

การประยุกต์ใช้การตรึงเซลล์โพรไบโอติกด้วยเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชันใน ผลิตภัณฑ์น้ำเสาวรส

Application of Probiotic Immobilization with Microencapsulated technique in Passion fruit Juice

กานต์ แยมพงษ์¹ และ รุ่งนภา สำนูนดี²

Karn Yaempongsa and Roongnapa Sanundee

บทคัดย่อ

การศึกษาการประยุกต์ใช้การตรึงเซลล์โพรไบโอติกด้วยเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชัน โดยทำการศึกษาการตรึง *Lactobacillus casei* TISTR 1463 ผ่านเยื่อหุ้มแบบกึ่งเลือกผ่านที่สร้างจากโซเดียมอัลจิเนต-อินนูลิน-แซนแทนกัม ทำการเปรียบเทียบกับ *L. casei* TISTR 1463 ที่ไม่ผ่านการตรึงเซลล์ในอาหารเหลว MRS และผลิตภัณฑ์น้ำเสาวรส ที่ผ่านการเก็บรักษาด้วยอุณหภูมิ 4 °C เป็นระยะเวลา 30 วัน โดยทำการเติมเซลล์แขวนลอยปริมาณตั้งต้นที่ $9.91 \log_{10} \text{cfu/ml}$ พบว่าปริมาณของ *L. casei* TISTR 1463 ที่ผ่านการตรึงเซลล์มีปริมาณเซลล์เหลือรอดมากที่สุดอยู่ที่ $10.76 \log_{10} \text{cfu/ml}$ ในวันที่ 30 รองลงมาคือเซลล์ที่ผ่านการตรึงในผลิตภัณฑ์น้ำเสาวรส เซลล์อิสระในอาหาร MRS และเซลล์อิสระในผลิตภัณฑ์น้ำเสาวรส มีปริมาณ 9.80 9.52 และ $8.79 \log_{10} \text{cfu/ml}$ ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณเซลล์พบว่าเซลล์ที่ถูกตรึงจะมีปริมาณมากกว่าเซลล์อิสระประมาณ $1 \log_{10} \text{cfu/ml}$ ทั้งในอาหาร MRS และผลิตภัณฑ์น้ำเสาวรส การศึกษาคุณสมบัติทางด้านเคมีพบว่าค่า pH ของตัวอย่างที่ทำการศึกษาจะลดลงตามระยะเวลาที่เก็บรักษา ขณะที่ปริมาณร้อยละของกรดทั้งหมดในรูปของแลกติกจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่เก็บรักษา โดยตัวอย่างทดสอบในอาหาร MRS จะมีการเปลี่ยนแปลงค่า pH และปริมาณร้อยละของกรดทั้งหมดในรูปของแลกติก มากกว่าในตัวอย่างทดสอบผลิตภัณฑ์น้ำเสาวรส

คำสำคัญ : การตรึงเซลล์, น้ำเสาวรส, โพรไบโอติก, ไมโครเอนแคปซูเลชัน

Abstract

The studied of probiotic immobilization with microencapsulated technique used *Lactobacillus casei* TISTR 1463 as probiotic bacteria that immobilized with semipermeable membrane created from sodium alginate-inulin-xanthan gum in MRS broth and passion fruit juice, stored at 4°C for 30 days. The initial loaded of *L. casei* TISTR 1463 was $9.91 \log_{10} \text{cfu/ml}$. In the last day of stored found immobilized cell in MRS broth was the highest volumes of *L. casei* TISTR 1463 was $10.76 \log_{10} \text{cfu/ml}$, the later were immobilized cell in passion fruit juice, free living in MRS broth and free living cell in passion fruit juice were 9.80 9.52 and

¹ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ yaempongsa_karn@hotmail.com 056-717120 # 2710

² คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ roong_p@hotmail.com 056-717120 # 1410

8.79 log₁₀cfu/ml respectively. The competition of immobilized and free living cell showed the immobilized cells were higher volumes of *L. casei* TISTR 1463 than free living cell for 1 log₁₀cfu/ml all of MRS broth and passion fruit juice. The chemical properties found the pH were decreased for during stored period while the total acidity as lactic acid were increased, especially in MRS broth was apparently than passion fruit juice.

Keywords : cell immobilization, passion fruit juice, probiotic, microencapsulation.

บทนำ

โพรไบโอติก (Probiotic) คือจุลินทรีย์ที่มีชีวิตซึ่งมีประโยชน์ต่อร่างกาย ซึ่งเมื่อบริโภคเข้าไปแล้วก่อให้เกิดผลดีต่อผู้บริโภค โดยจะช่วยควบคุมสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ (Fuller, 1992) และยังป้องกันความผิดปกติในระบบทางเดินอาหาร ช่วยลดผลข้างเคียงจากยาปฏิชีวนะที่มีต่อลำไส้ ช่วยป้องกันโรคลำไส้อักเสบ กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันและลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด (Gibson and Roberfroid, 1995; Walker and Duffy, 1998; Coakley et al., 2003) ปัจจุบันโพรไบโอติกเป็นที่ยอมรับอย่างกว้างขวางในบทบาทของอาหารส่งเสริมสุขภาพ ซึ่งมีความสำคัญต่อการพัฒนาอาหารเพื่อสุขภาพในหลายประเทศซึ่งโดยมากแล้วจะพบในผลิตภัณฑ์นมหมัก เช่น โยเกิร์ต (Fook et al., 1999) ซึ่งแนวโน้มการพัฒนาผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกนั้นไม่ได้หยุดเพียงผลิตภัณฑ์นมหมักแต่ยังสามารถนำไปใช้กับผลิตภัณฑ์อื่นๆ เช่น เนื้อหมัก น้ำสลัด น้ำผลไม้ (Holzapfel and Schillinger, 2002) เนื่องจากยังมีผู้บริโภคบางกลุ่มนั้นพบว่ามีปัญหาการย่อยน้ำตาลแลคโตสซึ่งส่งผลให้ไม่สามารถบริโภคผลิตภัณฑ์นมที่มีปริมาณคอเลสเตอรอลได้ ดังนั้นผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้ที่มีโพรไบโอติกจึงนับว่าเป็นทางเลือกใหม่สำหรับผู้บริโภคที่ไม่สามารถบริโภคผลิตภัณฑ์นมได้ เนื่องจากน้ำผลไม้เป็นเครื่องดื่มที่ดื่มได้ทุกเพศทุกวัย นอกจากนี้ยังมีคุณค่าทางโภชนาการเพราะมีส่วนผสมของเกลือแร่และวิตามิน สารต้านอนุมูลอิสระ และไม่มีสารก่อให้เกิดภูมิแพ้ ทำให้มีเหมาะสมที่จะนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมโพรไบโอติกเพื่อสุขภาพ อย่างไรก็ตามแบบที่เรียโพรไบโอติกนั้นจะพบน้อยมากถ้าไม่ใช่ในผลิตภัณฑ์นม ดังนั้นการนำไปใช้กับผลิตภัณฑ์อื่นจึงจำเป็นต้องคำนึงการรอดชีวิตของโพรไบโอติก

เสาวรสนั้นเป็นพืชที่สามารถสามารถปลูกได้ในพื้นที่ราบและพื้นที่สูงซึ่งในจังหวัดเพชรบูรณ์ โดยเฉพาะบริเวณอำเภอเขาค้อที่เป็นแหล่งผลิตเสาวรสแหล่งใหญ่ของประเทศ เสาวรสมีวิตามินเอสูง ช่วยรักษาอาการนอนไม่หลับ โรคกระเพาะปัสสาวะอักเสบ ลดอาการเจ็บคอ สร้างภูมิคุ้มกันโรค กำจัดสารพิษในเลือด บำรุงผิวพรรณ และช่วยฟื้นฟูตับและไตที่อ่อนแอ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจที่จะทำการศึกษาศึกษาการตรึงเซลล์โพรไบโอติกเพื่อใช้ในผลิตภัณฑ์น้ำเสาวรสเสริมโพรไบโอติก โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการเหลือรอดชีวิตของแบบที่เรียโพรไบโอติกในน้ำเสาวรส โดยปรับปรุงการอยู่รอดของเซลล์โพรไบโอติกด้วยการประยุกต์ใช้การตรึงเซลล์ด้วยเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชัน

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาการรอดชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ผ่านและไม่ผ่านการตรึงเซลล์ด้วยโซเดียมอัลจินต-อินนูลิน-แซนแทนกัม ในอาหาร MRS broth
2. เพื่อศึกษาการรอดชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ผ่านและไม่ผ่านการตรึงเซลล์ด้วยโซเดียมอัลจินต-อินนูลิน-แซนแทนกัม ในน้ำเสาวรส

วิธีการดำเนินงานวิจัย

การเตรียมเชื้อ ลักโตบาซิลลัส

ลักโตบาซิลลัสที่ใช้ในการศึกษา คือ *Lactobacillus casei* TISTR 1463 ได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทยโดย *L. casei* TISTR 1463 นำมาเลี้ยงด้วยอาหาร MRS broth ในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

การเตรียมเซลล์แขวนลอย

การเตรียมเซลล์แขวนลอยของ *L. casei* TISTR 1463 โดยใช้เซลล์ที่เพาะเลี้ยงข้างต้นปริมาณ 10% ใน MRS broth ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปเลี้ยงในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 37°C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 20 นาที ทำการล้างเซลล์ 2 ครั้งด้วย sterile phosphate buffered saline ปริมาตร 100 มิลลิลิตร 2 ครั้ง จากนั้นทำการปรับปริมาตรเพื่อใช้เป็นเซลล์แขวนลอย

การตรึงเซลล์ทำการตรึงเซลล์โดยประยุกต์จากวิธีของ Cortón et al. (2000) และ De Giulio et al. (2005) โดยเตรียมน้ำเซลล์แขวนลอย ผสมสารละลาย Sodium alginate 2.0% Glycerol 5.0% Xanthan gum 0.15% Inulin 0.1% และ Tween 80 0.1% ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (สารละลายผสมและเซลล์แขวนลอย ในอัตราส่วน 2 ต่อ 1) จากนั้นหยดสารผสมลงในสารละลาย 0.05M CaCl₂ บ่มเม็ดเจลที่ได้ในสารละลาย 0.05M CaCl₂ นาน 2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง (25 ± 3°C) จากนั้นกรองเม็ดเจลที่ได้ผ่านตะแกรง ล้างเม็ดเจลด้วย 0.85% NaCl ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ทั้งไว้ประมาณ 10 นาที

การศึกษาการรอดชีวิตของเซลล์แขวนลอย *L. casei* TISTR 1463 ที่ผ่านและไม่ผ่านการตรึงเซลล์ในอาหาร MRS broth และผลิตภัณฑ์น้ำเสาวรส ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C เป็น 7 วัน

นำเซลล์แขวนลอย *L. casei* TISTR 1463 ที่ผ่านการตรึงเซลล์ในอาหาร MRS broth (Im-MRS) เซลล์แขวนลอยที่ไม่ผ่านการตรึงเซลล์ในอาหาร MRS broth (n-MRS) เซลล์แขวนลอยที่ผ่านการตรึงเซลล์ในน้ำเสาวรส (Im-FF) และเซลล์แขวนลอยที่ไม่ผ่านการตรึงเซลล์ในน้ำเสาวรส (n-FF) ไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 30 วัน ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างเพื่อทำการวิเคราะห์ผลการเปลี่ยนแปลงทุก 5 วัน โดยใช้เทคนิค pour plate ด้วยอาหาร MRS agar

ทำการศึกษากำหนดค่าไทเทรตได้ (Titratable acidity; TA) ใช้วิธีการจาก AOAC (1990) โดยนำตัวอย่างตัวอย่างละ 10 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ใช้สารละลาย phenolphthalein เป็นอินดิเคเตอร์ จำนวน 2-3 หยด จากนั้นนำมาไทเทรตกับสารละลาย 0.1N NaOH จนถึงจุดยุติ คำนวณปริมาตรกรดทั้งหมดในรูปของกรดแลกติก

ค่า pH ตามวิธี AOAC (1990) โดยนำตัวอย่างของเหลวแบ่งใส่บีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร จำนวน 3 บีกเกอร์ บีกเกอร์ละ 10 มิลลิลิตร นำของเหลวในบีกเกอร์ทั้ง 3 มาวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่อง pH Meter

การศึกษาคุณสมบัติทางจุลชีววิทยาทำการตรวจนับปริมาณ *L. casei* TISTR 1463 โดยใช้เทคนิค pour plate บนอาหาร MRS agar หลังจากนั้นไปเลี้ยงในตู้ควบคุมอุณหภูมิที่ 37°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลที่ได้จากการทดลองถูกนำมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

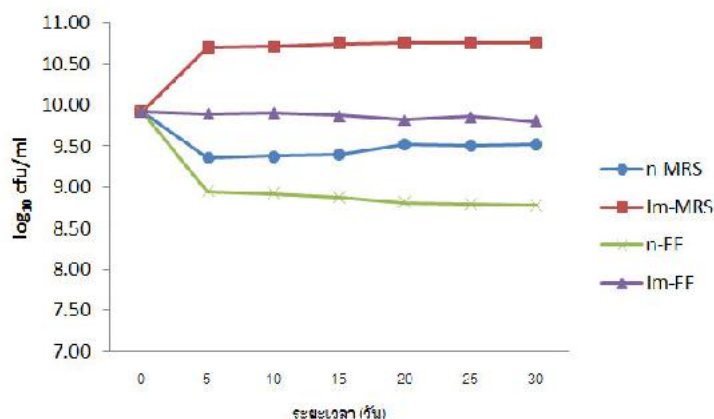
ผลการวิจัย

การเตรียมเซลล์แขวนลอย *Lactobacillus casei* TISTR 1463

การเตรียมเซลล์แขวนลอยของ *L. casei* TISTR 1463 โดยทำการกระตุ้น *L. casei* TISTR 1463 จากสภาพผงด้วยอาหาร MRS broth ทำการสร้างเซลล์แขวนลอยโดยเฉพาะเลี้ยง *L. casei* TISTR เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 °C จากนั้นทำการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000rpm ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 20 นาที พบว่าปริมาณ *L. casei* TISTR 1463 อยู่ที่ $9.91 \pm 0.01 \log_{10} \text{cfu/ml}$

การเปรียบเทียบการอยู่รอดของ *L. casei* TISTR 1463 ที่ผ่านและไม่ผ่านการตรึงเซลล์ในอาหาร MRS broth และผลิตภัณฑ์น้ำเสารส

จากการศึกษาปริมาณการรอดชีวิตของ *L. casei* TISTR 1463 ที่ผ่านการตรึงเซลล์ (Im-MRS) และไม่ผ่านการตรึงเซลล์ (n-MRS) ในอาหาร MRS broth ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 30 วัน ทำการสุ่มตรวจตัวอย่างทุก 5 วัน แสดงผลดัง ภาพที่ 1 พบว่าเมื่อเก็บรักษาผ่านระยะเวลา 5 วันปริมาณของ *L. casei* TISTR 1463 ใน n-MRS จะปรับตัวลดลงเหลือ $9.36 \pm 0.02 \log_{10} \text{cfu/ml}$ หลังจากนั้นจะมีปริมาณที่คงที่ซึ่งไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยมีปริมาณอยู่ในช่วง $9.45 \log_{10} \text{cfu/ml}$ สำหรับ Im-MRS นั้นปริมาณของ *L. casei* TISTR 1463 จะเพิ่มมากขึ้นโดยจะเพิ่มมากขึ้นในระยะเวลา 5 วันแรก ($p > 0.05$) ซึ่ง จะเพิ่มขึ้นไปอยู่ที่ $10.70 \pm 0.04 \log_{10} \text{cfu/ml}$ หลังจากนั้นปริมาณจะค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง $10.73 \log_{10} \text{cfu/ml}$ จากการศึกษาพบว่าเซลล์ *L. casei* TISTR 1463 ที่ผ่านและไม่ผ่านการตรึงเซลล์นั้นจะมีการเปลี่ยนแปลงปริมาณอย่างเห็นได้ชัดในช่วง 5 วันแรกของการทดสอบ



ภาพที่ 1 ปริมาณ *L. casei* TISTR 1463 ในตัวอย่างทดลองระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 30 วัน

ปริมาณการรอดชีวิตของ *L. casei* TISTR 1463 ที่ผ่านการตรึงเซลล์ (Im-FF) และไม่ผ่านการตรึงเซลล์ (n-FF) ในน้ำเสาวรสบว่าปริมาณของ *L. casei* TISTR 1463 ใน n-FF ปริมาณลดลงอย่างชัดเจน (ภาพที่ 1) โดยมีปริมาณเซลล์รอดชีวิตเหลืออยู่ที่ $8.95 \pm 0.06 \log_{10} \text{cfu/ml}$ หลังจากนั้นปริมาณจะค่อนข้างคงที่ ($p < 0.05$) โดยอยู่ในช่วง $8.86 \log_{10} \text{cfu/ml}$ สำหรับ Im-FF นั้นปริมาณของ *L. casei* TISTR 1463 อยู่ในระดับคงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา โดยอยู่ในช่วง $9.86 \log_{10} \text{cfu/ml}$ ($p < 0.05$)

จากผลการศึกษาการอยู่รอดของเซลล์ที่ผ่านและไม่ผ่านการตรึงเซลล์พบว่ามีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Chandramouli และคณะ (2004) และ งานวิจัยของ Ding และ Shah (2008) ที่กล่าวถึงประสิทธิภาพของการตรึงเซลล์ จะสามารถทำให้เซลล์สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดีกว่าเซลล์อิสระ

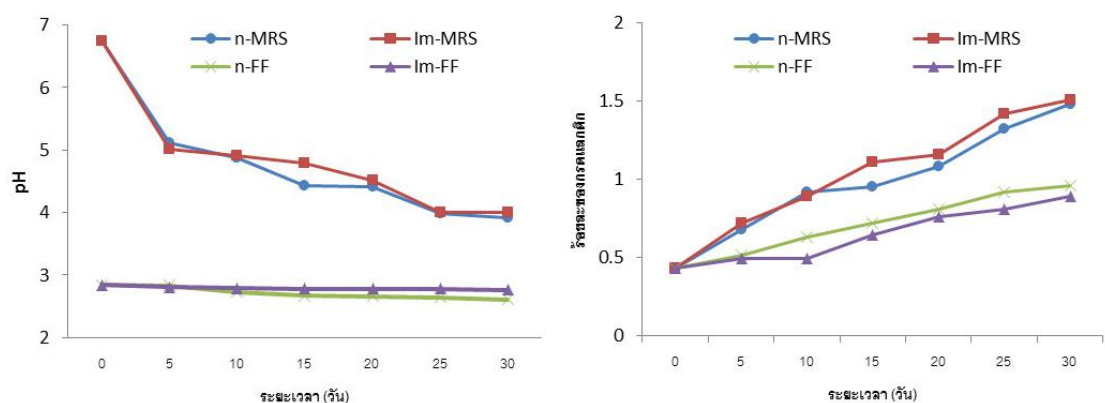
เมื่อเปรียบเทียบปริมาณของ *L. casei* TISTR 1463 ในทุกตัวอย่างทดสอบพบว่าเซลล์ที่ไม่ผ่านการตรึงเซลล์ (n-MRS และ n-FF) มีการปรับลดปริมาณลงจากเซลล์ตั้งต้นหลังจากนั้นจะมีปริมาณคงที่ ขณะที่เซลล์ที่ผ่านการตรึงเซลล์ (Im-MRS และ Im-FF) นั้นจะคงปริมาณอยู่ในสภาพแวดล้อมใหม่ได้ดีกว่า ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของสวรยา (2550) และ Ding and Shah (2008) ที่ทำการศึกษการรอดชีวิตของเซลล์โพรไบโอติกที่ผ่านและไม่ผ่านการตรึงเซลล์ ซึ่งรายงานผลว่าเซลล์ที่ผ่านการตรึงนั้นจะสามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดีกว่าเซลล์อิสระและเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการศึกษา แสดงให้เห็นว่าปริมาณ *L. casei* TISTR 1463 ที่ผ่านการตรึงเซลล์นั้นมีอยู่ที่ $6.3 \times 10^6 \text{cfu/ml}$ ซึ่งมากกว่า 10^6cfu/ml จัดว่าอยู่ในระดับที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย โดยสอดคล้องกับรายงานของภคมน และคณะ (2542) ได้ทำการศึกษาโพรไบโอติก *L. acidophilus* ทนความร้อนเพื่อนำไปเป็นสารเสริมชีวภาพสำหรับอาหารสัตว์อัดเม็ดด้วยเทคนิคเอนแคปซูเลชันด้วยไคโตแซนผสมกับอัลจินेट หลังผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 2 เดือน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสพบว่าจำนวนเซลล์ยังหลงเหลือเพียงพอต่อการเกิดประโยชน์

ค่า pH ในอาหาร MRS (Im-MRS และ n-MRS) มีการเปลี่ยนแปลงค่า pH ดังภาพที่ 2 (ซ้าย) พบว่า pH ของอาหาร MRS broth มีแนวโน้มที่จะลดลง เมื่อเปรียบเทียบพบว่าค่า pH ในแต่ละตัวอย่างการทดลองมีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยค่า pH ของ n-MRS ลดลง 2.82 และ Im-MRS ลดลง 2.74 ระหว่างการศึกษา การเปลี่ยนแปลงของ pH เป็นผลจากที่ *L. casei* ทำการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคส (glucose) ให้

กลายเป็นกรดแลกติก ทำให้ปริมาณกรดแลกติกเพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษา และส่งผลให้ค่า pH ลดลง (Saloff-Coste, 1995) และค่า pH ที่ลดลงมีความสอดคล้องกับปริมาณร้อยละของกรดแลกติกที่ได้จากการศึกษาโดยพบว่า ค่าร้อยละของปริมาณกรดทั้งหมด (แลกติก) จะมีปริมาณที่เพิ่มขึ้นดังแสดงในภาพที่ 2 ขวา โดยไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ของปริมาณกรดแลกติกระหว่าง n-MRS และ Im-MRS ซึ่งผลการศึกษาเป็นไปในทิศทางเดียวกับการเปลี่ยนแปลงของค่า pH และปริมาณร้อยละของกรด ของภกมน และคณะ (2542)

ค่า pH ในน้ำสเวรส (Im-FF และ n-FF) ระหว่างการเก็บรักษา มีการเปลี่ยนแปลงดังภาพที่ 2 (ซ้าย) พบว่ามีแนวโน้มที่ลดลง โดยไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ระหว่าง Im-FF และ n-FF เมื่อเปรียบเทียบพบว่าค่า pH มีการเปลี่ยนแปลงที่น้อยมาก เนื่องจาก pH เริ่มต้นของน้ำสเวรสมีค่า pH เท่ากับ 2.8 ซึ่งมีความเป็นกรดสูง ซึ่งเป็นสภาพที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของ *L. casei* TISTR 1463 ที่จะเจริญได้ดีในช่วง pH 5.5 ดังนั้นเมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาปริมาณร้อยละกรดทั้งหมดในรูปของกรดแลกติก (ภาพที่ 2 ขวา) จะพบว่าปริมาณร้อยละกรดทั้งหมด (แลกติก) จะมีปริมาณที่น้อยมาก และมีการปรับเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น โดยในผลิตภัณฑ์น้ำสเวรสจะมีปริมาณร้อยละกรดทั้งหมด (แลกติก) เริ่มต้นอยู่ที่ร้อยละ 0.43 และจะปรับตัวเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ จากระยะเวลาการเก็บรักษา เนื่องจากเป็นผลจากการใช้น้ำตาลในการหมักของ *L. casei* TISTR 1463 ที่จะสร้างกรดแลกติกเพิ่มขึ้น ทำให้ค่า pH และปริมาณกรดมีการเปลี่ยนแปลง

เมื่อพิจารณาการเปลี่ยนแปลงของค่า pH และปริมาณร้อยละของกรดทั้งหมด (แลกติก) จากทุกตัวอย่างทดสอบพบว่าค่า pH จะมีแนวโน้มที่ลดลง ส่งผลให้ปริมาณร้อยละของกรดทั้งหมด (แลกติก) มีปริมาณเพิ่มขึ้น เมื่อพิจารณาแยกตามชนิดของตัวอย่างจะพบว่าอาหาร MRS broth มี pH เริ่มต้น 6.74 ขณะที่น้ำสเวรสมี pH 2.84 เป็นผลให้ *L. casei* TISTR 1463 เจริญเติบโตได้ดีกว่า เนื่องจากเป็นอาหารที่มีสภาวะที่เหมาะสมกว่า ทำให้ปริมาณกรดที่วัดได้มีปริมาณที่สูงกว่าในผลิตภัณฑ์น้ำสเวรสด้วย



ภาพที่ 2 ซ้ายค่า pH ของตัวอย่างทดลอง ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C ขวาค่าร้อยละของปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดแลกติกของตัวอย่างทดลอง ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 30 วัน

สรุปผลและวิจารณ์ผล

การรอดชีวิตของ *Lactobacillus casei*TISTR 1463 ที่ผ่านและไม่ผ่านการตรึงเซลล์ด้วยโซเดียมอัลจินต-อินนูลิน-แซนแทนกัม ในอาหาร MRS broth พบว่า *L.casei*TISTR 1463 ที่ผ่านการตรึงเซลล์มีปริมาณสูงกว่าเซลล์ที่ไม่ผ่านการตรึงเซลล์ โดยในวันที่ 30 เซลล์ที่ผ่านการตรึงจะมีปริมาณมากกว่า $1.24 \log_{10} \text{cfu/ml}$ โดยเซลล์จะมีการเปลี่ยนแปลงมากในช่วง 5 วันแรกของการศึกษา หลังจากนั้นจะมีปริมาณที่ค่อนข้างคงที่ เมื่อพิจารณาคุณสมบัติทางเคมีพบว่าค่า pH จะมีปริมาณลดลงระหว่างการศึกษา และแปรผันผกผันกับค่าร้อยละความเป็นกรด (แลกติก) ที่เพิ่มมากขึ้น

การรอดชีวิตของ *L.casei*TISTR 1463 ที่ผ่านและไม่ผ่านการตรึงเซลล์ ในผลิตภัณฑ์น้ำเสาวรพบพบว่า *L.casei*TISTR 1463 ที่ผ่านการตรึงเซลล์มีปริมาณสูงกว่าเซลล์ที่ไม่ผ่านการตรึงเซลล์ โดยในวันที่ 30 เซลล์ที่ผ่านการตรึงจะมีปริมาณมากกว่า $1.01 \log_{10} \text{cfu/ml}$ โดยเซลล์จะมีการเปลี่ยนแปลงเช่นเดียวกับการศึกษาในอาหาร MRS broth เช่นเดียวกับคุณสมบัติทางเคมี

เมื่อเปรียบเทียบการเปรียบเทียบการอยู่รอดของ *L.casei*TISTR 1463 ที่ผ่านการตรึงและไม่ผ่านการตรึงเซลล์ในอาหาร MRS broth และผลิตภัณฑ์น้ำเสาวรพบพบว่า *L.casei*TISTR 1463 จะสามารถเจริญเติบโตได้ดีกว่าในอาหาร MRS broth

ผลการศึกษาแสดงให้เห็นถึงความเป็นไปได้ในการตรึงเซลล์ผ่านโครงสร้างโซเดียมอัลจินต-อินนูลิน-แซนแทนกัมที่จะทำให้เซลล์ *L.casei*TISTR 1463 สามารถที่จะอยู่รอดได้ในผลิตภัณฑ์น้ำเสาวร ซึ่งมีค่าความเป็นกรดสูง โดยการตรึงเซลล์จะทำให้เซลล์สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมได้ ดังจะเห็นจากผลการศึกษาที่พบว่าปริมาณของ *L.casei*TISTR 1463 ที่ผ่านการตรึงเซลล์ในผลิตภัณฑ์น้ำเสาวรนั้นจะมีปริมาณคงที่ ต่างกับเซลล์อิสระที่ลดปริมาณลงถึง $1.12 \log_{10} \text{cfu/ml}$ ซึ่งปริมาณของ *L.casei*TISTR 1463 ที่ผ่านการตรึงเซลล์ในผลิตภัณฑ์น้ำเสาวรนั้นมีปริมาณมากกว่า 10^6cfu/ml โดยมีปริมาณในวันสุดท้ายของการทดลองถึง $6.3 \times 10^9 \text{cfu/ml}$ ซึ่งอยู่ในระดับที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย

ข้อเสนอแนะ

1. จากผลการศึกษาพบว่าช่วงที่เกิดการเปลี่ยนแปลงจะอยู่ในช่วงวันที่ 5 ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงเป็นอย่างมาก ดังนั้นถ้าต้องการศึกษาการเปลี่ยนแปลงในช่วง 5 วันแรกควรเพิ่มความถี่ในการเก็บผลเพื่อให้เห็นการเปลี่ยนแปลงที่ชัดเจน
2. ควรศึกษาอัตราการรอดชีวิตของโพรไบโอติกในระบบจำลองทางเดินอาหาร เพื่อพิจารณาอัตราการรอดชีวิตของเซลล์
3. ควรศึกษาการรอดชีวิตของโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้อื่นๆ โดยเฉพาะที่สินค้าที่มีมูลค่าของจังหวัดเพชรบูรณ์ เช่น น้ำมะขาม น้ำหม่อน
4. ควรมีการทดสอบทางประสาทสัมผัส เพื่อยืนยันการยอมรับจากผู้บริโภค

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สามารถดำเนินการได้ด้วยความช่วยเหลือจากสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ที่ได้เล็งเห็นความสำคัญของงานวิจัย และได้พิจารณามอบทุนอุดหนุนการวิจัยประเภททั่วไปให้กับผู้วิจัย ทำให้สามารถดำเนินการทำการวิจัยได้อย่างลุล่วงไปได้ด้วยดี ทั้งนี้ผู้วิจัยขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง และขอขอบคุณอาจารย์และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่านในหลักสูตรสาขาวิชาชีววิทยา รวมไปถึงผู้ช่วยวิจัย ที่คอยให้ความช่วยเหลือระหว่างการทำวิจัยจนงานเสร็จสมบูรณ์ได้

เอกสารอ้างอิง

- สุวรรณยา เม็งเกร็ด. (2550). การใช้เจลบุกพร้อมกับเพคตินเป็น สารเคลือบจุลินทรีย์โพรไบโอติกและการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตพร้อมดื่ม . วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัยสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- สมใจ สิริโกก. (2550). จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: สื่อเสริมกรุงเทพ.
- ภคมน จิตประเสริฐ นันทพร พึงสังวร อาภา สุเวชวัฒนกุล อารีวัลย์ วนาอุปถัมภ์กุล ณัฏฐารณพฤกษ์ และสุนีย์ นิธิสินประเสริฐ. (2542). โพรไบโอติก“*Lactobacillus*” ทนความร้อน: สารเสริมชีวภาพสำหรับอาหารสัตว์อัดเม็ด . [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : http://www.rdi.ku.ac.th/kasetresearch52/03-foods/pakamol/food_0_0.html. (วันที่ค้นข้อมูล 10 มิถุนายน 2555)
- Chandramouli, V., Kailasapathy, K., Peiris, P., and Jones, M.(2004).An improved method of microencapsulation and its evaluation to protect *Lactobacillus* spp. in simulated gastric conditions. Journal of Microbiological Methods. 56(1), 27 - 35.
- Coakley, M., Ross, R.P., Nordgren, Fitzgerald, G., Devery, R. and Stanton, C.(2003). Conjugated linoleic acid biosynthesis by humanderived *Bifidobacterium* species. Journal of Applied Microbiology. 94, 138–145.
- Cortón, E., Piuri, M., Battaglini, F. and Ruzal, S.M. (2000). Characterization of *Lactobacillus* Carbohydrate Fermentation Activity Using Immobilized Cell Technique. Biotechnology Progress. 16(1), 59–63.
- De Giulio, B., Orlando, P., Barba, G., Coppola, R., De Rosa, M., Sada, A., De Prisco, P.P. and Nazzaro, F. (2005). Use of alginate and cryo-protective sugars to improve the viability of lactic acid bacteria after freezing and freeze-drying. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 21, 739-746.
- Ding, W. K. and Shah, N. P. (2008). Survival of Free and Microencapsulated Probiotic Bacteria in Orange and Apple Juices. International Food Research Journal. 15(2), 219-232.
- Fook, J., Munford, R. and Sanders, J. (1999) Interviewing and Evaluating, Evaluation and Social Work Practice. 1sted. London: Sage.
- Fuller, R. (1992). Probiotics. 1sted. London: The Scientific Basis Chapman & Hall.
- Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B. (1995). Dietary modulation of the colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. Journal of Nutrition. 125, 1401–1412.

Holzapel, W.H. and Schillinger, U. (2002). **Introduction to preand probiotics**. Food Research International. 9, 109–116.

Saloff-Coste, C.J.(1995 January). *Lactobacillus casei*. DanoneNewsletter.7, 2-9

Walker, W. A., and Duffy, L. C.(1998). **Diet and bacterial colonization: role of probiotics and prebiotics**. The Journal of Nutritional Biochemistry.9, 668–675.