาลิคมีปริมาณมากที่สุด นอกจากนี้ยังมีกรดอื่นๆ อีกบ้าง เช่น glyceric, glycolic, succinic, keto-, quinic และ shikimic เป็นต้น (เกศิณี ระมิงค์วงศ์, 2528)

ค่า pH ของกล้วยน้ำว้าต่ำที่สุด (4.65) ส่วนกล้วยหอมทอง และกล้วยไข่มีค่า pH ไม่แตกต่างกัน (5.19 และ 5.29 ตามลำดับ) ซึ่งตรงกับรายงานวิจัยของเบญจพร เพ็งอ้น (2541) ที่พบว่ากล้วยน้ำว้ามีค่า pH ต่ำที่สุด (4.46) ส่วนกล้วยหอมทอง และกล้วยไข่มีค่า pH เป็น 5.10 และ 5.22 ตามลำดับ มีรายงานของ Cano และคณะ (1997) พบว่าค่า pH ของกล้วยสายพันธุ์ Spanish Enana, Spanish Gran Enana และ Latin-American อยู่ในช่วงใกล้เคียงกัน คือ 4.74-4.91 และ Shukla และคณะ (2003) ได้รายงานว่าเนื้อกล้วยมีค่า pH เท่ากับ 5.01 ส่วนเกศิณี ระมิงค์วงศ์ (2528) ได้รายงานว่าเนื้อผลดิบมีค่า pH ประมาณ 5.0-5.8 และเมื่อสุกจะมีค่าประมาณ 4.2-4.8 จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าค่า pH ของกล้วยสุกขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของกล้วยและมีความสัมพันธ์กับปริมาณกรดในเนื้อกล้วย

ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในกล้วยไข่มีปริมาณสูงที่สุด (26.0 องศาบริกซ์) รองลงมาคือ กล้วยน้ำว้า (24.0 องศาบริกซ์) และสุดท้ายคือ กล้วยหอมทอง (22.5 องศาบริกซ์) จากรายงานวิจัยของเบญจพร เพ็งอ้น (2541) พบว่ากล้วยไข่ กล้วยน้ำว้า และกล้วยหอมมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 23.0, 26.5 และ 21.5 องศาบริกซ์ ตามลำดับ แม้ปริมาณที่ได้จะแตกต่างกันบ้าง แต่เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ซึ่งมีตัวเลขสูงกว่างานวิจัยนี้มาก) ในผลวิจัยดังกล่าวไปพร้อมกัน จะเห็นได้ว่ากล้วยทั้งสามสายพันธุ์ที่ปลูกในประเทศไทยมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดค่อนข้างสูงที่ระดับมากกว่าร้อยละ 21 มีรายงานของ Wall (2006) พบว่ากล้วยสายพันธุ์ Dwarf Brazilian และ Williams มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 17.9 และ 20.5 ตามลำดับ และ Shukla และคณะ (2003) ได้รายงานว่าเนื้อกล้วยในประเทศอินเดียสำหรับทำเครื่องดื่มน้ำผลไม้ผสมนมมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 18.72 องศาบริกซ์ ทั้งนี้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดแตกต่างกันอาจเป็นผลเนื่องมาจากสายพันธุ์ของกล้วย (Cano และคณะ, 1997)

ของแข็งทั้งหมดในกล้วยไข่ และกล้วยน้ำว้ามีปริมาณไม่แตกต่างกัน (ร้อยละ 27.41 และ 27.62 ตามลำดับ) และกล้วยหอมทองมีปริมาณของแข็งทั้งหมดน้อยที่สุด (ร้อยละ 23.79) ซึ่งปริมาณของแข็งในกล้วยทั้งสามชนิดมีค่าใกล้เคียงกับกล้วยสายพันธุ์ Spanish Enana, Spanish Gran Enana และ Latin-American ที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 26.76, 25.96 และ 23.95 ตามลำดับ (Cano และคณะ, 1997) จากผลการทดลองครั้งนี้พบว่ากล้วยหอมทองมีปริมาณของแข็งทั้งหมดน้อยกว่ากล้วยน้ำว้าและกล้วยไข่ ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในกล้วยทั้งสามชนิด (จากผลการทดลองที่ผ่านมา) สาเหตุที่กล้วยหอมทองมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และของแข็งทั้งหมดน้อยกว่ากล้วยอีกสองชนิด น่าจะเนื่องมาจากกล้วยหอมทองมีปริมาณความชื้นมากกว่ากล้วยน้ำว้าและกล้วยไข่อยู่มาก และกล้วยทั้งสองชนิดหลังนี้มีปริมาณความชื้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญและมีค่าใกล้เคียงกันมาก (ดังแสดงในตารางที่ 4.2) ดังนั้นเมื่อคิดเทียบสัดส่วนเป็นร้อยละโดยน้ำหนักของเนื้อกล้วย จึงทำให้กล้วยหอมทองมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และของแข็งทั้งหมดน้อยกว่ากล้วยชนิดอื่น

ปริมาณความชื้นสูงในกล้วยหอมทองมีมากที่สุด (ร้อยละ 76.21) ส่วนกล้วยไข่ และกล้วยน้ำว้ามีปริมาณความชื้นไม่แตกต่างกัน (ร้อยละ 72.59 และ 72.38 ตามลำดับ) ปริมาณความชื้นที่วิเคราะห์ได้ในกล้วยหอมทองมีค่าใกล้เคียงกับรายงานวิจัยของเบญจพร เพ็งอ้น (2541) ที่พบว่ากล้วยหอมมีปริมาณความชื้นสูงที่สุด คือ ร้อยละ 76.68 ส่วนกล้วยไข่ และกล้วยน้ำว้ามีปริมาณความชื้น ร้อยละ 70.15 และ 64.78 ตามลำดับ และปริมาณความชื้นในกล้วยหอมทองยังใกล้เคียงกับกล้วยสายพันธุ์ Williams ที่มีปริมาณความชื้น ร้อยละ 73.8 และกล้วยสายพันธุ์ Dwarf Brazilian มีปริมาณความชื้นน้อยที่สุด คือ ร้อยละ 68.5 (Wall, 2006) จากผลการทดลองนี้จะเห็นได้ว่าปริมาณความชื้นในกล้วยหอมทองมีค่าสูงที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และปริมาณของแข็งทั้งหมดซึ่งมีค่าต่ำที่สุด การที่ปริมาณความชื้นและของแข็งในเนื้อของผลมีค่าแตกต่างกันเนื่องจากกระบวนทางชีวเคมีหลายประการ เช่น การคายน้ำ การย่อยแป้ง และการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลชนิดต่างๆ การเกิดออสโมซิส และการหายใจ ซึ่งเกิดขึ้นภายหลังการเก็บเกี่ยวผลกล้วย (เกศิณี ระมิงค์วงศ์, 2528)

ตารางที่ 4.2 องค์ประกอบของกล้วยต่างชนิด

ชนิดกล้วย	ทริปโตเฟน[1] (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม)	ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)				
		โปรตีน	ไขมัน	เถ้า [ns]	เส้นใยอาหาร [ns]	คาร์โบไฮเดรต
กล้วยหอมทอง	8.06	3.63±0.17[b]	0.42±0.03[b]	0.99±0.07	7.75±0.17	18.75±0.58[c]
กล้วยน้ำว้า	6.36	3.53±0.03[b]	0.66±0.07[a]	0.88±0.04	8.34±0.57	22.55±0.57[a]
กล้วยไข่	5.75	4.87±0.07[a]	0.75±0.06[a]	0.89±0.03	8.30±0.60	20.90±0.41[b]

[1] ค่าเฉลี่ยไม่ได้วิเคราะห์ทางสถิติ

[ns] ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$)

[a,b...] ตัวอักษรที่ต่างกันภายในแนวตั้งแสดงว่ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

สำหรับงานวิจัยนี้ต้องการหาปริมาณทริปโตเฟนซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่จำเป็นชนิดหนึ่งที่มีอยู่ในกล้วย และเป็นสารตั้นต้นในการเปลี่ยนไปเป็น serotonin ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมระบบการทำงานต่างๆ ของร่างกาย จากผลการทดลองในตารางที่ 4.2 จะเห็นได้ว่าปริมาณทริปโตเฟนในกล้วยหอมทอง กล้วยน้ำว้า และกล้วยไข่มีค่า 8.06, 6.36 และ 5.75 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตามลำดับ และจากรายงานของ U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service (2010) แสดงไว้ว่ากล้วยสายพันธุ์ *Musa acuminata Colla* มีปริมาณทริปโตเฟน 9 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม จากการทดลองจะเห็นได้ว่าปริมาณทริปโตเฟนที่วิเคราะห์ได้ในกล้วยทั้งสามชนิดมีปริมาณน้อยกว่าที่พบในงานวิจัยอื่นเล็กน้อย อาจเนื่องจากวิธีเตรียมตัวอย่าง สารละลายมาตรฐาน และ mobile phase รวมทั้งคอลัมน์ และสภาวะในการใช้เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์แตกต่างกัน นอกจากนี้สายพันธุ์ และระยะความสุกของกล้วยที่แตกต่างกัน อาจมีผลทำให้ปริมาณทริปโตเฟนแตกต่างกันได้ ซึ่งมีรายงานของ Helander และคณะ (1992) พบว่าเมื่อกล้วยสุกได้ที่พอดีจะมีปริมาณทริปโตเฟนประมาณ 29.0 ไมโครกรัมต่อกรัม และเมื่อสุกมากขึ้นจะมีปริมาณทริปโตเฟนลดลงเหลือ 24.3 ไมโครกรัมต่อกรัม เป็นต้น นอกจากนั้นยังเป็นที่รู้กันดีโดยทั่วไปว่าผลการวิเคราะห์เกี่ยวกับองค์ประกอบทางเคมี และปริมาณของสารประกอบเคมีที่จำเพาะซึ่งพบในพืชชนิดเดียวกันแต่ต่างสายพันธุ์ยังมีความแปรผันได้มาก และขึ้นกับแหล่งปลูก ฤดูกาลเพาะปลูกและการเก็บเกี่ยว และสภาพภูมิประเทศในแต่ละท้องที่อีกด้วย (Charoensiri และคณะ, 2009)

กล้วยทั้งสามชนิดมีปริมาณโปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยพบว่าปริมาณโปรตีนในกล้วยไข่สูงที่สุด (ร้อยละ 4.87) ส่วนกล้วยหอมทอง และกล้วยน้ำว้ามีปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกัน (ร้อยละ 3.63 และ 3.53 ตามลำดับ) ซึ่งค่าที่วิเคราะห์ได้ค่อนข้างสูงกว่ารายงานของกองโภชนาการ, กรมอนามัย (2535) ที่พบว่ากล้วยไข่ กล้วยหอมทอง และกล้วยน้ำว้ามีโปรตีน ร้อยละ 1.5, 1.1 และ 0.9 (โดยน้ำหนักสด) ตามลำดับ ค่าที่ต่างกันนี้เกิดขึ้นเนื่องจากร้อยละโดยน้ำหนักแห้งและน้ำหนักสดที่แตกต่างกัน และอาจเนื่องมาจากระยะความสุกของกล้วยที่ใช้แตกต่างกัน ซึ่งกล้วยสุกจะมีการสังเคราะห์โปรตีน และมีเอนไซม์เพิ่มมากขึ้น (Stover และ Simmonds, 1987) กล้วยที่สุกมากจะมีกรดอะมิโนอิสระ

มากกว่ากล้วยดิบ (จาก 330-750 เป็น 2,700-3,500 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม) โดยเฉพาะฮิสติดีน แอสพาราจีน และกลูตามีน (Robinson, 1996) จึงอาจส่งผลให้กล้วยที่ใช้ในการทดลองนี้มีปริมาณโปรตีนซึ่งวิเคราะห์จากปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดสูงกว่างานวิจัยอื่นๆ แต่อย่างไรก็ตาม ผลจากการทดลองก็ยังสอดคล้องกับงานวิจัยอื่นๆ ในแง่ที่ว่ากล้วยไข่มีปริมาณโปรตีนสูงที่สุด

ไขมันในกล้วยน้ำว้า และกล้วยไข่มีปริมาณไม่แตกต่างกัน (ร้อยละ 0.66 และ 0.75 ตามลำดับ) และกล้วยทั้งสองชนิดมีปริมาณไขมันที่สูงกว่ากล้วยหอมทอง (ร้อยละ 0.42) ซึ่งปริมาณไขมันที่วิเคราะห์ได้ในกล้วยทั้งสามชนิดนี้มีค่าค่อนข้างใกล้เคียงกับรายงานของเบญจมาศ ศิลาย้อย (2545) ที่ว่ากล้วยน้ำว้า กล้วยไข่ และกล้วยหอมทองมีปริมาณไขมัน ร้อยละ 0.76, 0.84 และ 0.73 ตามลำดับ ในขณะที่กองโภชนาการ, กรมอนามัย (2535) พบว่ากล้วยทุกชนิดมีปริมาณไขมัน ร้อยละ 0.2

ปริมาณคาร์โบไฮเดรตในกล้วยน้ำว้ามีสูงที่สุด (ร้อยละ 22.55) แม้ค่าทางสถิติจะไม่แตกต่างจากกล้วยไข่ (ร้อยละ 20.90) และสุดท้ายได้แก่ กล้วยหอมทอง (ร้อยละ 18.75) ซึ่งใกล้เคียงกับรายงานของเบญจมาศ ศิลาย้อย (2545) ซึ่งพบว่ากล้วยน้ำว้ามีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงที่สุดเช่นกัน (ร้อยละ 22.21) ส่วนกล้วยไข่ และกล้วยหอมทองมีร้อยละ 18.41 และ 18.42 ตามลำดับ ส่วนปริมาณเถ้า และปริมาณเส้นใยอาหารในกล้วยทั้งสามชนิดพบว่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ดังนั้นจึงสรุปได้ว่ากล้วยทั้งสามชนิดมีสมบัติทางเคมีและกายภาพที่แตกต่างกัน ได้แก่ ปริมาณกรดทั้งหมด ค่า pH ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และปริมาณของแข็งทั้งหมด รวมทั้งปริมาณความชื้น โปรตีน ไขมัน และคาร์โบไฮเดรต โดยพบว่ากล้วยหอมทองมีปริมาณความชื้นสูงที่สุด กล้วยน้ำว้ามีปริมาณกรดทั้งหมด ของแข็งทั้งหมด และคาร์โบไฮเดรตสูงที่สุด ส่วนกล้วยไข่มีค่า pH ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด โปรตีน และไขมันสูงที่สุด ส่วนปริมาณของแข็งทั้งหมดมีค่าสูงเป็นลำดับที่สองแต่ไม่แตกต่างจากกล้วยน้ำว้า อนึ่งกล้วยหอมทองมีปริมาณกรดอะมิโนทริปเฟนสูงกว่ากล้วยอีกสองชนิด

4.2 สมบัติทางเคมีและกายภาพของ purée กล้วย

จากการทดลองที่ผ่านมาได้ศึกษาสมบัติทางเคมีและกายภาพของกล้วยทั้งสามชนิด เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิต purée กล้วย ขั้นตอนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสมบัติทางเคมีและกายภาพของ purée กล้วยทั้งสามชนิดเพื่อใช้เป็นอาหารสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกและเป็น fruit base สำหรับผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่จะพัฒนาขึ้น โดยนำกล้วยหอมทอง กล้วยน้ำว้า และกล้วยไข่ที่สุกในระยะที่ 7 (CSIRO, 1972) ปอกเปลือก นึ่งด้วยไอน้ำ ปั่นพร้อมกับเติมกรดซิตริก และกรดแอสคอร์บิก (ร้อยละ 0.2 และ 0.05 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ) เพื่อป้องกันการเกิดสีน้ำตาล พาสเจอไรซ์ และเก็บแบบแช่เยือกแข็งเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ วิเคราะห์และตรวจสอบสมบัติทางเคมีและกายภาพ ได้แก่ ปริมาณกรดทั้งหมด ค่า pH ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ของแข็งทั้งหมด ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า เส้นใยอาหาร และคาร์โบไฮเดรต ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.3 และ 4.4

ตารางที่ 4.3 สมบัติทางเคมีและกายภาพของ purée กล้วยต่างชนิด

purée	ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน				
	กรดทั้งหมด[1] (ร้อยละ)	pH	ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (องศาบริกซ์)	ของแข็งทั้งหมด (ร้อยละ)	ความชื้น (ร้อยละ)
กล้วยหอมทอง	0.52±0.02[b]	4.50±0.05[b]	19.0±0.76[b]	20.84±0.14[b]	79.16±0.14[a]
กล้วยน้ำว้า	0.57±0.02[a]	4.35±0.04[c]	21.0±1.29[a]	22.52±1.02[a]	77.47±1.02[b]
กล้วยไข่	0.49±0.03[b]	4.60±0.04[a]	21.0±0.93[a]	23.47±0.88[a]	76.53±0.88[b]

[1] กรดทั้งหมดแสดงในรูปกรดมาลิก

[a,b...] ตัวอักษรที่ต่างกันภายในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ปริมาณกรดทั้งหมด ค่า pH ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณของแข็งทั้งหมด และปริมาณความชื้นใน purée กล้วยทั้งสามชนิดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดย purée กล้วยน้ำว้ามีปริมาณกรดทั้งหมด (ในรูปกรดมาลิก) สูงที่สุด (ร้อยละ 0.57) purée กล้วยหอมทอง และ purée กล้วยไข่มีปริมาณกรดทั้งหมดไม่แตกต่างกัน (ร้อยละ 0.52 และ 0.49 ตามลำดับ) หรืออาจกล่าวได้ว่า purée กล้วยน้ำว้า กล้วยหอมทอง และกล้วยไข่มีปริมาณกรดทั้งหมด (ในรูปกรดซิตริก) เป็นร้อยละ 0.60, 0.54 และ 0.51 ตามลำดับ ซึ่งปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรตได้สูงกว่างานวิจัยของเบญจพร เพ็งอ้น (2541) เล็กน้อย ที่พบว่า purée กล้วยน้ำว้า กล้วยหอม และกล้วยไข่ที่ได้จากการผ่านขั้นตอนการแช่ในสารละลายโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์และมีการเติมกรดแอสคอร์บิค มีปริมาณกรดทั้งหมด (ในรูปกรดซิตริก) ร้อยละ 0.55, 0.49 และ 0.49 ตามลำดับ ทั้งนี้ค่าที่ได้จากผลการทดลองนี้สูงกว่าเล็กน้อย อาจเนื่องมาจากปริมาณกรดทั้งหมดใน purée กล้วยสอดคล้องไปในทิศทางเดียวกับปริมาณกรดทั้งหมดในกล้วยวัตถุดิบซึ่งสูงกว่าเล็กน้อยเช่นกัน โดยกล้วยน้ำว้าที่ใช้เป็นวัตถุดิบมีปริมาณกรดทั้งหมดสูงสุด (ร้อยละ 0.54 ในรูปกรดมาลิก หรือร้อยละ 0.56 ในรูปกรดซิตริก) แต่กล้วยหอมทอง และกล้วยไข่ที่ใช้เป็นวัตถุดิบมีปริมาณกรดทั้งหมดไม่แตกต่างกัน (ร้อยละ 0.34 และ 0.36 ตามลำดับ ในรูปกรดมาลิก หรือร้อยละ 0.36 และ 0.38 ตามลำดับ ในรูปกรดซิตริก) และจากผลการทดลองจะพบว่า purée กล้วยน้ำว้ามีปริมาณกรดทั้งหมดสูงที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณกรดทั้งหมดในวัตถุดิบด้วย นอกจากนี้ยังจะเห็นได้ว่าปริมาณกรดทั้งหมดใน purée กล้วยทั้งสามชนิดมีมากกว่าวัตถุดิบ เนื่องจากในการผลิต purée มีการปรับค่า pH ให้ต่ำลงโดยการเติมกรดเป็นร้อยละโดยน้ำหนักเท่ากัน เพื่อป้องกันปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล

pH ของ purée กล้วยน้ำว้ามีค่าต่ำที่สุด คือ 4.35 ส่วนกล้วยหอมทอง และกล้วยไข่มีค่า pH สูงกว่า คือ 4.50 และ 4.60 ตามลำดับ ซึ่งค่าที่ได้สูงกว่างานวิจัยของเบญจพร เพ็งอ้น (2541) เล็กน้อย ที่พบว่า purée กล้วยน้ำว้า กล้วยหอม และกล้วยไข่มีค่า pH เป็น 4.10, 4.17 และ 4.14 ตามลำดับ เนื่องจากในงานวิจัยนี้ได้ปรับค่า pH ให้ต่ำลง โดยเติมกรดซิตริก ร้อยละ 0.2 และกรดแอสคอร์บิก ร้อยละ 0.05 โดยน้ำหนักที่เท่ากัน แต่ในงานวิจัยดังกล่าว purée กล้วยทั้งสามชนิดมีการเติมกรดแอสคอร์บิกและปรับ pH ให้มีค่าเท่ากันอยู่ในช่วง 4.1-4.2 ด้วยกรดซิตริก จึงทำให้ค่า

pH ที่ได้จากงานวิจัยนี้สูงกว่าเล็กน้อย และจะเห็นได้ว่า purée กล้วยน้ำว้ามีค่า pH ต่ำกว่า กล้วยชนิดอื่น เนื่องจากวัตถุดิบที่ใช้มีค่า pH ต่ำกว่า เมื่อเติมกรดซิตริกและกรดแอสคอร์บิกในปริมาณร้อยละโดยน้ำหนักที่เท่ากันแล้ว จึงทำให้ค่า pH ใน purée กล้วยน้ำว้าต่ำกว่ากล้วยชนิดอื่นๆ นอกจากนี้ค่า pH ที่ได้ยังมีความสัมพันธ์ในทิศทางตรงกันข้ามกับปริมาณกรดทั้งหมดที่มีอยู่ใน purée กล้วยทั้งสามชนิดด้วย

ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดใน purée กล้วยน้ำว้า และ purée กล้วยไข่มีค่าไม่แตกต่างกัน (21 องศาบริกซ์) แต่สูงกว่ากล้วยหอมทอง (19 องศาบริกซ์) ซึ่งมีงานวิจัยของเบญจพร เพ็งอ้น (2541) ที่พบว่า purée กล้วยน้ำว้า กล้วยไข่ และกล้วยหอมที่ได้ผ่านขั้นตอนการแช่ในสารละลายโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์และมีการเติมกรดแอสคอร์บิคแล้ว มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเป็น 22, 16 และ 12 องศาบริกซ์ ตามลำดับ จะเห็นผลการทดลองที่สอดคล้องกันได้ว่า purée กล้วยน้ำว้า และ purée กล้วยไข่มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดสูงกว่า purée กล้วยหอมซึ่งมีปริมาณต่ำที่สุด ซึ่งอาจอธิบายได้ว่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดใน purée กล้วยมีค่าเปลี่ยนไปในทิศทางเดียวกับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่อยู่ในวัตถุดิบ แต่มีค่าน้อยกว่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดใน purée กล้วย เนื่องจากในขั้นตอนการผลิต purée มีการเติมน้ำ (ในรูปสารละลายกรด) เพิ่มขึ้นร้อยละ 15 โดยน้ำหนักที่เท่ากัน

ปริมาณของแข็งทั้งหมดใน purée กล้วยไข่มีค่ามากที่สุด (ร้อยละ 23.47) รองลงมาได้แก่ purée กล้วยน้ำว้า และ purée กล้วยหอมทอง (ร้อยละ 22.52 และ 20.84 ตามลำดับ) เนื่องจาก purée กล้วยไข่มีปริมาณความชื้นน้อยที่สุด และ purée กล้วยหอมทองมีปริมาณความชื้นสูงที่สุด (ดังแสดงในตารางที่ 4.4) ดังนั้นเมื่อคิดเป็นสัดส่วนร้อยละโดยน้ำหนักของเนื้อกล้วย จึงทำให้ purée กล้วยไข่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดสูงที่สุด และ purée กล้วยหอมทองมีปริมาณของแข็งทั้งหมดต่ำที่สุด

ปริมาณความชื้นใน purée กล้วยหอมทองมีค่าสูงที่สุด (ร้อยละ 79.16) รองลงมาคือ purée กล้วยน้ำว้า และ purée กล้วยไข่ (ร้อยละ 77.47 และ 76.53 ตามลำดับ) ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ มีรายงานของเบญจพร เพ็งอ้น (2541) ที่พบปริมาณความชื้นใน purée กล้วยหอม กล้วยน้ำว้า และกล้วยไข่มีค่าร้อยละ 83.40, 75.55 และ 81.42 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าแม้ปริมาณความชื้นในงานวิจัยนี้และงานวิจัยอื่นจะแตกต่างกันเล็กน้อย แต่ปริมาณความชื้นใน purée กล้วยหอมที่มีค่าสูงที่สุด ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกัน นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณความชื้นใน purée กล้วยทั้งสามชนิดมีความสัมพันธ์ในทิศทางตรงกันข้ามกับปริมาณของแข็งทั้งหมดใน purée กล้วยอีกด้วย

ตารางที่ 4.4 องค์ประกอบของ purée กล้วยต่างชนิด

purée	ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)				
	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า[ns]	เส้นใยอาหาร[ns]	คาร์โบไฮเดรต[ns]
กล้วยหอมทอง	3.85±0.32[b]	0.16±0.01[c]	0.74±0.03	7.88±0.40	16.09±0.43
กล้วยน้ำว้า	3.95±0.17[b]	0.31±0.03[b]	0.71±0.04	8.71±0.52	17.56±1.18
กล้วยไข่	5.39±0.02[a]	0.41±0.09[a]	0.66±0.04	8.46±0.42	17.01±0.95

[ns] ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$)

[a,b...] ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

สำหรับการวิเคราะห์หาองค์ประกอบของ purée กล้วยทั้งสามชนิด พบว่าปริมาณโปรตีนและไขมันมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กล่าวคือ ปริมาณโปรตีนใน purée กล้วยไข่มีค่าสูงที่สุด (ร้อยละ 5.39) และสูงกว่า purée กล้วยน้ำว้า และ purée กล้วยหอมทอง ซึ่งมีปริมาณโปรตีนไม่แตกต่างกัน (ร้อยละ 3.95และ 3.85 ตามลำดับ) ผลวิเคราะห์ที่ได้

เช่นนี้ก็เนื่องจากเนื้อกล้วยไข่ที่ใช้เป็นวัตถุดิบมีปริมาณโปรตีนสูงกว่ากล้วยอีกสองชนิด ส่วนปริมาณไขมันใน purée กล้วยทั้งสามชนิดเรียงลำดับจากมากไปน้อย คือ กล้วยไข่ กล้วยน้ำว้า และกล้วยหอมทอง (ร้อยละ 0.41, 0.31 และ 0.16 ตามลำดับ) ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณไขมันในกล้วยที่ใช้เตรียม purée เช่นกัน ส่วนปริมาณเถ้า เส้นใยอาหาร และคาร์โบไฮเดรตไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ทั้งนี้เนื่องจากวัตถุดิบมีปริมาณเถ้า และเส้นใยอาหารไม่แตกต่างกัน แต่มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกันเล็กน้อย เมื่อนำมาผลิต purée กล้วยโดยการเติมสารละลายกรดเพิ่มขึ้น ปริมาณเส้นใยอาหารไม่เปลี่ยนแปลง แต่ปริมาณเถ้า และคาร์โบไฮเดรตลดลงเล็กน้อยแต่ค่าที่ได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

จากผลการทดลองสรุปได้ว่า purée กล้วยทั้งสามชนิดมีสมบัติทางเคมีและกายภาพที่แตกต่างกัน ได้แก่ ปริมาณกรดทั้งหมด pH ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ของแข็งทั้งหมด ปริมาณความชื้น โปรตีน และไขมัน และ purée กล้วยมีปริมาณกรดทั้งหมดสูงกว่ากล้วยที่ใช้เป็นวัตถุดิบ เนื่องจากในขั้นตอนการผลิตมีการเติมสารละลายกรดเพื่อปรับค่า pH ให้ต่ำลง และปั่นเนื้อกล้วยได้ง่ายขึ้น เพราะ purée กล้วยที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบเพิ่มขึ้น จึงทำให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ของแข็งทั้งหมด ซึ่งรวมถึงไขมัน เถ้า และคาร์โบไฮเดรตใน purée กล้วยลดลง นอกจากนี้ยังสรุปได้ว่ากล้วย และ purée กล้วยมีสมบัติทางเคมีและกายภาพที่ค่อนข้างสอดคล้องไปในทิศทางเดียวกัน กล่าวคือ กล้วย และ purée กล้วยหอมทองมีปริมาณความชื้นสูงที่สุด ส่วนกล้วย และ purée กล้วยน้ำว้ามีปริมาณกรดทั้งหมดสูงที่สุด และสุดท้ายคือ กล้วย และ purée กล้วยไข่มีค่า pH ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ของแข็งทั้งหมด โปรตีน และไขมันสูงที่สุด

เมื่อพิจารณาผลทดลองทั้งหมดมีแนวโน้มว่ากล้วยไข่ซึ่งมีบีตา-แคโรทีนสูงกว่ากล้วยหอมทองและกล้วยน้ำว้า (Charoensiri และคณะ, 2009) มีเนื้อกล้วยที่มีสีเหลืองเข้ม และมีกลิ่นรสเฉพาะของกล้วยไข่ น่าจะเป็นวัตถุดิบที่เหมาะสมมากที่สุดสำหรับใช้เตรียมเป็น fruit base (ในรูปแบบของ purée กล้วย) ที่จะผสมด้วยจุลินทรีย์โพรไบโอติก และใช้ผลิตโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตต่อไป ทั้งนี้ purée กล้วยไข่มีปริมาณโปรตีน และไขมันสูงที่สุด และมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ปริมาณของแข็งทั้งหมด และปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงไม่แตกต่างจากกล้วยน้ำว้า

จึงน่าจะใช้เป็นสารอาหารสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์กลุ่มดังกล่าวได้อย่างเหมาะสม ถึงแม้กล้วยไข่จะมีปริมาณทริปโตเฟน (ที่จะเปลี่ยนไปเป็น serotonin ซึ่งมีประโยชน์สำคัญบางประการต่อร่างกายมนุษย์) น้อยที่สุดในบรรดากล้วยทั้งสามชนิด แต่ปริมาณที่วิเคราะห์ได้ก็น้อยมาก และร่างกายยังสามารถรับทริปโตเฟนได้จากอาหารโปรตีนอื่นๆ โดยทั่วไปอยู่แล้ว เช่น นม โยเกิร์ต เนื้อสัตว์ ไข่ และถั่ว เป็นต้น

4.3 Prebiotic activity scores **ของกล้วยที่มีต่อจุลินทรีย์โพรไบโอติกต่างสายพันธุ์**

งานวิจัยขั้นตอนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา prebiotic activity scores ของพรีไบโอติกทางการค้า และ purée กล้วยต่างชนิดที่สะท้อนการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติก และจะใช้แหล่งอาหารเหล่านี้เพื่อที่จะประเมินความเป็นไปได้ในการนำไปใช้ผลิต purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก โดยตรวจสอบการใช้สารอาหารใน purée กล้วยชนิดต่างๆ ของจุลินทรีย์โพรไบโอติกเปรียบเทียบกับการใช้กลูโคส ซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่นิยมเติมเพื่อเป็นแหล่งพลังงานให้กับจุลินทรีย์ และใช้โอลิโกฟรุคโตส และอินูลินซึ่งเป็นพรีไบโอติกทางการค้าเป็นตัวควบคุมบวก (positive control) โดยเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์โพรไบโอติกสายพันธุ์ต่างๆ ด้วยปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น 6 $\log_{10}$CFU ต่อมิลลิลิตรในอาหาร MRS ที่เติมกลูโคส โอลิโกฟรุคโตส อินูลินสายกลาง อินูลินสายยาว purée กล้วยหอมทอง purée กล้วยน้ำว้า หรือ purée กล้วยไข่อย่างใดอย่างหนึ่ง แล้วตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.5

จุลินทรีย์โพรไบโอติกที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MRS ที่เติมสารอาหารชนิดต่างๆ จะเจริญและเพิ่มจำนวนได้สูงสุดถึงช่วงประมาณ 3.0-3.5 $\log_{10}$CFU ต่อมิลลิลิตร โดยจุลินทรีย์ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร MRS ที่เติมกลูโคส สามารถเพิ่มจำนวนได้สูงกว่าหรือเท่ากับ 3.0 $\log_{10}$CFU ต่อมิลลิลิตร โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) สำหรับการเพาะเลี้ยงในอาหาร MRS ที่เติมพรีไบโอติกทางการค้าชนิดโอลิโกฟรุคโตส พบว่ามีจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่สามารถเพิ่มจำนวนได้ไม่แตกต่างจากค่าสูงสุด (3.0-3.5 $\log_{10}$CFU ต่อมิลลิลิตร) จำนวนสามสายพันธุ์ ได้แก่

ตารางที่ 4.5 ปริมาณจุลินทรีย์ (log_{10}CFU ต่อมิลลิลิตร) ที่เพิ่มขึ้นภายใน 24 ชั่วโมงในอาหารที่เติมกลูโคส พรีไบโอติกทางการค้า และ purée กล้วยต่างชนิด

จุลินทรีย์	พรีไบโอติกทางการค้า						
	กลูโคส^{ns}	โอลิโกฟรุคโตส	อินูลิน สายกลาง^{ns}	อินูลิน สายยาว	purée กล้วยหอมทอง^{ns}	purée กล้วยน้ำว้า	purée กล้วยไข่^{ns}
Lpc-37	2.95±0.21^{b}	2.72±0.06^{Bbc}	2.85±0.03^{b}	3.33±0.09^{Aa}	2.95±0.25^{b}	2.50±0.10^{Dc}	2.93±0.01^{b}
NCFM®^{ns}	3.16±0.13	2.75±0.02^{B}	2.90±0.08	2.92±0.05^{B}	3.01±0.28	2.71±0.01^{C}	2.80±0.11
La-14	3.45±0.04^{a}	3.16±0.00^{Aabc}	2.97±0.15^{bc}	3.30±0.04^{Aab}	3.22±0.23^{ab}	2.98±0.03^{Bbc}	2.81±0.30^{c}
LA-5®	3.23±0.21^{ab}	3.05±0.08^{Ab}	2.73±0.09^{c}	3.08±0.09^{Bb}	3.23±0.07^{ab}	3.49±0.07^{Aa}	3.19±0.02^{b}
BB-12®	3.33±0.30^{a}	3.15±0.10^{Aab}	2.87±0.10^{b}	3.42±0.12^{Aa}	2.81±0.10^{b}	2.89±0.05^{Bb}	3.05±0.21^{ab}

^{ns} ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$)

$^{a, b...}$ อักษรตัวพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างพรีไบโอติกและ purée กล้วยต่างชนิด ($p \leq 0.05$)

$^{A, B...}$ อักษรตัวพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างสายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก ($p \leq 0.05$)

Lpc-37= *L. paracasei* Lpc-37; NCFM®= *L. acidophilus* NCFM®; La-14= *L. acidophilus* La-14; LA-5®= *L. acidophilus* LA-5® และ BB-12®= *B. animalis* BB-12®

L. acidophilus La-14, *L. acidophilus* LA-5® และ *B. animalis* BB-12® ในขณะที่อีกสองสายพันธุ์ที่เหลือ คือ *L. paracasei* Lpc-37 และ *L. acidophilus* NCFM® มีจำนวนเพิ่มขึ้นน้อยกว่าสามสายพันธุ์แรกอย่างมีนัยสำคัญ (2.72 และ 2.75 log_{10}CFU ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) ในส่วนของการเติมพรีไบโอติกชนิดอินูลินสายยาว พบว่ามีจุลินทรีย์โพรไบโอติกสายพันธุ์ *L. acidophilus* Lpc-37, *L. acidophilus* La-14 และ *B. animalis* BB-12® สามารถเพิ่มจำนวนได้มากกว่า 3.3 log_{10}CFU ต่อมิลลิลิตร ในขณะที่จุลินทรีย์สายพันธุ์ *L. acidophilus* NCFM®และ *L. acidophilus* LA-5® เจริญได้ต่ำกว่าสายพันธุ์อื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ (2.92 และ 3.08 log_{10}CFU ต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ) สำหรับพรีไบโอติกชนิดอินูลินสายกลาง ไม่พบจุลินทรีย์โพรไบโอติกสายพันธุ์ใดสามารถเพิ่มจำนวนได้สูงกว่า 3.0 log_{10}CFU ต่อมิลลิลิตรเหมือนกับจุลินทรีย์ที่เจริญในอาหาร MRS ที่เติมกลูโคส และอินูลินสายยาว ส่วนการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหาร MRS ที่เติม purée กล้วยต่างชนิด พบว่ามีจุลินทรีย์จำนวนน้อยสายพันธุ์กว่าที่สามารถเจริญเพิ่มจำนวนได้สูงกว่า 3.0 log_{10}CFU ต่อมิลลิลิตรเมื่อเปรียบเทียบกับอาหาร MRS ที่เติมกลูโคส และพรีไบโอติกทางการค้าบางชนิด โดยมีจุลินทรีย์ *L. acidophilus* LA-5® เพียงสายพันธุ์เดียวเท่านั้นที่สามารถเจริญในอาหาร MRS ที่เติม purée กล้วยน้ำว้าได้สูงถึง 3.5 log_{10}CFU ต่อมิลลิลิตร และมากกว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติกสายพันธุ์อื่นๆ ที่เจริญในอาหาร MRS ที่เติมกลูโคสและพรีไบโอติกทางการค้าทุกชนิด

จากผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าสารอาหารแต่ละชนิดที่เติมใน MRS ส่งผลต่อการเจริญและเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์สายพันธุ์ต่างๆ แตกต่างกันไปในช่วงระยะเวลาการเพาะเลี้ยง 24 ชั่วโมง โดยความสามารถในการเจริญของจุลินทรีย์ภายใต้สภาวะใดๆ บ่งชี้ได้จากจำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นในช่วงระยะเวลาที่เพาะเลี้ยง หรืออาจบ่งชี้ในค่าของ generation time คือ เวลาที่ใช้ในการแบ่งเซลล์แต่ละครั้ง ซึ่งมีรายงานว่าจุลินทรีย์ *Lactobacillus* spp. ที่เจริญในอาหาร MRS จะมีค่า generation time อยู่ในช่วง 0.3-2.2 ชั่วโมง (Charteris และคณะ, 2001) โดยในการทดลองนี้พบว่าจุลินทรีย์โพรไบติกจะเพิ่มจำนวนภายใต้สภาวะที่เพาะเลี้ยงต่างๆ ได้สูงสุดในช่วง 3.0-3.5 log_{10}CFU ต่อมิลลิลิตร ซึ่งเมื่อคำนวณหาค่า generation time (Martínez-Villaluenga และ Gómez, 2007; Bărăscu และคณะ, 2009) จะมีค่าประมาณ 2.1-2.4 ชั่วโมงตามในรายงานที่

กล่าวไว้ข้างต้น ดังนั้นภายใต้สภาวะที่ใช้ในการทดลองจุลินทรีย์โพรไบโอติกสามารถเจริญจนเพิ่มจำนวนได้สูงกว่า 3.0 $\log_{10}$CFU ต่อมิลลิลิตร จึงสามารถกล่าวได้ว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติกเหล่านี้เจริญได้ดี ซึ่งจากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ใช้ในการทดลองทุกสายพันธุ์สามารถใช้กลูโคสได้ดี ทั้งนี้เนื่องจากกลูโคสเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวซึ่งจุลินทรีย์นำไปใช้ในการสร้างพลังงานเพื่อเจริญเติบโตได้ง่ายที่สุด (Tobin และ Dusheck, 2005)

ส่วนในกลุ่มของพรีไบโอติกทางการค้า จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติกส่วนใหญ่จะใช้โอลิโกฟรุคโตสซึ่งมีพอลิเมอร์สายสั้นได้ดี โดยมีพวกที่เจริญได้ดีได้ถึงสามสายพันธุ์ ได้แก่ *L. acidophilus* La14, *L. acidophilus* LA-5® และ *B. animalis* BB-12® ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Hernot และคณะ (2009) ซึ่งพบว่า bifidobacteria สามารถใช้โอลิโกแซ็คคาไรด์สายสั้นในการเจริญได้เร็วกว่าโอลิโกแซ็คคาไรด์สายยาว หรือมี degree of polymerization (DP) สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้โอลิโกฟรุคโตสหรือโอลิโกเมอร์สายสั้นกับอินูลินที่มีสายยาวกว่า โดย Van der Meulen, Avonts และ De Vuyst (2004) ได้พบว่า *Bifidobacterium animalis* DN-173 010 สามารถเจริญในโอลิโกฟรุคโตสได้ดีกว่าอินูลิน ซึ่งสอดคล้องกับ Pompei และคณะ (2008) ได้รายงานว่า *Bifidobacterium* sp. และ *Lactobacillus* sp. สามารถใช้โอลิโกฟรุคโตสได้เร็วกว่าอินูลินในช่วงระยะเวลาการหมัก 0-24 ชั่วโมง ทั้งนี้เนื่องจากอินูลินมีค่า DP ที่สูงกว่า จึงอาจมีผลให้จุลินทรีย์ทั้งสองชนิดนี้ใช้ในการเจริญได้ช้ากว่า และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างอินูลินสายยาวกับอินูลินสายกลาง จากผลการศึกษานี้พบว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติกส่วนใหญ่ใช้พรีไบโอติกทางการค้าชนิดอินูลินสายยาวได้ดี ในขณะที่อินูลินสายกลางกลับไม่แสดงผลต่อการเพิ่มการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติก ซึ่งไม่สอดคล้องกับรายงานที่กล่าวมาแล้วข้างต้น ทั้งนี้อาจเกิดจากปัจจัยเรื่องสายพันธุ์จุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ใช้ในการทดลองในงานวิจัยก่อนหน้าและในการทดลองนี้ ซึ่งอาจสามารถใช้สารอาหารดังกล่าวได้แตกต่างกัน

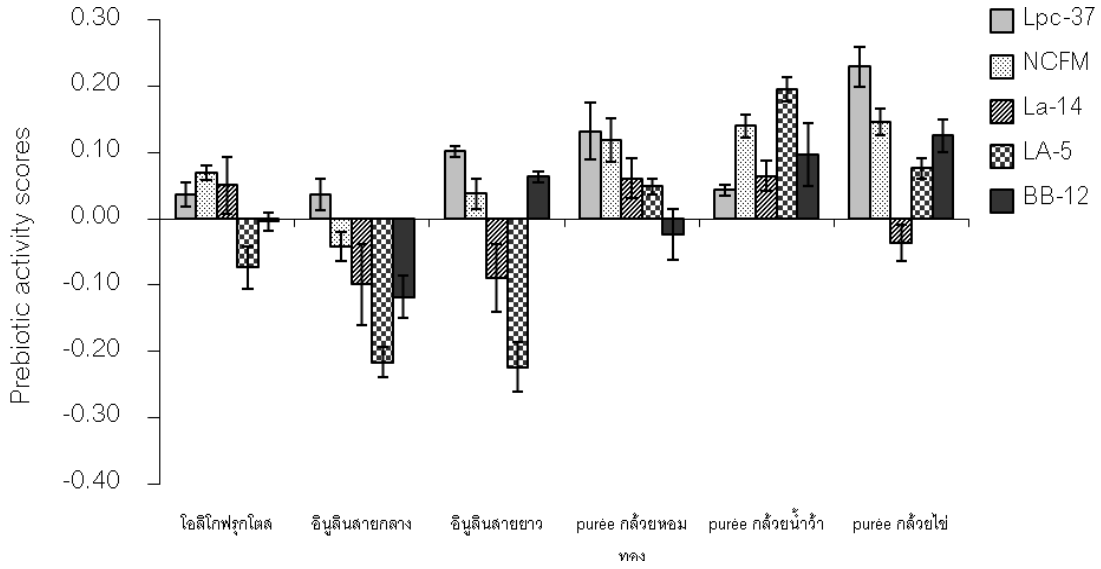
ในส่วนของสารอาหารจาก purée กล้วย พบว่ามีจุลินทรีย์โพรไบโอติกบางสายพันธุ์สามารถเพิ่มจำนวนในอาหาร MRS ที่เติม purée กล้วย และไม่แตกต่างจากอาหาร MRS ที่เติมกลูโคส หรือพรีไบโอติกทางการค้าบางชนิด โดยมีจุลินทรีย์ *L. acidophilus* LA-5® เพียงสายพันธุ์

เดียวเท่านั้นที่สามารถเจริญได้ดีในอาหาร MRS ที่เติม purée กล้วยน้ำว้า และมีการเจริญเพิ่มจำนวนมากที่สุด (3.5 $\log_{10}$CFU ต่อมิลลิลิตร) ซึ่งมากกว่าอาหาร MRS ที่เติมกลูโคส (ถึงแม้ค่าจะไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ) และพรีไบโอติกทางการค้าบางชนิด เมื่อพิจารณาข้อมูลองค์ประกอบทางเคมีของกล้วยจากผลการทดลองที่ผ่านมา และที่มีรายงานจากงานวิจัยต่างๆ ดังแสดงในบทที่ 2 หัวข้อคุณค่าทางโภชนาการของกล้วย ตารางที่ 2.4 จะเห็นได้ว่ากล้วยมีสารอาหารหลักที่สำคัญ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรตที่จุลินทรีย์จะใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโต (Aegerter และ Dunlap, 1980; Chan-Blanco, Bonilla-Leiva และ Velázquez, 2003) โปรตีนเป็นแหล่งไนโตรเจน นอกจากนี้ยังมีวิตามินและเกลือแร่ จึงถือว่ากล้วยเป็นแหล่งอาหารที่มีสารอาหารครบถ้วน และยังมีสารบางชนิด เช่น โอลิโกฟรุคโตส และอินูลิน (Coussement, 1999) ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติกที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์โพรไบโอติกได้ (Gomes และ Malcata, 1999) จึงทำให้กล้วยสามารถส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกบางสายพันธุ์ได้สูงกว่ากลูโคส และพรีไบโอติกทางการค้าบางชนิด ดังนั้นจึงมีความเป็นไปได้ว่า purée กล้วยสามารถใช้เป็นแหล่งอาหารที่จะช่วยส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกได้ ซึ่งในการวิเคราะห์คุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติกของสารใดๆ นั้น สามารถทำได้โดยนำสารอาหารชนิดนั้นๆ มาเติมในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว เพื่อใช้เพาะเลี้ยงจุลินทรีย์โพรไบโอติกเปรียบเทียบกับจุลินทรีย์ *E. coli* ซึ่งหากสารอาหารชนิดนั้นสามารถส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกได้ดีกว่า *E. coli* จะใช้เป็นข้อบ่งชี้ว่าสารนั้นมีคุณสมบัติในการเป็นพรีไบโอติก (Huebner และคณะ, 2007, 2008)

ดังนั้นจึงประเมินคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติกของ purée กล้วยที่มีต่อโพรไบโอติกทั้งห้าสายพันธุ์ โดยเปรียบเทียบกับการเจริญของ *E. coli* TISTR 780 และแสดงคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติกในค่าของ prebiotic activity scores โดยค่าดังกล่าวนี้ที่เป็นบวกจะแสดงว่าสารอาหารนั้นมีแนวโน้มที่มีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก ในขณะที่ค่าเป็นลบจะไม่มีคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติกต่อจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ใช้ทดสอบ

ผลของการประเมินค่า prebiotic activity scores ด้วยการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกห้าสายพันธุ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมพรีไบโอติกทางการค้า และ purée กล้วยชนิดต่างๆ ได้แก่ โอลิโกฟรุคโตส อินูลินสายกลาง อินูลินสายยาว purée กล้วยหอมทอง กล้วยน้ำว้า หรือกล้วยไข่ แสดงในภาพที่ 4.1 จะเห็นได้ว่าค่า prebiotic activity scores ของอาหารที่เติมพรีไบโอติกทางการค้า และ purée กล้วยชนิดต่างๆ ต่อการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกทั้งห้าสายพันธุ์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ กล่าวคือในอาหารที่เติมพรีไบโอติกทางการค้ามีจุลินทรีย์โพรไบโอติกสามสายพันธุ์ ได้แก่ *L. paracasei* Lpc-37, *L. acidophilus* NCFM® และ *L. acidophilus* La-14 ที่เจริญในอาหารที่เติมโอลิโกฟรุคโตสมีค่า prebiotic activity scores เป็นบวก (0.04, 0.07 และ 0.05 ตามลำดับ) และอีกสองสายพันธุ์ที่เหลือมีค่า prebiotic activity scores เป็นลบ (-0.07-0.00) และมีจุลินทรีย์โพรไบโอติกสามสายพันธุ์ ได้แก่ *L. paracasei* Lpc-37, *L. acidophilus* NCFM® และ *B. animalis* BB-12® ที่เจริญในอาหารที่เติมอินูลินสายยาวมีค่า prebiotic activity scores เป็นบวก (0.10, 0.04 และ 0.06 ตามลำดับ) ส่วนอีกสองสายพันธุ์ที่เหลือมีค่า prebiotic activity scores เป็นลบ (-0.22-(-0.09)) ส่วนอาหารที่เติมอินูลินสายกลางนั้นมี *L. paracasei* Lpc-37 เพียงสายพันธุ์เดียวเท่านั้นที่มีค่า prebiotic activity scores เป็นบวก (0.04) ส่วนอีกสี่สายพันธุ์ที่เหลือมีค่า prebiotic activity scores เป็นลบ (-0.04-(-0.22))

สำหรับอาหารที่เติม purée กล้วยทั้งสามชนิดเมื่อทดสอบกับจุลินทรีย์ทั้งห้าสายพันธุ์นี้ พบว่าโดยส่วนใหญ่มีค่า prebiotic activity scores เป็นบวกมากกว่าอาหารที่เติมพรีไบโอติกทางการค้า โดยอาหารที่เติม purée กล้วยหอมทองมีค่า prebiotic activity scores เป็นบวกสี่สายพันธุ์ (0.05-0.13) อาหารที่เติม purée กล้วยน้ำว้ามีค่าเป็นบวกทั้งห้าสายพันธุ์ (0.04-0.20) และอาหารที่เติม purée กล้วยไข่มีค่าเป็นบวกสี่สายพันธุ์ (0.08-0.23) มีเพียง *B. animalis* BB-12® ที่เจริญใน purée กล้วยหอม และ *L. acidophilus* La-14 ที่เจริญใน purée กล้วยไข่สองสายพันธุ์เท่านั้นที่มีค่า prebiotic activity scores เป็นลบ (-0.02 และ -0.04 ตามลำดับ) และพบว่าอาหารที่เติม purée กล้วยไข่มีค่า prebiotic activity scores โดยเฉลี่ยสูงมากที่สุด (0.138) รองลงมาคือ purée กล้วยน้ำว้า (0.135) และสุดท้ายคือ purée กล้วยหอมทอง (0.085)



ภาพที่ 4.1 Prebiotic activity scores ของจุลินทรีย์โพรไบโอติกห้าสายพันธุ์ที่เจริญในอาหารที่เติมพรีไบโอติกทางการค้าและ purée กล้วยต่างชนิด
Lpc-37= *L. paracasei* Lpc-37; NCFM= *L. acidophilus* NCFM®; La-14= *L. acidophilus* La-14; LA-5= *L. acidophilus* LA-5® และ BB-12= *B. animalis* BB-12®

เมื่อเปรียบเทียบระหว่างสายพันธุ์จุลินทรีย์จะเห็นได้ว่า *L. paracasei* Lpc-37 มีค่า prebiotic activity scores เป็นบวกในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมสารอาหารทุกชนิด รวมทั้งมีค่า prebiotic activity scores เป็นบวกสูงที่สุดในอาหารที่เติม purée กล้วยไข่ (0.23) ส่วนจุลินทรีย์ *L. acidophilus* LA-5® ที่เจริญในอาหารที่เติมอินูลินสายกลาง และอินูลินสายยาวให้ค่า prebiotic activity scores เป็บลบมากที่สุด (-0.22±0.02 และ -0.22±0.04 ตามลำดับ)

จากผลการทดสอบความสามารถในการเป็นพรีไบโอติกที่มีต่อการเจริญของโพรไบโอติกทั้งห้าสายพันธุ์จะเห็นได้ว่าจุลินทรีย์ *L. acidophilus* NCFM®, *L. acidophilus* La-14 และ *L. acidophilus* LA-5® ที่เจริญในอาหารที่เติมโอลิโกฟรุคโตสให้ค่า prebiotic activity scores

สูงกว่าอาหารที่เติมอินูลินสายกลางและอินูลินสายยาว แสดงว่าอาหารที่เติมโอลิโกฟรุคโตสช่วยส่งเสริมการเจริญของ *L. acidophilus* มากกว่า *E. coli* TISTR 780 ในช่วงเวลา 0 ถึง 24 ชั่วโมง ในขณะที่อาหารที่เติมอินูลินสายกลางและสายยาวไม่แสดงสมบัติดังกล่าว ซึ่งมีรายงานที่สอดคล้องกันกล่าวว่า *L. acidophilus* IBB 801 ย่อยสลายโอลิโกฟรุคโตสได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายอินูลินซึ่งเป็นพอลิเมอร์สายยาวได้ (Makras, Van Acker และ De Vuyst, 2005) เนื่องจากโอลิโกฟรุคโตสเป็นพอลิเมอร์สายสั้นมี DP เท่ากับ 2-8 ในขณะที่อินูลินสายกลางมี DP มากกว่าหรือเท่ากับ 10 และอินูลินสายยาวมี DP มากกว่าหรือเท่ากับ 23 (Makras และคณะ, 2005; Paseephol และ Sherkat, 2009) ในทางตรงกันข้ามจากการทดลองพบว่าจุลินทรีย์ *L. paracasei* Lpc-37 และ *B. animalis* BB-12® ที่เจริญในอาหารที่เติมอินูลินสายยาวกลับให้ค่า prebiotic activity scores สูงกว่าอาหารที่เติมโอลิโกฟรุคโตส และอินูลินสายกลาง ทั้งนี้มีรายงานว่า *L. paracasei* subsp. *paracasei* 8700:2 นั้นสามารถย่อยสลายอินูลินสายยาวได้ดี และมีการเจริญของจุลินทรีย์อย่างรวดเร็วโดยใช้อินูลินเป็นแหล่งพลังงาน (Makras และคณะ, 2005) และยังมีรายงานเพิ่มเติมอีกว่าจุลินทรีย์ *Bifidobacterium* spp. ที่เจริญในอาหารที่เติมอินูลินสายยาวส่วนใหญ่ให้ค่า prebiotic activity scores เป็นบวก (Huebner และคณะ, 2007) ทั้งนี้อาจเกิดขึ้นเนื่องจาก *Bifidobacterium* spp. สามารถสร้างเอนไซม์ β-fructofuranosidase จึงย่อยสลายอินูลินสายยาวได้ (Imamura, Hisamitsu และ Kobashi, 1994) ทั้งนี้จุลินทรีย์แต่ละสายพันธุ์สามารถใช้สารอาหารได้แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับกระบวนการเมแทบอลิซึม ระบบการเลือกหมัก และระบบการย่อยที่เฉพาะเจาะจงของจุลินทรีย์ (Imamura และคณะ, 1994; Gopal, Sullivan และ Smart, 2001; Barrangou และคณะ, 2003; Huebner และคณะ, 2007)

อย่างไรก็ตามจากการทดลองนี้พบสิ่งที่น่าสนใจ คือ ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติม purée กล้วยทุกชนิดมีค่า prebiotic activity scores สูงกว่าอาหารที่เติมพรีไบโอติกทางการค้า ทั้งนี้อาจเนื่องจากสารอาหารจากกล้วยบางชนิดสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกได้ ซึ่งอาจได้แก่ โอลิโกฟรุคโตส และอินูลิน ที่มีรายงานว่าสารดังกล่าวเป็นองค์ประกอบที่มีอยู่ในกล้วยปริมาณร้อยละ 0.3-0.7 (Coussement, 1999) และมีรายงานว่าโอลิโกฟรุคโตส และอินูลินช่วยส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ *Lactobacillus* sp. และ *Bifidobacterium* sp. ได้มากกว่า

E. coli ในระหว่างการหมัก 0-24 ชั่วโมง (Pompei และคณะ, 2008) นอกจากนี้ในกล้วยยังมี fructans ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรต (L'homme และคณะ, 2001) และในกล้วยบางสายพันธุ์มี sucrose, 1-kestose และ nystose (Agopian และคณะ, 2008) ที่มีโครงสร้างทางเคมีประกอบด้วยกลูโคส 1 โมเลกุลต่ออยู่กับฟรุคโตส 1, 2 และ 3 โมเลกุล โดยใช้สัญลักษณ์เป็น GF, GF_2, GF_3 ตามลำดับ (L'homme และคณะ, 2001; Rivero-Urgell และ Santamaria-Orleans, 2001) ซึ่งเป็นฟรุกโตโอลิโกแซ็คคาไรด์ (FOS) ที่มีสมบัติเป็นพรีไบโอติก และยังมีรายงานว่าอาหาร MRS ที่เติม FOS สามารถเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ *Lactobacillus* spp. และ *Bifidobacterium* spp. (Kaplan และ Hutkins, 2003) อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าการเติม purée กล้วยใน MRS แล้วแสดงค่า prebiotic activity scores เป็นบวก จะแสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติกเจริญได้เร็วกว่า *E. coli* ซึ่งบ่งชี้ว่าสารอาหารในกล้วยมีสมบัติเป็นพรีไบโอติก แต่ทั้งนี้ค่า prebiotic activity scores ที่เป็นบวกนี้ อาจเกิดจากสาเหตุสำคัญประการหนึ่ง คือ ปัจจัยเรื่องสารยับยั้งการเจริญของ *E. coli* เช่น organic acids และ bioactive compounds ซึ่งมีรายงานกล่าวถึงการมีสารเหล่านี้ในกล้วยด้วย (Scott, McKay และ Schaffer, 1949; Kantachote, Charernjiratrakul และ Umsakul, 2008) ซึ่งสารดังกล่าวอาจส่งผลในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ในช่วงเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้เจริญช้ากว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติก จึงทำให้อาหารที่เติม purée กล้วยมีค่า prebiotic activity scores สูงกว่าอาหารที่เติมพรีไบโอติกทางการค้า นอกจากนั้นเมื่อพิจารณาถึงค่า prebiotic activity scores ของกล้วยชนิดเดียวกันที่มีต่อการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกทั้งห้าสายพันธุ์ พบว่ามีค่าเป็นบวกที่สูงหรือต่ำแตกต่างกันไป ดังนั้นผลการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่สูงกว่า *E. coli* TISTR 780 น่าจะเกิดจากสมบัติการเป็นพรีไบโอติกของสารที่มีในกล้วยมากกว่าอิทธิพลของสารยับยั้งการเจริญของ *E. coli* TISTR 780

นอกจากนี้ผลการทดลองยังแสดงให้เห็นภาพโดยรวมว่าค่า prebiotic activity scores ของพรีไบโอติกทางการค้ามีทั้งค่าบวกและลบ และโดยส่วนใหญ่จะให้ค่าต่ำกว่าของ purée กล้วย ซึ่งค่า prebiotic activity scores ของพรีไบโอติกทางการค้าในรายงานอื่นๆ ส่วนใหญ่มีค่าเป็นบวก เนื่องจากโอลิโกฟรุคโตสและอินูลินมีโครงสร้างทางเคมีเป็นสายโซ่แบบเส้นตรงของ GF_n ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะบีตา-(2-1) (Coussement, 1999; Niness, 1999; Franck และ Coussement,

2001; Roberfroid, 2006) ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ร่างกายไม่สามารถย่อยได้ (Asp, 1996) แต่ bifidobacteria สามารถใช้เป็นแหล่งพลังงานที่ช่วยให้มีเมแทบอลิซึมและรอดชีวิตในลำไส้ใหญ่ได้ โดยถือว่าเป็น bifidogenic factor หรือเป็นพรีไบโอติก (Gomes และ Malcata, 1999) แต่ในงานวิจัยนี้ค่า prebiotic activity scores ของพรีไบโอติกทางการค้าเป็นลบนั้นค่อนข้างแตกต่างจากงานวิจัยอื่นๆ เนื่องจากได้นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมสารอาหารชนิดต่างๆ ไปทำให้ปลอดเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ก่อนการเพาะเลี้ยง ซึ่งมีรายงานว่าการให้ความร้อนกับโอลิโกฟรุคโตส และอินูลินสายยาวที่ค่า pH 4-7 ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จะทำให้ค่า prebiotic activity scores ของโอลิโกฟรุคโตสและอินูลินสายยาวลดลง (Huebner และคณะ, 2008) ทั้งนี้การใช้ความร้อนและความดันสูงในระยะเวลาหนึ่งอาจทำให้อาหารที่เติมพรีไบโอติกทางการค้าแต่ละชนิดซึ่งมีโครงสร้างทางเคมีเป็นสารนั้นๆ เพียงโครงสร้างเดียวมีค่า prebiotic activity scores ลดลง แต่สำหรับกล้วยซึ่งนอกจากจะมีองค์ประกอบของสารโอลิโกฟรุคโตสอยู่แล้ว ยังมีองค์ประกอบทางเคมีอื่นๆ ทั้งไขมัน (โดยปกติทำหน้าที่เป็นฉนวนสำหรับการถ่ายโอนความร้อน) โปรตีน และคาร์โบไฮเดรตประเภทอื่นๆ ที่อาจมีอิทธิพลทางด้านต่อต้านการเปลี่ยนแปลงทางอุณหภูมิและความดัน จึงทำให้จุลินทรีย์โพรไบโอติกเจริญในอาหาร MRS ที่เติม purée กล้วยได้ดีกว่า และให้ค่า prebiotic activity scores ที่สูงกว่าและเป็นบวกโดยส่วนใหญ่

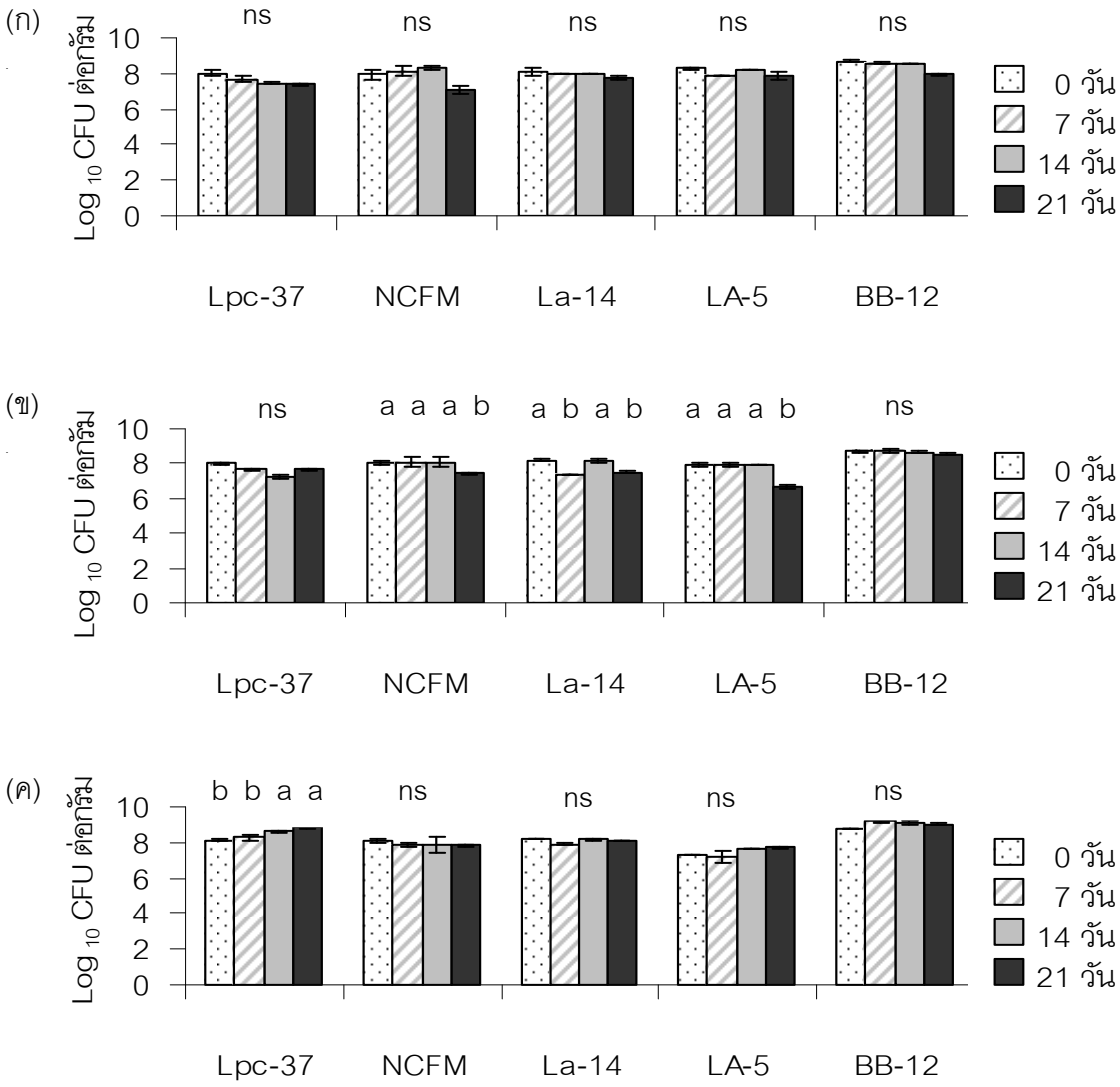
จากผลการทดลองสรุปได้ว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติม purée กล้วย เมื่อใช้ในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์โพรไบโอติกทั้งห้าสายพันธุ์ส่วนใหญ่มีค่า prebiotic activity scores สูงกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมพรีไบโอติกทางการค้า และอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติม purée กล้วยเกือบทุกชนิดมีค่า prebiotic activity scores เป็นบวก โดยพบว่าจุลินทรีย์ *L. paracasei* Lpc-37 ที่เจริญใน purée กล้วยไข่ให้ค่า prebiotic activity score เป็นบวกสูงที่สุด ซึ่งบ่งชี้ได้ว่า purée กล้วยน่าจะมีคุณสมบัติในการช่วยส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกชนิดนี้ได้ดี จากการทดลองนี้จึงมีแนวโน้มว่าสามารถผลิต purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกได้ อย่างไรก็ตามหากต้องการนำ purée กล้วยไปใช้ในการผลิต purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก จะต้องศึกษาการรอดชีวิตของจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่เก็บใน purée กล้วยในระหว่างการเก็บรักษาด้วย

4.4 การอยู่รอดของจุลินทรีย์โพรไบโอติกใน purée กล้วยในระหว่างการเก็บรักษา

ในขั้นตอนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการอยู่รอดของจุลินทรีย์โพรไบโอติกแต่ละสายพันธุ์ใน purée กล้วยในระหว่างการเก็บรักษา โดยเก็บ purée กล้วยหอมทอง กล้วยน้ำว้า และกล้วยไข่ที่เติมจุลินทรีย์โพรไบโอติกแต่ละสายพันธุ์ ได้แก่ *L. paracasei* Lpc-37, *L. acidophilus* NCFM®, *L. acidophilus* La-14, *L. acidophilus* LA-5® และ *B. animalis* BB-12® บรรจุในถุงลามิเนตเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และติดตามการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ และปริมาณกรดทั้งหมดในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 3 สัปดาห์ ผลการทดลองแสดงในภาพที่ 4.2 และ 4.3

ผลการเปลี่ยนแปลงจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของจุลินทรีย์โพรไบโอติกทั้งห้าสายพันธุ์ใน purée กล้วย (ภาพที่ 4.2) ที่มีจำนวนเซลล์เริ่มต้นประมาณ 8 $\log_{10}$CFU ต่อกรัม เมื่อเก็บเซลล์ดังกล่าวใน purée กล้วยหอมทอง (ภาพที่ 4.2 ก) พบว่าจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ตลอดการเก็บรักษา และเมื่อเติมเซลล์โพรไบโอติกทั้งห้าสายพันธุ์ใน purée กล้วยน้ำว้า (ภาพที่ 4.2 ข) พบว่าจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติกสายพันธุ์ *L. paracasei* Lpc-37 และ *B. animalis* BB-12® ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บรักษา แต่สายพันธุ์ *L. acidophilus* NCFM®, *L. acidophilus* La-14 และ *L. acidophilus* LA-5® มีจำนวนเซลล์ลดลงประมาณ 1 $\log_{10}$CFU ต่อกรัม และเมื่อเติมเซลล์ทั้งห้าสายพันธุ์ใน purée กล้วยไข่ (ภาพที่ 4.2 ค) พบว่ามีจุลินทรีย์สายพันธุ์ *L. paracasei* Lpc-37 เพียงสายพันธุ์เดียวที่มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นจากจำนวนเริ่มต้น 8.13 เป็น 8.84 $\log_{10}$CFU ต่อกรัมในวันที่ 21 แต่อีกสี่สายพันธุ์ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของจำนวนเซลล์ในระหว่างการเก็บรักษา

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรตได้ที่คำนวณในรูปของกรดแลคติก พบว่าปริมาณกรดทั้งหมดใน purée กล้วยหอมทอง (ภาพที่ 4.3 ก) ที่เติมจุลินทรีย์โพรไบโอติกทั้งห้าสายพันธุ์ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในระหว่างการเก็บรักษา เช่นเดียวกับ purée กล้วยน้ำว้า (ภาพที่ 4.3 ข) ที่เติมจุลินทรีย์โพรไบโอติกทั้งห้าสายพันธุ์ ก็พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงด้วยเช่นกัน ในขณะที่ purée กล้วยไข่ (ภาพที่ 4.3 ค) ที่เติมจุลินทรีย์โพรไบโอติกสายพันธุ์ *L. acidophilus* LA-5®, *L. acidophilus* La-14, *L. paracasei* Lpc-37

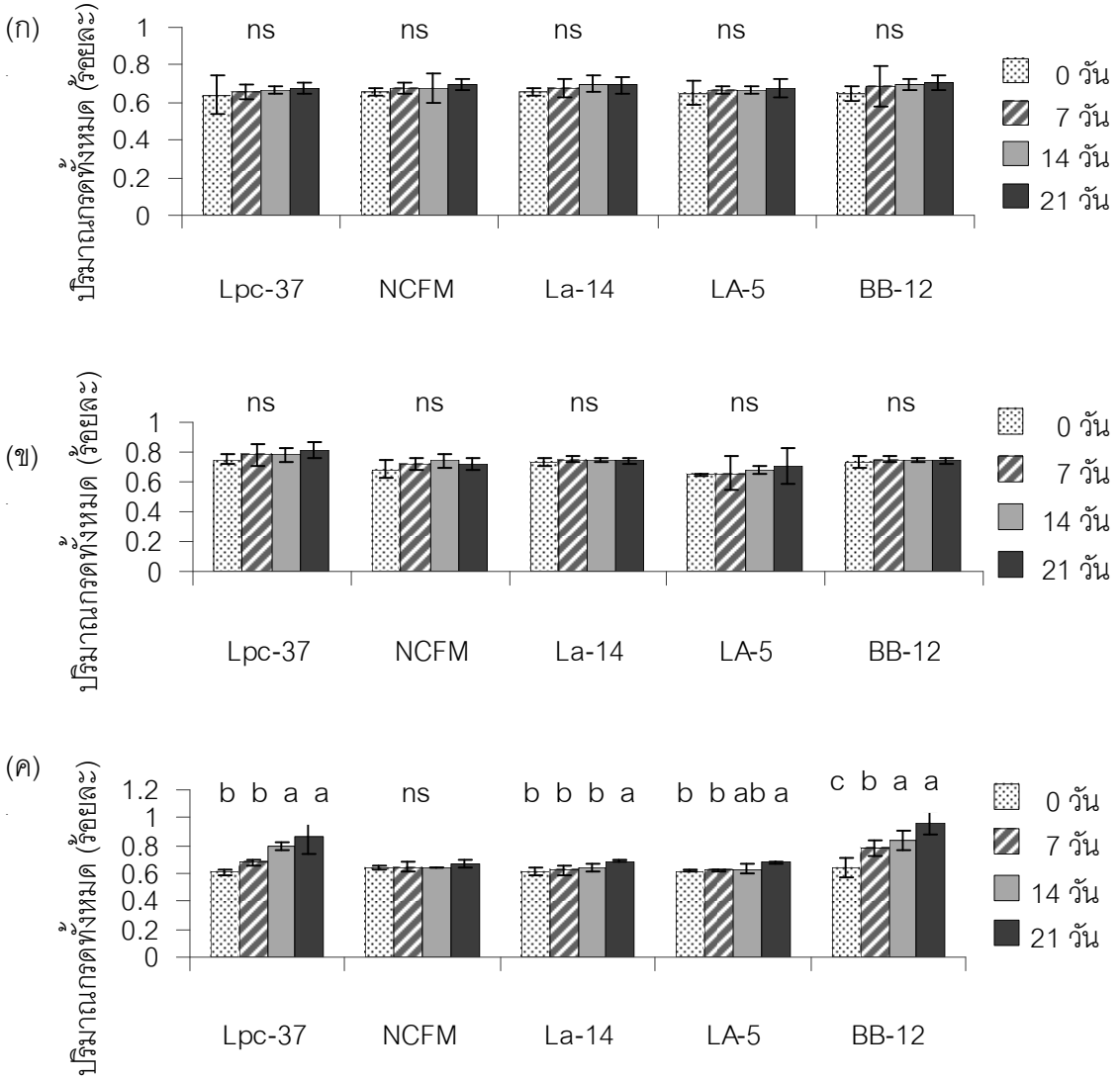


ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$)

a,b... ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ภาพที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติกสายพันธุ์ต่างๆ ที่เจริญใน purée (ก) กล้วยหอมทอง (ข) กล้วยน้ำว้า และ (ค) กล้วยไข่ ที่บรรจุในถุงลามิเนตในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

Lpc-37= *L. paracasei* Lpc-37; NCFM= *L. acidophilus* NCFM®; La-14= *L. acidophilus* La-14; LA-5= *L. acidophilus* LA-5® และ BB-12= *B. animalis* BB-12®



ns ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p > 0.05$)

a,b... ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ภาพที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมดของ purée (ก) กล้วยหอมทอง (ข) กล้วยน้ำว้า และ (ค) กล้วยไข่ ที่เติมจุลินทรีย์โพรไบโอติกสายพันธุ์ต่างๆ ที่บรรจุในถุงลามิเนตในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

Lpc-37= *L. paracasei* Lpc-37; NCFM= *L. acidophilus* NCFM®; La-14= *L. acidophilus* La-14; LA-5= *L. acidophilus* LA-5® และ BB-12= *B. animalis* BB-12®

และ *B. animalis* BB-12® มีปริมาณกรดเพิ่มขึ้นจากค่าเริ่มต้นประมาณร้อยละ 0.62 เป็น 0.68, 0.69, 0.86 และ 0.96 ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในวันที่ 21 และมีสายพันธุ์ *L. acidophilus* NCFM® เพียงสายพันธุ์เดียวที่เก็บใน purée กล้วยไข่เท่านั้นที่ปริมาณกรดทั้งหมดไม่เปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บรักษา

ใน purée กล้วยหอมทอง และกล้วยน้ำว้าโดยส่วนใหญ่จำนวนเซลล์ที่มีชีวิต และปริมาณกรดทั้งหมดไม่แตกต่างจากค่าเริ่มต้น ซึ่งบ่งชี้ว่าที่สภาวะการเก็บรักษาดังกล่าวจุลินทรีย์โพรไบโอติกเหล่านี้ไม่แสดงกิจกรรมการเจริญ ซึ่งอาจเกิดจากปัจจัยของอุณหภูมิที่ใช้ในระหว่างการเก็บรักษา (4 องศาเซลเซียส) ทำให้เซลล์ดำเนินกิจกรรมได้ช้าลงหรือหยุดกิจกรรม หรืออีกประการหนึ่งอาจเกิดจากเซลล์ไม่สามารถใช้สารอาหารที่มีอยู่ใน purée กล้วยหอมทอง และ purée กล้วยน้ำว้าเพื่อเพิ่มจำนวนได้ มีรายงานว่าจุลินทรีย์ lactobacillus และ bifidobacteria สามารถดำรงชีวิตในผลิตภัณฑ์นมหมักที่มี pH อยู่ในช่วง 3.5-4.3 และอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสได้ แต่จำนวนจุลินทรีย์จะลดลงประมาณ 2 log clycle ภายใน 2 สัปดาห์ (Lee และ Wong, 1993) ซึ่งจากผลการทดลองนี้ยังคงตรวจพบเซลล์ที่มีชีวิตมีจำนวนไม่เปลี่ยนแปลงจากค่าเริ่มต้น และยังพบว่าจุลินทรีย์สายพันธุ์ *L. acidophilus* NCFM®, *L. acidophilus* La-14 และ *L. acidophilus* LA-5® ที่เติมใน purée กล้วยน้ำว้ามีจำนวนเซลล์ลดลงประมาณ 1 $\log_{10}$CFU ต่อกรัม มีรายงานว่า pH มีผลต่อ *L. acidophilus* เป็นอย่างมาก (Dave และ Shah, 1997c) โดยจุลินทรีย์สายพันธุ์เหล่านี้จะหยุดการเจริญที่ pH น้อยกว่า 4.5 (Shah, 2007) ซึ่งจากผลการทดลอง (ตารางที่ 4.3) purée กล้วยน้ำว้ามี pH 4.3-4.4 ซึ่งอาจทำให้จุลินทรีย์ทั้งสามสายพันธุ์นี้ลดลงในขณะเก็บรักษา ในขณะที่ purée กล้วยไข่ที่เติมจุลินทรีย์สายพันธุ์ *L. paracasei* Lpc-37 มีจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตและปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา แสดงว่าการเก็บเซลล์ใน purée กล้วยไข่น่าจะเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้ ส่วนจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์สายพันธุ์ *L. acidophilus* La-14, *L. acidophilus* LA-5® และ *B. animalis* BB-12® ที่เก็บใน purée กล้วยไข่ พบว่าจำนวนเซลล์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นแต่ไม่แตกต่างจากจำนวนเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยจุลินทรีย์สองสายพันธุ์แรกทำให้ปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยจากร้อยละ 0.62 เป็น 0.69 และ 0.68 ตามลำดับ แต่ *B. animalis* BB-12® ทำให้ปริมาณกรด

ทั้งหมดเพิ่มขึ้นมากกว่าจุลินทรีย์สองสายพันธุ์แรกจากร้อยละ 0.64 เป็น 0.96 อาจเนื่องจาก *B. animalis* BB-12® เป็น obligate anaerobic bacteria ในขณะที่จุลินทรีย์สายพันธุ์อื่นๆ เป็น facultative anaerobic bacteria (Chandan และ O'Rell, 2006b) จึงทำให้ *B. animalis* BB-12® มีจำนวนเซลล์เริ่มต้นและสุดท้ายมากกว่าจุลินทรีย์สายพันธุ์อื่นๆ แต่จำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นใน 21 วัน ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงทำให้จุลินทรีย์ดังกล่าวสามารถผลิตกรดได้สูงกว่าจุลินทรีย์สายพันธุ์อื่นๆ ใน purée กล้วยไข่ซึ่งบรรจุอยู่ในถุงลามิเนตที่ปิดผนึกแบบสุญญากาศ

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการเพิ่มขึ้นของจุลินทรีย์และปริมาณกรดเป็นไปตามความสัมพันธ์ของการเจริญของจุลินทรีย์และการสร้างกรด โดยจุลินทรีย์จะใช้น้ำตาลในระหว่างการเจริญเติบโตทำให้ปริมาณน้ำตาลลดลง ในขณะที่ปริมาณจุลินทรีย์และปริมาณกรดต่างๆ จะเพิ่มมากขึ้น และเมื่อน้ำตาลถูกใช้หมดปริมาณจุลินทรีย์และปริมาณกรดต่างๆ จะคงที่ หลังจากนั้นปริมาณจุลินทรีย์จะค่อยๆ ลดลง ในขณะที่ปริมาณกรดต่างๆ จะยังคงมีปริมาณเท่าเดิม (Van der Meulen และคณะ, 2004) และจุลินทรีย์ *L. paracasei* Lpc-37 ที่เก็บใน purée กล้วยไข่เพียงสายพันธุ์เดียวที่มีจำนวนเซลล์และปริมาณกรดเพิ่มขึ้น จึงอาจอธิบายได้ว่าการเก็บเซลล์โพรไบโอติกใน purée กล้วยไข่น่าจะเป็นสภาวะที่เหมาะสมกับการเจริญของ *L. paracasei* Lpc-37 ซึ่งจากผลการทดลองที่ผ่านมา (ตารางที่ 4.3) purée กล้วยไข่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดสูงถึงร้อยละ 23.5 รวมทั้งมีปริมาณโปรตีนและไขมันสูงกว่า purée กล้วยชนิดอื่นๆ ซึ่งอาจทำให้สารอาหารใน purée กล้วยไข่เหมาะสมสำหรับการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์โพรไบโอติกมากกว่า purée กล้วยชนิดอื่นๆ และค่า prebiotic activity scores ก็ยังบ่งชี้ว่า purée กล้วยไข่น่าจะมีคุณสมบัติในการช่วยส่งเสริมการเจริญของ *L. paracasei* Lpc-37 มากที่สุด ดังนั้นเมื่อเก็บเซลล์ *L. paracasei* Lpc-37 ใน purée กล้วยไข่ จึงพบกิจกรรมการเจริญของจุลินทรีย์ดังกล่าวในระหว่างการเก็บ และผลการทดลองยังพบว่าจุลินทรีย์สายพันธุ์ *L. acidophilus* La-14, *L. acidophilus* LA-5® และ *B. animalis* BB-12® ใน purée กล้วยไข่มีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นแต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ และมีการสร้างกรดแลคติกเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในระหว่างการเก็บ โดยเฉพาะ *B. animalis* BB-12® ย่อมสะท้อนถึงการที่จุลินทรีย์ทั้งสามสายพันธุ์เหล่านี้สามารถใช้สารอาหารใน purée กล้วยไข่ได้แต่ไม่ดีเท่ากับ *L. paracasei* Lpc-37 และเมื่อเปรียบเทียบกับ

ค่า prebiotic activity scores พบว่าจุลินทรีย์ทั้งสามชนิดนี้มีค่า prebiotic activity scores แตกต่างกันโดย *B. animalis* BB-12® มีค่าดังกล่าวสูงที่สุด รองลงมาคือ *L. acidophilus* LA-5® และ *L. acidophilus* La-14 ตามลำดับ ซึ่งให้ผลการทดลองสอดคล้องกับการสร้างกรด นอกจากนี้ยังพบว่าจุลินทรีย์สายพันธุ์ *L. acidophilus* NCFM® ไม่มีการเปลี่ยนแปลงทั้งจำนวนเซลล์และปริมาณกรด แสดงว่าจุลินทรีย์ไม่มีกิจกรรมในการดำรงชีวิต แต่เมื่อพิจารณาค่า prebiotic activity scores พบว่า *L. acidophilus* NCFM® ให้ค่า prebiotic activity score สูง รองลงมาจาก *L. paracasei* Lpc-37 ที่เจริญใน purée กล้วยไข่ ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่า *L. acidophilus* NCFM® สามารถเจริญได้ดีในอาหาร MRS ที่เติม purée กล้วยไข่ที่ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรในช่วงเวลาการเจริญที่ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิการบ่ม 37 องศาเซลเซียส แต่เมื่อเก็บเซลล์ใน purée กล้วยไข่เป็นเวลา 21 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าจุลินทรีย์ดังกล่าวกลับไม่มีกิจกรรมในการดำรงชีวิต ซึ่งอาจเนื่องมาจากการเก็บจุลินทรีย์ *L. acidophilus* NCFM® ใน purée กล้วยไข่ในสภาวะดังกล่าวไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์อันเนื่องจากความแตกต่างของสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีต่อกระบวนการเมแทบอลิซึม ระบบการย่อย และการขนส่งสารอาหารดังที่ได้กล่าวมาแล้ว นอกจากนั้นยังมีปัจจัยต่อการอยู่รอดของจุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหารที่สำคัญอีกหลายประการ ได้แก่ แหล่งคาร์โบไฮเดรต สารอาหาร pH ปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น การผลิตกรดระหว่างการเก็บรักษา สารที่ช่วยส่งเสริมหรือยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ความชื้น ออกซิเจน อุณหภูมิการเก็บรักษา และระยะเวลาการเก็บรักษา เป็นต้น (Dave และ Shah 1997c, 1997d; Khurana และ Kanawjia, 2007)

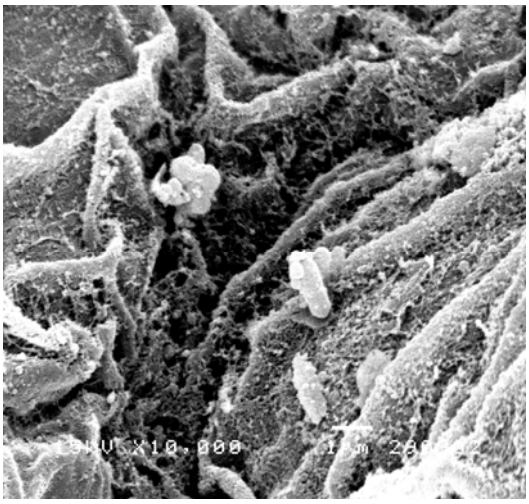
ดังนั้นสรุปโดยรวมได้ว่าเมื่อเก็บจุลินทรีย์โพรไบโอติกแต่ละสายพันธุ์ใน purée กล้วยแต่ละชนิดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 สัปดาห์ จำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติก และปริมาณกรดทั้งหมดโดยส่วนใหญ่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บรักษา ยกเว้นจุลินทรีย์ *L. acidophilus* NCFM®, *L. acidophilus* La-14 และ *L. acidophilus* LA-5® ใน purée กล้วยน้ำว้ามีจำนวนเซลล์ลดลงประมาณ 1 $\log_{10}$CFU ต่อกรัม และพบผลการทดลองที่น่าสนใจ คือ จุลินทรีย์ *L. paracasei* Lpc-37 ที่เก็บใน purée กล้วยไข่ แสดงกิจกรรมการเจริญได้ดี มีจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเพิ่มมากขึ้นถึง 0.7 $\log_{10}$CFU ต่อกรัม และสร้างกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นร้อยละ 0.25

ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ผ่านมาในการประเมินค่า prebiotic activity scores ของจุลินทรีย์ *L. paracasei* Lpc-37 ที่เจริญในอาหารที่เติม purée กล้วยไข่ ซึ่งมีค่าดังกล่าวนี้เป็นบวกสูงที่สุด จึงชี้ให้เห็นว่า purée กล้วยไข่มีสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ *L. paracasei* Lpc-37 และมีแนวโน้มที่จะนำไปใช้ในการผลิตเป็น purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่มีจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตมากที่สุด โดยที่จุลินทรีย์เหล่านั้นยังคงมีกิจกรรมในการดำรงชีวิตอยู่ทั้งในระหว่างการผลิตและการเก็บรักษา ซึ่งถือได้ว่าเป็นผลิตภัณฑ์ที่ดี (Kosin และ Rakshit, 2006)

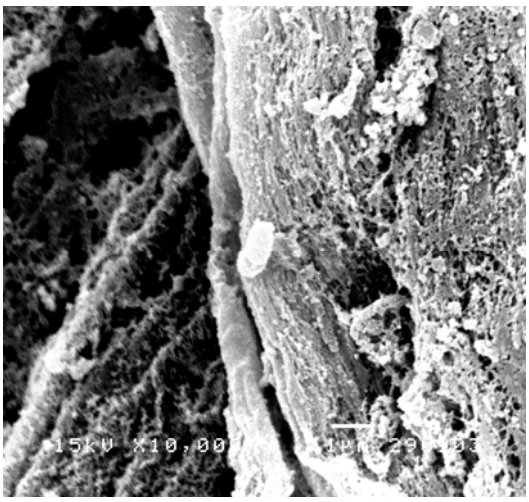
ในผลการทดลองข้างต้นบ่งชี้ได้ว่าจุลินทรีย์ *L. paracasei* Lpc-37 เป็นสายพันธุ์ที่สามารถอยู่รอด และแสดงกิจกรรมการเจริญได้ดีใน purée กล้วยในระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งในการตรวจสอบเพื่อยืนยันสภาวะที่เหมาะสมในการเก็บรักษาเซลล์ดังกล่าว จะต้องมีการตรวจสอบสัญฐานวิทยาของเซลล์ (cell morphology) เพื่อดูความสมบูรณ์ของเซลล์ ดังนั้นจึงนำเซลล์ *L. paracasei* Lpc-37 ที่เก็บใน purée กล้วยทั้งสามชนิดในวันที่ 21 ของการเก็บรักษาไปตรวจสอบด้วย SEM โดยใช้กำลังขยาย 10,000 เท่า ผลการทดลองแสดงในภาพที่ 4.4

จาก scanning electron micrograph จะเห็นได้ว่าจุลินทรีย์ *L. paracasei* Lpc-37 ที่ยึดเกาะใน purée กล้วยหอมทอง (ภาพที่ 4.4 ก) มีลักษณะของเซลล์อยู่เป็นเซลล์เดี่ยว และมีเซลล์ปรากฏให้เห็นเป็นจำนวนน้อย เช่นเดียวกับที่เก็บใน purée กล้วยน้ำว้า (ภาพที่ 4.4 ข) ในขณะที่การเก็บเซลล์ดังกล่าวใน purée กล้วยไข่ (ภาพที่ 4.4 ค) พบเซลล์จำนวนมากและเด่นชัดที่สุด เซลล์แสดงให้เห็นว่าอยู่ในช่วงการแบ่งตัวซึ่งสามารถมองเห็นได้อย่างชัดเจน จึงทำให้เซลล์จุลินทรีย์ไม่ได้อยู่เป็นเซลล์เดี่ยวเหมือนกับ purée กล้วยหอมทอง และ purée กล้วยน้ำว้า แต่อยู่รวมกันเป็นกลุ่มยึดเกาะบนพื้นผิวของ purée กล้วยไข่ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบการเปลี่ยนแปลงจำนวนเซลล์ใน purée คือ จุลินทรีย์ *L. paracasei* Lpc-37 ที่เก็บใน purée กล้วยหอมทองและกล้วยน้ำว้าไม่มีการเปลี่ยนแปลงจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต และไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดทั้งหมดในระหว่างการเก็บรักษา แสดงให้เห็นว่าสภาวะการเก็บรักษาเซลล์ใน purée กล้วยทั้งสองชนิดนี้ไม่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเซลล์ดังกล่าว จึงพบเซลล์อยู่เป็นเซลล์เดี่ยว ไม่มีการเจริญโดยใช้สารอาหารจาก purée และยึดเกาะกับกล้วยเพื่อแบ่งเซลล์

(ก)



(ข)



(ค)

ภาพที่ 4.4 Scanning electron micrograph ของเซลล์ *L. paracasei* Lpc-37 ที่ยึดเกาะบน purée (ก) กล้วยหอมทอง (ข) กล้วยน้ำว้า และ (ค) กล้วยไข่ ในระหว่างการเก็บรักษา

เพิ่มจำนวน ดังนั้นเซลล์ส่วนใหญ่ใน purée กล้วยทั้งสองชนิดนี้จึงอาจถูกชะล้างออกไปในขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างสำหรับส่องเซลล์ (ซึ่งจะต้องแช่ตัวอย่างไว้ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ข้ามคืน แล้วทำให้แห้งด้วยสารละลายเอทานอลที่ความเข้มข้นสูง) แต่ในขณะที่เซลล์ที่เก็บใน purée กล้วยไข่ จุลินทรีย์มีการแบ่งเซลล์เพื่อเพิ่มจำนวน จึงมีการสร้างชุมชุนของเซลล์ (colonization) โดยการยึดเกาะกับพื้นผิวของแหล่งอาหาร ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ผ่านมา คือ *L. paracasei* Lpc-37 ที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติม purée กล้วยไข่มีค่า prebiotic activity scores สูงที่สุด และเมื่อเก็บเซลล์ไว้ใน purée กล้วยไข่ มีจำนวนเซลล์ และปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา แสดงว่าจุลินทรีย์มีกิจกรรมในการดำรงชีวิต และสามารถใช้สารอาหารสำหรับการเจริญเติบโตและสร้างเซลล์ จึงพยายามยึดเกาะ (adhere) กับ purée เพื่อหาอาหารและสร้างชุมชนขึ้น จึงพบจำนวนเซลล์ที่ยึดเกาะกับ purée กล้วยชนิดนี้มากกว่า purée กล้วยชนิดอื่น นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างกรดแลคติก (lactic acid bacteria) สามารถสร้างสารประกอบพอลิแซ็คคาไรด์ออกมาภายนอกเซลล์ (exopolysaccharide) ซึ่งมีลักษณะเป็นเมือก (mucoid) หรือของเหลวที่เหนียว (slime) ในระหว่างการเจริญ (Cerning, 1990; Cerning และคณะ, 1992; Robijn และคณะ, 1996; Degeest, Vaningelgem และ De Vuyst, 2001) ซึ่งจะเห็นได้จากภาพที่ 4.4 ก ดังนั้นจากผลการทดลองนี้ยืนยันได้ว่าการเก็บ *L. paracasei* Lpc-37 ใน purée กล้วยไข่น่าจะเป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิต purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก จึงทำให้ *L. paracasei* Lpc-37 สามารถยึดเกาะกับ purée กล้วยไข่และสร้างชุมชนดังที่พบในภาพที่ 4.4 ค

ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่า purée กล้วยไข่มีค่า prebiotic activity scores สูงสุดต่อจุลินทรีย์ *L. paracasei* Lpc-37 และเมื่อเก็บจุลินทรีย์ดังกล่าวใน purée กล้วยทั้งสามชนิด พบว่าจุลินทรีย์นี้ที่เก็บใน purée กล้วยไข่แสดงกิจกรรมการเจริญที่บ่งชี้จากการมีจำนวนเซลล์และมีปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นจากค่าเริ่มต้นในระหว่างการเก็บรักษา และเมื่อตรวจสอบด้วย SEM พบว่าเซลล์ *L. paracasei* Lpc-37 มีการแบ่งตัวเพื่อเพิ่มจำนวน และสร้างชุมชนโดยยึดเกาะกับพื้นผิวของ purée กล้วยไข่ ซึ่งผลการทดลองทั้งสามขั้นตอนสามารถยืนยันได้ว่าการเตรียม purée

กล้วยไข่ที่เติมจุลินทรีย์สายพันธุ์ *L. paracasei* Lpc-37 ตามวิธีการที่อธิบายไว้เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่จะใช้ในการผลิต purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่จะใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

จากผลการวิจัยนี้ทำให้เกิดแนวคิดเกี่ยวกับการผลิตโยเกิร์ตชนิดเซ็ตใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก โดยการเติมจุลินทรีย์โพรไบโอติกลงใน purée กล้วยแทนการเติมจุลินทรีย์โพรไบโอติกลงในนมร่วมกับจุลินทรีย์โยเกิร์ต ซึ่งจะช่วยให้อัตราการอยู่รอดของเซลล์โพรไบโอติกสูงกว่า เนื่องจากโยเกิร์ตทางการค้าส่วนใหญ่นิยมเติมจุลินทรีย์โพรไบโอติกร่วมกับจุลินทรีย์โยเกิร์ตลงในนม และพบว่าส่วนใหญ่จำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์จะลดลงในระหว่างการเก็บรักษา เนื่องจากจุลินทรีย์โยเกิร์ตอาจผลิตสาร metabolites เพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติก ได้แก่ กรด ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และสารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียอื่นๆ (bacteriocins) (Vandevoorde และคณะ, 1993; Dave และ Shah, 1997c,d; Shah และ Ly, 1999) นอกจากนี้งานวิจัยส่วนใหญ่รายงานว่าเมื่อเติมจุลินทรีย์โพรไบโอติกร่วมกับจุลินทรีย์โยเกิร์ตลงในผลิตภัณฑ์นม จุลินทรีย์โพรไบโอติกมักจะมีจำนวนลดลงในระหว่างการเก็บรักษา (Shah และคณะ, 1995; Dave และ Shah, 1997c,d; Shin และคณะ, 2000a; Gueimonde และคณะ, 2004; Donkor และคณะ, 2006, 2007; Aryana และ McGrew, 2007) และมีรายงานว่าการเติมจุลินทรีย์โพรไบโอติกลงไปในผลิตภัณฑ์อาหารชนิดอื่นๆ ที่ไม่ใช่นม เช่น เติมในผลิตภัณฑ์จากผักและผลไม้ ผลิตภัณฑ์จากธัญพืชและถั่วเหลือง หรือผลิตภัณฑ์จากเนื้อสัตว์ พบว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติกยังคงมีจำนวนเซลล์ที่ยังมีชีวิตในปริมาณที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ (Erkkilä และคณะ, 2001; Betoret และคณะ, 2003; Ouwehand, Kurvinen และ Rissanen, 2004; Lavermicocca และคณะ, 2005; Rivera-Espinaza และ Gallardo-Navarro, 2010) ซึ่งงานวิจัยนี้ถือว่าเป็นทางเลือกใหม่สำหรับประยุกต์ใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตผสมโพรไบโอติกที่ยังคงจำนวนโพรไบโอติก และดำรงกิจกรรมการมีชีวิตได้มากกว่าการผลิตแบบดั้งเดิม ซึ่งนอกจากจะใช้กับผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตได้แล้ว ยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารชนิดอื่นๆ เช่นพวกที่ต้องการผลไม้ผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกเป็นส่วนประกอบได้

4.5 ชนิดและปริมาณของพรีไบโอติกที่เหมาะสมสำหรับเป็นสารทดแทนไขมันในการผลิตโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ต

ขั้นตอนนี้เป็นการผลิตโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกโดยศึกษาอิทธิพลของชนิดและปริมาณที่เหมาะสมของพรีไบโอติกทางการค้า ได้แก่ อินูลินสายยาว (Orafti®HP) และพอลิเดกซ์โตรส (Litesse®) สำหรับใช้เป็นสารทดแทนไขมันในการผลิตโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ต โดยเตรียมนมสำหรับผลิตโยเกิร์ตจากนมผง ปรับมาตรฐานนมให้มีปริมาณโปรตีน ร้อยละ 4.5 และไขมัน ร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร แล้วเติมน้ำตาลทรายลงไปในนม ร้อยละ 6 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และเติมพรีไบโอติกโดยแปรชนิดและปริมาณของพรีไบโอติก ได้แก่ ตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้เติมพรีไบโอติก ตัวอย่างที่เติมอินูลินสายยาว ร้อยละ 1, 2, และ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 1, 2 และ 3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เตรียมตัวอย่างละ 2 ลิตร นำมาโฮโมจีไนซ์ พาสเจอไรซ์ ทำให้เย็นที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส แล้วเติมจุลินทรีย์โยเกิร์ต จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส จนกว่าจะได้ pH 4.5 แล้วเก็บในตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียส หลังการผลิต 1 วัน ตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของโยเกิร์ต ได้ผลแสดงในตารางที่ 4.6 และประเมินผลทางประสาทสัมผัสในด้านความชอบของผู้บริโภคในวันที่ 4 (หลังการผลิต) โดยใช้ผู้ทดสอบทั่วไป 42 คน ได้ผลแสดงในตาราง 4.7

ตัวอย่างควบคุม (ตัวอย่างที่ไม่ได้เติมพรีไบโอติก) ตัวอย่างที่เติมอินูลิน และตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรสในปริมาณต่างๆ ไม่มีผลต่อปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ปริมาณกรดทั้งหมด (คำนวณในรูปของกรดแลคติก) อยู่ในช่วง 1.12-1.24 โดยตัวอย่างที่เติมอินูลินส่วนใหญ่มีปริมาณกรดทั้งหมดต่ำกว่าตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรส อาจเนื่องจากโครงสร้างของอินูลินมีฟรุคโตสและกลูโคสเป็นส่วนประกอบ (Coussement, 1999; Niness, 1999; Franck และ Coussement, 2001; Roberfroid, 2006) ในขณะที่พอลิเดกซ์โตรสนอกจากจะมีกลูโคสเป็นส่วนประกอบแล้ว ยังมีซอร์บิทอล และกรดซิตริกจำนวนเล็กน้อยเป็นส่วนประกอบในโครงสร้าง โดยมีอัตราส่วน กลูโคส:ซอร์บิทอล:กรดซิตริก เป็น 89:10:1 (Figdor และ Rennhard, 1981; Figdor และ Bianchine, 1983) จึงอาจมีส่วนทำให้ตัวอย่างที่เติมอินูลินมีปริมาณกรดทั้งหมดต่ำกว่าตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรส และพบว่าการเติมพรีไบโอติกชนิด

ตารางที่ 4.6 ผลของอินูลินและพอลิเดกซ์โตรสในปริมาณต่างๆ ที่มีต่อสมบัติทางเคมีและกายภาพของโยเกิร์ต

ชนิดและปริมาณของพรีไบโอติก	กรดทั้งหมด[ns] (ร้อยละ)	pH[ns]	ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (องศาบริกซ์)	ของแข็งทั้งหมด (ร้อยละ)	การแยกส่วนของของเหลว[ns] (ร้อยละ)	ความสามารถในการอุ้มน้ำ (ร้อยละ)	ความหนืดปรากฏ (มิลลิปาสคาล. วินาที)	ความแน่นเนื้อ (นิวตัน)	ความคงตัว (นิวตัน. มิลลิเมตร)
ตัวอย่างควบคุม	1.22±0.08	4.34±0.18	16.50±0.47^{e}	21.24±0.42^{d}	30.81±1.60	14.99±1.68^{a}	3,455±291^{abc}	1.72±0.08^{ab}	8.42±0.94^{b}
อินูลิน 1%	1.12±0.01	4.51±0.23	18.00±0.00^{d}	21.88±0.24^{cd}	31.91±3.95	11.85±2.16^{bc}	3,066±162^{cd}	1.90±0.12^{a}	9.63±0.79^{b}
อินูลิน 2%	1.15±0.02	4.45±0.18	19.00±0.00^{bc}	22.84±0.38^{bc}	30.17±3.07	11.74±1.49^{bc}	2,997±226^{d}	1.43±0.19^{c}	13.73±0.61^{a}
อินูลิน 3%	1.19±0.04	4.37±0.08	20.00±0.38^{a}	24.20±1.13^{a}	33.01±3.11	10.35±2.67^{c}	2,957±92^{d}	1.19±0.11^{d}	4.50±0.39^{c}
พอลิเดกซ์โตรส 1%	1.23±0.07	4.28±0.21	18.00±0.43^{d}	22.31±0.65^{c}	28.52±2.41	15.24±0.52^{a}	3,792±141^{a}	1.61±0.11^{bc}	9.40±0.64^{b}
พอลิเดกซ์โตรส 2%	1.24±0.04	4.28±0.19	19.00±0.69^{c}	22.64±0.55^{c}	27.60±2.58	13.17±1.41^{abc}	3,610±275^{ab}	1.65±0.11^{b}	9.87±0.66^{b}
พอลิเดกซ์โตรส 3%	1.21±0.01	4.31±0.16	19.50±0.58^{ab}	23.75±0.32^{ab}	29.14±2.89	14.46±0.51^{ab}	3,261±180^{bcd}	1.54±0.09^{bc}	5.72±0.16^{c}

[ns] ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$)

[a, b...] อักษรตัวเล็กที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างชนิดและปริมาณของพรีไบโอติกที่แตกต่างกัน ($p \leq 0.05$)

เดียวกันในปริมาณที่แตกต่างกันไม่ทำให้ปริมาณกรดทั้งหมดแตกต่างกัน เนื่องจากในการผลิตโยเกิร์ตทุกตัวอย่างที่เติมพรีไบโอติกจะมีการควบคุมค่า pH ในระหว่างการผลิตให้ค่อนข้างคงที่ที่ค่าประมาณ 4.5 ดังนั้นจึงไม่มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดแลคติกที่เกิดขึ้นหลังการผลิต 1 วัน จนสังเกตเห็นความแตกต่างได้อย่างชัดเจน โดยปริมาณกรดอยู่ในช่วงร้อยละ 1.12-1.24 ทั้งนี้ Schmidt (1992) ได้รายงานว่าโยเกิร์ตจะมีปริมาณกรดแลคติกอยู่ในช่วงร้อยละ 0.9-1.2 เนื่องจากการย่อยสลายน้ำตาลแลคโตสโดยแบคทีเรียที่ใช้ผลิต ส่วนน้ำตาลซูโครสกับสารให้ความหวานที่เติมลงไปไม่มีผลต่อเมแทบอลิซึมของแบคทีเรียที่ใช้ผลิตโยเกิร์ต นอกจากนั้นยังเป็นที่ทราบกันดีว่าจุลินทรีย์โยเกิร์ตจะใช้น้ำตาลแลคโตสในนมผ่านกระบวนการหมักเพื่อเปลี่ยนเป็นกรดแลคติกที่ทำให้เกิดลิ่มนม (curd) ในผลิตภัณฑ์ แต่กลับไม่ค่อยใช้พรีไบโอติกในกระบวนการทางชีวเคมีเพื่อการเจริญและอยู่รอดของตัวมัน ดังนั้นปริมาณกรดทั้งหมดที่แตกต่างกันในตัวอย่างที่เติมโพรไบโอติกต่างชนิดกันน่าจะเป็นผลสืบเนื่องจากองค์ประกอบทางโครงสร้างของพรีไบโอติกที่ต่างกันดังได้อธิบายไว้แล้ว

ตัวอย่างควบคุม ตัวอย่างที่เติมอินูลิน และตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรสในปริมาณต่างๆ ไม่มีผลต่อค่า pH ของโยเกิร์ตอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) โดยโยเกิร์ตในทุกตัวอย่างมีค่า pH อยู่ในช่วง 4.28-4.51 เนื่องจากในระหว่างการผลิตโยเกิร์ตมีการควบคุมค่า pH ของตัวอย่างให้มีค่าประมาณ 4.5 ดังนั้นโยเกิร์ตหลังการผลิต 1 วัน จึงมีค่า pH ของทุกตัวอย่างไม่เปลี่ยนแปลงหรือแตกต่างกัน ผลที่ได้นี้สอดคล้องกับรายงานของ Guven และคณะ (2005) ซึ่งพบว่าการเติมอินูลินในปริมาณร้อยละ 0-3 ทำให้โยเกิร์ตมีค่า pH ไม่แตกต่างกัน (4.46-4.52) และ Guggisberg และคณะ (2009) ยังพบว่าการเติมอินูลิน ร้อยละ 0-4 ไม่มีผลต่อค่า pH ของโยเกิร์ต ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 4.1-4.3 และเป็นที่น่าสังเกตว่าค่า pH (แม้จะไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ) ของตัวอย่างกลุ่มที่เติมอินูลิน (pH 4.37-4.51) มีแนวโน้มสูงกว่าค่า pH ของตัวอย่างกลุ่มที่เติมพอลิเดกซ์โตรส (pH 4.28-4.31) ซึ่งเป็นผลที่สอดคล้องกับปริมาณกรดทั้งหมด

ตัวอย่างควบคุม และตัวอย่างที่เติมชนิดและปริมาณของพรีไบโอติกที่แตกต่างกันมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กล่าวคือ

ตัวอย่างที่เติมอินูลิน และตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 3 มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดสูงที่สุดและไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (20.00 และ 19.50 องศาบริกซ์ สำหรับตัวอย่างที่เติมอินูลิน และพอลิเดกซ์โตรส ตามลำดับ) รองลงมาได้แก่ ตัวอย่างที่เติมอินูลิน และตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรสที่ปริมาณร้อยละ 2 และ 1 ตามลำดับ และสุดท้ายคือ ตัวอย่างควบคุม (16.5 องศาบริกซ์) จะเห็นได้ว่าชนิดของพรีไบโอติกที่แตกต่างกันไม่ทำให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดแตกต่างกัน แต่พบว่าปริมาณพรีไบโอติกชนิดเดียวกันที่เติมแตกต่างกันมีผลทำให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดแตกต่างกัน โดยตัวอย่างที่เติมพรีไบโอติกในปริมาณมากจะมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดสูง และตัวอย่างที่เติมพรีไบโอติกปริมาณน้อยจะมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดต่ำ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Villegas และคณะ (2010) ที่ได้รายงานว่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในเครื่องดื่มนมไขมันต่ำแปรผันตามปริมาณของแข็งทั้งหมด ได้แก่ อินูลิน และน้ำตาลซูโครสที่เติมลงไปในแต่ละตัวอย่าง

ปริมาณของแข็งทั้งหมดของโยเกิร์ตทุกตัวอย่างแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กล่าวคือ ตัวอย่างที่เติมอินูลิน และตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 3 มีปริมาณของแข็งทั้งหมดสูงที่สุดและไม่แตกต่างกัน รองลงมาได้แก่ ตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 1 และ 2 ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกับตัวอย่างที่เติมอินูลิน ร้อยละ 2 และสุดท้ายคือ ตัวอย่างที่เติมอินูลิน ร้อยละ 1 และตัวอย่างควบคุม ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าชนิดของพรีไบโอติกที่แตกต่างกันไม่ทำให้ปริมาณของแข็งทั้งหมดแตกต่างกัน แต่ปริมาณพรีไบโอติกชนิดเดียวกันที่เติมแตกต่างกันมีผลทำให้ปริมาณของแข็งทั้งหมดแตกต่างกัน ทั้งนี้ตัวอย่างควบคุมมีปริมาณของแข็งทั้งหมดต่ำที่สุด (ร้อยละ 21.24) ตัวอย่างที่เติมพรีไบโอติก ร้อยละ 1 และ 2 มีปริมาณของแข็งทั้งหมดสูงกว่าตัวอย่างควบคุมและไม่แตกต่างกัน (ร้อยละ 21.88 22.84 และร้อยละ 22.31 22.64 สำหรับตัวอย่างที่เติมอินูลิน และพอลิเดกซ์โตรส ตามลำดับ) แต่ตัวอย่างที่เติมพรีไบโอติก ร้อยละ 3 มีปริมาณของแข็งทั้งหมดมากที่สุด (ร้อยละ 24.20 และ 23.75 สำหรับตัวอย่างที่เติมอินูลิน และพอลิเดกซ์โตรส ตามลำดับ) ซึ่งมีรายงานว่าการเพิ่มปริมาณอินูลิน หรือโอลิโกฟรุคโตสทำให้ปริมาณของแข็งทั้งหมดในผลิตภัณฑ์ต่างๆ รวมถึงโยเกิร์ตเพิ่มขึ้น (de Castro และคณะ, 2009; Guggisberg และคณะ, 2009; Debon, Prudêncio และ Petrus, 2010)

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าโยเกิร์ตที่เติมพรีไบโอติกในปริมาณที่เท่ากันจะมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดน้อยกว่าปริมาณของแข็งทั้งหมด เนื่องจากปริมาณของแข็งทั้งหมดในผลิตภัณฑ์จะประกอบด้วยทั้งปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำไม่ได้ นอกจากนี้ตัวอย่างที่เติมพรีไบโอติกในปริมาณน้อยจะมีปริมาณของแข็งทั้งสองรูปแบบน้อยกว่า แต่ถ้าเติมพรีไบโอติกในปริมาณเพิ่มขึ้น ปริมาณของแข็งทั้งสองดังกล่าวนี้จะเพิ่มขึ้นอย่างสอดคล้องกัน ดังนั้นปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และปริมาณของแข็งทั้งหมดจึงขึ้นอยู่กับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่เติมลงไปในผลิตภัณฑ์

ตัวอย่างควบคุม และตัวอย่างที่เติมชนิดและปริมาณของพรีไบโอติกที่แตกต่างกัน (สำหรับเป็นสารทดแทนไขมัน) ไม่มีผลต่อค่าการแยกส่วนของเหลวของโยเกิร์ตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ซึ่งพบค่าการแยกส่วนของเหลวของโยเกิร์ตทุกตัวอย่างอยู่ในช่วง 27.60-33.01 และชนิดของพรีไบโอติกที่แตกต่างกันทำให้ค่าดังกล่าวแตกต่างกัน โดยตัวอย่างที่เติมอินูลินมีค่าการแยกส่วนของของเหลวสูงกว่าตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรส (ร้อยละ 30.17-33.01 และร้อยละ 27.6-29.14 สำหรับตัวอย่างที่เติมพรีไบโอติกทั้งสองชนิด) ทั้งนี้โครงสร้างของพรีไบโอติกทั้งสองชนิดจะแตกต่างกันที่ความเป็นกิ่งก้านสาขา (branching) โดยที่พอลิเดกซ์โตรส (DP เท่ากับ 12) มีลักษณะโครงสร้างดังกล่าวนี้มากกว่าอินูลินสายยาว (DP มากกว่าหรือเท่ากับ 23) (Craig และคณะ, 1998; Roberfroid, 2007) จึงอาจทำให้กระจายตัว จัดเรียงตัว และสอดแทรกกิ่งก้านสาขาเข้าไปในโครงสร้างของลิ่มนมในโยเกิร์ตได้ดีกว่า และอาจสามารถส่งหมู่ฟังก์ชันต่างๆ เช่น ไฮดรอกซิลให้จับกับน้ำผ่านพันธะไฮโดรเจน (H-bonding) ได้มาก ดังนั้นตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรสจึงมีค่าการแยกส่วนของของเหลวต่ำกว่า นอกจากนั้นโครงสร้างของอินูลินมีฟรุคโตส และกลูโคสเป็นส่วนประกอบ ในขณะที่พอลิเดกซ์โตรสมีกลูโคสที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก และยังมีซอร์บิทอลและกรดปริมาณเล็กน้อย ดังนั้นพอลิเดกซ์โตรสจึงมีแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลของมันกับน้ำได้มาก ทำให้ไม่เกิดการแยกตัวของน้ำในรูปของเวย์ (whey) มากเท่ากับอินูลิน สำหรับปริมาณของพรีไบโอติกชนิดเดียวกันที่แปรค่าไม่มีผลต่อค่าการแยกส่วนของของเหลวในตัวอย่างที่เติมพรีไบโอติกแต่ละชนิด (ร้อยละ 30.17-33.01 และร้อยละ 27.60-29.14 เมื่อใช้อินูลิน และพอลิเดกซ์โตรส ตามลำดับ) อย่างไรก็ตาม Amatayakul, Sherkat และ Shah

(2006) รายงานว่าเมื่อปริมาณของแข็งทั้งหมดในโยเกิร์ตชนิดเซ็ตเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 9 เป็น 14 จะมีค่าการแยกส่วนของของเหลวลดลง และ Mahdian และ Tehrani (2007) พบว่าเมื่อโยเกิร์ตมีปริมาณของแข็งเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 14 เป็น 18, 23 และ 27 ค่าการแยกส่วนของของเหลวจะลดลงตามลำดับเช่นกัน จากผลการทดลองนี้จะเห็นได้ว่าปริมาณพรีไบโอติกที่เพิ่มขึ้นสำหรับใช้เป็นสารทดแทนไขมัน ไม่ทำให้ค่าการแยกส่วนของของเหลวแตกต่างกัน เนื่องจากปริมาณที่แปรค่าอาจไม่ส่งผลกระทบอย่างเด่นชัด อย่างไรก็ตามผลวิจัยที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Guven และคณะ (2005) ที่รายงานว่าการเพิ่มปริมาณอินูลินจากร้อยละ 1 เป็น 3 ในโยเกิร์ตที่มีไขมันร้อยละ 0.1 ไม่มีผลต่อค่าการแยกส่วนของเวย์ ในขณะที่ Ipsen และคณะ (2001) ได้รายงานว่าปัจจัยที่ช่วยส่งเสริมให้โยเกิร์ตมีค่าการแยกส่วนของของเหลวลดลง ได้แก่ การเพิ่มปริมาณไขมันและอินูลินในระดับที่พอดีลงในโยเกิร์ต ทั้งนี้ในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตที่มีปริมาณไขมันคงที่ที่ร้อยละ 1.5 ตลอดการทดลอง

ความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity) ของโยเกิร์ตทุกตัวอย่างมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กล่าวคือ ตัวอย่างควบคุม และตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 1 มีค่าความสามารถในการอุ้มน้ำสูงที่สุด และไม่แตกต่างกับตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 2 และ 3 รองลงมาคือ ตัวอย่างที่เติมอินูลิน ร้อยละ 1 และ 2 (ซึ่งไม่แตกต่างกัน) และสุดท้ายคือ ตัวอย่างที่เติมอินูลิน ร้อยละ 3 จะเห็นได้ว่าชนิดของพรีไบโอติกสำหรับเป็นสารทดแทนไขมันที่แตกต่างกัน ทำให้ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ พบว่าตัวอย่างที่เติมอินูลินมีค่าความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำกว่าพวกที่เติมพอลิเดกซ์โตรส ดังได้อธิบายเหตุผลไว้ข้างต้นแล้ว ทั้งนี้ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับค่าการแยกส่วนของของเหลวที่ตัวอย่างผสมอินูลินมีค่าสูงกว่าตัวอย่างที่ผสมพอลิเดกซ์โตรส นอกจากนั้นพบว่าการเติมพรีไบโอติกชนิดเดียวกันในปริมาณที่แตกต่างกันไม่ทำให้ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำแตกต่างกัน ซึ่งใกล้เคียงกับผลการวิจัยของ Sahan, Yasar และ Hayaloglu (2008) ที่รายงานว่าโยเกิร์ตไขมันต่ำ (ร้อยละ 0.1) ที่เติม β-glucan (พอลิแซ็คคาไรด์ที่มีกลูโคสต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิติก β-1,3, 1,4, และ 1,6) ร้อยละ 0.25, 0.5 และ 1.0 มีค่าความสามารถในการอุ้มน้ำไม่แตกต่างกัน

ความหนืดปรากฏ (apparent viscosity) ของโยเกิร์ตทุกตัวอย่างมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) พบว่าตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 1 มีค่าความหนืดปรากฏสูงที่สุด และไม่แตกต่างจากตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 2 และตัวอย่างควบคุม รองลงมาได้แก่ ตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 3 ซึ่งไม่แตกต่างกับพวกที่เติมอินูลิน ร้อยละ 1, 2 และ 3 จะเห็นได้ว่าตัวอย่างที่เติมอินูลินมีค่าความหนืดปรากฏต่ำกว่าโยเกิร์ตที่เติมพอลิเดกซ์โตรส ทั้งนี้อาจเนื่องจากอินูลินเป็นพอลิแซ็คคาไรด์ที่เป็นเส้นตรงที่มีโครงสร้างเป็น F_m หรือ GF_n เชื่อมต่อกันด้วยพันธะบีตา -2,1 ในขณะที่พอลิเดกซ์โตรสเป็นพอลิเมอร์ของกลูโคสที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิกโดยส่วนใหญ่จะเป็นชนิดแอลฟา-1,6 และมีลักษณะกิ่งก้านสาขาอยู่ด้วย โดยมีซอร์บิทอลและกรดจำนวนเล็กน้อย จึงทำให้พอลิเดกซ์โตรสสามารถเกิดอันตรกิริยา (interaction) กับน้ำได้ดีกว่าอินูลิน มีความสามารถในการดูดซับและอุ้มน้ำสูงกว่า โดยโมเลกุลของน้ำถูกตรึงให้อยู่ในโครงสร้างร่างแหของโปรตีน (เคซีน) กับพอลิแซ็คคาไรด์ (พอลิเดกซ์โตรส)ได้แข็งแรงกว่า ซึ่งสอดคล้องกับค่าความสามารถในการอุ้มน้ำของตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรสที่มีค่าสูงกว่า และมีการแยกตัวของของเหลวน้อยกว่าตัวอย่างที่เติมอินูลิน โดยโมเลกุลของน้ำถูกเก็บกักอยู่ในโครงสร้างร่างแหระหว่างโปรตีนกับพอลิแซ็คคาไรด์ที่มีอันตรกิริยากันอย่างแข็งแรง และไม่แยกตัวออกมาทำหน้าที่เป็นตัวเจือจาง (diluent) ทำให้โยเกิร์ตที่เติมพอลิเดกซ์โตรสมีความหนืดปรากฏสูงกว่าโยเกิร์ตที่เติมอินูลิน และพบว่าตัวอย่างควบคุมมีค่าความหนืดปรากฏสูงกว่าพวกที่เติมอินูลิน อาจเนื่องจากตัวอย่างควบคุมมีปริมาณของแข็งทั้งหมด (ร้อยละ 21.24) รวมทั้งปริมาณโปรตีน (ร้อยละ 4.5) ที่สูงเพียงพอ และเหมาะสมต่อการเกิดโครงสร้างร่างแหของเจลโปรตีนที่แข็งแรง การเติมอินูลินซึ่งเป็นพอลิเมอร์ของพอลิแซ็คคาไรด์เพิ่มขึ้น อาจไปขัดขวางการเกิดโครงสร้างร่างแหของการเกิดเจล จึงทำให้โยเกิร์ตที่เติมอินูลินมีลักษณะของเจลที่อ่อนเหลวกว่า ส่งผลให้ค่าความหนืดปรากฏต่ำกว่าตัวอย่างควบคุม ในขณะที่การเติมพอลิเดกซ์โตรสในปริมาณเพิ่มขึ้นเล็กน้อยกลับไม่ส่งผลดังกล่าว อาจเนื่องจากโครงสร้างของพอลิเดกซ์โตรสมีแรงดึงดูดระหว่างประจุมากกว่าอินูลิน และสามารถจับโมเลกุลน้ำเก็บกักไว้ในโครงสร้างได้ดีกว่า จึงทำให้ค่าความหนืดปรากฏสูงกว่า

นอกจากนี้ยังพบว่าการเติมพรีไบโอติกชนิดเดียวกันในปริมาณที่แตกต่างกันมีผลทำให้ค่าความหนืดปรากฏของโยเกิร์ตแตกต่างกัน ($p \leq 0.05$) โดยโยเกิร์ตที่เติมพรีไบโอติกชนิดเดียวกันร้อยละ 1 และ 2 มีค่าความหนืดปรากฏสูงที่สุด (3,066, 2,997และ มิลลิปาสคาล.วินาที สำหรับตัวอย่างที่เติมอินูลิน และ 3,792 และ 3,609 มิลลิปาสคาล.วินาที สำหรับตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรส) และถ้าเพิ่มปริมาณพรีไบโอติกเป็นร้อยละ 3 จะทำให้โยเกิร์ตมีค่าความหนืดปรากฏลดลง (2,957 และ 3,261 มิลลิปาสคาล.วินาที สำหรับตัวอย่างที่เติมอินูลิน และพอลิเด็กซ์โตรส ตามลำดับ) จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าเมื่อปริมาณพรีไบโอติก (สำหรับเป็นสารทดแทนไขมัน) เพิ่มขึ้นเกินค่าที่เหมาะสม อาจจะทำให้พอลิแซ็คคาไรด์บางส่วนตกตะกอน ซึ่งจะไปปกคลุมที่ผิวของเคซีนไมเซลล์ และรบกวนการเกิดโครงสร้างร่างแหของการเกิดเจล มีผลทำให้ค่าความหนืดปรากฏของโยเกิร์ตลดลง (Everett และ McLeod, 2005) ซึ่งมีการอธิบายไว้ว่าเมื่อเติมเพกตินและคาราจีแนนในปริมาณที่มากขึ้น ทำให้โยเกิร์ตที่เตรียมจากนมพร่องไขมันมีความหนืดปรากฏลดลง และยังมีงานวิจัยอื่นๆ ที่พบว่าเมื่อเติมอินูลินลงในผลิตภัณฑ์นมหมักเครื่องดื่มนม หรือโยเกิร์ตชนิดเซ็ตจะทำให้ผลิตภัณฑ์ต่างๆ เหล่านี้มีความหนืดปรากฏเพิ่มขึ้น แต่ทั้งนี้ต้องขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์ ชนิดของอินูลิน (ขึ้นอยู่กับค่า DP) ปริมาณไขมัน และปริมาณของแข็งทั้งหมดในผลิตภัณฑ์ด้วย (Donkor และคณะ, 2007; Villegas และ Costell, 2007; Debon และคณะ,2010; Villegas และคณะ, 2010) นอกจากนี้ Glibowski (2009) ยังได้รายงานว่าเมื่อเติมสารละลายอินูลิน (ร้อยละ 25 โดยน้ำหนัก) ลงในสารละลาย whey protein (ร้อยละ 7 โดยน้ำหนัก) ในสัดส่วนที่เพิ่มขึ้นจาก 0:5 เป็น 1:4, 2:3 และ 3:2 จะทำให้เจลที่ได้มีความหนืดปรากฏลดลงตามลำดับ

ความแน่นเนื้อ (firmness) ของโยเกิร์ตทุกตัวอย่างมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กล่าวคือ ตัวอย่างที่เติมอินูลิน ร้อยละ 1 มีค่าความแน่นเนื้อสูงที่สุดและไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุม รองลงมาได้แก่ พวกที่เติมพอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 1, 2 และ 3 (ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกัน) อันดับต่อมาได้แก่ ตัวอย่างที่เติมอินูลิน ร้อยละ 2 และ 3 ตามลำดับ อาจกล่าวได้ว่าตัวอย่างที่เติมอินูลิน ร้อยละ 1 และตัวอย่างควบคุมมีความแน่นเนื้อมากที่สุด (1.90 และ

1.72 นิวตัน ตามลำดับ) เนื่องจากตัวอย่างควบคุมมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และปริมาณของแข็งทั้งหมดสูงถึงร้อยละ 16.50 และ 21.24 ตามลำดับ และปริมาณของแข็งทั้งหมดใกล้เคียงและไม่แตกต่างจากตัวอย่างที่เติมอินูลิน ร้อยละ 1 จึงทำให้มีค่าความแน่นเนื้อมาก แต่ถ้าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ และปริมาณของแข็งทั้งหมดเพิ่มมากเกินพอดี จะทำให้ค่าความแน่นเนื้อลดลง (Tamime และ Robinson, 1985) นอกจากนี้อินูลินเป็นพอลิแซ็คคาไรด์ที่มีพอลิเมอร์เป็นเส้นตรง มี DP มากกว่าหรือเท่ากับ 23 จึงอาจเกิดโครงสร้างร่างแหของเจลที่แข็งแรงกว่าพอลิเดกซ์โตรสที่มีลักษณะโครงสร้างเป็นกิ่งก้าน และมี DP โดยเฉลี่ยเท่ากับ 12 ดังนั้นจึงมีแนวโน้มว่าการเติมอินูลินทำให้โยเกิร์ตมีความแน่นเนื้อมากกว่าพวกที่เติมพอลิเดกซ์โตรส โดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ปริมาณร้อยละ 1 และพบว่าตัวอย่างที่เติมอินูลิน ร้อยละ 3 มีความแน่นเนื้อน้อยที่สุด (1.19 นิวตัน) ทั้งนี้อาจเนื่องจากปริมาณอินูลินที่มากเกินไปอาจไปขัดขวางการเกิดเจลของเคซีนได้ (Everett และ McLeod, 2005)

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าชนิดของพรีไบโอติกที่แตกต่างกันสำหรับใช้ในการเป็นสารทดแทนไขมันในโยเกิร์ตไม่ทำให้ความแน่นเนื้อของโยเกิร์ตแตกต่างกัน แต่ปริมาณพรีไบโอติกชนิดเดียวกันที่แตกต่างกันมีผลทำให้ความแน่นเนื้อแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะกับตัวอย่างที่เติมอินูลิน กล่าวคือ การเติมสารทดแทนไขมันในปริมาณมากขึ้น มีผลทำให้ตัวอย่างโยเกิร์ตมีความแน่นเนื้อลดลงอย่างชัดเจน (จาก 1.9 เป็น 1.43 และ 1.19 นิวตัน ตามลำดับ) เนื่องจากการเติมสารทดแทนไขมันที่เป็นพอลิแซ็คคาไรด์ในปริมาณมาก อาจจะทำให้พอลิแซ็คคาไรด์เกิดอันตรกิริยากับพอลิแซ็คคาไรด์ และโปรตีนเกิดอันตรกิริยากับโปรตีนด้วยกันเองแทนที่จะเกิดระหว่าง biopolymers ทั้งสองชนิดที่แตกต่างกัน ดังนั้นโครงสร้างที่แข็งแรงระหว่างโปรตีนและพอลิแซ็คคาไรด์ที่เกิดจากพันธะอิเล็กโตรสเตติกร่วมกับพันธะไฮโดรโฟบิกจึงเกิดได้ในสัดส่วนที่น้อยลง และยังอาจถูกสอดแทรกด้วยโครงสร้างของ biopolymers ชนิดเดียวกัน ความแข็งแรงของโครงสร้างเจลจึงอาจลดน้อยลง และทำให้ความแน่นเนื้อของโยเกิร์ตลดลง ดังนั้นปริมาณสารทดแทนไขมันพวกพอลิแซ็คคาไรด์ควรจะเหมาะสมสำหรับการเกิดอันตรกิริยาระหว่างพอลิแซ็คคาไรด์และโปรตีนให้มากที่สุด (Guggisberg และคณะ 2009) อีกทั้งสารทดแทนไขมันพวกอินูลิน และพอลิเดกซ์โตรสมีความชอบน้ำ (hydrophilic) สูง สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนกับ

โมเลกุลของน้ำได้ดี (Ishak และคณะ, 2006) อาจทำให้โอกาสที่จะเกิดอันตรกิริยากับโปรตีนน้อยลงหากเติมลงในระบบของโปรตีนเจลมากเกินไป จนอาจทำให้เจลที่ได้มีโครงสร้างที่ไม่แข็งแรงพอ นอกจากนี้ความแน่นเนื้อของโยเกิร์ตยังขึ้นอยู่กับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่มีในโยเกิร์ต ซึ่งจะต้องมีอยู่ในปริมาณที่เหมาะสมเพื่อที่โปรตีนเจลจะรักษาโครงสร้างที่แข็งแรงพร้อมๆ กับการจับน้ำอย่างพอเหมาะ (Tamime และ Robinson 1985; Magenis และคณะ, 2006)

ความคงตัว (consistency) ของโยเกิร์ตทุกตัวอย่างมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) พบว่าตัวอย่างที่เติมอินูลิน ร้อยละ 2 มีค่าความคงตัวสูงที่สุด รองลงมาได้แก่ ตัวอย่างที่เติมอินูลิน ร้อยละ 1 ตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 1 และ 2 และตัวอย่างควบคุม (ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ) และสุดท้ายคือ ตัวอย่างที่เติมอินูลินและพอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 3 จากผลการทดลองพบว่าโยเกิร์ตที่เติมอินูลิน ร้อยละ 2 มีความคงตัวมากที่สุด และตัวอย่างที่เติมอินูลินมีแนวโน้มที่จะมีค่าความคงตัวที่มากกว่าตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรส อาจเนื่องมาจากอินูลินมีโครงสร้างทางเคมีเป็นสายโซ่แบบเส้นตรงของ GF_n ที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะบีตา-(2-1) และมี DP มากกว่าหรือเท่ากับ 23 (Roberfroid, 2007) ในขณะที่พอลิเดกซ์โตรสมีโครงสร้างเป็นกิ่งก้านของกลูโคสที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก ซึ่งโดยส่วนใหญ่จะเป็นพันธะชนิดแอลฟา -1,6 และมี DP เท่ากับ 12 (Craig และคณะ, 1998) ทั้งนี้โครงสร้างที่เป็นเส้นตรงและมีสายโซ่ที่ยาวกว่าสามารถเกิดพันธะเชื่อมข้าม (cross link) และโครงสร้างร่างแหในการเกิดเจล (gel network) ได้ดีกว่าโครงสร้างที่มีกิ่งก้านสาขาในโมเลกุลมากและมีสายโซ่สั้น ซึ่งไม่เอื้ออำนวยต่อการเกาะตัวกัน (adhesion) ระหว่างโมเลกุลของโปรตีนกับพอลิแซ็คคาไรด์ในการเกิดเจล จึงทำให้การเติมอินูลินช่วยให้โยเกิร์ตมีค่าความคงตัวมากกว่าพอลิเดกซ์โตรส เมื่อเติมพรีไบโอติกในปริมาณเล็กน้อยและพอเหมาะ โดยเติมอินูลินหรือพอลิเดกซ์โตรสในปริมาณเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 1 เป็น 2 ทำให้ตัวอย่างมีค่าความคงตัวเพิ่มขึ้น เนื่องจากความแข็งแรงของประจุ (ionic strength) บริเวณส่วนที่เป็นของเหลวเพิ่มขึ้น และในขณะเดียวกันจะช่วยลดการผลักกันของประจุ (electrostatic repulsion) บริเวณผิวของเคซีนไมเซลล์ ทำให้ไมเซลล์รวมตัวกันแล้วตกตะกอนเพื่อสร้างลิ่มนมแล้วเกิดเจลประเภทเชิงซ้อนหรือเจลผสม (ระหว่างโปรตีนและพอลิแซ็คคาไรด์) ที่คงตัวได้ดี (González-Martinez และคณะ 2002) แต่ถ้าเติมพรีไบโอติกซึ่งเป็นพอลิแซ็คคาไรด์มากขึ้น

เป็นร้อยละ 3 โยเกิร์ตจะมีค่าความคงตัวลดลง ดังเช่นตัวอย่างที่เติมอินูลินและพอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 3 ซึ่งมีค่าความคงตัวน้อยที่สุด เนื่องจากปริมาณที่มากเกินไปจะไปขัดขวางการเกิดโครงสร้างร่างแหแบบเชิงซ้อนที่แข็งแรง เช่นเดียวกับอันตรกิริยาระหว่างเพกตินซึ่งเป็นพอลิแซ็คคาไรด์ประเภทหนึ่งกับเคซีน โดยที่ Maroziene และ Kruif (2000) พบว่าการเติมเพกตินปริมาณน้อยลงในนมที่มี pH 5.3 โมเลกุลของเพกตินจะดูดซับบนพื้นผิวเคซีนไมเซลล์ได้ดี แต่ถ้าปริมาณเพกตินเพิ่มขึ้นเกินกว่าค่าที่เหมาะสม เคซีนไมเซลล์จะถูกห้อมล้อมไว้ด้วยเพกตินแล้วทำให้แรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลของเคซีนไมเซลล์ลดลง

จากผลการทดลองทางด้านกายภาพทั้งหมดทำให้มองเห็นภาพรวมได้ว่าการเสริมพรีไบโอติกทั้งสองชนิดลงในโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ต จะทำให้สมบัติด้านปริมาณของแข็งที่ละลายได้ และปริมาณของแข็งทั้งหมดเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม และการเติมพอลิเดกซ์โตรสทำให้การแยกส่วนของของเหลวน้อยกว่าตัวอย่างควบคุม และพวกที่เติมอินูลิน รวมทั้งการเติมพอลิเดกซ์โตรสในปริมาณเล็กน้อยมีแนวโน้มทำให้ความสามารถในการอุ้มน้ำ ความหนืดปรากฏ และความคงตัวของโยเกิร์ตเพิ่มมากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุมที่ไม่ได้เติมพรีไบโอติก ทั้งนี้การเติมพอลิเดกซ์โตรสจะต้องอยู่ในระดับที่เหมาะสม (ร้อยละ 1-2) จึงจะทำให้ค่าสมบัติทางกายภาพสูงขึ้น หากเสริมเกินระดับที่เหมาะสม (ร้อยละ 3) จะทำให้สมบัติเหล่านี้มีค่าลดลง นอกจากนั้นยังพบอีกว่าการเสริมพอลิเดกซ์โตรสลงในนมจะทำให้สมบัติด้านความสามารถในการอุ้มน้ำ และความหนืดปรากฏของโยเกิร์ตที่เตรียมได้มีค่าที่สูงกว่าการเสริมด้วยอินูลินที่ระดับเดียวกัน และตัวอย่างที่เสริมด้วยพอลิเดกซ์โตรสในระดับร้อยละ 1-2 มีค่าสมบัติด้านต่างๆ เหล่านี้ที่ไม่แตกต่างกัน จึงมีแนวโน้มว่าพอลิเดกซ์โตรสที่ระดับดังกล่าวเป็นพรีไบโอติกที่เหมาะสมสำหรับการเสริมลงในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่จะพัฒนาขึ้นโดยอยู่เป็นส่วนบน (top) ของผลิตภัณฑ์ และมี purée กล้วยไข่ที่เติมจุลินทรีย์โพรไบโอติกสายพันธุ์ *L. paracasei* Lpc-37 เป็น fruit-base อยู่ด้านล่าง (bottom) (ภาพที่ ช. 3 ในภาคผนวก) ทั้งนี้อาจเป็นการเหมาะสมมากกว่าที่จะใช้กล้วยไข่ล้วนๆ เป็นแหล่งของสารอาหารที่จุลินทรีย์ *L. paracasei* Lpc-37 ใช้ในการเจริญเติบโตเพื่อทวีจำนวนและยังคงรักษาปริมาณให้อยู่ในระดับที่จะอ้างว่าทำหน้าที่เป็นโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์นี้ได้ และเหตุผลสำคัญอีกประการหนึ่งก็คือ สามารถใช้กล้วยไข่เป็นแหล่ง

สำหรับการยึดเกาะของโพรไบโอติกนี้ และใช้เป็นชุมชนหรืออาณาจักรสำหรับการเจริญเติบโต เพื่อมิให้เคลื่อนที่ไปทั่วผลิตภัณฑ์ทั้งหมดจนอาจแพร่กระจายขึ้นไปอยู่ในส่วนของโยเกิร์ตด้านบน แล้วแย่งอาหารหรือแข่งขันกันเจริญกับจุลินทรีย์โยเกิร์ต ซึ่งอาจทำให้จุลินทรีย์ทั้งสองประเภทมีพฤติกรรมในการเจริญที่ผิดไปจากที่ควรจะเป็นจนถึงระดับที่ทำให้สมบัติที่สำคัญด้านต่างๆ ของผลิตภัณฑ์ต้องเปลี่ยนแปลงไปหรือด้อยลง ดังนั้นในผลิตภัณฑ์นี้จึงมีกล้วยไข่ทำหน้าที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติก (*L. paracasei* Lpc-37) และมีพอลิเดกซ์โตรสทำหน้าที่เป็นสารทดแทนไขมันที่ช่วยส่งเสริมหรือปรับปรุงสมบัติทางกายภาพของโยเกิร์ตให้ดีมากขึ้น และนอกจากนั้นยังอาจใช้เป็นพรีไบโอติกสำหรับจุลินทรีย์โพรไบโอติกหลายๆ สายพันธุ์ ได้แก่ จุลินทรีย์ *L. paracasei* Lpc-37 เอง หรือสายพันธุ์อื่นๆ ที่มีอยู่ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์

สำหรับการประเมินผลการยอมรับทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตสูตรควบคุม และโยเกิร์ตที่เติมพรีไบโอติกชนิดต่างๆ ทางด้านความชอบทางลักษณะปรากฏ (apprarance) สี (color) กลิ่น (odor) ลักษณะเนื้อสัมผัส (texture) กลิ่นรส (flavor) และความชอบโดยรวม (overall liking) ด้วย 7-point hedonic scale (1 คะแนน หมายถึง ไม่ชอบมาก และ 7 คะแนน หมายถึง ชอบมาก) ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.7 พบว่าคะแนนความชอบทางด้านกลิ่น และกลิ่นรสของโยเกิร์ตไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่คะแนนทางด้านลักษณะปรากฏ สี ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมของโยเกิร์ตมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยตัวอย่างที่เติมอินูลิน ร้อยละ 1 และตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 1 และ 2 มีคะแนนลักษณะปรากฏ และสีดีที่สุด เนื่องจากตัวอย่างดังกล่าวมีการแยกส่วนของของเหลวน้อยที่สุด จึงทำให้ได้คะแนนความชอบลักษณะปรากฏที่ดีกว่า และมีสีขาวนวลเป็นธรรมชาติของโยเกิร์ตมากกว่าจึงมีคะแนนด้านสีที่สูงกว่า ทั้งนี้จากการสังเกตของผู้วิจัยพบว่าตัวอย่างทั้งสามมีการแยกส่วนของของเหลวต่ำ ซึ่งสอดคล้องกับค่าการแยกส่วนของของเหลวทางกายภาพดังแสดงผลและอภิปรายไว้แล้วในข้อ 4.5

ตารางที่ 4.7 ผลของอินูลินและพอลิเดกซ์โตรสในปริมาณต่างๆ ที่มีต่อคะแนนความชอบทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ต

ชนิดและปริมาณของพรีไบโอติก	ลักษณะปรากฏ	สี	กลิ่น[ns]	ลักษณะเนื้อสัมผัส	กลิ่นรส[ns]	ความชอบโดยรวม
ตัวอย่างควบคุม	4.44±1.64[b]	5.18±1.15[c]	5.08±1.23	4.57±1.45[b]	4.76±1.53	4.62±1.36[c]
อินูลิน ร้อยละ 1	5.95±1.08[a]	5.83±0.88[a]	5.24±1.21	5.38±1.43[a]	5.19±1.38	5.43±1.29[a]
อินูลิน ร้อยละ 2	4.86±1.62[b]	5.31±0.90[bc]	4.95±1.17	5.07±1.30[ab]	5.19±1.50	5.21±1.20[ab]
อินูลิน ร้อยละ 3	4.29±1.80[b]	5.00±1.13[c]	4.98±1.18	4.90±1.38[ab]	5.21±1.20	4.98±1.20[abc]
พอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 1	5.90±1.16[a]	5.64±1.10[ab]	5.19±1.27	5.29±1.17[a]	4.71±1.42	4.88±1.23[bc]
พอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 2	5.74±1.45[a]	5.62±1.23[ab]	5.05±1.50	5.38±1.55[a]	5.31±1.63	5.31±1.67[ab]
พอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 3	4.81±1.66[b]	5.21±1.37[c]	4.98±1.28	5.07±1.32[ab]	5.19±1.37	5.07±1.33[abc]

[ns] ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$)

[a, b...] ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงว่ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างโยเกิร์ตแต่ละชนิด ($p \leq 0.05$)

1 = ไม่ชอบมาก; 2 = ไม่ชอบปานกลาง; 3 = ไม่ชอบเล็กน้อย; 4 = เฉยๆ; 5 = ชอบเล็กน้อย; 6 = ชอบปานกลาง; 7 = ชอบมาก

ตัวอย่างที่เติมอินูลิน และพอลิเดกซ์โตรสมีคะแนนความชอบทางด้านลักษณะเนื้อสัมผัสไม่แตกต่างกัน แต่ตัวอย่างดังกล่าวบางตัวอย่างมีคะแนนสูงกว่าตัวอย่างควบคุม แสดงว่าผู้ประเมินชอบลักษณะเนื้อสัมผัสของตัวอย่างโยเกิร์ตที่เติมพรีไบโอติกมากกว่าตัวอย่างควบคุม

ตัวอย่างที่เติมอินูลิน ร้อยละ 1, 2 และ 3 และตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 2 และ 3 เป็นกลุ่มที่มีคะแนนความชอบโดยรวมสูงที่สุด รองลงมาคือ ตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 1 และอันดับสุดท้าย คือ ตัวอย่างควบคุม ทั้งนี้คะแนนความชอบโดยรวมมีความสัมพันธ์กับค่าความหนืดปรากฏในทิศทางตรงกันข้าม ($r = -0.416$) อาจเนื่องจากผู้ประเมินคุ้นเคยกับการรับประทานโยเกิร์ตชนิดกวน (stirred yoghurt) ซึ่งมีขายทั่วไปตามท้องตลาดมากกว่าโยเกิร์ตชนิดเซ็ต ทำให้ผู้บริโภคไม่เคยชินกับโยเกิร์ตชนิดเซ็ตซึ่งมีความหนืดสูงกว่า ดังนั้นตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 1 และตัวอย่างควบคุมจึงมีคะแนนความชอบโดยรวมต่ำ และคะแนนความชอบโดยรวมยังมีความสัมพันธ์ในทิศทางตรงกันข้ามกับปริมาณกรดทั้งหมด และปริมาณของแข็งทั้งหมด แต่ไม่มากเท่ากับค่าความหนืดปรากฏ โดยผู้ประเมินให้คะแนนความชอบโดยรวมสูงในตัวอย่างโยเกิร์ตที่มีปริมาณกรดทั้งหมดและของแข็งทั้งหมดต่ำ จึงเป็นอีกประเด็นที่สมควรพิจารณาว่าตัวอย่างโยเกิร์ตที่จะเป็นที่ชื่นชอบของผู้บริโภคไม่ควรมีปริมาณกรดมากกว่าร้อยละ 1.24 (Schmidt, 1992) และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่มากกว่าร้อยละ 23 (ตารางที่ 4.6) และปริมาณของแข็งทั้งหมดนี้อาจโยงไปถึงการควบคุมระดับพรีไบโอติกที่จะเติมลงในนมว่าไม่ควรใช้มากเกินไปเช่นกัน นอกจากนี้คะแนนความชอบโดยรวมยังมีความสัมพันธ์กับคะแนนความชอบทางด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น ลักษณะเนื้อสัมผัส และกลิ่นรสในทิศทางเดียวกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.8 โดยคะแนนความชอบโดยรวมมีความสัมพันธ์กับคะแนนทางด้านลักษณะเนื้อสัมผัสและกลิ่นรสมากกว่าลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านอื่นๆ

ตารางที่ 4.8 ค่าสหสัมพันธ์ (r) ระหว่างคะแนนความชอบโดยรวมกับคะแนนทางประสาทสัมผัสแต่ละด้านของโยเกิร์ต

ลักษณะทางประสาทสัมผัส	ค่าสหสัมพันธ์
ลักษณะปรากฏ	0.515
สี	0.447
กลิ่น	0.562
ลักษณะเนื้อสัมผัส	0.765
กลิ่นรส	0.786

อนึ่งเป็นที่น่าสังเกตว่าคะแนนความชอบทางด้านลักษณะเนื้อสัมผัสมีแนวโน้มที่สอดคล้องกับค่าตัวเลขสมบัติทางกายภาพที่รายงานและอภิปรายผลไว้แล้ว กล่าวคือ หากเติมพรีไบโอติกลงในผลิตภัณฑ์มากขึ้น คะแนนความชอบลักษณะเนื้อสัมผัสจะลดลงตามค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ ความหนืดปรากฏ ความแน่นเนื้อ และความคงตัวที่ลดลง และจะยิ่งลดลงมากที่ระดับร้อยละ 3 (ถึงแม้คะแนนจะไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ) ดังนั้นจึงเป็นข้อสรุปที่สำคัญอีกประการหนึ่งว่าการเสริมพรีไบโอติกลงในนมเพื่อผลิตโยเกิร์ตควรใช้ในปริมาณที่พอเหมาะ หากใช้มากเกินไปอาจส่งผลกระทบให้ตัวอย่างมีค่าของสมบัติด้านต่างๆ ลดต่ำหรือด้อยลงทั้งในด้านกายภาพและประสาทสัมผัส

จากการประเมินผลทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างควบคุม และตัวอย่างที่เติมพรีไบโอติกชนิดต่างๆ เพื่อสำหรับใช้เป็นสารทดแทนไขมัน สรุปได้ว่าโยเกิร์ตที่เติมอินูลิน ร้อยละ 1 และโยเกิร์ตที่เติมพอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 1 และ 2 มีคะแนนความชอบทางด้านลักษณะปรากฏ สี ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมสูงกว่า ในขณะที่ตัวอย่างควบคุมมีคะแนนความชอบทางด้านดังกล่าวโดยส่วนใหญ่ต่ำที่สุด

คุณลักษณะของโยเกิร์ตที่ดีจะต้องมีลิ่มนมที่แข็งแรง ไม่อ่อนเหลว ไม่หดตัว และแยกเป็นก้อน (lump) มีกลิ่นจำเพาะตัวที่ดี รสไม่เปรี้ยวจัดจนเกินไป และไม่มีรสขมหรือความฝาด โดยเฉพาะโยเกิร์ตชนิดเซ็ตหากเกิดการแยกส่วนของของเหลวจะให้ลักษณะปรากฏ และความรู้สึกในปากที่ไม่ดี (Ünal, Metin และ Işıkli, 2003) และจะมีผลด้านลบต่อการยอมรับหรือความชอบของผู้บริโภค (Lee และ Lucey, 2010) ดังนั้นการแยกส่วนของของเหลวในโยเกิร์ตโดยเฉพาะชนิดเซ็ตนี้จึงเป็นสมบัติทางกายภาพที่สำคัญ และอาจมีผลกระทบอย่างยิ่งต่อลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านอื่นๆ ที่มีความสัมพันธ์ต่อกันกับการแยกส่วนของของเหลวนี้เองและต่อการยอมรับหรือความชอบของผู้บริโภคเมื่อมองเห็นหรือสังเกตผลิตภัณฑ์ได้ในเบื้องต้น และน่าจะใช้เป็นเกณฑ์หลักในการพิจารณาเลือกชนิดของพรีไบโอติกที่เหมาะสมในการผลิตโยเกิร์ต ดังนั้นจากผลการทดลองทั้งทางด้านกายภาพและประสาทสัมผัสจึงพอที่จะสรุปได้ว่าพอลิเดกซ์โตรสน่าจะเป็นพรีไบโอติกที่เหมาะสมสำหรับการเสริมลงในโยเกิร์ตมากกว่า เนื่องจากโดยทั่วไปแล้วให้ค่าสมบัติทางกายภาพ เช่น ความสามารถในการอุ้มน้ำ และความหนืดปรากฏสูงกว่า แต่ให้ค่าการแยกส่วนของของเหลวต่ำกว่าตัวอย่างที่เสริมอินูลิน (แม้จะไม่มีนัยสำคัญ) อีกทั้งปริมาณของพอลิเดกซ์โตรสที่เพิ่มขึ้นจะช่วยเพิ่มปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและของแข็งทั้งหมดให้สูงกว่าตัวอย่างควบคุม ทั้งนี้เมื่อหาค่าสหสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดกับค่าสมบัติทางกายภาพด้านต่างๆ พบว่ามีความสัมพันธ์ในทิศทางตรงกันข้ามกับความสามารถในการอุ้มน้ำ ($r = -0.559$) ความหนืดปรากฏ ($r = -0.447$) และความแน่นเนื้อ ($r = -0.671$) ซึ่งผลที่ได้เช่นนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ünal, Metin และ Işıkli (2003) ซึ่งรายงานว่าปริมาณของแข็งที่เพิ่มขึ้นทำให้ตัวอย่างโยเกิร์ตมีค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ และความหนืดปรากฏลดลง จึงน่าจะเป็นประเด็นสำคัญในการพิจารณาว่าผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ดีควรมีปริมาณของแข็งที่พอเหมาะและไม่มากจนเกินไป และหากจะเสริมด้วยพรีไบโอติกเพื่อปรับปรุงคุณลักษณะด้านต่างๆ แล้วนั้นก็ควรเลือกใช้ชนิดและปริมาณที่เหมาะสมเพื่อให้ผลิตภัณฑ์เป็นที่ชื่นชอบหรือยอมรับของผู้บริโภค นอกจากนี้การเติมพอลิเดกซ์โตรสลงในโยเกิร์ตยังมีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก สารทดแทนไขมัน และ dietary fiber ด้วย (Hamanaka,1987; Craig และคณะ, 1998) จึงมีประโยชน์ต่อระบบทางเดินอาหาร โดยจะไปเพิ่มมวลอุจจาระทำให้อุจจาระนิ่ม และลดระยะเวลาในการขับถ่าย (Hamanaka, 1987; Endo และคณะ, 1991; Oku, Fujii และ Okamatsu, 1991; Jie และคณะ,

2000) และพรีไบโอติกยังช่วยส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกเมื่ออยู่ในระบบทางเดินอาหารของร่างกาย (Gibson และ Roberfroid, 1995) อีกทั้งการใช้พรีไบโอติกร่วมกับจุลินทรีย์โพรไบโอติกยังช่วยรักษาสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ (Fooks และคณะ, 1999; Ershidat และ Mazahreh, 2009) จึงเป็นเหตุผลโดยรวมทั้งหมดที่จะเลือกใช้พอลิเดกซ์โตรสในการเสริมลงในนมเพื่อผลิตโยเกิร์ตในงานวิจัยนี้

เมื่อพิจารณาการเติมพอลิเดกซ์โตรสในปริมาณที่แตกต่างกันลงในโยเกิร์ต จะเห็นได้ว่าตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 1 และ 2 จะให้คุณลักษณะของโยเกิร์ตที่ดี คือ มีความสามารถในการอุ้มน้ำ ความหนืดปรากฏ ความแน่นเนื้อ และความคงตัวไม่แตกต่างกัน แต่สูงกว่าตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 3 (ตารางที่ 4.7) ซึ่งเป็นปริมาณที่มากเกินไป และตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 2 ยังมีคะแนนความชอบโดยรวมสูงกว่าตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรส (ถึงแม้คะแนนจะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ) ร้อยละ 1 ด้วย (ตารางที่ 4.8) ดังนั้นเมื่อพิจารณาผลการตรวจวัดและวิเคราะห์สมบัติทางด้านเคมี กายภาพ และการประเมินผลทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตที่เสริมด้วยชนิดและปริมาณของพรีไบโอติกที่ต่างกัน รวมทั้งการคำนึงถึงต้นทุนการผลิตโดยภาพรวมทั้งหมดแล้วนั้น (ซึ่งพอลิเดกซ์โตรสมีราคาถูกกว่าอินูลินในปริมาณที่เท่ากัน) จึงเลือกใช้พอลิเดกซ์โตรสเป็นพรีไบโอติกปริมาณร้อยละ 2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรในการผลิตโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติก และใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางด้านต่างๆ ของผลิตภัณฑ์ในระหว่างการเก็บรักษาต่อไป

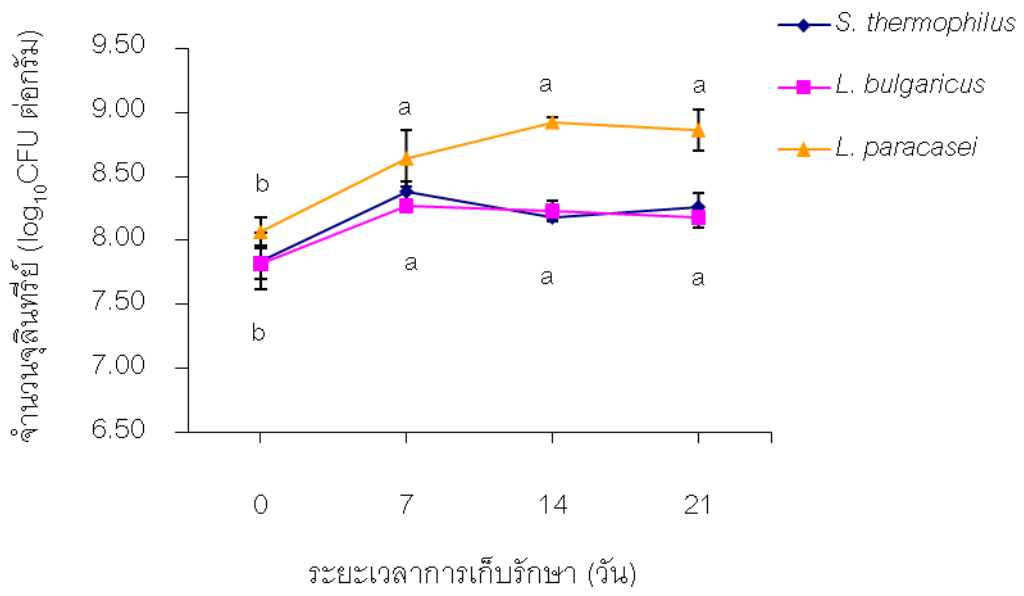
4.6 สมบัติด้านต่าง ๆ ของโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกในระหว่างการเก็บรักษา

ขั้นตอนนี้ศึกษาสมบัติด้านต่างๆ ของโยเกิร์ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกในระหว่างการเก็บรักษา โดยผลิต purée กล้วยไข่ผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก *L. paracasei* Lpc-37 ให้มีปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้น 8 $\log_{10}$CFU ต่อกรัม แล้วใช้เป็น fruit-base (10 กรัม) อยู่ด้านล่างของถ้วยพลาสติก (ความจุ 55 มิลลิลิตร) และผลิตโยเกิร์ตจากนมคืนรูปไขมันต่ำเติมน้ำตาลปริมาณร้อยละ 6 และพอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร พาสเจอไรซ์ แล้วเติมจุลินทรีย์โยเกิร์ต บรรจุนมที่ผสมจุลินทรีย์โยเกิร์ตแล้ว (30 กรัม) ลงบน fruit-base ปิดฝา แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส จนกว่าจะได้ pH 4.5 เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ตรวจสอบและวิเคราะห์หาสมบัติทางจุลินทรีย์ เคมี กายภาพ และประเมินผลทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 21 วัน

ผลของระยะเวลาการเก็บที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ *S. thermophilus, L. bulgaricus* และ *L. paracasei* Lpc-37 แสดงในภาพที่ 4.5 ซึ่งพบว่ามีจำนวนจุลินทรีย์ *S. thermophilus*, *L. bulgaricus* และ *L. paracasei* Lpc-37 เริ่มต้นต่ำที่สุด (7.84, 7.82 และ 8.07 $\log_{10}$CFU ต่อกรัม ตามลำดับ) ในวันแรกของการผลิตและเก็บตัวอย่าง และจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นในวันที่ 7 (8.38, 8.27 และ 8.64 $\log_{10}$CFU ต่อกรัม ตามลำดับ) ซึ่งค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) กับจำนวนจุลินทรีย์ในวันที่ 14 และ 21 (วันที่ 21 มีจำนวนจุลินทรีย์ *S. thermophilus*, *L. bulgaricus* และ *L. paracasei* Lpc-37 8.26, 8.18 และ 8.86 $\log_{10}$CFU ต่อกรัม ตามลำดับ)

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าในระหว่างการเก็บรักษาจำนวนจุลินทรีย์ *S. thermophilus* และ *L. bulgaricus* เพิ่มขึ้นจากวันที่ 0 ถึงวันที่ 21 ประมาณ 0.4 $\log_{10}$CFU ต่อกรัม ในขณะที่จุลินทรีย์ *L. paracasei* Lpc-37 มีจำนวนเพิ่มขึ้นประมาณ 0.8 $\log_{10}$CFU ต่อกรัม เนื่องจากได้มีการคัดเลือกชนิดของกล้วยและสายพันธุ์จุลินทรีย์โพรไบโอติกที่เหมาะสมในการผลิต purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกไว้ในขั้นตอนแรกแล้ว (ซึ่งจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่

เหมาะสมควรจะยังมีเมแทบอลิซึมที่ดีในระหว่างการเก็บรักษา) จึงทำให้จำนวนจุลินทรีย์ *L. paracasei* Lpc-37 เพิ่มขึ้น 0.8 $\log_{10}$CFU ต่อกรัมในระหว่างการเก็บรักษา นอกจากนี้ถ้าผสมส่วนของโยเกิร์ตและกล้วยให้เข้ากันก่อนบริโภค จุลินทรีย์ดังกล่าวซึ่งแต่เดิมแยกกันอยู่กับจุลินทรีย์โยเกิร์ต และโดยทั่วไปใช้อาหารจากคนละแหล่ง อาจจะสามารถใช้สารอาหารในนมทวีจำนวนเพิ่มขึ้นได้อีก ซึ่งอาจมีผลทำให้ปริมาณจุลินทรีย์โพรไบโอติกเพิ่มขึ้นได้มากกว่า 8.0 $\log_{10}$CFU ต่อกรัมในโยเกิร์ต 1 ถ้วย



[a,b] ตัวอักษรที่ต่างกันภายในเส้นเดียวกันแสดงว่ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ภาพที่ 4.5 ผลของระยะเวลาการเก็บรักษาที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงจำนวนจุลินทรีย์ของโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก

งานวิจัยนี้ต้องการผลิตโยเกิร์ตที่เป็นอาหารเพื่อสุขภาพที่มีสมบัติเชิงหน้าที่ (functional food) ซึ่งนอกจากจะเติมจุลินทรีย์โพรไบโอติกและพรีไบโอติกลงในผลิตภัณฑ์ในลักษณะของ synbiotic product แล้วยังต้องการศึกษาหาปริมาณทริปโตเฟนที่มีในโยเกิร์ต เนื่องจากเป็นที่ทราบกันดีว่าทริปโตเฟนเป็นสารตั้งต้นในปฏิกิริยาทางชีวเคมีในการเปลี่ยนไปเป็น serotonin ที่ทำหน้าที่ในการควบคุมการนอนหลับ อุณหภูมิในร่างกาย ความดันโลหิต รวมทั้งการเปลี่ยนแปลงทางอารมณ์และความรู้สึกของร่างกาย (Champe และ Harvey, 1994; Roskoski, 1996) ดังนั้นจึงวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณทริปโตเฟนในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์นี้ด้วย

ผลของระยะเวลาการเก็บรักษาที่มีต่อปริมาณทริปโตเฟนในโยเกิร์ตแสดงในตารางที่ 4.9 พบว่าในวันที่ 1 โยเกิร์ตมีปริมาณทริปโตเฟน 29.66 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม และในวันที่ 21 มีปริมาณทริปโตเฟนเพิ่มขึ้นประมาณ 4 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ซึ่งโดยปกตินมดิบที่ปราศจากไขมันจะมีปริมาณทริปโตเฟน 23 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (Payne-Botha และ Bigwood, 1959) และกล้วยไข่ที่ใช้เป็นวัตถุดิบมีปริมาณทริปโตเฟน 5.75 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม (ดังแสดงในตารางที่ 4.1) สำหรับงานวิจัยนี้ได้ใช้นมคืนรูปเป็นวัตถุดิบ แล้วนำมาพาสเจอไรซ์เพื่อผลิตโยเกิร์ต ซึ่งการให้ความร้อนสูงกับนมสามารถทำให้ปริมาณทริปโตเฟนเปลี่ยนแปลงได้ (Payne-Botha และ Bigwood, 1959) อีกทั้งจุลินทรีย์สามารถย่อยโปรตีนให้เป็นกรดอะมิโนอิสระได้ (Biasiolo และคณะ, 1995; Tamime และ Robinson, 1999) นอกจากนี้ระยะเวลาการเก็บรักษาโยเกิร์ตอาจมีผลต่อปริมาณจุลินทรีย์และเอนไซม์ที่จุลินทรีย์ผลิตเพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณทริปโตเฟนเพิ่มขึ้น ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kebary และคณะ (1996) ที่พบว่าเมื่อระยะเวลาการบ่มเนยแข็งที่มีไขมันต่ำเพิ่มขึ้นจะทำให้ปริมาณทริปโตเฟนเพิ่มขึ้น และ Gambelli และคณะ (1999) ได้ศึกษาหาปริมาณทริปโตเฟนในผลิตภัณฑ์นมหมักทางการค้า พบว่าปริมาณทริปโตเฟนในผลิตภัณฑ์ขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์ สายพันธุ์และจำนวนของจุลินทรีย์ที่ใช้ร่วมกันในการหมัก รวมทั้งวัตถุดิบหรือส่วนผสมที่ใช้ในการผลิต นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่พบว่าโยเกิร์ตที่เติมกลิ่นรสผลไม้ชนิดต่างๆ มีปริมาณทริปโตเฟนใกล้เคียงกับโยเกิร์ตรสธรรมชาติ แต่โยเกิร์ตที่เติมกาแฟ หรือธัญพืชจะมีปริมาณทริปโตเฟนมากกว่า รวมทั้งระยะเวลาระหว่างวันที่ผลิตกับวันที่วิเคราะห์หาปริมาณทริปโตเฟน ยังมีผลทำให้ปริมาณทริปโตเฟนที่วิเคราะห์ได้แตกต่างกัน ทั้งนี้เนื่องจากการย่อย

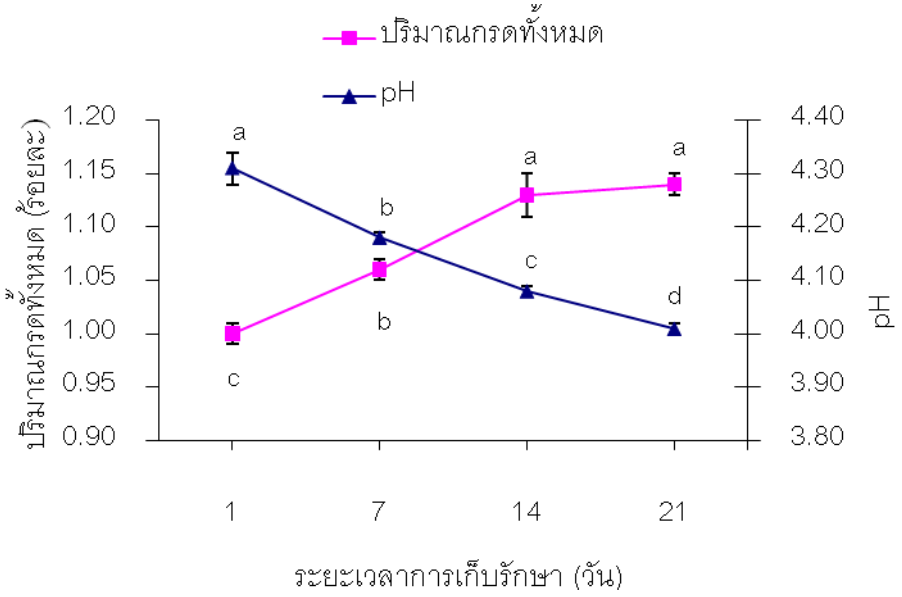
โปรตีนในโยเกิร์ตขึ้นอยู่กับกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในโยเกิร์ต (Biasiolo และคณะ, 1995) ดังนั้นอาจสรุปได้ว่าปริมาณทริปโตเฟนที่เพิ่มขึ้นในโยเกิร์ตในงานวิจัยนี้ (ซึ่งใช้จุลินทรีย์โยเกิร์ตในนมและใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกใน purée กล้วย) น่าจะมีสาเหตุมาจากจำนวนจุลินทรีย์ *S. thermophilus*, *L. bulgaricus* และ *L. paracasei* Lpc-37 ที่เพิ่มขึ้นรวมทั้งหมดประมาณ 1.6 $\log_{10}$CFU ต่อกรัมในระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งอาจมีผลทำให้โปรตีนซึ่งเป็นองค์ประกอบของเยื่อหุ้มและโครงสร้างของเซลล์ ได้แก่ peptidoglycan, lipoprotein, neucleoid, ribosome รวมทั้งเอนไซม์ต่างๆ ที่จุลินทรีย์ผลิตมีปริมาณเพิ่มขึ้น อาจส่งผลทำให้ปริมาณทริปโตเฟนเพิ่มขึ้นในตัวอย่างโยเกิร์ตที่เก็บรักษาไว้นาน 21 วัน ซึ่งปริมาณที่เพิ่มขึ้นจะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและระยะเวลาในระหว่างการบ่มและการเก็บรักษา

ตารางที่ 4.9 ปริมาณทริปโตเฟนในโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกในระหว่างการเก็บรักษา

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	ปริมาณทริปโตเฟน (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม)
1	29.66
21	33.93

ผลของระยะเวลาการเก็บรักษาที่มีต่อปริมาณกรดทั้งหมดและค่า pH ของตัวอย่างแสดงในภาพที่ 4.6 พบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้นทำให้ปริมาณกรดทั้งหมด และค่า pH ของตัวอย่างแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กล่าวคือ โยเกิร์ตมีปริมาณกรดทั้งหมดในวันที่ 1 ร้อยละ 1.00 และเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 1.14 ในวันที่ 21 ส่วนค่า pH ของโยเกิร์ตในวันที่ 1 มีค่า 4.31 และลดลงเป็น 4.01 ในวันที่ 21 ซึ่งผลทดลองนี้ตรงกับงานวิจัยของ Tarakçi และ Küçüköner (2003) และ Guven และคณะ (2005) ที่รายงานว่าโยเกิร์ตมีปริมาณกรดทั้งหมด

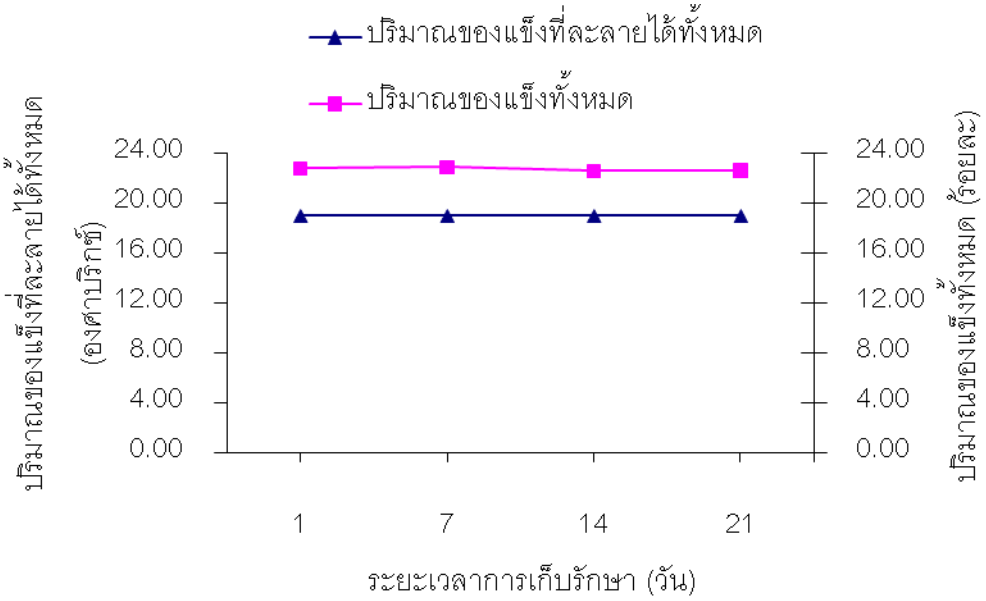
เพิ่มขึ้นและมีค่า pH ลดลงในระหว่างการเก็บรักษา ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น จุลินทรีย์โยเกิร์ตสามารถเปลี่ยนน้ำตาลแลคโตสในนมให้เป็นกรดแลคติกได้ (Thomas และ Crow, 1984; Lee และ Wong, 1993) และโยเกิร์ตจะมีปริมาณกรดแลคติกอยู่ในช่วงร้อยละ 0.9-1.2 ส่วนน้ำตาลซูโครสกับสารให้ความหวานที่เติมลงไปไม่มีผลต่อเมแทบอลิซึม (Schmidt, 1992)



[a,b...] ตัวอักษรที่ต่างกันภายในเส้นเดียวกันแสดงว่ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

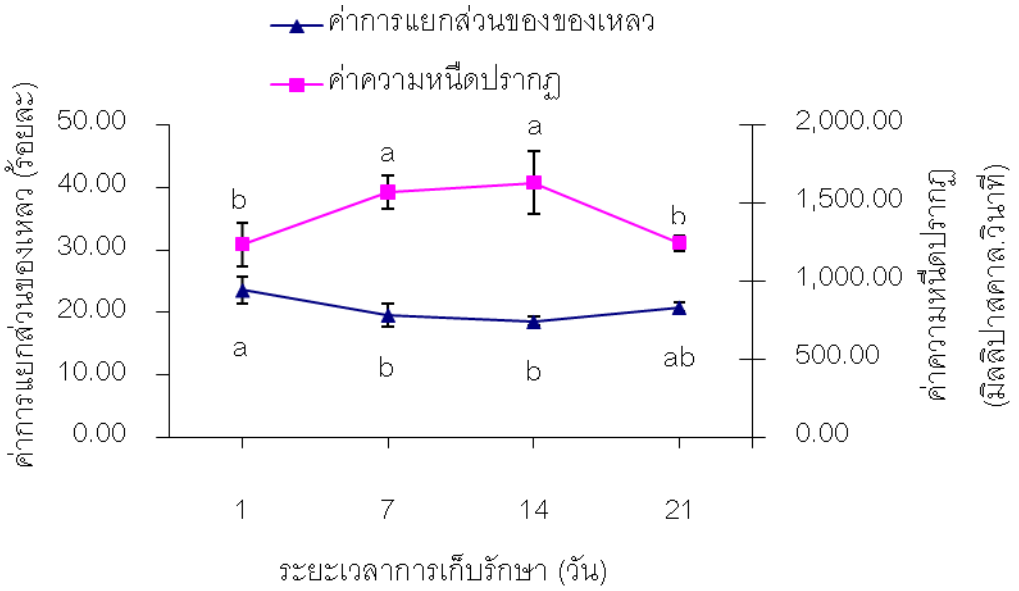
ภาพที่ 4.6 ผลของระยะเวลาการเก็บรักษาที่มีต่อปริมาณกรดทั้งหมดและค่า pH ของโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก

ผลของระยะเวลาการเก็บรักษาที่มีต่อปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและปริมาณของแข็งทั้งหมดของตัวอย่างแสดงในภาพที่ 4.7 พบว่าค่าทั้งสองไม่มีความแตกต่างกัน ($p > 0.05$) ในระหว่างการเก็บรักษา โดยตัวอย่างมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 19 องศาบริกซ์ และปริมาณของแข็งทั้งหมดอยู่ในช่วงร้อยละ 22.61 ถึง 22.92 ซึ่งค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา



ภาพที่ 4.7 ผลของระยะเวลาการเก็บรักษาที่มีต่อปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและปริมาณของแข็งทั้งหมดของโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก

จากภาพที่ 4.8 พบว่าระยะเวลาการเก็บรักษามีผลต่อค่าการแยกส่วนของของเหลวและค่าความหนืดปรากฏของโยเกิร์ต เมื่อระยะเวลาเก็บเพิ่มขึ้นตัวอย่างจะมีค่าการแยกส่วนของของเหลวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กล่าวคือ ตัวอย่างที่มีอายุการเก็บรักษา 1 วัน มีค่าการแยกส่วนของเหลวมากที่สุด (ร้อยละ 23.6) และลดลงในวันที่ 7 และ 14 ตามลำดับ (ร้อยละ 19.6 และ 18.6 ตามลำดับ) และในวันที่ 21 โยเกิร์ตมีค่าการแยกส่วนของของเหลวเพิ่มขึ้น (ร้อยละ 20.9) ทั้งนี้ค่าในช่วงวันที่ 7-21 ไม่แตกต่างกัน แต่ลดลงจากวันแรกที่เตรียมตัวอย่างได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยหลายชิ้นที่ได้รายงานไว้ว่าโยเกิร์ตมีค่าการแยกส่วนของของเหลวลดลงเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 15-20 วัน (Guven, และคณะ, 2005; Sahan, และคณะ, 2008) ในขณะที่ Aryana และ McGrew (2007) ได้รายงานว่าโยเกิร์ตรสธรรมชาติชนิดไม่มีไขมันที่เติมอินูลิน และโอลิโกฟรุคโตสมีการแยกส่วนของของเหลวเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา การที่ตัวอย่างใน



[a,b...] ตัวอักษรที่ต่างกันภายในเส้นเดียวกันแสดงว่ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ภาพที่ 4.8 ผลของระยะเวลาการเก็บรักษาที่มีต่อค่าการแยกส่วนของของเหลวและค่าความหนืดปรากฏของโยเกิร์ตไขมันชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก

งานวิจัยนี้มีค่าการแยกส่วนของของเหลวลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น เนื่องจากพอลิเดกซ์โตรสที่เติมลงในโยเกิร์ตและอินูลิน (ซึ่งเป็นองค์ประกอบของกล้วยตามธรรมชาติ) มีความสามารถในการดูดซับน้ำสูง (Kilibwa, 2004, Glibowski, 2010) จึงทำให้ค่าการแยกส่วนของของเหลวลดลง แต่การเก็บรักษานานมากเกินไปจะทำให้โยเกิร์ตมีการแยกส่วนของของเหลวเพิ่มขึ้น ซึ่งถือเป็นข้อบกพร่องที่มีต่อลักษณะปรากฏที่ผิวของโยเกิร์ตชนิดเซ็ต (Ünal และคณะ, 2003) อันเป็นผลมาจากโครงสร้างของเจลที่มีความแข็งแรงลดน้อยลงจนถึงระดับที่อาจเกิดการฉีกขาดของเจลจึงทำให้โครงสร้างของเจลมีรูพรุน (porosity) และเกิดการแยกส่วนของของเหลวขึ้น (González-Martinez และคณะ, 2002)

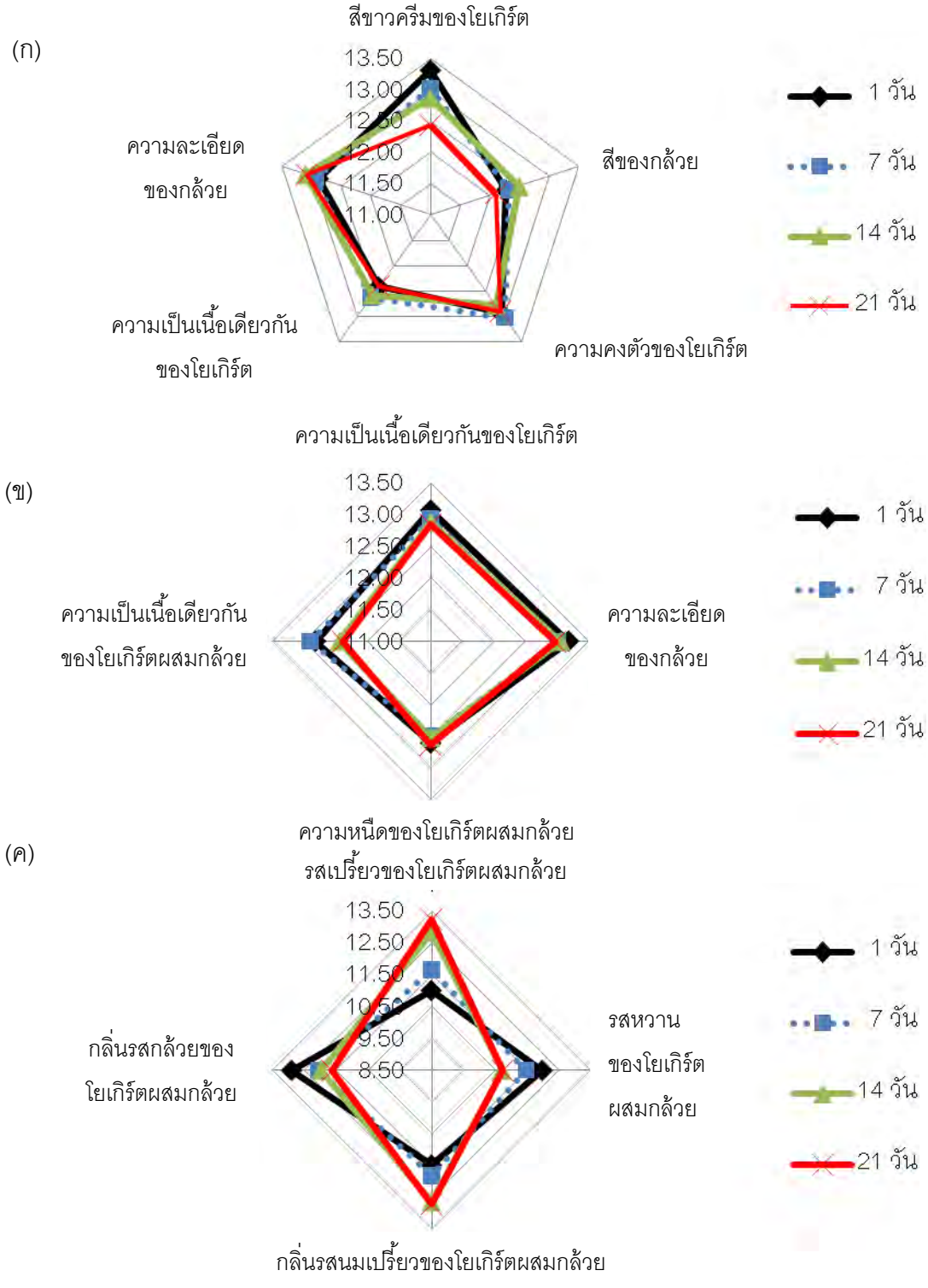
สำหรับผลของระยะเวลาเก็บรักษาที่มีต่อความหนืดปรากฏนั้น พบว่าเมื่อเวลาการเก็บรักษานานขึ้นโยเกิร์ตมีค่าความหนืดปรากฏแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยวันที่ 1 โยเกิร์ตมีค่าความหนืดปรากฏ 1,235 มิลลิปาสคาล.วินาที ในวันที่ 7 และ14 โยเกิร์ตมีค่าความหนืดปรากฏเพิ่มขึ้นเป็น 1,570 และ 1,629 มิลลิปาสคาล.วินาที ตามลำดับ และในวันที่ 21 โยเกิร์ตมีค่าความหนืดปรากฏลดลงเป็น 1,243 มิลลิปาสคาล.วินาที ทั้งนี้มีรายงานของ Sahan, และคณะ (2008) ซึ่งพบว่าโยเกิร์ตมีความหนืดปรากฏสูงขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นและมีความหนืดปรากฏสูงสุดเมื่อมีอายุการเก็บ 15 วัน ในขณะที่ Aryana และ McGrew (2007) ได้รายงานว่าโยเกิร์ตรสธรรมชาติชนิดไม่มีไขมันที่เติมอินูลินหรือโอลิโกฟรุคโตส มีความหนืดปรากฏลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น สาเหตุที่ความหนืดปรากฏของโยเกิร์ตเพิ่มขึ้นในระหว่างวันที่ 1 ถึง 14 อาจเนื่องมาจากโครงสร้างของเจลมีความแข็งแรงขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา โปรตีนมีการจัดเรียงตัวอย่างมีระเบียบและต่อเนื่อง โดยโปรตีนจับกับโปรตีนมากขึ้น ทำให้เกิดโครงสร้างร่างแหของเจลโปรตีนที่แข็งแรง (Abu-Jdayil และ Mohameed, 2002; Sahan, และคณะ, 2008) และเมื่อเก็บรักษาโยเกิร์ตเป็นระยะเวลานานมากกว่า 14 วัน ความหนืดปรากฏของโยเกิร์ตลดลง อาจเนื่องมาจากจุลินทรีย์โยเกิร์ตสร้างเอนไซม์พวกที่ย่อยโปรตีนซึ่งทำปฏิกิริยากับ casein micelle matrix และทำให้เกิดการย่อยสลายร่างแหของเจลโปรตีน ซึ่งในช่วงแรกปริมาณเอนไซม์ยังอาจมีไม่เพียงพอที่จะส่งผลกระทบดังกล่าว ต่อเมื่อปริมาณสะสมมากขึ้นในช่วงหลังจึงทำให้เกิดการย่อยโปรตีนเพิ่มมากขึ้น (Aryana และ McGrew, 2007)

สำหรับระยะเวลาการเก็บรักษาที่มีต่อสมบัติทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณาแบบทั่วไปของตัวอย่างโยเกิร์ต โดยใช้ผู้ประเมินที่ผ่านการฝึกฝน 12 คน ประเมินคุณลักษณะทางด้านต่างๆ ของโยเกิร์ตที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน โดยใช้เทอมพรรณนาและตัวอย่างอ้างอิงตามระดับความเข้มจากสเกล 0-15 ดังแสดงในตารางที่ ง. 1 และ ง. 2 ประเมินคุณลักษณะทางด้านลักษณะปรากฏ ได้แก่ สีขาวครีมของโยเกิร์ต สีของกล้วย ความคงตัวของโยเกิร์ต ความเป็นเนื้อเดียวกันของโยเกิร์ต และความละเอียดของกล้วย คุณลักษณะทางด้านลักษณะเนื้อสัมผัส ได้แก่ ความเป็นเนื้อเดียวกันของโยเกิร์ต ความละเอียดของกล้วย ความหนืดของโยเกิร์ตผสมกล้วย และความเป็นเนื้อเดียวกันของโยเกิร์ตผสมกล้วย และคุณลักษณะทางด้านรส ได้แก่ รสเปรี้ยว และ

รสหวานของโยเกิร์ตผสมกล้วย คุณลักษณะทางด้านกลิ่นรส ได้แก่ กลิ่นรสนมเปรี้ยว กลิ่นรสกล้วย และกลิ่นรสแปลกปลอมของโยเกิร์ตผสมกล้วย ผลการประเมินแสดงในภาพที่ 4.9

ระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้นไม่มีผลต่อคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตทางด้านลักษณะปรากฏ ได้แก่ สีของกล้วย ความคงตัว และความเป็นเนื้อเดียวกันของโยเกิร์ต รวมทั้งความละเอียดของกล้วย ($p > 0.05$) แต่มีผลต่อสีขาวครีมของโยเกิร์ต โดยในวันที่ 1, 7 และ 14 สีขาวครีมของโยเกิร์ตมีคะแนนสูงที่สุดและไม่แตกต่างกัน (13.32, 13.32 และ 12.87 คะแนน ตามลำดับ) และในวันที่ 21 สีขาวครีมของโยเกิร์ตลดลง (12.44 คะแนน) เนื่องจากผู้วิจัยได้สังเกตเห็นว่าเมื่อเก็บรักษาโยเกิร์ตนานขึ้น purée กล้วยไข่มีการแยกส่วนของของเหลวที่มีสีเหลืองของรงควัตถุปนออกมาพร้อมกับการแยกส่วนของเวย์ที่ผิวหน้าของโยเกิร์ต ทำให้พื้นผิวด้านบนของโยเกิร์ตมีสีขาวครีมที่เป็นปกติลดลง

สำหรับลักษณะเนื้อสัมผัสของโยเกิร์ตนั้น พบว่าระยะเวลาการเก็บรักษาไม่มีผลต่อความเป็นเนื้อเดียวกันของโยเกิร์ต ความละเอียดของกล้วย และความหนืดของโยเกิร์ตผสมกล้วย แต่ค่อนข้างมีผลต่อความเป็นเนื้อเดียวกันของโยเกิร์ตผสมกล้วย โดยวันที่ 1 และ 7 คะแนนความเป็นเนื้อเดียวกันของโยเกิร์ตผสมกล้วยมีค่าสูงที่สุด (12.82 และ 12.91 คะแนน ตามลำดับ) และลดลงในวันที่ 14 และ 21 (12.45 และ 12.39 คะแนน ตามลำดับ) เนื่องจากเมื่อเก็บรักษาโยเกิร์ตเป็นระยะเวลา 1 ถึง 7 วัน โปรตีนมีการรวมตัวกันมากขึ้น พร้อมทั้งมีการจัดเรียงตัวอย่างมีระเบียบและต่อเนื่องเป็นโครงสร้างร่างแหที่แข็งแรงของเจลโปรตีน ทำให้โยเกิร์ตมีลักษณะเนื้อสัมผัสเป็นเนื้อเดียวกัน หากเก็บไว้นานขึ้นเป็นระยะเวลา 14 ถึง 21 วัน ความเป็นเนื้อเดียวกันของโยเกิร์ตผสมกล้วยจะลดลง ซึ่งอาจเป็นผลเนื่องมาจากโครงสร้างร่างแหของเจลฉีกขาดหรือมีรูเปิด (González-Martinez, 2002) หรืออาจเกิดจากการย่อยสลายของเจลโปรตีนด้วยเอนไซม์ทำให้เกิดการแยกส่วนของของเหลวออกมาเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น ทำให้ลักษณะเนื้อสัมผัสของโยเกิร์ตไม่เป็นเนื้อเดียวกัน



ภาพที่ 4.9 ผลการประเมินทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาแบบทั่วไปของโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกในระหว่างการเก็บรักษา (ก) ลักษณะปรากฏ (ข) ลักษณะเนื้อสัมผัส และ (ค) รสและกลิ่นรส

เมื่อพิจารณาคะแนนทางด้านรส และกลิ่นรส พบว่าระยะเวลาการเก็บรักษามีผลต่อคะแนนรสเปรี้ยว รสหวาน กลิ่นรสนมเปรี้ยว และกลิ่นรสกล้วยของโยเกิร์ตผสมกล้วยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กล่าวคือ ในวันที่ 1 โยเกิร์ตมีคะแนนรสเปรี้ยว และกลิ่นรสนมเปรี้ยวของโยเกิร์ตผสมกล้วยเป็น 11.02 และ 11.82 คะแนน ตามลำดับ และค่าคะแนนทั้งสองด้านเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จนถึงวันที่ 21 ของการเก็บรักษา (13.23 และ 12.71 คะแนน ตามลำดับ) และมีคะแนนรสหวาน และกลิ่นรสกล้วยของโยเกิร์ตผสมกล้วยในวันที่ 1 จาก 11.99 และ 12.90 คะแนน ลดลงเป็น 10.74 และ 11.64 คะแนน ตามลำดับ ในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา เนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ใช้น้ำตาลแลคโตสในนมผ่านกระบวนการหมักเพื่อเปลี่ยนเป็นกรดแลคติก (Thomas และ Crow, 1984; Lee และ Wong, 1993) จึงทำให้ความหวานของโยเกิร์ตผสมกล้วยลดลง ส่วนคะแนนรสเปรี้ยวและกลิ่นรสนมเปรี้ยวของโยเกิร์ตผสมกล้วยเพิ่มขึ้นตามกิจกรรมของจุลินทรีย์โยเกิร์ตที่หมักน้ำตาลแลคโตส และสร้างสารให้รสและกลิ่นรสต่างๆ ของนมหมักหรือนมเปรี้ยวเพิ่มมากขึ้นจึงกลบกลิ่นรสกล้วยให้ลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าโยเกิร์ตไม่มีกลิ่นรสแปลกปลอมในระหว่างการเก็บรักษา โดยมีคะแนน 0.60 ถึง 0.69 คะแนนซึ่งมีแนวโน้มที่เพิ่มมากขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

ดังนั้นสรุปได้ว่าเมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นสีขาวครีมของโยเกิร์ตลดลง และความเป็นเนื้อเดียวกัน รสหวาน และกลิ่นรสกล้วยของโยเกิร์ตผสมกล้วยลดลง แต่รสเปรี้ยว และกลิ่นรสนมเปรี้ยวของโยเกิร์ตผสมกล้วยเพิ่มขึ้น

จากสมบัติทางจุลินทรีย์ เคมี กายภาพ และประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกในผลการทดลองที่ผ่านมา สรุปได้ว่าสามารถเก็บผลิตภัณฑ์นี้ไว้ได้นาน 21 วัน โดยสมบัติทางด้านต่างๆ ไม่เปลี่ยนแปลงในลักษณะที่ด้อยคุณภาพลงมากนัก ส่วนปริมาณจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น 0.4 (จุลินทรีย์โยเกิร์ตทั้งสอง) ถึง 0.8 (จุลินทรีย์โพรไบโอติก) $\log_{10}$CFU ต่อกรัม ตัวอย่างมีรสเปรี้ยว และกลิ่นรสนมเปรี้ยวเพิ่มขึ้น มีรสหวาน และกลิ่นรสกล้วยของโยเกิร์ตผสมกล้วยลดลง ดังนั้นในขั้นตอนสุดท้ายของงานวิจัยนี้จึงศึกษาสมบัติทางประสาทสัมผัสในด้านความชอบของผู้บริโภคเพื่อยืนยันว่าผลิตภัณฑ์ดังกล่าว

จะสามารถเก็บรักษาไว้ได้นาน 21 วันโดยยังเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคทั่วไป (จำนวน 50 คน) หรือไม่ โดยรวบรวมข้อมูลส่วนบุคคลและพฤติกรรมในการบริโภคโยเกิร์ตของผู้บริโภคทั่วไป โดยใช้แบบสอบถามและแบบประเมินลักษณะทางประสาทสัมผัสชนิด 7-point hedonic (ภาคผนวก จ. 3 และ จ. 4) ประเมินคุณลักษณะต่างๆ ของโยเกิร์ต ได้แก่ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น ลักษณะเนื้อสัมผัส กลิ่นรส และความชอบโดยรวม ได้ผลแสดงในตารางที่ ง. 3 และ ง. 4 (ภาคผนวก ง) ในการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสในด้านความชอบของผู้บริโภคทั่วไปที่มีต่อตัวอย่างโยเกิร์ต มีการควบคุมอุณหภูมิในขณะเสิร์ฟไม่เกิน 10 องศาเซลเซียส และใช้ห้องที่จัดเตรียมไว้เฉพาะ เพื่อป้องกันตัวอย่างเกิดการกระทบกระเทือนขณะเคลื่อนย้าย และให้มีปริมาณแสงสว่างที่เพียงพอ

สำหรับผลแสดงจำนวนความถี่ของผู้บริโภคที่ให้คะแนนทางประสาทสัมผัสในแต่ละคุณลักษณะของโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่มีอายุการเก็บรักษา 21 วัน แสดงในตารางที่ ง. 2 (ภาคผนวก ง) จากคะแนนและความถี่ที่ผู้ประเมินผลทางประสาทสัมผัสให้ไว้ พบว่ากลุ่มผู้บริโภคให้คะแนนคุณลักษณะทางด้านกลิ่น ลักษณะเนื้อสัมผัส และกลิ่นรสสำหรับตัวอย่างโยเกิร์ตแบบค่อนข้างกระจาย และมักให้คะแนน 3-6 (ไม่ชอบเล็กน้อยถึงชอบปานกลาง) เป็นส่วนใหญ่ นอกจากนั้นก็ยังมีผู้ให้คะแนน 1-2 (ไม่ชอบมากถึงไม่ชอบปานกลาง) และ 7 (ชอบมาก) บ้างเล็กน้อย จะเห็นได้ว่าคะแนนทางด้านกลิ่น ลักษณะเนื้อสัมผัส และกลิ่นรสนี้แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่ให้คะแนนสูง ซึ่งอาจเป็นผู้ที่ชอบรับประทานโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตใส่ purée ผลไม้ และกลุ่มที่ให้คะแนนต่ำ คือ ผู้ที่ไม่ชอบรับประทานโยเกิร์ตดังกล่าว อาจเนื่องจากไม่เคยชินหรือไม่ชอบกลิ่น กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัสของ purée กล้วยที่เป็นลักษณะของผลไม้ตีป่น ซึ่งไม่เหมือนผลิตภัณฑ์ที่ขายตามท้องตลาดทั่วไปที่ประกอบด้วยผลไม้ที่ยังคงมีลักษณะเป็นชิ้น เช่น สตรอว์เบอร์รี บลูเบอร์รี หรือผลไม้รวม หรืออาจเนื่องจาก purée กล้วยในงานวิจัยไม่มีการเติมน้ำตาล และมีการปรับค่า pH ให้ต่ำลงในกระบวนการผลิตประกอบกับอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่นาน 21 วัน โยเกิร์ตจึงมีรสเปรี้ยวมาก จึงทำให้ผู้บริโภคกลุ่มนี้ให้คะแนนความชอบทางประสาทสัมผัสทางด้านกลิ่น ลักษณะเนื้อสัมผัส และกลิ่นรสของตัวอย่างต่ำ ในขณะที่ผู้บริโภคอีกกลุ่มหนึ่งให้คะแนนดังกล่าวสูง อาจเนื่องจากความชอบในคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสโดยทั่วไปของตัวอย่าง

เมื่อนำคะแนนของผู้บริโภคทั้ง 50 คน มาหาค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ผลที่ได้แสดงในตารางที่ 4.10 ผู้บริโภคให้คะแนนความพึงพอใจทางด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น และความชอบโดยรวมในระดับรู้สึกเฉยๆ ถึงชอบเล็กน้อย ส่วนคุณลักษณะทางด้านลักษณะเนื้อสัมผัสและกลิ่นรสของโยเกิร์ต ผู้บริโภคให้คะแนนความพึงพอใจในระดับเฉยๆ อาจเนื่องมาจากตัวอย่างโยเกิร์ตที่ใช้ทดสอบทางประสาทสัมผัสมีอายุการเก็บรักษา 21 วัน ลักษณะปรากฏทางด้านสีขาวครีมของโยเกิร์ต และสีของกล้วยลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับโยเกิร์ตหลังผลิตเสร็จใหม่ๆ จึงทำให้ความชอบด้านลักษณะปรากฏ และสีของผลิตภัณฑ์อยู่ในระดับรู้สึกเฉยๆ ถึงชอบเล็กน้อย อีกทั้งเมื่ออายุการเก็บรักษานานขึ้นความเป็นเนื้อเดียวกันของโยเกิร์ตผสมกล้วยลดลง เนื่องจากการแยกส่วนของของเหลวเพิ่มขึ้น นอกจากนี้จำนวนจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นยังทำให้ปริมาณน้ำตาลที่อยู่ในนมและ purée กล้วยลดลง โดยจุลินทรีย์ใช้ในกระบวนการเมแทบอไลซ์เปลี่ยนไปเป็นกรดแลคติก จึงทำให้รสเปรี้ยว และกลิ่นรสนมเปรี้ยวของโยเกิร์ตผสมกล้วยเพิ่มขึ้น และรสหวาน และกลิ่นรสกล้วยของโยเกิร์ตผสมกล้วยลดลง ส่งผลให้คะแนนความชอบทางด้านลักษณะเนื้อสัมผัส และกลิ่นรสของผู้บริโภคอยู่ในระดับรู้สึกเฉยๆ เมื่อมองในภาพรวมผู้บริโภคให้คะแนนความพึงพอใจในด้านความชอบโดยรวมคิดเป็นค่าคะแนนจะได้อยู่ในช่วงร้อยละ 55-65 เมื่อเปรียบเทียบกับคะแนนเต็มเท่ากับ 7 คะแนน ซึ่งถือว่าเป็นคะแนนที่อยู่ในระดับรู้สึกเฉยๆ ถึงชอบเล็กน้อยในผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วย purée กล้วยที่มีการปรับค่า pH ให้ต่ำลงกว่าผลไม้ปกติ และไม่มีการเติมน้ำตาลใน purée กล้วยซึ่งอยู่ในโยเกิร์ตมีอายุการเก็บรักษานาน 21 วันโดยที่ผลิตภัณฑ์ยังเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคอยู่บ้าง

ผลิตภัณฑ์นี้ต่างจากผลิตภัณฑ์ทั่วไป คือ มีการเติมจุลินทรีย์โพรไบโอติกลงใน purée กล้วย ซึ่งโยเกิร์ตเสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติกโดยทั่วไปจะเติมจุลินทรีย์โพรไบโอติกลงในนมที่ใช้เป็นวัตถุดิบ ซึ่งอาจเป็นสาเหตุให้มีการเจริญเติบโตและเกิดการแข่งขันของจุลินทรีย์โพรไบโอติกและจุลินทรีย์โยเกิร์ต และยังอาจเกิดการผลิตสารยับยั้งการเจริญทำให้จำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติกลดลงในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ ดังนั้นผลิตภัณฑ์นี้จึงเป็นผลิตภัณฑ์ที่อาจกล่าวได้ว่ามีความเหมาะสมทางด้านโภชนาการโดยมีปริมาณไขมันต่ำ แต่ยังมีองค์ประกอบอื่นๆ ที่ให้คุณค่าทางโภชนาการครบถ้วน และมีสมบัติเชิงหน้าที่ทางด้านจุลินทรีย์ โดยมีปริมาณจุลินทรีย์

ตารางที่ 4.10 ผลการประเมินความชอบทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่มีอายุการเก็บ 21 วัน

คุณลักษณะทางประสาทสัมผัส	คะแนน
ลักษณะปรากฏ	4.36±1.34
สี	4.58±1.42
กลิ่น	4.38±1.63
ลักษณะเนื้อสัมผัส	3.92±1.55
กลิ่นรส	3.91±1.83
ความชอบโดยรวม	4.30±1.40

1 = ไม่ชอบมาก; 2 = ไม่ชอบปานกลาง; 3 = ไม่ชอบเล็กน้อย; 4 = เฉยๆ; 5 = ชอบเล็กน้อย; 6 = ชอบปานกลาง; 7 = ชอบมาก

โพรไบโอติกมากกว่า 8 $\log_{10}$CFU ต่อกรัมในระหว่างการเก็บรักษา และคาดว่าจะมีประโยชน์ต่อระบบทางเดินอาหารของผู้บริโภค นอกจากนี้การเติมพรีไบโอติกลงไปอาจช่วยส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกในลำไส้ และช่วยปรับปรุงคุณลักษณะทางกายภาพ ลักษณะเนื้อสัมผัสและกลิ่นรสที่ดีของโยเกิร์ตมากกว่าตัวอย่างที่ไม่ได้เติมพรีไบโอติก อาจกล่าวได้ว่าพรีไบโอติกที่เติมลงไปมีคุณสมบัติในการเป็นสารทดแทนไขมันในตัวอย่างโยเกิร์ตไขมันต่ำได้ และยังพบว่าปริมาณทริปโตเฟนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งจะมีส่วนช่วยเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของโยเกิร์ตได้อีกส่วนหนึ่ง โดยทริปโตเฟนเป็นกรดอะมิโนที่จำเป็นที่สามารถผ่าน blood brain barrier ได้ดี และเป็นสารสำคัญที่ใช้ในการสังเคราะห์ serotonin (Fernstrom และ Wurtman, 1971; Knott และ Curzon, 1972; Mathura และคณะ, 1986) ซึ่งเป็นสารสื่อประสาทที่สำคัญของสมองที่มีบทบาทในการควบคุมระบบการทำงานต่างๆ ในร่างกาย นอกจากนี้

กรดอะมิโนทริปโตเฟนยังสามารถเปลี่ยนเป็นไนอะซีน (niacin) ซึ่งเป็นสารจำเป็นเกี่ยวกับโครงสร้างและการทำหน้าที่ของอวัยวะต่างๆ เช่น ผิวหนัง ประสาทส่วนกลาง และส่วนปลายทางเดินอาหาร (ปราณี เกียรติสุระยานนท์ และวิไล หนุนภักดี, 2534) ดังนั้นผลิตภัณฑ์นี้จึงมีประโยชน์ทั้งทางด้านโภชนาการและโภชนบำบัด สามารถนำมาผลิตในระดับอุตสาหกรรมเชิงการค้าได้โดยมีต้นทุนในการผลิต (เฉพาะค่าวัตถุดิบและบรรจุภัณฑ์) ถ้วยละ 8.36 บาท ต่อ 120 กรัม (ภาคผนวก ฉ) นอกจากนี้ยังอาจใช้ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกมาเป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์อาหารชนิดอื่นๆ ในระดับอุตสาหกรรมได้ ซึ่งน่าจะส่งผลดีต่อการปลูกและแปรรูปกล้วยโดยเฉพาะกล้วยไข่ และใช้เป็นแนวทางในการเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์อาหารได้อีกส่วนหนึ่งในอนาคต

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

กล้วยหอมทอง กล้วยน้ำว้า และกล้วยไข่มีองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกัน ทำให้ purée กล้วยทั้งสามชนิดมีองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันด้วย โดยพบว่ากล้วยและ purée กล้วยหอมทองมีปริมาณความชื้นสูงที่สุด กล้วยและ purée กล้วยน้ำว้ามีปริมาณกรดทั้งหมดสูงที่สุด และกล้วยและ purée กล้วยไข่มีค่า pH ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ของแข็งทั้งหมด โปรตีน และไขมันสูงที่สุด

ในการศึกษาชนิดของกล้วยและสายพันธุ์จุลินทรีย์โพรไบโอติกที่เหมาะสมในการผลิต purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก โดยการหาจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่เพิ่มขึ้นในอาหาร MRS ที่เติมกลูโคส พรีไบโอติกทางการค้า และ purée กล้วยต่างชนิดในระหว่างการหมัก 24 ชั่วโมง พบว่าอาหาร MRS ที่เติม purée กล้วยน้ำว้าทำให้จำนวนจุลินทรีย์ *L. acidophilus* LA-5® เพิ่มขึ้นมากที่สุด 3.5 $\log_{10}$CFU ต่อกรัม และเมื่อประเมินค่า prebiotic activity scores พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติม purée กล้วยไข่ที่มีต่อ *L. paracasei* Lpc-37 มีค่า prebiotic activity score สูงที่สุด

เมื่อเก็บจุลินทรีย์โพรไบโอติกสายพันธุ์ต่างๆ ใน purée กล้วยทั้งสามชนิดในถุงลามิเนตที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน มีเพียงจุลินทรีย์สายพันธุ์ *L. paracasei* Lpc-37 ที่เก็บใน purée กล้วยไข่มีจำนวนเพิ่มขึ้น 0.7 $\log_{10}$CFU ต่อกรัม และมีปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นร้อยละ 0.25 โดยเซลล์ดังกล่าวจะยึดเกาะกับ purée และใช้สารอาหารในกล้วยสำหรับแบ่งเซลล์เพิ่มจำนวน และสร้าง metabolites ในการดำรงชีวิต

ในการผลิตโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติก ตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรสมีปริมาณกรดทั้งหมด ความสามารถในการอุ้มน้ำ และความหนืดปรากฏสูงกว่า และมีการแยกส่วนของของเหลวต่ำกว่าตัวอย่างที่เติมอินูลิน การเติมพรีไบโอติกในปริมาณที่มากขึ้นทำให้ตัวอย่างมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ และปริมาณของแข็งทั้งหมดเพิ่มขึ้น และมีแนวโน้มทำให้ความหนืดปรากฏ และความแน่นเนื้อของโยเกิร์ตลดลง ตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 1 และ 2 มีความสามารถในการอุ้มน้ำ และความหนืดปรากฏสูงที่สุด และมีการแยกส่วนของของเหลวน้อยที่สุด สำหรับตัวอย่างที่เติมอินูลิน ร้อยละ 1 และตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 2 มีคะแนนทางประสาทสัมผัสทางด้านลักษณะปรากฏ สี ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมสูงที่สุด ดังนั้นตัวอย่างที่เติมพอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 2 จึงเป็นตัวอย่างที่เหมาะสมสำหรับการผลิตโยเกิร์ตชนิดเซ็ตไขมันต่ำเสริมพรีไบโอติก

โยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่บรรจุ purée กล้วยไข่ผสม *L. paracasei* Lpc-37 ไว้ด้านล่างของถ้วย และบรรจุโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพอลิเดกซ์โตรส ร้อยละ 2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรอยู่ด้านบน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 วัน พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ *L. paracasei* Lpc-37 เพิ่มขึ้น 0.8 log_{10}CFU ต่อกรัม และมีปริมาณกรดอะมิโนทริปโตเฟนเพิ่มขึ้นเล็กน้อย รวมทั้งปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นจาก 1.00 เป็น 1.14 ในระหว่างการเก็บรักษา และพบว่าโยเกิร์ตมีการแยกส่วนของของเหลวลดลง แต่มีความหนืดปรากฏเพิ่มขึ้นใน 14 วันแรกของการเก็บรักษา สีขาวครีมของโยเกิร์ต และความเป็นเนื้อเดียวกัน รสหวาน และกลิ่นรสกล้วยของโยเกิร์ตผสมกล้วยลดลง ในขณะที่รสเปรี้ยว และกลิ่นรสนมเปรี้ยวของโยเกิร์ตผสมกล้วยเพิ่มขึ้น และผู้บริโภคทั่วไปให้คะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น และความชอบโดยรวมในระดับเฉยๆ ถึงชอบเล็กน้อยสำหรับโยเกิร์ตที่เก็บนาน 21 วัน

ผลิตภัณฑ์นี้มีสมบัติเชิงหน้าที่โดยมีจำนวนจุลินทรีย์ *L. paracasei* Lpc-37 มากกว่า 8 $\log_{10}$CFU ต่อกรัม และมีทริปโตเฟน (ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่จำเป็นและเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ serotonin) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในระหว่างการเก็บรักษา และยังมีพอลิเดกซ์โตรสเป็นพรีไบโอติก ซึ่งนอกจากจะช่วยปรับปรุงสมบัติทางกายภาพและประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตให้ดีขึ้นแล้ว ยังช่วยส่งเสริมการอยู่รอดของจุลินทรีย์โพรไบโอติกเมื่อรับประทานเข้าสู่ร่างกาย จึงทำให้เกิดระบบ synbiotic ที่มีทั้งคุณค่าทางด้านโภชนาการและโภชนบำบัด และเป็นแนวทางใหม่ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก โดยเติมจุลินทรีย์โพรไบโอติกลงใน purée กล้วย ซึ่งจะช่วยให้จุลินทรีย์โพรไบโอติกรอดชีวิตมากกว่าโยเกิร์ตแบบดั้งเดิมที่มีการเติมจุลินทรีย์โพรไบโอติกลงในนมโดยตรง นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์นี้ยังช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับกล้วยซึ่งเป็นพืชที่เพาะปลูกกันมากในประเทศไทย และสามารถนำไปผลิตเป็น purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกในเชิงพาณิชย์ได้ ทั้งยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารชนิดอื่นๆ ได้อีกด้วย

5.2 ข้อเสนอแนะ

ก) โยเกิร์ตผลไม้ทางการค้าโดยส่วนใหญ่จะใช้น้ำตาล หรือไซรัปเติมลงไปใน fruit-base โดยให้มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดประมาณ 30 องศาบริกซ์ เพื่อให้ได้กลิ่นรสของผลไม้ที่มีรสหวานเข้ากันได้ดีกับนมหมักที่มีรสเปรี้ยว ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงควรมีการศึกษาหาปริมาณน้ำตาลที่เหมาะสมในการผลิต purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก เพื่อได้กลิ่นรสของโยเกิร์ตใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ไม่มีรสเปรี้ยวจนเกินไป โดยจุลินทรีย์โพรไบโอติกใน purée กล้วยยังคงมีกิจกรรมในระหว่างกระบวนการผลิตและการเก็บรักษา และมีจำนวนจุลินทรีย์ในระดับที่อ้างได้ว่ามีประโยชน์ต่อผู้บริโภค

ข) ในการผลิตโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกในเชิงการค้าที่มีการผลิตในปริมาณสูง ควรใช้เครื่องบดและแยกเนื้อกล้วยออกจากเมล็ด เพื่อช่วยลดระยะเวลาในการผลิตและการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ และควรใช้จุลินทรีย์โยเกิร์ตทางการค้าที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งเติมลงไปในนมโดยตรงในสัดส่วนตามคำแนะนำของผู้ผลิต เพื่อให้ได้โยเกิร์ตที่มีคุณภาพดีและใช้ระยะเวลาการหมักที่เหมาะสม

ค) สำหรับการผลิต purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก มีความเป็นไปได้ว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติกสามารถเจริญได้ดีในกล้วย โดยมีจำนวนจุลินทรีย์รอดชีวิตมากกว่า 8 $\log_{10}$ CFU ต่อกรัมในระหว่างการเก็บรักษา ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้กับผลิตภัณฑ์อาหารได้หลายชนิด เช่น โยเกิร์ต ไอศกรีม และอาหารเด็ก เป็นต้น และมีความเป็นไปได้สูงที่จะนำกล้วยที่มีอยู่มากในท้องถิ่นมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์จากกล้วยชนิดอื่นนอกเหนือจาก purée กล้วยที่มีการเติมจุลินทรีย์โพรไบโอติกลงในผลิตภัณฑ์ ยกตัวอย่างเช่น กล้วยแช่อิ่ม กล้วยตาก และซอสกล้วย เป็นต้น

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

เกศิณี ระมิงค์วงศ์. 2528. ไม้ผลเมืองร้อน. กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ชูจิตร สมบัติพานิช. 2503. การวิเคราะห์คุณภาพทางอาหารของกล้วยบางชนิด, วิทยานิพนธ์ปริญญาบัณฑิต, สาขาวิชาคณะกสิกรรมและสัตวบาล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ธวิช อินทรพันธุ์. 2548. จุลชีววิทยาทางอาหารเบื้องต้น. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาอาหารและโภชนาการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ.

นฤมล ศรีวิริยะเลิศกุล. 2541. การใช้ประโยชน์และการแปรรูปกล้วยในอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง. ใน การสัมมนาและนิทรรศการกล้วยครบวงจร, หน้า 25-27. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิพิธภัณฑ์และวัฒนธรรมการเกษตร.

เบญจพร เพ็งอ้น. 2541. การผลิตและการใช้ประโยชน์พิวรีกล้วย, วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เบญจมาศ ศิลาย้อย. 2545. กล้วย. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ปราณี เกียรติสุระยานนท์ และวิไล หนุนภักดี. 2534. ปัญหาเกี่ยวกับ L-tryptophan และประมวลการดำเนินการในประเทศไทย. กรุงเทพมหานคร: งานโครงการความปลอดภัยในการใช้เคมีวัตถุ กองวิชาการ สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข.

พิจิตร โชคพัฒนา. 2545. การปลูกไม้ผล. พิมพ์ครั้งที่ 1. นนทบุรี: เกษตรสาส์น.

วิชัย หฤทัยธนาสันต์. 2541. การใช้ประโยชน์และแปรรูปกล้วย. ใน การสัมมนาและนิทรรศการกล้วยครบวงจร, หน้า 16-17. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิพิธภัณฑ์และวัฒนธรรมการเกษตร.

วินัย ดะห์ลัน, สุจิตรา บุญหยง, ทิพยเนตร อริยปิติพันธ์, ไพลิน สิทธิวิเชียรวงศ์ และวนิดา นพพรพันธุ์. 2545. อาหารโภชนาการและผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพมหานคร: ฝ่ายเอกสารและตำรา คณะสหเวชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วิไลลักษณ์ รัตนอาภา, วิภา สุโรจนเมธากุล, เพลินใจ ตังคณะกุล, เบญจมาศ ศิลาย้อย และกรุณา วงษ์กระจ่าง. 2532. การศึกษาคุณค่าทางอาหารของกล้วยในกลุ่ม ABB บางชนิด. อาหาร 19(4): 247-256.

สมฤดี สายหยุดทอง. 2549. บทบาทของสารสื่อประสาทเซอโรโตนินในโรคซึมเศร้า. วิทยาศาสตร์ 60(6): 478-487.

สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล. 2547. เทคโนโลยีชีวภาพอาหารการหมักและสิ่งแวดล้อม. กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อนามัย, กรม. กองโภชนาการ. 2535. ตารางแสดงคุณค่าอาหารไทยในส่วนที่กินได้ 100 กรัม. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพมหานคร: องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก.

ภาษาอังกฤษ

Abu-Jdayil, B., and Mohameed, H. 2002. Experimental and modeling studies of the flow properties of concentrated yoghurt as affected by storage time. Journal of Food Engineering 52(4): 359-365.

Adão, R. C., and Glória, M. B. A. 2005. Bioactive amines and carbohydrate changes during ripening of 'Prata' banana (*Musa acuminate* x *M. balbisiana*). Food Chemistry 90(4): 705-711.

Aegerter, P., and Dunlap, C. 1980. Culture of five commonly used acid-producting bacteria on banana pulp. Applied and Environmental Microbiology 39(5): 937-942.

Agopian, R. G. D., Soares, C. A., Purgatto, E., Cordenunsi, R., and Lajolo, F. M. 2008. Identification of fructooligosaccharides in different banana cultivars. Journal of Agricultural and Food Chemistry 56(9): 3305-3310.

Alm, L. 1982. Effect of fermentation on B-vitamin content of milk in Sweden. Journal of Dairy Science 65(3): 353-359.

Amatayakul, T., Sherkat, F., and Shah, N. P. 2006. Syneresis in set yoghurt as affected by ESP starter culture and levels of solids. International Journal of Dairy Technology 59(3): 216-221.

AOAC. 2005. Official Methods of Analysis of AOAC International. 18th ed. Gaithersburg, Maryland: AOAC International.

Aryana, K. J., and McGrew, P. 2007. Quality attributes of yogurt with *Lactobacillus casei* and various prebiotics. LWT-Food Science and Technology 40(10): 1808-1814.

Asp, N. 1996. Dietary carbohydrates: Classification by chemistry and physiology. Food Chemistry 57(1): 9-14.

Atlas, R. R. 2004. Handbook of Microbiological Media. 3th ed. London: CRC.

Bărăscu, E., Stoica, A., Popescu, E. C., and Iordan, M. 2009. Growth characteristics of probiotic in milk supplemented with rye flakes. Journal of Agroalimentary Processes and Technologies 15(1): 28-33.

Barrangou, R., Altermann, E., Hutkins, R., Cano, R., and Klaenhammer, T. R. 2003. Functional and comparative genomic analyses of an operon involved in fructooligosaccharide utilization by *Lactobacillus acidophilus*. Proceedings of the National Academy of Sciences 100(15): 8957-8962.

Betoret, N., Puente, L., Diaz, M. J., Pagán, M. J., Garcia, M. J., Gras, M. L., Martínez-Monzó, J., and Fito, P. 2003. Development of probiotic-enriched dried fruits by vacuum impregnation. Journal of Food Engineering 56(2-3): 273-277.

Bezkorovainy, A. 2001. Probiotics: Determinants of survival and growth in the gut. The American Journal of Clinical Nutrition 73(2 Suppl): 399S-405S.

Biasiolo, M., Bertazzo, A., Costa, C., Beghetto, A., and Allegri, G. 1995. Determination of nonprotein tryptophan in yoghurts by selective fluorescence and HPLC. Food Chemistry 52(1):87-92.

Birollo, G. A., Reinheimer, J. A., and Vinderola, C. G. 2000. Viability of lactic acid microflora in different types of yoghurt. Food Research International 33(9): 799-805.

Bonczar, G., Wszolek, M., and Siuta, A. 2002. The effects of certain factors on the properties of yoghurt made from ewe's milk. Food Chemistry 79(1): 85-91.

Bornet, F. R. 1994. Undigestible sugars in food products. The American Journal of Clinical Nutrition 59(3 Suppl): 763S–769S.

Brady, L. J., Gallaher, D. D., and Busta, F. F. 2000. The role of probiotic cultures in the prevention of colon cancer. The Journal of Nutrition 130(2S Suppl): 410S-414S.

Brekke, J. E., Tonaki, K. I., Cavaletto, C. G., and Frank, H. A. 1969. Stable banana purée for long term refrigerated storage. Journal of the Science of Food and Agriculture 20(6): 376-378.

Bresson, J.–L. 2002. Yoghurt and latose intolerance: What's new? Yoghurts & Fermented Milks January Letter (6): 1-6.

Burdock, G. A., and Flamm, W. G. 1999. A review of the studies of the safety of polydextrose in food. Food and Chemical Toxicology 37(2-3): 233-264.

Bylund, G. 1995. Dairy Processing Handbook. Lund: Tetra Pak Processing System AB.

Cano, M. P., de Ancos, B., Matallana, M. C., Cámara, M., Reglero, G., and Tabera, J. 1997. Differences among Spanish and Latin-American banana cultivars: Morphological, chemical and sensory characteristics. Food Chemistry 59(3): 411-419.

Cerf-Bensussan, N. 2002. New insight into the direct role of live lactic acid bacteria in lactose digestion. Yoghurts & Fermented Milks June Letter (8): 1-6.

Cerning, J. 1990. Exocellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria. FEMS Microbiology Letters 87(1-2): 113-130.

Cerning, J., Bouillanne, C., and Desmazeaud, M. 1986. Isolation and characterization of exopolysaccharide produced by *Lactobacillus bulgaricus.* Biotechnology letters 8(9): 625-628.

Cerning, J., Bouillanne, C., Landon, M., and Desmazeaud, M. 1992. Isolation and characterization of exopolysaccharides from slime-forming mesophilic lactic acid bacteria. Journal of Dairy Science 75(3): 692-699.

Champe, P. C., and Harvey, R. A. 1994. Lippincott's Illustrated Reviews: Biochemistry. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott.

Chan-Blanco, Y., Bonilla-Leiva, A. R., and Velázquez, A. C. 2003. Using banana to generate lactic acid through batch process fermentation. Applied Microbiology and Biotechnology 63(2): 147-152.

Chandan, R. C., and O'Rell, K. R. 2006a. Manufacture of various types of yogurt. In R. C. Chandan; C. H. White; A. Kilara; and Y. H. Hui (eds.), Manufacturing Yoghurt and Fermented Milks, pp. 211-236. Oxford: Blackwell.

Chandan, R. C., and O'Rell, K. R. 2006b. Principles of yoghurt processing. In R. C. Chandan; C. H. White; A. Kilara; and Y. H. Hui (eds.), Manufacturing Yoghurt and Fermented Milks, pp. 195-209. Oxford: Blackwell.

Charoensiri, R., Kongkachuichai, R., Suknicom, S., and Sungpuag, P. 2009. Beta-carotene, lycopene, and alpha-tocopherol contents of selected Thai fruits. Food Chemistry 113(1): 202-207.

Charteris, W. P., Kelly, P. M., Morelli, L., and Collins, J. K. 2001. Antibacterial activity associated with *Lactobacillus gasseri* ATCC 9857 from the human female genitourinary tract. World Journal of Microbiology & Biotechnology 17(6): 615-625.

Chow, J. 2002. Probiotics and prebiotics: A brief overview. Journal of Renal Nutrition 12(2): 76-86.

Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation (CSIRO). 1972. Banana Ripening Guide. Technical Bulletin 3. Melbourne, Australia: Banana Research Advisory Committee.

Coussement, P. 1999. Inulin and oligofructose as dietary fiber: Analytical, nutritional and legal aspects. In S. S. Cho; L. Prosky; and M. Dreher (eds.), Complex Carbohydrates in Foods, pp. 203-227. New York: Marcel Dekker.

Craig, S. A. S., Holden, J. F., Troup, J. P., Auerbach, M. H., and Frier, H. I. 1998. Polydextrose as soluble fiber: Physiological and analytical aspects. Cereal Food World 43(5): 370-376.

Crittenden, R. G., Martinez, N. R., and Playne, M. J. 2003. Synthesis and utilization of folate by yoghurt starter cultures and probiotic bacteria. International Journal of Food Microbiology 80(13): 217-222.

Crittenden, R. G., and Playne, M. J. 1996. Production, properties and applications of food-grade oligosaccharides. Trends in Food Science & Technology 7(11): 353-361.

Crowther, P. C. 1979. The Processing of Banana Products for Food Use. London: Tropical Product Institute.

Dave, R. I., and Shah, N. P. 1996. Evaluation of media for selective enumeration of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* and Bifidobacteria. Journal of Dairy Science 79(9): 1529-1536.

Dave, R. I., and Shah, N. P. 1997a. Effectiveness of ascorbic acid as an oxygen scavenger in improving viability of probiotic bacteria in yoghurts made with commercial starter cultures. International Dairy Journal 7(6-7): 435-443.

Dave, R. I., and Shah, N. P. 1997b. Effect of cysteine on the viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made with commercial starter cultures. International Dairy Journal 7(8-9): 537-545.

Dave, R. I., and Shah, N. P. 1997c. Effect of level of starter culture on viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts. Food Australia 49(4): 164-168.

Dave, R. I., and Shah, N. P. 1997d. Viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts made from commercial starter cultures. International Dairy Journal 7(1): 31-41.

Dave, R. I., and Shah, N. P. 1998. Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yoghurt. Journal of Dairy Science 81(11): 2804-2816.

Davey, M. W., Van den Bergh, I., Markham, R., Swennen, R., and Keulemans, J. 2009. Genetic variability in *Musa* fruit provitamin A carotenoids, lutein and mineral micronutrient contents. Food Chemistry 115(3): 806-813.

De Castro, F. P., Cunha, T. M., Barreto, P. L. M., Amboni, R. D. de M. C., and Prudêncio, E. S. 2009. Effect of oligofructose incorporation on the properties of fermented probiotic lactic beverages. International Journal of Dairy Technology 62(1): 68-74.

De Leenheer, L. 1996. Production and use of inulin: Industrial reality with a promising future. In H. Van Bekkum; H. Röper; and A. G. C. Voragen (eds.), Carbohydrates as Organic Raw Materials III, pp. 67-92. New York: VCH.

De Noni, I., Pellegrino, L., and Masotti, F. 2004. Survey of selected chemical and microbiological characteristics of (plain or sweetened) natural yoghurts from the Italian market. Lait 84(5): 421-433.

Debon, J., Prudêncio, E. S., and Petrus, J. C. C. 2010. Rheological and physico-chemical characterization of prebiotic microfiltered fermented milk. Journal of Food Engineering 99(2): 128-135.

Deeth, H. C., and Tamime, A. Y. 1981. Yoghurt: Nutritive and therapeutic aspects. Journal of Food Protection 44(1): 78-86.

Degeest, B., Vaningelgem, F., and De Vuyst, L. 2001. Microbioal physiology, fermentation kinetics, and process engineering of heteropolysaccharide production by lactic acid bacteria. International Dairy Journal 11(9):747-757.

Delzenne, N. M., and Roberfroid, M. B. 1994. Physiological effects of non-digestible oligosaccharides. Lebensmittel-Wissenschaft und-Technologie 27(1): 1-6.

Donkor, O. N., Henriksson, A., Vasiljevic, T., and Shah, N. P. 2006. Effect of acidification on the activity of probiotics in yoghurt during cold storage. International Dairy Journal 16(10): 1181-1189.

Donkor, O. N., Nilmini, S. L. I., Stolic, P., Vasiljevic, T., and Shah, N. P. 2007. Survival and activity of selected probiotic organisms in set-type yoghurt during cold storage. International Dairy Journal 17(6): 657-665.

Dubey, U. K., and Mistry, V. V. 1996. Effect of bifidogenic factors on growth characteristics of bifidobacteria in infant formulas. Journal of Dairy Science 79(7): 1156-1163.

Emery, E. A., Ahmad, S., Koethe, J. D., Skipper, A., Perlmutter, S., and Paskin, D. L. 1997. Banana flakes control diarrhea in enterally fed patients. Nutrition in Clinical Practice 12(2): 72-75.

Endo, K., and others. 1991. Effect of high cholesterol diet and polydextrose supplementation on the microflora, bacterial enzyme activity, putrefactive products, volatile fatty acid (VFA) profile, weight, and pH of the feces in healthy volunteers. Bifidobacteria Microflora 10(1): 53-64.

Erkkilä, S., Surhko, M., Eerola, S., Petäjä, E., and Mattila-Sandholm, T. 2001. Dry sausage fermented by *Lactobacillus rhamnosus* strains. International Journal of Food Microbiology 64(1-2): 205-210.

Ershidat, O. T. M., and Mazahreh, A. S. 2009. Probiotics bacteria in fermented dairy products. Pakistan Journal of Nutrition 8(7): 1107-1113.

Espírito Santo, A. P., Silva, R. C., Soares, F. A. S. M., Anjos, D., Gioielli, L. A., and Oliveira, M. N. 2010. Açai pulp addition improves fatty acid profile and probiotic viability in yoghurt. International Dairy Journal 20(6): 415-422.

Everett, D. W., and McLeod, R. E. 2005. Interaction of polysaccharide stabilizers with casein aggregates in stirred skim-milk yoghurt. International Dairy Journal 15(11): 1175-1183.

Fernstrom, J. D., and Wurtman, R. J. 1971. Brain serotonin content: Physiological dependence on plasma tryptophan levels. Science 173(July): 149-152.

Figdor, S. K., and Bianchine, J. R. 1983. Caloric utilization and disposition of [^{14}C]polydextrose in man. Journal of Agricultural and Food Chemistry 31(2): 389-393.

Figdor, S. K., and Rennhard, H. H. 1981. Caloric utilization and disposition of [^{14}C]polydextrose in rat. Journal of Agricultural and Food Chemistry 29(6): 1181-1189.

Fooks, L. J., Fuller, R., and Gibson, G. R. 1999. Prebiotics, probiotics and human gut microbiology. International Dairy Journal 9(1): 53-61.

Forsyth, W. G. C. 1980. Banana and plantain. In S. Nagy; and P. E. Shaw (eds.), Tropical and Subtropical Fruits, pp. 258-278. Westport: AVI.

Franck, A. 1999. Prebiotic sweeteners blends. Food Marketing and Technology 13(1): 22-24.

Franck, A. 2006. Oligofructose-enriched inulin stimulates calcium absorption and bone mineralisation. Nutrition Bulletin 31(4): 341-345.

Franck, A., and Coussement, P. 2001. Prebiotics. In P. Young (ed.), Guide to Functional Food Ingredients, pp.1-20. England: Leatherhead.

Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. Journal of Applied Bacteriology 66(5): 365-378.

Gambelli, L., Manzi, P., Panfili, G., Vivanti, V., and Pizzoferrato, L. 1999. Constituents of nutritional relevance in fermented milk products commercialized in Italy. Food Chemistry 66(3): 353-358.

Ghanem, K. Z., Badawy, I. H., and Abdel-Salam, A. M. 2004. Influence of yoghurt and probiotic yoghurt on the absorption of calcium, magnesium, iron and bone mineralization in rats. Milchwissenschaft 59(9-10): 472-475.

Ghoddusi, H. B., Grandison, M. A., Grandison, A. S., and Tuohy, K. M. 2007. *In vitro* study on gas generation and prebiotic effects of some carbohydrates and their mixtures. Anaerobe 13(5-6): 193-199.

Gibson, G. R. 2004. Fibre and effects on probiotics (the prebiotic concept). Clinical Nutrition Supplements 1(2): 25-31.

Gibson, G. R., Beatty, E. R., Wang, X., and Cummings, J. H. 1995. Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. Gastroenterology 108(4): 975-982.

Gibson, G. R., and Roberfroid, M. B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiotia: Introducing the concept of prebiotics. The Journal of Nutrition 125(6): 1401-1412.

Gibson, G. R., and Roberfroid, M. B. 2008. Handbook of Prebiotics. Boca Raton: CRC Press.

Gilliland, S. E., and Kim, H. S. 1984. Effects of viable starter culture bacteria in yoghurt on lactose utilization in human. Journal of Dairy Science 67(1): 1-6.

Gilliland, S. E., Nelson, C. R. and Maxwell, C. 1985. Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. Applied and Environmental Microbiology 49(2): 377-381.

Glibowski, P. 2009. Rheological properties and structure of inulin-whey protein gels. International Dairy Journal 19(8): 443-449.

Glibowski, P. 2010. Effect of thermal and mechanical factors on rheological properties of high performance inulin gels and spreads. Journal of Food Engineering 99(1): 106-113.

Goldstein, J. L., and Wick, E. L. 1969. Lipid in ripening banana fruit. Journal of Food Science 34(6): 482-484.

Gomes, A. M. P., and Malcata, F. X. 1999. *Bifidobacterium* spp. and *Lactobacillus acidophilus*: Biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. Trends in Food Science & Technology 10(4-5): 139-157.

Gomes, A. M. P., Malcata, F. X., and Klaver, F. A. M. 1998. Growth enhancement of *Bifidobacterium lactis* Bo and *Lactobacillus acidophilus* Ki by milk hydrolyzates. Journal of Dairy Science 81(11): 2817-2825.

González-Martinez, C., Becerra, M., Cháfer, M., Albors, A., Carot, J. M., and Chiralt, A. 2002. Influence of substituting milk powder for whey powder on yoghurt quality. Trends in Food Science & Technology 13(9-10): 334-340.

Gopal, P., Sullivan, P. A., and Smart, J. B. 2001. Utilisation of galacto-oligosaccharides as selective substrates for growth by lactic acid bacteria including *Bifidobacterium lactis* DR10 and *Lactobacillus rhamnosus* DR20. International Dairy Journal 11(1-2): 19-25.

Guarner, F., Perdigon, G., Corthier, G., Salminen, S., Koletzko, B., and Morelli, L. 2005. Should yoghurt cultures be considered probiotic? British Journal of Nutrition 93(6): 783-786.

Gueimonde, M., Delgado, S., Mayo, B., Ruas-Madiedo, P., Margolles, A., and de los Reyes-Gavilán, C. G. 2004. Viability and diversity of probiotic *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* populations included in commercial fermented milks. Food Research International 37(9): 839-850.

Guergoletto, K. B., Magnani, M., Martin, J. S., Andrade, C. G., and Garcia, S. 2010. Survival of *Lactobacillus casei* (LC-1) adhered to prebiotic vegetal fibers. Innovative Food Science and Emerging Technologies 11(2): 415-421.

Guggisberg, D., Cuthbert-Steven, J., Piccinali, P., Bütikofer, U., and Ebergard, P. 2009. Rheological, microstructural and sensory characterization of low-fat and whole milk set yoghurt as influenced by inulin addition. International Dairy Journal 19(2): 107-115.

Gurr, M. I. 1987. Nutritional aspects of fermented milk products. FEMS Microbiology Letters 46(3): 337-342.

Guven, M., Yasar, K., Karaca, O. B., and Hayaloglu, A. A. 2005. The effect of inulin as a fat replacer on the quality of set-type low-fat yogurt manufacture. International Journal of Dairy Technology 58(3): 180-184.

Guyer, R. B., and Erickson, F. B. 1954. Canning of acidified banana purée. Food Technology 8: 165-167.

Gyosheva, B., Petrova, L., and Mutafchieva, M. 1995. Preservation of *Streptococcus thermophilus* strains after long-term storage in lyophilized state. Journal of Culture Collections 1(1): 34-37.

Hamanaka, M. 1987. Polydextrose as a water-soluble dietary fiber. Syokuhin Kogyo 9: 73-80.

Hassan, A. N., Frank, J. F., and Schmidt, K. A. 1996a. Rheological properties of yogurt made with encapsulated nonropy lactic cultures. Journal of Dairy Science 79(12): 2091-2097.

Hassan, A. N., Frank, J. F., and Schmidt, K. A. 1996b. Textural properties of yogurt made with enacapsulated nonropy lactic cultures. Journal of Dairy Science 79(12): 2098-2103.

Havenaar, R., and Huis in't Veld, J. H. J. 1992. Probiotics: A general view. In B. J. B. Wood (ed.), The Lactic Acid Bacteria Volume 1: The Lactic Acid Bacteria in Health & Disease, pp. 151-170. London: Elsevier Applied Science.

Helander, A., Wikström, T., Löwenmo, C., Jacobsson, G., and Beck, O. 1992. Urinary excretion of 5-hydroxyindole-3-acetic acid and 5-hydroxytryptophol after oral loading with serotonin. Life Science 50(17): 1207-1213.

Helland, M. H., Wicklund, T., and Narvhus, J. A. 2004. Growth and metabolism of selected strains of probiotic bacteria in milk- and water-based cereal puddings. International Dairy Journal 14(11): 957-965.

Hepner, G., Fried, R., St.Jeor, S., Fusetti, L., and Morin, R. 1979. Hypocholesterolemic effect of yoghurt and milk. The American Journal of Clinical Nutrition 32(1): 19-24.

Hernot, D. C., and others. 2009. In vitro fermentation profiles, gas production rates, and microbiota modulation as affected by certain fructans, galactooligosaccharides, and polydextrose. Journal of Agricultural and Food Chemistry 57(4): 1354-1361.

Hicks, C. R., and Turner Jr., K. V. 1999. Fundamental Concept in the Design of Experiment. 5th ed. Oxford: Oxford University Press.

Hoan, N. C. 1991. Study on the Processing of Banana Purée. Project. Institute of Food Research and Product Development, Kasetsart University. (Mimeographed)

Horigome, T., Sakaguchi, E., and Kishimoto, C. 1992. Hypocholesterolaemic effect of banana (*Musa sapientum* L. var. Cavendishii) pulp in the rat fed on a cholesterol-containing diet. British Journal of Nutrition 68(1): 231-244.

Huebner, J., Wehling, R. L., and Hutkins, R. W. 2007. Functional activity of commercial prebiotics. International Dairy Journal 17(7): 770-775.

Huebner, J., Wehling, R. L., Parkhurst, A., and Hutkins, R. W. 2008. Effect of processing conditions on the prebiotic activity of commercial prebiotics. International Dairy Journal 18(3): 287-293.

Hugenholtz, J., and others. 2000. Metabolic engineering of lactic acid bacteria for the improvement of fermented dairy products.[Online]. Available from: http://academic.sun.ac.za/natural/biochem/btk/book/Hugenholtz.pdf[2010, October 16]

Imamura, L., Hisamitsu, K., and Kobashi, K. 1994. Purification and characterization of β-fructofuranosidase from *Bifidobacterium infantis*. Biological & Pharmaceutical Bulletin 17(5): 596-602.

Ipsen, R., Otte, J., Lozahic, G., and Qvist, K. B. 2001. Microstructure and viscosity of yoghurt with inulin added as a fat-replacer. Annual Transactions of the Nordic Rheology Society 9:59-62.

Irkin, R., and Eren, U. V. 2008. A research about viable *Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus* numbers in the market yoghurts. World Journal of Dairy & Food Science 3(1): 25-28.

Ishak, R., Mustafa, S., Sipat, A., Muhammad, S. K. S., and Manap, M. Y. A. 2006. Influence of inulin addition on physical properties and sensory of 'Dadih'. Journal of Applied Sciences 6(5): 1128-1131.

Jie, Z., and others. 2000. Studies on the effects of polydextrose intake on physiologic functions in Chinese people. The American Journal of Clinical Nutrition 72(6): 1503-1509.

Kantachote, D., Charernjiratrakul, W., and Umsakul, K. 2008. Antibacterial activities of fermented plant beverages collected in southern Thailand. Journal of Biological Sciences 8(8): 1280-1288.

Kaplan, H., and Hutkins, R. W. 2003. Metabolism of fructooligosaccharides by *Lactobacillus paracasei* 1195. Applied and Environmental Microbiology 69(4): 2217-2222.

Kebary, K. M. K., Khader, A. E., Zedan, A. N., and Mahmoud, S. F. 1996. Accelerated ripening of low fat Ras cheese by attenuated lactobacilli cells. Food Research International 29(8): 705-713.

Khurana, H. K., and Kanawjia, S. K. 2007. Recent trends in development of fermented milks. Current Nutrition & Food Science 3(1): 91-108.

Kilibwa, M. 2004. Polydextrose as anti-staling agent. Patent No. US 6,830,770 B1. [Online]. Available from: http://www.freepatentsonline.com/6830770.html[2010, December 16]

Kip, P., Meyer, D., and Jellema, R. H. 2006. Inulins improve sensoric and textural properties of low-fat yoghurts. International Dairy Journal 16(9): 1098-1103.

Knott, P. J., and Curzon, G. 1972. Free tryptophan in plasma and brain tryptophan metabolism. Nature 239(5373): 452-453.

Kolida, S., Tuohy, K., and Gibson, G. R. 2002. Prebiotic effects of inulin and oligofructose. British Journal of Nutrition 87(Suppl. 2): S193-S197.

Kosin, B., and Rakshit, S. K. 2006. Microbioal and processing criteria for production of probiotics: A review. Food Technology and Biotechnology 44(3): 371-379.

Kourkoutas, Y., Xolias, V., Kallis, M., Bezirtzoglou, E., and Kanellaki, M. 2005. *Lactobacillus casei* cell immobilization on fruit pieces for probiotic additive, fermented milk and lactic acid production. Process Biochemistry 40(1): 411-416.

Kulma, A. and Szopa, J. 2007. Catecholamines are active compounds in plants. Plant Science 172(3): 433-440.

Larmond, E. 1977. Laboratory Methods for Sensory Evaluation of Food. Publication No. 1637. Ottawa: Food Research Institute, Canada Department of Agriculture.

Lavermicocca, P., and others. 2005. Study of adhesion and survival of lactobacilli and bifidobacteria on table olives with the aim of formulating a new probiotic food. Applied and Environmental Microbiology 71(8): 4233-4240.

Lee, G. J., and Jago, G. R. 1976. Formation of acetaldehyde from threonine by lactic acid bacteria. Journal of Dairy Research 43(1): 75-83.

Lee, W. J., and Lucey, J. A. 2010. Formation and physical properties of yoghurt. Asian-Australasian Journal of Animal Sciences 23(9): 1127-1136.

Lee, Y., and Wong, S. 1993. Stability of lactic acid bacteria in fermented milk. In S. Salminen; and A. von Wright (eds.), Lactic Acid Bacteria, pp. 97-109. New York: Marcel Dekker.

L'homme, C., Peschet, J. L., Puigserver, A., and Biagini, A. 2001. Evaluation of fructans in various fresh and stewed fruits by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection. Journal of Chromatography A 920(1-2): 291-297.

Li, J., and Guo, M. 2006. Effect of polymerized whey proteins on consistency and water-holding properties of goat's milk yogurt. Journal of Food Science 71(1): C34-C38.

Lilly, D. M., and Stillwell, R. H. 1965. Probiotics: Growth-promoting factors produced by micro-organisms. Science 147: 747-748.

Lourens-Hattingh, A., and Viljoen, B. C. 2001. Review: Yogurt as probiotic carrier food. International Dairy Journal 11(1-2): 1-17.

Lyte, M. 1997. Introduction of Gram-negative bacterial growth by neurochemical containing banana (*Musa x paradisiaca*) extracts. FEMS Microbiology Letters 154(2): 245-250.

Magenis, R. B., and others. 2006. Compositional and physical properties of yogurts manufactured from milk and whey cheese concentrated by ultrafiltration. International Journal of Food Science and Technology 41(5): 560-568.

Mahdian, E., and Tehrani, M. M. 2007. Evaluation the effect of milk total solids on the relationship between growth and activity of starter cultures and quality of concentrated yoghurt. American-Eurasian Journal of Agricultural and Environmental Science 2(5): 587-592.

Makras, L., Van Acker, G., and De Vuyst, L. 2005. *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* 8700:2 degrades inulin-type fructans exhibiting different degrees of polymerization. Applied and Environmental Microbiology 71(11): 6531-6537.

Mann, G. V. 1977. A factor in yoghurt which lowers cholesterolemia in man. Atherosclerosis 26(3): 335-340.

Manning, T. S., and Gibson, G. R. 2004. Preboitics. Best Practice & Research Clinical Gastroenterology 18(2): 287-298.

Maragkoudakis, P. A., Miaris, C., Rojez, P., Manalis, N., Magkanari, F., Kalantzopoulos, G., and Tsakalidou, E. 2006. Production of traditional Greek yoghurt using *Lactobacillus* strains with probiotic potential as starter adjuncts. International Dairy Journal 16(1): 52-60.

Marks, J. 2004. Successful probiotic bifidobacteria. In C. Shartt; and J. O' Brien (eds.), Handbook of Functional Dairy Products, pp. 33-91. Boca Raton: CRC Press.

Maroziene, A., and Kruif, C. G. 2000. Interaction of pectin and casein micelles. Food Hydrocolloids 14(4): 391-394.

Martínez-Villaluenga, C., and Gómez, R. 2007. Characterization of bifidobacteria as starters in fermented milk containing raffinose family of oligosaccharides from lupin as prebiotic. International Dairy Journal 17(2): 116-122.

Mathura, C. B., Singh, H. H., Tizabi, Y., Hughes, J. E., and Flesher, S. A. 1986. Effects of chronic tryptophan loading on serotonin (5-HT) levels in neonatal rat brain. Journal of the National Medical Association 78(7): 645-647.

Moline, H. E., Guta, J. G., and Newman, I. M. 1999. Prevention of browning of banana slices using natural products and their derivatives. Journal of Food Quality 22(5): 499-511.

Mussatto, S. I., and Mancilha, I. M. 2007. Non-digestible oligosaccharides: A review. Carbohydrate Polymers Review 68(3): 587-597.

Nakamura, K., Iwaizumi, K., and Yamada, S. 2007. Hemolymph patterns of free amino acids in the brine shrimp *Artemia franciscana* after three days starvation at different salinities. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A 147(1): 254-259.

Nakazawa, Y., and Hosono, A., eds. 1992. Functions of Fermented Milk: Challenges for the Health Sciences. Translated by B. W. Howells. London: Elsevier Applied Science.

Niness, K. R. 1999. Inulin and oligofructose: What are they? The Journal of Nutrition 129(7 Suppl): 1402S-1406S.

Oku, T., Fujii, Y., and Okamatsu, H. 1991. Polydextrose as dietary fiber: Hydrolysis by digestive enzyme and its effect on gastrointestinal transit time in rats. Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition 11: 31-40.

Oliveira, R. P. S., and others. 2009. Effect of different prebiotics on the fermentation kinetics, probiotic survival and fatty acids profiles in nonfat symbiotic fermented milk. International Journal of Food Microbiology 128(3): 467-472.

Oneca, M., Ortigosa, M., Irigoyen, A., and Torre, P. 2007. Protyolytic activity of some *Lactobacillus paracasei* strains in a model ovine-milk curd system: Determination of free amino acids by RP-HPLC. Food Chemistry 100(4): 1602-1610.

Ötles, S., Çagmdı, Ö., and Ahçiçek, E. 2003. Commentary: Probiotics and health. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention 4(4): 369-372.

Ouwehand, A. C., Kurvinen, T., and Rissanen, P. 2004. Use of probiotic *Bifidobacterium* in a dry food matrix, an in vivo study. International Journal of Food Microbiology 95(1): 103-106.

Parker, R. B. 1974. Probiotics, the other half of the antibiotic story. Animal Nutrition and Health 29(Demcember): 4-8.

Paseephol, T., and Sherkat, F. 2009. Probiotic stability of yoghurts containing Jerusalem artichoke inulins during refrigerated storage. Journal of Functional Foods 1(3): 311-318.

Payne-Botha, S., and Bigwood, E. J. 1959. Amino-acid content of raw and heat-sterilized cow's milk. British Journal of Nutrition 13(4): 385-389.

Perdigon, G., Alvarez, S., Rachid, M., Agüero, G., and Gobbato, N. 1995. Immune system stimulation by probiotics. Journal of Dairy Science 78(7): 1597-1606.

Pompei, A., Cordisco, L., Raimondi, S., Amaretti, A., Pagnoni, U. M., Matteuzzi, D., and Rossi, M. 2008. In vitro comparison of the prebiotic effects of two inulin-type fructans. Anaerobe 14(5): 280-286.

Prabha, T. N., and Bhagyalakshmi, N. 1998. Carbohydrate metabolism in ripening banana fruit. Phytochemistry 48(6): 915-919.

Rao, V. A. 2001. The prebiotic properties of oligofructose at low intake levels. Nutrition Research 21(6): 843-848.

Rao, M. V. M., and Dutta, S. M. 1977. Production of beta-galactosidase from *Streptococcus thermophilus* grown in whey. Applied and Environmental Microbiology 34(2): 185-188.

Rao, D. R., Reddy, A. V., Pulusani, S. R., and Cornwell, P. E. 1984. Biosynthesis and utilization of folic acid and vitamin B_{12} by lactic cultures in skim milk. Journal of Dairy Science 67(6): 1169-1174.

Resta, S. C. 2009. Effect of probiotics and commensals on intestinal epithelial physiology: Implications for nutrient handling. The Journal of Physiology 587(17): 4169-4174.

Riener, J., Noci, F., Cronin, D. A., Morgan, D. J., Lyng, J. G. 2010. A comparison of selected quality characteristics of yoghurts prepared from thermosonicated and conventionally heated milks. Food Chemistry 119(3): 1108-1113.

Rivera-Espinaza, Y., and Gallardo-Navarro, Y. 2010. Non-dairy probiotic products. Food Microbiology 27(1): 1-11.

Rivero-Urgell, M., and Santamaria-Orleans, A. 2001. Oligosaccharides: Application in infant food. Early Human Development 65(2): S43-S52.

Roberfroid, M. B. 1997. Health benefits of non-digestible oligosaccharides. In D. Kritchevsky; and C. Bonfield (eds.), Dietary Fiber in Health and Disease, pp. 211-219. New York: Plenum Press.

Roberfroid, M. B. 1999. Concepts in functional foods: The case of inulin and oligofructose. The Journal of Nutrition 129(7 Suppl): 1398S-1401S.

Roberfroid, M. B. 2006. Inulin-type fructans: Functional food ingredients. Trends in Food Science & Technology 17(1): 39-41.

Roberfroid, M. B. 2007. Inulin-type fructans: Functional food ingredients. The Journal of Nutrition 137(11 Suppl): 2493S-2502S.

Roberfroid, M. B., and Slavin, J. 2000. Nondigestible oligosaccharides. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 40(6): 461-480.

Robijn, G. W., Wienk, H. L. J., van den Berg, D. J. C., Haas, H., Kamerling, J. P., and Vliegenthart, J. F. G. 1996. Structural studies of the exopolysaccharide produced by *Lactobacillus paracasei* 34-1. Carbohydrate Research 285: 129-139.

Robinson, J. C. 1996. Bananas and Plantains. Wallingford: CAB International.

Robinson, R. K. 1993. Modern Dairy Technology Volume 2: Advances in Milk Products. 2nd ed. London: Elsevier Applied Science.

Roskoski Jr., R. 1996. Biochemistry. Philadelphia: W. B. Saunders.

Rybka, S., and Kailasapathy, K. 1995. The survival of culture bacteria in fresh and freeze-dried AB yoghurts. The Australian Journal of Dairy Technology 50(2): 51-57.

Saarela, J. S. 2000. Probiotics and infectious diarrhea. The American Journal of Gastroenterology 95(1 Suppl): S16-S18.

Saarela, M., Mogensen, G., Fondén, R., Mättö, J., and Mattila-Sandholm, T. 2000. Probiotic bacteria: Safety, functional and technological properties. Journal of Biotechnology 84(3): 197-215.

Sahan, N., Yasar, K., and Hayaloglu, A. A. 2008. Physical, chemical and flavor quality of non-fat yogurt as affected by a β-glucan hydrocolloidal composite during storage. Food Hydrocolloids 22(7): 1291-1297.

Sako, T., Matsumoto, K., and Tanaka, R. 1999. Recent progress on research and applications of non-digestible galacto-oligosaccharides. International Dairy Journal 9(1): 69-80.

Salminen, S., Ouwehand, A., Benno, Y., and Lee, Y. K. 1999. Probiotics: How should they be defined? Trends in Food Science & Techology 10(3): 107-110.

Salminen, S., Playne, M., and Lee, Y. K. 2004. Successful probiotic Lactobacilli: Human studies on probiotic efficacy. In C. Shortt; and J. O' Brien (eds.), Handbook of Functional Dairy Products, pp. 13-32. Boca Raton: CRC Press.

Sandoval-Castilla, O., Lobato-Calleros, C., Aguirre-Mandujano, E. and Vernon-Carter, E. J. 2004. Microstructure and texture of yogurt as influenced by fat replacers. International Dairy Journal 14(2): 151-159.

Schmidt, P H. 1992. Cultured milk products: Yoghurt, quark and fromage frais. In R. Early (ed.), The Technology of Dairy Products, pp. 67-87. Glasgow: Blackie Academic & Professional.

Scott, W. E., McKay, H. H., and Schaffer, P. S. 1949. The partial purification and properties of antibiotic substances from the banana (*Musa sapientum*). The Journal of Clinical Investigation 28(5): 899-902.

Shah, N. P. 2006. Probiotics and fermented milks. In R. C. Chandan; C. H. White; A. Kilara; and Y. H. Hui (eds.), Manufacturing Yoghurt and Fermented Milks, pp. 89-115. Oxford: Blackwell.

Shah, N. P. 2000. Probiotic bacteria: Selective enumeration and survival in dairy foods. Journal of Dairy Science 83(4): 894-907.

Shah, N. P. 2007. Functional cultures and health benefits. International Dairy Journal 17(11): 1262-1277.

Shah, N. P., Ali, J. F., and Ravula, R. R. 2000. Populations of *L. acidophilus*, *Bifidobacterium* spp., and *L. casei* in commercial fermented milk products. Bioscience and Microflora 19(1): 35-39.

Shah, N. P., Lankaputhra, W. E. V., Britz, M. L., and Kyle, W. S. A. 1995. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in commercial yoghurt during refrigerated storage. International Dairy Journal 5(5): 515-521.

Shah, N. P., and Ly, L. 1999. Bacteriocin produced by *S. thermophilus* against *Bifidobacterium* species. Bioscience Microflora 18(2): 125-131.

Shahani, K. M., and Chandan, R. C. 1979. Nutritional and healthful aspects of cultured and culture-containing dairy foods. Journal of Dairy Science 62(10): 1685-1694.

Shihata, A., and Shah, N. P. 2002. Influence of addition of proteolytic strains of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* to commercial ABT starter culture on texture of yoghurt, exopolysaccharide production and survival of bacteria. International Dairy Journal 12(9): 765-772.

Shin, H. S., Lee, J. H., Pestka, J. J., and Ustunol, Z. 2000a. Viability of bifidobacteria in commercial dairy products during refrigerated storage. Journal of Food Protection 63(3): 327-331.

Shin, H. S., Lee, H. J., Pestka, J. J., and Ustunol, Z. 2000b. Growth and viability of commercial *Bifidobacterium* spp. in skim milk containing oligosaccharides and inulin. Journal of Food Science 65(5): 884-887.

Shukla, F. C., Sharma, A., and Singh, B. 2003. Studies on the development of beverages using fruit juice/pulp, separated milk and reconstituted skim milk. International Journal of Dairy Technology 56(4): 243-426.

Smith, T. M., Kolars, J. C., Savaiano, D. A., and Levitt, M. D. 1985. Absorption of calcium from milk and yogurt. The American Journal of Clinical Nutrition 42(6): 1197-1200.

Sodini, I., Mattas, J., and Tong, P. S. 2006. Influence of pH and heat treatment of whey on the functional properties of whey protein concentrates in yoghurt. International Dairy Journal 16(12): 1464-1469.

Someya, S., Yoshiki, Y., and Okubo, K. 2002. Antioxidant compounds from bananas (*Musa cavendish*). Food Chemistry 79(3): 351-354.

Staff, M. C. 1998. Cultured milk and fresh cheeses. In R. Early (ed.), The Technology of Dairy Products, pp. 123-157. London: Blackie Academic & Professional.

Staffolo, M. D., Bertola, N., Martino, M., and Bevilacqua, Y. A. 2004. Influence of dietary fiber addition on sensory and rheological properties of yoghurt. International Dairy Journal 14(3): 263-268.

Stover, R. H., and Simmonds, N. W. 1987. Bananas. 3nd ed. Essex: Longman Scientific & Technical.

Šuškovic′, J., Kos, B., Beganovic′, J., Pavunc, A. L., Habjanič, K., and Matošic′, S. 2010. Antimicrobial activity-The most important property of probiotic and starter lactic acid bacteria. Food Technology and Biotechnology 48(3): 296-307.

Sveje, M. 2008. Gut health: The inside story. Food & Beverage Asia (June/July): 34-37.

Svensson, M., Waak, E., Svensson, U., and Rådström, P. 2005. Metabolically improved exopolysaccharide production by *Streptococcus thermophilus* and its influence on the rheological properties of fermented milk. Applied and Environmental Microbiology 71(10): 6398-6400.

Tabata, T., Yamasaki, Y., and Ogura, T. 2004. Comparison of chemical compositions of maitake (*Grifola frondosa* (Fr.) S. F. Gray) cultivated on logs and sawdust substrate. Food Science and Technology Research 10(1): 21-24.

Tamime, A. Y., and Robinson, R. K. 1985. Yoghurt Science and Technology. Oxford: Pergamon Press.

Tamime, A. Y., and Robinson, R. K. 1999. Yoghurt Science and Technology. 2nd ed. Cambridge: Woodhead.

Tamime, A. Y., Saarela, M., Sondergaaed, K., Mistry, V. V., and Shah, N. P. 2005. Production and maintaining viability of probiotics. In A. Y. Tamime (ed.), Probiotic Dairy Products, pp. 39-72. Oxford: Blackwell.

Tarakçi, Z., and Küçüköner, E. 2003. Physical, chemical, microbiological and sensory characteristics of some fruit-flavored yoghurt. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi 14(2): 10-14.

Teitelbaum, J. E. and Walker, W. A. 2002. Nutritional impact of pre- and probiotics as protective gastrointestinal organisms. Annual Review of Nutrition 22(July): 107-138.

The American Dietetic Association. 1998. Position of the American dietetic association: Fat replacer. Journal of the American Dietetic Association 98(4): 463-468.

Thomas, T. D. and Crow, L. V. 1984. Selection of galactose-fermenting *Streptococcus thermophilus* in lactose-limited chemostat cultures. Applied and Environmental Microbiology 48(1): 186-191.

Thompson, A. K. 1995. Banana processing. In S. Gowen (ed.), Bananas and Plantains, pp. 481-494. London: Chapman & Hall.

Tobin, A. J., and Dusheck, J. 2005. Biological molecules great and small. In Asking about Life, 3rd ed. pp. 40-63. Belmont: Thomson Learning.

Turner, K. W., and Martley, F. G. 1983. Galactose fermentation and classification thermophilic lactobacilli. Applied and Environmental Microbiology 45(6): 1932-1934.

Ünal, B., Metin, S., and Işıkli, N. D. 2003. Use of response surface methodology to describe the combined effect of storage time, locust bean gum and dry matter of milk on the physical properties of low-fat set yoghurt. International Dairy Journal 13(11): 909-916.

U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service (USDA). 2010. Composition of foods: Raws, processed, prepared. USDA National Nutrient Database for Standard Reference, Release, 23[online]. Available from: http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list_nut_rdit.pl[2010, October 9]

Valmayor, R.V., and others. 2000. Banana Cultivar Names and Synonymes in Southeast Asia. Los Baños, Laguna: International Network for the Improvement of Banana and Plantain-Asia and the Pacific Office.

Vanderhoof, J. A., and Rosemary, J. Y. 2002. Probiotics in pediatrics. Pediatrics 109(5): 956-958.

Van der Meulen, R., Avonts, L., and De Vuyst, L. 2004. Short fractions of oligofructose are preferentially metabolized by *Bifidobacterium animalis* DN-173 010. Applied and Environmental Microbiology 70(4): 1923-1930.

Vandevoorde, L., Woestyne, V., Bruyneel, B., Christiaens, H., and Verstraete, W. 1993. Critical factors governing the competitive behavior of lactic acid bacteria in mixed cultures. In B. J. B. Wood (ed.), The Lactic Acid Bacteria Volume 1: The Lactic Acid Bacteria in Health & Disease, pp. 447-475. London: Elsevier Applied Science.

Vedamuthu, E. R. 2006. Starter cultures for yogurt and fermented milks. In R. C. Chandan; C. H. White; A. Kilara; and Y. H. Hui (eds.), Manufacturing Yoghurt and Fermented Milks, pp. 89-115. Oxford: Blackwell.

Vernazza, C. L., Rabiu, B. A., and Gibson, G. R. 2006. Human colonic microbiology and role of dietary intervention: Introduction to prebiotics. In G.R. Gibson; and R. A. Rastall (eds.), Prebiotics: Development and Application, pp. 1-28. Chichester: John Wiley & Sons.

Vettorazzi, G. 1974. 5-Hydroxytryptamine content of bananas and banana products. Food and Cosmetics Toxicology 12(1): 107-113.

Villegas, B., and Costell, E. 2007. Flow behavior of inulin-milk beverages. Influence of inulin average chain length and of milk fat content. International Dairy Journal 17(7): 776-781.

Villegas, B., Tárrega, A., Carbonell, I. and Costell, E. 2010. Optimising acceptability of new prebiotic low-fat milk beverages. Food Quality and Preference 21(2): 234-242.

Viscione, L. 2007. Water for health-Adding prebiotic dietary fiber to water drinks. Drink Technology & Marketing (June): 10-11.

Voragen, A. G. J. 1998. Technological aspects of functional food-related carbohydrates. Trends in Food Science & Technology 9(8-9): 328-335.

Walker, W. A., and Duffy, L. C. 1998. Diet and bacterial colonization: Role of probiotics and prebiotics. Journal of Nutrition Biochemistry 9(12): 668-675.

Wall, M. M. 2006. Ascorbic acid, vitamin A, and mineral composition of banana (*Musa* sp.) and papaya (*Carica papaya*) cultivars grown in Hawaii. Journal of Food Composition and Analysis 19(5): 434-445.

Wang, X., and Gibson, G. R. 1993. Effects of the *in vitro* fermentation of oligofructose and inulin by bacteria growing in the human large intestinal. Journal of Applied Microbiology 75(4): 373-380.

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

Wong, J. 2007. The pursuit of happiness (a.k.a. it appears that the writer wrote about bananas after eating a few too many). The Science Creative Quarterly [online]. Available from: http://www.scq.ubc.ca/the-pursuit-of-happiness-aka-it-appears-that-the-writer-wrote-about-bananas-after-eating-a-few-too-many/[2011, February 26]

Wood, B. J. B., ed. 1992. The Lactic Acid Bacteria Volume 1: The Lactic acid Bacteria in Health & Disease. London: Elsevier Applied Science.

Ziemer, C. J., and Gibson, G. R. 1998. An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: Perspectives and future strategies. International Dairy Journal 8(5-6): 473-479.

Zubillaga, M., Weill, R., Postaire, E., Goldman, C., Caro, R., and Boccio, J. 2001. Effect of probiotics and functional foods and their use in different diseases. Nutrition Research 21(3): 569-579.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์สมบัติทางเคมี

ก. 1 การหาปริมาณกรดทั้งหมด โดยวิธีการไตเตรต (Titration method) (AOAC, 2005)

<u>เครื่องมือและอุปกรณ์</u>

- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)
- บิวเรต (burette)

<u>สารเคมี</u>

- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล
- ฟีนอล์ฟทาลีน
- เอทานอล

<u>วิธีวิเคราะห์</u>

1. ชั่งตัวอย่าง 3 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำกลั่นปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ (นำน้ำกลั่นมาต้มให้เดือด แล้วทิ้งไว้ให้เย็นในภาชนะปิดสนิท)
3. หยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 2 หยด เป็นอินดิเคเตอร์ (สารละลายฟีนอล์ฟทาลีนเตรียมได้จากการละลายฟีนอล์ฟทาลีน 0.5 กรัม ในเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร)
4. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงในบิวเรต (สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เตรียมได้จากการชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร และหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายมาตรฐานก่อนนำไปใช้ ดังแสดงในภาคผนวก ก.1.1) บันทึกปริมาตรเริ่มต้น
5. ค่อยๆ หยดสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์จากบิวเรตลงไปในขวดรูปชมพู่พร้อมทั้งแกว่งตลอดเวลา จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน
6. บันทึกปริมาตรสุดท้ายของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้

7. นำปริมาตรสุดท้ายหักออกจากปริมาตรเริ่มต้นซึ่งจะได้ปริมาตรที่ใช้ไป

8. ทำซ้ำข้อ 1-6 อีก 2 ครั้ง ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ต้องไม่ต่างกันเกิน 0.1 มิลลิลิตร (ถ้าใช้น้ำหนักตัวอย่างเท่ากัน)

9. นำปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้มาหาค่าเฉลี่ย

10. คำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมดดังสูตร

$$\text{ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละ)} = \frac{N \times V \times F \times 100}{1000 \times W}$$

เมื่อ N คือ ความเข้มข้นมาตรฐานของสารละลายโซเดียมโฮดรอกไซด์ (นอร์มอล)

V คือ ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรต (มิลลิลิตร)

F คือ ค่า factor เพื่อการคำนวณสำหรับกล้วยคิดเป็นร้อยละของกรดมาลิก ซึ่งค่าที่ใช้คือ 67 สำหรับโยเกิร์ตคิดในรูปของกรดแลคติก ซึ่งค่าที่ใช้ คือ 90

W คือ น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

ก. 1.1 การหาความเข้มข้นที่แน่นอนของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (AOAC, 2005)

<u>เครื่องมือและอุปกรณ์</u>

- ตู้อบลมร้อน
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- ขวดรูปชมพู่
- บิวเรต
- ปิเปต (pipette)

<u>สารเคมี</u>

- โพแทสเซียม แอซิด พาทาเลต
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์
- สารละลายฟีนอล์ฟทาลีน

<u>วิธีวิเคราะห์</u>

1. อบโพแทสเซียม แอซิด พาทาเลตในขวดชั่ง ประมาณ 5 กรัม ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง

2. ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น

3. ชั่งโพแทสเซียม แอซิด พาทาเลตประมาณ 0.4 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร บันทึกน้ำหนักที่ชั่งได้

4. เติมน้ำกลั่นประมาณ 50 มิลลิลิตร แกว่งขวดจนกระทั่งของแข็งละลายหมด

5. หยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 3 หยด เป็นอินดิเคเตอร์

6. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงในบิวเรต บันทึกปริมาตรเริ่มต้น

7. ค่อยๆ หยดสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์จากบิวเรตลงไปในขวดรูปชมพู่พร้อมทั้งแกว่งตลอดเวลา จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน

8. บันทึกปริมาตรสุดท้ายของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้

9. นำปริมาตรสุดท้ายหักออกจากปริมาตรเริ่มต้นซึ่งจะได้ปริมาตรที่ใช้ไปในการไตเตรต

10. ทำซ้ำข้อ 1-6 อีก 2 ครั้ง ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ต้องต่างกันไม่เกิน 0.1 มิลลิลิตร

11. ทำตัวอย่างควบคุม (blank) เปรียบเทียบโดยใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายโพแทสเซียม แอซิด พาทาเลต

12. นำปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้มาหาค่าเฉลี่ย

13. คำนวณหาความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ดังแสดงในสูตร

$$\text{ความเข้มข้นมาตรฐาน (นอร์มอล)} = \frac{W \times 1000}{V \times 204.229}$$

เมื่อ W คือ น้ำหนักโพแทสเซียม แอซิด พาทาเลต (กรัม)

V คือ ปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไตเตรต (มิลลิลิตร)

ก. 2 การหาค่า pH (AOAC, 2005)

<u>เครื่องมือและอุปกรณ์</u>

- เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง

<u>วิธีวิเคราะห์</u>

1. calibrate เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยสารละลายมาตรฐานที่มี pH เท่ากับ 7 และ 4
2. กวนผสมตัวอย่างให้เข้ากันดีก่อนวัด
3. ใช้ probe ของเครื่องพีเอชมิเตอร์จุ่มลงในตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง อ่านค่า pH และจดบันทึก

ก. 3 การหาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (AOAC, 2005)

<u>เครื่องมือและอุปกรณ์</u>

- รีแฟรกโตมิเตอร์

<u>วิธีวิเคราะห์</u>

1. หมุนปรับค่ามุมตกกระทบของลำแสงบนปริซึมให้อ่านน้ำกลั่นได้ 0.0 ที่อุณหภูมิห้อง
2. หยดตัวอย่างที่มีอุณหภูมิห้องลงบนปริซึมและปิดฝาครอบ
3. อ่านค่าตัวเลขที่ตรงกับตำแหน่งที่มีความสว่างแตกต่างกัน หน่วยเป็นองศาบริกซ์

ก. 4 การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นและปริมาณของแข็งทั้งหมด (AOAC, 2005)

<u>เครื่องมือและอุปกรณ์</u>

- ตู้อบลมร้อน
- อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ
- ถ้วยอลูมิเนียมพร้อมฝา
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- โถดูดความชื้น

<u>วิธีวิเคราะห์</u>

1. อบถ้วยอลูมิเนียมพร้อมฝาในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 100-105 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง แล้วทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักไว้

2. ชั่งตัวอย่างที่ทราบน้ำหนักแน่นอน 2-5 กรัม ใส่ในถ้วยอลูมิเนียมที่ทราบน้ำหนักแน่นอน นำไประเหยให้แห้งด้วยอ่างควบคุมอุณหภูมิ แล้วอบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 100-105 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง หรือจนกว่าน้ำหนักจะคงที่ และทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้นนาน 30 นาที

3. ชั่งน้ำหนักถ้วยอลูมิเนียมพร้อมตัวอย่าง แล้วลบด้วยน้ำหนักถ้วยเปล่า จะได้น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ

4. คำนวณปริมาณความชื้นและปริมาณของแข็งทั้งหมดโดยใช้สูตร

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{(A - B) \times 100}{A}$$

เมื่อ A คือ น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

B คือ น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

$$\text{ปริมาณของแข็ง (ร้อยละ)} = 100 - \text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)}$$

ก. 5 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนทริปโตเฟน (Tabata และคณะ, 2004; Nakamura, และคณะ, 2007)

<u>เครื่องมือและอุปกรณ์</u> (ดำเนินการทดลองโดยศูนย์ทดสอบและมาตรวิทยา สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย)

- HPLC ประกอบด้วย คอลัมน์ เครื่องตรวจวัดชนิดฟลูออเรสเซนส์ และระบบควบคุม
- หลอดใส่ตัวอย่าง
- เครื่องดูดจ่ายสารละลายปริมาณต่ำ
- microfilter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร

<u>สารเคมี</u>

- สารละลายมาตรฐานกรดอะมิโนทริปโตเฟน
- สารละลายโซเดียมซิเตรท ความเข้มข้น 0.6 นอร์มอล
- สารละลายกรดบอริก ความเข้มข้น 25 มิลลิโมลาร์
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 4.2 นอร์มอล
- สารละลายกรดไฮดรอคลอริกที่มี pH 4.25

<u>วิธีวิเคราะห์</u>

1. ผสมตัวอย่าง (กล้วย หรือโยเกิร์ตใส่ puée กล้วย) หนัก 1 กรัม ลงในหลอดใส่ตัวอย่าง
2. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 4.2 นอร์มอล ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ลงในตัวอย่าง ดูดอากาศออกแล้วปิดปากหลอดภายใต้ความดันต่ำ
3. ให้ความร้อน 110 องศาเซลเซียส นาน 19 ชั่วโมง
4. ทำตัวอย่างให้เป็นกลางโดยใช้สารละลายกรดไฮดรอคลอริก ที่มี pH 4.25 เสร็จแล้วทำให้เย็น
5. ใช้น้ำกลั่นปรับปริมาตรสารตัวอย่างให้เป็น 10 มิลลิลิตร และกรองสารละลายโดยใช้ microfilter ขนาด 0.45 ไมโครเมตร ก่อนฉีดเข้าคอลัมน์
6. เตรียม calibration curve โดยใช้ standard tryptophan ที่ระดับความเข้มข้น 4 ระดับ ได้แก่ 0.5, 1.0, 1.5 และ 2 ppm

7. เครื่องมือและสภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์มีต่อไปนี้

HPLC	รุ่น LC-6A, Shimadzu, Japan
คอลัมน์	ชนิด Shim-pack ISC-07/S 1504 (sodium type)
ขนาดคอลัมน์	4.0 x 1.5 มิลลิเมตร
เครื่องตรวจวัด	ชนิดฟลูออเรสเซนส์ รุ่น FLD-6A, Ex 348 nm, Em 450 nm
ระบบควบคุม	รุ่น SCL-6A
วัฏภาคเคลื่อนที่	สารละลายโซเดียมซิเตรท 0.6 นอร์มอล และ สารละลายกรดบอริก 25 มิลลิโมลาร์ (pH 9)
อัตราการไหล	0.4 มิลลิลิตรต่อนาที
อุณหภูมิคอลัมน์	55 องศาเซลเซียส
ปริมาณการฉีด	20 ไมโครลิตร

8. ฉีดสารละลายมาตรฐานกรดอะมิโนทริปโตเฟน เข้า HPLC system และบันทึก chromatogram และพื้นที่ใต้กราฟ (peak area) ของสารละลายมาตรฐานกระอะมิโนทริปโตเฟน

9. ฉีดสารละลายตัวอย่างเข้า HPLC system และบันทึก chromatogram และพื้นที่ใต้กราฟของสารละลายตัวอย่าง

10. คำนวณปริมาณกรดอะมิโนทริปโตเฟนจากพื้นที่ใต้กราฟของสารละลายตัวอย่างเทียบกับพื้นที่ใต้กราฟของสารละลายมาตรฐานกรดอะมิโนทริปโตเฟน หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อ 100 กรัม

ก. 6 การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน ตามวิธี (AOAC, 2005)

<u>เครื่องมือและอุปกรณ์</u>

- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- ชุดสกัดไขมัน (Soxhlet apparatus)
- หลอดสกัดไขมัน (extraction tube)
- อุปกรณ์ให้ความร้อน
- เครื่องระเหยสุญญากาศ
- ตู้อบลมร้อน
- thimble
- โถดูดความชื้น

<u>สารเคมี</u>

- ปิโตรเลียมอีเทอร์ จุดเดือด 40-60 องศาเซลเซียส

<u>วิธีวิเคราะห์</u>

1. ชั่งตัวอย่างน้ำหนักแห้งแน่นอนประมาณ 5 กรัม ห่อด้วยกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 และนำไปใส่ thimbleในหลอดสกัดไขมันที่แห้งสนิทของเครื่องสกัดไขมัน

2. เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ 250 มิลลิลิตร (เพื่อใช้เป็นตัวทำละลายไขมัน) ลงในขวดก้นกลมที่อบแห้งและทราบน้ำหนักที่แน่นอน

3. ตั้งขวดก้นกลมบนอุปกรณ์ให้ความร้อนให้ตัวทำละลายเดือดเป็นไอและไหลย้อนกลับ (reflux) ลงในขวด โดยมีอัตราการควบแน่น 5 นาที ต่อ 1 รอบ นาน 3-4 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นก่อนนำขวดก้นกลมออก

4. ระเหยปิโตรเลียมอีเทอร์ออกจากส่วนไขมันที่สกัดได้ด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ แล้วอบขวดสกัดที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หรือจนกว่าน้ำหนักจะคงที่

5. ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักไขมันที่สกัดได้ แล้วคำนวณหาปริมาณไขมันตามสูตร

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)} = \frac{\text{ปริมาณไขมันที่สกัดได้ (กรัม)} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}}$$

ก. 7 การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนจากปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (AOAC, 2005)

<u>เครื่องมือและอุปกรณ์</u>

- ชุดย่อยโปรตีน
- ชุดกลั่นโปรตีน
- เครื่องกักจับก๊าซ
- เครื่องทำความเย็น
- ขวดย่อยโปรตีน
- อุปกรณ์ให้ความร้อน
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

<u>สารเคมี</u>

- กรดซัลฟูริกเข้มข้น
- สารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล
- สารละลายกรดบอริก ความเข้มข้นร้อยละ 4
- ซิลิเนียม รีเอเจนต์ มิกซ์เจอร์
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 35
- สารละลายอินดิเคเตอร์ เตรียมโดยผสมสารละลายเมทิลีน บลู ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 ในเอทานอล (ความเข้มข้นร้อยละ 95) แล้วกรอง ปริมาตร 25 มิลลิลิตร กับสารละลายเมทิล เรด ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 ในเอทานอล (ความเข้มข้นร้อยละ 95) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

วิธีวิเคราะห์

1. ชั่งตัวอย่างแห้งที่ทราบน้ำหนักแน่นอน 1-2 กรัม ลงในหลอดย่อยโปรตีน

2. เติมซิลิเนียม รีเอเจนต์ มิกซ์เจอร์ ซึ่งใช้เป็นสารเร่งปฏิกิริยา 5 กรัม และกรดซัลฟูริกเข้มข้น ปริมาตร20 มิลลิลิตร

3. ย่อยตัวอย่างด้วยชุดย่อยโปรตีน โดยใช้ความร้อนที่ระดับ 9 และปิดฝาด้านบนที่ต่อเข้ากับเครื่องฟอกก๊าซ ย่อยตัวอย่างจนส่วนผสมในหลอดย่อยกลายเป็นสีเขียวใส และทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

4. นำมากลั่นโดยเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 35 และรองรับสารที่กลั่นด้วยสารละลายกรดบอริก ความเข้มข้นร้อยละ 4 หยดอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด ในระหว่างการกลั่นจะเกิดก๊าซแอมโมเนียขึ้น และจะถูกจับไว้ด้วยสารละลายกรดบอริก ซึ่งจะได้สารละลายสีเขียว

5. ล้างส่วนปลายของหลอดควบแน่น (condenser) ด้วยน้ำกลั่นใส่ลงในขวดที่รองรับ condensate

6. นำ condensate ในขวดทั้งหมดมาไตเตรตด้วยสารละลายกรดไฮดรอคลอริกมาตรฐานความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล จนถึงจุดยุติ (end point) เป็นสีม่วงแดง

7. ทำตัวอย่างควบคุม(blank) โดยไม่ใส่ตัวอย่าง (เตรียมเหมือนข้อ 2) และวิเคราะห์ผลเช่นเดียวกับตัวอย่าง

8. คำนวณหาปริมาณโปรตีนดังนี้

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)} = \frac{(Va - Vb) \times C \times 1.4 \times CF}{W}$$

เมื่อ Va คือ ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

Vb คือ ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรตตัวอย่างควบคุม (มิลลิลิตร)

C คือ ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรต (นอร์มอล)

CF คือ conversion factor สำหรับเปลี่ยนไนโตรเจนให้เป็นโปรตีน (งานวิจัยนี้ใช้ 6.25)

W คือ น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

ก. 8 การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า (AOAC, 2005)

<u>เครื่องมือและอุปกรณ์</u>

- เตาเผา
- ตู้ดูดควัน
- เตาให้ความร้อน
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- crucible
- โถดูดความชื้น

<u>วิธีวิเคราะห์</u>

1. ชั่งตัวอย่างแห้งน้ำหนักแน่นอน 3-5 กรัม ใส่ใน crucible ที่เผา และทราบน้ำหนักที่แน่นอน
2. เผาตัวอย่างโดยใช้เตาให้ความร้อนในตู้ดูดควัน จนกระทั่งตัวอย่างหมดควัน
3. เผาตัวอย่างต่อในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550±5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งได้เถ้าสีขาว
4. ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 1 ชั่วโมง
5. ชั่งน้ำหนักเถ้าที่ได้และคำนวณหาปริมาณเถ้า ตามสูตร

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)} = \frac{(A - B) \times 100}{W}$$

เมื่อ A คือ น้ำหนักตัวอย่างแห้งก่อนเผา (กรัม)

B คือ น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา (กรัม)

W คือ น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

ก. 9 การวิเคราะห์หาปริมาณเส้นใยอาหาร (AOAC, 2005)

<u>เครื่องมือและอุปกรณ์</u>

- ตู้อบลมร้อน
- เตาเผา
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- เครื่องสูบอากาศ
- Buchner funnel
- crucible
- กระจกนาฬิกา
- โถดูดความชื้น

<u>สารเคมี</u>

- สารละลายกรดซัลฟูริก ความเข้มข้นร้อยละ 1.25
- สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 1.25
- เอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 95

<u>วิธีวิเคราะห์</u>

1. นำตัวอย่างที่สกัดไขมันแล้วทั้งหมดและเป็นตัวอย่างแห้งใส่ในบีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร

2. เติมสารละลายกรดซัลฟูริก ความเข้มข้นร้อยละ 1.25 ปริมาตร 200 มิลลิลิตรลงในบีกเกอร์ ต้มเดือดนาน 30 นาที โดยต้มให้เดือดภายใน 1 นาที ขณะต้มควรปิดปากบีกเกอร์ด้วยกระจกนาฬิกา รักษาปริมาตรของสารละลายไม่ให้ลดลงโดยใช้น้ำร้อน

3. กรองตัวอย่างที่ย่อยแล้วด้วยกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 วางลงบน Buchner funnel ที่ต่อเข้ากับเครื่องสูบอากาศ ล้างกากด้วยน้ำร้อนจนหมดฤทธิ์กรด

4. ย่อยกากด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 1.25 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ต้มเดือดนาน 30 นาที โดยควบคุมปริมาตรของสารละลายเช่นเดียวกับ ข้อ 2

5. กรองตัวอย่างที่ถูกย่อยแล้วด้วย Buchner funnel ที่วางรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ล้างกากด้วยน้ำร้อนจนหมดฤทธิ์ด่าง

6. กรองตัวอย่างที่ล้างแล้วผ่านกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 42 ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน

7. ล้างกากที่ได้ด้วยเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 95 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร 2 ครั้ง

8. นำกากที่เหลือติดอยู่บนกระดาษกรองไปวางบนกระจกนาฬิกา นำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100-105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่

9. ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักจะได้น้ำหนักตัวอย่างก่อนเผา

10. นำตัวอย่างใส่ใน crucible ที่ผ่านการเผาและทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว

11. เผาตัวอย่างบนเตาให้ความร้อนจนหมดควัน ก่อนนำเข้าเตาเผาที่ 550±5 องศาเซลเซียส จนได้เป็นเถ้าสีขาว

12. ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 1 ชั่วโมง และชั่งน้ำหนัก จะได้น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา นำมาคำนวณหาปริมาณเส้นใยอาหาร ดังสูตร

$$\text{ปริมาณเส้นใยอาหาร (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง} = \frac{(A - B) \times 100}{W}$$

เมื่อ A คือ น้ำหนักตัวอย่างก่อนเผา (กรัม)

B คือ น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา (กรัม)

ก. 10 การวิเคราะห์หาปริมาณคาร์โบไฮเดรต โดย Difference method (AOAC, 2005)

หาปริมาณคาร์โบไฮเดรตในรูปผลต่างจากร้อยละ 100 ดังนี้

ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง) = 100 – ร้อยละ (ความชื้น+โปรตีน+ไขมัน+เถ้า)

ภาคผนวก ข

การตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์

ข. 1 วิธีการทำกราฟมาตรฐานของจำนวนแบคทีเรีย

เครื่องมือและอุปกรณ์

- ตู้เขี่ยเชื้อ
- ตู้บ่มเชื้อ
- เครื่องวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสง
- ภาชนะบ่มเชื้อจุลินทรีย์ชนิดไม่ต้องการอากาศ
- เครื่องดูดจ่ายสารละลายปริมาณต่ำ
- เครื่องผสมของเหลวแบบเขย่า

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

- อาหารแข็ง MRS
- อาหารเหลว MRS
- น้ำเกลือ ความเข้มข้นร้อยละ 0.85

วิธีการสร้างกราฟมาตรฐาน

1. นำจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ใช้ในการทดลอง (3.6.3.1) มา streak ลงบนอาหาร MRS แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในภาชนะบ่มจุลินทรีย์ชนิดไม่ต้องการอากาศ นาน 72 ชั่วโมง

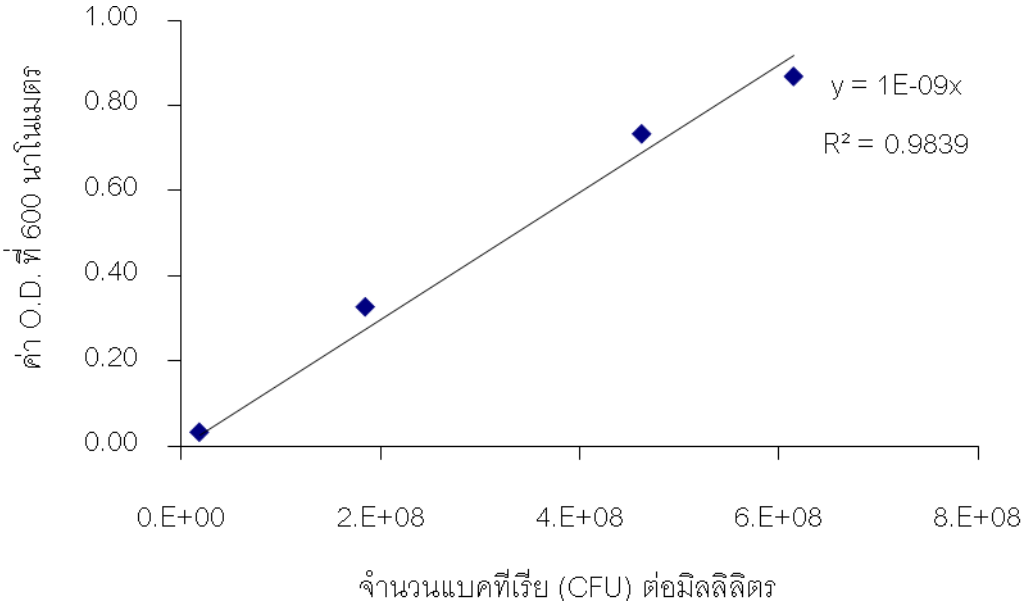
2. ใช้ลูปเขี่ยโคโลนีเดี่ยวส่วนบน 1 โคโลนี มาเพาะเลี้ยงในหลอดอาหารเหลว MRS 100 มิลลิลิตร ที่บรรจุอยู่ในขวดรูปชมพู่ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในภาชนะบ่มจุลินทรีย์ชนิดไม่ต้องการอากาศ เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง

3. เจือจางคัลเจอร์ด้วยอาหารเหลวที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงด้วยอัตราส่วนต่างๆ ใส่ลงในหลอดทดลอง ได้แก่ 1:1, 1.5:1, 2:1 และ 3:1 เพื่อให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงที่มีเหมาะสมอย่างน้อย 3 ค่า สำหรับการพลอต (plot) กราฟ

4. วัดค่าการดูดกลืนแสง (O.D.) ของคัลเจอร์แต่ละอาหารเจือจางด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวช่วงคลื่น 600 นาโนเมตร โดยใช้อาหารเหลว MRS เป็นสารไร้ตัวอย่าง (blank)

5. ตรวจสอบจำนวนเซลล์ในคัลเจอร์แต่ละความเจือจางด้วยวิธีการ spread plate บนอาหารแข็ง MRS ที่บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในภาชนะบ่มเชื้อจุลินทรีย์ชนิดไม่ต้องการอากาศ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

6. สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่า O.D. ที่ความยาวช่วงคลื่น 600 นาโนเมตร และจำนวนโคโลนีที่นับได้ ทดลอง 2 ซ้ำ ดังแสดงในภาพที่ ข.1



ภาพที่ ข. 1 กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนแบคทีเรียกับค่า O.D. ที่ความยาวช่วงคลื่น 600 นาโนเมตร

ข. 2 วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ข. 2.1 M9 minimal medium (Atlas, 2004)

<u>ส่วนประกอบ</u> ต่อลิตร

Na_2HPO_4	6.0	กรัม
KH_2PO_4	3.0	กรัม
NH_4Cl	1.0	กรัม
NaCl	0.5	กรัม
สารละลาย glucose	10.0	มิลลิลิตร
$MgSO_4.7H_2O$	1.0	มิลลิลิตร
สารละลาย Thiamine.HCl	1.0	มิลลิลิตร
สารละลาย $CaCl_2$	1.0	มิลลิลิตร
	pH 7.0±0.2 ที่ 25 องศาเซลเซียส	

เตรียมสารละลายกลูโคส ร้อยละ 20 โดยเติมกลูโคส 20.0 กรัม ลงไปในน้ำกลั่น แล้วทำปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันดี ให้ความร้อนในหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

เตรียมสารละลาย $MgSO_4.7H_2O$ โดยเติม $MgSO_4.7H_2O$ ลงไปในน้ำกลั่น แล้วทำปริมาตรให้ครบ 1000 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันดี ให้ความร้อนในหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

เตรียมสารละลาย thiamine.HCl โดยเติมสารละลาย Thiamine.HCl ลงไปในน้ำกลั่น แล้วทำปริมาตรให้ครบ 1000 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันดี กรองด้วย sterile membrane filters Whatman® 0.45 ไมโครเมตร

เตรียมสารละลาย $CaCl_2$ โดยเติม $CaCl_2$ ลงไปในน้ำกลั่น ทำปริมาตรให้ครบ 1000 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันดี ให้ความร้อนในหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

วิธีการเตรียม M9 minimal medium

เติมส่วนประกอบทั้งหมด (ยกเว้นสารละลาย $MgSO_4.7H_2O$, glucose, thiamine.HCl และ $CaCl_2$) ลงไปในน้ำกลั่น และปรับปริมาตรให้เป็น 987 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันดี ปรับ pH 7.0 ให้ความร้อนในหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที ทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เติมสารละลาย $MgSO_4.7H_2O$, glucose, thiamine.HCl และ $CaCl_2$ ที่ปลอดเชื้อ ผสมให้เข้ากันดี

ข. 2.2 อาหารแข็ง M17

ส่วนประกอบ

- อาหารแข็ง M17
- สารละลายแลคโตส

วิธีการเตรียม

เตรียมสารละลายแลคโตส ร้อยละ 10 โดยเติมแลคโตส 10.0 กรัม ลงไปในน้ำกลั่น แล้วทำปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันดี ให้ความร้อนในหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

ชั่ง M17 agar 48.25 กรัม ลงในน้ำกลั่น 950 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันโดยให้ความร้อนจนเดือดนาน 1 นาที จนอาหารละลายหมด นำเข้าหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที ทำให้เย็นที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เติมสารละลายแลคโตสที่ปลอดเชื้อ 50 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันดี เทลงในจานเพาะเชื้อที่ปลอดเชื้อ

ข. 3 การตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติก (Dave และ Shah, 1996; Huebner และคณะ, 2007)

<u>เครื่องมือและอุปกรณ์</u>

- ตู้เขี่ยเชื้อ
- ตู้บ่มเชื้อ
- ภาชนะบ่มเชื้อจุลินทรีย์ชนิดไม่ต้องการอากาศ
- เครื่องดูดจ่ายสารละลายปริมาณต่ำ
- เครื่องผสมของเหลวแบบเขย่า

<u>อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี</u>

- อาหารแข็ง MRS
- น้ำเกลือ ความเข้มข้นร้อยละ 0.85

<u>วิธีการ</u>

1. ปิเปตอาหาร MRS ที่เติมสารอาหารต่าง ๆ เพื่อใช้เป็นพรีไบโอติกในงานวิจัยที่บ่มไว้ที่ 0 และ 24 ชั่วโมง จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงในน้ำเกลือ ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมของเหลวแบบเขย่า

2. ทำตัวอย่างอาหารให้เจือจางด้วยน้ำเกลือ ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-2}, 10^{-3} และ 10^{-4} สำหรับอาหาร MRS ที่บ่มไว้ 0 ชั่วโมง และที่ระดับความเข้มข้น 10^{-5}, 10^{-6} และ 10^{-7} สำหรับอาหาร MRS ที่บ่มไว้ 24 ชั่วโมง ในหลอดทดลองด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ

3. ปิเปตตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (ข้อ 2) จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงบนผิวหน้าอาหารแข็ง MRS แล้วเกลี่ยด้วยแท่งแก้วสามเหลี่ยม (spread plate) ทำซ้ำ 2 ครั้ง จากนั้นคว่ำจานเพาะเชื้อ และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในภาชนะบ่มเชื้อจุลินทรีย์ชนิดไม่ต้องการอากาศสำหรับ *L. acidophilus* และ *Bifidobacterium* sp. และที่บรรยากาศปกติสำหรับ *L. paracasei* เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

4. ตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติกในจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนโคโลนี 30-300 โคโลนี หาค่าเฉลี่ย แล้วคำนวณเป็นจำนวนโคโลนีต่อมิลลิลิตรสำหรับตัวอย่างอาหารเหลว หรือโคโลนีต่อกรัมตัวอย่างสำหรับตัวอย่างอาหารแข็ง

ข. 4 การตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ *Escherichia coli* TISTR 780 (Huebner **และคณะ**, 2007)

<u>เครื่องมือและอุปกรณ์</u>

- ตู้เขี่ยเชื้อ
- ตู้บ่มเชื้อ
- ภาชนะบ่มเชื้อจุลินทรีย์ชนิดไม่ต้องการอากาศ
- เครื่องดูดจ่ายสารละลายปริมาณต่ำ
- เครื่องผสมของเหลวแบบเขย่า

<u>อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี</u>

- TSA
- น้ำเกลือ ความเข้มข้นร้อยละ 0.85

<u>วิธีการ</u>

1. ปิเปตอาหาร M9 ที่เติมพรีไบโอติกทางการค้าและ purée กล้วยชนิดต่างๆ ที่บ่มไว้ที่ 0 และ 24 ชั่วโมง จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงในน้ำเกลือ ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมของเหลวแบบเขย่า

2. ทำตัวอย่างอาหารให้เจือจางด้วยน้ำเกลือ ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-2}, 10^{-3} และ 10^{-4} สำหรับอาหาร M9 ที่บ่มไว้ 0 ชั่วโมง และที่ระดับความเข้มข้น 10^{-5}, 10^{-6} และ 10^{-7} สำหรับอาหาร M9 ที่บ่มไว้ 24 ชั่วโมง ในหลอดทดลองด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ

3. ปิเปตตัวอย่างที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงบนผิวหน้าอาหารแข็ง TSA แล้วเกลี่ยด้วยแท่งแก้วสามเหลี่ยม ทำซ้ำ 2 ครั้ง จากนั้นคว่ำจานเพาะเชื้อ และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในบรรยากาศปกติ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4. ตรวจนับจำนวน *E. coli* TISTR 780 ในจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนโคโลนี 30-300 โคโลนี หาค่าเฉลี่ย แล้วคำนวณเป็นจำนวนโคโลนีต่อมิลลิลิตร

ข. 5 การประเมินค่า prebiotic activity score (Huebner **และคณะ**, 2007)

<u>วิธีการคำนวณ</u>

นำจำนวนโคโลนีของแบคทีเรียที่เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะต่างๆ มาคำนวณค่า prebiotic activity scores ดังสมการต่อไปนี้

Prebiotic activity scores = [(A-B) / (C-D)] - [(E-F) / (G-H)]

โดย A = จำนวนโพรไบโอติกในอาหาร MRS ที่เติมสารอาหารต่างๆ ที่บ่ม 24 ชั่วโมง

B = จำนวนโพรไบโอติกในอาหาร MRS ที่เติมสารอาหารต่างๆ ที่บ่ม 0 ชั่วโมง

C = จำนวนโพรไบโอติกในอาหาร MRS ที่เติมกลูโคสที่บ่ม 24 ชั่วโมง

D = จำนวนโพรไบโอติกในอาหาร MRS ที่เติมกลูโคสที่บ่ม 0 ชั่วโมง

E = จำนวน *E. coli* ในอาหาร M9 ที่เติมสารอาหารต่างๆ ที่บ่ม 24 ชั่วโมง

F = จำนวน *E. coli* ในอาหาร M9 ที่เติมสารอาหารต่างๆ ที่บ่ม 0 ชั่วโมง

G = จำนวน *E. coli* ในอาหาร M9 ที่เติมกลูโคสที่บ่ม 24 ชั่วโมง

H = จำนวน *E. coli* ในอาหาร M9 ที่เติมกลูโคสที่บ่ม 0 ชั่วโมง

ข. 6 การตรวจสอบสัญฐานวิทยาของเซลล์ด้วยการส่องกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) (Betoret **และคณะ**, 2003; Kourkoutas **และคณะ**, 2005)

<u>เครื่องมือและอุปกรณ์</u> (ดำเนินการทดลองโดยศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)

- กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด
- เครื่องทำแห้ง ณ จุดวิกฤต
- เครื่องเคลือบทอง
- แท่นวางตัวอย่าง

<u>สารเคมี</u>

- โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต
- ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต
- กลูตาลาลดีไฮด์ ร้อยละ 2 ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 โมล่าร์ (pH 7.2)
- เอทานอล (ความเข้มข้นร้อยละ 30, 50, 70, 95, และ 100)

<u>วิธีการเตรียมตัวอย่างชีววิทยา</u>

1. แช่ตัวอย่างในกลูตาลาลดีไฮด์ ร้อยละ 2 ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.1 โมล่าร์ ที่มี pH 7.2 ข้ามคืนในตู้เย็น
2. ล้างด้วยฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 2 ครั้ง ครั้งละ 10 นาที แล้วตามด้วยน้ำกลั่น 1 ครั้ง ทำให้แห้ง (dehydrate) ด้วยเอทานอลที่แต่ละความเข้มข้นดังกล่าว ตามลำดับ โดยทำ 3 ครั้ง ขั้นตอนครั้งละ 10 นาที
3. ทำตัวอย่างให้แห้ง ณ จุดวิกฤต ด้วยเครื่องทำแห้ง ณ จุดวิกฤต
4. ติดตัวอย่างบนแท่นวางตัวอย่าง (stub) ด้วยเทปกาวสองหน้า
5. นำตัวอย่างไปเคลือบทองด้วยเครื่องเคลือบทอง
6. นำไปส่องดูด้วยจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด โดยใช้กำลังขยาย 10,000 เท่า และบันทึกภาพที่ได้

ข. 7 การตรวจหาจำนวน *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* **(Dave และ Shah, 1997a, 1997b, 1997d)**

<u>เครื่องมือและอุปกรณ์</u>

- เครื่องตบอาหาร
- เครื่องผสมของเหลวแบบเขย่า

<u>อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี</u>

- อาหารแข็ง MRS ปรับ pH 5.2
- น้ำเกลือ ความเข้มข้นร้อยละ 0.85

<u>วิธีการเตรียมตัวอย่าง</u>

1. กวนผสมตัวอย่างโยเกิร์ตและ purée กล้วยในถ้วยให้เป็นเนื้อเดียวกัน
2. ชั่งตัวอย่างใส่ stomacher bag 10 กรัม เติมน้ำเกลือ ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ลงในถุงตัวอย่าง
3. ทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องตบอาหารนาน 30 วินาที จำนวน 2 รอบ
4. ปิเปตตัวอย่างอาหาร 1 มิลลิลิตร ลงในน้ำเกลือ ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมของเหลวแบบเขย่า
5. ทำตัวอย่างอาหารให้เจือจางด้วยน้ำเกลือ ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-5}, 10^{-6} และ 10^{-7} ในหลอดทดลองด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ
6. ปิเปตตัวอย่างอาหารที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงบนผิวหน้าอาหารแข็ง MRS ปรับ pH 5.2 แล้วเกลี่ยด้วยแท่งแก้วสามเหลี่ยม โดยทำซ้ำ 2 ครั้ง คว่ำจานเพาะเชื้อ และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส ในภาชนะบ่มเชื้อจุลินทรีย์ชนิดไม่ต้องการอากาศ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง
7. ตรวจนับจำนวน *L. bulgaricus* ในจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนโคโลนี 30-300 โคโลนี หาค่าเฉลี่ย แล้วคำนวณเป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัมตัวอย่าง

ข. 8 **การตรวจหาจำนวน** *Streptococcus thermophilus* (Birollo **และคณะ**, 2000; Gueimonde **และคณะ**, 2004)

<u>เครื่องมือและอุปกรณ์</u>

1. เครื่องตบอาหาร
2. เครื่องผสมของเหลวแบบเขย่า

<u>อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี</u>

1. อาหารแข็ง M17
2. น้ำเกลือ ความเข้มข้นร้อยละ 0.85

<u>วิธีการเตรียมตัวอย่าง</u>

1. กวนผสมตัวอย่างโยเกิร์ตและ purée กล้วยในถ้วยให้เป็นเนื้อเดียวกัน
2. ชั่งตัวอย่างใส่ stomacher bag 10 กรัม เติมน้ำเกลือ ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ลงในถุงตัวอย่าง
3. ทำให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยเข้าเครื่องตบอาหารนาน 30 วินาที จำนวน 2 รอบ
4. ปิเปตตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ลงในน้ำเกลือ ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสมของเหลวแบบเขย่า
5. ทำให้เจือจางด้วยน้ำเกลือ ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 ที่ระดับความเข้มข้น 10^{-5}, 10^{-6} และ 10^{-7} ในหลอดทดลองด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ
6. ปิเปตตัวอย่างอาหารที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ จำนวน 1 มิลลิลิตร ลงบนผิวหน้าอาหารแข็ง M17 แล้วเกลี่ยด้วยแท่งแก้วสามเหลี่ยม โดยทำซ้ำ 2 ครั้ง คว่ำจานเพาะเชื้อ และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในบรรยากาศปกติ เป็นเวลา 72 ชั่วโมง
7. ตรวจนับจำนวน *S. thermophilus* ในจากเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีจำนวนโคโลนี 30-300 โคโลนี หาค่าเฉลี่ย แล้วคำนวณเป็นจำนวนโคโลนีต่อกรัมตัวอย่าง

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ

ค. 1 การหาปริมาณการแยกส่วนของเหลว (syneresis) (Riener และคณะ, 2010)

<u>เครื่องมือและอุปกรณ์</u>

- ตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิ
- เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- กรวยกรอง
- ขวดรูปชมพู่ ขนาด 50 มิลลิลิตร

<u>วิธีวิเคราะห์</u>

1. ชั่งน้ำหนักขวดรูปชมพู่ให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน
2. พับกระดาษกรอง Whatman® เบอร์ 1 ลงในกรวยกรองซึ่งอยู่บนขวดรูปชมพู่ที่วางอยู่บนเครื่องชั่ง
3. ชั่งตัวอย่างโยเกิร์ต 30 กรัม โดยใช้มีดบางแซะโยเกิร์ตรอบขอบถ้วย คว่ำถ้วยลงบนกระดาษกรอง โดยให้ตัวอย่างโยเกิร์ตเกิดการกระทบกระเทือนน้อยที่สุด
4. นำตัวอย่างที่อยู่บนกรวยกรองและขวดไปตั้งทิ้งไว้ในตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยไม่มีการรบกวนเป็นเวลานาน 5 ชั่วโมง
5. นำตัวอย่างออกจากตู้เย็น และชั่งน้ำหนักขวดที่มีของเหลวแยกออกมาจากตัวอย่างและจดบันทึกน้ำหนัก
6. คำนวณหาปริมาณการแยกส่วนของเหลว ดังสูตร

ค่าการแยกส่วนของเหลว (ร้อยละ) =

$$\frac{[\text{น้ำหนักขวดและของเหลว (กรัม)} - \text{น้ำหนักขวด (กรัม)}] \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

ค. 2 **การหาค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ** (water holding capacity, WHC)

(Sodini **และคณะ**, 2006; Riener **และคณะ**, 2010)

<u>เครื่องมือและอุปกรณ์</u>

- เครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ
- หลอดปั่นเหวี่ยง
- เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง
- ตู้บ่ม
- ตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิ

<u>วิธีวิเคราะห์</u>

1. ชั่งน้ำหนักหลอดปั่นเหวี่ยง และจดบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน

2. ชั่งนมที่เติมจุลินทรีย์โยเกิร์ตแล้ว 25 กรัม ใส่ลงไปในหลอดปั่นเหวี่ยงเพื่อเตรียมเป็นตัวอย่างโยเกิร์ต

3. ปิดฝาและนำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส พร้อมทั้งวัดค่า pH ในตัวอย่างที่บรรจุอยู่ในภาชนะอื่น (เช่น ถ้วยสำหรับใส่ตัวอย่าง) จนกว่าจะได้ pH เท่ากับ 4.5 โดยไม่รบกวนตัวอย่างที่อยู่ในหลอดปั่นเหวี่ยง

4. เมื่อตัวอย่างมี pH เท่ากับ 4.5 นำออกจากตู้บ่ม เข้าเก็บในตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

5. นำตัวอย่างโยเกิร์ตที่อยู่ในหลอดปั่นเหวี่ยงออกจากตู้เย็น จดบันทึกน้ำหนักตัวอย่างก่อนนำเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,500 x g นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

6. เทของเหลวที่แยกออกมาทิ้ง และชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่เหลือพร้อมหลอดปั่นเหวี่ยง และจดบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน

7. คำนวณหาค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ ดังสูตร

$$\text{ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (ร้อยละ)} = \frac{(A - B) \times 100}{A}$$

เมื่อ A = น้ำหนักตัวอย่างก่อนเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยง (กรัม)

B = น้ำหนักตัวอย่างที่เหลือในหลอดปั่นเหวี่ยง (กรัม)

ค. 3 **การหาค่าความหนืดปรากฏ** (apparent viscosity) (Li **และ** Guo, 2006; Maragkoudakis **และคณะ**, 2006)

<u>เครื่องมือและอุปกรณ์</u>

- ตู้บ่ม
- ตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิ
- เครื่องวัดความหนืด
- เทอร์โมมิเตอร์
- นาฬิกาจับเวลา

<u>วิธีวิเคราะห์</u>

1. บรรจุนมที่เติมจุลินทรีย์โยเกิร์ตแล้ว 60 กรัม ลงในขวดแก้วที่มีความสูง 7 เซนติเมตร และมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 4 เซนติเมตร เพื่อเตรียมเป็นตัวอย่างโยเกิร์ต

2. ปิดฝาและนำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส วัด pH ในตัวอย่างที่บรรจุอยู่ในภาชนะอื่น (เช่น ถ้วยสำหรับใส่ตัวอย่าง) จนกว่าจะได้ pH เท่ากับ 4.5 โดยไม่รบกวนตัวอย่างที่อยู่ในขวดแก้ว

3. เมื่อตัวอย่างมีค่า pH เท่ากับ 4.5 นำออกจากตู้บ่ม เข้าเก็บในตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4. นำตัวอย่างโยเกิร์ตที่อยู่ในขวดแก้วออกจากตู้เย็น

5. วัดความหนืดปรากฏด้วยเครื่องวัดความหนืด โดยใช้หัววัด L4 ความเร็วรอบ 100 rpm และวัดในขณะที่ตัวอย่างมีอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

6. เมื่อหัววัดเริ่มหมุน จับเวลา และอ่านค่าความหนืดปรากฏที่ 30 วินาที หน่วยเป็นมิลลิปาสคาล. วินาที

ค. 4 การหาค่าความแน่นเนื้อ (firmness) และความคงตัว (consistency)

(Hassan และคณะ, 1996b; Staffolo และคณะ, 2004)

<u>เครื่องมือและอุปกรณ์</u>

- เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส
- เทอร์โมมิเตอร์

<u>วิธีวิเคราะห์</u>

1. บรรจุนมที่เติมจุลินทรีย์โยเกิร์ตแล้ว 170 กรัม ลงในขวดแก้วที่มีความสูง 10 เซนติเมตร และมีเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 เซนติเมตร จะได้ตัวอย่างที่บรรจุอยู่ในขวดแก้วมีความสูง 3 เซนติเมตร เพื่อเตรียมเป็นตัวอย่างโยเกิร์ต

2. ปิดฝาและนำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส วัดค่า pH ในตัวอย่างที่บรรจุอยู่ในภาชนะอื่น เช่น ถ้วยสำหรับใส่ตัวอย่าง จนกว่าจะได้ค่า pH เท่ากับ 4.5 โดยไม่รบกวนตัวอย่างที่อยู่ในขวดแก้ว

3. เมื่อตัวอย่างมีค่า pH เท่ากับ 4.5 นำออกจากตู้บ่ม เข้าเก็บในตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

4. นำตัวอย่างโยเกิร์ตที่อยู่ในขวดแก้วออกจากตู้เย็น วัดความแน่นเนื้อและความคงตัวด้วยเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส โดยใช้ load cell ขนาด 500 นิวตัน และใช้หัว back extrusion ที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 3.5 เซนติเมตร วัดตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง

5. ตั้งค่าในการใช้งานดังนี้

Specimen		diameter	37.5 mm	
		anvil height	90.00 mm	
Pretest	Preload	Comp. load	value:	0.010 kgf
		Comp extension	speed:	1.00 mm s^{-1}
Test	Test profiler	Comp. extension	maximum	20 mm
			minimum	0.0 mm
			rate	1.0 mm s^{-1}
	Test stop	Comp. load	value:	25000.00 gf

6. calibrate หัวกดก่อนวัด โดยกด calibrate และกด balance done

7. ตั้งค่าระยะทางที่หัวกดจะกดลงมาห่างจากก้นขวด และระยะทางที่หัวกดจะยกขึ้นห่างจากปากขวด โดยเลื่อนหัวกดลงมาให้ห่างจากก้นขวดเปล่า 40 มิลลิเมตร กดปุ่ม reset gauge length

8. เลื่อนหัวกดขึ้นให้สูงพอที่จะใส่ขวดตัวอย่างสำหรับวัดได้

9. เลื่อนหัวกดลงมาให้ห่างจากพื้นผิวของตัวอย่างประมาณ 50 มิลลิเมตร โดยให้ค่า extension เท่ากันทุกครั้ง (ประมาณ 0.09-1.00 มิลลิเมตร)

10. กด balance load ให้หัว back extrusion กดตัวอย่างลึก 20 มิลลิเมตร ด้วยอัตราเร็ว 1 มิลลิเมตรต่อวินาที (กด 1 ครั้ง แล้วยกขึ้น)

11. อ่านค่าความแน่นเนื้อ และค่าความคงตัวของโยเกิร์ตจากเครื่องคอมพิวเตอร์ที่ต่อเข้ากับเครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัส (หน่วยเป็นกรัม และกรัม.มิลลิเมตร ตามลำดับ)

12. คำนวณเปลี่ยนหน่วยเป็นนิวตัน และนิวตัน.มิลลิเมตร ตามลำดับ ดังสูตร

1 กิโลกรัม = 9.80665 นิวตัน

1 กรัม = 0.0098 นิวตัน

ถ้าวัดค่ามีความแน่นเนื้อได้ 160 กรัม จะคำนวณได้เป็น 1.568 นิวตัน (ได้มาจาก 160 x 0.0098) และถ้าวัดค่าความคงตัวได้ 600 กรัม.มิลลิเมตร จะคำนวณได้เป็น 5.88 นิวตัน.มิลลิเมตร (ได้มาจาก 600 x 0.0098) เป็นต้น

ภาคผนวก ง

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ง. 1 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสในด้านความชอบของผู้บริโภค (Larmond, 1977)

<u>อุปกรณ์ที่ใช้</u>

- ช้อน
- น้ำดื่ม
- ถาดพลาสติก
- แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส (ภาคผนวก จ. 1)

<u>ขั้นตอนการประเมินตัวอย่างโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติก</u>

1. ผู้ประเมินจะต้องประเมินตัวอย่างโยเกิร์ตวันละ 2 ครั้ง ได้แก่ ในเวลาช่วงเช้า (9.00-11.00 น.) 1 ครั้ง และช่วงบ่าย (14.00-16.00 น.) 1 ครั้ง

2. ในช่วงเช้าผู้ประเมินจะได้รับตัวอย่างโยเกิร์ต 4 ตัวอย่างที่มีอุณหภูมิขณะเสิร์ฟไม่เกิน 10 องศาเซลเซียส พร้อมทั้งอุปกรณ์ และแบบประเมินผลทางประสาทสัมผัส (ภาคผนวก จ. 1) เพื่อการประเมินตัวอย่างครั้งที่ 1 โดยผู้ประเมินทดสอบตัวอย่างในด้านคุณลักษณะต่างๆ ของโยเกิร์ต แล้วกรอกตัวเลขแสดงระดับความชอบในแต่ละคุณลักษณะของโยเกิร์ตตามคำแนะนำที่กำหนดไว้ในแบบประเมินผล พร้อมทั้งเหตุผลเพิ่มเติม (หากมี)

3. ในช่วงบ่ายผู้ประเมินจะได้รับตัวอย่างโยเกิร์ต 4 ตัวอย่าง พร้อมทั้งอุปกรณ์ และแบบประเมินผลทางประสาทสัมผัสเพื่อการประเมินครั้งที่ 2 ซึ่งเป็นตัวอย่างที่แตกต่างจากจากการประเมินครั้งที่ 1

4. หาค่าเฉลี่ยความชอบในแต่ละคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตจากคะแนนที่ผู้ประเมินให้ไว้

ขั้นตอนการประเมินตัวอย่างโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก

1. ผู้ประเมินจะได้รับตัวอย่างโยเกิร์ตจำนวน 1 ตัวอย่าง ที่มีอุณหภูมิขณะเสริฟไม่เกิน 10 องศาเซลเซียส พร้อมทั้งอุปกรณ์ แบบสอบถามข้อมูลส่วนบุคคลเกี่ยวกับพฤติกรรมการบริโภคโยเกิร์ต และแบบประเมินผลทางประสาทสัมผัส (ภาคผนวก จ. 3 และ จ. 4)

2. ผู้ประเมินจะต้องกรอกแบบสอบถามข้อมูลส่วนบุคคลเกี่ยวกับพฤติกรรมการบริโภคโยเกิร์ตให้ตรงกับข้อมูลและพฤติกรรมการบริโภคโยเกิร์ตของแต่ละบุคคล และประเมินคุณลักษณะต่างๆ ของโยเกิร์ต แล้วกรอกตัวเลขแสดงระดับความชอบในแต่ละคุณลักษณะของโยเกิร์ตตามคำแนะนำที่กำหนดไว้ในแบบประเมินผล พร้อมทั้งข้อเสนอแนะ (หากมี)

3. รวบรวมข้อมูลและพฤติกรรมในการบริโภคโยเกิร์ตของแต่ละบุคคล และหาจำนวนความถี่และคะแนนความชอบในแต่ละคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตจากคะแนนที่ผู้ประเมินให้ไว้

ง. 2 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาแบบทั่วไป (generic descriptive analysis) (Larmond, 1977)

ขั้นตอนการคัดเลือกและฝึกฝนผู้ประเมิน

1. คัดเลือกผู้ประเมินจากนิสิตและบุคลากรภายในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จำนวน 25 คน โดยใช้แบบทดสอบต่างๆ (แบบทดสอบคัดกรองเบื้องต้นสำหรับผู้ประเมิน, แบบทดสอบ triangle test, duo-trio test, แบบทดสอบวัดความสามารถทางด้านพรรณนา แบบทดสอบการจัดอันดับด้านการพรรณนากลิ่นรส และแบบทดสอบการให้สเกล) จากนั้นคัดเลือกผู้ประเมินที่สามารถผ่านเกณฑ์ในแต่ละแบบทดสอบมากกว่าร้อยละ 60 และมีคะแนนสูงสุดจำนวน 12 คน เพื่อนำมาฝึกฝนทางด้านการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสแบบพรรณนาแบบทั่วไป

2. ฝึกฝนผู้ที่ผ่านการคัดเลือกจำนวน 12 คน เพื่อให้มีความชำนาญในการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยใช้แบบฝึกหัดการใช้เทอมพรรณนา และผู้ที่ผ่านการคัดเลือกจะได้รับการฝึกฝนเป็นเวลาครั้งละ 2 ชั่วโมง จำนวน 2 ครั้ง ต่อสัปดาห์ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ จนเข้าใจความหมายของเทอมพรรณนาที่ใช้กับผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต และให้กลุ่มผู้ประเมินร่วมกันสร้างเทอมพรรณนาที่ใช้ในการอธิบายคุณลักษณะต่างๆ ของโยเกิร์ต และร่วมกันหาคำอธิบายความหมายของเทอมพรรณนาที่ร่วมกันกำหนดจนมีความเห็นร่วมกันอย่างลงตัว ดังรายละเอียดในตารางที่ ง. 1

3. ผู้ฝึกฝน (ผู้วิจัย) ร่วมกันกำหนดสิ่งอ้างอิงที่จะใช้กำหนดความเข้มของแต่ละคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ โดยกำหนดสิ่งอ้างอิงที่มีความเข้มน้อย ปานกลาง และมาก ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ ง. 2 จนกระทั่งผู้ฝึกฝนได้รับการฝึกให้รู้จักเทอมพรรณนาในแต่ละคุณลักษณะและสิ่งอ้างอิงที่กำหนดความเข้มแต่ละระดับจนเป็นที่เข้าใจตรงกัน สามารถจดจำและขีดเส้นบนสเกลเพื่อแสดงความเข้มของแต่ละคุณลักษณะได้ตรงกัน โดยใช้แบบฝึกหัดการใช้เทอมพรรณนา

4. เมื่อผู้ฝึกฝนจดจำสิ่งอ้างอิงได้ถูกต้องและตรงกันแล้ว นำตัวอย่างควบคุมมาให้ผู้ฝึกฝนเปรียบเทียบกับตัวอย่างอ้างอิง โดยให้ผู้ฝึกฝนสามารถแสดงความเข้มของแต่ละคุณลักษณะของตัวอย่างควบคุมให้ตรงกันบนสเกล และสามารถจดจำได้ว่าแต่ละคุณลักษณะของตัวอย่างควบคุมมีระดับความเข้มเป็นอย่างไรเมื่อเทียบกับสิ่งอ้างอิงที่กำหนด

5. เมื่อผู้ฝึกฝนจดจำระดับความเข้มของตัวอย่างควบคุมได้ ให้ผู้ฝึกฝนเปรียบเทียบตัวอย่างโยเกิร์ตที่มีความแตกต่างกันในแต่ละคุณลักษณะจากตัวอย่างที่มีความแตกต่างมากไปหาตัวอย่างที่มีความแตกต่างน้อยโดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม จนผู้ฝึกฝนมีความชำนาญสามารถแยกความแตกต่างของแต่ละคุณลักษณะในแต่ละตัวอย่างได้

6. เพิ่มจำนวนตัวอย่างให้ผู้ฝึกฝนสามารถแยกความแตกต่างระหว่างตัวอย่างได้โดยเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม และนำตัวอย่างทางการค้ามาให้ผู้ฝึกฝนทดสอบเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม

อนึ่ง ตัวอย่างควบคุม ได้แก่ โยเกิร์ตที่ผลิตโดยเติมชนิดและปริมาณของพรีไบโอติกที่คัดเลือกได้แล้วในข้อ 3.6.5 มีอายุการเก็บ 1 วัน และสิ่งอ้างอิงที่กำหนด คือ ตัวอย่างอ้างอิงในตารางที่ ง. 2 ซึ่งเป็นตัวอย่างชนิดต่างๆ ที่ใช้เป็นตัวควบคุมระดับความเข้มจากสเกล 0-15

<u>อุปกรณ์ที่ใช้</u>

ใช้อุปกรณ์ต่างๆ ตามที่ให้รายละเอียดไว้ในข้อ ง. 1

<u>ขั้นตอนการประเมิน</u>

1. ผู้ประเมินที่ผ่านการคัดเลือกและฝึกฝนมาแล้วจะต้องประเมินคุณภาพของตัวอย่างโยเกิร์ตทางด้านประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาแบบทั่วไป วันละ 2 ครั้ง (ช่วงเช้าและช่วงบ่าย) สัปดาห์ละ 1 วัน เป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์

2. ในช่วงเช้าของวันที่ 1 (หลังการผลิตโยเกิร์ต) ผู้ประเมินจะได้รับตัวอย่าง 1 ตัวอย่าง ที่มีอุณหภูมิขณะเสิร์ฟไม่เกิน 10 องศาเซลเซียส พร้อมทั้งอุปกรณ์และแบบประเมิน (ภาคผนวก จ. 2) ทั้งนี้ผู้ประเมินที่มีความชำนาญแล้วจะประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสในด้านคุณลักษณะต่างๆ ของโยเกิร์ตตามที่ได้ผ่านการฝึกฝนมา และขีดเส้นลงบนเส้นสเกลทุกๆ เส้นตามที่ปรากฏอยู่ในแบบประเมิน และดำเนินงานทดลองเช่นเดียวกันสำหรับช่วงบ่ายของวันที่ 1 ซึ่งเป็นตัวอย่างที่ผลิตในวันเดียวกัน โดยทำการทดลอง 2 ซ้ำ

3. ในวันที่ 7, 14 และ 21 (หลังการผลิตโยเกิร์ต) ผู้ประเมินจะได้รับตัวอย่าง 2 ตัวอย่าง คือ ตัวอย่างควบคุม (ตัวอย่างหลังการผลิต 1 วัน) และตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ (ตัวอย่างหลังการผลิต 7, 14 และ 21 วัน ตามลำดับ) พร้อมทั้งอุปกรณ์และแบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส และประเมินตัวอย่างในลักษณะดังเช่นข้อ 2.

4. ผู้วิจัยใช้ไม้บรรทัดวัดระยะทางจากซ้ายไปขวาของเส้นสเกลจนถึงเส้นที่ผู้ประเมินขีดไว้ แล้วหาค่าเฉลี่ยของระดับความเข้มที่ได้สำหรับแต่ละเทอมพรรณนา ทั้งนี้ระดับความเข้มของแต่ละเทอมแสดงตามความยาวของสเกล หน่วยเป็นเซนติเมตร

ตารางที่ ง. 1 เทอมพรรณนาที่ใช้ในการประเมินทางประสาทสัมผัสโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก

คุณลักษณะ	**เทอมพรรณนา**	**คำอธิบาย**
ลักษณะปรากฏ	สีขาวครีมของโยเกิร์ต	สีขาวครีมปกติของโยเกิร์ต
	สีของกล้วย	สีเหลืองของกล้วยไข่สุกผ่านความร้อน
	ความคงตัวของโยเกิร์ต	ไม่มีการแตกแยกของเคิร์ด เมื่อเอียงถ้วย ไม่มีการเคลื่อนที่หรือสั่นไหวของเคิร์ด
	ความเป็นเนื้อเดียวกันของโยเกิร์ต	ผิวหน้าเรียบ ไม่ขรุขระ ไม่มีฟองอากาศ เนื้อเนียนเป็นเนื้อเดียวกัน ไม่มีการแยกของเวย์
	ความละเอียดของกล้วย	เนื้อกล้วยเนียนละเอียดเป็นเนื้อเดียวกัน ขนาดชิ้นกล้วยใกล้เคียงกัน
ลักษณะเนื้อสัมผัส	ความเป็นเนื้อเดียวกันของโยเกิร์ต	เมื่อใช้ช้อนตักเข้าปาก เนื้อที่ข้นหนืดจะกระจายลงบนลิ้น ส่วนผสมต่างๆ จะละลายไปพร้อมกัน
	ความละเอียดของกล้วย	เมื่อใช้ช้อนตักกล้วยเข้าปาก เนื้อกล้วยมีความละเอียด มีขนาดสม่ำเสมอ

ตารางที่ ง. 1 (ต่อ)

คุณลักษณะ	เทอมพรรณนา	คำอธิบาย
	ความหนืดของโยเกิร์ตผสมกล้วย	เมื่อใช้ช้อนกวนโยเกิร์ตจนเป็นเนื้อเดียวกันกับกล้วย ส่วนผสมจะมีความหนืด ไม่มีการแยกของเวย์เกิดขึ้นอย่างฉับพลันระหว่างการกวน เมื่อตักตัวอย่างแล้วเอียงช้อนให้ไหลจากช้อนลงถ้วยสังเกตลักษณะการไหลของตัวอย่าง
	ความเป็นเนื้อเดียวกันของโยเกิร์ตผสมกล้วย	เมื่อใช้ช้อนตักโยเกิร์ตผสมกล้วยเข้าปาก ส่วนผสมเข้ากันเป็นเนื้อที่มีความเนียนละเอียดและชิ้นกล้วยมีขนาดสม่ำเสมอ
รส	รสเปรี้ยวของโยเกิร์ตผสมกล้วย	เมื่อรับประทานจะได้รสเปรี้ยวของโยเกิร์ตและกล้วยผสมกัน
	รสหวานของโยเกิร์ตผสมกล้วย	เมื่อรับประทานจะได้รสหวานของน้ำตาลในโยเกิร์ตและกล้วยผสมกัน
กลิ่นรส	กลิ่นรสนมเปรี้ยวของโยเกิร์ตผสมกล้วย	เมื่อดมกลิ่นและรับประทานพร้อมกัน จะได้กลิ่นรสนมเปรี้ยวของโยเกิร์ตธรรมชาติ
	กลิ่นรสกล้วยของโยเกิร์ตผสมกล้วย	เมื่อดมกลิ่นและรับประทานพร้อมกันจะได้กลิ่นรสกล้วยไข่สุก
	กลิ่นรสแปลกปลอมของโยเกิร์ตผสมกล้วย	เมื่อดมกลิ่นและรับประทานพร้อมกัน จะได้กลิ่นรสของโยเกิร์ตผสมกล้วยที่ผิดปกติ มีกลิ่นรสของสิ่งอื่นเจือปนหรือแปลกปลอม เช่น กลิ่นหืน, รสขม เป็นต้น

ตารางที่ ง. 2 ตัวอย่างอ้างอิงที่ใช้ประกอบคำอธิบายตามระดับความเข้มในแต่ละเทอมพรรณนาของโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกและใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก

เทอมพรรณนา	ตัวอย่างอ้างอิง	ระดับความเข้ม จากสเกล 0-15
ลักษณะปรากฏ		
สีขาวครีมของโยเกิร์ต	นมสเตอริไลซ์	สีเหลืองอมส้ม = 2
	โยเกิร์ตที่ผลิตจากนมผงคืนรูป	สีขาวออกเหลือง = 9
	โยเกิร์ตทางการค้ายี่ห้อที่ 2[a]	สีขาวครีม = 14
สีของกล้วย	สี 5Y6/8 จากสมุดเทียบสี (Munsell book)	สีน้ำตาลเข้ม = 0.5
	สี 5Y8/8 จากสมุดเทียบสี	สีน้ำตาลออกเหลือง = 7
	สี 5Y9/8 จากสมุดเทียบสี	สีเหลืองอ่อน = 14.5
ความคงตัวของโยเกิร์ต	โยเกิร์ตที่มีปริมาณของแข็ง ร้อยละ 21 และมีปริมาณเพคติน ร้อยละ 0.2	เคิร์ดไหลได้ = 1
	โยเกิร์ตที่มีปริมาณของแข็ง ร้อยละ 21 และมีปริมาณเพคติน ร้อยละ0.5	เคิร์ดสั่นไหวได้ = 7
	โยเกิร์ตที่มีปริมาณของแข็ง ร้อยละ 21 และมีปริมาณเจลาติน ร้อยละ 0.5	เคิร์ดมีความคงตัวมาก =14
ความเป็นเนื้อเดียวกันของโยเกิร์ต	โยเกิร์ตทางการค้ายี่ห้อที่ 1[a]	เนื้อไม่เรียบเนียน = 2
	โยเกิร์ตที่ผลิตจากนมผงคืนรูป	เนื้อเรียบเนียน = 9
	โยเกิร์ตทางการค้ายี่ห้อที่ 2[a]	เนื้อเรียบเนียน = 14
ความละเอียดของกล้วย	กล้วยปั่นหยาบ	หยาบ = 2
	กล้วยปั่นละเอียดปานกลาง	ปานกลาง = 7
	กล้วยปั่นละเอียด	ละเอียด = 14

[a] โยเกิร์ตไขมันเต็มชนิดกวนรสธรรมชาติ

ตารางที่ ง. 2 (ต่อ)

เทอมพรรณนา	ตัวอย่างอ้างอิง	ระดับความเข้ม จากสเกล 0-15
ลักษณะเนื้อสัมผัส		
ความเป็นเนื้อเดียวกันของโยเกิร์ต	โยเกิร์ตทางการค้ายี่ห้อที่ 1[a]	เนื้อไม่เรียบเนียน = 2
	โยเกิร์ตที่ผลิตจากนมผงคืนรูป	เนื้อเรียบเนียน = 9
	โยเกิร์ตทางการค้ายี่ห้อที่ 2[a]	เนื้อเรียบเนียนมาก= 14
ความละเอียดของกล้วย	กล้วยปั่นหยาบ	หยาบ = 2
	กล้วยปั่นละเอียดปานกลาง	ปานกลาง = 7
	กล้วยปั่นละเอียด	ละเอียด = 14
ความหนืดของโยเกิร์ตผสมกล้วย	นมสดพาสเจอไรซ์	ความหนืดน้อย = 1
	โยเกิร์ตที่มีปริมาณของแข็ง ร้อยละ 21 และมีปริมาณเพคติน ร้อยละ 0.2	ความหนืดปานกลาง = 7
	โยเกิร์ตชนิดเซ็ตทางการค้ายี่ห้อที่ 3[a]	ความหนืดมาก = 14
ความเป็นเนื้อเดียวกันของโยเกิร์ตผสมกล้วย	โยเกิร์ตทางการค้ายี่ห้อที่ 1 ผสมกล้วยปั่นหยาบ	เนื้อไม่สม่ำเสมอ = 2
	โยเกิร์ตที่ผลิตจากนมผงคืนรูปผสมกล้วยปั่นละเอียดปานกลาง	เนื้อสม่ำเสมอปานกลาง = 7
	โยเกิร์ตทางการค้ายี่ห้อที่ 2[a] ผสมกล้วยปั่นละเอียด	เนื้อสม่ำเสมอมาก = 14
รส		
รสเปรี้ยวของโยเกิร์ตผสมกล้วย	โยเกิร์ตที่มี pH 5.0 และมีส่วนผสมของ purée กล้วย	เปรี้ยวน้อย = 4
	โยเกิร์ตที่มี pH 4.0 และมีส่วนผสมของ purée กล้วย	เปรี้ยวปานกลาง = 9
	โยเกิร์ตที่มี pH 3.0 และมีส่วนผสมของ purée กล้วย	เปรี้ยวมาก = 14

[a] โยเกิร์ตไขมันเต็มชนิดกวนรสธรรมชาติ

ตารางที่ ง. 2 (ต่อ)

เทอมพรรณนา	ตัวอย่างอ้างอิง	ระดับความเข้ม จากสเกล 0-15
รสหวานของโยเกิร์ตผสมกล้วย	โยเกิร์ตที่ไม่มีส่วนผสมของน้ำตาล แต่มีส่วนผสมของกล้วย ร้อยละ 25	หวานน้อย = 2
	โยเกิร์ตที่มีส่วนผสมของน้ำตาล ร้อยละ 6 และกล้วย ร้อยละ 25	หวานปานกลาง = 9
	โยเกิร์ตที่มีส่วนผสมของน้ำตาล ร้อยละ 12 และกล้วย ร้อยละ 25	หวานมาก = 14
กลิ่นรส		
กลิ่นรสนมเปรี้ยวของโยเกิร์ตผสมกล้วย	โยเกิร์ตที่มี pH 5.0 ที่มีส่วนผสมของกล้วยปั่นละเอียด	กลิ่นรสนมเปรี้ยวน้อย = 4
	โยเกิร์ตที่มี pH 4.0 ที่มีส่วนผสมของกล้วยปั่นละเอียด	กลิ่นรสนมเปรี้ยวปานกลาง = 9
	โยเกิร์ตที่มี pH 3.0 ที่มีส่วนผสมของกล้วยปั่นละเอียด	กลิ่นรสนมเปรี้ยวมาก = 14
กลิ่นรสกล้วยของโยเกิร์ตผสมกล้วย	โยเกิร์ตที่ไม่มีส่วนผสมของ purée กล้วย	กลิ่นน้อย = 0.5
	โยเกิร์ตที่ผสม purée กล้วย ร้อยละ 15	กลิ่นปานกลาง = 7
	โยเกิร์ตที่ผสม purée กล้วย ร้อยละ 75	กลิ่นมาก = 14.5
กลิ่นรสแปลกปลอมของโยเกิร์ตผสมกล้วย	โยเกิร์ตสดสะอาดมีอายุหลังการผลิต 1 วัน	แปลกปลอมน้อย = 0.5
	โยเกิร์ตที่ผลิตจากนมผงที่มีกลิ่นหืน	แปลกปลอมปานกลาง = 7
	โยเกิร์ตที่มีกลิ่นรสแปลกปลอม	แปลกปลอมมาก = 14.5

ตารางที่ ง. 3 ข้อมูลส่วนบุคคลและพฤติกรรมในการบริโภคโยเกิร์ตของผู้บริโภคทั่วไป

ข้อมูลส่วนบุคคล	ประเภท/ระดับ/ชนิด	จำนวน (คน)
เพศ	ชาย	18
	หญิง	32
อายุ	ต่ำกว่า 20 ปี	7
	20-30 ปี	36
	31-40 ปี	5
	41-50 ปี	2
ระดับการศึกษา		
กำลังศึกษา	มัธยมศึกษา	1
	ปริญญาตรี	13
	ปริญญาโท	18
	ปริญญาเอก	8
สำเร็จการศึกษา	ต่ำกว่ามัธยมศึกษา	2
	มัธยมศึกษา	5
	ปริญญาตรี	2
	ปริญญาโท	1
อาชีพ	นักเรียน/นักศึกษา	38
	รับราชการหรือทำงานรัฐวิสาหกิจ	4
	พนักงานบริษัทเอกชน	4
	อื่นๆ	4

ตารางที่ ง. 3 (ต่อ)

ข้อมูลส่วนบุคคล	ประเภท/ระดับ/ชนิด	จำนวน (คน)
รายได้ส่วนตัว (บาท/เดือน)	ไม่มีรายได้	12
	ต่ำกว่า 5,000	7
	5,000-10,000	19
	10,001-15,000	8
	15,001-30,000	3
	ไม่ต้องการระบุ	1
อุปนิสัยการรับประทานโยเกิร์ต	ทุกวัน	5
	1-3 ครั้ง/สัปดาห์	23
	1-3 ครั้ง/เดือน	18
	1-3 ครั้ง/ปี	4
ชนิดของโยเกิร์ตที่เคยรับประทาน		
แบ่งตามรสชาติ	รสธรรมชาติ	23
	ผสมผลไม้	43
	เจือสีและแต่งกลิ่นสังเคราะห์	5
แบ่งตามลักษณะทางกายภาพ	เซ็ต	5
	กวน	45
แบ่งตามปริมาณไขมัน	ไม่มีไขมัน	20
	ไขมันต่ำ	17
	ไขมันเต็ม	13

ตารางที่ ง. 4 จำนวนความถี่และคะแนนความชอบทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคทั่วไปที่มีต่อคุณลักษณะของโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่มีอายุการเก็บรักษา 21 วัน

คุณลักษณะทางประสาทสัมผัส	จำนวนความถี่ (คน)							รวม (คน)
	1	2	3	4	5	6	7	
ลักษณะปรากฏ		2	15	12	6	14	1	50
สี		5	5	15	10	11	4	50
กลิ่น	2	3	14	6	9	12	4	50
ลักษณะเนื้อสัมผัส	3	3	19	7	9	6	3	50
กลิ่นรส	5	8	11	4	11	6	5	50
ความชอบโดยรวม		4	12	15	6	10	3	50

1 = ไม่ชอบมาก; 2 = ไม่ชอบปานกลาง; 3 = ไม่ชอบเล็กน้อย; 4 = เฉยๆ; 5 = ชอบเล็กน้อย; 6 = ชอบปานกลาง; 7 = ชอบมาก

ภาคผนวก จ

แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

จ. 1 แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสในด้านความชอบของผู้บริโภคที่มีต่อโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติก

รหัสแบบทดสอบ_____ วันที่_____

ตัวอย่าง โยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติก ชื่อผู้ทดสอบ_____

กรุณาทดสอบผลิตภัณฑ์จากซ้ายไปขวา โดยทดสอบลักษณะต่างๆ ที่กำหนด และให้คะแนนตามลำดับความชอบ ดังนี้ :

7 = ชอบมาก	4 = เฉยๆ	1 = ไม่ชอบมาก
6 = ชอบปานกลาง	3 = ไม่ชอบเล็กน้อย	
5 = ชอบเล็กน้อย	2 = ไม่ชอบปานกลาง	

รหัสตัวอย่าง	_____	_____	_____	_____
ลักษณะปรากฏ (appearance)	_____	_____	_____	_____
สี (color)	_____	_____	_____	_____
กลิ่น (odor)	_____	_____	_____	_____
ลักษณะเนื้อสัมผัส (texture)	_____	_____	_____	_____
กลิ่นรส (flavor)	_____	_____	_____	_____
ความชอบโดยรวม (overall liking)	_____	_____	_____	_____

เหตุผลของความชอบหรือไม่ชอบผลิตภัณฑ์

รหัสตัวอย่าง

_____ : _____

_____ : _____

_____ : _____

_____ : _____

จ. 2 แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสเชิงพรรณนาแบบทั่วไปของโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก

รหัสแบบทดสอบ_____ วันที่_____

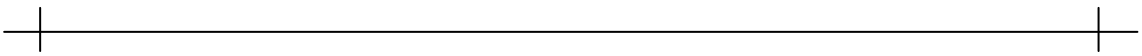
ตัวอย่าง โยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก

ชื่อผู้ทดสอบ_____นามสกุล_____

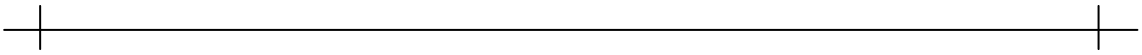
กรุณาขีดให้แต้มแสดงระดับความเข้มในแต่ละเทอมพรรณนาดังต่อไปนี้

1. ลักษณะปรากฏ

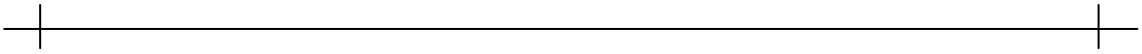
1.1 สีขาวครีมของโยเกิร์ต



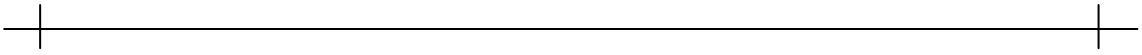
1.2 สีของกล้วย



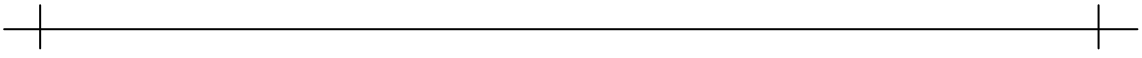
1.3 ความคงตัวของโยเกิร์ต



1.4 ความเป็นเนื้อเดียวกันของโยเกิร์ต

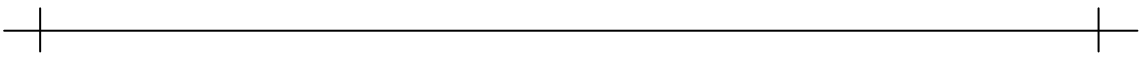


1.5 ความละเอียดของกล้วย



2. ลักษณะเนื้อสัมผัส

2.1 ความเป็นเนื้อเดียวกันของโยเกิร์ต



จ. 2 (ต่อ)

ชื่อ_____ วันที่_____

2.2 ความละเอียดของกล้วย

2.3 ความหนืดของโยเกิร์ตผสมกล้วย

2.4 ความเป็นเนื้อเดียวกันของโยเกิร์ตผสมกล้วย

3. รส

3.1 รสเปรี้ยวของโยเกิร์ตผสมกล้วย

3.2 รสหวานของโยเกิร์ตผสมกล้วย

4. กลิ่นรส

4.1 กลิ่นรสนมเปรี้ยวของโยเกิร์ตผสมกล้วย

4.2 กลิ่นรสกล้วยของโยเกิร์ตผสมกล้วย

4.3 กลิ่นรสแปลกปลอม

จ. 3 แบบสอบถามข้อมูลส่วนบุคคลและพฤติกรรมในการบริโภคโยเกิร์ต

กรุณาใส่เครื่องหมาย / ในช่อง ☐ ที่ตรงกับข้อมูลของท่าน

1. เพศ

☐ 1. ชาย ☐ 2. หญิง

2. อายุ

☐ 1. ต่ำกว่า 20 ปี ☐ 2. 20-30 ปี

☐ 3. 31-40 ปี ☐ 4. 41-50 ปี

☐ 5. 51-60 ปี ☐ 6. 60 ปีขึ้นไป

3. อาชีพ

☐ 1. นักเรียน/นักศึกษา ☐ 2. รับราชการ/รัฐวิสาหกิจ

☐ 3. พนักงานบริษัทเอกชน ☐ 4. ค้าขาย/ธุรกิจส่วนตัว

☐ 5. อื่นๆ โปรดระบุ.....

4. ระดับการศึกษา

☐ 1. กำลังศึกษา

☐ 1.1 มัธยมศึกษา ☐ 1.2 อาชีวศึกษา/อนุปริญญา

☐ 1.3 ปริญญาตรี ☐ 1.4 ปริญญาโท

☐ 1.5 ปริญญาเอก

☐ 2. สำเร็จการศึกษาแล้ว และระดับการศึกษาขั้นสูงสุด

☐ 2.1 ต่ำกว่ามัธยมศึกษา ☐ 2.2 มัธยมศึกษา

☐ 2.3 อาชีวศึกษา/อนุปริญญา ☐ 2.4 ปริญญาตรี

☐ 2.5 ปริญญาโท ☐ 2.6 ปริญญาเอก

จ. 3 (ต่อ)

5. รายได้ส่วนตัว (บาท/เดือน)

☐ 1. ไม่มีรายได้ ☐ 2. ต่ำกว่า 5,000 บาท

☐ 3. 5,000-10,000 บาท ☐ 4. 10,001-15,000 บาท

☐ 5. 15,001-30,000 บาท ☐ 6. 30,001-50,000 บาท

☐ 7. มากกว่า 50,000 บาท ☐ 8. ไม่ต้องการระบุ

6. อุปนิสัยในการรับประทานโยเกิร์ต

☐ 1. ทุกวัน ☐ 2. 1-3 ครั้ง/สัปดาห์

☐ 3. 1-3 ครั้ง/เดือน ☐ 4. 1-3 ครั้ง/ปี

☐ 5. ไม่เคยรับประทาน

7. ชนิดของโยเกิร์ตที่ท่านเคยรับประทาน (สามารถระบุได้หลายชนิด)

7.1 แบ่งตามรสชาติ

☐ 1. รสธรรมชาติ ☐ 2. ผสมผลไม้ ได้แก่.....

☐ 3. เจือสีและแต่งกลิ่นสังเคราะห์ ☐ 4. อื่นๆ โปรดระบุ.....

7.2 แบ่งตามลักษณะทางกายภาพ

☐ 1. โยเกิร์ตชนิดเซ็ต (set yoghurt) ☐ 2.โยเกิร์ตชนิดกวน (stirred yoghurt)

7.3 แบ่งตามปริมาณไขมัน

☐ 1. ไม่มีไขมัน (non fat) ☐ 2. ไขมันต่ำ/พร่องมันเนย (low fat)

☐ 3. ไขมันเต็ม (Full fat)

จ. 4 แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสในด้านความชอบของผู้บริโภคทั่วไปที่มีต่อโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก

รหัสแบบทดสอบ..... วันที่.....

ตัวอย่าง <u>โยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก</u>

กรุณาทดสอบผลิตภัณฑ์โดยทดสอบลักษณะต่างๆ ตามที่กำหนด และให้คะแนนตามลำดับความชอบ ดังนี้

7 = ชอบมาก	3 = ไม่ชอบเล็กน้อย
6 = ชอบปานกลาง	2 = ไม่ชอบปานกลาง
5 = ชอบเล็กน้อย	1 = ไม่ชอบมาก
4 = เฉยๆ	

<u>คำแนะนำ</u> ก่อนทดสอบเพื่อพิจารณาลักษณะเนื้อสัมผัส กลิ่นรส และความชอบโดยรวมกรุณากวนผสมโยเกิร์ตและ purée กล้วยให้เข้ากันก่อน

	<u>คะแนนความชอบ</u>
ลักษณะปรากฏ (appearance)	.....
สี (color)	.....
กลิ่น (odor)	.....
ลักษณะเนื้อสัมผัส (texture)	.....
กลิ่นรส (flavor)	.....
ความชอบโดยรวม (overall liking)	.....

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

ภาคผนวก ฉ

ต้นทุนการผลิต

โยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก 1 ถ้วยที่มีน้ำหนักสุทธิ 120 กรัม มีต้นทุนการผลิต (เฉพาะค่าวัตถุดิบและบรรจุภัณฑ์ในปริมาณการผลิตในห้องปฏิบัติการ) ดังนี้

ฉ. 1 purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก หนัก 30 กรัม ประกอบด้วย

กล้วยไข่	1.80	บาท
จุลินทรีย์โยเกิร์ต	0.27	บาท
รวม	2.07	บาท

ฉ. 2 โยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติก หนัก 90 กรัม ประกอบด้วย

หางนมผง	8.92	กรัม	1.78	บาท
นมผงไขมันเต็ม	5.11	กรัม	0.82	บาท
น้ำตาล	5.76	กรัม	0.13	บาท
พอลิเดกซ์โตรส	1.92	กรัม	0.31	บาท
จุลินทรีย์โพรไบโอติก			0.45	บาท
รวม			3.49	บาท

ฉ.3 โยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก

ถ้วยพลาสติกพร้อมฝา	2.80 บาท
ต้นทุนโดยรวม	2.07 + 3.49 + 2.80 = 8.36 บาทต่อถ้วย (120 กรัม)
หรือคิดเป็นต้นทุน	0.07 บาทต่อกรัม

หมายเหตุ โยเกิร์ตชนิดเซ็ตทางการค้ายี่ห้อที่ 1 ราคาขาย 20 บาทต่อถ้วย (130 กรัม) หรือ 0.15 บาทต่อกรัม และโยเกิร์ตชนิดเซ็ตทางการค้ายี่ห้อที่ 2 ราคาขาย 24 บาทต่อถ้วย (125 กรัม) หรือ 0.19 บาทต่อกรัม

ภาคผนวก ช

รูปภาพ

ภาพที่ ช. 1 purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่บรรจุในถุงลามิเนตปิดผนึกแบบสุญญากาศ

ภาพที่ ช. 2 โยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติก

ภาพที่ ช. 3 โยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดเซ็ตเสริมพรีไบโอติกใส่ purée กล้วยผสมจุลินทรีย์โพรไบโอติก

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางณัฐธญาณ์ ศรีสุวอ เกิดเมื่อวันที่ 25 มิถุนายน 2516 ที่กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการอาหารและโภชนศาสตร์ จากมหาวิทยาลัยมหาสารคาม เมื่อปีการศึกษา 2539 เข้าทำงานที่บริษัท ไทยคิวพี จำกัด เลขที่ 84 หมู่ 11 ถ. ทรงพล ต. สวนกล้วย อ. บ้านโป่ง จ. ราชบุรี ตำแหน่ง supervisor ฝ่ายโรงงาน ระหว่างปี 2540-2543 และสำเร็จการศึกษาระดับปริญญาโท วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง เมื่อปีการศึกษา 2545 แล้วเข้ารับราชการ ตำแหน่งอาจารย์ ที่สถาบันวิจัยและฝึกอบรมการเกษตรลำปาง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตลำปาง ในพ.ศ. 2546-2548 ลาศึกษาต่อในระดับปริญญาเอก หลักสูตรวิทยาศาสตรดุษฎีบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในภาคปลาย ปีการศึกษา 2548 จนถึงปีการศึกษา 2553 ปัจจุบันดำรงตำแหน่งอาจารย์ ที่สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา เลขที่ 202 หมู่ 11 ตำบลพิชัย อำเภอเมือง จังหวัดลำปาง 52000