

ผลของรูปแบบเซลล์โพรไบโอติกที่มีต่อคุณสมบัติของไอศกรีมนม

Effect of Probiotic form on Properties of Milk Ice Cream

นงคราญ พงศ์ตระกูล¹ ธนัฐา รอดบุญฤทธิ์¹ สยาม ภาพลือชัย² ปิยะนุช เนียมทรัพย์¹ สมคิด ดีจิ่ง¹ และไพโรจน์ วงศ์พุทธิสิน^{1*}
Nongkran Pongtrakul¹ Tanutta Rodboonrit¹ Siam Popluechai² Piyanuch Niamsup¹ Somkid Deejing¹ and Pairote Wongputtisin^{1*}

Received: September 28, 2017

Accepted: November 14, 2017

บทคัดย่อ

ไอศกรีมนม เป็นของหวานที่น่าจะมีศักยภาพใช้เป็น
ตัวกลางอาหารนำส่งแบคทีเรียโพรไบโอติกเข้าสู่ร่างกาย
ผู้บริโภคเพื่อสร้างสุขภาวะที่ดีได้ ในงานวิจัยนี้จึงมุ่งผลิต
ไอศกรีมนมเสริมโพรไบโอติกสายพันธุ์ *Lactobacillus*
acidophilus TISTR 1338 สองรูปแบบ คือ เซลล์อิสระและเซลล์
ที่ห่อหุ้มด้วยแป้งข้าวสาลีและน้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์
กลุ่มราฟฟิโนสจากเมล็ดถั่วเหลือง ได้เป็นไอศกรีมสูตรโพร
ไบโอติกและสูตรซินไบโอติก ตามลำดับ จากนั้นศึกษาสมบัติ
บางประการของไอศกรีม รวมทั้งการรอดชีวิตของโพรไบโอติก
ในไอศกรีมด้วย ผลการวิจัยพบว่าไอศกรีมนมสูตรมาตรฐาน
และไอศกรีมสูตรโพรไบโอติกมีสีชาวลักษณะคล้ายกันแต่ไอศกรีมนม
สูตรซินไบโอติกมีสีชาวลมเหลือง และเมื่อเทียบกับไอศกรีม
นมมาตรฐานแล้ว ค่าเอนเอร์จี้ของไอศกรีมโพรไบโอติกและ
ซินไบโอติกต่ำมีค่ากว่าประมาณ ร้อยละ 65 เวลาที่ใช้ในการ
ละลายจนเกิดหยดแรกเร็วขึ้น ร้อยละ 50 และ 60 ตามลำดับ
แต่เวลาในการละลายอย่างสมบูรณ์กลับช้าลงประมาณ ร้อยละ
30 ทั้งสองสูตร ($p < 0.05$) ในขณะที่ค่าความเป็นกรด-ด่างของ
ไอศกรีมทุกสูตรไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) ผลการวิจัยยังพบว่า
L. acidophilus TISTR 1338 ในรูปผงซินไบโอติกสามารถ
รอดชีวิตระหว่างกระบวนการผลิตไอศกรีมซึ่งอุณหภูมิต่ำกว่า
จุดเยือกแข็งของน้ำได้สูงกว่าเซลล์รูปแบบอิสระประมาณ
ร้อยละ 5.82 อย่างไรก็ตาม เซลล์โพรไบโอติกทั้งสองรูปแบบ
ยังสามารถรอดชีวิตได้ในปริมาณสูง เมื่อทำการเก็บรักษาไว้ที่
อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 สัปดาห์

คำสำคัญ: โพรไบโอติก โพรไบโอติก ซินไบโอติก ไอศกรีมนม
Lactobacillus acidophilus

ABSTRACT

Milk ice cream is a promising sweet as an
effective probiotic-carrier food into consumer
body to contribute a healthiness. This research
aimed to produce milk ice cream supplemented
with two forms of probiotic *Lactobacillus*
acidophilus TISTR 1338; i.e. free cell and
entrapped by Sinlek rice flour and raffinose family
oligosaccharides (RFO) from soybean seed. Thus,
probiotic and synbiotic ice cream were obtained,
respectively. Some properties and the survivability
of probiotic in those ice creams were
subsequently investigated. The results showed
that the color of standard milk ice cream and
probiotic ice cream were milky white, while the
color of synbiotic ice cream was yellowish. The
overrun values of probiotic and synbiotic ice
cream were about 65% lower. Moreover, time
consumed for the first drop of both formula were
50 and 60% shorter, respectively. On the other
hand, time consumed for complete melting was
extended approximately 30% in both formula
($p < 0.05$). Meanwhile, pH of all formula were not
different ($p > 0.05$). It was interestingly found that *L.*
acidophilus TISTR 1338 in synbiotic powder was
able to survive during ice cream processing, which
the temperature was below the freezing point of
water, approximately 5.82% higher than that of

* Corresponding author E-mail: pairotewong@gmail.com

¹Program in Biotechnology, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

²School of Science, Mae Fah Luang University, Chiang Rai, 57100 Thailand

free cell. However, probiotic in both forms could survive efficiently when they were stored at -10°C for 6 weeks.

Keywords: prebiotic, probiotic, synbiotic, milk ice cream, *Lactobacillus acidophilus*

บทนำ

ปัญหาจากสภาวะแวดล้อมที่เต็มไปด้วยมลพิษ และรูปแบบการดำเนินชีวิตในปัจจุบันที่เปลี่ยนไปนั้น ล้วนเป็นปัจจัยที่กระทบต่อสุขภาพของมนุษย์เป็นอย่างมาก ดังนั้นการบริโภคอาหารเสริมสุขภาพประเภทต่างๆ จึงได้รับความสนใจจากผู้บริโภคมากขึ้น ควบคู่ไปกับการเติบโตของภาคอุตสาหกรรมอาหารเพื่อสุขภาพและการวิจัยเพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารกลุ่มนี้ อาหารที่มีส่วนผสมของจุลินทรีย์โพรไบโอติก (probiotics) และพรีไบโอติก (prebiotics) ได้รับความนิยมและมีความหลากหลายเป็นอย่างมากในท้องตลาด เนื่องจากได้รับการรับรองว่าช่วยทำให้เกิดสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ได้ สุขภาพลำไส้ของผู้บริโภคจึงดีขึ้นและช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคต่างๆ ได้ [1]

โพรไบโอติก คือกลุ่มของจุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่เมื่อบริโภคในปริมาณที่เหมาะสมแล้วสามารถก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพที่นอกเหนือจากคุณค่าอาหารที่ได้รับโดยปกติ [2] แบคทีเรียโพรไบโอติกที่เป็นที่รู้จักกันส่วนใหญ่อยู่ในจีนัสแลคโตบาซิลลัส (*Lactobacillus* sp.) ไบฟิโดแบคทีเรียม (*Bifidobacterium* sp.) และสเตรปโตคอคคัส (*Streptococcus* sp.) ซึ่งมีประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค ไม่ว่าจะเป็นป้องกันและกำจัดเชื้อก่อโรค ปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน และป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง เป็นต้น [3] แต่การบริโภคโพรไบโอติกอาจมีข้อจำกัด เพราะโพรไบโอติกมีอัตราการรอดชีวิตที่ต่ำเมื่อผ่านเข้าสู่ระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ อันเนื่องมาจากกรดแก๊ในกระเพาะอาหาร และน้ำดี (bile) ในลำไส้เล็กส่วนต้น [4,5] จึงได้มีการเสนอ

ให้บริโภคองค์ประกอบของอาหารบางกลุ่มที่สามารถกระตุ้นการเจริญของโพรไบโอติกในลำไส้แทนการบริโภคโพรไบโอติกโดยตรง นั่นคือ สารพรีไบโอติกนั่นเอง Gibson (2004) ได้ให้นิยามของพรีไบโอติกไว้ คือ สารอาหารที่สามารถถูกหมักได้อย่างเฉพาะเจาะจงที่ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงที่จำเพาะต่อทั้งจำนวนและกิจกรรมของจุลินทรีย์ในทางเดินอาหาร อันเป็นผลให้เจ้าบ้านมีสุขภาพที่ดีได้ [6] องค์ประกอบอาหารที่มีคุณสมบัติดังกล่าวนี้ ยกตัวอย่างเช่น น้ำตาลฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosaccharides, FOS) น้ำตาลกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (galactooligosaccharides, GOS) และน้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์กลุ่มราฟิโนส (raffinose family oligosaccharides, RFO) เป็นต้น โพรไบโอติกที่เพิ่มจำนวนและยึดครองพื้นที่ในลำไส้สามารถสร้างสารเมแทบอลิต์หลายชนิดเพื่อกำจัดจุลินทรีย์ที่เป็นโทษ ยกตัวอย่างเช่น กรดไขมันสายสั้น (short chain fatty acids, SCFAs) และสารแบคทีริโอซิน (bacteriocins) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีรายงานประโยชน์อื่นๆ ต่อร่างกาย เช่น เพิ่มการดูดซึมสารอาหารลดปริมาณคอเลสเตอรอลในกระแสเลือด และป้องกันการเกิดมะเร็งในลำไส้ได้อีกด้วย [7-11] แนวทางการเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของโพรไบโอติกในทางเดินอาหารยังสามารถทำได้โดยการเสริมทั้งโพรไบโอติกและพรีไบโอติกที่มีความเฉพาะเจาะจงต่อกัน (selectively favor) ลงในอาหาร กลายเป็นองค์ประกอบที่เรียกว่า ซินไบโอติก (synbiotics) [4] ยกตัวอย่างเช่น องค์ประกอบระหว่าง *L. acidophilus* และน้ำตาล FOS หรือน้ำตาล อินูลิน (inulin) เป็นต้น [11]

ปัจจุบันพบว่ามียาอาหารหลายชนิดที่มีส่วนผสมของแบคทีเรียโพรไบโอติก ทั้งการใช้เพื่อหมักอาหารและที่เสริมลงไปในการอาหารเพื่อสร้างจุดเด่นให้กับผลิตภัณฑ์ในเชิงสุขภาพ ยกตัวอย่าง เช่น โยเกิร์ต นมเปรี้ยว ผักดอง ใส่กรอกหมัก เนยแข็ง ช็อกโกแลต และไอศกรีม เป็นต้น โดยไอศกรีมเป็นของหวานที่ได้รับความนิยมในกลุ่ม

* Corresponding author e-mail: pairotewong@gmail.com

¹ สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

² สำนักวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง เชียงราย 57100

ผู้บริโภครักษาสุขภาพ และทุกเชื้อชาติ ไอศกรีมจึงน่าจะมีศักยภาพและโอกาสที่ใช้เป็นตัวกลางอาหารเพื่อนำส่งเชื้อโพรไบโอติกเข้าสู่ร่างกายผู้บริโภค (probiotic-carrier food) ได้เป็นอย่างดี [12] อีกทั้งไอศกรีม โดยเฉพาะอย่างยิ่งไอศกรีมนมยังมีองค์ประกอบที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อโพรไบโอติก เช่น โพรตีนนม ไขมัน น้ำตาลแลคโทส และสารประกอบอื่นๆ มีงานวิจัยมากมายที่ศึกษาการผลิตไอศกรีมนมที่เสริมแบคทีเรียโพรไบโอติก เช่น ไอศกรีมรสช็อกโกแลตจากนมแพะ ที่เติมเชื้อ *L. acidophilus* LA-5 *B. animalis* subsp. *Lactis* BB-12 [13] ไอศกรีมนมวัวเสริมเชื้อ *S. salivarius* spp. *Thermophiles* *L. delbrueckii* ssp. *Bulgaricus* *L. acidophilus* LA-14 และ *B. lactis* BL-01 [14] ไอศกรีมนมควายผสมเชื้อ *L. gasseri* B-14168 *L. rhamnosus* B-445 *L. reuteri* B-14171 *L. acidophilus* La-5 (DVS) และ *B. bifidum* Bb-12 (DVS) [15] เป็นต้น ซึ่งในต่างประเทศก็ได้มีผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโพรไบโอติกวางจำหน่ายบ้างแล้ว ยกตัวอย่างเช่น ผลิตภัณฑ์ยี่ห้อ Anul Yovation® Active D'Lites และ Thrive เป็นต้น อย่างไรก็ตาม อุปสรรคที่สำคัญในการผลิตไอศกรีมโพรไบโอติกคือ กระบวนการผลิตไอศกรีมต้องทำที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็งของน้ำส่งผลให้เชื้อโพรไบโอติกตายได้ เพราะเซลล์เกิดความเสียหายจากผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ [13,16,17] ทำให้จำเป็นต้องเติมเชื้อในปริมาณที่มากขึ้น อย่างไรก็ตาม ได้มีวิธีการที่ใช้เพื่อป้องกันความเสียหายของเซลล์ อันเนื่องมาจากผลึกน้ำแข็งภายในเซลล์ เช่น การห่อหุ้มเซลล์ (cell entrapment) ด้วยสารโพลิเมอร์ธรรมชาติ หรือการเติมสารป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็ง (cryoprotectant) ลงในระบบของอาหารก็เป็นอีกหนึ่งแนวทางที่ได้รับความนิยม [18] คาดว่าเซลล์โพรไบโอติกที่ผ่านกระบวนการเหล่านี้จะมีชีวิตรอดมากขึ้นภายหลังผ่านกระบวนการผลิตไอศกรีม

ห้องปฏิบัติการวิจัยเทคโนโลยีชีวภาพทางอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ได้พัฒนา

กระบวนการห่อหุ้มเซลล์ *L. acidophilus* ด้วยกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย (spray drying) โดยใช้แป้งข้าวลินเเหล็ก ซึ่งเป็นข้าวพื้นเมืองของไทยเป็นวัสดุห่อหุ้ม และนอกจากนี้ ยังมีส่วนผสมของน้ำตาล RFO ที่เป็นสารโพรไบโอติกซึ่งเตรียมมาจากเมล็ดถั่วเหลืองสายพันธุ์เชียงใหม่ 60 ผงอนุภาคที่ได้นี้ยังคงมีเซลล์โพรไบโอติกที่มีชีวิตอยู่ในปริมาณสูง และจัดว่าเป็นซินไบโอติกรูปแบบหนึ่งได้ คาดว่าการเติมโพรไบโอติกลงในไอศกรีมในรูปแบบผงซินไบโอติกดังกล่าวนี้ น่าจะทำให้การรอดชีวิตของเชื้อโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมยังคงสูงได้ [19] อีกทั้ง น้ำตาล RFO ก็มีรายงานว่ามีความสมบัติเป็นสารป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งด้วย จึงเป็นที่มาของงานวิจัยครั้งนี้ที่มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตไอศกรีมนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกที่มีชีวิตในรูปแบบเซลล์อิสระหรือเซลล์ที่ถูกห่อหุ้ม (ผงซินไบโอติก) และศึกษาเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตของเชื้อโพรไบโอติกแต่ละรูปแบบในผลิตภัณฑ์ ตลอดจนศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีบางประการของไอศกรีมนมด้วย

วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. แบคทีเรียโพรไบโอติกและการผลิตมวลเซลล์

เชื้อโพรไบโอติกที่นำมาใช้ทดลองนี้เป็นแบคทีเรียสายพันธุ์ *L. acidophilus* TISTR 1338 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย เก็บรักษาในสารละลายกลีเซอรอล ความเข้มข้นร้อยละ 20 (v/v) ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส ทำการเตรียมหัวเชื้อโดยถ่ายเชื้อโคลนเดี่ยวที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งสูตร de Man, Rogosa and Sharpe agar (MRS) ลงในอาหารเหลวสูตร MRS ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยไม่มีการเขย่า จากนั้นถ่ายหัวเชื้อดังกล่าวปริมาณร้อยละ 1 (v/v) ลงในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เพาะเลี้ยงภายใต้สภาวะเดียวกันเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการเก็บเกี่ยวมวลเซลล์โดยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,000 rpm เป็น

* Corresponding author E-mail: pairotewong@gmail.com

¹Program in Biotechnology, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

²School of Science, Mae Fah Luang University, Chiang Rai, 57100 Thailand

เวลา 20 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ล้างเซลล์ด้วยน้ำเกลือที่ปราศจากเชื้อความเข้มข้น ร้อยละ 0.85 (w/v) จำนวน 2 ครั้ง แล้วแขวนลอยเซลล์กลับในน้ำเกลือปราศจากเชื้อปริมาณ 20 มิลลิลิตร เก็บรักษามวลเซลล์ไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 4 องศาเซลเซียส ไม่เกิน 24 ชั่วโมง หากยังไม่นำไปใช้ทันที

2. ผงซินไบโอติก

ผงซินไบโอติกที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ได้มาจากห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางอุตสาหกรรมเกษตร คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ซึ่งเป็นผงเชื้อโพรไบโอติกแห้งที่ถูกห่อหุ้มด้วยแป้งข้าวสาลีเล็ก (ข้าวสาลีเล็กได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทสุขสาธรรณะ จำกัด) และ RFO จากถั่วเหลืองพันธุ์เชียงใหม่ 60 มีลักษณะแสดงดัง Figure 1

3. การผลิตไอศกรีมนม

ผลิตไอศกรีมจำนวน 3 สูตร โดยแต่ละสูตรมีส่วนประกอบดังแสดงใน Table 1 โดย สูตรที่ 1 คือ ไอศกรีมนมสูตรมาตรฐาน (ชุดทดลองควบคุม) สูตรที่ 2 คือ ไอศกรีมนมที่เติมมวลเซลล์อิสระของ *L. acidophilus* TISTR 1338 และสูตรที่ 3 คือไอศกรีมนมที่เติมเซลล์ห่อหุ้มของ *L. acidophilus* TISTR 1338 ในรูปของผงซินไบโอติก ซึ่งในงานวิจัยเรียกไอศกรีมสูตรที่ 2 และ 3 ว่า ไอศกรีมโพรไบโอติก (probiotic ice cream) และไอศกรีมซินไบโอติก (synbiotic ice cream) ตามลำดับ ภายหลังจากผสมส่วนผสมแต่ละสูตรเป็นที่เรียบร้อยแล้ว พักส่วนผสมไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ก่อนนำไปปั่นขึ้นรูปเป็นไอศกรีมแต่ละสูตรทำโดยใช้เครื่องปั่นไอศกรีมขนาดเล็ก รุ่น HOM-122050 ยี่ห้อ Homemate ควบคุมเวลาการผลิตให้เท่ากันในแต่ละสูตรเป็นเวลา 45 นาที หลังจากนั้นแบ่งไอศกรีมเก็บไว้ในถ้วยเก็บตัวอย่าง เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ เคมีและชีวภาพของไอศกรีมโดยสุ่มตัวอย่างทุกสัปดาห์ เป็นเวลา 6 สัปดาห์

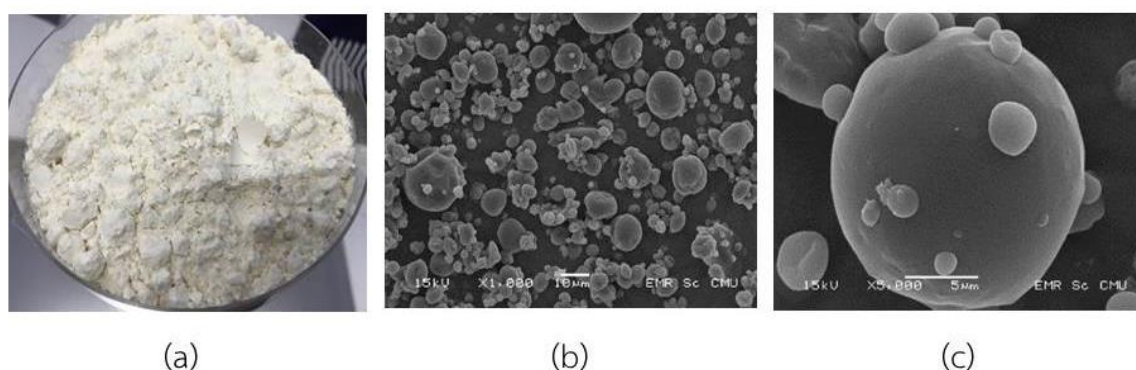


Figure 1 Synbiotic powder containing rice flour and soybean RFOs as wall material and probiotic *L. acidophilus* TISTR1338 (a) and morphology of synbiotic particles by scanning electron microscope at 1,000X (b) and 5,000X (c)

Table 1 Ingredients of three different ice cream formulas

* Corresponding author e-mail: pairotewong@gmail.com

¹ สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

² สำนักวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง เชียงราย 57100

Ingredients (g)	Standard ice cream	Probiotic ice cream	Synbiotic ice cream
Pasteurized cow milk (0% fat)	200	200	200
Whey protein	26	26	26
Cream powder	40	40	40
Whipping cream	195	195	195
Water	100	100	100
Sinlek flour	50	50	-
Synbiotic powder	-	-	50*
<i>L. acidophilus</i> TISTR 1338	-	7.25x10 ¹⁰ CFU	-

Note: *contains 7.25x10¹⁰ CFU of viable *L. acidophilus* TISTR 1338

4. การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของไอศกรีมนม

4.1 การละลายจนเกิดหยดแรกและการละลายอย่างสมบูรณ์ (first dripping and complete melting time)

บรรจุไอศกรีมลงในถ้วยพลาสติกปริมาณ 15 กรัม แช่ไว้ที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาคว่ำบนตะแกรงลวดที่มีช่องขนาด 0.2x0.2 เซนติเมตร ทำการศึกษาที่อุณหภูมิห้อง (30-31 องศาเซลเซียส) บันทึกเวลาที่ไอศกรีมเริ่มละลายจนเกิดหยดแรก และเวลาที่ไอศกรีมละลายอย่างสมบูรณ์ [13]

4.2 ค่าโอเวอร์รัน (overrun)

บรรจุไอศกรีมลงในหลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 15 มิลลิลิตร (HCD-1003-CEN, HYCON) จนเต็มหลอด แล้วนำไปแช่ไว้ที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง บันทึกปริมาตรเริ่มต้นของไอศกรีม จากนั้นนำมาไล์ฟองอากาศ ด้วยเครื่อง sonicator (รุ่น D ยี่ห้อ CREST) เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นบันทึกปริมาตรของไอศกรีมอีกครั้ง แล้วคำนวณค่าโอเวอร์รันตามสูตร

โอเวอร์รัน (ร้อยละ)

$$= \frac{(\text{ปริมาตรไอศกรีมเริ่มต้น} - \text{ปริมาตรไอศกรีมหลังการไล์ฟองอากาศ}) \times 100}{\text{ปริมาตรไอศกรีมเริ่มต้น}}$$

4.3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และค่าความเป็นกรด (acidity)

นำตัวอย่างไอศกรีมมาตั้งทิ้งไว้ให้ละลายที่อุณหภูมิห้อง แล้ววัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่อง pH meter รุ่น PP ยี่ห้อ Sartorius และนำตัวอย่างที่ละลายแล้วปริมาตร 5 มิลลิลิตร มาบันทึกน้ำหนัก จากนั้นหยดสารละลายฟีนอล์ฟทาเลอิน ความเข้มข้น ร้อยละ 1 (w/v) ลงไป 2-3 หยด ไตเตรทด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล และบันทึกปริมาตรของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไป คำนวณค่าร้อยละกรดทั้งหมด (เทียบกับกรดแลคติก) จากสูตร

% Titration acidity

$$= \frac{[\text{ml of NaOH used} \times \text{normality of NaOH} \times 90]}{\text{Volume of sample in ml} \times 1000} \times 100$$

5. การรอดชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติกในไอศกรีมนม

ทำการวิเคราะห์จำนวนเชื้อแบคทีเรีย *L. acidophilus* TISTR1338 ในตัวอย่างไอศกรีมโพรไบโอติกและ ไอศกรีมซินไบโอติก โดยเก็บตัวอย่างทั้งก่อนและหลังการปั่นไอศกรีมปริมาณ 1 กรัม ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ นำมาเจือจางแบบ ten-fold dilution ในน้ำเกลือ

* Corresponding author E-mail: pairotewong@gmail.com

¹Program in Biotechnology, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

²School of Science, Mae Fah Luang University, Chiang Rai, 57100 Thailand

ปลอดเชื้อความเข้มข้น ร้อยละ 0.85 (w/v) และนำไปนับเชื้อด้วยเทคนิค pour plate บนอาหาร MRS agar บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

นอกจากนั้น ทำการศึกษาการรอดชีวิตของ *L. acidophilus* TISTR1338 เมื่อทำการเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส โดยเก็บตัวอย่าง 1 กรัม มาตรวจนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตด้วยวิธีการดั่งที่กล่าวไว้แล้ว ทั้งนี้ทำการวิเคราะห์ทุกสัปดาห์เป็นเวลา 6 สัปดาห์

6. การวิเคราะห์ทางสถิติ

แต่ละการทดลองจะถูกศึกษาจำนวน 3 ซ้ำ และการทำการวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยโปรแกรมทางสถิติสำเร็จรูป SPSS 19

(statistical package for the social science for windows 19)

ผลการทดลองและวิจารณ์

ไอศกรีมทั้งสามสูตร ได้แก่ ไอศกรีมนมสูตรมาตรฐาน ไอศกรีมนมโพรไบโอติก และไอศกรีมนมซินไบโอติกได้ถูกผลิตขึ้น และโดยทั่วไปแล้วพบว่า มีลักษณะปรากฏที่คล้ายกัน โดยมีเนื้อสัมผัสนุ่ม มีกลิ่นนมสดที่ชัดเจน และมีสีขาว แต่พบว่าไอศกรีมซินไบโอติกมีสีขาวปนเหลืองเล็กน้อย ดังแสดงใน Figure 2 (a-c) ไอศกรีมทั้ง 3 สูตร ได้ถูกนำไปทดสอบในประเด็นต่างๆ และผลการทดลองแสดงดังต่อไปนี้

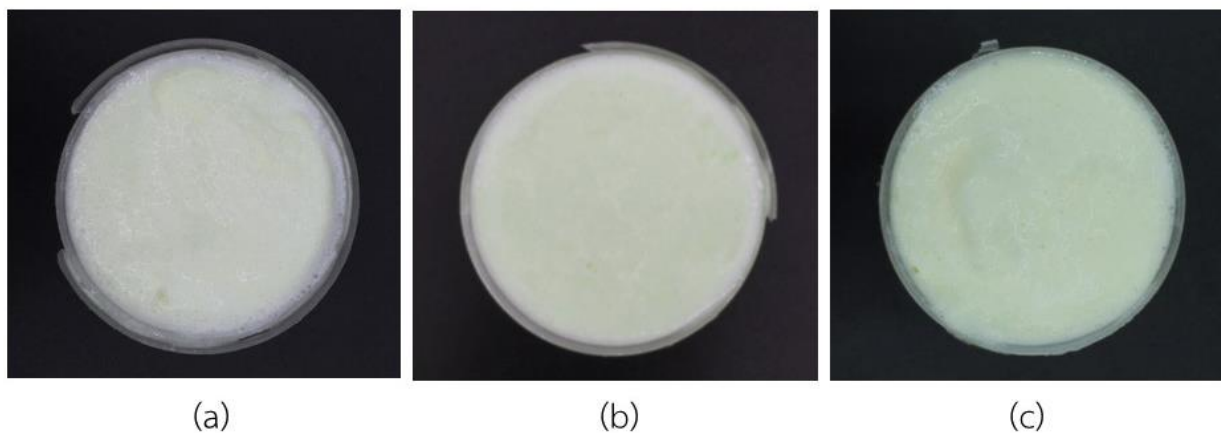


Figure 2 The appearance of standard milk ice cream (a), probiotic ice cream (b) and synbiotic ice cream (c)

1. คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของไอศกรีมนม

จากการวิเคราะห์ค่าโอเวอร์รันของไอศกรีมนมเสริมโพรไบโอติกทั้งรูปแบบเซลล์อิสระและเซลล์ที่ถูกห่อหุ้มในรูปแบบผงซินไบโอติกพบว่า มีความแตกต่างกันแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ดังแสดงใน Figure 3 โดยมีค่าประมาณ ร้อยละ 5-6 อย่างไรก็ตาม ค่าดังกล่าวนี้ยังพบว่าต่ำกว่าไอศกรีมนมสูตรมาตรฐานประมาณสามเท่า ผู้วิจัยคาดว่า ผงแป้งข้าวสาลีหลักที่

เติมลงในไอศกรีม (ร้อยละ 8 โดยน้ำหนัก) ทั้งในรูปแบบผงแป้ง (สูตรไอศกรีมโพรไบโอติก) และผงซินไบโอติก (สูตรไอศกรีมซินไบโอติก) น่าจะมีผลโดยตรงต่อค่าโอเวอร์รัน โดยค่าโอเวอร์รันสามารถใช้เป็นค่าที่บ่งบอกถึงสัดส่วนอากาศที่มีอยู่ในไอศกรีมและขนาดของช่องอากาศในเนื้อไอศกรีม ค่าโอเวอร์รันที่สูงทำให้เนื้อไอศกรีมมีความนุ่มมากขึ้นเมื่อสัมผัสในปาก [20] ซึ่งก็สอดคล้องกับลักษณะเนื้อสัมผัสที่สังเกตได้ของไอศกรีม

* Corresponding author e-mail: pairotewong@gmail.com

¹ สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

² สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง เชียงราย 57100

โพรไบโอติกและซินไบโอติก ที่พบว่ามีความแน่นเนื้อที่สูงกว่าไอศกรีมนมสูตรมาตรฐาน ชนิดของแบ้งและสัดส่วนแบ้งที่เสริมลงในไอศกรีมล้วนส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าโอเวอร์รันทั้งสิ้น ยกตัวอย่างเช่น การเสริมแบ้งจากเนื้อกล้วยและเปลือกกล้วยลงในไอศกรีมในสัดส่วนเพียง ร้อยละ 1-2 โดยน้ำหนัก มีผลให้ค่าโอเวอร์รันของไอศกรีมนมลดลงประมาณ ร้อยละ 22-30 [21] แต่ในขณะที่การผสมแบ้งจากกล้วยไข่ กล้วยหอมทอง และกล้วยน้ำว้าปริมาณ ร้อยละ 4.83 โดยน้ำหนัก ในไอศกรีมนมโพรไบโอติกที่เติมเชื้อ *L. casei* TISTR1463 หรือ *L. acidophilus* TISTR1338 กลับแทบไม่ส่งผลกระทบต่อค่าโอเวอร์รันเมื่อเทียบกับไอศกรีมที่ไม่เติมแบ้ง [22] เช่นเดียวกับ Parussolo และคณะ (2017) ที่รายงานว่าแบ้งจากหัวบัวหิมะ (yacon) ไม่ส่งผลต่อค่าโอเวอร์รันเมื่อเติมในปริมาณ 1.5-3.0% โดยน้ำหนัก [23]

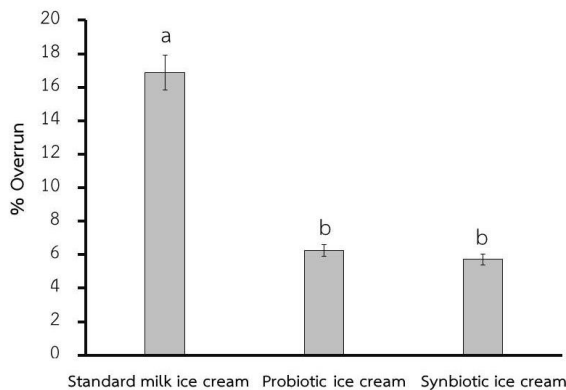
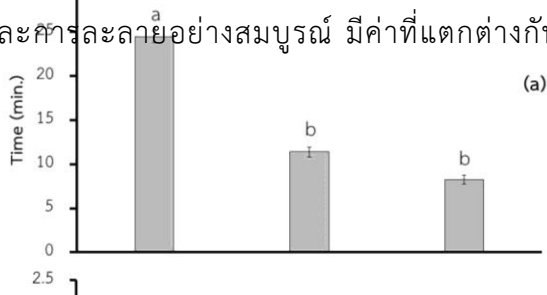


Figure 3 % Overrun of three formulas of milk ice cream. Means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

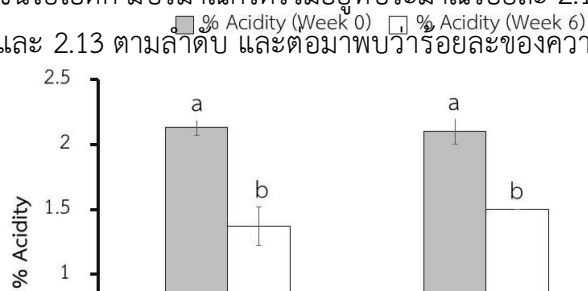
ค่าโอเวอร์รันยังมีผลต่อลักษณะทางกายภาพอื่นๆ อีกด้วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งการละลายของไอศกรีม [10] โดยพบว่าเวลาที่ใช้ในการละลายจนเกิดหยดแรกและการละลายอย่างสมบูรณ์ มีค่าที่แตกต่างกันใน



ไอศกรีมแต่ละสูตร ดังแสดงใน Figure 4 ไอศกรีมนมที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกในรูปแบบเซลล์อิสระละลายจนเกิดหยดแรกช้ากว่าเซลล์ที่ถูกห่อหุ้มในรูปแบบผงซินไบโอติกแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยใช้เวลาอยู่ในช่วง 8-12 นาที อย่างไรก็ตาม เวลาที่ใช้ในการละลายจนเกิดหยดแรกของไอศกรีมทั้งสองสูตรนี้ ยังน้อยกว่าไอศกรีมนมสูตรมาตรฐาน ($p < 0.05$) ที่มีค่าโอเวอร์รันสูงกว่า โดยใช้เวลาประมาณ 24 นาที ค่าโอเวอร์รันที่สูงหมายถึงการมีสัดส่วนของอากาศในเนื้อไอศกรีมสูง ซึ่งความร้อนถูกถ่ายเทผ่านอากาศได้ต่ำ ดังนั้นจึงน่าจะเป็นอีกหนึ่งเหตุผลในการอธิบายว่าไอศกรีมที่มีค่าโอเวอร์รันสูง มักละลายได้ช้ากว่าไอศกรีมที่มีค่าโอเวอร์รันต่ำ [20] แต่เมื่อเวลาผ่านไปจนเกิดการละลายอย่างสมบูรณ์ของไอศกรีมทั้งสามสูตร ผลปรากฏว่า ไอศกรีมนมสูตรมาตรฐานกลับใช้เวลาในการละลายอย่างสมบูรณ์เร็วกว่าสูตรโพรไบโอติกและซินไบโอติก ($p < 0.05$) ดังแสดงใน Figure 4 อย่างไรก็ตาม คาดว่าในความเป็นจริงแล้ว ไอศกรีมทั้งสองสูตรอาจเกิดการละลายสมบูรณ์เป็นที่เรียบร้อยแล้วแต่โครงสร้างเนื้อแบ้งอาจเก็บกักไอศกรีมเหลวไว้ จึงทำให้ไม่สามารถหยดลงมาได้อย่างอิสระและดูคล้ายว่ายังละลายไม่สมบูรณ์ก็เป็นได้ Sofjan และคณะ (2004) ได้ระบุว่าค่าโอเวอร์รันที่สูงจะทำให้เกิดผลึกน้ำแข็งที่มีขนาดเล็กและความแข็งตัวของไอศกรีมต่ำ และยังพบว่าค่าโอเวอร์รันมีผลต่อความเรียบเนียนของไอศกรีม โดยไอศกรีมที่มีค่าโอเวอร์รันสูง จะทำให้ความเรียบเนียนของไอศกรีมสูงและส่งผลให้ความพึงพอใจต่อผู้บริโภคสูงอีกด้วย [20,24] อย่างไรก็ตาม ปริมาณออกซิเจนที่เพิ่มขึ้นจากอากาศในไอศกรีมอาจส่งผลเสียต่อการรอดชีวิตของโพรไบโอติกที่ซึ่งไม่ต้องการอากาศในการเจริญ ผลการทดลองประเด็นนี้จะได้รายงานในหัวข้อต่อไป

Figure 4 Time consumed for the first dripping (a) and complete melting (b) of three formulas of milk ice cream. Means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

ภายหลังการผลิตไอศกรีมทั้งสามสูตรเป็นที่เรียบร้อยแล้วทำการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง แล้วพบว่า มีค่าอยู่ระหว่าง 6.09 - 6.13 ซึ่งใกล้เคียงกันมาก และไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ดังแสดงใน Figure 5 ซึ่งเป็นระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *L. acidophilus* [23] ทำให้เห็นว่าการเติมเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกลงในไอศกรีมไม่ว่าจะอยู่ในรูปแบบเซลล์อิสระหรือเซลล์ห่อหุ้มก็ไม่กระทบต่อค่าความเป็นกรด-ด่างของไอศกรีม ในการศึกษาครั้งนี้ได้ทำการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรดโดยรวมในไอศกรีมนมสูตรเติมเชื้อโพรไบโอติกทั้งสองสูตรด้วย โดยนอกจากเปรียบเทียบระหว่างรูปแบบของเซลล์โพรไบโอติกแล้ว ยังเปรียบเทียบในตัวอย่างภายหลังการเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 6 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียสด้วย ผลการวิเคราะห์ยังคงพบว่ารูปแบบของเซลล์โพรไบโอติกไม่มีผลต่อค่าความเป็นกรด ดังแสดงใน Figure 6 ไอศกรีมสูตรโพรไบโอติกและซินไบโอติก มีปริมาณกรดรวมอยู่ที่ประมาณร้อยละ 2.10 และ 2.13 ตามลำดับ และต่อมาพบว่าร้อยละของความ



เป็นกรดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยร้อยละของความเป็นกรดสุดท้ายของไอศกรีมสูตรโพรไบโอติกลดลงเหลือเพียง ร้อยละ 1.37 ส่วนของสูตรซินไบโอติกลดลงเหลือ ร้อยละ 1.5 แตกต่างจากงานวิจัยหลายฉบับที่พบว่าปริมาณกรดของไอศกรีมที่เสริมเชื้อโพรไบโอติกเพิ่มขึ้นภายหลังการเก็บรักษาไว้ภายใต้สภาวะที่กำหนด โดยเฉพาะอย่างยิ่งในไอศกรีมโยเกิร์ตชนิดซินไบโอติกซึ่งค่าปริมาณกรดเพิ่มขึ้นภายหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 6 สัปดาห์ อีกทั้งการเสริมน้ำตาลฟรีโพรไบโอติกกลุ่ม FOS ก็ยังส่งผลให้ปริมาณกรดเพิ่มขึ้นด้วย [25] ส่วนไอศกรีมซินไบโอติกที่ผสมแบคทีเรียบางสูตรก็มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดหลังการเก็บรักษา 8 สัปดาห์ แต่หลังจากนั้นปริมาณกรดก็ลดลง [23] การลดลงของปริมาณกรดโดยรวมในงานวิจัยครั้งนี้ ยังไม่สามารถอธิบายว่าเกิดจากกลไกใด แต่การเพิ่มขึ้นของกรดคาดว่าเนื่องมาจากสารอินทรีย์ที่มีคุณสมบัติความเป็นกรดเช่น กรดไขมันและกรดอะมิโนทั้งที่เป็นส่วนประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์และที่อยู่ภายในเซลล์แบคทีเรียถูกปลดปล่อยออกมาเมื่อเซลล์แตกระหว่างที่ได้รับความเย็นจากกระบวนการผลิตไอศกรีม [26]

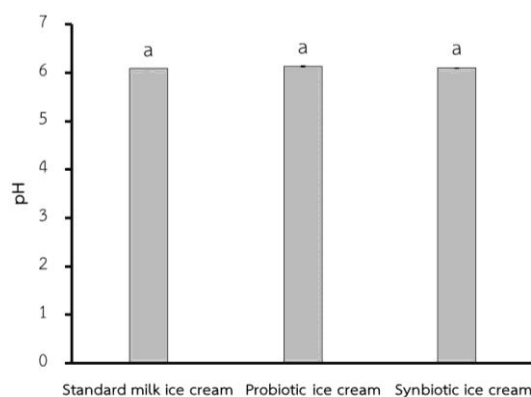


Figure 5 pH value of three formulas of milk ice cream. Means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

Figure 6 % Acidity of three formulas of milk ice cream. Means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

2. การรอดชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติก

การรอดชีวิตของ *L. acidophilus* TISTR1338 ในไอศกรีมสูตรโพรไบโอติกและซินไบโอติกได้ถูกศึกษาทั้งในระหว่างกระบวนการผลิตไอศกรีมและระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่าภายใต้สภาวะของการผลิตไอศกรีม (ต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45-60 นาที) จำนวนของ *L. acidophilus* TISTR1338 ลดลงในไอศกรีมทั้งสองสูตร แต่เชื้อที่ถูกห่อหุ้มไว้ (สูตรซินไบโอติก) มีอัตราการรอดชีวิตที่สูงกว่าเชื้อในรูปแบบเซลล์อิสระ (สูตรโพรไบโอติก) ประมาณร้อยละ 5.82 ดังแสดงใน Figure 7 สอดคล้องกับรายงานอื่นๆ ที่ระบุว่าระหว่างกระบวนการปั่นไอศกรีม เซลล์ของเชื้อโพรไบโอติกจะได้รับความเสียหายที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์จากผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้น จึงเป็นสาเหตุของการลดจำนวนของเชื้อโพรไบโอติก [10,27,28] นอกจากนี้ในขั้นตอนการปั่นไอศกรีมนั้นเป็นการเติมอากาศลงในไอศกรีม แต่แบคทีเรียจีส *Lactobacillus* sp. จัดอยู่ในกลุ่ม microaerophile ซึ่งแทบไม่ต้องการออกซิเจนในการเติบโต อีกทั้งออกซิเจนยังเป็นพิษต่อเซลล์โดยก่อให้เกิดการสะสมของ O_2^- OH^- และ H_2O_2 ภายในเซลล์ ในขณะที่แบคทีเรียกลุ่มนี้ไม่มี

กลไกที่มีประสิทธิภาพในการกำจัดสารเมแทบอลิท์จากออกซิเจนเหล่านี้ และยังพบอีกว่า H_2O_2 ขัดขวางการทำงานของเอนไซม์ fructose-6-phosphofructokinase ที่เป็นเอนไซม์สำคัญในกระบวนการเมแทบอลิซึมของน้ำตาล [10] ดังนั้นออกซิเจนจึงเป็นอีกหนึ่งสาเหตุที่ทำให้จำนวนเชื้อโพรไบโอติกลดลง ผลการทดลองครั้งนี้ช่วยยืนยันได้ว่าการห่อหุ้มเซลล์โพรไบโอติกด้วยแป้งข้าวช่วยเซลล์ให้รอดชีวิตจากกระบวนการผลิตไอศกรีมได้มากขึ้น โดยทำให้เซลล์หลีกเลี่ยงการสัมผัสกับสภาพแวดล้อมที่รุนแรงโดยตรง ไม่ว่าจะเป็นกระบวนการผลิตอาหารและสภาพแวดล้อมในทางเดินอาหารส่วนต้น ก่อนหน้านี้นี้ยังมีรายงานถึงการใช้แคลเซียมอัลจีเนต (calcium alginate) โปรตีนเวย์ (whey protein) และมอลโตเด็คทรีน (maltodextrin) เป็นวัสดุห่อหุ้มเซลล์โพรไบโอติกก่อนผสมในไอศกรีมนม [12,25,29,30]

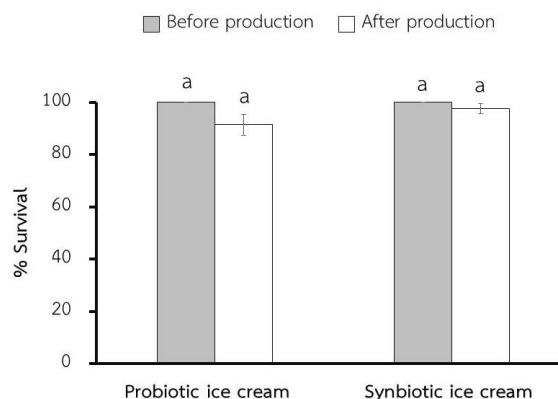


Figure 7 %Survival of *L. acidophilus* TISTR1338 before and after ice cream production. Means with different superscripts are significantly different ($p < 0.05$).

นอกจากนี้ยังคาดว่าน้ำตาล RFO จากถั่วเหลืองที่เสริมลงไปนไอศกรีมสูตรซินไบโอติกน่าจะเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่ช่วยลดการตายของเซลล์โพรไบโอติกในไอศกรีมเนื่องจากมีคุณสมบัติช่วยป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งภายใน

* Corresponding author E-mail: pairotewong@gmail.com

¹Program in Biotechnology, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

²School of Science, Mae Fah Luang University, Chiang Rai, 57100 Thailand

เซลล์ได้ นั่นคือมีคุณสมบัติเป็นสาร cryoprotectant [31] เซลล์จึงเกิดความเสียหายน้อยลงจากผลึกน้ำแข็งทั้งภายนอกและในเซลล์ อย่างไรก็ตาม น้ำตาลซูโครสก็จัดว่าเป็นหนึ่งในกลุ่มสาร cryoprotectant และมีการเติมลงในไอศกรีมทั้งสูตรโพรไบโอติกและซินไบโอติกเพื่อให้ความหวาน คาดว่าอัตราการรอดชีวิตของ *L. acidophilus* TISTR1338 ในไอศกรีมนั้นอาจต่ำกว่านี้หากไม่มีการเติมน้ำตาลซูโครส

ทั้งกระบวนการห่อหุ้มเซลล์และการเติมสาร cryoprotectant ลงในไอศกรีมนี้ นอกจากเพื่อช่วยป้องกันความเสียหายของเซลล์โพรไบโอติกระหว่างกระบวนการผลิตไอศกรีมแล้ว ยังคาดว่าจะสามารถรักษาสภาพเซลล์ระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ด้วย และมีรายงานว่าประสิทธิภาพการรักษาสภาพเซลล์รวมถึงการเอื้อให้โพรไบโอติกสามารถเจริญได้ดีขึ้นนั้น สามารถทำได้โดยการเสริมสารโพรไบโอติกลงในไอศกรีมด้วย [10,23] จากผลการศึกษาการรอดชีวิตของเชื้อในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 สัปดาห์ ก็พบว่า ภายหลังจากเก็บรักษาเป็นเวลาหนึ่งสัปดาห์แล้ว สามารถตรวจพบการเพิ่มขึ้นเล็กน้อยของจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตในไอศกรีมสูตรโพรไบโอติก แต่ไม่พบการเพิ่มขึ้นลักษณะนี้ในไอศกรีมสูตรซินไบโอติก ทั้งนี้คาดว่าเนื่องมาจากเซลล์โพรไบโอติกในรูปแบบที่ไม่มีวัสดุห่อหุ้มนี้เกิดความเสียหายจากแรงเฉือน (shear force) และสภาวะรุนแรงอื่นๆ ระหว่างกระบวนการปั่นไอศกรีม แม้ยังคงมีชีวิตอยู่แต่อัตราการเจริญต่ำ และภายหลังจากพักตัวในไอศกรีมและบ่มเป็นเวลาหนึ่งสัปดาห์แล้ว อัตราการเจริญของเซลล์น่าจะกลับสู่สภาวะปกติได้ จึงพบผลการทดลองได้ดัง Figure 8 แต่หลังจากนั้น จำนวนเชื้อที่มีชีวิตแทบไม่เปลี่ยนแปลง ($p>0.05$) ในไอศกรีมทั้งสูตรโพรไบโอติกและซินไบโอติกตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาเป็นเวลา 5 สัปดาห์ การตรวจพบการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตนี้ พบได้เช่นกันในไอศกรีมโพรไบโอติกที่ผลิต

จากนมแกะ [13] อย่างไรก็ตาม ในสัปดาห์ที่ 6 พบว่าจำนวนเชื้อในไอศกรีมซินไบโอติก ลดลงเล็กน้อยประมาณ ร้อยละ 3 ($p<0.05$) ทั้งนี้อาจเป็นไปได้ว่าน่าจะเกิดจากข้อจำกัดในการสกัดเซลล์ออกจากอนุภาคผงซินไบโอติกภายหลังเก็บรักษาเป็นเวลานานที่อุณหภูมิ ต่ำ จึงทำให้ตรวจวัดจำนวนเชื้อได้น้อยลง อย่างไรก็ตาม อาจกล่าวได้ว่าเชื้อโพรไบโอติกในไอศกรีมทั้งสองสูตร ยังคงมีอัตราการรอดชีวิตที่ดีแม้เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 สัปดาห์

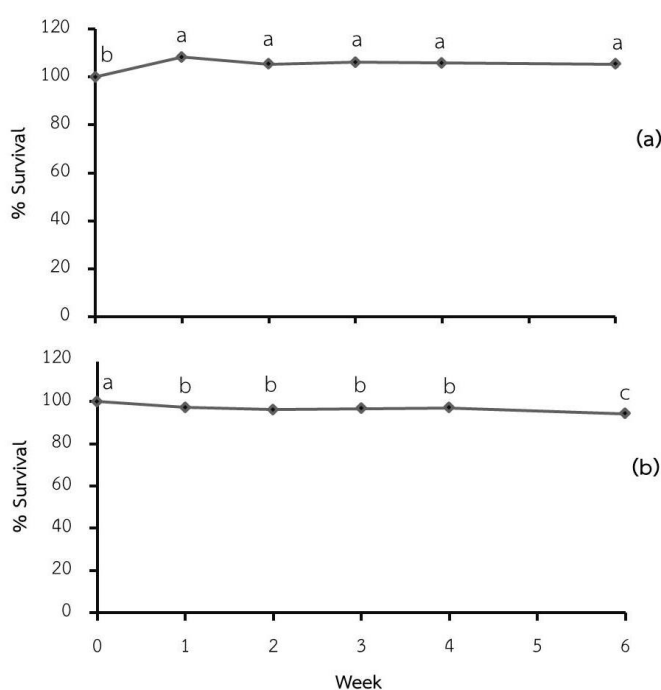


Figure 8 % Survival of *L. acidophilus* TISTR 1338 in probiotic ice cream (a) and synbiotic ice cream (b) during 6 week of storage at -10°C . Means with different superscripts are significantly different ($p<0.05$).

สรุปผล

จากการศึกษาพบว่า มีความเป็นไปได้ในการผลิตไอศกรีมนมเสริมโพรไบโอติกสายพันธุ์ *L. acidophilus* TISTR 1338 ทั้งในรูปแบบเซลล์อิสระและเซลล์ที่ถูก

* Corresponding author e-mail: pairotewong@gmail.com

¹ สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

² สำนักวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง เชียงราย 57100

ห่อหุ้ม ทำให้ได้ไอศกรีมที่เรียกว่าไอศกรีมโพรไบโอติก และไอศกรีมซินไบโอติก ไอศกรีมนมทั้งสองสูตรนี้มีคุณสมบัติบางประการที่แตกต่างจากไอศกรีมนมสูตรมาตรฐาน ได้แก่ ค่าโอเวอร์รันและเวลาที่ใช้ในการละลาย จนเกิดหยดแรกที่ต่ำลง ในขณะที่เวลาที่ใช้ในการละลายอย่างสมบูรณ์มีค่าสูงขึ้นกว่าไอศกรีมนมสูตรมาตรฐาน ส่วนค่าความเป็นกรด-ด่าง ของไอศกรีมนมทั้งสามสูตร นั้นไม่มีความแตกต่างกัน ผลการทดลองยังสามารถสรุปได้ อีกว่าการห่อหุ้มเซลล์ด้วยแป้งข้าวและน้ำตาล RFO ช่วย ให้ *L. acidophilus* TISTR 1338 รอดชีวิตระหว่าง กระบวนการผลิตไอศกรีมนมได้สูงขึ้นเมื่อเทียบกับเซลล์ รูปแบบอิสระ อย่างไรก็ตาม เซลล์โพรไบโอติกทั้งสอง รูปแบบยังสามารถรอดชีวิตในปริมาณที่สูงได้แม้ทำการ เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -10 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ โดยไอศกรีมสูตรโพรไบโอติกไม่พบการลดลงของ เชื้อ ในขณะที่ไอศกรีมสูตรซินไบโอติกมีการลดลงประมาณ ร้อยละ 5.8

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะ วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้ความอนุเคราะห์ สถานที่ เครื่องมือวิทยาศาสตร์และอุปกรณ์ในการทำ วิจัย ตลอดจนผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่านที่ให้ความ อนุเคราะห์สนับสนุนงานวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- [1] Fuller, R. (1989). Probiotics in man and animals. *Journal of Applied Bacteriology*. 66(5): 365-378.
- [2] Picot, A. and Lacroix, C. (2004). Encapsulation of bifidobacteria in whey protein-based microcapsules and survival in simulated gastrointestinal conditions and in yoghurt. *International Dairy Journal*. 14: 505-515.

- [3] Rajam, R., Karthik, P., Parthasarathi, S., Joseph, G.S. and Anandharamakrishnan, C. (2012). Effect of whey protein-alginate wall systems on survival of microencapsulated *Lactobacillus plantarum* in simulated gastrointestinal conditions. *Journal of Functional Foods*. 4(4): 891-898.
- [4] Gibson, G.R., and Roberfroid, M.B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Journal of Nutrition*. 125(6): 1401-1412.
- [5] Etchepare, M.D.A., Raddatz, G.C., Flores, E.M.M., Zepka, L.Q., Jacop-Lopes, E., Barin, J.S., Grosso, C.R.F. and Menezes, C.R. (2016). Effect of resistant starch and chitosan on survival of *Lactobacillus acidophilus* microencapsulated with sodium alginate. *LWT- Food Science and Technology*. 65: 511-517.
- [6] Gibson, G.R. (2004). Fibre and effects on probiotics (the prebiotic concept). *Clinical Nutrition Supplements*. 1(2): 25-31.
- [7] Crittenden, R., Laitila, A., Forssell, P., Matto, J., Saarela, M., Mattila-Sandholm, T. and Myllarinen, P. (2001). Adhesion of bifidobacteria to granular starch and its implications in probiotic technologies. *Applied and Environmental Microbiology*. 67(8): 3469-3475.
- [8] Chow, J. (2002). Probiotics and prebiotics: A brief overview (Review). *Journal of Renal nutrition* 12(2): 76-86.

* Corresponding author E-mail: pairotewong@gmail.com

¹Program in Biotechnology, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

²School of Science, Mae Fah Luang University, Chiang Rai, 57100 Thailand

- [9] Anal, A.K. and Singh, H. (2007). Recent advances in microencapsulation of probiotics for industrial applications and targeted delivery. *Trends in Food Science and Technology*. 18(5): 240-251.
- [10] Cruz, A.G., Antunes, A.E.C., Sousa, A.L.O.P., Faria, J.A.F. and Saad, S.M.I. (2009). Ice-cream as a probiotic food carrier (Review). *Food Research International*. 42(9): 1233-1239.
- [11] De Vrese, M. and Schrezenmeir, J. and (2008). Probiotics, prebiotics, and synbiotics. *Advances in Biochemical Engineering/ Biotechnology*. 111: 1-66.
- [12] Homayouni, A., Azizi, A., Ehsani, M.R., Yarmand, M.S. and Razavi, S.H. (2008). Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. *Food Chemistry*. 111(1): 50-55.
- [13] Ranadheera, C.S., Evans, C.A., Adams, M.C. and Baines, S.K. (2013). Production of probiotic ice cream from goat's milk and effect of packaging materials on product quality. *Small Ruminant Research*. 112(1): 174-180.
- [14] Akin, M.B., Akin, M.S. and Kirmaci, Z. (2007). Effects of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice-cream. *Food Chemistry*. 104: 93-99
- [15] Salem, M.M.E., Fathi, F.A. and Awad, R.A. (2005). Production of probiotic ice cream. *Polish Journal of Food and Nutrition science*. 14/55(3): 267-271.
- [16] Magarinos, H., Selaive S., Costa, M., Flores, M. and Pizarro, O. (2007). Viability of probiotic micro-organisms (*Lactobacillus acidophilus* La5 and *Bifidobacterium animalis* subsp. lactis Bb12) in ice cream. *International Journal of Dairy Technology*. 60(2): 128-134.
- [17] Nousia, F.G., Androulakis, P.I. and Fletouris, D.J. (2011). Survival of *Lactobacillus acidophilus* LMGP-21381 in probiotic ice cream and its influence on sensory acceptability. *International Journal of Dairy Technology*. 64(1): 130-136.
- [18] Capela, P., Hay, T. and Shah, N. (2006). Effect of cryoprotectants, prebiotics and microencapsulation on survival of probiotic organisms in yoghurt and freeze-dried yoghurt. *Food Research International*. 39(2): 203-211.
- [19] นงคราญ พงศ์ตระกูล และไพโรจน์ วงศ์พุทธิสิน. (2559). การศึกษาความเป็นไปได้ของการห่อหุ้มเชื้อโปรไบโอติกโดยใช้แป้งทนย่อยเป็นวัสดุห่อหุ้ม. หน้า 395-403 ใน การประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 38 ในหัวข้อเรื่อง “บัณฑิตศึกษากับการพัฒนาสู่โลกาภิวัตน์” ระหว่างวันที่ 19-20 กุมภาพันธ์ 2559. Proceedings (กลุ่มวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี) เล่มที่ 2.1. บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยนเรศวร.
- [20] Sofjan, R.P. and Hartel, R. W. (2004). Effects of overrun on structural and physical characteristics of ice cream. *International Dairy Journal*. 14(3):255-262.

* Corresponding author e-mail: pairotewong@gmail.com

¹ สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ เชียงใหม่ 50290

² สำนักวิชาวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง เชียงราย 57100

- [21] Yangilar, F. (2015). Effects of green banana flour on the physical, chemical and sensory properties of ice cream. *Food Technology Biotechnology*. 53(3): 315-323.
- [22] Phuapaiboon, P. (2016). Immobilization of probiotic bacteria with banana flour and effect on quality of synbiotic ice cream and survival under simulated gastrointestinal conditions. *Carpathian Journal of Food Science and Technology*. 8(4): 33-46.
- [23] Parussolo, G., Busatto, R.T., Schmitt, J., Pauletto, R., Schons, P.F. and Ries, E.F. (2017). Synbiotic ice cream containing yacon flour and *Lactobacillus acidophilus* NCFM. *LWT- Food Science and Technology*. 82: 192-198.
- [24] Marshall, R.T. and Arbuckle, W.S. (1996). *Ice cream*. 5th ed., Chapman & Hall, New York.
- [25] Ahmadi, A., Milan, E., Madadlou, A., Mortazavi, S.A., Mokarram, R.R. and Salarbashi, D. (2014). Synbiotic yogurt-ice cream produced via incorporation of microencapsulated *Lactobacillus acidophilus* (la-5) and fructooligosaccharide. *Journal of Food Science and Technology*. 51(8): 1568-1574.
- [26] Denich, T.J., Beaudett, L.A., Lee, H. and Trevors, J.T. (2003). Effect of selected environmental and physico-chemical factors on bacteria cytoplasmic membranes. *Journal of Microbiology Methods*. 52(2): 149-182.
- [27] Hekmat, S. and McMahon, D.J. (1992). Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in ice cream for use as a probiotic food. *Journal of Dairy Science*. 75(6): 1415-1422.
- [28] Mohammadi, R. and Mortazavian, A.M. (2010). Technological aspects of prebiotics in probiotic fermented milks. *Food Reviews International*. 27(2): 192-212.
- [29] Karthikeyan, N., Elango, A., Kumaresan, G., Gopalakrishnamurthy, T.R. and Raghunath, B.V. (2014). Enhancement of probiotic viability in ice cream by microencapsulation. *International Journal of Science, Environment*. 3(1): 339-347.
- [30] Spigno, G., Garrido, G.D., Guidesi, E. and Elli, M. (2015). Spray-drying encapsulation of probiotics for ice-cream application. *Chemical Engineering Transactions*. 43: 49-54.
- [31] Hubalex, Z. (2003). Protectants use in the cryopreservation of microorganisms. *Cryobiology*. 46(3): 205-229.

* Corresponding author E-mail: pairotewong@gmail.com

¹Program in Biotechnology, Faculty of Science, Maejo University, Chiang Mai, Thailand 50290

²School of Science, Mae Fah Luang University, Chiang Rai, 57100 Thailand