

การเหลือรอดชีวิตของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก ในน้ำผลไม้ชนิดต่าง ๆ

Survival of Probiotic Bacteria in Different Kinds of Fruit Juices

ศรียา ทวีแสง (Sarisa Taweessang)*

บวรศักดิ์ สีนานนท์ (Borwonsak Leenanon)**

สิงหนาท พวงจันทน์แดง (Singhanat Phoungchandang)**

บทคัดย่อ

การศึกษาการเหลือรอดชีวิตของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกในน้ำผลไม้ชนิดต่าง ๆ โดยศึกษาชนิดของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกคือ *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* และเชื้อผสมระหว่าง *L. acidophilus* กับ *L. delbrueckii* subsp. *lactis* และน้ำผลไม้ที่ใช้ในการศึกษาคือน้ำสัมน้ำสับปะรดและน้ำมะเขือเทศ โดยน้ำผลไม้โพรไบโอติกชนิดต่าง ๆ นั้นทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5°C เป็นเวลา 21 วัน พบว่าเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก สามารถเหลือรอดชีวิตอยู่ในน้ำผลไม้ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ซึ่งในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา พบว่าเชื้อ *L. acidophilus* สามารถเหลือรอดชีวิตอยู่ได้ในน้ำสับปะรดและน้ำมะเขือเทศได้สูงที่สุดเท่ากับ 9.04 และ 9.15 log cfu/ml ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญกับการเหลือรอดชีวิตของเชื้อผสมระหว่าง *L. acidophilus* กับ *L. delbrueckii* subsp. *lactis* ในน้ำมะเขือเทศโดยมีจำนวนเชื้อเท่ากับ 8.95 log cfu/ml ส่วนน้ำผลไม้โพรไบโอติกชนิดอื่นๆ มีจำนวนเชื้อประมาณ 8 log cfu/ml ซึ่งเป็นจำนวนมากกว่าระดับที่กำหนดให้เป็นระดับที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย (Therapeutic Dose) โดยเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกต้องเหลือรอดชีวิตอย่างน้อย 1×10^5 cfu/ml หรือ 5 log cfu/ml ยกเว้นการเหลือรอดชีวิตของเชื้อ *L. delbrueckii* subsp. *lactis* ในน้ำสัมน้ำที่มีจำนวนเชื้อเหลือรอดชีวิตเท่ากับ 2.16 log cfu/ml การศึกษาผลของภาชนะบรรจุ คือ ขวดเพท (PET) และขวดพลาสติก (HDPE) ที่มีผลต่อการเหลือรอดชีวิตของเชื้อ *L. acidophilus* ในน้ำสับปะรดและน้ำมะเขือเทศ พบว่าชนิดของภาชนะบรรจุที่นำมาศึกษาไม่มีผลต่อการเหลือรอดชีวิตของเชื้อ *L. acidophilus* สำหรับการศึกษาผลของการเติมพรีไบโอติก คือ ฟรุคโทโอลิโกแซคคาไรด์ 1% และแลคทูโลส 1% ที่มีต่อการเหลือรอดชีวิตของเชื้อ *L. acidophilus* ในน้ำมะเขือเทศ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งไม่เติมพรีไบโอติก พบว่าการเติมพรีไบโอติกไม่มีผลต่อการเหลือรอดชีวิตของเชื้อ *L. acidophilus* ในน้ำมะเขือเทศ

คำสำคัญ : การเหลือรอดชีวิต โพรไบโอติก พรีไบโอติก

Key Words : survival, probiotic, prebiotic

* นักศึกษาหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น

** รองศาสตราจารย์ ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ABSTRACT

Survivals of probiotic bacteria including *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* and the mixture of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* in fruit juices i.e. orange juice, pineapple juice and tomato juice were investigated. All probiotic fruit juices were stored at 5°C for 21 days. It was found that *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* and the mixture of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* survived differently in various types of fruit juices ($p \leq 0.05$) On day 21 of storage, *Lactobacillus acidophilus* could survive the most in pineapple and tomato juices as 9.04 and 9.15 cfu/ml respectively which were not significantly different from the survival of the mixture of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* as 8.95 log cfu/ml. For the other probiotic fruit juices, there was about 8 log cfu/ml which was higher than the therapeutic dose, beneficial dose of 5 log cfu/ml. However, the survival of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* in orange juice as 2.16 log cfu/ml was the only one, which was lower than the therapeutic dose. Moreover, the effects of package types including PET and HDPE bottles on the survivals of *Lactobacillus acidophilus* in pineapple and tomato juices were conducted and found that there was no effect from the types of packages on the survival of *Lactobacillus acidophilus* since the survivals in PET and HDPE bottled pineapple juices. Then, the effects of prebiotics including 1% fructooligosaccharide and 1% lactulose on survival of *Lactobacillus acidophilus* in tomato juice compared to the control (no prebiotics) were determined and found that there was no effect of prebiotics on survival of *Lactobacillus acidophilus* in tomato juice.

บทนำ

โพรไบโอติก (Probiotic) คือ จุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่บริโภคเสริมเข้าไปแล้วก่อให้เกิดผลดีต่อผู้ที่บริโภค (host) โดยจะช่วยปรับปรุงสมดุลของแบคทีเรียที่อยู่ในลำไส้ (Fuller, 1992) นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกยังสามารถป้องกันการเกิดโรคท้องร่วง ท้องผูก การอักเสบของลำไส้ ป้องกันการกลับมาเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน และลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด เป็นต้น (Gibson and Roberfroid, 1995; Walker and Duffy, 1998) เชื้อจุลินทรีย์ที่จะจัดว่าเป็นเชื้อที่เป็นองค์ประกอบในทางโภชนาการหรือเป็นเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกควรมีคุณสมบัติที่สำคัญ ได้แก่ เป็นเชื้อที่อาศัยอยู่ในระบบลำไส้ตามปกติ สามารถรอดชีวิตอยู่ได้หลังจากผ่านระบบย่อยอาหารชั้นต้นแล้ว ทำให้เกิดคุณประโยชน์เมื่ออยู่ในลำไส้

และยังคงรักษาความมีชีวิต (Viability) และยังคงมีกิจกรรม (Activity) อยู่ในอาหารที่มีการเติมเชื้อจุลินทรีย์ลงไปทั้งในระหว่างการเก็บรักษาจนกระทั่งบริโภค (Lee and Salminen, 1995) สำหรับจุลินทรีย์ที่จัดเป็นโพรไบโอติกนั้นเชื้อแบคทีเรียได้แก่ *Lactobacilli* *Bifidobacteria* *Enterococci* และ *Streptococci* เป็นต้น เชื้อยีสต์ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae* และ *Candida parapsilosis* และเชื้อราได้แก่ *Aspergillus niger* และ *A. oryzae* ส่วนพรีไบโอติก (Prebiotic) หมายถึง ส่วนประกอบของอาหารที่ร่างกายย่อยไม่หมดที่ลำไส้ส่วนบนหรือไม่สามารถย่อยได้แล้วส่งผ่านไปยังลำไส้ใหญ่ (Colon) ซึ่งมีผลต่อผู้รับประทาน (host) คือ จะเลือกกระตุ้นให้เกิดการเจริญเติบโต และ/หรือเลือกกระตุ้นการมีกิจกรรมของแบคทีเรียบางชนิดในลำไส้ใหญ่ และทำให้สุขภาพของผู้รับประทานอาหารชนิดนั้นดีขึ้น

สารอาหารที่เหลื้อมาถึงลำไส้ใหญ่ได้สามารถเป็นพรีไบโอติกได้ โดยส่วนมากเป็นสารอาหารพวกคาร์โบไฮเดรตที่ร่างกายไม่สามารถย่อยได้ ซึ่งประกอบด้วย โอลิโก- และโพลีแซคคาไรด์ต่างๆ เช่น โอลิโกแซคคาไรด์ (Oligosaccharides) ฟรุคโทโอลิโกแซคคาไรด์ (Fructooligosaccharides) ซอยบินโอลิโกแซคคาไรด์ (Soybean oligosaccharides) และไดแซคคาไรด์ เช่น แลคทูโลส (Lactulose) แลคทิทอล (Lactitol) (Gibson and Roberfoid, 1995; Gibson et al., 2000) สำหรับพรีไบโอติกโดยส่วนมากจะใช้ในผลิตภัณฑ์นมหมัก เช่น โยเกิร์ต เป็นต้น (Fooks et al., 1999) และพบว่ามีเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องของผลิตภัณฑ์พรีไบโอติกชนิดอื่นๆ นอกเหนือจากผลิตภัณฑ์นม เช่น ผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก ผลิตภัณฑ์น้ำผักและน้ำผลไม้ (Holzapfel and Schillinger, 2002) ในตลาดอาหารเพื่อสุขภาพในยุโรปพบว่าเมื่อไม่นานมานี้ได้มีผลิตภัณฑ์ประเภทเครื่องดื่มพรีไบโอติกเกิดขึ้น (Mattila-Sandholm et al., 2002) สำหรับเครื่องดื่มที่ควรศึกษาเพื่อพัฒนาให้เป็นผลิตภัณฑ์พรีไบโอติกเพื่อสุขภาพในอนาคตคือ น้ำผลไม้ (Lee and salminen, 1995) ซึ่งน้ำผลไม้เป็นเครื่องดื่มที่ดื่มได้ทุกเพศทุกวัยอีกทั้งมีคุณค่าทางอาหารเพราะมีส่วนผสมของเกลือแร่และวิตามิน ดังนั้นจึงเหมาะสมที่จะนำน้ำผลไม้มาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์พรีไบโอติกเพื่อสุขภาพ แต่อย่างไรก็ตามการที่จะใช้ประโยชน์จากเชื้อแบคทีเรียพรีไบโอติกนั้นมียุทธศาสตร์คือจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่มีชีวิตอยู่ในผลิตภัณฑ์ที่บริโภคเข้าไบนั้นควรมีอย่างน้อย 1×10^5 cfu / ml or g ซึ่งถือว่าเป็นระดับที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย (Therapeutic Dose) (Lee and Salminen, 1995; Dave and Shah, 1996) การมีชีวิตของเชื้อแบคทีเรียพรีไบโอติกในอาหารขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น pH, A_w ปริมาณออกซิเจน การเกิดภาวะแข่งขันกับจุลินทรีย์ประเภทอื่น และการมีสารยับยั้งบางตัว (เช่น โซเดียมคลอไรด์) รวมถึงวัสดุที่ใช้ใน

การทำภาชนะบรรจุและสภาวะที่ใช้ในการเก็บรักษาก็มีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ด้วย เมื่อเติมเชื้อแบคทีเรียพรีไบโอติกลงไปในผลิตภัณฑ์อาหารแต่ละชนิดการเจริญเติบโตหรือการเหลือรอดชีวิตในผลิตภัณฑ์อาหารอาจไม่เกิดขึ้นเสมอไป (Saarela et al., 2000; Mattila-Sandholm et al., 2002)

ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจทำการศึกษาการเหลือรอดชีวิตของเชื้อแบคทีเรียพรีไบโอติกที่เติมลงไปในน้ำผลไม้ ชนิดต่างๆ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเหลือรอดชีวิตของเชื้อแบคทีเรียพรีไบโอติกในน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ และศึกษาผลของชนิดของภาชนะบรรจุ น้ำผลไม้ที่มีต่อการเหลือรอดชีวิตของเชื้อแบคทีเรียพรีไบโอติก รวมถึงผลของการเติมพรีไบโอติกที่มีต่อการเหลือรอดชีวิตของเชื้อแบคทีเรียพรีไบโอติกในน้ำผลไม้

อุปกรณ์และวิธีวิจัย

1. เชื้อจุลินทรีย์

Lactobacillus acidophilus TISTR No. 450 และ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* TISTR No.785 จากสถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

2. การศึกษากราฟการเจริญของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* และ *L. delbrueckii* subsp. *lactis*

เมื่อนำแบคทีเรียมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว ถ้าแบคทีเรียสามารถเจริญเติบโตได้ อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีลักษณะใสจะเปลี่ยนเป็นขุ่น ซึ่งความขุ่นนี้จะเพิ่มตามจำนวนเซลล์ที่มากขึ้น ดังนั้นการศึกษาการเจริญของเชื้อแบคทีเรียจึงสามารถทำได้โดยการนำไปวัดความขุ่น โดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer รุ่น Lamda ของบริษัท Perkin-Elmer สหรัฐอเมริกา) และนับจำนวนเชื้อโดยใช้วิธีการ Dilution plate count ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar

3. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงและการเหลือรอดชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติก ในน้ำผลไม้พาสเจอร์ไรส์ ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5°C

การผลิตน้ำผลไม้โพรไบโอติก ได้แก่ น้ำส้ม น้ำสับปะรดและน้ำมะเขือเทศ (Nighwonger et al., 1996) เตรียมเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกโดยการนำเชื้อแบคทีเรีย *L. delbrueckii* subsp. *lactis*, *L. acidophilus* และเชื้อผสมระหว่าง *L. acidophilus* กับ *L. delbrueckii* subsp. *lactis* ในอัตราส่วนเท่ากัน (1:1) เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth โดยทำการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37°C โดยใช้เวลาในการบ่มเพาะเลี้ยงเชื้อให้เข้าสู่ช่วงเฟสคงที่ (stationary phase) ตามการทดลองข้อ 2 จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่องเหวี่ยงหมุนเหวี่ยงความเร็วสูง (Centrifuge รุ่น Avanti™ J - 25 บริษัท Beckman, สหรัฐอเมริกา) ด้วยความเร็วรอบ 12,000x g ที่อุณหภูมิ 5°C เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเทอาหารเลี้ยงเชื้อทิ้ง แล้วทำการล้างเซลล์ด้วย sterile phosphate buffered saline ทำการปั่นเหวี่ยงอีกครั้งและเท sterile phosphate buffered saline ทิ้งและเติมน้ำผลไม้พาสเจอร์ไรส์ลงไป จากนั้นนำไปผสมกับน้ำผลไม้ที่ทำกรพาสเจอร์ไรส์ด้วยเครื่องพาสเจอร์ไรส์ (Laboratory Pasteuriser รุ่น FT 43 บริษัท Armfield, อังกฤษ) ซึ่งน้ำผลไม้โพรไบโอติกที่ได้จะมีจำนวนเชื้อเริ่มต้นประมาณ 8 log cfu/ml. และนำน้ำผลไม้โพรไบโอติกไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5°C ทำการสุ่มตัวอย่างในช่วงวันที่ 0, 3, 6, 9, 12, 15, 17, 19 และ 21 เพื่อนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกที่มีอยู่ในน้ำผลไม้โพรไบโอติก (Dilution plate count; MRS agar)

ศึกษาโดยวางแผนการทดลองแบบ 3x3 Factorial Experiment in Completely Randomized Design ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

4. การศึกษาผลของชนิดภาชนะบรรจุที่มีต่อการเหลือรอดชีวิตของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกในน้ำผลไม้ ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5°C

น้ำผลไม้โพรไบโอติกที่จะนำมาศึกษาพิจารณาจากข้อ 3 โดยเลือกใช้น้ำผลไม้โพรไบโอติกที่เชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกสามารถเหลือรอดชีวิตอยู่ได้ตั้งแต่ 1×10^5 cfu / ml ปัจจุบันคือชนิดของภาชนะบรรจุที่ใช้ในการบรรจุ คือ ขวดเพท (PET) และขวดขาวขุ่น (HDPE) และชนิดของน้ำผลไม้ ได้แก่ น้ำสับปะรดและน้ำมะเขือเทศ ทำการสุ่มตัวอย่างในช่วงวันที่ 0, 3, 6, 9, 12, 15, 17, 19 และ 21 เพื่อนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกที่มีอยู่ในน้ำผลไม้โพรไบโอติก (Dilution plate count ; MRS agar) ศึกษาโดยวางแผนการทดลองแบบ 2x2 Factorial Experiment in Completely Randomized Design ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

5. การศึกษาผลของการเติมพรีไบโอติกที่มีต่อการเหลือรอดชีวิตของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกในน้ำผลไม้โพรไบโอติกในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5°C

นำผลการทดลองที่ได้จากข้อ 4 มาพิจารณาหาสภาวะในการศึกษา ปัจจุบันที่จะศึกษาคือการเติมพรีไบโอติกที่มีต่อการเหลือรอดชีวิตของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ทรีตเมนต์ คือ น้ำผลไม้โพรไบโอติกที่ไม่เติมพรีไบโอติก (กลุ่มควบคุม) น้ำผลไม้โพรไบโอติกที่เติมฟรุกโทโอลิโกแซคคาไรด์ 1 % (Fructooligosaccharide powder, บริษัท Allergy Research Group, สหรัฐอเมริกา) และน้ำผลไม้โพรไบโอติกที่เติมแลคทูโลส 1 % (Lactulose powder ของบริษัท Spectrum, สหรัฐอเมริกา) ทำการสุ่มตัวอย่างในช่วงวันที่ 0, 3, 6, 9, 12, 15, 17, 19 และ 21 เพื่อนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกที่มีอยู่ในน้ำผลไม้โพรไบโอติก (Dilution plate count; MRS agar)

ศึกษาโดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design ปัจจัยคือ ชนิดของพรไบโอติก ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

6. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for window version 11.5 วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) ของค่าสังเกตต่าง ๆ จากนั้นทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยทรีดเมนต์ โดยใช้ DMRT (Duncan's New Multiple Range Test)

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

1. ผลของการศึกษากราฟการเจริญของเชื้อแบคทีเรียพรไบโอติก *Lactobacillus acidophilus* TISTR No. 450 และ *L. delbrueckii* subsp. *lactis* TISTR No.785

การศึกษากราฟการเจริญของเชื้อแบคทีเรียพรไบโอติก *Lactobacillus acidophilus* และ *L. delbrueckii* subsp. *lactis* โดยทำการทดลองเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (MRS broth) ทำการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37°C สุ่มตัวอย่างที่ช่วงเวลาต่าง ๆ มาวัดค่าการดูดกลืนแสง พบว่าเมื่อระยะเวลาเพิ่มมากขึ้นค่าการดูดกลืนแสงมีค่าเพิ่มขึ้น ซึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth มีความขุ่นมากขึ้น แสดงว่ามีจำนวนเซลล์มากขึ้น การวัดความขุ่นเป็นวิธีที่ง่ายที่จะติดตามการเจริญ แต่วิธีนี้เป็นการวัดทั้งเซลล์เป็นและเซลล์ตายรวมกัน (ดวงพร, 2545) ดังนั้นเพื่อให้ทราบถึงจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตจึงนับจำนวนเชื้อโดยใช้วิธีการ Dilution plate count โดยพบว่าในช่วงแรกของการสุ่มตัวอย่างมาทำการศึกษาการเจริญนั้นเชื้อแบคทีเรียพรไบโอติกทั้งสองสายพันธุ์มีการเจริญอยู่ในช่วง lag phase คือชั่วโมงที่ 0- 8 โดยมีจำนวนประชากรของแบคทีเรียพรไบโอติกทั้งสองชนิดอยู่ประมาณ 3 log cfu/ml และเข้าสู่ช่วง log phase ในชั่วโมงที่ 8 ซึ่งจำนวนประชากรของ

แบคทีเรียพรไบโอติกทั้งสองชนิดจะค่อย ๆ เพิ่มจำนวนและเข้าสู่ stationary phase ประมาณชั่วโมงที่ 24 ซึ่งมีจำนวนประชากรของแบคทีเรียพรไบโอติกทั้งสองชนิดอยู่ประมาณ 8-9 log cfu/ml ส่วนระยะ death phase นั้นอาจจะเริ่มหลังจากชั่วโมงที่ 48 หรือมากกว่า โดยในระยะ lag phase เมื่อปลูกถ่ายเชื้อลงในอาหารเลี้ยงเชื้อในระยะเริ่มต้นจะยังไม่มีเพิ่มจำนวนทันทีแต่จะมีการสังเคราะห์สารต่าง ๆ ที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์ทำให้เซลล์แต่ละเซลล์มีการเพิ่มขนาด และแบคทีเรียจะมีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมใหม่ ระยะ log phase หรือ exponential phase นั้นเซลล์จะมีการแบ่งตัวกันอย่างสม่ำเสมอด้วยอัตราคงที่เมื่อพล็อต log ของจำนวนเซลล์กับเวลาจะได้เป็นกราฟเส้นตรง และเมื่อเข้าสู่ stationary phase เป็นระยะที่แบคทีเรียมีจำนวนเซลล์สูงสุดและคงที่ จำนวนประชากรแบคทีเรียอาจสูงถึง 10⁹ cfu/ml จะเป็นช่วงที่การเจริญหยุดซึ่งเกิดจากหลายสาเหตุ เช่น ปริมาณของสารอาหารลดน้อยลง หรือมีการสะสมผลผลิตของกระบวนการเมตาบอลิซึมที่เป็นอันตรายต่อเซลล์ เช่น กรด สารพิษต่าง ๆ หลังจากนั้นจะเข้าสู่ระยะ death phase ซึ่งแบคทีเรียจะลดจำนวนลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งมีหลายสาเหตุที่ทำให้แบคทีเรียตาย แต่สาเหตุสำคัญคือการขาดสารอาหารที่จำเป็นและการสะสมสารยับยั้งการเจริญ เช่น กรด ในช่วงนี้จำนวนของเซลล์ที่มีชีวิต (Viable cell) จะลดลงแบบ exponential ซึ่งจะอยู่ในตำแหน่งที่กลับกันกับช่วงเวลา log phase (ดวงพร, 2545)

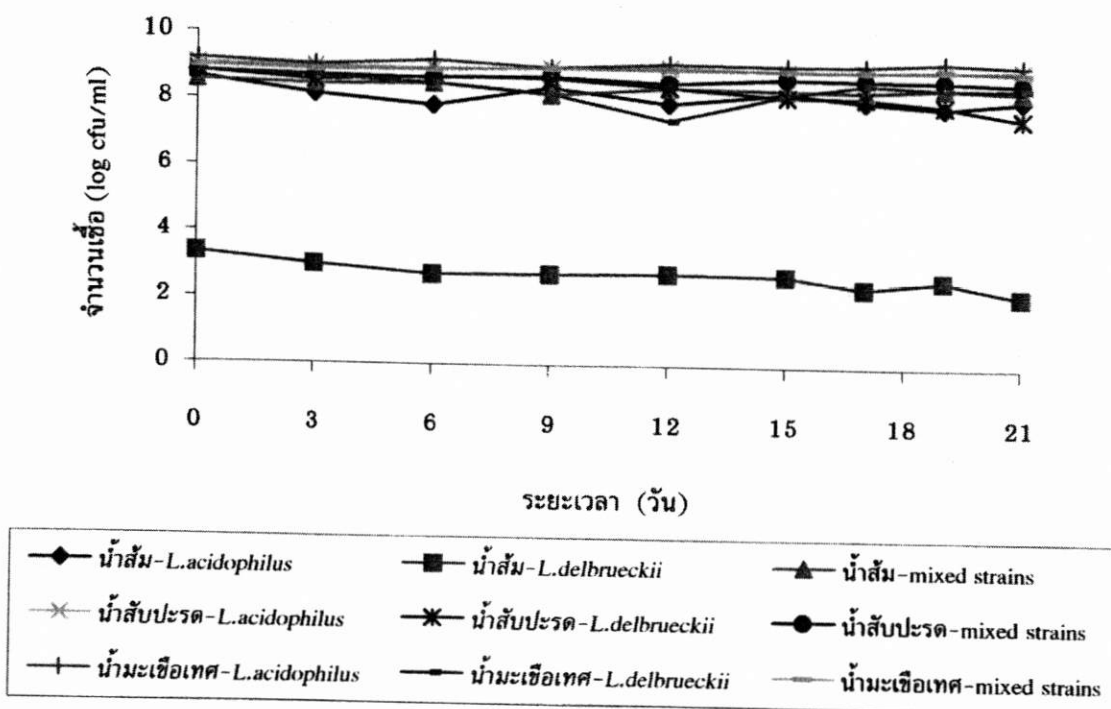
ดังนั้นในการศึกษานี้จึงใช้ช่วงระยะ stationary phase ของเชื้อแบคทีเรียพรไบโอติกทั้งสองชนิดคือประมาณชั่วโมงที่ 24 ในการเพาะเลี้ยงเชื้อเพื่อทำการทดลองในการผลิตน้ำผลไม้พรไบโอติกในการทดลองต่อไป ซึ่งช่วงเวลาที่เลือกนำมาใช้เป็นช่วงเวลาที่พบว่ามีปริมาณของเชื้อสูงถึง 8-9 log cfu/ml ซึ่ง Analie and Viljoen (2001) กล่าวว่าปริมาณการปลูกถ่ายเชื้อ (Inoculum) ในกระบวนการผลิต เป็น

สิ่งที่สำคัญในผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกเพื่อให้แน่ใจว่ามีเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกสามารถรอดชีวิตอยู่ได้ในระดับที่มีประโยชน์ต่อร่างกายจนถึงมือผู้บริโภค

2. ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงและการเหลือรอดชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติก ที่เติมลงไป ในน้ำผลไม้พาสเจอร์ไรส์ ในวันที่ 21 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °ซ

การเหลือรอดชีวิตของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *lactis* และเชื้อผสมระหว่าง *L. acidophilus* กับ *L. delbrueckii* subsp. *lactis* ในน้ำผลไม้ทั้งสามชนิดคือน้ำส้ม สับปะรด และน้ำมะเขือเทศ ในระหว่างการเก็บรักษาพบว่ามีความโน้มถ่วงลดลงเล็กน้อยเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มมากขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 1 ซึ่ง Shah et al. (1995) พบว่าการเปลี่ยนแปลงจำนวนของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ใช้ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต คือ เชื้อแบคทีเรีย *L. acidophilus* และ *Bifidobacterium* spp. มีความโน้มถ่วงลดลงที่ระยะเวลาการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เพิ่มมากขึ้น และจากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกที่เหลือรอดชีวิตในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา (ผลการทดลองดังตารางที่ 1) พบว่าแบคทีเรียโพรไบโอติกสามารถเหลือรอดชีวิตอยู่ในน้ำส้ม น้ำสับปะรดและ น้ำมะเขือเทศ ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งพบว่า *L. acidophilus* เหลือรอดชีวิตได้ดีที่สุดในน้ำสับปะรดและน้ำมะเขือเทศซึ่งมีจำนวนเท่ากับ 9.04 และ 9.15 log cfu/ml ซึ่งแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญกับเชื้อผสมระหว่าง *L. acidophilus* กับ *L. delbrueckii* subsp. *lactis* ที่มีจำนวนเชื้อเหลือรอดชีวิตในน้ำมะเขือเทศเท่ากับ 8.95 log cfu/ml ส่วนน้ำผลไม้โพรไบโอติกชนิดอื่นๆ มีจำนวนเชื้อที่เหลือรอดชีวิตประมาณ 8 log cfu/ml ซึ่งจำนวนมากกว่าระดับที่กำหนดให้เป็นระดับที่มีประโยชน์ต่อ

ร่างกาย (Therapeutic Dose) ซึ่งเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกต้องเหลือรอดชีวิตอย่างน้อย 1×10^5 cfu/ml หรือ 5 log cfu/ml (Lee and Salminen, 1995; Dave and Shah, 1996) ยกเว้นการเหลือรอดชีวิตของเชื้อ *L. delbrueckii* subsp. *lactis* ในน้ำส้ม โดยมีจำนวนที่เหลือรอดชีวิตเพียง 2.16 log cfu/ml โดย Fennema (1996) กล่าวว่าในพืชตระกูลส้ม (citrus) เช่น มะนาว ส้ม มะกรูด ส้มโอ จะมีสารประกอบพวกฟลาโวนอยด์และเทอร์ปีนส์ ฟลาโวนอยด์เป็นกลุ่มของรงควัตถุในพืชมีสีเหลือง แบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้หลายกลุ่มโดยในพืชตระกูลส้มจัดอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอน ซึ่งมีตัวอย่างของไกลโคไซด์ เช่น นารินจิน (naringin) ส่วนเทอร์ปีนส์จะอยู่รูปน้ำมันหอมระเหย ซึ่งน้ำมันหอมระเหยที่พบในส้ม คือ Tangerine และพบที่เปลือกส้ม (orange peel) (นิธิยา, 2545) และพบว่าสาร ฟลาโวนอยด์และเทอร์ปีนส์มีสมบัติเป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ (สุเมธนา, 2545) สารประกอบดังกล่าวที่มีอยู่ในส้มจึงส่งผลให้เกิดการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *L. delbrueckii* subsp. *lactis* ที่เติมลงในน้ำส้มและอาจมีผลยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *L. acidophilus* ที่เติมลงในน้ำส้มได้เล็กน้อย ซึ่งเชื้อแบคทีเรีย *L. acidophilus* ยังสามารถเหลือรอดชีวิตในน้ำส้มได้ในปริมาณที่สูงกว่าระดับ Therapeutic Dose สอดคล้องกับการทดลองของ Vinderola et al. (2002) ได้ทำการศึกษาการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *L. acidophilus* 8 สายพันธุ์ และ *L. delbrueckii* 8 สายพันธุ์ ในน้ำผลไม้พบว่า น้ำสตรอเบอร์รี่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. delbrueckii* ได้ 4 สายพันธุ์ และยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. acidophilus* ได้เพียง 1 สายพันธุ์ ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไป จึงเลือกนำน้ำสับปะรดและน้ำมะเขือเทศที่พบว่ามีการเหลือรอดชีวิตของเชื้อ *L. acidophilus* สูงสุดไปใช้ในการศึกษาผลของชนิดภาชนะบรรจุที่มีต่อการเหลือรอดชีวิตของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกในน้ำผลไม้



หมายเหตุ mixed strains หมายถึง เชื้อผสมระหว่าง *L. acidophilus* กับ *L. delbrueckii* subsp. *lactis*
 ภาพที่ 1 การเปลี่ยนแปลงจำนวนเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกในน้ำผลไม้โพรไบโอติก (log cfu/ml) ที่ระยะเวลา 0 3 6 9 12 15 17 19 และ 21 วัน ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5°ซ เป็นเวลา 21 วัน

ตารางที่ 1 ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของปริมาณเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกที่เติมลงไปในน้ำส้ม น้ำสับปะรด และน้ำมะเขือเทศ ในวันที่ 21 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5°ซ เมื่อพิจารณาเฉพาะ อิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกและชนิดของน้ำผลไม้

เชื้อแบคทีเรีย โพรไบโอติก	จำนวนเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกในน้ำผลไม้ (log cfu/ml)		
	น้ำส้ม	น้ำสับปะรด	น้ำมะเขือเทศ
<i>L. acidophilus</i>	8.09d $\pm$ 0.06	9.04a $\pm$ 0.00	9.15a $\pm$ 0.00
<i>L. delbrueckii</i>	2.16f $\pm$ 0.49	7.55e $\pm$ 0.15	8.47cd $\pm$ 0.02
Mixed strains	8.38cd $\pm$ 0.83	8.60bc $\pm$ 0.06	8.95ab $\pm$ 0.02

a, b.. ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95
 หมายเหตุ Mixed strains หมายถึง เชื้อผสมระหว่าง *L. acidophilus* กับ *L. delbrueckii* subsp. *lactis*

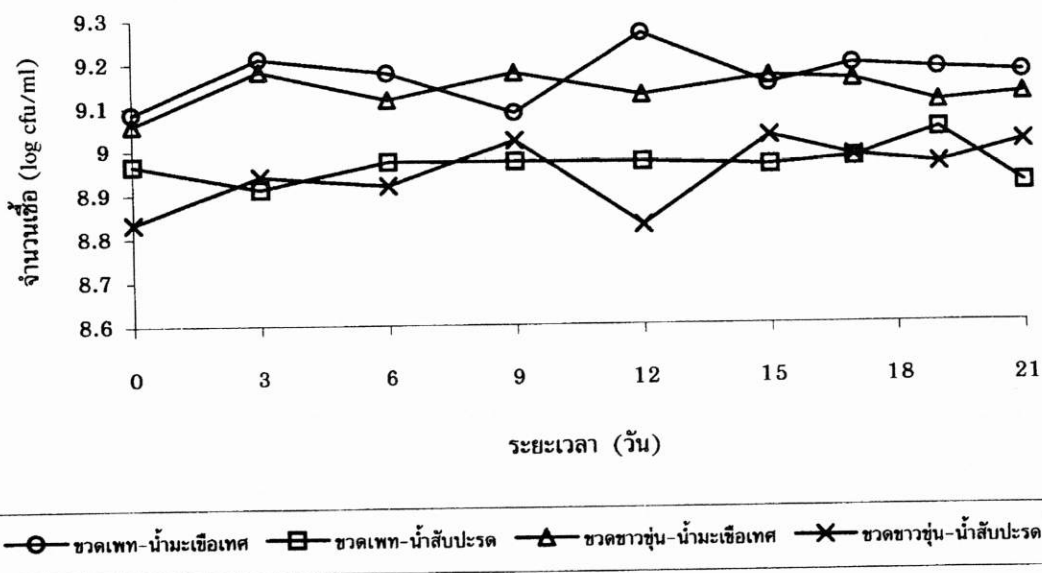
3. ผลของชนิดภาชนะบรรจุที่มีต่อการเหลือรอดชีวิตของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกในน้ำผลไม้ ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5°ซ

ภาชนะบรรจุที่นำมาใช้ในการทดลองมีคุณสมบัติที่แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด คือ ขวดเพท (PET) มีลักษณะใส ทำให้แสงส่องผ่านได้มากกว่า

ขวดขาวขุ่น (HDPE) ซึ่งมีรายงานว่าภาชนะบรรจุที่ใช้ในการบรรจุผลิตภัณฑ์โพรไบโอติก อาจมีผลต่อการเหลือรอดชีวิตของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก (Saarela et al., 2000; Mattila-Sandhom et al., 2002) และดวงพร (2545) กล่าวว่า พลังงานจากการแผ่รังสีที่มาจากแสง เช่น แสง UV แสงที่มอง

เห็นได้ สามารถทำลายโมเลกุลของ DNA อาจเป็นสาเหตุของการฆ่าเหล่า และอาจทำให้เซลล์หรือจุลินทรีย์ตายได้ สำหรับการเปลี่ยนแปลงจำนวนเชื้อ *L. acidophilus* ในน้ำสับปะรดและน้ำมะเขือเทศที่บรรจุในขวดเพท (PET) และขวดขาวขุ่น (HDPE) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °ซ พบว่ามีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มมากขึ้น ดังแสดงในภาพที่ 2 และเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเชื้อ *L. acidophilus* ที่เหลือรอดชีวิต ในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 2 พบว่าอิทธิพลของชนิดของ

ภาชนะบรรจุและชนิดของน้ำผลไม้ มีผลต่อจำนวนเชื้อ *L. acidophilus* อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งพบว่าในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา น้ำสับปะรดและน้ำมะเขือเทศโพรไบโอติกที่บรรจุอยู่ในขวดเพทและขวดขาวขุ่น มีจำนวนเชื้อ *L. acidophilus* เหลือรอดชีวิตประมาณ 9 log cfu/ml ซึ่งมากกว่าระดับที่กำหนดให้เป็นระดับที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย (Therapeutic Dose) โดยเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกต้องเหลือรอดชีวิตอย่างน้อย 1-10⁵ cfu/ml หรือ 5 log cfu/ml (Lee and Salminen, 1995; Dave and Shah, 1996)



ภาพที่ 2 การเปลี่ยนแปลงจำนวนเชื้อ *L. acidophilus* ในน้ำมะเขือเทศและน้ำสับปะรด ในภาชนะบรรจุขวดเพท (PET) และขวดขาวขุ่น (HDPE) ที่ระยะเวลา 0 3 6 9 12 15 17 19 และ 21 วัน ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °ซ เป็นเวลา 21 วัน

ตารางที่ 2 ค่าเฉลี่ย (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนเชื้อ *L. acidophilus* น้ำผลไม้โพรไบโอติกในวันที่ 21 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °ซ เมื่อพิจารณาเฉพาะอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดของภาชนะบรรจุและชนิดของน้ำผลไม้

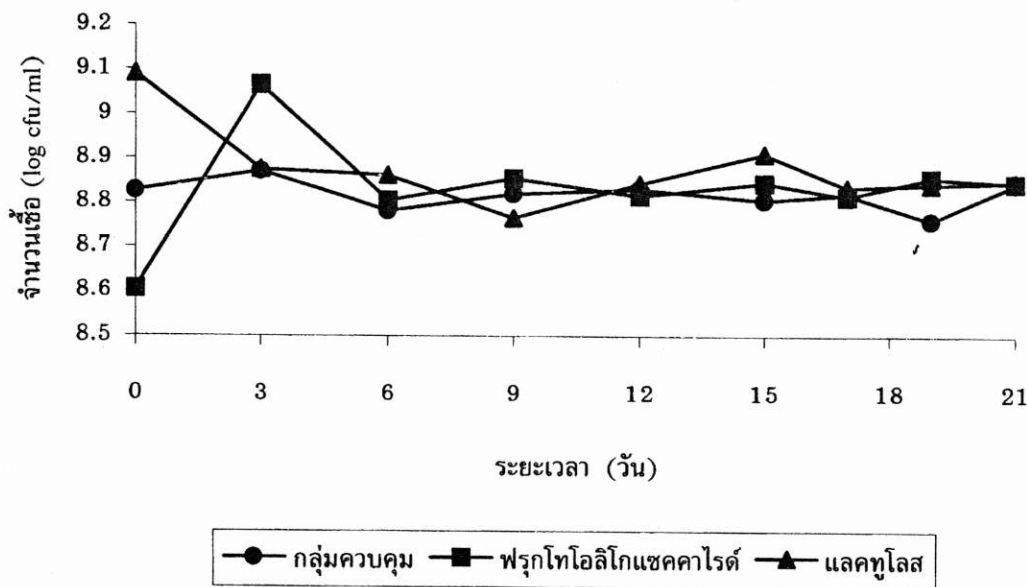
ชนิดของภาชนะบรรจุ	จำนวนเชื้อ <i>L. acidophilus</i> ในน้ำผลไม้ (log cfu/ml)	
	น้ำมะเขือเทศ	น้ำสับปะรด
ขวดเพท (PET)	9.17 ^a ±0.00	8.92 ^a ±0.29
ขวดขาวขุ่น (HDPE)	9.12 ^a ±0.17	9.01 ^a ±0.07

a, b.. ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4. ผลของพรีไบโอติกที่มีต่อการเหลือรอดชีวิตของเชื้อ *L. acidophilus* ในน้ำมะเชื้อเทศโพรไบโอติกในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °ซ

การศึกษาผลของการเติมพรีไบโอติกที่มีต่อการเหลือรอดชีวิตของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกในน้ำผลไม้โพรไบโอติกในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °ซ นั้นทำการศึกษาโดยนำผลการทดลองที่ได้จากการทดลองที่แล้ว มาพิจารณาหาสถานะในการศึกษาซึ่งพบว่าน้ำผลไม้ที่มีปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* เหลือรอดชีวิตในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °ซ สูงสุดคือ น้ำมะเชื้อเทศ ดังนั้นจึงนำน้ำมะเชื้อเทศมาทำการศึกษาผลของพรีไบโอติก จากการทดลองพบว่า การเปลี่ยนแปลงจำนวนเชื้อ *L. acidophilus* ในน้ำมะเชื้อเทศโพรไบโอติกกลุ่มควบคุม น้ำมะเชื้อเทศโพรไบโอติกที่เติมฟรุทโทโอลิโกแซคคาไรด์ 1% และ น้ำมะเชื้อเทศโพรไบโอติกที่เติมแลคทูโลส 1% ในระหว่างการเก็บรักษาที่ อุณหภูมิ 5 °ซ เป็นเวลา 21 วัน พบว่าจำนวนเชื้อ *L. acidophilus* มีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยในระหว่างการเก็บรักษา (ผลการทดลองดังภาพที่ 3) และเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของจำนวนเชื้อ *L. acidophilus* ที่เหลือรอดชีวิตในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 3 ซึ่งพบว่าน้ำมะเชื้อเทศโพรไบโอติกกลุ่มควบคุม และ น้ำมะเชื้อเทศโพรไบโอติกที่เติมพรีไบโอติกต่างชนิดกัน คือ ฟรุทโทโอลิโกแซคคาไรด์ 1% และแลคทูโลส 1% มีจำนวนเชื้อ *L. acidophilus* เหลือรอดชีวิตในน้ำมะเชื้อเทศโพรไบโอติกแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยพบว่าปริมาณเชื้อที่เหลือรอดชีวิต เท่ากับ 8.841

8.843 และ 8.846 log cfu/ml ตามลำดับ คล้ายกับการทดลองของ Saarela et al. (2003) ซึ่งได้ศึกษาผลของแลคทูโลสที่มีต่อการเหลือรอดชีวิตของเชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus rhamnosus* , *L. salivarius* และ *L. paracasei* โดยถ่ายเซลล์แบคทีเรีย (fresh cell) ลงในน้ำนมและน้ำนมที่เติมแลคทูโลส 1% หลังจากนั้นนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °ซ เป็นเวลา 22 วัน พบว่าแลคทูโลส 1% ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *lactobacillus* ที่นำมาศึกษาในระหว่างการเก็บรักษาในสถานะเย็น และพบว่า การเติมฟรุทโทโอลิโกแซคคาไรด์ในทางนม (skim milk) ซึ่งใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ (growth medium) อาจต้องใช้ปริมาณสูงถึง 5% จึงจะช่วยเพิ่มการเหลือรอดชีวิตเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Desai et al. (2004) ซึ่งได้ศึกษาผลของ พรีไบโอติก ได้แก่ แลคทูโลสและราฟทิโลส (raffinose) ที่ระดับความเข้มข้น 5% ต่อการเหลือรอดชีวิตของเชื้อแบคทีเรีย *lactobacillus* ในทางนม (reconstituted skim milk) ในระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิประมาณ 4 °ซ เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าการใช้แลคทูโลส และราฟทิโลส ที่ระดับความเข้มข้น 5 % มีผลทำให้เปอร์เซ็นต์การเหลือรอดชีวิตของเชื้อในระหว่างการเก็บในสถานะเย็นมีความแตกต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าการใช้ปริมาณของ ฟรุทโทโอลิโกแซคคาไรด์ และแลคทูโลส ในปริมาณที่สูง (ในการทดลองนี้ใช้ 1%) อาจจะมีผลต่อความคงตัวหรือการเหลือรอดชีวิตของแบคทีเรีย *L. acidophilus* ในน้ำมะเชื้อเทศที่ทำการศึกษา



ภาพที่ 3 การเปลี่ยนแปลงจำนวนเชื้อ *L. acidophilus* ในน้ำมะเชื้อเทคโพรไบโอติก เมื่อทำการเติมพรีไบโอติกชนิดต่างกัน ที่ระยะเวลา 0, 3, 6, 9, 12, 15, 17, 19 และ 21 วัน ในระหว่างการเก็บรักษาที่ อุณหภูมิ 5 °ซ

ตารางที่ 3 แสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของจำนวนเชื้อ *L. acidophilus* ในน้ำมะเชื้อเทคโพรไบโอติกเมื่อทำการเติมพรีไบโอติกต่างชนิดกัน ในวันที่ 21 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °ซ

ชนิดของพรีไบโอติก	จำนวนเชื้อ <i>L. acidophilus</i> (log cfu/ml)
กลุ่มควบคุม	8.841 ^a $\pm$ 0.04
ฟรุทโทโอลิโกแซคคาไรด์ 1%	8.843 ^a $\pm$ 0.01
แลคทูโลส 1 %	8.846 ^a $\pm$ 0.06

a, b.. ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

สรุปผลการวิจัย

การศึกษากราฟการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก *Lactobacillus acidophilus* TISTR No. 450 และ *L. delbrueckii* subsp. *lactis* TISTR No.785 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MRS โดยทำการบ่มเชื้อที่ 37 °ซ พบว่าเชื้อแบคทีเรียจะเริ่มเข้าสู่ช่วง Stationary phase ประมาณชั่วโมงที่ 24 ของการเพาะเลี้ยงเชื้อ ส่วนการเหลือรอดชีวิตของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกที่นำมาทำการศึกษา คือ *L. acidophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *lactis* และเชื้อผสมระหว่าง

L. acidophilus กับ *L. delbrueckii* subsp. *lactis* พบว่าสามารถเหลือรอดชีวิตอยู่ได้ใน น้ำส้ม น้ำสับปะรด และน้ำมะเชื้อเทค ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และในระหว่างการเก็บรักษาน้ำผลไม้โพรไบโอติกพบว่าจำนวนเชื้อมีแนวโน้มลดลงเล็กน้อยเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มมากขึ้น โดยในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา พบว่าน้ำสับปะรดและน้ำมะเชื้อเทคที่เติมเชื้อ *L. acidophilus* และน้ำมะเชื้อเทคที่เติมเชื้อผสมระหว่าง *L. acidophilus* กับ *L. delbrueckii* subsp. *lactis*

มีจำนวนเชื้อที่เหลือรอดชีวิตสูงที่สุดและไม่แตกต่างกันทางสถิติซึ่งเท่ากับ 9.04 9.15 และ 8.95 log cfu/ml สำหรับน้ำผลไม้โพรไบโอติก ชนิดอื่นๆพบว่าจำนวนเชื้อประมาณ 8 log cfu/ml ซึ่งเป็นจำนวนมากกว่าระดับที่กำหนดให้เป็นระดับที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย (Therapeutic Dose) โดยเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกต้องเหลือรอดชีวิตอย่างน้อย 1×10^5 cfu/ml หรือ 5 log cfu/ml ยกเว้นการเหลือรอดชีวิตของเชื้อ *L. delbrueckii* subsp. *lactis* ในน้ำส้มที่มีจำนวนเชื้อที่เหลือรอดชีวิตเท่ากับ 2.16 log cfu/ml ส่วนการศึกษาผลของชนิดภาชนะบรรจุที่มีต่อการเหลือรอดชีวิตของเชื้อ *L. acidophilus* ในน้ำสับปะรดและน้ำมะเขือเทศโพรไบโอติก ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °C พบว่าชนิดของภาชนะบรรจุคือ ขวดเพท (PET) และขวดขาวขุ่น (HDPE) มีผลต่อการเหลือรอดชีวิตของเชื้อ *L. acidophilus* ในน้ำสับปะรดและน้ำมะเขือเทศ ในวันที่ 21 ของการเก็บรักษาอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 สำหรับการศึกษาผลของ โพรไบโอติกที่มีต่อการเหลือรอดชีวิตของเชื้อ *L. acidophilus* ในน้ำมะเขือเทศโพรไบโอติกในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °C พบว่าน้ำมะเขือเทศกลุ่มควบคุม น้ำมะเขือเทศที่เติมฟรุกโทโอลิโกแซคคาไรด์ 1% และน้ำมะเขือเทศที่เติมแลคทูโลส 1% มีจำนวนเชื้อ *L. acidophilus* เหลือรอดชีวิต ในวันที่ 21 ของการเก็บรักษาแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ข้อเสนอแนะ

จากผลการวิจัยมีความเป็นไปได้ที่จะพัฒนา น้ำผลไม้โพรไบโอติกในระดับอุตสาหกรรมและเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกเป็นแบคทีเรียที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพจึงเป็นที่น่าสนใจที่จะนำมาพัฒนาให้เกิดผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพที่มีส่วนผสมของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกได้อีกหลายชนิด เช่น ผลิตภัณฑ์ประเภทธัญพืช เช่น Cereal bar ผลิตภัณฑ์เนื้อหมักชนิดต่างๆ เช่น แหนม ไส้กรอกเปรี้ยว เป็นต้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณบัณฑิตวิทยาลัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ทุนสนับสนุนในงานวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

- ดวงพร คันธโชติ. 2545. นิเวศวิทยาของจุลินทรีย์. กรุงเทพฯ: โอเดียนสโตร์.
- นิธิยา รัตนานนท์. 2545. เคมีอาหาร. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์.
- สุเมธทา วัฒนสินธุ์. 2545. จุลชีววิทยาทางอาหาร. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.
- Analie, L.H., and Viljoen, B. C., 2001. Yogurt as probiotic carrier food. International Dairy Journal. 11: 1-17
- Dave R. I., and Shah, N. P. 1996. Evaluation of Media for Selective Enumeration of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, and *Bifidobacteria*. Journal Dairy Science. 79:1529-1536.
- Desai, A. R., Powellet, I. B., and Shah, N. P. 2004. Survival and activity of probiotic lactobacilli in skim milk containing prebiotics. Journal of Food Science. 69(3): 57-60.
- Fennema, O.R.1996. Food Chemistry. New York: Marcel Dekker Inc.
- Fooks, L.J., Fuller, R., and Gibson, G.R. 1999. Prebiotics, Probiotics and human gut microbiology. International Dairy Journal. 9: 53-61.
- Fuller, R. 1992. Probiotics. The Scientific Basis. London UK: Chapman & Hall.

- Gibson, G. R., and Roberfroid, M. B. 1995. Dietary Modulation of the human Colonic Microbiota : Introducing the concept of prebiotics. American Institute of Nutrition. 125: 1404-1412.
- Gibson, G. R., Ottaway, P. B., and Radstall, R. A. 2000. Prebiotic new development in functional food. London: Chardwick House.
- Holzapfel, W.H., and Schillinger, U. 2002. Introduction to pre- and probiotics. Food Research International. 35: 109-116.
- Lee, Y. K., and Salminen, S. 1995. The coming of age of probiotics. Trends in Food Science and Technology. 6: 241-245.
- Mattila-Sandholm, T., Myllarinen, P., Crittenden, R., Mogensen, G., Fonden, R., and Saarela, M. 2002. Technological challenges for future probiotic foods. International Dairy Journal. 12:173-182.
- Nighswonger, B. D., Brashears, M. M., and Gilliland, S. E. 1996. Viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* in fermented milk products during refrigerated storage. Journal Dairy Science. 79: 212-219.
- Saarela, M., Mogensen, G., Fonden, R., Matto, J., and Mattila-Sandholm, T. 2000. Probiotic bacteria : safety, functional and technological properties. Journal of Biotechnology. 84:197-215.
- Saarela, M., Hallamaa, K., Mattila-Sandholm, T., and Matto, J. 2003. The effect of lactos derivatives lactulose, lactitol and lactobionic acid on the function and technological properties of potentially probiotic *Lactobacillus* strains. International Dairy Journal. 13: 291-302.
- Shah, N. P., Lankaputhra, W. E., Britz, M. L., and Kyle, W.S. 1995. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in commercial yoghurt during refrigerated. International Dairy Journal. 5 : 515-521.
- Vinderola, C. G., Costa, G. A., Regenhart, S., and Reinheimer, J. A. 2002. Influence of compounds associated with fermented dairy products on the growth of lactic acid starter and probiotic bacteria. International Dairy Journal. 12: 579-589.
- Walker, W.A., and Duffy, L.C. 1998. Diet and bacterial colonization : Role of probiotics and prebiotics. J. Nutr. Biochem. 9:668-675.