



ผลของผงสีสกัดจากดอกอัญชันต่อคุณภาพของเครื่องดื่มคีเฟอร์

Effect of Butterfly Pea Flower Extract on Quality of Kefir Beverage

ทิพพรักษ์ วงษาดิ*, วานิสา คืบสูงเนิน, ปฏิวทิย ลอยพิมาย, กุหลาบ สิทธิสวนจิก, นวพร หงส์พันธุ์

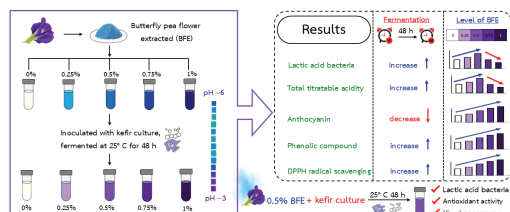
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

กรุงเทพมหานคร 10600

Thippharak Wongsadee*, Wanisa Keepsungnean, Patiwit Loypimai, Kulab Sittisuanjik, Nawaporn Hongpan
 Department of Food Science and Technology, Faculty of Science and Technology, Bansomdejchaopraya
 Rajabhat University, Bangkok 10600

Received 14 January 2025; Received in revised 9 April 2025; Accepted 11 April 2025

GRAPHICAL ABSTRACT



ABSTRACT

Butterfly pea flower extract (BFE) was used in this study as an alternate substrate for kefir beverage production. The interaction between different BFE concentrations (0, 0.25, 0.5, 0.75, and 1%) and kefir culture fermentation (before and after) was investigated. The results showed that anthocyanin content, total phenolic compounds, and DPPH radical scavenging activity in the samples increased with higher BFE concentrations, both before and after fermentation. The addition of 0.25% and 0.5% BFE increased the growth of lactic acid bacteria, whereas 0.75% and 1% BFE

reduced bacterial growth and acid production compared with the control. Furthermore, the anthocyanin content of the butterfly pea beverage decreased after fermentation, while the total phenolic compound content and DPPH radical scavenging activity increased relative to pre-fermentation levels. Regarding color characteristics, the L^* value decreased with increasing BFE concentration, while the a^* and b^* values increased. After fermentation, the L^* values were higher, and the a^* and b^* values were lower compared with pre-fermentation measurements. Overall, the results suggest that the addition of 0.5% BFE combined with kefir culture fermentation improved the beverage's health-promoting properties, particularly by enhancing lactic acid bacteria counts, total phenolic compound content, and DPPH radical scavenging activity.

คำสำคัญ

อัญชัน;
คีเฟอร์;
แอนโทไซยานิน;
แบคทีเรียแล็กติก

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาการใช้ผงสีสกัดจากดอกอัญชัน (*Clitoria ternatea* L.) เป็นวัตถุดิบตั้งต้นในการผลิตได้ทำการศึกษาอิทธิพลของปริมาณผงสีสกัดจากดอกอัญชัน (ร้อยละ 0, 0.25, 0.5, 0.75 และ 1) และการหมักด้วยกลัเชื้อคีเฟอร์ (ก่อนและหลังการหมัก) ผลพบว่าปริมาณแอนโทไซยานิน สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ในตัวอย่างก่อนและหลังการหมักมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเติมผงสีสกัดมากขึ้น การเติมผงสีสกัด ร้อยละ 0.25 และ 0.5 มีผลทำให้มีปริมาณแบคทีเรียแล็กติกมากขึ้น แต่การเติมในปริมาณ ร้อยละ 0.75 และ 1 มีผลทำให้ปริมาณแบคทีเรียแล็กติกและกรดแล็กติกน้อยลงเมื่อเทียบกับสูตรควบคุม ตัวอย่างหลังการหมักมีปริมาณแอนโทไซยานินลดลง แต่สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับก่อนการหมัก การเติมผงสีสกัดมากขึ้นทำให้ค่าสี L^* ลดลง ในขณะที่ค่าสี a^* และ b^* เพิ่มขึ้น ส่วนตัวอย่างหลังการหมักค่าสี L^* เพิ่มขึ้น แต่ค่าสี a^* และ b^* ลดลงเมื่อเทียบกับตัวอย่างก่อนการหมัก ดังนั้นการเติมผงสีสกัดจากดอกอัญชัน ร้อยละ 0.5 และการหมักด้วยกลัเชื้อคีเฟอร์ช่วยปรับปรุงคุณภาพของเครื่องดื่ม ได้แก่ เพิ่มปริมาณแบคทีเรียแล็กติก ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH

Keywords

Butterfly pea flower;
Kefir;
Anthocyanin;
Lactic acid bacteria

1. บทนำ

คีเฟอร์ (Kefir) เป็นเครื่องดื่มที่ได้รับความนิยมในประเทศแถบตะวันออกกลางมีการบริโภคเป็นเวลานาน ส่วนใหญ่ผลิตจากนม คีเฟอร์ประกอบไปด้วยแบคทีเรียและเชื้อยีสต์ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ ระหว่างการหมักเกิดกรดแล็กติก คาร์บอนไดออกไซด์ เอทิลแอลกอฮอล์ และสารประกอบแอโรแมติก (Aromatic compounds) มีลักษณะทางประสาทสัมผัสที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะเกิดขึ้น [1] แบคทีเรียที่พบในระหว่างการหมักคีเฟอร์ ได้แก่ แบคทีเรียแล็กติก ได้แก่ *Lactobacillus kefir* แบคทีเรียในสกุล *Leuconostoc*, *Lactococcus* และแบคทีเรียกรดอะซิติกในสกุล *Acetobacter* ร่วมกับยีสต์กลุ่มที่สามารถหมักน้ำตาลแล็กโทส ได้แก่ *Kluyveromyces marxianus* และยีสต์กลุ่มที่ไม่สามารถหมักน้ำตาลแล็กโทส ได้แก่ *Saccharomyces unisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* และ *Saccharomyces exiguus* โดยจุลินทรีย์ผสมดังกล่าวอาศัยอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัยกันหรือซิมไบโอซิส (Symbiosis) ซึ่งแบคทีเรียแล็กติกบางชนิดจัดเป็นจุลินทรีย์โปรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในลำไส้ และจะเกิดผลดีต่อสุขภาพเมื่อผู้บริโภคได้รับในปริมาณที่เพียงพอ [2] ผลิตภัณฑ์คีเฟอร์ดั้งเดิมมีส่วนประกอบหลักที่มาจากนม ทำให้ผู้บริโภคบางกลุ่มไม่สามารถรับประทานได้ เช่น ผู้ที่แพ้โปรตีนในนม และผู้บริโภคอาหารมังสวิรัตชนิดเคร่งครัด (Strict vegetarian) [3] จึงมีผู้วิจัยศึกษาการผลิตคีเฟอร์จากวัตถุดิบอื่น เช่น ธัญพืช และผลไม้ที่มีสี กลิ่นรสที่มีความเฉพาะของวัตถุดิบและอุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประโยชน์ต่อผู้บริโภค [4]

ดอกอัญชัน (*Clitoria ternatea* L.) มีสีน้ำเงินและม่วงที่ถูกใช้เป็นสารแต่งสีและกลิ่นจากธรรมชาติอย่างแพร่หลาย ดอกอัญชันมีสารที่ให้สี คือ แอนโทไซยานิน (Anthocyanin) ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ [5] นอกจากนี้มีฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระแล้วยังมีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกที่ส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โปรไบโอติกในลำไส้ซึ่งเป็นประโยชน์ในการปรับปรุงสมดุลสภาพ

แวดล้อมในลำไส้ จุลินทรีย์โปรไบโอติกสามารถเกาะติดผนังลำไส้ได้ดีจึงช่วยในการป้องกันไม่ให้จุลินทรีย์ก่อโรคเจริญเติบโตหรือเพิ่มจำนวนได้ [6] ดังนั้นการเติมสารสกัดจากดอกอัญชันในอาหารจึงเป็นการปรับปรุงคุณภาพด้านสีและกลิ่นจากพืชธรรมชาติ และทำให้ผู้บริโภคได้รับประโยชน์จากสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและสารโปรไบโอติกอีกด้วย การศึกษาที่ผ่านมารายงานว่า เครื่องดื่มบลูเบอร์รี่ที่มีส่วนประกอบของแอนโทไซยานิน หลังจากผ่านการหมักด้วยจุลินทรีย์ในกลุ่มแบคทีเรียแล็กติก (*Lactobacillus plantarum*) มีผลทำให้ปริมาณสารแอนโทไซยานิน และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในเครื่องดื่มมากขึ้นเมื่อเทียบกับก่อนการหมัก [7] มีงานวิจัยรายงานว่า การเติมน้ำผลไม้ที่มีส่วนประกอบของแอนโทไซยานิน ได้แก่ แครอทสีดา มัลเบอร์รี่ และสตอเบอร์รี่ ในปริมาณร้อยละ 25 ในเครื่องดื่มนมคีเฟอร์มีผลทำให้ฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระและคะแนนการยอมรับของผู้บริโภคมากขึ้นเมื่อเทียบกับสูตรที่ไม่ได้เติมน้ำผลไม้ [8] นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยที่รายงานว่า การใช้สารสกัดจากดอกอัญชันร่วมกับน้ำมะพร้าวในการผลิตเครื่องดื่มคล้ายคอมบูชา (Kombucha) มีผลในการปรับปรุงคุณภาพด้านเคมีกายภาพ และการยอมรับของผู้บริโภคมากขึ้น [9] อย่างไรก็ตามการเติมสารสกัดจากดอกอัญชันเป็นวัตถุดิบในเครื่องดื่มหมักอาจส่งผลเชิงบวกในการช่วยส่งเสริมจุลินทรีย์ที่เป็นกล้าเชื้อในการหมักเนื่องจากมีสารในกลุ่มแอนโทไซยานินที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติก [6] แต่การเติมสารสกัดจากธรรมชาติในปริมาณที่มากเกินไปอาจส่งผลเชิงลบต่อจุลินทรีย์ที่เป็นกล้าเชื้อในการหมักได้ เนื่องจากสภาวะเริ่มต้นก่อนการหมักที่ไม่เหมาะสม เช่น ค่า pH [10] ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาผลของปริมาณผงสีสกัดจากดอกอัญชันและการหมักด้วยกล้าเชื้อคีเฟอร์ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเครื่องดื่มน้ำอัญชัน เพื่อส่งเสริมกระบวนการหมักของกล้าเชื้อคีเฟอร์ และปรับปรุงคุณภาพผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มที่มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพมากขึ้น

2. วิธีการดำเนินการวิจัย

2.1 การผลิตเครื่องต้มคีเฟอร์จากน้ำอัญชัน

ทำการเตรียมกล้าเชื้อคีเฟอร์จากเมล็ดคีเฟอร์ทางการค้า (Cultures for health, USA) โดยนำไปเพาะเชื้อในสารละลายน้ำตาลทรายขาว (Mitr Phol, Thailand) ร้อยละ 15 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร บ่มที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง กรองเมล็ดคีเฟอร์ออก นำกล้าเชื้อที่ได้ไปใช้ในการผลิตเป็นเครื่องต้มคีเฟอร์ (ปริมาณแบคทีเรียแล็กติก ประมาณ 9 log CFU/mL) ทำการเตรียมน้ำอัญชันด้วยการใช้ผงสีสกัดจากดอกอัญชันในรูปแบบผงแห้งที่ผ่านกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย (Chat organic, Thailand) ร้อยละ 0, 0.25, 0.5, 0.75 และ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และเติมน้ำตาลทราย ร้อยละ 15 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 75 °C เป็นเวลา 5 นาที ลดอุณหภูมิให้ต่ำลงไม่เกิน 37 °C จากนั้นเทน้ำอัญชันที่ลดอุณหภูมิแล้วลงในขวดโหลปากกว้างปลอดเชื้อ เติมกล้าเชื้อคีเฟอร์ในรูปของสารละลายจากการเตรียมข้างต้น ร้อยละ 10 โดยปริมาตร ปิดปากขวดด้วยผ้าขาวบาง บ่มที่อุณหภูมิ 25 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง [11] เก็บเครื่องต้มคีเฟอร์น้ำอัญชันที่ 4±1°C และวิเคราะห์ภายใน 48 ชั่วโมง

2.2 การวิเคราะห์คุณภาพด้านจุลินทรีย์

ในการวิจัยนี้ แม้ว่ากล้าเชื้อคีเฟอร์จะมีความหลากหลายทางจุลินทรีย์ แต่ได้มุ่งเน้นการวิเคราะห์เฉพาะแบคทีเรียแล็กติก เนื่องจากเป็นกลุ่มจุลินทรีย์หลักที่มีบทบาทสำคัญในการหมัก โดยแบคทีเรียแล็กติกจะเปลี่ยนน้ำตาลเป็นกรดแล็กติก ซึ่งส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางกายภาพของผลิตภัณฑ์ และอาจมีอิทธิพลต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียแล็กติก ทำได้โดยใช้ปิเปต

ปลอดเชื้อดูดตัวอย่างในแต่ละกลุ่มการทดลอง คือเครื่องต้มคีเฟอร์ สูตรควบคุม (ไม่เติมผงสีสกัดจากดอกอัญชัน) และสูตรที่เติมผงอัญชันแตกต่างกัน (ร้อยละ 0.25, 0.5, 0.75 และ 1) ตัวอย่างละ 25 มิลลิลิตร จากนั้นเจือจางตัวอย่างเป็นลำดับด้วยเพปโตน ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร นำตัวอย่างที่เจือจางแล้วปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มาเพาะเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อตรวจนับจำนวนแบคทีเรียแล็กติกด้วยเทคนิค spread plate ในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง Man-rosogosa-sharpe agar (MRS) ที่เติม Bromocresol purple ร้อยละ 0.05 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่สภาวะมีอากาศเล็กน้อย โดยใช้ Candle jar นับจำนวนโคโลนีที่มีลักษณะสีขาวหรือครีม กลม ขอบเรียบ และเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นสีเหลือง รายงานผลในหน่วย log CFU/mL [11]

2.3 การวิเคราะห์คุณภาพด้านเคมี

2.3.1 ค่า pH

วัดตัวอย่างแต่ละกลุ่มการทดลองด้วยเครื่อง pH meter แบบดิจิตอล (Mettler toledo, F20 FiveEasy, Switzerland) ทำการวัดตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

2.3.2 ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (Titratable acidity: TA)

ตามวิธีมาตรฐาน AOAC (2000) [12] โดยใช้ปิเปตดูดตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ลงในขวดชมพูขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร เติมสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 2-3 หยด จากนั้นนำไปไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 N จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพู แล้วบันทึกผลทำการทดลอง 3 ซ้ำ และ คำนวณหาปริมาณกรดที่ไทเทรตได้โดยแทนค่าในสมการ

$$\text{ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (ร้อยละ)} = \frac{\text{NaOH (N)} \times \text{NaOH (mL)} \times \text{น้ำหนักโมเลกุลสมมูลย์ของกรดแล็กติก (90)}}{\text{ปริมาตรตัวอย่าง (mL)}} \times 100$$

2.3.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

นำตัวอย่างแต่ละกลุ่มการทดลอง คือ เครื่องดื่มคิเฟอร์สูตรควบคุม (ไม่เติมผงสีสกัดจากดอกอัญชัน) และสูตรที่เติมผงอัญชันแตกต่างกัน (ร้อยละ 0.25, 0.5, 0.75 และ 1) ตัวอย่างละ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองเติมสารละลาย Folin - Ciocateau reagent ความเข้มข้น ร้อยละ 10 (โดยปริมาตร) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 8 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น ร้อยละ 7.5 (โดยปริมาตร) ปริมาตร 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer (Thermo scientific, GENESYS 10S Series, USA) ที่ความยาวคลื่น 765 nm นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปคำนวณปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกโดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแกลลิก [13]

2.3.4 ปริมาณสารแอนโทไซยานิน

วิเคราะห์ด้วยวิธี pH-Differential spectrophotometry [14] ทำการเจือจางตัวอย่างแต่ละกลุ่ม

การทดลอง คือ เครื่องดื่มคิเฟอร์สูตรควบคุม (ไม่เติมผงสีสกัดจากดอกอัญชัน) และสูตรที่เติมผงอัญชันแตกต่างกัน (ร้อยละ 0.25, 0.5, 0.75 และ 1) ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ pH 1.0 และสารละลายบัฟเฟอร์ pH 4.5 ซึ่งจะแบ่งสารสกัดเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 ทำการปิเปตสารสกัดตัวอย่างลงในหลอดทดลอง 1 มิลลิลิตร เติมสารละลายบัฟเฟอร์ pH 1.0 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร แล้วเขย่าให้เข้ากัน ส่วนที่ 2 ทำการปิเปตสารสกัดตัวอย่างลงในหลอดทดลอง 1 มิลลิลิตร เติมสารละลายบัฟเฟอร์ pH 4.5 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร แล้วเขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer (Thermo scientific, GENESYS 10S series, USA) ที่ความยาวคลื่น 520 nm และ 700 nm ซึ่งวิธีการวิเคราะห์นี้แสดงความเข้มข้นของสารแอนโทไซยานินทั้งหมด (Total monomeric anthocyanins concentration) ในรูปของมิลลิกรัมสมมูลของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ต่อลิตร (mg cyanidin-3-glucoside equivalents/L) คำนวณจากสูตร

$$\text{แอนโทไซยานินทั้งหมด (มิลลิกรัมสมมูลของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ต่อลิตร)} = \frac{A \times MW \times \text{Dilution Factor} \times 1000}{\epsilon}$$

โดยที่ $A = (A_{520} \text{ pH 1.0} - A_{700} \text{ pH 1.0}) - (A_{520} \text{ pH 4.5} - A_{700} \text{ pH 4.5})$

MW = โมเลกุลของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ (cyanidine-3-glucoside) มีค่าเท่ากับ 499.2 กรัมต่อโมล

Dilution factor = 10

1,000 คือ แฟกเตอร์เปลี่ยนหน่วยจากกรัมเป็นมิลลิกรัม

ϵ = Molar extinction coefficient ของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ (cyanidin-3-glucoside) ซึ่งมีค่าเป็น 26,900 ลิตรต่อโมลต่อเซนติเมตร

2.3.5 ฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH

การวิเคราะห์ฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ในตัวอย่างแต่ละกลุ่มการทดลอง คือ เครื่องดื่มคิเฟอร์สูตรควบคุม (ไม่เติมผงสีสกัดจากดอกอัญชัน) และสูตรที่เติมผงอัญชันแตกต่างกัน (ร้อยละ 0.25, 0.5, 0.75 และ

1) โดยใช้วิธีที่ดัดแปลงจาก Kwaw et. al. [15] ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างที่ต้องการทดสอบใส่ในหลอดทดลอง ปริมาตรหลอดละ 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ โดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ส่วนหลอดควบคุม

ใช้เมทานอลแทนสารตัวอย่าง นำไปเก็บในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer (Thermo scientific,

GENESYS 10S series, USA) ที่ความยาวคลื่น 517 nm คำนวณดังสมการ

$$\text{ฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (ร้อยละ)} = \left[\frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสงกลุ่มควบคุม} - \text{ค่าการดูดกลืนแสงตัวอย่าง}}{\text{ค่าการดูดกลืนแสงกลุ่มควบคุม}} \right] \times 100$$

2.4 การวิเคราะห์คุณภาพด้านกายภาพ

ทำการตรวจวัดค่าสีของตัวอย่างแต่ละกลุ่มการทดลอง คือ เครื่องตีมีคิเฟอร์สุตรควบคุม (ไม่เติมผงสีสกัดจากดอกอัญชัน) และสูตรที่เติมผงอัญชันแตกต่างกัน (ร้อยละ 0.25, 0.5, 0.75 และ 1) ด้วยเครื่อง Chroma meter (Konica minolta, CR-400, Japan) ทำการวัดซ้ำ 3 ซ้ำ รายงานเป็นค่าสี L* (ความสว่าง) มีค่าตั้งแต่ 0-100 (0 คือ สีดำ และ 100 คือ สีขาว) ค่าสี a* (สีแดง-สีเขียว โดยค่าบวกเป็นโทนสีแดง และค่าลบเป็นโทนสีเขียว) และค่าสี b* (สีเหลือง-สีน้ำเงิน โดยค่าบวกเป็นโทนสีเหลือง และค่าลบเป็นโทนสีน้ำเงิน)

2.5 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบแฟคทอเรียลในแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (Factorial in completely randomized design) โดยศึกษา 2 ปัจจัย คือ ปริมาณผงสีสกัดจากดอกอัญชัน (มี 5 ระดับ คือ ร้อยละ 0, 0.25, 0.5, 0.75 และ 1) และการหมักด้วยกล้ำเชื้อคิเฟอร์ (มี 2 ระดับ คือ ก่อนและหลังการหมัก) ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (Analysis of variance) และความแตกต่างของค่าเฉลี่ยสิ่งทดลองใช้วิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for windows

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการวิจัย

จากการศึกษาอิทธิพลร่วมของปริมาณผงสีสกัดจากดอกอัญชัน (ร้อยละ 0, 0.25, 0.5, 0.75 และ 1) และ

การหมักด้วยกล้ำเชื้อคิเฟอร์ (ก่อนและหลังการหมัก) ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของเครื่องตีมีคิเฟอร์

3.1 แบบคิเรียล็กติก

แบบคิเรียล็กติกเป็นกล้ำเชื้อในการผลิตคิเฟอร์ น้ำอัญชันตามข้อแนะนำขององค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติและองค์การอนามัยโลก (FAO/WHO) ระบุว่าผลิตภัณฑ์คิเฟอร์ต้องมีแบบคิเรียล็กติกที่ยังมีชีวิตอยู่ไม่น้อยกว่า 7 log CFU/mL ตลอดอายุการเก็บรักษาของอาหาร [16] จากการศึกษาอิทธิพลร่วมของปริมาณผงสีสกัดจากดอกอัญชันและการหมักด้วยกล้ำเชื้อคิเฟอร์ต่อจำนวนแบบคิเรียล็กติก (Figure 1) พบว่ามีอิทธิพลร่วมกันระหว่าง 2 ปัจจัย ($p < 0.05$) จำนวนแบบคิเรียล็กติกก่อนการหมักในทุกตัวอย่างมีจำนวนไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p \geq 0.05$) เนื่องจากการเติมกล้ำเชื้อคิเฟอร์ในปริมาณที่เท่ากัน ตัวอย่างหลังการหมัก เป็นเวลา 48 ชั่วโมงมีจำนวนแบบคิเรียล็กติก

เพิ่มขึ้น จากก่อนการหมัก โดยจำนวนแบบคิเรียล็กติกในตัวอย่างหลังการหมักที่เติมผงสีสกัด ร้อยละ 0.25 และ 0.5 มีจำนวนแบบคิเรียล็กติกที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่เติมผงสีสกัด (ประมาณ 7.78 log CFU/mL) เพิ่มขึ้นเป็น 8.05 และ 8.36 log CFU/mL ตามลำดับ ($p < 0.05$) แต่การเติมผงสีสกัด ร้อยละ 0.75 และ 1 มีจำนวนแบบคิเรียล็กติกที่มีแนวโน้มลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่เติมผงสีสกัด ซึ่งมีจำนวนลดลงเป็น 7.36 และ 7.15 log CFU/mL ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการเติมผงสีสกัดจากดอกอัญชัน ร้อยละ 0.5

มีผลทำให้มีจำนวนแบคทีเรียแล็กติกในตัวอย่างหลังการหมักสูงที่สุดและมากกว่ากลุ่มที่ไม่เติมผงสี เนื่องจากในอัญชันเป็นแหล่งของสารแอนโทไซยานินที่มีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติกที่สามารถส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียแล็กติก ซึ่งผลการวิจัยสอดคล้องกับการศึกษาของ Molan et.al. (2009) ที่ทำการศึกษาความสามารถในการเป็นพรีไบโอติกของสารสกัดจากบลูเบอร์รี่ 4 สายพันธุ์ของประเทศนิวซีแลนด์ ผลพบว่าสารสกัดจากบลูเบอร์รี่ทั้ง 4 สายพันธุ์ มีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียแล็กติก คือ *Bifidobacteria* sp. และ *Lactobacilli* sp. [17] การศึกษาของ Zhang et.al. (2016) รายงานว่าแอนโทไซยานินสามารถกระตุ้นการผลิตเอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดส (β -glucosidase) ในแบคทีเรียโพรไบโอติก ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการเกิดไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) ที่ตำแหน่งพันธะไกลโคซิดิก (Glycosidic bond) ที่สามารถย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตให้กลายเป็นน้ำตาลหรือกลูโคส ซึ่งกลูโคสเป็นแหล่งพลังงานและสารอาหารสำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแล็กติกและโพรไบโอติก [18] ในขณะที่การเติมผงสีสกัดจากดอกอัญชันในปริมาณร้อยละ 0.75 เป็นต้นไปมีผลทำให้จำนวนแบคทีเรียแล็กติกในตัวอย่างหลังการหมักลดลง อย่างไรก็ตามยังไม่มีรายงานมาก่อนว่าแอนโทไซยานินมีผลในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแล็กติก อาจเป็นไปได้ว่ามีสารต้านจุลินทรีย์จากธรรมชาติบางชนิดที่สามารถยับยั้งกล้ำเชื้อซีเฟอร์ได้ [10] อย่างไรก็ตามปริมาณแบคทีเรียแล็กติกในตัวอย่างหลังการหมักทุกกลุ่มการทดลองมีปริมาณมากกว่า 7 log CFU/mL ตามคำแนะนำของ FAO/WHO

3.2 ค่า pH และปริมาณกรดที่ไทเทรตได้

แบคทีเรียแล็กติกเป็นกล้ำเชื้อของการหมักเครื่องดื่มซีเฟอร์ แบคทีเรียแล็กติกสามารถหมักน้ำตาลกลูโคส ทำให้เกิดเป็นกรดแล็กติก กรดอินทรีย์ชนิดอื่นและสารอื่นๆ ตามคำแนะนำของ FAO/WHO ระบุว่าผลิตภัณฑ์ซีเฟอร์ต้องมีปริมาณกรด ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 0.6 [16] จากการศึกษาอิทธิพลร่วมของปริมาณผงสีสกัดจาก

ดอกอัญชันและการหมักด้วยกล้ำเชื้อซีเฟอร์ต่อค่า pH (Figure 1) พบว่ามีอิทธิพลร่วมกันระหว่าง 2 ปัจจัย ($p < 0.05$) เมื่อพิจารณาค่า pH ของตัวอย่างก่อนการหมักพบว่าค่า pH มีแนวโน้มลดลงเมื่อมีการเติมผงสีสกัดมากขึ้น ($p < 0.05$) ตัวอย่างหลังการหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง มีค่า pH ลดลงจากก่อนการหมัก นอกจากนี้การเติมผงสีสกัด ร้อยละ 0.25 และ 0.5 มีผลทำให้ค่า pH ของตัวอย่างหลังการหมักมีแนวโน้มลดลงเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่เติมผงสีสกัด (ประมาณ 3.32) ลดลงเป็น 3.13 และ 2.97 ตามลำดับ ($p < 0.05$) แต่การเติมผงสีสกัด ร้อยละ 0.75 และ 1 มีค่า pH มากกว่าเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่เติมผงสีสกัด ซึ่งมีค่าเป็น 3.46 และ 3.62 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบค่า pH และจำนวนแบคทีเรียแล็กติก พบว่ามีความสอดคล้องกัน คือการเติมผงสีสกัดในปริมาณสูงกว่า (ร้อยละ 0.75 และ 1) มีจำนวนแบคทีเรียแล็กติกน้อยกว่า (7.36 และ 7.15 log CFU/mL) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่เติมผงสีสกัด ร้อยละ 0.5 (8.36 log CFU/mL) แบคทีเรียแล็กติกมีบทบาทสำคัญในการผลิตกรดแล็กติกในระหว่างการหมัก ดังนั้นเมื่อจำนวนแบคทีเรียแล็กติกลดลงทำให้การผลิตกรดแล็กติกน้อยกว่า ส่งผลให้ค่า pH สูงกว่า

จากการศึกษาอิทธิพลร่วมของปริมาณผงสีสกัดจากดอกอัญชันและการหมักด้วยกล้ำเชื้อซีเฟอร์ต่อปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (Figure 1) พบว่ามีอิทธิพลร่วมกันระหว่าง 2 ปัจจัย ($p < 0.05$) เมื่อพิจารณาปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ของตัวอย่างก่อนการหมักพบว่าปริมาณกรดที่ไทเทรตได้มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเติมผงสีสกัดมากขึ้น ($p < 0.05$) ตัวอย่างหลังการหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง มีปริมาณกรดที่ไทเทรตได้เพิ่มขึ้นจากก่อนการหมัก นอกจากนี้การเติมผงสีสกัด ร้อยละ 0.25 และ 0.5 มีผลทำให้ปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ของตัวอย่างหลังการหมักมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่เติมผงสีสกัด (ร้อยละ 1.07) มีค่าเป็นร้อยละ 1.23 และ 1.26 ตามลำดับ ($p < 0.05$) แต่การเติมผงสีสกัด ร้อยละ 0.75 และ 1 มีปริมาณกรดที่ไทเทรตได้น้อยกว่าเมื่อเทียบกับ

กลุ่มที่ไม่เติมผงสีสกัด ซึ่งมีค่าเป็นร้อยละ 1.02 และ 0.92 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ในตัวอย่างหลังการหมักทุกกลุ่มการทดลองมีปริมาณมากกว่าร้อยละ 0.6 ตามข้อแนะนำของ FAO/WHO เมื่อเปรียบเทียบจำนวนแบคทีเรียแล็กติก และปริมาณ

กรดที่ไทเทรตได้ พบว่ามีความสอดคล้องกัน คือ ตัวอย่างหลังการหมักที่เติมผงสีสกัด ร้อยละ 0.5 (8.36 log CFU/mL) มีจำนวนแบคทีเรียแล็กติกมากที่สุด ทำให้มีปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ที่สร้างโดยแบคทีเรียแล็กติกมากที่สุด

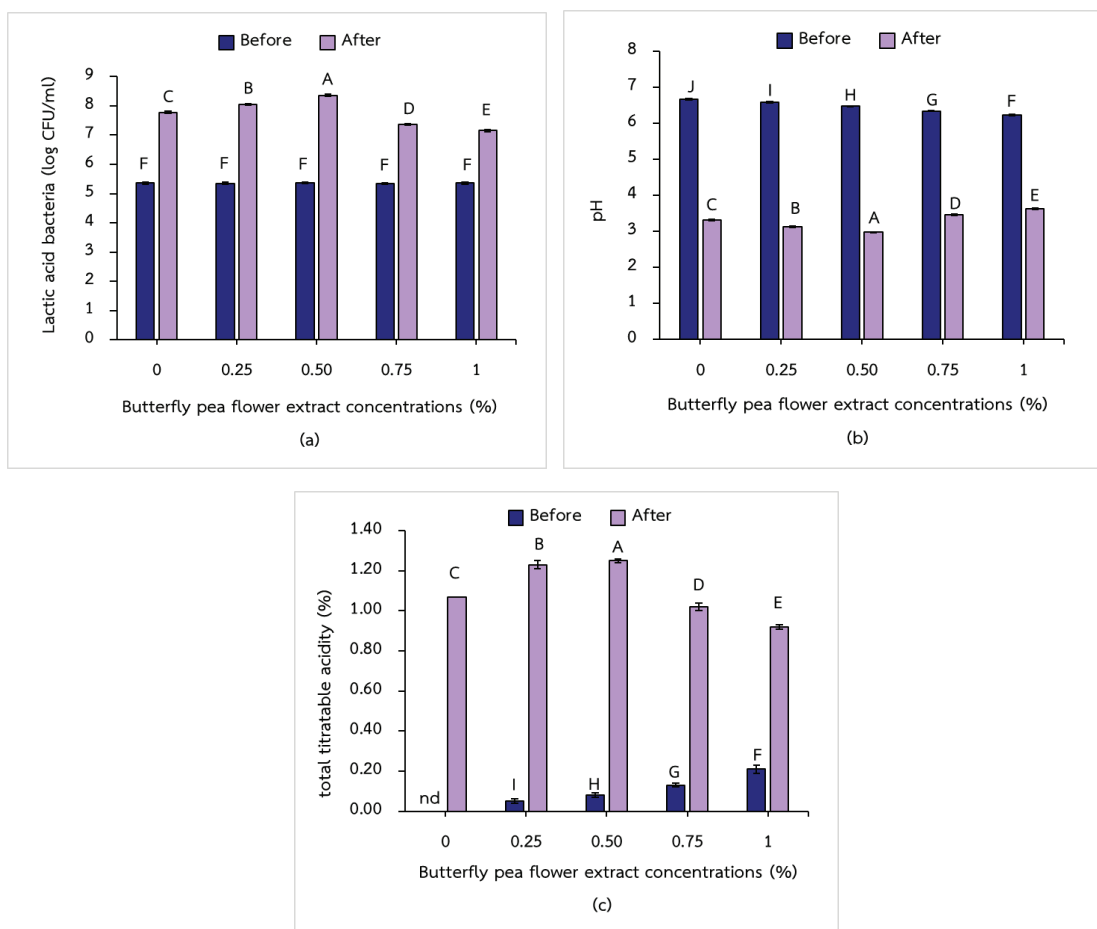


Figure 1 Effect of varying butterfly pea flower extract concentrations and kefir culture fermentation on (a) lactic acid bacteria (b) pH and (c) titratable acidity (%) in the beverage at both before and after fermentation. Statistically significant differences ($p < 0.05$) are shown by different letters (A-J). The mean $\pm$ standard deviation is displayed in the data ($n = 3$). "nd" means "not detected."

3.3 ปริมาณแอนโทไซยานิน สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH

จากการศึกษาอิทธิพลร่วมของปริมาณผงสีสกัดจากดอกอัญชันและการหมักด้วยยีสต์เชื้อเคเฟอร์ต่อปริมาณแอนโทไซยานิน สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

และฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH (Figure 2) พบว่ามีอิทธิพลร่วมกันระหว่าง 2 ปัจจัยต่อปริมาณแอนโทไซยานิน ($p < 0.05$) เมื่อพิจารณาปริมาณแอนโทไซยานินของตัวอย่างก่อนการหมัก พบว่าปริมาณแอนโทไซยานินมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเติมผงสีสกัด

มากขึ้น ($p < 0.05$) โดยมีปริมาณ 9.90, 13.70, 17.31 และ 21.12 mg/L ในตัวอย่างที่เติมผงสีสกัดจากดอกอัญชัน ร้อยละ 0.25, 0.5, 0.75 และ 1 ตามลำดับ ตัวอย่างหลังการหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง มีปริมาณแอนโทไซยานินลดลงจากก่อนการหมัก ($p < 0.05$) โดยมีปริมาณ 6.44, 11.12, 14.87 และ 18.77 mg/L ในตัวอย่างที่เติมผงสีสกัดจากดอกอัญชัน ร้อยละ 0.25, 0.5, 0.75 และ 1 ตามลำดับ

จากการศึกษาพบว่ามียูทิลิตี้พลัสมาระหว่างปริมาณผงสีสกัดจากดอกอัญชันและการหมักด้วยกลีเซอรีนต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ($p < 0.05$) เมื่อพิจารณาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของตัวอย่างก่อนการหมัก พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเติมผงสีสกัดมากขึ้น ($p < 0.05$) โดยมีปริมาณ 47.50, 64.04, 82.31 และ 93.53 $\mu\text{g GAE/mL}$ ในตัวอย่างที่เติมผงสีสกัดจากดอกอัญชัน ร้อยละ 0.25, 0.5, 0.75 และ 1 ตามลำดับ ตัวอย่างหลังการหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้นจากก่อนการหมัก ($p < 0.05$) โดยมีปริมาณ 58.01, 72.20, 90.50 และ 98.70 $\mu\text{g GAE/mL}$ ในตัวอย่างที่เติมผงสีสกัดจากดอกอัญชัน ร้อยละ 0.25, 0.5, 0.75 และ 1 ตามลำดับ

จากการศึกษาพบว่ามียูทิลิตี้พลัสมาระหว่างปริมาณผงสีสกัดจากดอกอัญชันและการหมักด้วยกลีเซอรีนต่อฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ($p < 0.05$) เมื่อพิจารณาฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของตัวอย่างก่อนการหมัก พบว่าฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเติมผงสีสกัดมากขึ้น ($p < 0.05$)

โดยมีค่าเป็นร้อยละ 30.23, 39.42, 51.00 และ 65.61 ในตัวอย่างที่เติมผงสีสกัดจากดอกอัญชัน ร้อยละ 0.25, 0.5, 0.75 และ 1 ตามลำดับ ตัวอย่างหลังการหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง มีฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มขึ้นจากก่อนการหมัก ($p < 0.05$) โดยมีค่าเป็นร้อยละ 35.90, 46.26, 57.00 และ 71.62 ในตัวอย่างที่เติมผงสีสกัดจากดอกอัญชัน ร้อยละ 0.25, 0.5, 0.75 และ 1 ตามลำดับ

จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการหมักน้ำอัญชันด้วยกลีเซอรีนมีผลทำให้ปริมาณแอนโทไซยานินลดลงหลังจากการหมัก แต่สารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจากก่อนการหมัก ซึ่งผลการวิจัยสอดคล้องกับการศึกษาของ Lin et.al. (2024) พบว่าน้ำนํ้าข้าวสาลีที่หมักด้วย *L. plantarum* มีปริมาณแอนโทไซยานินลดลงเมื่อเทียบกับก่อนการหมัก เนื่องจากแอนโทไซยานินมีโครงสร้างไม่เสถียรซึ่งถูกย่อยสลายได้ง่ายด้วยเอนไซม์ที่แบคทีเรียผลิตสร้างขึ้นได้เป็นสารประกอบที่โมเลกุลเล็กลง เช่น กรดฟีนอลิก (Phenolic acids) และ แอลดีไฮด์ (Aldehyde) [19] การศึกษาของ Sevindik et.al. (2022) รายงานว่าการเพิ่มขึ้นของสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ในน้ำแครนเบอร์รี่หลังการหมักโดย *Lactobacillus* sp. เนื่องจากแบคทีเรียผลิตขึ้นเอนไซม์ไฮโดรไลติก (Hydrolytic enzyme) ได้ในระหว่างการหมักจึงทำให้เกิดการไฮโดรไลซ์ (Hydrolyzed) สารที่มีโครงสร้างซับซ้อนเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่มีโครงสร้างอย่างง่าย [20]

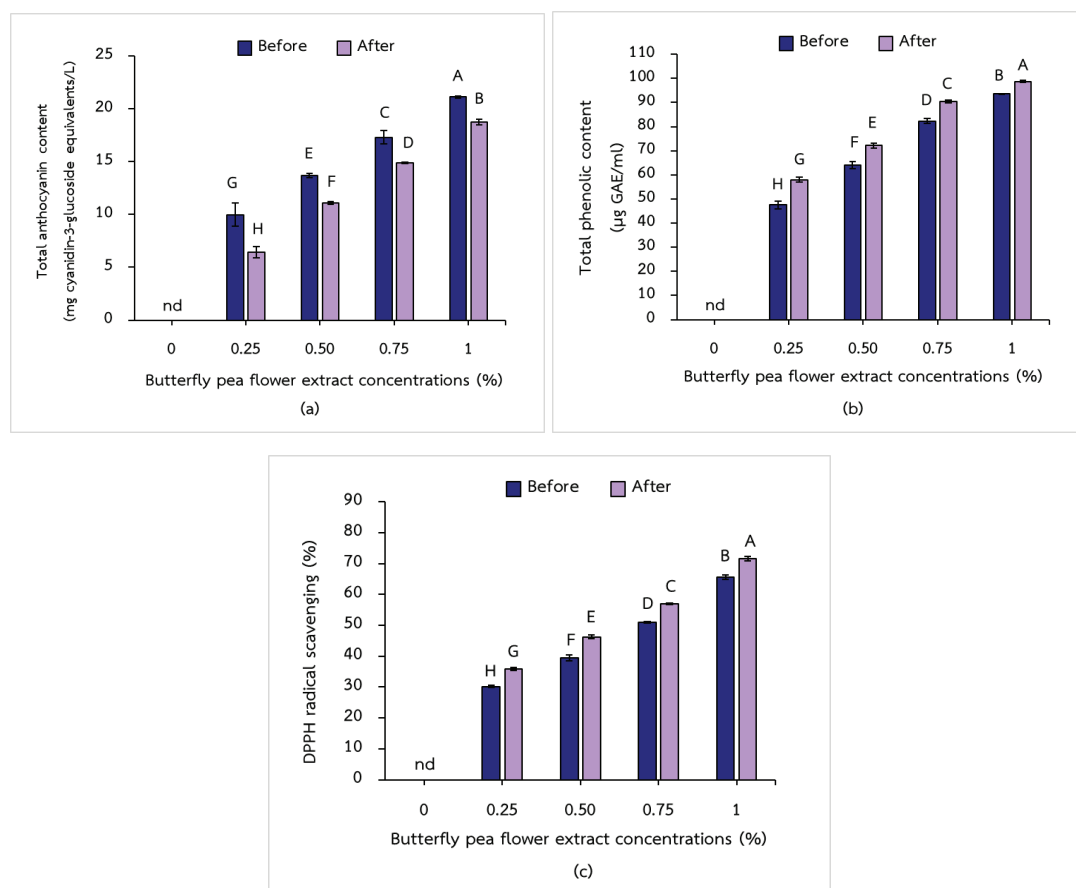


Figure 2 Effect of varying butterfly pea flower extract concentrations and kefir culture fermentation on (a) Total anthocyanin content (mg cyanidin-3-glucoside equivalents/L), (b) Total phenolic content (μg GAE/mL), (c) DPPH radical scavenging activity (%) in the beverage at both before and after fermentation. Statistically significant differences ($p < 0.05$) are shown by different letters (A-H). The mean $\pm$ standard deviation is displayed in the data ($n = 3$). "nd" means "not detected."

3.4 ค่าสี L^* , a^* และ b^*

จากการศึกษาอิทธิพลร่วมของปริมาณผงสีสกัดจากดอกอัญชันและการหมักด้วยกล้าเชื้อคีเฟอร์ต่อค่าสี L^* , a^* และ b^* (Figure 3 และ 4) พบว่ามีอิทธิพลร่วมกันระหว่าง 2 ปัจจัยต่อค่าสี L^* ($p < 0.05$) ค่าสี L^* (ความสว่าง) มีค่าตั้งแต่ 0-100 โดย 0 คือ สีดำ และ 100 คือ สีขาว เมื่อพิจารณาค่าสี L^* ของตัวอย่างก่อนการหมักพบว่าค่าสี L^* มีแนวโน้มลดลง (ความสว่างลดลง) เมื่อมีการเติมผงสีสกัดมากขึ้น ($p < 0.05$) โดยมีค่าเป็น 74.64,

32.47, 28.34, 25.06 และ 20.60 ในตัวอย่างที่เติมผงสีสกัดจากดอกอัญชัน ร้อยละ 0, 0.25, 0.5, 0.75 และ 1 ตามลำดับ เนื่องจากการเติมผงสีสกัดจากดอกอัญชันในปริมาณมากขึ้นทำให้ปริมาณสารแอนโทไซยานินที่เป็นสารให้สีน้ำเงิน-ม่วงในตัวอย่างมากขึ้นจึงมีสีที่เข้มมากขึ้น ส่วนตัวอย่างหลังการหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง มีค่าสี L^* เพิ่มขึ้นจากก่อนการหมัก ($p < 0.05$) (ความสว่างมากขึ้น) โดยมีค่าเป็น 78.16, 45.47, 40.54, 46.68 และ 43.51 ในตัวอย่างที่เติมผงสีสกัดจากดอกอัญชัน ร้อยละ 0, 0.25,

0.5, 0.75 และ 1 ตามลำดับ เนื่องจากสารแอนโทไซยานินจะเปลี่ยนแปลงสีไปตามค่า pH ซึ่งน้ำอัญชันก่อนการหมักมีค่า pH อยู่ในช่วง 6.23-6.67 สถานะนี้จะทำให้แอนโทไซยานินอยู่ในรูปของ Anionic quinoidal base (สีน้ำเงิน) และน้ำอัญชันหลังการหมักมีค่า pH อยู่ในช่วง 2.97-3.62 สถานะนี้จะทำให้แอนโทไซยานินอยู่ในรูปของ Quinoidal base (สีม่วง) ซึ่งมีความสว่างมากกว่าสีน้ำเงิน [21]

จากการศึกษาพบว่ามียธิพลร่วมระหว่างปริมาณผงสีสกัดจากดอกอัญชันและการหมักด้วยกลูโคสเฟอรต์ต่อค่าสี a^* และ b^* ($p < 0.05$) ค่าสี a^* (สีแดง-สีเขียว) โดยค่าบวกเป็นโทนสีแดง และค่าลบเป็นโทนสีเขียว เมื่อพิจารณาค่าสี a^* ของตัวอย่างก่อนการหมักพบว่าค่าสี a^* ของตัวอย่างที่ไม่ได้เติมผงสีสกัดจากดอกอัญชันมีค่าเป็นลบ (-4.13) แต่เมื่อเติมผงสีสกัดจากดอกอัญชันทำให้ค่าสี a^* มีค่าเป็นบวกและการเติมผงสีสกัดจากดอกอัญชันมากขึ้นมีผลทำให้ค่าสี a^* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) โดยมีค่าเป็น 6.53, 8.81, 10.3 และ 12.8 ในตัวอย่างที่เติมผงสีสกัดจากดอกอัญชัน ร้อยละ 0.25, 0.5, 0.75 และ 1 ตามลำดับ ส่วนค่าสี b^* (สีเหลือง-สีน้ำเงิน) โดยค่าบวกเป็นโทนสีเหลือง และค่าลบเป็นโทนสีน้ำเงิน เมื่อพิจารณาค่าสี b^* ของตัวอย่างก่อนการหมักพบว่าค่าสี b^* ของตัวอย่างที่ไม่ได้เติมผงสีสกัดจากดอกอัญชันมีค่าเป็นบวก (5.16) แต่เมื่อเติมผงสีสกัดจากดอกอัญชันทำให้ค่าสี b^* มีค่าเป็นลบและการเติมผงสีสกัดจากดอกอัญชันมากขึ้นมีผลทำให้ค่าสี b^* มีค่าเป็นลบเพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) โดยมีค่าเป็น -36.13, -38.72, -40.81 และ

-43.76 ในตัวอย่างที่เติมผงสีสกัดจากดอกอัญชัน ร้อยละ 0.25, 0.5, 0.75 และ 1 ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าตัวอย่างก่อนการหมักที่ไม่ได้เติมผงสีสกัดจากดอกอัญชันมีค่าสี a^* เป็นลบ และ b^* เป็นบวก เนื่องจากไม่มีสารแอนโทไซยานินที่เป็นสารให้สีจากอัญชัน จึงมีลักษณะปรากฏสีไม่มีสีเด่นชัด แต่ตัวอย่างที่เติมผงสีสกัดจากดอกอัญชันมากขึ้นมีค่าสี a^* มีแนวโน้มเป็นบวก และค่าสี b^* เป็นลบมากขึ้น เนื่องจากตัวอย่างที่เติมผงสีสกัดจากดอกอัญชันมากขึ้นมีสารแอนโทไซยานินซึ่งเป็นสารให้สีเพิ่มขึ้นจึงมีสีน้ำเงินมากขึ้น ส่วนตัวอย่างหลังการหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง มีค่าสี a^* เป็นบวกและ b^* เป็นลบเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับก่อนการหมัก ($p < 0.05$) เนื่องจากแอนโทไซยานินซึ่งเป็นสารสีหลักในอัญชันเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีโดยน้ำอัญชันก่อนการหมักมีค่า pH อยู่ในช่วง 6.23-6.67 แอนโทไซยานินอยู่ในรูป Anionic quinoidal base (สีน้ำเงิน) ส่วนน้ำอัญชันหลังการหมักมีค่า pH ลดลง (ค่า pH อยู่ในช่วง 2.97-3.62) เกิดการรับโปรตอนของแอนโทไซยานินทำให้เปลี่ยนไปอยู่ในรูป Quinoidal base (สีม่วง) [21]

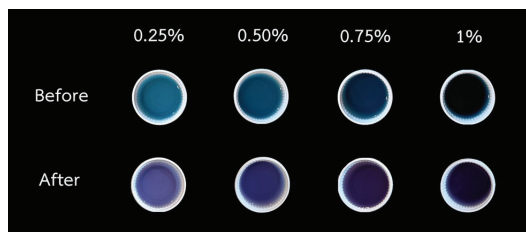


Figure 3 Color of a beverage with varying amounts of butterfly pea flower extract before and after fermentation.

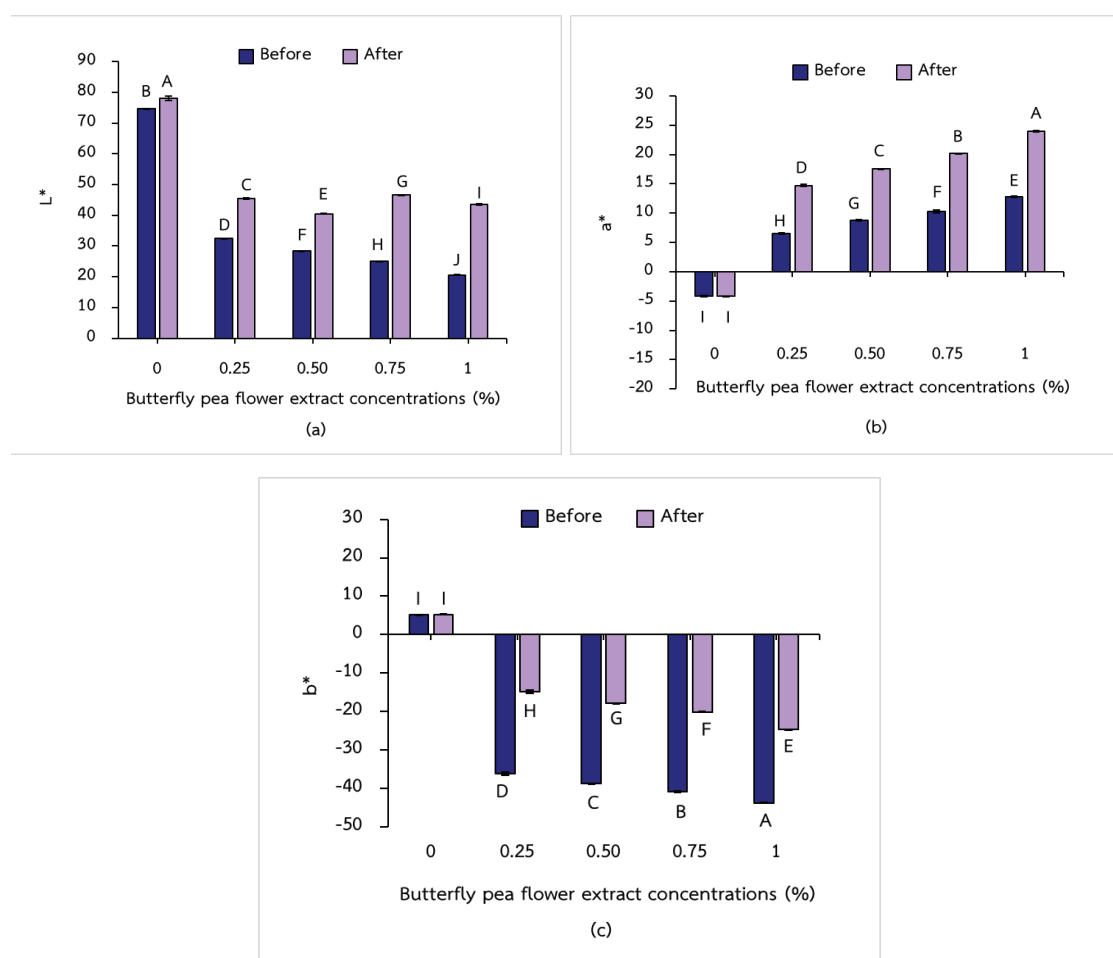


Figure 4 Effect of varying butterfly pea flower extract concentrations and kefir culture fermentation on color values (a) L*, (b) a*, and (c) b* in the beverage at both before and after fermentation. Statistically significant differences ($p < 0.05$) are shown by different letters (A-J). The mean $\pm$ standard deviation is displayed in the data ($n = 3$).

4. สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้ศึกษาผลของปริมาณผงสีสกัดจากดอกอัญชัน (ร้อยละ 0, 0.25, 0.5, 0.75 และ 1) และการหมักด้วยกล้ำเชื้อคีเฟอร์ต่อคุณภาพของเครื่องดื่มน้ำอัญชันพบว่า การเติมผงสีสกัดจากดอกอัญชัน ร้อยละ 0.5 ส่งผลให้ปริมาณแบคทีเรียแล็กติก ($8.36 \log \text{CFU/mL}$) และปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (ร้อยละ 1.26) สูงที่สุด ขณะที่การเติมในระดับสูงกว่า (ร้อยละ 0.75 และ 1) มีผลในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแล็กติกและปริมาณ

กรดที่ไทเทรตได้ลดลง นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณของแอนโทไซยานิน สารประกอบฟีนอลิก และฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH เพิ่มขึ้นตามปริมาณผงสีสกัดจากดอกอัญชันที่เติม อย่างไรก็ตาม หลังการหมัก ปริมาณแอนโทไซยานินลดลง ในขณะที่สารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น ในด้านคุณภาพด้านกายภาพของผลิตภัณฑ์ พบว่าค่าสี L* ลดลงตามปริมาณผงสีสกัดที่เพิ่มขึ้น แต่เพิ่มขึ้นหลังการหมัก ส่วนค่าสี a* และ b* มีการเปลี่ยนแปลงตามค่า pH ที่ลดลงภายหลังการหมักซึ่ง

มีสีของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนจากน้ำเงินเป็นม่วง สรุปได้ว่า การเติมผงสีสกัดจากดอกอัญชันร้อยละ 0.5 ร่วมกับการหมักด้วยกล่ำเชื้อคีเฟอร์ช่วยส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียแล็กติก เพิ่มฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระ และปรับปรุงคุณภาพด้านกายภาพ ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพได้

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณทุนอุดหนุนการวิจัยจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา ปีงบประมาณ 2566

6. References

- [1] Otbes, S. and Cagindi, O., 2003, Kefir: A probiotic dairy-composition, nutritional and therapeutic aspects, Pak. J. Nutr. 2(2): 54-59.
- [2] Codex Alimentarius International Food Standards, Standard for Fermented Milks (CODEX STAN 243-2003), Available Source: https://alimentosargentinos.magyp.gob.ar/contenido/marco/codex_Alimentarius/normativa/codex/stan/CODEX_STAN_243.asp, December 27, 2022.
- [3] Heenan, C.N., Adams, M.C., Hosken, R.W. and Fleet, G.H., 2004, Survival and sensory acceptability of probiotic microorganisms in a nonfermented frozen vegetarian dessert, Lebensm.-Wiss. Technol. 37: 461-466.
- [4] Laureys, D. and De Vuyst, L., 2017, The water kefir grain inoculum determines the characteristics of the resulting water kefir fermentation process, J. Appl. Microbiol. 122: 719-732.
- [5] Escher, G.B., Wen, M., Zhang, L., Rosso, N.D. and Granato, D., 2020, Phenolic composition by UHPLC-Q-TOF-MS/MS and stability of anthocyanins from *Clitoria ternatea* L. (butterfly pea) blue petals, Food Chem. 331: 127341.
- [6] Alves-Santos, A.M., Sugizaki, C.S.A., Lima, G.C. and Naves, M.M.V., 2020, Prebiotic effect of dietary polyphenols: A systematic review, J. Funct. Foods. 74: 104169.
- [7] Zhang, Y., Liu, W., Wei, Z., Yin, B., Man, C. and Jiang, Y., 2021, Enhancement of functional characteristics of blueberry juice fermented by *Lactobacillus plantarum*, LWT - Food Sci. Technol. 139: 110590.
- [8] Kabakcia, S.A., Turkyilmaz, M. and Ozkan, M., 2020, Changes in the quality of kefir fortified with anthocyanin-rich juices during storage, Food Chem. 326: 126977.
- [9] Aksornsri, T., Chaturapornchai, N., Jitsayen, N., Rojjanapaitoontip, P. and Peanparkdee, M., 2023, Development of kombucha-like beverage using butterfly pea flower extract with the addition of tender coconut water, Int. J. Gastron. Food Sci. 4: 100825.
- [10] Gamage, G.C.V., Goh, J.K. and Choo, W.S., 2024, Application of anthocyanins from black goji berry in fermented dairy model food systems: an alternate natural purple color, LWT - Food Sci. Technol. 198: 115975.

- [11] Corona, O., Randazzo, W., Miceli, A., Guarcello, R., Francesca, N., Erten, H., Moschetti, G. and Settanni, L., 2016, Characterization of kefir like beverages produced from vegetable juices, *LWT - Food Sci. Technol.* 66: 572-581.
- [12] Association of Official Analysis Chemists (AOAC), 2000, Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 17th Ed., AOAC International, Inc., Virginia, 2,200 p.
- [13] Qiu, L., Zhang, M. and Chang, L., 2002, Effects of lactic acid bacteria fermentation on the phytochemicals content, taste and aroma of blended edible rose and shiitake beverage, *Food Chem.* 405: 134722.
- [14] Lee, J., Durst, R.W. and Wrolstad, R.E., 2005, Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study, *J. AOAC Int.* 88: 1269-1278.
- [15] Kwaw, E., Ma, Y., Tchabo, W., Apaliya, M.T., Wu, M., Sackey, A.S., Xiao, L. and Tahir, H.E., 2018, Effect of lactobacillus strains on phenolic profile, color attributes and antioxidant activities of lactic-acid-fermented mulberry juice, *Food Chem.* 250: 148-154.
- [16] Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization (FAO/WHO), 2006, Probiotics in Food: Health and Nutritional Properties and Guidelines for Evaluation, Report, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, 50 p.
- [17] Molan, A.L, Lila, MA., Mawson, J. and De, S., 2009, *In vitro* and *in vivo* evaluation of the prebiotic activity of water-soluble blueberry extracts, *World J. Microbiol. Biotechnol.* 25: 1243-1249.
- [18] Zhang, P., Zhang, M., He, S., Cao, X., Sun, H., Chen, X., Xie, Y., Lou, Q., Wang, X. and Ye, Y., 2016, Extraction and probiotic properties of new anthocyanins from purple sweet potato (*Solanum tuberosum*), *Curr. Top. Nutraceutical Res.* 14(2): 153-160.
- [19] Lin, S., Zhang, X., Wang, J., Li, T. and Wang, L., 2024, Effect of lactic acid bacteria fermentation on bioactive components of black rice bran (*Oryza sativa* L.) with different milling fractions, *Food Biosci.* 58: 103684.
- [20] Sevindik, O., Guclu, G., Agirman, B., Selli, S., Kadiroglu, P., Bordiga, M., Capanoglu, E. and Kelebek, H., 2022, Impacts of selected lactic acid bacteria strains on the aroma and bioactive compositions of fermented gilaburu (*Viburnum opulus*) juices, *Food Chem.* 378: 132079.

- [21] Hasanah, N.N., Mohamad Azman, E., Rozzamri, A., Zainal Abedin, N.H. and Ismail-Fitry, M.R., 2023, A systematic review of butterfly pea flower (*Clitoria ternatea* L.): extraction and application as a food freshness pH-indicator for polymer-based intelligent packaging, *Polymers*. 15: 2541.