การพัฒนาเยลลี่ซินไบโอติกส์ผสม *Bacillus amyloliquefaciens*

Development of synbiotic jelly containing

Bacillus amyloliquefaciens

ศิริลักษณ์ ภาโนมัย

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รัชนู เมยดง

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รองศาสตราจารย์ ดร.บุญมี กวินเสกสรรค์

บทคัดย่อ

ในช่วงที่ผ่านมามีความสนใจอย่างมากในการสร้างผลิตภัณฑ์อาหารชนิดใหม่ที่ประกอบด้วย โพรไบโอติก อันเนื่องจากความต้องการอาหารเพื่อสุขภาพที่เพิ่มมากขึ้น ในงานนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเยลลี่ที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกส์ *Bacillus amyloliquefaciens* ร่วมกับพรีไบโอติกส์จากจมูกข้าวสาลี และแคนนาบิไดออล (Cannabidiol; CBD) และเพื่อประเมินความมีชีวิตของโพรไบโอติกส์และกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระในเยลลี่ โดยสารประกอบพรีไบโอติกส์ที่สกัดจากจมูกข้าวสาลีส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติกส์ *Bacillus amyloliquefaciens* ที่ 8.54 log CFU/ml ในการศึกษานี้มีเยลลี่ 3 สูตร ประกอบด้วยสูตร G001 (0% CBD, โพรไบโอติกส์ 9.0 log CFU/ml, สูตร G002 (0.01% CBD, ไม่มีพรีไบโอติกส์ โพรไบโอติกส์ 9.0 log CFU/ml) และสูตร G003 (0.01% CBD, พรีไบโอติกส์ร้อยละ 1.0 และโพรไบโอติกส์ 9.0 log CFU/ml) อัตราการรอดชีวิตของโพรไบโอติกส์หลังการเก็บสูงสุดพบในสูตร G002 (93.15%) แต่สูตร G003 เป็นสูตรที่มีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระสูงสุด (37.15%) เจลลี่ที่พัฒนาขึ้นที่ประกอบด้วยโพรไบโอติกส์ พรีไบโอติกส์จากจมูกข้าวสาลี และ CBD ช่วยให้สามารถผลิตผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงขึ้นได้

คำสำคัญ: ซินไบโอติกส์, ซีบีดี, จมูกข้าวสาลี, บาซิลลัส

ABSTRACT

In recent years, there has been a large amount of interest in creating new food products that contain probiotics due to the rising demand for healthy foods. The aims of this study were to develop jelly supplemented with probiotics *Bacillus amyloliquefaciens*, prebiotic from wheat germ and cannabidiol (CBD) and to evaluate viable probiotic count and antioxidant activity. The prebiotic compounds extracted from wheat germ showed enhancing the growth of probiotic *Bacillus amyloliquefaciens* at 8.54 log CFU/ml. In this study three formula of jelly were made including G001 (0% CBD, no prebiotic, probiotic 9.0 log CFU/ml), G002 (0.01% CBD, no prebiotic, probiotic 9.0 log CFU/ml) and G003 (0.01% CBD, 1% prebiotic, probiotics 9.0 log CFU/ml). The highest survival rate of probiotic after kept for 28 days was found in G002 (93.15%), but the formula G003 was showed the highest antioxidant activity (37.15%). The developed jelly containing probiotic, prebiotic from wheat germ and CBD simply allowed to produce higher value products.

Keyword: Synbiotics, CBD, Wheat germ, *Bacillus*

1. บทนำ

ผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพที่คืออาหารหรือเครื่องดื่มที่ประกอบด้วย แร่ธาตุ วิตามิน กรดอะมิโน เส้นใยอาหาร สารสกัดจากผักและผลไม้ รวมถึงส่วนผสมจากแบคทีเรียโพรไบโอติกส์ (Palanivelu et al., 2022) ในสังคมยุคใหม่ผู้บริโภคให้ความสนใจอาหารและเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพมากขึ้น เนื่องจากอาหารเพื่อสุขภาพมีคุณค่าทางโภชนาการที่สูงจึงส่งผลดีต่อสุขภาพ อัตราการเติบโตด้านเศรษฐกิจของกลุ่มอาหารเพื่อสุขภาพในทศวรรษที่ผ่านมามากขึ้น และคาดว่าจะเพิ่มขึ้นถึง 217 พันล้านดอลลาร์สหรัฐภายในปี พ.ศ. 2571 (Barajas-Álvarez et al., 2023) ปัจจุบันเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพเป็นตัวแทนของอาหารเพื่อสุขภาพส่วนที่ใหญ่ที่สุดในท้องตลาด (Tolun & Altintas, 2019) แต่ทั้งนี้อาหารเสริมโพรไบโอติกส์ในท้องตลาด ยังรวมถึงขนมซึ่งมีผลิตภัณฑ์ที่หลากหลาย เช่น ลูกอมแข็ง ท๊อฟฟี่ เยลลี่ และกัมมี่ ในส่วนของขนมเป็นสินค้าสำคัญที่มีการบริโภคในผู้ใหญ่และโดยเฉพาะเด็ก

จุลินทรีย์โพรไบโอติกส์คือ จุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่เมื่อได้รับในปริมาณที่เพียงพอจะช่วยส่งเสริมสุขภาพของผู้บริโภค (FAO/WHO, 2002) และพรีไบโอติกส์ (Prebiotics) คือสารประกอบที่สกัดได้จากพืช ซึ่งร่างกายไม่สามารถย่อยและดูดซึมได้ที่ลำไส้เล็ก อาหารเหล่านี้จึงสามารถเข้าสู่ลำไส้ใหญ่ได้ในรูปไม่เปลี่ยนแปลง และจะถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรียโพรไบโอติกส์ ทำให้กระตุ้นการเจริญเติบโตและการทำงานของแบคทีเรีย พบได้ในหัวหอม กระเทียม ถั่วเหลือง ถั่วแดง ไฟเบอร์ในผักและผลไม้ต่าง ๆ จุลินทรีย์ที่มีรายงานการใช้เป็นโพรไบโอติกส์ ได้แก่ *Lactobacillus* spp., *Bifidobacterium* spp. และ *Bacillus* spp. โดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มบาซิลัสได้รับความสนใจในการนำมาพัฒนาอาหารเพื่อสุขภาพ เนื่องจากเป็นจุลินทรีย์ที่ทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมมากกว่าสายพันธุ์อื่นๆ และมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค เช่น *Bacillus subtilis* CU1 (Lefevre et al., 2016), *Bacillus amyloliquefaciens* (Yohannes et al., 2022), *Bacillus coagulans, Bacillus clausii* (Kahraman et

al., 2023) ซึ่งโพรไบโอติกส์กลุ่มบาซิสลัสถูกนำไปศึกษาในผลิตภัณฑ์ที่หลากหลายรวมถึงกลุ่มกัมมี่ด้วย

สารสกัดพรีไบโอติกส์สามารถสกัดได้จากพืชหลายชนิด เช่น ชิโครี แก่นตะวัน และหน่อไม้ฝรั่ง เป็นต้น โดยสารสกัดอินูลินจากแก่นตะวัน สามารถพบได้ในใบและราก (รัชนี พุทธา และคณะ, 2564) หรือจากเหง้าในงานของนัชชา นิลจันทึก และคณะ (2562) ได้ศึกษาคุณสมบัติในการเป็นพรีไบโอติกส์ของสารสกัดจากแก่นตะวันต่อการเจริญของเชื้อ *L. acidophilus* TISTR 1338 กับเชื้อ *Escherichia coli* TISTR 117 ที่เพาะเลี้ยงในแก่นตะวันและน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 1 พบว่า *L. acidophilus* สามารถเจริญในแก่นตะวันได้ดีกว่า *E. coli* ทั้งนี้ยังมีการศึกษาผลของสารสกัดอินนูลินจากหัวแก่นตะวันต่อการเจริญของ *L. paracasei* BGP1 และ *L. plantarum* CIDCA8327 (Iraporda et al., 2018) อีกทั้งยังมีรายงานสารสกัดพรีไบโอติกส์จากหน่อไม้ฝรั่ง (*Asparagus officinalis* L.) ต่อการเจริญของเชื้อ *Lactobacillus* spp. และ *Bifidobacterium* spp. (Cuenca et al., 2022) ซึ่งในงานวิจัยนี้สนใจสกัดพรีไบโอติกส์จากแหล่งใหม่ๆ นั่นคือจากจมูกข้าวสาลี ซึ่งก่อนหน้ามีรายงานความเป็นไปได้ของการใช้จมูกข้าวสาลีในการเป็นพรีไบโอติกส์ ดังเช่นในงานของ D'hoe et al. (2018) พบว่าสารสกัดจากจมูกข้าวสาลีมีสมบัติการเป็น พรีไบโอติกส์ส่งเสริมการเจริญของ *Bifidobacterium* ssp. ได้ อีกทั้งในงานของ Gullon et al. (2014) พบว่าสารประกอบ arabinoxylooligosaccharides จากจมูกข้าวสาลีสามารถส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติกส์ได้

สารแคนนาบิไดออล พบในกัญชงและกัญชา เป็นสารที่ไม่ฤทธิ์ต่อจิตประสาท มีฤทธิ์ช่วยลดการอักเสบ และต้านเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค ในปัจจุบันมีการนำมาใช้เป็นส่วนผสมในอาหาร ขนม เครื่องดื่ม และเครื่องสำอาง (Cerino et al., 2021)

โดยผลิตภัณฑ์ที่มีองค์ประกอบของจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์และพรีไบโอติกส์ จัดเป็นกลยุทธ์ทางอาหารที่ได้รับความสนใจในการพัฒนาอาหารเพื่อสุขภาพให้มีความหลากหลายและเป็นทางเลือกแก่ผู้บริโภค ซึ่งคาดว่ามูลค่าในตลาดอาหารเพื่อสุขภาพจะเพิ่มขึ้นในทุกปี (สถาบันอาหาร กระทรวงอุตสาหกรรม, 2564) ดั้งนั้นในงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะศึกษาพัฒนาเยลลี่ที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกส์กลุ่มบาซิลลัสร่วมกับสารสกัดพรีไบโอติกส์จากจมูกข้าวสาลี และสาร CBD เพื่อเป็นอาหารสุขภาพในรูปแบบขนม

2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อพัฒนาเยลลี่ซินไบโอติกส์จากจมูกข้าวสาลีผสมสาร CBD

3. วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1จุลินทรีย์ที่ใช้ในงานวิจัย

เชื้อโพรไบโอติกส์สายพันธุ์ *Bacillus amyloliquefaciens* MS15A เป็นเชื้อที่เก็บใน Stock culture ของ ผศ.ดร.รัชนู เมยดง สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

3.2 การเตรียมจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์

การเตรียม *B. amyloliquefaciens* MS15A เลี้ยงเชื้อด้วยอาหาร Mueller Hinton broth นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6000 rpm ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เพื่อเก็บเซลล์และทำการเจือจางด้วย สารละลาย Normal saline Solution (NSS, NaCl ร้อยละ 0.85) จากนั้นนำไปวัดค่าความขุ่นด้วยเครื่อง Spectrophotometer และปรับให้มีค่าความขุ่น OD_{600} เท่ากับ 1.0 (1×10^9 CFU/ml) ก่อนที่จะนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.3 กระบวนการสกัดสารประกอบพรีไบโอติกส์จากจมูกข้าว

3.3.1 การสกัดพรีไบโอติกส์จากตัวอย่างจมูกข้าวสาลี ในการศึกษานี้ได้สกัดตัวอย่างรำข้าวตามวิธีของ (สุนันยา ยามวัน, 2562) ดังนี้ นำตัวอย่าง รำข้าวมาชั่ง 10 กรัม และทำการสกัดด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที (IKA, Germany) จากนั้นนำตัวอย่างที่สกัดมากรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อทำการแยกตะกอนออก นำตัวอย่างที่กรองผ่านผ้า

ขาวบางมาปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 6000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

3.3.2 ทดสอบการทนต่อสภาวะทางเดินอาหารของสารสกัด นำตัวอย่างจมูกข้าวที่ทำการสกัดได้ มาทดสอบสภาวะทางเดินอาหาร โดยเติมสารละลายของเอนไซม์ pepsin (Sigma-Aldrich, USA) ที่ความเข้มข้น 3 กรัมต่อลิตร จากนั้นนำมาปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ให้ได้ค่าเท่ากับ 2.5 ด้วยไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 6 N เสร็จแล้วนำไปบ่มที่ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา นาน 3 ชั่วโมง บ่มเสร็จตามเวลานำสารสกัดมาปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้ได้ค่าเท่ากับ 7 ด้วย โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 6 N จากนั้นเติม **α**-amylase (Sigma-Aldrich, USA) ที่ความเข้มข้น 2 unit/ml นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 6 ชั่วโมง แล้วทำการเก็บตัวอย่างเพื่อนำไปตรวจสอบหาค่าน้ำตาลรวม และ น้ำตาลรีดิวซ์ และส่วนที่เหลือนำไปทำผงแห้งด้วยเครื่อง Freeze dryer (Operon, Korea) จากนั้นทำให้เป็นผงแห้งด้วยเครื่อง Freeze dryer (Operon, Korea) ผงแห้งที่ได้เรียกว่า Crude Wheat Prebiotic Extract (CWPE)

3.3.3 ศึกษาผลของพรีไบโอติกส์ต่อการเจริญของโพรไบโอติกส์ ในการตรวจสอบผลของพรีไบโอติกส์ที่สกัดได้ในการส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติกส์สายพันธุ์ *B. amyloliquefaciens* MS15a เลี้ยงใน Mueller Hinton (MH) Broth แล้วนำไปบ่มเขย่าที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อเก็บเซลล์และล้างเซลล์ด้วย NaCl ร้อยละ 0.85 จากนั้นนำไปวัดค่าความขุ่นด้วยเครื่อง Spectrophotometer เพื่อให้ได้ค่าความขุ่นที่แท้จริง แล้วใส่เชื้อลงไปใน Minimum medium (MM) ที่ผสมแหล่งคาร์บอนต่าง ๆ ให้มีค่าความขุ่นเริ่มต้น (OD600) เท่ากับ 0.05 แล้วนำไปบ่มที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจการเจริญที่เวลา 0, 24 และ 48 ชั่วโมง ด้วยวิธี Drop plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MH Agar นับจำนวณโคโลนีและนำมาคำนวณเพื่อนำมาทำกราฟระหว่างเวลาที่เพาะเลี้ยงและการเจริญ และตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในตัวอย่างที่เวลา 0, 24 และ 48 ชั่วโมง หลังการบ่มเชื้อด้วยเครื่อง pH Meter (Seven Easy, Mettler Toledo, Switzerland) แล้วบันทึกผล

3.4 การเตรียมเยลลี่ซินไบโอติกส์ผสม CBD Isolate

สูตรเยลลี่ที่ใช้ในการศึกษาเป็นสูตรที่ถูกนำมาอ้างอิงและได้ดัดแปลงบางส่วนจากผลงานวิจัยของ Bartkiene et al. (2017) โดยสูตรที่ดัดแปลงแล้ว นำผงเจลลาตินแช่ในน้ำเป็นเวลา 30 นาที และละลายเจลลาตินด้วยความร้อน ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเติมน้ำตาลซูโครส น้ำเชื่อมกลูโคส และกรดซิติก นั้นนำไปสเตอริไลส์ ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ปล่อยให้อุณหภูมิเย็นลง จากนั้นเติมส่วนประกอบอื่นๆ ได้แก่โพรไบโอติกส์ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร และ CBD Isolate กวนให้เข้ากัน และทำการเทลงแม่พิมพ์ และทำให้คงตัวโดยวางที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที และเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง เพื่อให้ได้รูปแบบที่แข็งแบบเจล

3.5 การศึกษาอายุการเก็บรักษาของเยลลี่ซินไบโอติกส์ผสม CBD Isolate

ผลิตภัณฑ์เยลลี่ซินไบโอติกส์ที่ทำขึ้นเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน นำมาทำการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของเยลลี่ซินไบโอติกส์ผสม CBD Isolate ได้แก่ การตรวจวิเคราะห์การรอดชีวิตของเชื้อโพรไบโอติกส์ ตรวจจุลินทรีย์โคลิฟอร์มในเยลลี่ด้วยวิธี Multiple-tube fermentation technique การตรวจกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระเยลลี่ซินไบโอติกส์ผสม CBD ด้วยวิธี DPPH assay (Ding et al., 2017)

3.6 สถิติที่ใช้ในการวิจัย

ค่าเฉลี่ยจากการทดลองในการศึกษาการรอดชีวิตของเชื้อโพรไบโอติกส์ ทุกการทดลอง 3 ซ้ำ และนำไปวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนแบบทางเดียว (One way Analysis of variance ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new Multiple Range Test (DMRT) ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรม SPSS for Windows

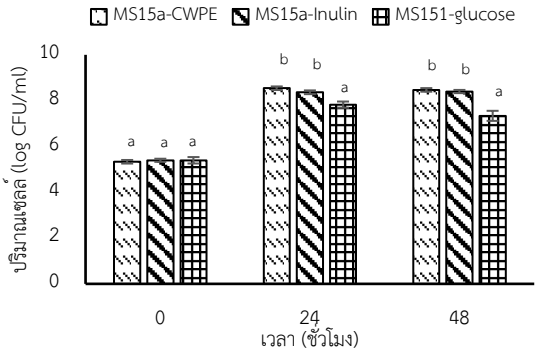
4. สรุปผลกาวิจัย

4.1 การสกัดพรีไบโอติกส์จากตัวอย่างจมูกข้าวสาลี

สารสกัดพรีไบโอติกส์จากจมูกข้าวสาลี หลังจากที่ผ่านการทำให้เป็นผงด้วยเครื่อง Freeze dryer แล้วจะมีลักษณะเป็นผงสีน้ำตาล มีกลิ่นหอมของจมูกข้าวสาลี

4.2 ผลของพรีไบโอติกส์จากจมูกข้าวต่อการเจริญของโพรไบโอติกส์

ผลของพรีไบโอติกส์จากจมูกข้าวสาลี (CWPE) ต่อการเจริญของโพรไบโอติกส์ สายพันธุ์ *Bacillus amyloliquefaciens* MS15A เมื่อเทียบกับอินนูลิน (Inulin) และกูลโคส (Glucose) โดยพรีไบโอติกส์ทั้ง 3 ชนิด เมื่อผ่านไป 24 ชั่วโมง มีการเจริญของโพรไบโอติกส์ทั้ง 3 ชนิด อยู่ระหว่าง 7.82 - 8.54 log CFU/ml โดย พรีไบโอติกส์จากจมูกข้าวสาลี (CWPE) มีผลการเจริญของโพรไบโอติกส์สูงที่สุดอยู่ที่ 8.54 log CFU/ml ดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ผลของพรีไบโอติกส์ต่อการเจริญของโพรไบโอติกส์ ตัวอักษรตัวยกที่แตกต่างกันแสดงนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

4.3 ผลการตรวจวิเคราะห์การรอดชีวิตของเชื้อโพรไบโอติกส์และผลการตรวจโคลิฟอร์มในผลิตภัณฑ์เยลลี่หลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 28 วัน

ผลการตรวจวิเคราะห์การรอดชีวิตของเชื้อโพรไบโอติกส์ สายพันธุ์ *Bacillus amyloliquefaciens* MS15A ในผลิตภัณฑ์เยลลี่ทั้ง 3 สูตร ที่เก็บรักษาที่อุณภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน โดยมีปริมาณเชื้อโพรไบโอติกส์เมื่อเก็บรักษาครบ 28 วัน พบว่าสูตรที่มีส่วนประกอบของ CBD Isolate (G002) เป็นสูตรที่มีปริมาณเชื้อโพรไบโอติกส์รอดมากที่สุดแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับสูตรที่มีเชื้อโพรไบโอติกส์อย่างเดียว (G001) แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับสูตรมีส่วนประกอบของ พรีไบโอติกส์จากจมูกข้าวสาลี (CWPE) และ CBD Isolate (G003)

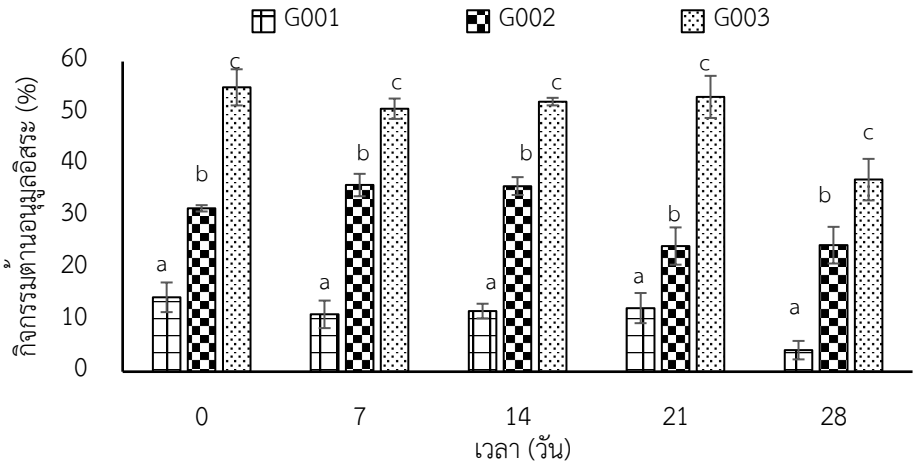
เมื่อตรวจสอบร้อยละการรอดชีวิตของเชื้อโพรไบโอติกส์ สายพันธุ์ *B. amyloliquefaciens* MS15A ในผลิตภัณฑ์เยลลี่ ที่เก็บรักษาที่อุณภูมิ 4 องศสเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน พบว่าร้อยละการรอดชีวิตของเยลลี่สูตรที่มีส่วนประกอบของ CBD Isolate (G002) มีค่าร้อยละการรอดชีวิตมากที่สุดที่ร้อยละ 93.15 แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับสูตรที่มีส่วนประกอบของพรีไบโอติกส์จากจมูกข้าวสาลี (CWPE) และ CBD Isolate (G003) ซึ่งมีการรอดชีวิตที่ร้อยละ 90.19 แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับสูตรที่มีเชื้อโพรไบโอติกส์ อย่างเดียว (G001) ที่มีการรอดชีวิตที่ร้อยละ 88.22
โดยเยลลี่ทั้ง 3 สูตรไม่พบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์โคลิฟอร์มแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์เยลลี่ ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา ซึ่งแสดงถึงความปลอดภัยและความสะอาดของเยลลี่ ผลการศึกษาแสดงในตารางที่ 1

4.4 ผลกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์เยลลี่ระหว่างการเก็บ

ผลกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์เยลลี่ระหว่างการเก็บรักษาของเยลลี่ทั้ง 3 สูตร หลังจากที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยในวันเริ่มต้นของการเก็บเยลลี่ทั้ง 3 สูตรมีค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระอยู่ระหว่างร้อยละ 14.39 – 55.01 และในวันที่ 28 ของการศึกษาเยลลี่ทั้ง 3 สูตรมีค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระอยู่ระหว่างร้อยละ 4.16 – 37.15 โดยสูตรที่กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดคือสูตรที่มีส่วนประกอบของพรีไบโอติกส์จากจมูกข้าวสาลี (CWPE) และ CBD Isolate (G003) อยู่ที่ร้อยละ 37.15 ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับสูตรที่มีเชื้อโพรไบโอติกส์อย่างเดียว (G001) และสูตรที่มีเชื้อโพรไบโอติกส์ และ CBD Isolate (G002) ดังแสดงในภาพที่ 2

ตารางที่ 1 ปริมาณของโพรไบโอติกส์และโคลิฟอร์มในเยลลี่หลังเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน

เวลา	ปริมาณการรอดชีวิต (CFU/g)					
(วัน)	G001	โคลิฟอร์ม	G002	โคลิฟอร์ม	G003	โคลิฟอร์ม
0	2.0×10^6	ไม่พบ	1.45×10^6	ไม่พบ	1.4×10^6	ไม่พบ
7	2.0×10^6	ไม่พบ	1.45×10^6	ไม่พบ	1.4×10^6	ไม่พบ
14	4.5×10^5	ไม่พบ	6.0×10^5	ไม่พบ	1.1×10^6	ไม่พบ
21	4.5×10^5	ไม่พบ	5.5×10^5	ไม่พบ	4.5×10^5	ไม่พบ
28	4.0×10^5	ไม่พบ	5.5×10^5	ไม่พบ	3.5×10^5	ไม่พบ



ภาพที่ 2 กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของเยลลี่ ทั้ง 3 สูตร เมื่อเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน ตัวอักษรตัวยกที่แตกต่างกันแสดงนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

5. อภิปรายผล

ในการวิจัยครั้งนี้ เป็นการศึกษาการพัฒนาเยลลี่ที่มีส่วนผสมของโพรไบโอติกส์สายพันธุ์ *Bacillus amyloliquefaciens* ร่วมกับพรีไบโอติกส์จากจมูกข้าวสาลีและสารประกอบชีบีดี ในการศึกษาเริ่มจากการสกัดพรีไบโอติกส์จากจมูกข้าวสาลี และคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติกส์ของจมูกข้าวสาลีต่อการเจริญของ *Bacillus amyloliquefaciens* โดยในการทดสอบครั้งนี้พบว่าจมูกข้าวสาลีมีการส่งเสริมการเจริญของ *Bacillus amyloliquefaciens* สูงสุดอยู่ที่ 8.46 log CFU/ml เมื่อเทียบกับอินนูลินและกูลโคส ซึ่งได้ผลเช่นเดียวกับในการวิจัยของ D'hoe et al. (2018) พบว่าสารสกัดจากจมูกข้าวสาลีมีสมบัติการเป็นพรีไบโอติกส์ส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรีย *Bifidobacterium* sp. ได้ อีกทั้งในงานของ Gullon et al. (2014) พบว่าสารประกอบ arabinoxylooligosaccharides จากจมูกข้าวสาลี สามารถส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติกส์ อีกทั้งยังตรวจพบการผลิตกรดอินทรีย์สายสั้น (Short Chain Fatty Acids) ได้

ผลจากการศึกษานี้เมื่อผลิตเยลลี่ขึ้นและศึกษาการรอดชีวิตระหว่างเก็บรักษา พบว่าปริมาณการรอดชีวิตของโพรไบโอติกส์ในเยลลี่ในสูตรที่ G002 มีปริมาณการรอด

ชีวิตสูงสุดอยู่ที่ 5.73 log CFU/g ซึ่งในงานวิจัยของ Miranda et al. (2020) พัฒนาเยลลี่จูชาร่าและเสาวรสผสมเชื้อโพรไบโอติกส์ สายพันธุ์ *Bacillus coagulans* GBI-30 6086 พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 90 วัน มีอัตราการรอดชีวิตอยู่ที่ 6.4 Log CFU/g และงานของ Kahraman et al. (2023) พัฒนาเยลลี่ผสมโพรไบโอติกส์ในกลุ่มบาซิลัส ได้แก่ *B. coagulans, B. clausii* และ *B. subtilis* เมื่อเก็บรักษาครบ 90 วัน พบว่าจำนวนบาซิลัสรอดชีวิตสูงกว่า 6.0 log CFU/g จากทั้งสองงานวิจัยเป็นงานที่ใช้โพรไบโอติกส์กลุ่มบาซิลัสในการทำเยลลี่ ซึ่งโพรไบโอติกส์กลุ่มบาซิลัสสามารถสร้างเอนโดสปอร์ที่สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมต่างๆได้ดีและรอดชีวิตได้สูง

อีกคุณสมบัติหนึ่งที่ทำการตรวจสอบคือกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในเยลลี่ โดยจากการตรวจสอบพบว่าสูตรที่มีโพรไบโอติกส์ พรีไบโอติกส์ร้อยละ 1 และซีบีดีร้อยละ 0.01 (G003) มีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระหลังเก็บรักษา 28 วัน สูงสุดอยู่ที่ร้อยละ 37.15 ซึ่งในงานวิจัยของ Feng et al. (2023) พบว่าเชื้อ *L. plantarum* YC-5 ที่เป็นเชื้อผสมในการทำเยลลี่มีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระเมื่อเทียบกับวิตามินซีอยู่ที่ 13.67 mg AAE/l

6. ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้

ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้

ในการวิจัยครั้งนี้ ผู้วิจัยได้ศึกษาเพื่อพัฒนาเยลลี่ซินไบโอติกส์จากจมูกข้าวสาลีที่มีส่วนผสมของซีบีดี ซึ่งเยลลี่ที่ได้มีการรอดของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์ และมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ แต่ทั้งนี้ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในด้านการยืออายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ เพื่อหาแนวทางให้โพรไบโอติกบาซิลลัสให้มีการรอดชีวิตในผลิตภัณฑ์ให้สูงขึ้น รวมถึงต้องหาวิธีการผลิตให้ผลิตภัณฑ์ให้พลังงานต่อหน่วยบริโภคที่ลดลง

ข้อเสนอแนะในการทำการวิจัยครั้งต่อไป

เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาครั้งต่อไป ผู้วิจัยจึงขอเสนอแนะประเด็นที่น่าศึกษาต่อไป เช่น การนำไปพัฒนาในด้านความคงตัวของเยลลี่ในด้านความหนืด การตรวจกิจกรรมการต้านเชื้อก่อโรคในเยลลี่ หรือการเพิ่มสารสกัดจากธัญพืชชนิดอื่นเข้าไปในผลิตภัณฑ์

7. เอกสารอ้างอิง

นัชชา นิลจันทึก, สำรวย เชือกรัมย์, สุธิดา กังขุนทด, จิราวรรณ อุ่นเมตตาอารี และจิตรา สิงห์ทอง. (2562). ความสามารถในการเป็นพรีไบโอติกของแก่นตะวัน. **วารสารวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครราชสีมา**, 4(2), 18-24.

รัชนี พุทธา, รัตติกาล เสนน้อย และรัตนจิรา รัตนประเสริฐ. (2564). การวิเคราะห์ปริมาณอินนูลินในใบและรากชิโครี่ (*Cichorium intybus* L.). **Khon Kaen Agriculture Journal**, 2021(1), 917-923.

สถาบันอาหาร กระทรวงอุตสาหกรรม. (2564). สำรวจยอดขายอาหาร กลุ่ม Future food ยังน่าสนใจอยู่หรือไม่. สืบค้นเมื่อวันที่ 8 สิงหาคม 2566 จาก https://www.nfi.or.th/food-warrior/files/WR-64-PPT-3-Futurefood_sale.pdf

สุนันยา ยามวัน. (2562). **การศึกษาผลของสารประกอบพรีไบโอติกส์จากรำข้าวและผลอินทผลัมต่อการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติกส์.** บัณฑิตนิพนธ์ระดับปริญญาตรี สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา.

Barajas-Álvarez, P., González-Ávila, M. and Espinosa-Andrews, H. (2023). Recent advances in probiotic encapsulation to improve viability under storage and gastrointestinal conditions and their impact on functional food formulation. **Food Reviews International,** 39(2), 992-1013.

Bartkiene, E., Ruzauskas, M., Lele, V., Zavistanaviciute, P., Bernatoniene, J., Jakstas, V., Ivanauskas, L., Zadeike, D., Klupsaite, D., Viskelis, P., Bendoraitiene, J., Snipaitiene, V.N. and Juodeikiene, G. (2017). Development of antimicrobial gummy candies with addition of bovine colostrum, essential oils and probiotics. **International Journal of Food Science and Technology**, 53(5), 1227-1235.

Cerino, P., Buonerba, C., Cannazza, G., D'Auria, J., Ottoni, E. and Fulgione, A. (2021). A Review of hemp as food and nutritional supplement. **Cannabis and cannabinoid Research**, 6(1), 19-27.

Cuenca, A.R., Alonso, A.G., Arcos, R.R., Castro, I., Alba, C., Rodríguez, J.M., and Goñi, I. (2023). Nutritional composition of green asparagus (*Asparagus officinalis* L.), edible part and by-products, and assessment of their effect on the growth of human gut-associated bacteria. **Food Research International**, 2023(163), 112284.

Ding, W., Wang, L., Zhang, J., Ke, W., Zhou, J., Zhu, J. and Long, R. (2017). Characterization of antioxidant properties of lactic acid bacteria isolated from spontaneously fermented yak milk in the tibetan plateau. **Journal of Functional Foods**, 35, 481- 488.

D'hoe, K., Conterno, L., Fava, F., Falony. G., Vieira-Silva, S., Vermeiren, J., Tuohy, K. and Raes, J. (2018). Prebiotic wheat bran fractions induce specific microbiota changes. **Frontiers in Microbiology**, 9, 31.

FAO/WHO. (2002). Guidelines for the evaluation of probiotics in food. **Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotic in** food, London, Ontario, Canada.

Feng, S., Wang, H., Lin, X., Liang, H., Zhang, S., Chen, Y. and Ji, C. (2023). Probiotic properties of Lactobacillus plantarum and application in prebiotic gummies. **LWT-Food Science and Technology**, 174, 114357.

Gullon, B., Gullon, P., Tavaria, F., Pintado, M., Gomes, A.M., Alonso, J.L. and Parajo, J.C. (2014). Structural features and assessment of prebiotic activity of refined arabinoxylooligosaccharides from wheat bran. **Journal of Functional Foods**, 6, 438-449.

Iraporda, C., Rubel, I.A., Manrique, G.D. and Abraham, A.G. (2019). Influence of inulin rich carbohydrates from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers on probiotic properties of *Lactobacillus* strains. **LWT-Food Science and Technology**, 2019(101), 738-746.

Kahraman, B., Korkmaz, K., Daştan, D., Toker, OS., Dertli, E. and Arici, M. (2023). Production and characterization of probiotic jelly candy containing *Bacillus* species. **Journal of Food Measurement and Characterization**, 1-10.

Lefevre, M., Racedo, S.M., Denayrolles, M., Ripert, G., Desfougeres, T., Lobach, A.R., Simon, R., Pelerin, F., Jüsten, P. and Urdac, M.C. (2017). Safety assessment of *Bacillus subtilis* CU1 for use as a probiotic in humans. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, 83, 54-65.

Miranda, J.S., Costa, B.V., Oliveira, I.V.D., Lima, D.C.N.D., Martins, E.M.F., Júnior, B.R.D.C.L., Benevenuto, W.C.A.D.N., Queiroz, I.C.D., Silva, R.R.D. and Martins, M.L. (2020). Probiotic jelly candies enriched with native Atlantic Forest fruits and *Bacillus coagulans* GBI-30 6086. **LWT-Food Science and Technology**, 126, 109275.

Palanivelu, J., Thanigaivel, S., Vickram, S., Dey, N., Mihaylova, D., Desseva, I. (2022). Probiotics in functional foods: survival assessment and approaches for improved viability. **Applied Sciences**, 12(1), 455.

Tolun, A. and Altintas, Z. (2019). Medicinal Properties and Functional Components of Beverages. **Functional and Medicinal Beverages**. 235-284.

Yohannes, K.W., Wan, Z., Yu, Q., Li, H., Wei, X., Liu, Y., Wang, J. and Sun, B. (2020). Prebiotic,

probiotic, antimicrobial, and functional food applications of *Bacillus amyloliquefaciens*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 68(50), 14709–14727.