

## บทที่ 2

### เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

#### ไอศครีม (Ice cream)

ไอศครีมเป็นของหวานและเย็นที่ผู้คนทุกเพศ ทุกวัย ชื่นชอบ เนื่องจากรับประทานง่าย บ่อยง่าย และมีมากหลายสาหร่ายแบบให้เลือก ที่สำคัญสามารถประยุกต์ให้เข้ากับความนิยม ของแต่ละชาติได้อย่างหลากหลาย ไอศครีมมาจากคำภาษาอังกฤษว่า Ice cream อีง ไรค์ ตามแม้มี รากคำมาจากภาษาอังกฤษแต่ไอศครีมมีถิ่นกำเนิดมาจากการประดิษฐ์โดยชาวอินเดีย โดยเกิดขึ้นจากการนำหิมะบนยอดเขามาผสมกับน้ำผลไม้และกินในขณะที่หิมะยังไม่ละลายดี ในปลายศตวรรษที่ 13 มาร์โค波โล ได้เดินทางกลับจากตะวันออกไกล พร้อมด้วยการทำอาหารเหมือนพวกเชอร์เบท ขณะเดินทางมีการเติมน้ำลงในภาชนะเป็นสูตรของเขาวิธีเฉพาะ ในปี ก.ศ. 1700 ได้มีหนังสือที่ไม่ได้เปิดเผยเพียงแค่ให้คำแนะนำว่า เป็นศิลปะของการทำอาหารประเภทไอศครีมเกิดขึ้น ถูกตีพิมพ์กรุงในปารีสประเทศฝรั่งเศส จากนั้นได้แพร่หลายไปในอิตาลี จนถึงประเทศอังกฤษ คนอิตาลีถือว่าตนเองเป็นผู้ต้นตามาร์บิโน่ ไอศครีมแบบที่นำมาปรุงให้เย็นจนแข็ง เรียกว่า เจลาตินแล้ว แพร่หลายไปในฝรั่งเศสช่วงศตวรรษที่ 16 ขึ้นไปอเมริกา ในช่วงศตวรรษที่ 17 กลายเป็นที่ชื่นชอบของคนอเมริกันมาก ในประเทศไทย ไอศครีมเข้ามาช่วง ไทร ไม่มีหลักฐานแน่ชัด แต่คาดว่าหลังสมัยรัชกาลที่ 5 ซึ่งมีการผลิตน้ำแข็งรับประทานเอง ไอศครีมตอนนั้นทำจากน้ำหวานหรือน้ำผลไม้ นำไปปั่นเย็นจนแข็ง ไม่มีนมหรือครีมผสมด้วย เรียกว่า ไอติม ใช้แรงคนในการปั่นโดยมีหม้อทองเหลือง เส้นผ่าศูนย์กลาง 50-60 ซม. สูง 30 ซม. ภายในมีรูกล้ายรังลึงสำหรับเสียบกระบวนการโคลน ทรงกลมที่ใช้เป็นแม่พิมพ์ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 2 ซม. บรรจุน้ำผลไม้หรือน้ำหวาน สำหรับทำให้ไอศครีมเป็นแท่ง (วรรณนา ตั้งเจริญชัย, 2531)

#### 1. ชนิดของไอศครีม

ไอศครีมเป็นผลิตภัณฑ์นมแข็งที่ประกอบด้วยนม น้ำตาล ไขมัน และอากาศ โดยนำส่วนประกอบที่ผ่านการฆ่าเชื้อโรคแล้วไปปั่นเข้าด้วยกันที่อุณหภูมิต่ำเพื่อให้อาหารแข็งไป และทำให้เกิดรูปร่างขั้นหนึ่งโดยย่างสม่ำเสมอ นอกจากนี้แล้วอาจเติมสารเพิ่มความคงตัวลงไป เพื่อช่วยในการรักษาโครงสร้างฟองอากาศของไอศครีม สารเหล่านี้ ได้แก่ สารให้ความหวาน (Sweetener) กัม(Gum) แคลเซียมซัลเฟต (Calcium sulfate) และเลซิทิน (Lecithin) เป็นต้น โดยไอศครีมจำแนกออกเป็นชนิดต่าง ๆ ดังนี้ (วรรณนา ตั้งเจริญชัย, 2531)

- 1.1 Plain ice cream คือ ไอศกรีมที่ประกอบด้วยสารที่ให้สีและกลิ่นรสเพียงอย่างเดียว ในปริมาณที่น้อยกว่า 5% ของส่วนผสมของไอศกรีม เช่น ไอศกรีมวนิล่า สตรอเบอร์รี่ และกาแฟ
- 1.2 Chocolate ice cream คือ ไอศกรีมที่เติมผงโกโก้ หรือ ช็อกโกแลต
- 1.3 Fruit ice cream คือ ไอศกรีมที่ประกอบด้วยผลไม้ อาจมีการเติมสีหรือกลิ่นของผลไม้บรรจุกระป๋อง หรือ ผลไม้เชื่อม-แซ่บ อีกตัวอย่างหนึ่ง เช่น ผลิตภัณฑ์ไม่มีนมเป็นส่วนผสม
- 1.4 Nut ice cream คือ ไอศกรีมที่ประกอบด้วยผลไม้เนื้อแข็ง เช่น almond, walnuts, ถั่วอัลมอนด์ เป็นต้น อาจเติมสีหรือกลิ่นเพิ่มเติม
- 1.5 Frozen custard, French ice cream, French custard ice cream คือ ไอศกรีมที่ประกอบด้วยไข่ มีปริมาณเนื้อไข่แดงไม่น้อยกว่า 1.4% ของน้ำหนักผลิตภัณฑ์
- 1.6 Ice milk คือ ผลิตภัณฑ์ที่มีไขมัน 2-7% มีของแข็งในน้ำไม่รวมไขมัน 12-15% โดยมีการเติมสาหร่ายความหวาน กลิ่น และมีการแซ่บ เช่น เมล็ดองุ่น ไอศกรีม
- 1.7 Fruit sherbet เป็นผลิตภัณฑ์ที่ทำมาจากน้ำผลไม้ น้ำตาล สารให้ความคงตัว และผลิตภัณฑ์น้ำมัน ลักษณะคล้ายน้ำแข็ง แต่ใช้น้ำแทนที่จะใช้น้ำอย่างเดียว
- 1.8 Ice คือ ผลิตภัณฑ์ที่ทำมาจากน้ำผลไม้ น้ำตาล สารให้ความคงตัว อาจมีการเติมกรดผลไม้ สี กลิ่น หรือน้ำ แล้วนำไปแช่แข็ง โดยทั่วไปประกอบด้วยน้ำตาล 28-30% และมีค่า overrun 20-25% ไม่เติมน้ำ
- 1.9 Confection คือ ไอศกรีมที่มีกลิ่น รส ตามต้องการ มีขั้นตอนการ มีขั้นตอนการผลิตในผลิตภัณฑ์
- 1.10 Pudding คือ ไอศกรีมที่มีผลไม้ผสม น้ำ ลูกเกด มีการเติมเหล้า เครื่องเทศ หรือไข่
- 1.11 Mousse คือ ไอศกรีมที่ทำจากครีม น้ำตาล สี กลิ่น และนำนำไปแช่แข็ง บางครั้งใช้น้ำข้น
- 1.12 Variegated ice cream คือ ไอศกรีมวนิลารูปแบบที่มีน้ำเชื่อม หรือ ของเหลวข้น ๆ เช่น ช็อกโกแลต บัตเตอร์สกอต ซึ่งทำให้ไอศกรีมมีลายคล้ายหินอ่อน
- 1.13 Fanciful name ice cream คือ ไอศกรีมที่มักประกอบด้วยส่วนผสมที่ให้กลิ่นต่าง ๆ กัน
- 1.14 Neapolitan คือ ไอศกรีมที่มีสองรสในภาชนะเดียว
- 1.15 New York หรือ Philadelphia คือ ไอศกรีมวนิลารูปแบบที่มีการเติมสีเข้ม ๆ อาจเติมไขมันและไข่มากกว่าสูตร ไอศกรีมทั่วๆ ไป
- 1.16 Soft serve ice cream หรือ Ice milk เป็นผลิตภัณฑ์แช่แข็งที่ไม่ต้องการ

ผ่านขั้นตอน硬化(development) คือ ไม่ผ่านกรรมวิธีที่ทำให้ส่วนของน้ำในส่วนผสม ไอศครีม กลายเป็นผลึกน้ำแข็งทั้งหมด การจำหน่ายผลิตภัณฑ์ประเภทนี้ไม่ใช้การตัก แต่จะไขอกจากเครื่องปั่น ไอศครีม โดยตรง

1.17 Rainbow ice cream เป็น ไอศครีมสายรุ้ง ทำได้จากการเติมสีตึ้งแต่ 6 สีขึ้นไป จนทำให้มองเห็นเป็นสีสายรุ้ง เวลาจำหน่ายก็จะไขอกจากเครื่องปั่น

## 2. หน้าที่ของส่วนผสมในไอศครีม

ไอศครีมเป็นผลิตภัณฑ์นมที่มีส่วนผสมแบ่งออกเป็น 2 ส่วนใหญ่ๆ คือ ส่วนผสมที่เป็นนมและผลิตภัณฑ์นม ได้แก่ นม ครีม หางนมและนมระเหย เป็นต้น และส่วนที่ไม่ใช่ผลิตภัณฑ์นม ได้แก่ น้ำตาล สารเพิ่มความคงตัว อินมัลซิไฟเออร์ สารให้กลิ่นรส และ สี เป็นต้น (Marshall & Arbuckle, 1996) องค์ประกอบของ ไอศครีมแตกต่างกันไปตามความต้องการของตลาด โดยเฉลี่ยแล้ว ไอศครีมที่จัดว่ามีคุณภาพดีประกอบด้วย ไขมัน 12%, ของแข็ง ไม่รวมไขมัน(Milk Solid Non Fat, MSNF) 11% น้ำตาล 15% สารเพิ่มความคงตัว และ อินมัลซิไฟเออร์ 0.3% และปริมาณของแข็งทั้งหมด 38.3% โดยองค์ประกอบใน ไอศครีมอาจอยู่ในช่วงกว้าง ดังนี้ ไขมัน 8-20% MSNF 8-15% น้ำตาล 13-20% สารเพิ่มความคงตัว และ อินมัลซิไฟเออร์ 0-0.7% และปริมาณของแข็งทั้งหมด 38.3%

2.1 ไขมัน เป็นส่วนประกอบที่สำคัญสำหรับ ไอศครีม ช่วยให้ส่วนผสมมีความสมดุล ให้โครงสร้างและเนื้อสัมผัส ทำให้ ไอศครีมนิรสชาติและความนิ่ม ไขมันควรมีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิต่ำกว่า 37 องศาเซลเซียส เพื่อให้ ไอศครีมอ่อนตัวเมื่ออยู่ในปาก ได้แก่น้ำนมสด ครีม เนย นมผง นมข้น หรือ ไอศครีมน้ำนม มีการใช้ไขมันจากพืช เช่น น้ำมันเมล็ดฝ้าย น้ำมันปาล์ม น้ำมันมะพร้าว น้ำมันถั่วเหลือง เป็นต้น (วรรณนา ตั้งเจริญชัย, 2531; พรหมพันธุ์ พุทธวัน, 2550)

2.2 ของแข็ง ไม่รวม ไขมัน (Milk Solid Non Fat, MSNF) ปริมาณ ไขมันนน ใน ไอศครีมจะต้องสมดุลกับปริมาณ MSNF ด้วย หากมีปริมาณ ไขมันนนที่เพิ่มขึ้น ปริมาณของ MSNF จะต้องลดลง การมีปริมาณ MSNF สูงเกินไปจะทำให้น้ำตาลแคล โภสเกิดการตกผลึก เนื่องจาก ไอศครีม จะมีลักษณะหยาบคล้ายเม็ด砂糖 (Sandiness) ลักษณะดังกล่าวเกิดจากผลึกของน้ำตาลแคล โภสใน ไอศครีม ซึ่งเป็นลักษณะเนื้อสัมผัสที่ทำให้คุณภาพของ ไอศครีมด้อยลง และ ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค การใช้ครีมหรือน้ำนมสดเป็นส่วนผสมของ ไอศครีมจะทำให้ MSNF ต่ำเกินไป นิยมเติมน้ำนม หรือ เวย์โปรตีนผงลงไป เพื่อช่วยเพิ่มปริมาณ MSNF ทำให้ได้เนื้อ ไอศครีมมากขึ้น MSNF ซึ่งเป็นไปรตีนนนซึ่งมีคุณสมบัติช่วยอุ่นน้ำทำให้ลักษณะเนื้อของ ไอศครีมดีขึ้น นอกจากนั้น

ยังช่วยเพิ่มความหนืดของส่วนผสม ทำให้มีค่าเบอร์เซ็นต์การเขินฟู (% Overrun) สูงขึ้น โดยไม่ทำให้ลักษณะเนื้อไอกกรีมเสีย และช่วยทำให้ไอกกรีมละลายช้าลงด้วย (วรรณนา ตั้งเจริญชัย, 2531)

### 2.3 สารให้ความหวาน ในไอกกรีมจะมีสารให้ความหวานเป็นองค์ประกอบ

ประมาณ 10-18% โดยพบว่าระดับความหวานที่ทำให้ผู้บริโภคส่วนใหญ่พอใจคือ 13-16% สารให้ความหวานช่วยเพิ่มปริมาณของเย็นทั้งหมดให้สูงขึ้น สารที่นิยมใช้คือ น้ำตาลทราย เดกโตรส หรือกลูโคส นอกจากนั้นแล้วสารเหล่านี้ยังช่วยลดจุดเยือกแข็งของส่วนผสมให้ต่ำลง ทำให้ไอกกรีมแข็งตัวที่อุณหภูมิต่ำกว่าจุดเยือกแข็งของน้ำมาก ขนาดของเม็ดน้ำแข็งในไอกกรีมนี้ขนาดเล็กและป่องกันการเกิดการรวมตัวใหม่ของผลึกน้ำแข็งที่ละลาย (Recrystallization) ของไอกกรีม โดยสารให้ความหวานเหล่านี้จะช่วยเพิ่มความหนืดในส่วนของของเหลวที่ไม่แข็งตัวของไอกกรีม (Goff, McCurdy, & Fulford, 1990)

2.4 อินลัซิไฟเออร์ เป็นสารช่วยลดแรงตึงผิวระหว่างอนุภาคเม็ดไขมันให้น้อยลง ทำให้อนุภาคเม็ดไขมันกระหายตัวอยู่ได้ทั่วส่วนผสมเกิดเป็นอินลัชันที่คงตัว ป่องกันไม่ให้อนุภาคของไขมันจับตัวรวมกันและแยกออกจากส่วนผสม นอกจากนี้ยังช่วยให้เนื้อไอกกรีมเข็นฟูดี เมื่อตีให้เกิดฟองอากาศจะทำให้ได้ % Overrun ตามต้องการ และยังช่วยให้เนื้อไอกกรีมแห้งและเกาะตัวกัน สารที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมทำไอกกรีม มี 2 ชนิด คือ กลีเซอรอลเอสเทอร์ และ โพลีօกซีເອທີລິນ ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของเชกซະ ไฮดริกแอดกอชอลค์ไกลดคอต และ ไกลดคอต เอสเทอร์ (วรรณนา ตั้งเจริญชัย, 2531)

2.5 สารเพิ่มความคงตัว นิยมใช้ร่วมกับอินลัซิไฟเออร์ เป็นสารช่วยคงน้ำและเพิ่มความหนืด ทำให้ส่วนผสมมีลักษณะเป็นเจล และนำอิสระมีการเคลื่อนที่ลดน้อยลงทำให้ไม่เกิดผลึกน้ำแข็งขนาดใหญ่ระหว่างที่ไอกกรีมแข็งตัว ไอกกรีมที่ได้มีลักษณะแห้ง ไม่หยาบ ไม่ละลาย คงตัวในรูปทรงที่ต้องการ (วรรณนา ตั้งเจริญชัย, 2531)

2.6 กลิ่น การเติมกลิ่นอาจใช้ผลไม้ หรือน้ำผลไม้ หรือสารให้กลิ่นสังเคราะห์ นิยมเติมในขณะที่ทำการผสมให้เข้าเป็น一体เดียวกัน (วรรณนา ตั้งเจริญชัย, 2531)

2.7 สี ในไอกกรีมบางชนิดมีการเติมสีลงไปเพื่อให้ไอกกรีมมีความน่ารับประทานอาจจะเป็นสีที่ได้จากผลไม้หรือการสังเคราะห์ (วรรณนา ตั้งเจริญชัย, 2531)

ไอกกรีมนอกจากประกอบด้วยส่วนผสมต่าง ๆ แล้ว ยังต้องมีอากาศผสมอยู่ด้วย น้ำหนักของไอกกรีมเข็นกับน้ำหนักของส่วนผสมที่ใช้ แต่อากาศที่อยู่ในไอกกรีมเข็นกับปริมาตรของส่วนผสม การผสมอากาศเพื่อเพิ่มปริมาตร อากาศต้องเป็นฟองเล็ก ๆ แทรกตัวกระจายอยู่ทั่วไปในเนื้อไอกกรีมช่วยทำให้เนื้อไอกกรีมไม่แน่น ไม่แข็ง และไม่เข็นเกินไปเมื่ออุ่นในปาก (วรรณนา ตั้งเจริญชัย, 2531)

### 3. ขั้นตอนการผลิตไอศครีม

กระบวนการผลิต ไอศครีม แสดงดังภาพที่ 2-1 โดยสามารถทำได้ทั้งแบบต่อเนื่องและแบบไม่ต่อเนื่องซึ่งแบ่งเป็นขั้นตอนได้ดังนี้ (นิธิยา รัตนานปนท., 2541; Goff, 1997)

3.1 การเตรียมส่วนผสม (Blending) เป็นการนำส่วนผสมต่างๆ ที่เป็นของเหลวมาผสมรวมกันในถังผสม ปรับอุณหภูมิให้ได้ 43 องศาเซลเซียส เติมน้ำตาลและส่วนผสมแห้งอีน ๆ ลงไป อุ่นส่วนผสมละลายให้หมด

3.2 การพาสเจอร์ไรเซชัน (Pasteurization) เป็นการนำส่วนผสมทั้งหมดไปให้ความร้อน โดยนิยมใช้แบบ HTST คือ อุณหภูมิสูงระยะเวลาสั้น ที่อุณหภูมิ 82-87 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15-30 วินาที เพื่อทำลายแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคทึ่งหนักที่มีอยู่ในส่วนผสม และลดจำนวนแบคทีเรียนิดอีน ๆ ลง

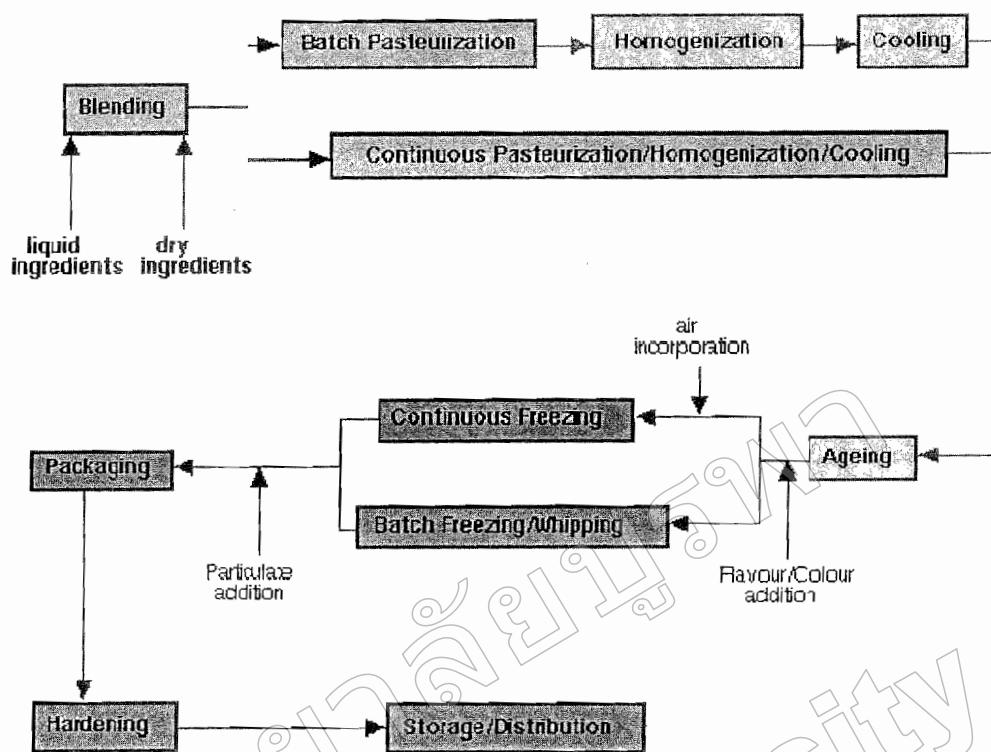
3.3 การโซโนจีไนเซชัน (Homogenization) เป็นกระบวนการที่ลดขนาดของเม็ดไขมันลง ทำให้อุ่นภาชนะที่มันแตกกระจายออกเป็นอนุภาคน้ำ สารพาร์มิลชันและผสมเข้ากันกับนมสดไฟเออร์ เพื่อทำให้ไอศครีมนิลักษณะเนื้อดีขึ้น การโซโนจีไนเซชันทำที่อุณหภูมิ 62.8 – 76.7 องศาเซลเซียส ความดันที่ใช้ควรใช้ให้เหมาะสม โดยส่วนมากพบว่าความดันที่นิยมใช้คือ 2500 psi (First stage) และ 500 psi (Second stage)

3.4 การบ่ม (Aging) คือการปล่อยทิ้งส่วนผสมทั้งหมดไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นานประมาณ 24 ชั่วโมง ขณะบ่มอุ่นภาชนะที่มันจะตกผลึกกลาญเป็นไขมันแข็งล้อมรอบไขมันเหลว สารเพิ่มความคงตัว และโปรตีนจะพองตัวรวมกันน้ำ ทำให้ส่วนผสมของไอศครีมมีความหนืดเพิ่มขึ้น

3.5 การปั่น (Wipping) ต้องทำอย่างรวดเร็วเพื่อป้องกันไม่ให้เกิดผลึกน้ำแข็งขนาดใหญ่ ซึ่งทำให้เนื้อไอศครีมหยาบและฟองอากาศจะต้องเล็กมาก เพื่อให้เกิดโฟมที่คงตัว

3.6 การทำให้แข็ง (Freezing) เป็นการทำให้ไอศครีมที่บรรจุอยู่ในภาชนะบรรจุ จะมีลักษณะเป็นก้อนแข็ง ต้องลดอุณหภูมิให้เหลือประมาณ -18 องศาเซลเซียส และจึงนำไปเก็บไว้ที่ห้องแช่แข็ง ซึ่งมีอุณหภูมิประมาณ -20 ถึง -25 องศาเซลเซียส เพื่อให้ไอศครีมแข็งตัว

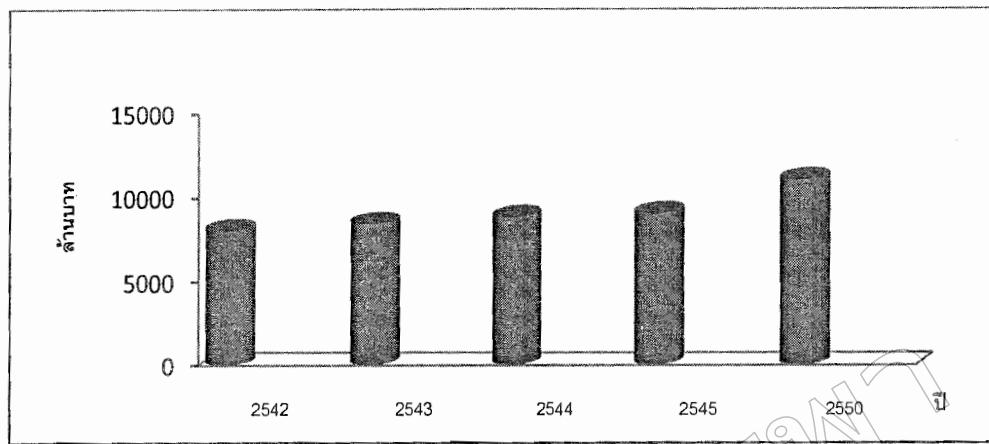
3.7 การเก็บรักษา (Storage) ไอศครีมที่ผ่านการบรรจุแล้วจะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 ถึง -25 องศาเซลเซียส ได้เป็นเวลานาน หากเก็บรักษาเวลาสั้น ๆ หรือว่าระหว่างการขนส่งจะให้อุณหภูมิ -13 ถึง -18 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 2-1 กระบวนการผลิต ไอศกรีม (Goff, 1997)

#### 4. ข้อมูลทางการตลาดของ ไอศกรีม

แนวโน้มทางการตลาดของ ไอศกรีม ในประเทศไทย มีอัตราขยายตัวขึ้นอย่างรวดเร็วและต่อเนื่อง ซึ่งจะเห็นได้จากมูลค่าการตลาด ไอศกรีม ในประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2550 จะมี มูลค่าเท่ากับ 11,000 ล้านบาท หรือเมื่อเทียบกับปีที่ผ่านมาเพิ่มขึ้นประมาณ 5% และมูลค่าตลาดของ ไอศกรีม มีการขยายตัวเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง 10% จากเดิมทุกปี ซึ่งนับว่าเป็นการอัตราการขยายตัวของ ตลาดอยู่ในเกณฑ์สูง ทั้งนี้ตลาด ไอศกรีม ในประเทศไทย มีโอกาสขยายตัวได้อีกมากถึงแม้ว่าจะมี การแข่งขันที่รุนแรง นอกจากนี้ธุรกิจ ไอศกรีม ในประเทศไทย มีช่องว่างทางการตลาด เปิดกว้าง มูลค่าทางการตลาดของ ไอศกรีม ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2550 – 2552 แสดงดังภาพที่ 2-2 (ศูนย์วิจัยกสิกร ไทย, 2550)



ภาพที่ 2-2 นวลด่าทางการตลาดของไอศกรีมตั้งแต่ปี พ.ศ. 2550 – 2552 (ศูนย์วิจัยสิริไทย, 2550)

## พรีไบโอติก

Gibson and Roberfroid (1995) ให้คำจำกัดความของพรีไบโอติกไว้ว่า เป็นสารอาหารที่ไม่สามารถย่อยได้ในระบบทางเดินอาหาร แต่เป็นประโยชน์ต่อมนุษย์หรือสัตว์โดยไปกระตุ้นการเจริญ และ/หรือ กิจกรรมของจุลินทรีย์บางกลุ่ม หรือไปขับถ่ายการเจริญของจุลินทรีย์บางกลุ่มในลำไส้ใหญ่ ซึ่งมีผลทำให้สุขภาพของมนุษย์หรือสัตว์นั้นมีสุขภาพดี กลุ่มของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ เช่น บิฟิดแบคทีเรียม (*Bifidobacterium*) และ แลคโตบาซิลลัส (*Lactobacilli*) (Roberfroid, 2001) โดยคุณสมบัติสำคัญของสารพรีไบโอติกมีดังนี้ (Gibson, 2004)

1. ทนต่อการย่อยด้วยกรดและเอนไซม์ในกระเพาะอาหาร
2. ไม่ถูกดูดซึมในลำไส้เล็กและส่งผ่านไปที่ลำไส้ใหญ่
3. ส่งเสริมการเจริญแก่จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในลำไส้ใหญ่

### 1. ประโยชน์ของสารพรีไบโอติก

ประโยชน์ของพรีไบโอติกนั้นจะมีความเกี่ยวข้องกันกับประโยชน์ของพรีไบโอติก กล่าวคือ เมื่อมีการเพิ่มการเจริญของแบคทีเรียมในกลุ่มนี้แล้วทั้งแบคทีเรียมเองและสารที่เกิดจากกระบวนการในการใช้พรีไบโอติกเป็นแหล่งการรับอนุญาตที่มีบทบาทต่อผู้บริโภค โดยประโยชน์ของพรีไบโอติกที่มีต่อร่างกายได้แก่

#### 1.1 ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในทางเดินอาหาร

ภายในลำไส้ใหญ่มีจุลินทรีย์อยู่หลายกลุ่มทั้งก่อโรค และกลุ่มที่มีประโยชน์คือ

เป็นแบคทีเรียพรไบโอดิค ซึ่งสามารถสร้างสารมาขับยับแบคทีเรียก่อโรคได้ ดังนั้นการรับประทานสารที่มีคุณสมบัติเป็นพรไบติกซึ่งเลือกส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียดังกล่าว จึงเป็นการส่งเสริมการผลิตสารยับยั้งด้วย นอกจากนี้จากการเคมีของสารประกอบพรไบโอดิคยังส่งผลให้ค่า pH ภายในลำไส้ต่ำลง จึงทำให้มีการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้อีกด้วยหนึ่ง (Palframan et al., 2002)

### 1.2 การป้องกันการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่

การเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่มีโอกาสเกิดขึ้นสูงและมากกว่าที่ลำไส้เล็กถึง 10 เท่า (Morotomi et al., 1990) แต่มีการพิสูจน์แล้วว่า พรไบโอดิค มีความสามารถในการป้องกันมะเร็งได้ (Hylla et al., 1998) นอกจากนี้สารที่เกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ที่อยู่ในลำไส้ใหญ่ยังเป็นสารก่อมะเร็งได้ ดังนั้นแนวทางในการป้องกันมะเร็งลำไส้ใหญ่จึงจะทางไปที่พรไบโอดิคซึ่งเป็นอาหารของแบคทีเรีย โดยบทบาทของพรไบโอดิคในการป้องกันมะเร็งมีดังนี้

1.2.1 เป็นสารตัวตันในการผลิตสารที่มีบทบาทในการป้องกันการเกิดมะเร็ง โดยกรดไขมันสายสั้น (Short chain fatty acid) ซึ่งมีรายงานว่า บิวทารตสามารถช่วยในการกระตุ้นให้เกิดกระบวนการอะพอต็อซิส (Apoptosis) ของเซลล์ในลำไส้ใหญ่ นอกจากนี้ยังถูกใช้ในการเจริญของเซลล์ได้อีกด้วย โดยบทบาทของบิวทารตและกรดไขมันสายสั้นชนิดอื่น ๆ คือ โพรพิโอนิก (Propionic) และ อัซซีติก (Acetic) จะส่งผลโดยตรงต่อเซลล์ลำไส้ใหญ่ในการป้องกันมะเร็ง (Scheppach et al., 1995)

1.2.2 เปลี่ยนแปลงกระบวนการเมแทบอลิซึมของจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ให้เป็นไปในแนวทางที่จะลดภาระการเกิดสารที่ส่งผลเสียต่อร่างกาย เช่น เมแทบอลิซึมของไขมัน และโปรตีนจะทำให้เกิดสารก่อมะเร็งขึ้น โดยอาจจะเปลี่ยนเมแทบอลิซึมของแบคทีเรีย *Clostridia* และ *Bacteroides* จากการเกิดโปรตีโอลิซิส (Proteolysis) ไปเป็นแซคคาโรไทดิค (Saccharolytic) นอกจากนี้พรไบโอดิคยังมีบทบาทในการส่งเสริมให้แบคทีเรียแคลคติกผลิตสารที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียที่ผลิตสารก่อมะเร็งในลำไส้ใหญ่ได้ และยังไปกว่านั้นยังพบว่า พรไบโอดิคยังมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็ง เช่น อโซเรดักเตส (Azoreductase) ในโตรเรดักเตส (Nitroreductase) และ เบต้ากูลโคโนนิดาส ( $\beta$ -glucuronidase) เป็นต้น (Reddy, 1998)

### 1.3 เพิ่มการดูดซึมของแคลเซียม

พรไบโอดิคสามารถเพิ่มการดูดซึมของสารอาหารโดยเฉพาะการดูดซึมของแคลเซียมถึงแม้ว่า การดูดซึมของแคลเซียมจะเกิดขึ้นเป็นหลักในลำไส้เด็กแต่ยังคงมีการดูดซึมภายในลำไส้ใหญ่อยู่และยังคงได้รับความสนใจ ซึ่งกลไกในการเพิ่มการดูดซึมของแคลเซียมในลำไส้ใหญ่มีดังนี้

1.3.1 จากกระบวนการหมักของพรีไบโอติกจะทำให้เกิดกรดไขมันสายสั้นซึ่งทำให้ pH ในลำไส้ใหญ่ลดลง จึงทำให้แคลเซียมละลายได้ดีและเกิดการดูดซึมที่ดีขึ้นด้วย

### 1.3.2 สารที่อยู่ในกลุ่มไฟเตท (Phytate) เช่น ไมโออินโนซิทอล

เชกอะฟอสเฟส (Myoinositol hexaphosphate) ซึ่งเป็นองค์ประกอบในพืช โดยสารดังกล่าวเป็นสารที่มีความเสถียรสูงและไม่ละลายน้ำ ทำให้มีอิปจันกับแคลเซียม ทำให้ร่างกายไม่สามารถดูดซึมแคลเซียมได้ และจากการกระบวนการหมักของไฟเตทโดยแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ทำให้แคลเซียมถูกปลดปล่อยออกมานี้เป็นอิสระ และมีการดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้

1.3.3 เกิดกลไกในการแยกเปลี่ยนแคลเซียมภายในลำไส้ โดยเกิดจากการแยกเปลี่ยนไปตอบระหว่าง แคลเซียม และ กรดไขมันสายสั้น ที่มีอยู่ในลำไส้ใหญ่

### 1.4 ลดปริมาณกลอเรสเทอรอลในเลือด

โดย *L. acidophilus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้จะช่วยย่อยสลายคลอเรสเทอรอล และบั้งบี้การดูดซึมคลอเรสเทอรอลผ่านผนังลำไส้ Fook et al. (1999) พบว่า ผู้ที่รับประทานโยเกิร์ตที่มี *L. acidophilus* และมีส่วนผสมของ FOS สามารถลดระดับคลอเรสเทอรอลในเลือดได้

## 2. ประเภทของสารพรีไบโอติก

### 2.1 โอลิโกแซคคาไรด์ (Oligosaccharides)

พรีไบโอติกในกลุ่มนี้ เกิดจากโมโนไซเด็กคาไรด์จัดเป็นโพลีแซคคาไรด์สายสั้น ประกอบด้วยน้ำตาลตั้งแต่ 3 ถึง 10 หน่วย มาต่อกันด้วยพันธะไกโล กอซิเดติก (Glycosidic linkage) ได้แก่ ราฟิโนส (Raffinose) สตาชิโอด (Stachyose) พาลาทิโนส (Palatinose) ไอกโซ-โอลิโกแซคคาไรด์ (Xylo-oligosaccharides) และฟรุกโต-โอลิโกแซคคาไรด์ (Fructo-oligosaccharides; FOS) ซึ่งจัดเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่ไม่สามารถย่อยได้ (non-digestible oligosaccharides) ที่สามารถจัดเป็นพรีไบโอติกได้ด้วย สามารถแบ่งออกได้ดังนี้

2.1.1 แลคทูลอส (Lactulose) จัดเป็นน้ำตาลไดแซคคาไรด์ที่แยกได้จากน้ำนม ไม่สามารถย่อยได้ในระบบทางเดินอาหารของคนและสัตว์ แต่สามารถถูกย่อยได้ด้วยจุลินทรีย์ในกลุ่มแลคติกแอซิค ได้ผลผลิตเป็นกรดไขมันสายสั้น ทำให้ระดับความเป็นกรด-ด่างในลำไส้ลดลง จนไม่เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มจำนวน *Bifidobacteria Lactobacillus* และ *Streptococcus* (Ross, 1999)

2.1.2 ฟรุกโต-โอลิโกแซคคาไรด์ (Fructo-oligosaccharide; FOS) เป็นการ์ไบโอเดต โมเดกูลเชิงซ้อนของ เมต้าฟรุกตาน ( $\beta$ -D-fructans) สายโซ่สั้นและปานกลาง

เป็นสิ่งที่นักวิจัยให้ความสำคัญและมุ่งพัฒนาอย่างต่อเนื่อง โดยสารพรีไบโอติกที่พบในธรรมชาติที่มีการศึกษาอย่างกว้างขวาง คือ อินนูลิน และ ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์

อินนูลินเป็นสารโพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharides) ที่พืชเก็บไว้เป็นอาหารซึ่งเป็นโมเลกุลขนาดเล็กประกอบด้วยโพลิเมอร์ฟรุกโตสที่มีสายโซ่ยาว 3-60 ใน molekula ต่อ กัน ด้วยพันธะ  $\alpha,1-2$  และ  $\beta,2-1$  โครงสร้างประกอบด้วย  $\text{Glu}\alpha 1 - 2 [\beta \text{ Fru} (2-1)]_n n = 10$  และ  $\text{Fru} \beta 2-1 \text{ Fru}_n$  โดยปกติจะพบหน่วยของกลูโคสต่ออยู่ที่ส่วนท้าย

ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์เป็นสารที่มี DP ตั้งแต่ 3 ไปจนถึง 7/10 และมีหน่วยของกลูโคสต่ออยู่ที่ส่วนปลาย เช่นเดียวกันกับอินนูลิน ซึ่งกล่าวได้ว่า การย่อยอินนูลินบางส่วนด้วยเอนไซม์จะทำให้ได้ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์เกิดขึ้น

อินนูลินและฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ไม่ถูกย่อยโดยเยื่อไผ่ในลำไส้ได้เล็ก แต่บางส่วนถูกย่อยโดยจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ อินนูลินและฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์สามารถละลายน้ำได้ดีโดยเฉพาะในน้ำร้อน (Tanya, 2002) อุณหภูมิประมาณ  $80^{\circ}\text{C}$  (Kim & Wang, 2001) แต่ละลายได้เพียงเล็กน้อยในน้ำเย็นและแอลกอฮอล์ (Paul, 1999) และมีความคงตัวสูง ไม่มีผลข้างเคียงต่อระบบประสาทสมอง รสมชาติหวานเล็กน้อย จึงมีการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารในลักษณะต่าง ๆ เช่น นำไปปรับปรุงรสชาติและเนื้อสัมผัส นอกจากอินนูลินถูกจัดเป็นใบอาหารแล้วยังมีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติกด้วย เมื่อจากสารอาหารเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์ในไบโอติกได้โดยพบร้า อาสาสมัครที่ได้รับอินนูลิน 15 กรัมต่อวัน ติดต่อ กัน เป็นเวลา 15 วัน มีปริมาณจุลินทรีย์ *Bifidobacteria* และ *Lactobacilli* เพิ่มขึ้น 10% และจุลินทรีย์ก่อโรคลดลง (Paul, 1999)

จากการที่ 2-1 พบร้า พืชที่มีปริมาณอินนูลินและฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์สูงเหมาะสมในการนำมาสกัดสารพรีไบโอติก ได้แก่ แก่นตะวัน (Jerusalem artichoke) ชิกโกรี (Chicory) กระเทียม (Garlic) และ อาทิโชค (Artichoke) เป็นต้น

Thammasatwasik et al. (2007) ศึกษาสมบัติในการเป็นพรีไบโอติกในพืชที่พบในประเทศไทยทั้งหมด 14 ชนิด คือ กล้วย กระเจี๊ยบ เกี้ยว ขันนุน จ้ำา เงาะ ปาล์ม จำปา มะม่วง มนต์สีห์ หมูเรียน มะขาม มะพร้าวอ่อน ถุงก่อ ถุงตาลอ่อน และ มะม่วงสุก พบร้า ว่า พืชที่มีปริมาณ Indigestible polysaccharides สูงที่สุด 10 อันดับแรก แสดงดังตารางที่ 2-3

เมื่อนำมาทดสอบความเป็นพรีไบโอติกกับเชื้อจุลินทรีย์ในไบโอติก *L. plantarum*, *L. acidophilus*, และ *L. acidophilus* พบร้า ว่า พืชทุกชนิดส่งเสริมการเจริญของ *L. plantarum* ขันนุน (เปลือก, เม็ด, เนื้อ) เงาะ จำปา มะพร้าวอ่อน ปาล์ม (ເອັນບຣີໂອ, เนื้อ) ส่งเสริมการเจริญของ *L. acidophilus* และ ขันนุน (เนื้อ) มะพร้าวอ่อน ปาล์ม (เนื้อ) ต่ำส่งเสริมการเจริญของ *B. bifidum*

วีระพงศ์ พรมสมิทธกุล และคณะ (2551) ศึกษาการสกัดพรีไบโอดิคจากเปลือกด้านในขันนุนด้วยน้ำกลั่นและเอทานอล 95% โดยทำการสกัดแบบต่อเนื่องใช้น่วยสกัดจำนวน 3 หน่วยแต่ละหน่วยประกอบด้วย ถังสกัด ถังพักราดละลาย และชุดระเหยสูญญากาศ พบว่าอุณหภูมิ  $50^{\circ}\text{C}$  เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสกัดด้วยน้ำกลั่น โดยระยะเวลาในการสกัดควรนานกว่า 15 นาที และใช้สัดส่วนน้ำกลั่นต่อเปลือกขันนุนอย่างต่อเนื่อง 15:1 การใช้เอทานอล 95% เป็นตัวทำละลายจะได้ปริมาณพรีไบโอดิคสูงขึ้น และการสกัดด้วยเปลือกขันนุนสดยังได้พรีไบโอดิคมากขึ้น แต่การใช้เปลือกขันนุนอบแห้งมีข้อได้เปรียบที่สามารถเก็บรักษาได้นานกว่าซึ่งเหมาะสมกับการผลิตในปริมาณมาก

สุพจน์ นวลคล่อง และคณะ (2551) สกัดพรีไบโอดิคจากเปลือกถุงตาลด้วยน้ำกลั่นและเอทานอล 95% ในสภาวะต่าง ๆ เพื่อศึกษาปัจจัยของอุณหภูมิ เวลาในการสกัด อัตราส่วนระหว่างเปลือกถุงตาลกับตัวทำละลาย ชนิดของตัวทำละลาย และทดสอบการเจริญของพรีไบโอดิค พบว่าสารที่สกัดได้มีความเป็นพรีไบโอดิคโดยสามารถส่งเสริมการเจริญของ *Lactobacillus plantarum* ได้

ผลงานวิจัยเบื้องต้น โดย Wichienchot and Jatupornpipat (2009) ทำการสกัดสารพรีไบโอดิคจากแก้วมังกรเนื้อแดงและแก้วมังกรเนื้อขาว พบว่า แก้วมังกรพันธุ์เนื้อแดง และพันธุ์เนื้อขาวให้ปริมาณสารพรีไบโอดิคไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (8.9% และ 8.6% ของปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ตามลำดับ) แต่เนื้อจากแก้วมังกรเนื้อขาวมีการปลูกและบริโภคในปริมาณที่มากกว่า เนื่องผลให้ราคาของแก้วมังกรเนื้อขาวถูกกว่า การนำแก้วมังกรเนื้อขาวมาใช้ประโยชน์จึงมีศักยภาพมากกว่าในเชิงเศรษฐศาสตร์ ผลจากการวิจัยคุณสมบัติพรีไบโอดิคเบื้องต้นของแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีขาว พบว่า สามารถทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ในสภาวะจำลองปาก โดยมีค่าการย่อยที่ pH 4-8 เป็น 2.09%, 3.08%, 3.28%, 6.88%, และ 11.18% ตามลำดับ มีความสามารถต้านทานการย่อยที่ pH 1-2 3-4 และ 5 เป็น 4.07% 2.43% 1.66% 0.85% และ 0.02% ตามลำดับ ซึ่งมีความสามารถต้านทานการย่อยได้ดีกว่าอินซูลินซึ่งเป็นพรีไบโอดิคทางการค้าที่ใช้เปรียบเทียบ สามารถส่งเสริมการเจริญของพรีไบโอดิคสายพันธุ์ *L. delbrueckii* BCC 13296 ได้ดี อย่างไรก็ตามผลการทดลองดังกล่าวทำโดยทดสอบกับเชื้อบริสุทธิ์ซึ่งในความเป็นจริงการรับประทานเนื้อแก้วมังกรจะเกิดการหมักโดยบุลินทรีที่มีในลำไส้ใหญ่ที่มีความซับซ้อนมากกว่า เนื่องจากมีบุลินทรีสายพันธุ์ที่แตกต่างกันมากกว่า 400 สายพันธุ์

Tatdao and Frank (2009) ทำการสกัดอินซูลินและฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์จากแก่นตะวัน พบว่า สามารถสกัดสารพรีไบโอดิคได้ โดยการใช้น้ำร้อนอุณหภูมิ  $98-99^{\circ}\text{C}$  เป็นเวลา 10 นาที กรองโดยใช้ผ้ามัสลิน และทำการระเหยนำออกไป 50% จากนั้นนำมาแยกสิ่งเจือปนออก โดยการตกรตะกอนด้วย 5% Calcium hydroxide ทำการกรองตะกอนออกและฟอกสีสารละลายด้วย

Activated carbon จากนั้นกรองและทำให้สารละลายนี้ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 12 องศาบริกซ์ จากนั้นนำมาปั่นให้เป็นเหลวเพื่อแยกสารละลายนี้และตะกอนออกจากน้ำอีกครั้ง จากนั้นนำอินซูลินที่สกัดได้ไปทำแห้งผ่านกระบวนการ Spray-dried จากนั้นนำอินซูลินที่สกัดได้มาทำการทดสอบคุณสมบัติ การเป็นสารพรีไนโอดิก โดยนำมาทดสอบการเจริญของเชื้อโพรไนโอดิก 3 ชนิด คือ *L.acidophilus L. casei* และ *B. bifidum* พบร่วมกันว่า อินซูลินที่สกัดได้สามารถทำให้เชื้อโพรไนโอดิกทุกชนิดเจริญและอยู่รอดได้ไม่แตกต่างจากการใช้อินซูลินทางการค้า

ตารางที่ 2-1 แสดงปริมาณอินซูลินและฟรุกโตโอลิโกลแซคคาไรด์ที่พบในพืช

พืช	อินซูลิน (% fresh weight)	ฟรุกโตโอลิโกลแซคคาไรด์ (% fresh weight)
Onion	2-6	2-6
Jerusalem artichoke	16-20	10-15
Chicory	15-20	5-10
Leek	3-10	2-5
Garlic	9-16	3-6
Artichoke	3-10	< 1
Banana	0.3-0.7	0.3-0.7
Barley	0.5-1.5	0.5-1.5
Yacon	3-19	3-19
Salsify	4-11	4-11
Wheat	1-4	1-4
Asparagus	1-30	5-10

ที่มา: Van et al. (1995)

สร้างเอนไซม์  $\beta$ -fructofuranosidase นายอยพันธะในภายใต้ Fructooligosaccharide ได้เป็นต้น ในขณะที่พรีไบโอติกที่มีขนาดใหญ่และนำหนักไม่เลกุลสูงจะสามารถถูกนำไปใช้โดยแบคทีเรียได้ น้อยลงหรืออาจกล่าวได้ว่าพรีไบโอติกที่คีวาร์ที่จะมีขนาดเล็ก (Degree of polymerization) ซึ่งสารพรีไบโอติกดังกล่าวสามารถพบได้ในผักและผลไม้หรืออาจจะได้จากการสังเคราะห์โดยการย่อยสารในกลุ่มโพลิแซคคาไรด์หรือการสังเคราะห์โดยการใช้เอนไซม์ชีวนิคและโกรงสร้างของของพรีไบโอติกที่มีการให้ในปัจจุบันได้แสดงไว้ในตารางที่ 2-3

ตารางที่ 2-3 องค์ประกอบทางเคมีของพรีไบโอติกกลุ่มไอลิโคแซคคาไรด์

Oligosaccharide (example)	Chemical composition
Fructo-oligosaccharides (Raftilose P95)	95% oligosaccharides $\beta$ (2-1) fructan; 60% glucose, fructose <sub>(n)</sub> , 40% fructose <sub>(n)</sub> dp 2-8, average 4-5
Inulin	>99% oligosaccharides $\beta$ (2-1) fructan; average dp 10-12
Pyrodextrins	Complex mixture of glucose-containing oligosaccharides ;
Transgalactosylated oligosaccharides (Oligomate 55)	Mainly 6' galactosyllactose, dp of oligosaccharide fraction 2-5 (primarily dp 3); 55% pure
Galacto-oligosaccharides	Oligogalactose (85%), small amounts of glucose, galactose, and lactose
Soya oligosaccharides	Stachyose (fructose, galactose, galactose, glucose) and raffinose (fructose, galactose, glucose), dp 3-4
Xylo-oligosaccharides	$\beta$ (1-4) linked xylose; 70% pure, dp of oligosaccharide fraction 2-4
Isomalto-oligosaccharides	Mixture of $\alpha$ (1-6) linked glucose oligomers (isomaltose, panose, isomaltotriose)
Lactolose	Galactose and fructose-containing disaccharide

ที่มา : George et al. (1999)

## 5. การทดสอบสมบัติความเป็นพิรีไนโอติก

การกล่าวอ้างคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของอาหารจำเป็นต้องมีการพิสูจน์ที่ชัดเจน โดยกระบวนการทางวิทยาศาสตร์ ซึ่งในการศึกษาสมบัติความเป็นพิรีไนโอติกล้วนใหญ่แล้วเกี่ยวข้อง กับกระบวนการหมักโดยจุลินทรีย์ที่พบในทางเดินอาหาร ในการศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่มีอยู่ หลายแบบดังนี้ (Gibson & Wang, 1994)

1. การใช้เชื้อบริสุทธิ์ (Pure culture) เป็นวิธีที่ง่ายที่สุดในการศึกษาสมบัติความเป็นพิรีไนโอติกของสาร โดยการใช้แบคทีเรียบริสุทธิ์ที่เลือกมาศึกษามาเลี้ยงในอาหารเดี่ยว เชื้อพื้นฐานที่มีการเติมสารอาหารที่ต้องการทดสอบแล้วนำวัดการเจริญในช่วงเวลาต่างๆ ของการบ่ม เชื้อเปรียบเทียบการเจริญกับเชื้อที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่มีการเติมสารอาหารที่ทดสอบ

2. การใช้เชื้อผสม (Mixed culture) ขึ้นเป็นวิธีสามัญที่ใช้ในการวัดกิจกรรมของจุลินทรีย์ ในลำไส้ แต่วิธีนี้ทำในระบบปิดที่มีสารอาหารจำกัดจึงเหมาะสมกับการศึกษาระยะสั้น ซึ่งแตกต่าง กับสภาวะจริงในลำไส้ใหญ่ที่มีสารอาหารใหม่ผ่านอยู่ตลอดเวลา จึงจำเป็นต้องมีการพัฒนาระบบหมักที่มีการเติมสารอาหารใหม่เข้าสู่ระบบหมักอย่างต่อเนื่อง โดยควบคุมอัตราการให้ออก-ออก และตัวแปรต่างๆ ที่มีผลต่อกระบวนการหมักในลำไส้

3. ระบบลำไส้ใหญ่จำลอง (*In vitro* colon model) ในการพัฒนาระบบลำไส้ใหญ่จำลอง ต้องเลียนแบบส่วนต่างๆ ของลำไส้ใหญ่ที่มีค่าตัวแปรต่างกัน ข้อมูลที่ได้จากระบบจำลองนี้สามารถ สะท้อนสภาวะที่เกิดขึ้นในลำไส้ใหญ่จริง จึงสามารถนำมาใช้ในการประเมินความเป็น พิรีไนโอติกได้อย่างมีประสิทธิภาพ

4. การใช้สัตว์ทดลอง (Animal trials) โดยมากนักใช้หนูในการทดสอบการเป็น พิรีไนโอติกของสาร ซึ่งมีข้อเสียคือสัตว์ทดลองมีลักษณะทางสรีระวิทยาของทางเดินอาหารที่ แตกต่างไปจากมนุษย์

5. การทดลองกับมนุษย์ (Human trials) ซึ่งมักเป็นในลักษณะการให้อาสาสมัคร รับประทานสารที่ต้องการทดสอบ แล้วตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงทางจุลทรีวิทยาในอุจจาระ ซึ่ง เป็นวิธีเดียวที่จะสามารถศึกษาการเปลี่ยนแปลงในลำไส้ได้ แต่วิธีนี้มีข้อจำกัดคือต้องมีการวิเคราะห์ ตัวอย่างอุจจาระทันทีหรือไม่ได้ เนื่องจากสภาวะการเก็บสามารถเปลี่ยนแปลงจุลินทรีย์ในอุจจาระไป จากเดิมได้ จึงจำเป็นต้องพัฒนาวิธีการตรวจสอบที่ใช้เทคนิคทางชีวโนโลยุสในการตรวจสอบ

### งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Adriano et al. (2009) กล่าวว่า ผลิตภัณฑ์ไอกกรีมเป็นอาหารที่มีศักยภาพสูงมากที่จะเป็น แหล่งของโพร์ไนโอติกได้ เนื่องจากผู้บริโภคทุกเพศ ทุกวัย และทุกสังคมต่างชื่นชอบไอกกรีม

อย่างไรก็ตามการจะผลิต ไอศครีม ให้มีปริมาณ โพร์ ใบ ไอติกเพียงพอควรต้องมีการเลือกใช้เทคนิคที่เหมาะสมและมีปัจจัยที่ต้องคำนึงถึง ได้แก่ การเลือกใช้สายพันธุ์เชื้อ ความเข้มข้นของปริมาณเชื้อที่เติม ขึ้นตอนในการเติมเชื้อ การเข้มงวดกับกระบวนการผลิต การเคลื่อนย้าย และการเก็บรักษา

Ranadheera et al. (2009) ได้ทำการรวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับการนำสารพรีไบโอติกมาใช้ในผลิตภัณฑ์ Dairy Product ประเภท ไอศครีม โยเกิร์ต และ นมเบร์ย์ พบว่า สารพรีไบโอติกนั้นมีประโยชน์โดยช่วยส่งเสริมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โพร์ ใบ ไอติก และช่วยทำให้เชื้อจุลินทรีย์โพร์ ใบ ไอติก สามารถดำรงชีวิตอยู่ในผลิตภัณฑ์ได้ดี ประโยชน์ของสารพรีไบโอติกต่อจุลินทรีย์โพร์ ใบ ไอติกในอาหารแสดงดังตารางที่ 2-4

นอกจากนี้แล้วจากการรวบรวมข้อมูล ยังพบว่า ในผลิตภัณฑ์ ไอศครีม การเติมสารพรีไบโอติกลงไป นอกจากมีคุณสมบัติในการส่งเสริมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โพร์ ใบ ไอติกแล้ว ยังพบว่า สารพรีไบโอ-ติกที่เติมลงไปนั้น สามารถทดแทนส่วนประกอบต่าง ๆ ใน ไอศครีม ได้อีกด้วย แสดงรายละเอียดดังตารางที่ 2-5

Schaller – Povolony and Smith (1999) ศึกษาการใช้อินโนลินทัดแทนน้ำตาลcorern ใช้รูปใน ไอศครีม ไขมันต่ำ โดยแบ่งปริมาณอินโนลินที่ทดแทนเป็น 50% และ 100% จากนั้นนำมาวิเคราะห์ลักษณะทางรสชาติสัมผัสในด้าน ความเป็นผลึกน้ำแข็ง (Iciness) การเคี้ยว (Chewiness) กลิ่นรส วนิลา (Vanilla flavor) และ ความหวาน (Sweetness) โดยวิธีการทดสอบเชิงพรรณนา (Descriptive analysis) และการทดสอบความเข้มของคุณลักษณะ (Attribute intensity scaling) พบว่า การใช้อินโนลินที่สองระดับ ช่วยลดการสร้างผลึกน้ำแข็งใหม่ระหว่างการเก็บรักษา เพิ่มความหนืด และลดความหวาน

Nagar et al. (2002) ทำการศึกษาการใช้อินโนลินทัดแทนสารเพิ่มความคงตัว ในผลิตภัณฑ์ ไอศครีม โยเกิร์ต พบว่า การเติมอินโนลิน จะช่วยเพิ่มความหนืดและความแน่นแข็งและช่วยปรับปรุงคุณสมบัติของการละลายของ ไอศครีม โยเกิร์ต

Kowittaya et al. (2007) ศึกษาการใช้อินโนลินทัดแทน ไขมัน ใน ไอศครีม ไขมันต่ำ โดยแบ่งชนิด (สายสัมและสายยาว) และปริมาณ (3%, 6%, และ 9%) ของอินโนลินเพื่อเติมใน ไอศครีม ไขมันต่ำ (ไขมัน 3%) ทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ ในด้านความหนืด % overrun Hardness และอัตราการละลาย พบว่า การใช้อินโนลินสายสัมและสายยาวผสมกัน ในปริมาณเท่ากันคือ 3% ช่วยปรับปรุงลักษณะทางกายภาพของ ไอศครีม ให้คล้ายกับ ไอศครีมสูตรควบคุม (ไขมัน 9%) มากที่สุด และพบว่า การใช้อินโนลินช่วยลดอัตราการละลายของ ไอศครีมลงได้

ตารางที่ 2-4 ประยุกต์ของสารพรีไบโอติกต่อเชื้อจุลทรรศ์ในโอดิกในอาหาร

Food	Prebiotics	Probiotics	Effect	Reference
Ice Cream	Inulin	<i>L. acidophilus</i> <i>B. lactic</i>	Viability	Akin et al. (2007)
	Hi-maize/ Resistant Starch	<i>L. acidophilus</i> <i>L. casei</i>	Growth and viability	Dondor et al. (2007)
		<i>L. acidophilus</i>		Hekmat, Soltani, and Reid (2009)
Yoghurt	Inulin	<i>L. casei</i> <i>L. rhamnosus</i> <i>L. reuteri</i> <i>Bifidobacteriu</i> m	Growth and viability	Aryana and McGrew (2007) Donkor et al. (2007)
		<i>L. acidophilus</i>		Capela et al. (2006)
	Fructooligosaccha rides	<i>L. casei</i> <i>L. rhamnosus</i> <i>Bifidobacteriu</i> m <i>B. animalis</i> <i>B. longum</i>	Viability and fatty acid production	Akalin, Tokusoglu, Gonc, and Aycan (2007) Akalin, Fenderya, and Akbulut (2004) Capela et al. (2006)
Fermented milk	Polydextose	<i>L. acidophilus</i> <i>L. rhamnosus</i> <i>B. animalis sub</i> <i>sp. lactic</i>	Growth, viability and fatty acid production	Oliveira et al. (2009)
	Oligofructose	<i>L. acidophilus</i> <i>L. rhamnosus</i> <i>B. animalis</i> <i>subsp. lactic</i>	Growth, viability and fatty acid production	Oliveira et al. (2009)

ตารางที่ 2-5 การศึกษาการใช้สารพรีไบโอติกทางการค้าเพื่อทดแทนส่วนผสมบางชนิดในไอศครีม

Type of ice cream	Prebiotic	Probiotic	Properties	Ref.
	inulin	--	Sweetener	Schaller – Povolony and Smith (1999)
Low fat	inulin	--	Reduce fat	Kowittaya et. al. (2007)
	inulin	<i>L. Acidophilus</i> <i>B. animalis</i>	Reduce fat	Akalin and Erisir, (2008)
	inulin	--	Stabilizer	Nagar et. al. (2002)
Yoghurt	Fructooligosaccharides (FOS)	<i>Lc. Lactis spp.</i> <i>Cremoris</i>	Increase viability	Puttawan (2007)

Puttawan (2007) ศึกษาผลของการเติมพรีไบโอติก (Fructooligosaccharide, FOS) และ สารป้องกันอันตรายจากความเย็น ที่ส่งผลต่อการเหลือรอดชีวิตของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก (*Lc. Lactis spp. Cremoris*) ในไอศครีมโยเกิร์ต โดยแบ่งสิ่งทคลองออกเป็น 3 สิ่งทคลอง คือ ไอศครีมโยเกิร์ตที่ไม่มีการเติมพรีไบโอติก และ สารป้องกันอันตรายจากความเย็น(ควบคุม) ไอศครีมโยเกิร์ตที่มีการเติมพรีไบโอติก ชนิด Raftilose® 95 1.5% (Fructooligosaccharide) และ ไอศครีมโยเกิร์ตที่มีการเติมสารป้องกันอันตรายจากความเย็น ชนิด Unipectine™ RS 150 2.5%

ผลการศึกษาพบว่า การเติม FOS ทำให้จุลินทรีย์โพรไบโอติก *L. lactis ssp. Cremoris* มีปริมาณการเหลือรอดไม่ต่างจากตัวอย่างที่เติมสารป้องกันอันตรายจากความเย็น

Akalin and Erisir (2008) ศึกษาการใช้อินนูลินในไอศครีมเสริมโพรไบโอติกไขมันต่ำ โดยทำการวิเคราะห์ผลของอินนูลินต่อคุณสมบัติทางกายภาพในด้าน Firmness และ ทำการวิเคราะห์การเจริญของชื้อโพรไบโอติก *L. acidophilus* (La-5), *B. animalis* (Bb-12) พบร่วมกับการเติมอินนูลิน 4% ส่งเสริมการอยู่รอดของ *L. acidophilus* และ *B. animalis* ได้ และช่วยเพิ่มความคงตัวให้กับผลิตภัณฑ์ในระหว่างการเก็บรักษา

การพัฒนาผลิตภัณฑ์ไอศครีมเสริมโพรไบโอติกและพรีไบโอติก เพื่อให้ได้ประโยชน์ต่อสุขภาพจะต้องตระหนักถึงปริมาณแบคทีเรียโพรไบโอติกที่เหลือรอดอยู่ในไอศครีม โดยควรมีปริมาณเชื้อโพรไบโอติกไม่ต่ำกว่า  $10^5$ - $10^6$  cfu/g ทั้งนี้ปัจจัยที่มีผลมีหลายประการ เช่น สายพันธุ์ ชนิดของโพรไบโอติก กระบวนการผลิต ความเป็นกรดของอาหาร การสร้างกรดระหว่างการเก็บรักษา ความเข้มข้นของน้ำตาล ความไวของเชื้อต่อสารปฏิชีวนะ และปริมาณสารอาหารในนม (Dave & Shah, 1996) นอกจากนี้ปัจจัยที่สำคัญอย่างยิ่งได้แก่ ด้านสภาพการแพร่กระจายและการเก็บรักษาซึ่งมีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องดังนี้

Gilliland and Lara (1988) พบว่า แบคทีเรียแลกติกมีอัตราการอยู่รอดสูงขึ้นเมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำ Helmat and McMahon (1992) ศึกษาการอยู่รอดของ *L.acidophilus* และ *B.bifidum* ในไอศครีมหวานและไอศครีมโยเกิร์ตเป็นเวลา 17 สัปดาห์ พบว่า *L.acidophilus* และ *B.bifidum* สามารถเจริญเติบโตได้ดีในไอศครีมหวานและสามารถอยู่รอดได้ในระหว่างการแพร่กระจาย โดย *L.acidophilus* ลดลงจาก  $1.5 \times 10^8$  เป็น  $4 \times 10^6$  โคลoniต่อ ml ลิตร ส่วน *B.bifidum* ลดลงจาก  $2.5 \times 10^8$  เป็น  $1 \times 10^7$  โคลoniต่อ ml ลิตร และพบว่าระยะเวลาในการเก็บรักษามีผลต่อจำนวนเชื้อที่อยู่รอด

Ravula and Shah (1998) ศึกษาความสามารถในการเจริญของโพรไบโอติกในไอศครีมโยเกิร์ตพบว่า *Lb. acidophilus* และ *B. bifidum* ถูกทำลายโดยกระบวนการแพร่กระจายเพียงเล็กน้อย โดยการลดลงของ *Lb. acidophilus* ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเชื้อส่วน *B. bifidum* มีปริมาณลดลง 10 % ที่ค่าความเป็นกรด-ค่างของผลิตภัณฑ์ 5.6-5.8 ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Modler and others (1990) ที่พบว่า การเก็บรักษาไอศครีมโยเกิร์ตในสภาพแพร่กระจายเป็นเวลา 70 วัน ทำให้บีฟิโอดแบคทีเรียอยู่รอดได้ 90 %

Capela and others (2005) ได้ศึกษาผลการใช้สารป้องกันอันตรายจากความเย็น พรีไบโอติก และการทำให้เกิดการห่อหุ้มเซลล์ ในโยเกิร์ต พบว่า การใช้สารป้องกันกันอันตรายจากความเย็นชนิด Unipectin ที่ 2.5 % สามารถเพิ่มการอยู่รอดของ *Bifidobacterium longum* ได้ประมาณ 80 % และเพิ่มการอยู่รอดของ *Lactobacillus* spp. ได้ประมาณ 30 % และการใช้พรีไบโอติกชนิดฟรุ๊กโตโอลิโกแซคคาไรด์ ปริมาณ 1.5 % จะช่วยเพิ่มการเหลือรอดชีวิตของโพรไบโอติกได้ดีที่สุด โดยมีจำนวนประมาณ  $8.7 \log$  cfu/g และในการทำให้เกิดการห่อหุ้มเซลล์ของโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตแพร่กระจายพบว่า หลังจาก 6 เดือนของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 21 องศาเซลเซียส เชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกมีการเหลือรอดเพิ่มมากขึ้น

## โพรไบโอติก (Probiotic)

Parker (1974) ได้ให้ความหมายของคำว่า โพรไบโอติก (Probiotic) ไว้ว่า หมายถึง จุลินทรีย์หรือสารที่ช่วยในเรื่องความสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ ต่อมาก Fuller (1989) ได้ให้

ความหมายของคำว่า โพรไบโอติกใหม่ว่า เป็นอาหารเสริมพวงคุกulinทรีบีมีชีวิตที่มีประโยชน์ต่อสัตว์ โดยไปส่งเสริมความสมดุลของจุลินทรีในลำไส้ โดยมีจุลินทรี โพรไบโอติกที่มีชีวิตในปริมาณที่เพียงพอ (ไม่น้อยกว่า  $10^5$  –  $10^6$  โคโลนีต่อกรัม) ต่อการทำหน้าที่ปรับสมดุลของจุลินทรีในทางเดินอาหาร เรียกว่า อาหาร โพรไบโอติก

จุลินทรี โพรไบโอติกที่นิยมใช้ในปัจจุบัน ได้แก่ จุลินทรีในสายพันธุ์ *Bifidobacterium* spp. และ *Lactobacillus* spp. โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผลิตภัณฑ์นมหมัก เนื่องจากเป็นสายพันธุ์ดังเดิมที่มีการใช้มานาน และพบว่ามีความปลอดภัยต่อสุขภาพ (สุมาดี เหลืองสกุล, 2541)

### 1. *Bifidobacterium* spp.

*Bifidobacteria* แยกได้ครั้งแรกจากอุจจาระของทารกในปี ก.ศ. 1899-1900 โดย Tissier ปัจจุบันประกอบด้วยสมาชิก 30 สปีชีส์ (Gomes & Malcata, 1999) มีสมบัติสำคัญ คือ แบคทีเรียแกรนบวก มีรูปร่างเป็นหònสัน ไม่ให้อ่อนไขม์กระเลส เคลื่อนที่ด้วยตัวเอง ไม่ได้ และไม่สร้างสปอร์ ไม่เจริญในสภาพที่มีออกซิเจน ช่วงอุณหภูมิต่ำสุดที่เจริญได้ คือ  $25-28^{\circ}\text{C}$  อุณหภูมิสูงสุดที่เจริญ ได้คือ  $43-45^{\circ}\text{C}$  แบคทีเรียนี้เจริญได้ในช่วงค่าความเป็นกรด-ค่า  $5.0-8.0$  (สุน พชา วัฒนสินธุ์, 2540) สามารถหมักนำتاลกถูโภสให้เป็นกรดอะซิติก และกรดแลคติกในอัตราส่วน 3:2 ไม่สังเคราะห์คาร์บอนไดออกไซด์ โดยจะผลิตกรดแลคติกในรูป L(+) ซึ่งร่างกายใช้ในระบบเมแทบอลิซึมได้นากกว่า กรดแลคติกในรูป L(-) (อิศรา วัฒนภากาภย์, 2545)

### 2. *Lactobacillus* spp.

พอกนี้มีรูปร่างเป็นหònกล่อนข้างยาวมักเรียกต่อ กันเป็นลูกโซ่ เป็นพอกต้องการออกซิเจนเพียงเล็กน้อย ในการเจริญ (Microaerophilic) แต่มีบางชนิดเป็นพอกแอนแอโรบิก ไม่สร้างเอนไซม์กระเลส ซึ่งมีคิดสีแกรนบวก สายยันต์ตาลและไว้ให้กรดแลคติกเป็นส่วนใหญ่ ถ้าเป็นไฮโรมิโนฟอร์เมนเททีฟ (Homofermentative) จะสายยันต์ตาลและไว้ให้กรดแลคติกเกือบทั้งหมด มีกรดอะซิติก ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และอื่น ๆ บ้างเล็กน้อย แต่ถ้าเป็นพอกเซตเทอโร-เฟคต์ฟอร์เมนเททีฟ (eterofermentative) จะสายยันต์ตาลและไว้ให้สารระเหยได้รวมทั้งแอลกอฮอล์ในปริมาณมาก ใกล้เคียงกับกรดแลคติก ตัวอย่างของไฮโรมิโนฟอร์เมนเททีฟ และเซตเทอโร-เฟคต์ฟอร์เมนเททีฟได้แสดงไว้ในตารางที่ 2-6

ตารางที่ 2-6 การแบ่งกลุ่มของ Lactobacilli ตามชนิดของผลผลิตและอุณหภูมิที่เหมาะสม

อุณหภูมิที่เหมาะสม	โซโนເຟ່ອມັນເທີຟ	ເຊຕເທອໂຣເຟ່ອມັນເທີຟ
ไม่ต่ำกว่า 37 องศาเซลเซียส	<i>L. acidophilus</i> <i>L. bulgaricus</i> <i>L. helveticus</i> <i>L. lictis</i> <i>L. thermophilus</i> <i>L. delbrueckii</i>	<i>L. fermentum</i>
ต่ำกว่า 37 องศาเซลเซียส	<i>L. plantanum</i> <i>L. leichmanii</i> <i>L. casei</i>	<i>L. brevis</i> <i>L. bruchmeri</i> <i>L. pastorianus</i> <i>L. hilgardii</i> <i>L. trichodes</i>

ที่มา: (สุนาลี เหลืองศกุล, 2541)

### 1. คุณสมบัติของโพรไบโอติก

โพรไบโอติกเป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์ ซึ่งส่งเสริมสุขภาพของเจ้าของให้ดีขึ้น ดังนั้นการที่แบคทีเรียโพรไบโอติกสามารถเจริญและผ่านลงไประหว่างไส้ไห流逝ต้องมีคุณสมบัติหลายประการเพื่อสามารถทนต่อสภาพที่รุนแรงในทางเดินอาหาร ส่วนบนและผ่านลงไประหว่างไส้ไห流逝ได้ ซึ่งแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ดีต้องมีคุณสมบัติดังนี้

1.1 สามารถทนต่อกรดในกระเพาะอาหาร ได้ดี ร่างกายมีการหลังของกรดไฮdrochloric เพื่อช่วยในการย่อยอาหารทำให้พืชในกระเพาะอาหารค่อนข้างตัว จะอยู่ในช่วง 1-3 ดังนั้นแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ดีต้องมีความสามารถในการทนต่อพืชในช่วงนี้ จึงจะสามารถเหลือรอดไปสู่ทางเดินอาหารส่วนลำไส้ได้ (Kontula et al., 1998)

1.2 สามารถทนต่อเกลือน้ำดีได้ เมื่อจากในทางเดินอาหารส่วนต้น โดยเฉพาะบริเวณลำไส้เล็กจะมีเกลือน้ำดีที่หลังจากดับอ่อนเข้ามาช่วยในการย่อยอาหารจำพวกไขมัน ซึ่งจะมีความเข้มข้นของเกลือน้ำดี 0.15% - 0.30% (Erkkila & Petaja, 2000) ความสามารถในการทนเกลือน้ำดีจะทำให้โพรไบโอติกสามารถผ่านและเจริญในลำไส้ได้

Hyronimus et al. (2000) ศึกษาผลของเกลือน้ำดีต่อการเจริญของ spore-forming lactic acid bacteria ที่ความเข้มข้น 0.1%, 0.2%, และ 0.3% พบว่า *B. racemilacticus* และ *B. coagulans* สามารถทนต่อเกลือน้ำดีที่ความเข้มข้น 0.3% ได้

Shirota (1962 อ้างโดย Gibson & Anngus, 2000) ศึกษาการทนต่อเกลือน้ำดีของโพรไบโอติกที่แยกจากสัตว์น้ำ พบว่า *Lactobacillus* สายพันธุ์ที่ทนต่อเกลือน้ำดีได้สูง ได้แก่ *L.*

*bulgaricus*, *L. fermenti*, *L. casei*, และ *L. acidophilus* ทนเกลือน้ำดีที่ความเข้มข้น 2% 4% 10% และ 12 % ตามลำดับ

1.3 สามารถแข่งขันกับเชื้อค่อโรคในการยึดเกาะผนังลำไส้ ป้องกันไม่ให้แบนค์ที่เรียกว่า เอกซ์เเชร์เคจและต่อต้านการเคลื่อนที่ของลำไส้ที่มีการบีบตัวให้อาหารเคลื่อนที่ในลักษณะลูกคลื่น (Peristalsis) ซึ่งการเกาะของโพรไบโอติกนี้จะช่วยในการ colonization ของโพรไบโอติกได้ และยังช่วยให้การย่อยอาหาร และการดูดซึมเป็นไปอย่างปกติ (Fuller, 1993)

ตารางที่ 2-7 กลุ่มของเชื้อแบนค์ที่เรียกว่าคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก

<b>Lactobacillus sps</b>	<b>Bifidobacterium species</b>	<b>Other lactic acid Bacteria</b>	<b>Other microorganism</b>
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Propionibacterium fredericqii</i>
<i>L. amylovorus</i>	<i>B. animalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>L. crispatus,</i>	<i>B. breve</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Propionibacterium fredericqii</i>
<i>L. gallinarum</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>	
<i>L. gasseri;</i>	<i>B. lactis</i>	<i>Sporolactobacillus inulinus</i>	
<i>L. johai</i>	<i>B. longum</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	
<i>L. paracasei</i>			
<i>L. plantarum</i>			
<i>L. reuteri</i>			
<i>L. rhamnosus</i>			
<i>L. salivarius</i>			

ที่มา : Holzapfel et al. (1998)

## 2. ประโยชน์ของจุลินทรีย์ในโภชิก

2.1 ยังมีการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคในทางเดินอาหาร เนื่องจากครดแผลติดเชื้อเป็นสารหลักที่แบคทีเรียผลิตออกมามีผลทำลายหรือบั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย นอกจากรดแผลติดเชื้อยังมีสารอื่น เช่น กรดอะซิติก กรดฟอร์มิกและกรดเบนโซิก แม้มีปริมาณไม่มากแต่ในสภาวะที่เป็นกรด กรดเหล่านี้สามารถบั้งจุลินทรีย์หลายชนิด โดยเฉพาะแบคทีเรียแกรมลบที่ทำให้เกิดโรค นอกจากนี้สามารถบั้งจุลินทรีย์หลายชนิด โดยเฉพาะแบคทีเรีย (Bacteriocins) สามารถบั้งจุลินทรีย์ เช่น *Salmonella* และ *Shigella* ได้ด้วย (สุนณทา วัฒนสินธุ์, 2549)

2.2 ลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด มีงานวิจัยพบว่า *L. acidophilus* สามารถย่อยและลดการดูดซึมคอเลสเตอรอลได้ (Kalantzopoulos, 1997) นอกจากนี้ Abd EL-Gawad et al. (2005) ยังพบว่าการให้หนูบริโภคอาหารที่มีคอเลสเตอรอลสูงร่วมกับโยเกิร์ตนม Crowley และโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองที่มีเชื้อ *B. fidobacterium lactis* (Bb 12) หรือ *B. fidobacterium longum* (Bb 46) จะช่วยลดปริมาณคอเลสเตอรอลทั้งหมด กอเลสเตอรอลชนิด VLDL (Very low-density lipoprotein) และคอเลสเตอรอลชนิด LDL (Low-density lipoprotein) ได้อย่างมีนัยสำคัญ

2.3 สร้างระบบภูมิคุ้มกันด้านเซลล์มะเร็ง โดยก่อนให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกับเซลล์มะเร็ง โดยตรง หรือกำจัดเซลล์ที่จะกลายเป็นเซลล์มะเร็งต่อไป ช่วยลดระดับของเอนไซม์ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปจากโปรดาร์ซิโนเจน (Procarcinogens) ไปเป็นคาร์ซิโนเจน (Carcinogens) จึงลดความเสี่ยงในการเกิดเซลล์มะเร็ง จากการศึกษาของ Goldin and Gorbach (1984) พบว่าเมื่อคนบริโภคนมที่มีเชื้อ *L. acidophilus* จะมีผลต่อกรรมของแบคทีเรียในลำไส้ มีผลทำให้ระดับของเอนไซม์เบต้า-กลูโคโนไดดase ( $\beta$ -glucuronidase) เอนไซม์อะโซเรดักเตส (Azoreductase) และเอนไซม์ไนโตรเรดักเตส (nitroreductase) ในอุจจาระลดลงประมาณ 2 ถึง 4 เท่า และกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งเซลล์ของแบคทีเรียแลคติกหรือเชื้อส์วนของผนังเซลล์สามารถกระตุ้นเม็ดเลือดขาวในร่างกายได้ พบว่า *L. acidophilus*, *L. Bulgaricus* และ *Bifidobacterium* ชักนำให้เกิดสารแอลฟ่าอินเทอเฟอรอน ซึ่งมีหน้าที่ด้านไวรัสและด้านการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์แบล็คปลอม

2.4 แก้ไขปัญหาการแพ้น้ำตาลแคล็คโตส เนื่องจากแลคติกแบคทีเรียสามารถผลิตเอนไซม์เบต้า-กาแคล็คโตซิเดส์ที่เปลี่ยนน้ำตาลแคล็คโตสให้เป็นน้ำตาลกลูโคส กับกาแคล็คโตสจากนั้นน้ำตาลกลูโคสจะถูกเปลี่ยนเป็นกรดแลคติก ทำให้ผู้บริโภคที่ไม่มีเอนไซม์แลคเตสสามารถบริโภคนมได้โดยไม่มีอาการท้องเสีย (นพวรรณ พร้อมชั่นชม, 2548)

2.5 เพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีน โดยการแลกติกที่แบคทีเรียสร้างขึ้น ในนมหมักมีอิทธิพลต่อสมบัติทางกายภาพของตะกอนเคชินซึ่งเป็นโปรตีนที่มีมากในนม จะช่วยให้การย่อยเคชินง่ายขึ้น ช่วยให้มีการหลั่งน้ำลายและเอนไซม์ในการเพาะอาหารและตับอ่อน ช่วยให้การเคลื่อนไหวของลำไส้ดีขึ้น นอกจากนี้ที่แบคทีเรียผลิตออกมาซึ่งช่วยย่อยโปรตีนให้เป็นสารโนเดกูลเล็ก (เปปไทด์และกรดอะมิโนอิสระ) ที่ร่างกายนำไปใช้ประโยชน์ได้ (สุนณษา วัฒนสินธุ์, 2549)

2.6 เพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ โดย *B. bifidum* สามารถสังเคราะห์วิตามินบีได้ และเพิ่มการดูดซึมแคลเซียม

### 3. การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นเชื้อโปรดไบโอติก

แบคทีเรียแลกติกที่สมควรได้รับการพิจารณาคัดเลือกเพื่อนำมาใช้ผลิตผลิตภัณฑ์โปรดไบโอติกควรมีลักษณะดังนี้ (สุนณษา วัฒนสินธุ์, 2549)

3.1 มีสมบัติเป็นโปรดไบโอติกที่มีหลักฐานเป็นเอกสารเชื่อถือได้

3.2 มีสมบัติคล้ายกับสมบัติของเชื้อที่ใช้หมักนมแบบพื้นบ้าน เช่น เกิดกรดแลกติกเร็วโดยลำพังตัวของแบคทีเรียนนั้น ๆ หรือเกิดร่วมกันเชื้ออื่น ๆ

3.3 ควรเพรpareลีบงധยาพันธุ์ง่ายในผลิตภัณฑ์อาหารหมัก และทนต่อกรดแลกติกที่เกิดขึ้นเพื่อจะได้มีชีวิตอยู่ในระหว่างการเก็บรักษานมหมัก

3.4 สายพันธุ์ที่คัดเลือกไว้ควรเป็นสายพันธุ์ที่ทำให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นรส สมบัติทางประสาทสัมผัสเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

3.5 มีบทบาทที่ต้องการในลำไส้ กือ เป็นสายพันธุ์ที่รอดชีวิตได้เมื่อผ่านกระบวนการอาหาร สามารถเพิ่มจำนวนในลำไส้เล็ก และทนต่อกรดอ่อนน้ำดีขั้นระดับในลำไส้เล็กส่วนปลาย

## แก้วมังกร

แก้วมังกร หรือ Dragon fruit มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Hylocereus undatus* จัดเป็นต้นไม้ประเภทเดียวกันในวงศ์ Caetaceae หรือ กระบอกเพชร มีแหล่งกำเนิดในทวีปอเมริกาและเอเชีย นิยมปลูกมากในประเทศไทยและต่อมาก็ได้มีการนำมายังไทยตั้งแต่ พ.ศ. 2537 โดยมีการศึกษาและเผยแพร่องค์ความรู้ที่สำคัญมากขึ้น (สุรพงษ์ โกสิยะจินดา, 2545)

### 1. ลักษณะทางพฤกษาศาสตร์

แก้วมังกรเป็นพืชตระกูลเดียวกับกระบอกเพชร รูปร่างและลักษณะของลำต้น

คล้ายระบบของเพชรที่คุณไทยคุ้นหู ลำต้นมีลักษณะเป็นสีเขียวเข้ม ยกเว้นต้นอ่อนที่เป็นสีเขียวอ่อน จะแยกเป็น 3 แฉก มีหักโดยตลอด รากของแก้วมังกรจะอยู่ลึกลงไปในดิน โดยจะเกาะตัวกันมองคุไม่เป็นระเบียบ บางครั้งอาจเห็นรากของแก้วมังกรเลือยตามวัตถุที่อยู่ใกล้ เนื่องจากรากแก้วมังกรสามารถที่จะเลื้อยเกาะไปในบริเวณที่รากพืชแสรงหาอาหารได้ ก่อนหน้านี้พบว่าแก้วมังกรสามารถอยู่กับพืชบริเวณใกล้เคียงได้ทั้งหมด โดยอยู่ในลักษณะการเกาะเหมือนกาฝาก คุณน้ำเลี้ยงจากพืชที่มันเกาะอยู่เพื่อเป็นอาหาร จนพืชเหล่านั้นต้องตายในที่สุดเนื่องจากขาดอาหารในการหล่อเลี้ยงต้นที่เพียงพอ เมื่อนั้นระยะเวลาในการออกดอกตั้งแต่เริ่มปลูกในแปลงจนมีดอกใช้เวลาประมาณ 8-12 เดือน คุณดอกจะขึ้นที่บริเวณปลายกิ่ง มีสีเขียวอ่อน โดยจะใช้เวลาประมาณ 14 วันในการกลมเป็นดอกแก้วมังกร ซึ่งดอกนั้นจะมีความยาวประมาณ 30 ซม. ลักษณะของดอกเวลาบานเต็มที่จะมีลักษณะคล้ายแต่รากบาน นานตอนหัวค้ำหรือตอนกลางคืนและสามีแสงโผล่เข้ามาก็จะทุบไปโดยธรรมชาติ ส่วนผลอ่อนมีสีเขียว ทรงกระบอก มีสัมภาระรูปร่างคล้ายลูกชิ้น เมื่อติดผลแล้วไม่เกิน 5 สัปดาห์ผลอ่อนแก้วมังกรจะสุก ลักษณะของแก้วมังกรมีเมื่อมองจากภายนอกจะมีรูปร่างเป็นวงรีเปลือกมีสีเข้มพูดองแดงบางสายพันธุ์อาจเป็นสีเหลืองทอง ภายนอกจะมีก้านเลี้ยงอยู่ประมาณ 5-10 กิโล่ โดยประมาณ เมื่อผ่าครึ่งออกเป็นสองซีกจะพบว่า เนื้อมีลักษณะโดยรอบเป็นวงกลมคล้ายส้ม มีสีขาว เหลือง แดง ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ ภายในเนื้อแก้วมังกรจะมีเมล็ดคล้ายเมล็ดชาหรือเมล็ดแมงคลักติดอยู่โดยทั่วไป

## 2. พันธุ์ของแก้วมังกร

พันธุ์ของแก้วมังกรที่นิยมปลูกอยู่ในโลกมีเพียง 2 ชนิด คือ พันธุ์เนื้อขาว และพันธุ์เนื้อแดง ส่วนสายพันธุ์อื่น ๆ ใช้เป็นเพียงแม่พันธุ์ในการปรับปรุงเพื่อให้ได้ลักษณะที่ดีขึ้น สกุล *Hylocereus* มีอยู่ 18 ชนิด และพบว่า ปัจจุบันชนิดของพันธุ์แก้วมังกรที่ปลูกเพื่อการค้าในประเทศไทยมีอยู่ 3 พันธุ์ คือ พันธุ์เวียดนามซึ่งเป็นพันธุ์ที่ใช้ในการวิจัย พันธุ์ไทย และพันธุ์ไต้หวัน ซึ่งทั้ง 3 พันธุ์มีข้อดีและข้อเสียแตกต่างกัน ดังตารางที่ 2-8

## 3. คุณค่าทางอาหาร

ข้อมูลการวิเคราะห์คุณค่าของผลแก้วมังกรพันธุ์เนื้อขาวและพันธุ์เนื้อแดงที่สุกเต็มที่แสดงในตารางที่ 2-9 โดยพบว่าแก้วมังกรเนื้อขาวมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตมากที่สุด นอกจากนี้พบว่าแก้วมังกรทั้งสองชนิดมีปริมาณสารอาหารที่แตกต่างกัน (รัฐสานัชนาครี, 2545)

ตารางที่ 2-8 การเปรียบเทียบข้อดี – ข้อเสีย ของแก้วมังกรที่ปลูกเพื่อการค้าในประเทศไทย

พันธุ์ ของแก้วมังกร	ข้อดี	ข้อเสีย
พันธุ์เวียดนาม	1. ผลมีขนาดใหญ่ มีกลิ่นเลี้ยงบนผลจำนวน น้อย น้ำหนักผลมาก เปลือกผลหนา 2. ทนต่อการขนส่งในระยะทางไกล	1. รสชาติจืด 2. เนื้อละเอียด 3. สีผลไม่ค่อยสวยงาม
พันธุ์ไทย	1. รสชาติหวานอร่อย 2. สีผลสวย	1. ผลขนาดเล็ก 2. ปั่นทนต่อการขนส่ง 3. เปลือกบาง เน่า dễ爛
พันธุ์ไต้หวัน	1. ผลมีขนาดปานกลาง รสชาติหวานมาก 2. สีผลสวย	1. ไม่ทนต่อการขนส่ง 2. เปลือกบาง

ตารางที่ 2-9 คุณค่าทางอาหารของผลแก้วมังกรพันธุ์เนื้อขาวและพันธุ์เนื้อแดงต่อส่วนที่รับประทาน  
ได้ 100 กรัม

สารอาหาร	ปริมาณ	
	แก้วมังกรพันธุ์เนื้อขาว	แก้วมังกรพันธุ์เนื้อแดง
การ์โนไไฮเดรต (กรัม)	11.20	-
โปรตีน (กรัม)	1.10	0.16 – 0.23
ไขมัน (กรัม)	0.57	0.21 – 0.61
เกลือ (กรัม)	0.56	-
ความชื้น (กรัม)	85.30	82.5 – 83.0
เส้นใยรวม (กรัม)	1.34	0.7 – 0.9
พลังงาน (กิโลแคลอรี)	67.70	-
วิตามินซี (มิลลิกรัม)	3.0	8.0 – 9.0
ไนอะซิน (มิลลิกรัม)	2.8	-
วิตามินเอ (มิลลิกรัม)	0.01	-
แมกนีเซียม (มิลลิกรัม)	10.20	6.3 – 8.8
เหล็ก (มิลลิกรัม)	3.37	0.55 – 0.65
แมกนีเซียม (มิลลิกรัม)	38.90	-
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม)	27.50	30.2 – 36.1
โพแทสเซียม (มิลลิกรัม)	272.00	-
โซเดียม (มิลลิกรัม)	8.90	-
สังกะสี (มิลลิกรัม)	0.35	-
แกรโธทีน (มิลลิกรัม)	-	0.005 – 0.012
วิตามินบี 1 (มิลลิกรัม)	-	0.28 – 0.043
วิตามินบี 2 (มิลลิกรัม)	-	0.043 – 0.045
วิตามินบี 3 (มิลลิกรัม)	-	0.297 – 0.43

ที่มา: รภสสฯ จันทารี (2545)

## เทคโนโลยีในโครอ่อนแคปซูลเดชัน

จากปัจจุบันการลดจำนวนของจุลินทรีย์ที่อยู่รอดในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิต่ำได้มีการหาแนวทางการปรับปรุงการอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์ ทำได้โดยการใช้เทคนิคในโครอ่อน-แคปซูลเดชัน ซึ่งหมายถึง กระบวนการที่เซลล์ถูกห่อหุ้มไว้ภายในเยื่อหุ้ม (Encapsulating membrane) เพื่อลดการบาดเจ็บของเซลล์หรือการสูญเสียของเซลล์จากสภาพแวดล้อม วิธีในโครอ่อนแคปซูลเดชัน ได้ถูกประยุกต์ใช้ในการเคลือบเซลล์พร้อมไปอ็อกติกในผลิตภัณฑ์นมหมัก หรือการผลิตมวลเซลล์ (Biomass production) สามารถเพิ่มการลดชีวิตของโพรงไบโอดิสเพิ่มขึ้นถึง 80-95 % (Krasaekoont et al., 2003) ดังนั้นการเคลือบเซลล์นี้จึงเป็นเทคโนโลยีในการปกป้องตัวเซลล์ไว้ภายในเม็ดเจลไฮโดรคลออลอยด์ช่วยรักษาความคงตัวและรักษาระดับจำนวนจุลินทรีย์โพรงไบโอดิสภายในผลิตภัณฑ์และระบบทางเดินอาหาร (Rao et al., 1989)

เทคโนโลยีในโครอ่อนแคปซูลเดชัน เป็นเทคโนโลยีที่พัฒนาจากการเคลือบเซลล์ด้วยสารไฮโดรคลออลอยด์ เช่น แคลเซียมอัลจิเนต แแกปปาราจีแนน เจแลนกัม หรือ เจลาติน เป็นการทำให้เซลล์ถูกรักษาไว้ในรัศมีที่ห่อหุ้ม เพื่อลดการบาดเจ็บและการตายของเซลล์ ทำให้เซลล์ทนต่อกรดและน้ำดื่มในทางเดินอาหาร ได้เช่น มีรายงานว่า เทคนิคในโครอ่อนแคปซูลเดชันช่วยป้องกันเซลล์จากสภาพที่มีออกซิเจนสูง ช่วยป้องกันเซลล์จากการแข็งแข็ง และป้องกันเซลล์ระหว่างการส่งผ่านเข้าไปในลำไส้ (Champagne & Cote, 1978)

### 1. ประเภทของเทคโนโลยีที่ใช้เคลือบเซลล์ (Krasaekoont et al., 2003)

เทคโนโลยีที่ใช้ในการเคลือบเซลล์แบ่งได้เป็น 2 วิธี คือ เทคนิคเอกซ์ทรูชัน (Extrusion) และ เทคนิคэмลัชัน (Emulsion) แสดงดังแผนภาพที่ 2-3

1.1 เทคนิคเอกซ์ทรูชัน (Extrusion) เป็นกระบวนการที่ใช้ในการสร้างแคปซูลด้วยสารไฮโดรคลออลอยด์ โดยมีการเตรียมสารละลายไฮโดรคลออลอยด์แล้วเติมเชื้อจุลินทรีย์ลงไป และอัดส่วนผสมรวมกัน จากนั้นใช้ระบบอัดฉีดยาดูดสารละลายผสมฉีดผ่านรูเข็มลงในสารละลายที่ใช้เก็บเกี่ยวขนาดและรูปร่างของเม็ดบีทที่ได้ขึ้นอยู่กับเส้นผ่านศูนย์กลางของรูเข็มและระยะทางในการตกวิธีการนี้ส่วนใหญ่จะได้รับความนิยมเนื่องจากเป็นวิธีการที่ง่าย ราคาถูก และสามารถรักษาการเหลือรอดของเซลล์ได้ในปริมาณสูง

1.2 เทคนิคэмลัชัน (Emulsion) เป็นการห่อหุ้มเซลล์ในโครงสร้างตาข่ายของเจลโพลิเมอร์ ซึ่งมีขั้นตอนที่เริ่มจากการผสมกันระหว่างวัสดุภาค 2 ชนิด โดยชนิดหนึ่งเป็นหยดของเหลว (Droplets) ของสารผสมระหว่างเซลล์กับสารละลายโพลิเมอร์ที่ทำให้กระจายตัวในของเหลวอีกชนิดหนึ่งที่เป็นตัวกลาง (Medium) ซึ่งคือน้ำมันพืช จากนั้นเป็นการเติมสารเชื่อมไขว้เพื่อเปลี่ยนโครงสร้างของหยด

สารละลายน้ำมันสำเร็จที่ห่อหุ้มเซลล์โดยการสร้างพันธะไออกอนิก การเติมอิมัลซิไฟเออร์ (Emulsifier) สามารถช่วยในการเกิดอิมัลชันที่ดีเนื่องจากสามารถแกร่งตึงผิวระหว่างเฟสได้ เป็นผลทำให้ได้ทรงกลมที่มีขนาดเล็กและสม่ำเสมอ สารอิมัลซิไฟเออร์ที่นิยมใช้กันมากที่สุด คือ Tween 80 ทั้งนี้ประสิทธิภาพของการปอกป่องเซลล์จากการถูกทำลายจากสภาพแวดล้อมภายนอก ขึ้นอยู่กับชนิดและความเข้มข้นของพอลิเมอร์ ชนิดและความเข้มข้นของสารเชื่อมไขว้ และเวลาของการเกิดเจล เทคนิคนี้เหมาะสมกับการเคลือบเซลล์เบคทีเรียแลคติก

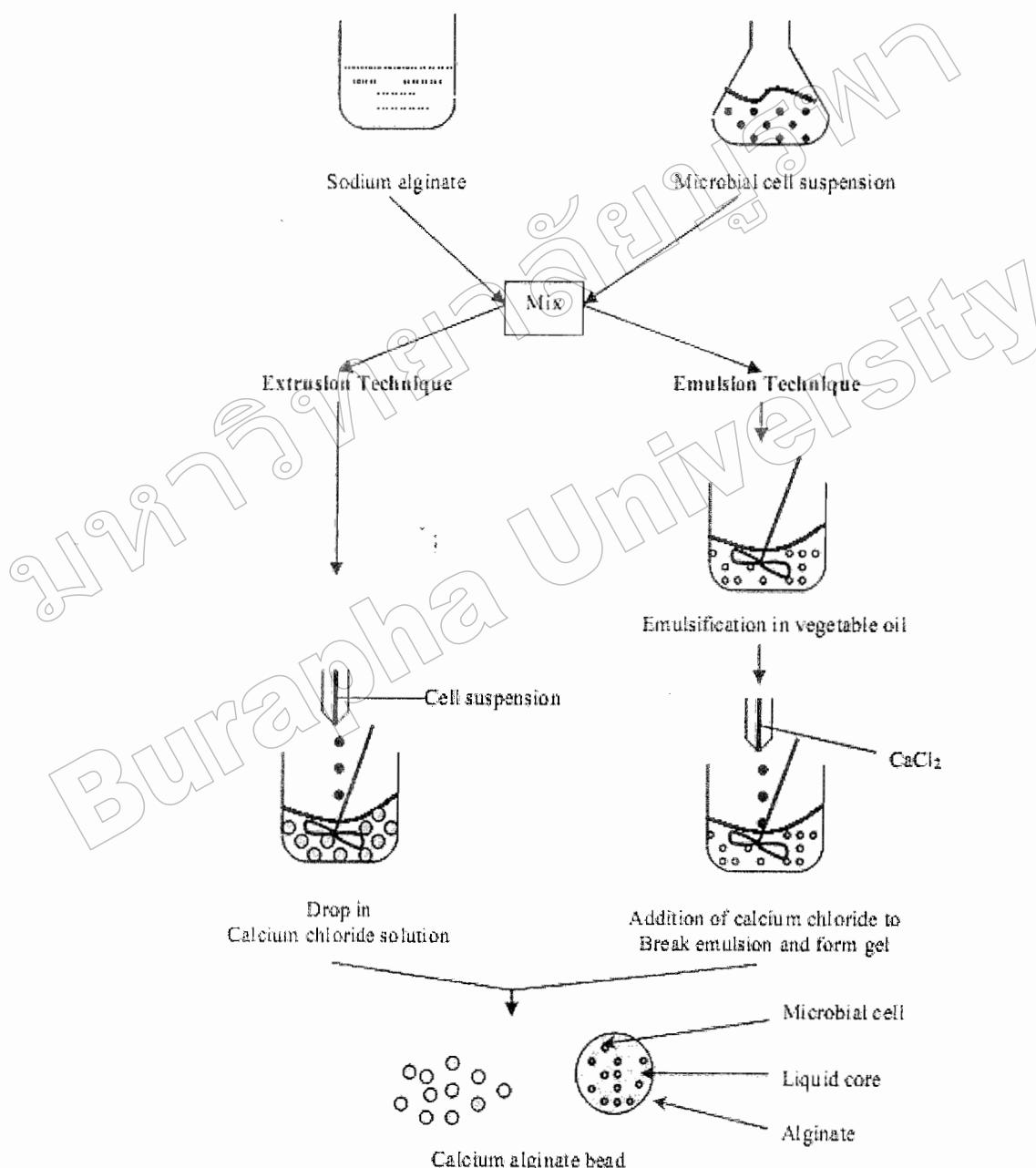
นอกจากนี้แล้วพบว่า สารที่ใช้เคลือบเซลล์มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อประสิทธิภาพใน การปอกป่องเซลล์จากสภาพแวดล้อม สารที่ใช้เคลือบเซลล์โพลีโอลิติกส่วนมากเป็น โพลีแซคคาไรด์จากธรรมชาติ ได้แก่ อัลจินेट คาร์บาร์เจนแน เจลเดนกัม กัมอาราบิก แซนแทนกัม เซลลูโลส และแป้งข้าวโพดดัดแปร นอกจากนี้ยังสามารถใช้ เจลาติน เว็บโปรตีน ไขมันนม และ ไกโตซาน ได้

Sultana et al. (2000) ศึกษาการเคลือบเซลล์ *Lactobacillus acidophilus* และ *Bifidobacterium spp.* ด้วยอัลจินेटและกลีเซอรอลร่วมกับแป้งข้าวโพด (Hi-maize resistance starch) โดยเทคนิคอิมัลชันในไข่กรีตที่ได้รับการบ่มเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ที่อุณหภูมิ -20 °C พบร่วมกับเซลล์ที่ได้รับการเคลือบมีอัตราการสร้างกรดต่ำกว่าเซลล์อิสระ และ สามารถเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ได้มากกว่า

Myllarinen et al. (2002) ศึกษาการห่อหุ้มเซลล์ *Lactobacillus rhamnosus* (ATCC 53109) และ *Lactobacillus lactis* (VTT E-90414) ภายในเม็ดสตาร์ชมันฝรั่ง ที่ถูกย่อยให้เป็นรูพรุน ด้วยแอ็พอ-อะ ไนแลส ( $\alpha$ -amylase) บรรจุเซลล์โพลีโอลิติกไว้ภายใน จากนั้นเคลือบด้วย อะไมโลสอิกกรีด แล้วทำให้เป็นผงด้วยวิธีการแข็งเย็นแบบระเหิด (freeze-dried) พบร่วมกับเจลที่ห่อในโอลิติกที่รอดชีวิตไม่น้อยกว่า 109 เซลล์ต่อกรัม และมีอายุการเก็บรักษาได้นานกว่า 6 เดือนที่อุณหภูมิห้อง

Lian et al. (2003) ทำการเคลือบเซลล์โพลีโอลิติกสมรรถนะว่าง *Bifidobacterium longum* B6 และ *Bifidobacterium infantis* CCRC14633 ด้วยสารเคลือบชนิดต่าง ๆ ได้แก่ เจลาติน น้ำแป้ง (soluble starch) หางนม (skim milk) และ กัมอาราบิก โดยวิธีสเปรย์ดราย (spray drying) เปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ที่ได้รับการเคลือบเซลล์กับเซลล์อิสระในสภาพแวดล้อมทางเดินอาหารจำลอง ( $pH = 2, 3$ ) และเกลือน้ำดี (ความเข้มข้น 0.5% และ 2.0%) พบร่วมกับ การเคลือบเซลล์ด้วยสารเคลือบทุกชนิดทำให้เซลล์มีอัตราการรอดชีวิตในสภาพทั้งสองแบบได้ยาวนานกว่า เซลล์อิสระ

Chávarri et al. (2010) ศึกษาการเคลือบเซลล์ *Lactobacillus gasseri* และ *Bifidobacterium bifidum* ด้วยอัลจีเนตร่วมกับไคโตซาน เมื่อทำการทดสอบในสภาวะกระเพาะอาหารจำลอง (gastric conditions) pH = 2.0 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่า เซลล์ที่ได้รับการเคลือบมีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่าเซลล์อิสระ



ภาพที่ 2-3 เทคนิคการเคลือบเซลล์ด้วยวิธีเอกซ์ทรูชันและอินมาคชัน (Krasaekoopt et al., 2003)

### Plackett and Burman design (วิชมนี้ บัณฑุพทากาล, 2554)

เป็นการออกแบบการทดลองเพื่อการกลั่นกรองหรือคัดเลือกปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อระบบ เป็นวิธีที่สามารถกลั่นกรองปัจจัยจำนวนมาก ๆ ได้อย่างมีประสิทธิภาพ เพื่อให้ทราบถึงปัจจัยที่สำคัญที่มีผลต่อระบบที่กำลังทดลอง ในการพัฒนาสูตรและกรรมวิธีการผลิตอาหารเป็นไปอย่างชัดเจนและรวดเร็วขึ้น เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงในการคัดเลือกตัวแปร โดยอาศัยหลักทางสถิติ สามารถคัดเลือกตัวแปรหรือปัจจัย N-1 ตัว จากการทำการทดลอง N ครั้ง ตัวอย่างเช่น ทำการทดลอง 11 ครั้ง เมื่อต้องการคัดเลือกตัวแปรหรือปัจจัย 10 ตัว การออกแบบการทดลองแบบนี้จะช่วยให้สามารถวิเคราะห์ผลของตัวแปรอิสระซึ่งจะช่วยให้สามารถเลือกตัวแปรที่มีผลต่อตัวแปรตาม อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อย่างไรก็ตามวิธีนี้ไม่สามารถหาอิทธิพลร่วมของตัวแปรได้ชัดเจน ด้วยว่า Plackett and Burman Design เป็นเพียงการกลั่นกรองชนพาระตัวแปรหรือปัจจัยสำคัญที่อิทธิพลร่วมยังไม่มีความสำคัญกับการทดลองนี้

#### 1. การสร้างตัวแบบการทดลองสำหรับ Plackett and Burman

ตัวแบบของการทดลองจะสร้างในรูปของ Matrix โดยกำหนดเครื่องหมายเป็นแคล โดยให้เครื่องหมายลบ (-) แทนการใช้ปัจจัยนั้นในระดับต่ำ และให้เครื่องหมายบวก (+) แทนการใช้ปัจจัยนั้นในระดับสูง 例外ของ Matrix ถูกกำหนดขึ้นเป็นมาตรฐานตามจำนวนการทดลอง (N) ดังนี้

- ถ้า  $N=8$ ; 例外ของmatrix คือ  $+++ - + - -$
- ถ้า  $N=12$ ; 例外ของmatrix คือ  $++ - + + + - - - + -$
- ถ้า  $N=16$ ; 例外ของmatrix คือ  $++ + - + - + + - + - -$
- ถ้า  $N=20$ ; 例外ของmatrix คือ  $+ - - + + + + - + - + - - - + + -$
- ถ้า  $N=24$ ; 例外ของmatrix คือ  $++ + + - + - + + - + - + - + - + - - -$

ส่วนใน例外ต่อมากของ Matrix จะสร้างขึ้นจากการเลื่อนແเคล ไปทางซ้ายมือ  $N-2$  ครั้ง (เมื่อ  $N$  คือจำนวนครั้งของการทดลอง) ทำการสร้าง Matrix ขึ้นมาเรื่อย ๆ จนกระทั่งถึง例外สุดท้ายของ Matrix ให้กำหนดเป็นเครื่องหมายลบทั้งหมด รูปแบบ Matrix การทดลองสำหรับ Plackett and Burman สำหรับการศึกษาปัจจัยจำนวน 7 ปัจจัย 8 การทดลอง แสดงดังตารางที่ 2-10

จากตารางที่ 2-10 มีการทดลองทั้งหมด 8 สิ่งทดลอง ในการศึกษาปัจจัย A-G ความหมายคือ

- สิ่งทดลองที่ 1 ประกอบด้วยปัจจัย A B C E ในระดับสูงและปัจจัย D F G ในระดับต่ำ
- สิ่งทดลองที่ 2 ประกอบด้วยปัจจัย A B D G ในระดับสูงและปัจจัย C E F ในระดับต่ำ
- สิ่งทดลองที่ 3 ประกอบด้วยปัจจัย A C F G ในระดับสูงและปัจจัย B D E ในระดับต่ำ

- สิ่งทดลองที่ 4 ประกอบด้วยปัจจัย B E F G ในระดับสูงและปัจจัย A C D ในระดับต่ำ
- สิ่งทดลองที่ 5 ประกอบด้วยปัจจัย A D E F ในระดับสูงและปัจจัย B C G ในระดับต่ำ
- สิ่งทดลองที่ 6 ประกอบด้วยปัจจัย C D E G ในระดับสูงและปัจจัย A B F ในระดับต่ำ
- สิ่งทดลองที่ 7 ประกอบด้วยปัจจัย B C D F ในระดับสูงและปัจจัย A E G ในระดับต่ำ
- สิ่งทดลองที่ 8 ประกอบด้วยปัจจัย A B C D E F G ในระดับต่ำ

ตารางที่ 2-10 รูปแบบ Matrix ของการจัดสิ่งทดลองแบบ Plackett and Burman เมื่อจำนวนปัจจัยเท่ากับ 7 (A-G) โดยมี 8 การทดลอง (Plackett and Burman N = 8)

Exp.	A	B	C	D	E	F	G
1	+	+	+	-	+	-	-
2	+	+	-	+	-	-	+
3	+	-	+	-	-	+	+
4	-	+	-	-	+	+	+
5	+	-	-	+	+	+	-
6	-	-	+	+	+	-	+
7	-	+	+	+	-	+	-
8	-	-	-	-	-	-	-

หมายเหตุ เครื่องหมาย + แทนการใช้ปัจจัยนั้นในระดับสูง

เครื่องหมาย - แทนการใช้ปัจจัยนั้นในระดับต่ำ

## 2. การเลือกแผนการทดลอง Plackett and Burman

โดยทั่วไปการเลือกแผนการทดลองแบบ Plackett and Burman ให้เหมาะสม ขึ้นอยู่กับจำนวนปัจจัยที่ต้องการกลั่นกรองเป็นสำคัญและควรเลือกแผนที่สามารถกลั่นกรองปัจจัยได้ทั้งหมด ปัจจัยที่เหลือเป็นปัจจัยที่เรียกว่า Dummy variables หรือ Dummy factors ซึ่งเป็นปัจจัยที่ไม่มีตัวตนจริงแต่จำเป็นต้องมีในแผนเพื่อใช้ในการคำนวณส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยควรมีDummy variables มากกว่า 1 ตัว อย่างน้อยควรเป็น 2 ตัว เพราะจะมีผลต่อการคำนวณค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน ตัวอย่าง เช่น ในการทดลองต้องการกลั่นกรองปัจจัย 9 ตัว ก็ควรทำการเลือกแผน N=12 (สามารถคัดเลือกปัจจัย 11 ตัว)ซึ่งจะทำให้สามารถกลั่นกรองปัจจัยได้ครบ 9 ตัว ส่วนที่เหลือ อีก 2

ตัวจะเป็น Dummy variables ถ้ามีปัจจัยที่ต้องการศึกษา 7 ตัว ก็ไม่ควรเลือกแผน N=8 เพราะจะไม่มี Dummy variables ให้คำนวณค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานเลย จึงควรเลือกแผนแบบ N=12 ซึ่งจะทำให้มี Dummy variables 4 ตัวที่สามารถนำมาใช้ในการคำนวณค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐานได้

### 3. การวิเคราะห์ผล

#### 3.1 การคำนวณหาอิทธิพลของปัจจัย

สามารถคำนวณหาอิทธิพลของปัจจัยได้โดยการหาผลต่างระหว่างค่าเฉลี่ยผลรวมของผลที่เกิดขึ้นจากการใช้ปัจจัยในระดับสูงกับค่าเฉลี่ยผลรวมของผลที่เกิดจากการใช้ปัจจัยในระดับต่ำ ตัวอย่างเช่น กรณีการทดลองแผน N=8 มีปัจจัยที่กลั่นกรองจำนวน 7 ตัว ดังนั้นต้องคำนวณหาอิทธิพลของปัจจัยทั้งหมด 7 ตัว (A-G) เพื่อให่ง่ายกับการพิจารณาว่าต้องใช้ผลของการทดลองใดควรพิจารณาจากตาราง Matrix สำหรับปัจจัย A เนื่องจากมีการทดลองที่ใช้ปัจจัย A ในระดับสูง คือ การทดลองที่ 1 2 3 และ 5 ส่วนการทดลองที่ใช้ปัจจัย A ในระดับต่ำ คือการทดลองที่ 4 6 7 และ 8 ดังนั้ออิทธิพลของปัจจัย A คำนวณได้ดังนี้

- อิทธิพลของปัจจัย A หรือ Effect (A) หรือ  $E_A = (\underline{(1)+(2)+(3)+(5)}) - (\underline{(4)+(6)+(7)+(8)})$

4                          4

หมายถึง การหาค่าเฉลี่ยของผลการทดลองที่ 1 2 3 5 และการหาค่าเฉลี่ยของผลการทดลองที่ 4 6 7 8 แล้วนำมาหาผลต่าง ได้เป็นอิทธิพลของปัจจัย A

- อิทธิพลของปัจจัย B หรือ Effect (B) หรือ  $E_B = (\underline{(1)+(2)+(4)+(7)}) - (\underline{(3)+(5)+(6)+(8)})$

4                          4

หมายถึง การหาค่าเฉลี่ยของผลการทดลองที่ 1 2 4 7 และการหาค่าเฉลี่ยของผลการทดลองที่ 3 5 6 8 แล้วนำมาหาผลต่าง ได้เป็นอิทธิพลของปัจจัย B

- อิทธิพลของปัจจัย C หรือ Effect (C) หรือ  $E_C = (\underline{(1)+(3)+(6)+(7)}) - (\underline{(2)+(4)+(5)+(8)})$

4                          4

หมายถึง การหาค่าเฉลี่ยของผลการทดลองที่ 1 3 6 7 และการหาค่าเฉลี่ยของผลการทดลองที่ 2 4 5 8 แล้วนำมาหาผลต่าง ได้เป็นอิทธิพลของปัจจัย C

- อิทธิพลของปัจจัย D หรือ Effect (D) หรือ  $E_D = (\underline{(2)+(5)+(6)+(7)}) - (\underline{(1)+(3)+(4)+(8)})$

4                          4

หมายถึง การหาค่าเฉลี่ยของผลการทดลองที่ 2 5 6 7 และการหาค่าเฉลี่ยของผลการทดลองที่ 1 3 4 8 แล้วนำมาหาผลต่าง ได้เป็นอิทธิพลของปัจจัย D

- อิทธิพลของปัจจัย E หรือ Effect (E) หรือ  $E_E = (\underline{(1)+(4)+(5)+(6)}) - (\underline{(2)+(3)+(7)+(8)})$

4                          4

หมายถึง การหาค่าเฉลี่ยของผลการทดลองที่ 1 4 5 6 และการหาค่าเฉลี่ยของผลการทดลองที่ 2 3 7 8 แล้วนำมาหาผลต่างได้เป็นอิทธิพลของปัจจัย E

- อิทธิพลของปัจจัย F หรือ Effect (F) หรือ  $E_F = \frac{((3)+(4)+(5)+(7)) - ((1)+(2)+(6)+(8))}{4 - 4}$

หมายถึง การหาค่าเฉลี่ยของผลการทดลองที่ 3 4 5 7 และการหาค่าเฉลี่ยของผลการทดลองที่ 1 2 6 8 แล้วนำมาหาผลต่างได้เป็นอิทธิพลของปัจจัย F (เป็น Dummy effect)

- อิทธิพลของปัจจัย G หรือ Effect (G) หรือ  $E_G = \frac{((2)+(3)+(4)+(6)) - ((1)+(5)+(7)+(8))}{4 - 4}$

หมายถึง การหาค่าเฉลี่ยของผลการทดลองที่ 2 3 4 6 และการหาค่าเฉลี่ยของผลการทดลองที่ 1 5 7 8 แล้วนำมาหาผลต่างได้เป็นอิทธิพลของปัจจัย G (เป็น Dummy effect)

### 3.2 การคำนวณความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (Standard error) ใช้ในการทดสอบอิทธิพลเนื่องจากปัจจัยหลัก (Real effect) โดยนำค่าของ Dummy effect ( $E_{\text{dummy}}$ ) มาหารด้วย Standard error (S.E.) ดังสูตร

$$\text{S.E.}(\text{effect}) = \sqrt{V_{\text{eff}}}$$

$$V_{\text{eff}} = \frac{\sum (E_{\text{dummy}})^2}{n}$$

$E_{\text{dummy}}$  = Dummy effect

n = จำนวนของ Dummy effect

### 3.3 การคำนวณค่า t

การคำนวณ ค่า t (t value) เป็นการหาว่าผลของปัจจัยหลักมีความสำคัญต่อระบบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติหรือไม่ โดยคำนวณดังสูตร

$$t \text{ value} = \frac{\text{Effect}}{\text{S.E.}(\text{effect})}$$

นำ t value จากการคำนวณไปเปรียบเทียบกับค่า t table โดยในการเปิดตารางให้เปิดที่ df เท่ากับจำนวนของ Dummy effect ที่ใช้ในการคำนวณค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน ตามระดับนัยสำคัญที่ทดสอบ ทั้งนี้พิจารณา t value โดยไม่ดูเครื่องหมาย

ถ้า t value น้อยกว่า t table แสดงว่า ปัจจัยนั้นไม่มีผลต่อระบบ

ถ้า t value มากกว่า t table แสดงว่า ปัจจัยนั้นมีผลต่อระบบ

### แผนการทดลองแบบ Central-Composite Design (CCD)

การจัดสิ่งทดลองแบบแฟคทอร์เรียลในบางครั้งพบว่าเกิดปัญหาคือ มีสิ่งทดลองในการทดลองเป็นจำนวนมาก อาจใช้เวลาและต้นทุนสูงในการดำเนินการตามแผน โดยเฉพาะการทดลองแบบ  $3^n$  จะได้จำนวนการทดลองมาก ตัวอย่าง เช่น  $k=3$  จะได้สิ่งทดลอง 27 สิ่งทดลอง แต่การจัดสิ่งทดลองแบบ CCD เป็นการจัดสิ่งทดลองด้วยมูลค่า  $2^k$  แฟคทอร์เรียลเป็นพื้นฐานและมีจุดอื่นประกอบด้วย (ไฟโรมัน วิริยะวิริ, 2544; อิศรพงษ์ พงศ์ศิริกุล, 2544; วนิดา พงษ์ศักดิ์ชาติ, 2548)

#### 1. การจัดสิ่งทดลองแบบหุ่นกำลังสอง (Second Order Model)

สิ่งทดลองแบบหุ่นกำลังสอง มีส่วนประกอบ 3 ส่วน คือ

1.1 เป็นแผนแบบการทดลองแบบ  $2^k$  แฟคทอร์เรียล ซึ่งประมาณค่าอิทธิพลหลักและอิทธิพลร่วมของปัจจัยได้

1.2 เป็นแผนการทดลองที่มี Star หรือ Axial ซึ่งชื่อมต่อ กับส่วนประกอบอีกสองส่วน เพื่อช่วยในการประมาณเทอมกำลังสอง (Quadratic Term)

1.3 มีจุดของค่าสังเกต ณ จุดกึ่งกลางซึ่งสามารถประมาณค่าความคลาดเคลื่อนได้ และยังช่วยให้การประมาณความโดยง่ายของพื้นผิวมีความคงตัว (Stability) มากขึ้น

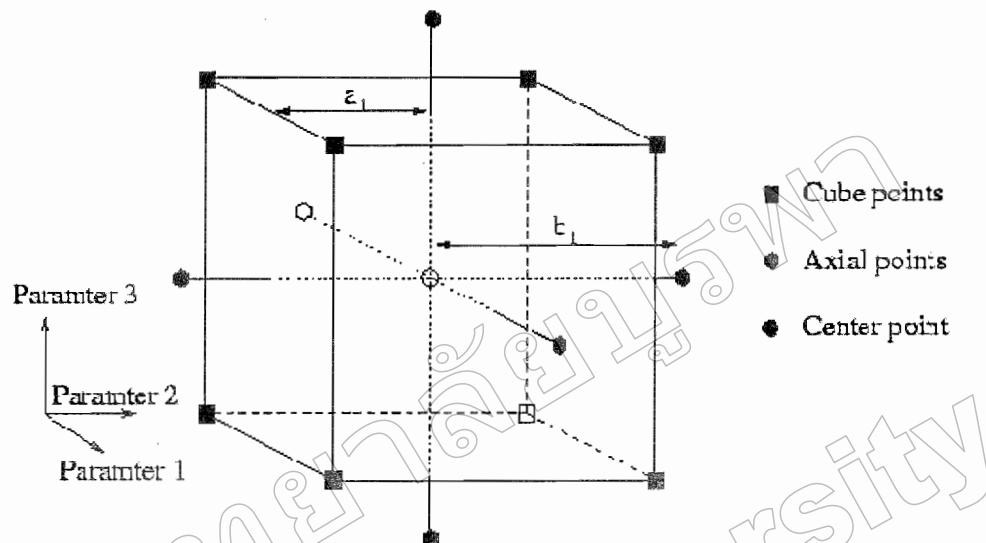
Star หรือ axial ในแผนแบบการทดลอง CCD คือ จุดที่เพิ่มเข้าไปในการทดลองซึ่งจุดเหล่านี้จะอยู่บนแกนนอนและแกนตั้งของแต่ละปัจจัย โดยมีระยะห่างจากศูนย์กลางของการทดลองเท่ากับ  $P_s$  (Star Point) ทั้งด้านบนและด้านลับ โดยหา  $P_s$  ได้จาก

$$P_s = \pm 2^{n/4}$$

เมื่อ n คือ จำนวนปัจจัย

สำหรับการทดลองที่มี  $k$  ปัจจัย จะมี  $2k$  Star Point จากที่เราสังเกตเห็นแล้วว่า การเพิ่มจุดของจุดกึ่งกลางในการทดลอง จะทำให้เราสามารถประมาณค่าความคลาดเคลื่อนจากการทำซ้ำได้ จำนวนซ้ำ ณ จุดกึ่งกลางที่เหมาะสม คือ 2-4 ซ้ำ หรืออาจใช้เกณฑ์ว่า จำนวนซ้ำที่เหมาะสมอย่างน้อยจะเท่ากับจำนวนปัจจัยที่ศึกษาแบบแผนการทดลอง CCD แสดงดังภาพที่ 2-4 จะเห็นได้ว่าจุดที่อยู่ที่มุมของรูปสี่เหลี่ยมแสดงถึงแผนแบบ  $2^k$  แฟคทอร์เรียล และจุดที่อยู่บนแกนนอน

และแกนตั้งแสดงถึง Star Point และมีจุดหนึ่งจุดหรือมากกว่าอยู่ที่กึ่งกลางของแผนกราฟคลอง (0,0) ทวีทเมนต์รวมของส่วนประกอบทั้งสามส่วน ทำให้เกิดเป็น CCD โดยแต่จะปัจจัยจะมีระดับของปัจจัย 5 ระดับ คือ  $-P_s, -1, 0 +1 +P_s$  (ไฟโรมน์ วิริยะวี, 2544; วนิดา พงษ์ศักดิ์ชาติ, 2548)



ภาพที่ 2-4 Central composite design สำหรับ 3 ปัจจัย (อิศรา พงษ์ศิริกุล, 2544)

#### การวิเคราะห์เกรสรชัน (Regression Analysis)

การวิเคราะห์เกรสรชันเป็นวิธีการทางสถิติที่ใช้ในการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรสองชนิด กือ ตัวแปรตามหรือผลลัพธ์  $y$  (Dependent Variable or Response Variable) และตัวแปรอิสระ  $x$  (Independent Variable) โดยที่ตัวแปรตามมีเพียงตัวเดียว ส่วนตัวแปรอิสระนั้นมีตัวกี่ตัว ( $x_1, x_2, \dots, x_n$ ) ซึ่งความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรทั้งสองชนิดนี้สามารถแสดงได้ในรูปฟังก์ชันทางคณิตศาสตร์ ดังนี้

$$y = f(x_1, x_2, \dots, x_n)$$

อย่างไรก็ตามในทางปฏิบัติเป็นไปได้ยากที่จะทราบฟังก์ชันความสัมพันธ์ที่แท้จริงผู้ทดลองต้องเลือกฟังก์ชันที่เหมาะสมเพื่อประมาณ  $f$  สมการโพลีโนเมียลเป็นสมการที่ใช้ในการประมาณ  $f$  อย่างกว้างขวาง โดยทั่วไปในการวิเคราะห์สมการรีเกรสรชันจะใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากการทดลองที่ไม่ได้มีการวางแผน เป็นข้อมูลที่ได้จากการสังเกต หรือการบันทึกข้อมูลในอดีต อย่างไรก็ตามการวิเคราะห์สมการรีเกรสรชันมีประโยชน์มากเกี่ยวกับการวางแผนการทดลอง โดยหลังจากที่ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลที่ได้จากการทดลองแล้วและทราบว่าปัจจัยใดที่มีความสำคัญบ้าง แล้วจะใช้การวิเคราะห์สมการรีเกรสรชันในการสร้างสมการแสดงความสัมพันธ์

ระหว่างปัจจัยที่สำคัญนี้และผลลัพธ์ที่ได้จากการทดลอง ซึ่งในงานวิจัยด้านอาหารเรารสามารถใช้การวิเคราะห์สมการโครงสร้างในการทดลองเกี่ยวกับการทดสอบอายุของผลิตภัณฑ์ เพื่อประมาณอัตราการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพของผลิตภัณฑ์ตามฟังก์ชันของเวลา และประมาณอายุของผลิตภัณฑ์ (ไฟโรมัน วิริยะรี, 2544; Franklin & Hariharan, 1994)

ในการพิจารณาความเหมาะสมของสมการความสัมพันธ์ที่ได้ว่ามีความเหมาะสมสมมากน้อยเพียงใดจะพิจารณาจากค่าสัมประสิทธิ์ตัวกำหนด (Coefficient of Determination) สัมประสิทธิ์ตัวกำหนดเป็นค่าที่ใช้วัดว่าตัวแบบทดสอบนี้มีความเหมาะสมมากน้อยเพียงใด มีสัญลักษณ์คือ  $R^2$  ค่านี้มีค่าอยู่ในช่วง 0 ถึง 1 โดยคำนวณได้จากสูตร  $R^2 = \frac{SSR}{SST}$  ซึ่งเป็นสัดส่วนระหว่าง ความผิดผันในส่วนที่ตัวแบบทดสอบอธิบายได้ต่อความผิดผันรวมทั้งหมดของค่าตอบสนอง สมการที่มีความน่าเชื่อถือควรมีค่า  $R^2$  อย่างน้อย 0.75 แต่หากสูงมากกว่า 0.90 จะถือว่าสมการที่ได้มีความน่าเชื่อถือมาก (Richard, 1990) นอกจากนี้การพิจารณาความเหมาะสมของสมการจะพิจารณาจากค่า RMS (Root Mean Square) ซึ่งบ่งบอกถึงค่าความคลาดเคลื่อนของทำการทำนายจากการใช้สมการ ถ้ามีค่าต่ำ แสดงว่าค่าที่ทำนายมีความคลาดเคลื่อนจากค่าจริงน้อยโดยกำหนดค่าต่ำ RMS ควรน้อยกว่า 20 (Julian, 2004) ซึ่งค่า RMS คำนวณได้จากสูตรดังต่อไปนี้

$$RMS = 100 \sqrt{\frac{\sum [(Y_{ex} - Y_{pred})/Y_{pred}]^2}{N}}$$

$Y_{ex}$  คือ ค่าตอบสนองที่ได้จากการทดลอง

$Y_{pred}$  คือ ค่าตอบสนองที่ได้จากการทำนาย

N คือ จำนวนข้อมูลที่ได้จากการทดลอง

การพิจารณาความเหมาะสมของสมการอาจพิจารณาได้จากการทดสอบความแปรปรวนของข้อมูลโดยพิจารณาค่า Significance หรือ p-value ของการทดสอบการแปรปรวน (Analysis of Variances) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS โดยเป็นค่าที่บ่งบอกความสัมพันธ์ของตัวแปรอิสระกับค่าตอบสนอง (ไฟโรมัน วิริยะรี, 2544; Franklin & Hariharan, 1994; Julian, 2004; Richard, 1990)

### การสร้างกราฟพื้นผิวตอบสนอง (Response Surface Methodology; RSM)

วิธีการสร้างภาพพื้นผิวตอบสนอง (Response Surface Methodology; RSM) เป็นเทคนิคทางสถิติอย่างหนึ่งสามารถแสดงภาพพื้นผิวตอบสนอง (Response surface plot) ในการตรวจสอบความสัมพันธ์ของตัวแปรต่าง ๆ ที่เป็นที่สนใจของนักวิจัย ผลที่ตามมา คือ นักวิจัยสามารถที่จะหา

จุดที่เน้นจะความสัมพันธ์เหล่านี้ได้ เมื่อพิจารณาปัจจัยที่สนใจเหล่านี้พร้อม ๆ กัน โดยความรู้พื้นฐานที่ต้องใช้ คือ การวางแผนการทดลอง การวิเคราะห์สมการรีเกรสชัน และความรู้ในการใช้โปรแกรมที่สร้างภาพ (ไฟโรจน์ วิริยะวิริ, 2544; อนุวัติ แจ้งชัด, 2545; วนิดา พงษ์ศักดิ์ชาติ, 2548)

### 1. วัตถุประสงค์ในการใช้ RSM

- 1.1 เพื่อหาระดับของปัจจัยที่ทำให้ผลผลิตหรือผลลัพธ์สูงที่สุด
- 1.2 เพื่อหาระดับของปัจจัยที่เหมาะสมกับข้อจำกัดของกระบวนการผลิต
- 1.3 เพื่อหาเงื่อนไขของการผลิตใหม่ที่พัฒนาคุณภาพของผลผลิตจากการดับเคิม
- 1.4 หาสมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยเชิงปริมาณและผลผลิต

RSM เป็นวิธีการที่เราใช้ในการหาทริคเมนต์รวมระหว่างปัจจัยที่คือที่สุดที่ทำให้ได้ผลลัพธ์ที่สูงที่สุด การทดลองในกระบวนการของ RSM มักเป็นการทดลองแบบค่อเนื่องเป็นขั้น ๆ โดยการทดลองแต่ละขั้นมีเป้าหมายเพื่อสร้างการทดลองที่จะทำให้ทราบถึงอิทธิพลของปัจจัยและ Response surface plot ด้วย ซึ่งผลที่ได้จะเป็นแนวทางในการทดลองครั้งต่อไป เพื่อจะบอกได้ว่า การทดลองนั้นเสร็จสมบูรณ์แล้ว นั่นคือ จะได้ค่าที่คือที่สุดนั้นเอง

### 2. ขั้นตอนของการทำ RSM

ขั้นตอนของการทำ RSM สามารถสรุปได้ ดังนี้

- 2.1 เลือกแผนการทดลองสมการรีเกรสชันสำหรับการทดลอง
- 2.2 สร้างแผนการทดลองจากสมการรีเกรสชัน
- 2.3 ทำการทดลองตามแผนที่สร้างไว้
- 2.4 สร้างสมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยและผลลัพธ์และวิเคราะห์ความ

เหมาะสมของสมการ

2.5 สร้าง Response surface plot จากสมการดูอย่างที่หาได้ เพื่อดูจุดที่คือที่สุดของผลลัพธ์

- 2.6 หาค่าระดับของปัจจัยที่ให้ผลลัพธ์ที่คือที่สุด
- 2.7 ทดสอบความน่าเชื่อถือของสมการ โดยทำการทดลองภายใต้ขอบเขตของตัวแปรแต่ละตัว
- 2.8 ถ้าสมการไม่เหมาะสมให้สร้างสมการใหม่