วารสารเกษตรพระจอมเกล้า 34 : 1 (36 - 47)

ผลของใยอาหาร และรีซิสแทนต์สตาร์ชสกัดจากเปลือกและเนื้อกล้วยดิบต่อการเจริญและการผลิตกรดไขมันสายสั้นของเชื้อ *Lactobacillus plantarum*

Effects of Dietary Fiber and Resistant Starch Extracted from Green Banana Peel and Pulp on Growth and Short Chain Fatty Acid Production of *Lactobacillus plantarum*

ผุสดี ตังวัชรินทร์ [1] สุชาติ สุขสถิตย์[2] และกานต์ สุขสุแพทย์[1]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของใยอาหารและรีซิสแทนต์สตาร์ชสกัดจากเปลือกกล้วยและเนื้อกล้วยไข่ดิบต่อการเจริญและการผลิตกรดไขมันสายสั้นของเชื้อ *Lactobacillus plantarum* TU2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MRS โดยทำการวิเคราะห์การเจริญ การผลิตกรดทั้งหมด กรดแลกติก กรดไขมันสายสั้น อะซิเตต โพรพิโอเนต และบิวทิเรตของเชื้อ *L. plantarum* TU2 พบว่า ใยอาหารและรีซิสแทนต์สตาร์ชส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียชนิดนี้ โดยเชื้อ *L. plantarum* TU2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว De Man, Rogosa and Sharpe (MRS) ที่มีการเสริมใยอาหารและรีซิสแทนต์สตาร์ช มีอัตราการเจริญมากกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$) โดยมีค่า 0.94±0.01 0.96±0.04 และ 0.63±0.01 log cfu/ชั่วโมง ตามลำดับ เช่นเดียวกันกับระยะเวลาหนึ่งชั่วอายุของทั้งสองกลุ่มมีระยะเวลาน้อยกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$) โดยมีค่า 0.73±0.01 0.72±0.03 และ 1.08±0.02 ชั่วโมง ตามลำดับ ยิ่งไปกว่านั้น การเสริมใยอาหารและรีซิสแทนต์สตาร์ช ยังทำให้เชื้อ *L. plantarum* TU2 สามารถผลิตกรดทั้งหมด กรดแลกติก และกรดไขมันสายสั้นโดยเฉพาะกรดอะซิเตต และบิวทิเรตเพิ่มมากขึ้น ($P<0.05$) ใยอาหารและรีซิสแทนต์สตาร์ชที่สกัดได้จากเปลือกและเนื้อกล้วยไข่ดิบมีสมบัติความเป็นพรีไบโอติกและสามารถการนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์หมัก

คำสำคัญ : ใยอาหาร รีซิสแทนต์สตาร์ช เชื้อ *Lactobacillus* กรดไขมันสายสั้น

Abstract

This study investigated the effects of dietary fiber and resistant starch extracted from green banana 'Kluay Khai' peel and pulp on growth and short chain fatty acid production of *Lactobacillus plantarum* TU2 in De Man, Rogosa and Sharpe (MRS) broth. The growth, total acid, lactic acid, short chain fatty acid, acetate, propionate and butyrate producing of *L. plantarum* TU2 were determined. The results showed that the growth of this bacterial strain was supported by dietary fiber and resistant starch. The growth rate of *L. plantarum* TU2 in MRS broth adding dietary fiber and resistant starch were higher than those of control group ($P<0.05$). There were 0.94±0.01, 0.96±0.04 and 0.63±0.01 log cfu/hr. Similarly, generation times of both groups were lower than those of control group ($P<0.05$). There were 0.73±0.01, 0.72±0.03 and 1.08±0.02 hr, respectively. Furthermore, addition of the dietary fiber and resistant starch to medium results in increased total acid, lactic acid and short chain fatty acid producing by *L. plantarum* TU2 ($P<0.05$), especially acetate and butyrate. The dietary fiber and resistant starch extracted from green banana 'Kluay Khai' peel and pulp have prebiotic property and their application in fermented meat products.

Keywords : dietary fiber, resistant starch, *Lactobacillus*, short chain fatty acid

[1] ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520

[2] คณะเทคโนโลยีและการพัฒนาชุมชน มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง อ.ป่าพะยอม จ.พัทลุง 93210

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

05 - [illegible].indd 36 23/3/2559 15:51:09

คำนำ

ปัจจุบันผู้บริโภคพยายามมองหาอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ปลอดภัย และส่งผลดีต่อสุขภาพ จึงเป็นที่มาของผลิตภัณฑ์อาหารฟังก์ชัน (functional food) ซึ่งเป็นอาหารที่มีผลต่อการทำหน้าที่ต่างๆ (function) ในร่างกาย ส่งผลดีต่อสุขภาพโดยมีบทบาทในการลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรค อวัยวะหรือระบบเป้าหมาย ได้แก่ ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ความดันโลหิต การเผาผลาญของไขมัน การต้านอนุมูลอิสระ และระบบการย่อยอาหาร ลำไส้ใหญ่เป็นอวัยวะเป้าหมายหนึ่งที่มีการศึกษากันมากในเรื่องของอาหารฟังก์ชัน องค์ประกอบของอาหารที่มีคุณสมบัติให้ผลดีต่อสุขภาพลำไส้ โดยเฉพาะ พรีไบโอติก ซึ่งเป็นส่วนของอาหารที่ไม่ถูกย่อยในทางเดินอาหาร มีผลทำให้กระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติกในลำไส้ใหญ่ เช่น แบคทีเรียกลุ่ม bifidobacteria และ lactobacilli โดยพรีไบโอติกจะพบมากในหัวหอม กล้วย กระเทียม อาร์ทิโชก ชิคอรี และหน่อไม้ฝรั่ง เป็นต้น (Bellisle *et al*., 1998)

พรีไบโอติกที่พบมากในกล้วย ได้แก่ ฟรุกแทนส์ (fructans) ซึ่งเป็นโพลีแซคคาไรด์ชนิดหนึ่ง ประกอบด้วยน้ำตาลฟรุคโตสที่เชื่อมต่อกันเป็นสายยาว จำนวน 2 ถึง 60 หน่วย (L'homme *et al*., 2001) จัดอยู่ในกลุ่มฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosaccharides; FOS) เป็นสารประกอบคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกย่อยสลายด้วยน้ำลายและเอนไซม์อะไมเลสจากตับอ่อน (Oku *et al*., 1984) แต่เป็นแหล่งอาหารที่สำคัญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกในลำไส้ใหญ่ ส่งผลให้เกิดสมดุลของระบบนิเวศจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร (Williams *et al*.,1994; Howard *et al*., 1995) นอกจากนี้การศึกษาการเจริญของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* BCC 13296 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว De Man, Rogosa and Sharpe (MRS) ที่มีการเติมโอลิโกแซคคาร์ไรด์ พบว่าการใช้โอลิโกแซคคาร์ไรด์สามารถเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียโพรไบโอติกชนิดนี้ได้ (Wichienchot *et al*., 2010) และเมื่อทำการเสริมฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ในอาหารหนู ความเข้มข้น 5% พบว่าอุจจาระหนูมีปริมาณกรดไขมันสายสั้น (short chain fatty acid) เพิ่มมากขึ้น โดยเฉพาะบิวทิเรต (butyrate) (Zdunczyk *et al*., 2005) เนื่องจากจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่จะย่อยสลายฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์เปลี่ยนเป็นกรดไขมันสายสั้น ได้แก่ อะซิเตต (acetate) โพรพิโอเนต (propionate) และบิวทิเรต (Howerstad *et al*., 1984) ซึ่งเป็นสารอาหารที่สำคัญของเซลล์ชั้นผิวของลำไส้ใหญ่ (colonocyte) ทำให้เยื่อบุผิวลำไส้ใหญ่แบ่งตัวเพิ่มขึ้น มีการกระตุ้นเลือดให้มาเลี้ยงเยื่อบุลำไส้มากขึ้น ทำให้ลำไส้ใหญ่สามารถดูดซึมน้ำและเกลือแร่ได้ดีขึ้น (Hoverstad and Bjorneklett, 1984) นอกจากนี้ยังกระตุ้นให้มีการหลั่งเมือกจากเยื่อบุลำไส้เพื่อเพิ่มความแข็งแรงของเยื่อบุลำไส้ ลดการเกิดการเคลื่อนย้ายของแบคทีเรียในลำไส้เข้าสู่กระแสเลือด (bacterial translocation) และกรดไขมันสายสั้นมีฤทธิ์ต้านการอักเสบ โดยเฉพาะบิวทิเรตจะช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดเนื้องอกที่ลำไส้ใหญ่ได้ (Forest *et al*., 2003)

กลุ่มแม่บ้านเกษตรกรของจังหวัดในภาคกลางและภาคใต้ของประเทศไทย เช่น จังหวัดกำแพงเพชร พัทลุง และนครศรีธรรมราช เป็นต้น ได้มีแปรรูปกล้วยไข่ดิบกรอบแก้ว เป็นสแน็คพื้นบ้านหลากรูปแบบจนเป็นสินค้ายอดนิยมประเภทหนึ่งตำบลหนึ่งผลิตภัณฑ์ ตลาดของกล้วยไข่แปรรูปขยายตัวเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ส่งผลทำให้เกษตรกรเพิ่มปริมาณการผลิตเพื่อตอบสนองความต้องการและตลาดที่เพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้ปริมาณเปลือกกล้วยดิบ ซึ่งเป็นของเหลือและของเสียที่เกิดจากการผลิตได้เพิ่มมากขึ้น ก่อให้เกิดปัญหาทางด้านสิ่งแวดล้อม จึงเป็นที่มาของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของใยอาหารและรีซิสแทนต์สตาร์ชที่สกัดแยกได้จากเปลือกและเนื้อกล้วยไข่ดิบต่อการเจริญและการผลิตกรดไขมันสายสั้นของเชื้อ *L. plantarum* TU2 เป็นการศึกษาข้อมูลพื้นฐานด้านความเป็นพรีไบโอติกของใยอาหารและรีซิสแทนต์สตาร์ชจากเปลือกและเนื้อกล้วยไข่ดิบ เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารหมักต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเก็บรวบรวมเปลือกและเนื้อกล้วยไข่ดิบ

เก็บรวบรวมเปลือกและเนื้อกล้วยไข่ดิบ (*Musa sapientum* Linn., AA group) จากการผลิตกล้วยเมืองลุงของกลุ่มเกษตรกรวิสาหกิจชุมชนบ้านลำสินธุ์ จังหวัดพัทลุง โดยกำหนดสีของเปลือกกล้วยไข่อยู่ในช่วงดัชนีของสีกล้วยเบอร์ 2-3 (SH Pratt's and Co) คือ สีเขียวอ่อน (green-trace of yellow) ถึงสีเขียวอมเหลือง (more green than yellow) (Caussiol, 2001) นำเปลือกกล้วยไข่แช่ในสารละลายโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ความเข้มข้น 0.05% (w/v) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที และผึ่งให้สะเด็ดน้ำแล้วซับด้วยผ้าแห้ง จากนั้นทำการหั่นเปลือกกล้วยไข่ดิบให้เป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาดประมาณ 1´1´0.2 ลูกบาศก์เซนติเมตร แล้วแช่ในสารละลายโพลีเอทิลีนไกลคอลความเข้มข้น 4.0 g/g ของสารประกอบฟีนอลในเปลือกกล้วยไข่ ปริมาณ 30 ml/g ของเปลือกกล้วยไข่ (จากผลการวิเคราะห์ในการศึกษาก่อนหน้า) เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำสะอาด ผึ่งและซับด้วยผ้าแห้ง แล้วทำการบรรจุใส่ถุงทึบแสง และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ภายในเวลา 6 เดือน

สำหรับการเก็บรวบรวมเนื้อกล้วยไข่ดิบ แล้วแช่ในสารละลายโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ความเข้มข้น 0.05% (w/v) เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นทำการสไลด์เนื้อกล้วยไข่ดิบให้เป็นแว่นบางๆ หนาประมาณ 0.2 เซนติเมตร แล้วแช่สารละลายโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ความเข้มข้น 0.05% (w/v) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำสะอาด ผึ่งและซับด้วยผ้าแห้ง เพื่อทำการบรรจุใส่ถุงทึบแสง และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ภายในเวลา 6 เดือน

2. การเตรียมใยอาหารและรีซิสแทนต์สตาร์ช

นำเปลือกและเนื้อกล้วยมาอบแห้งด้วยเตาอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วทำการบดให้ละเอียดและทำการร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 เมช จะได้ผงเปลือกและเนื้อกล้วย จากนั้นนำผงเปลือกกล้วยมาล้างในน้ำร้อนอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที อบแห้งด้วยเตาอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นทำการบดให้ละเอียดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 เมช

นำผงเปลือกกล้วยไข่การสกัดใยอาหาร ตามวิธีการของ Yoshimoto *et al*. (2005) and Wachirasiri *et al*. (2009) โดยกำจัดไขมันด้วยเฮกเซน ปริมาณ 5 ml/g และทำการอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เพื่อระเหยตัวทำละลาย จากนั้นผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1:20 ปรับค่า pH ให้อยู่ในช่วง 5.8 ด้วยสารละลายไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 N กำจัดอะไมโลสด้วยเอนไซม์ a-amylase ปริมาณ 0.1 ml/g และบ่มที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ปรับค่า pH ให้อยู่ในช่วง 7.5 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1N และกำจัดโปรตีนด้วยเอนไซม์ protease 10 mg/g บ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นปรับค่า pH ให้อยู่ในช่วง 4.0-4.5 ด้วยสารละลายไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 N และกำจัดแป้งด้วยเอนไซม์ amyloglucosidase ปริมาณ 0.1 mg/g บ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วกรองและอบให้แห้งด้วยเตาอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นบดให้ละเอียดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 เมช จะได้ใยอาหารสกัด แล้วบรรจุใส่ถุงปิดมิดชิด และเก็บรักษาไว้ในตู้ดูดความชื้นที่อุณหภูมิห้อง

ส่วนผงเนื้อกล้วย นำมาสกัดรีซิสแทนต์สตาร์ช ตามวิธีการที่ดัดแปลงมาจาก Zhao and Lin (2009) โดยไฮโดรไลซ์แป้งด้วยสารละลายกรดซิตริกความเข้มข้น 0.1 mol/l ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วปรับค่า pH เท่ากับ 7 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 mol/l เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส บดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 100 เมช จะได้รีซิสแทนต์สตาร์ชสกัด แล้วบรรจุใส่ถุงปิดมิดชิด และเก็บรักษาไว้ในตู้ดูดความชื้นที่อุณหภูมิห้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

05 - [illegible].indd 38 23/3/2559 15:51:09

3. การวิเคราะห์การเจริญของเชื้อ *L. plantarum* TU2 ด้วยการเสริมใยอาหาร และรีซิสแทนต์สตาร์ชสกัดจากเปลือกและเนื้อกล้วยไข่ดิบ

การเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติกในอาหารเหลวที่เติมใยอาหารและรีซิสแทนต์สตาร์ชสกัดจากเปลือกและเนื้อกล้วยไข่ดิบ โดยเตรียมแบคทีเรียโพรไบโอติก *Lactobacillus plantarum* TU2 ที่แยกได้จากผลิตภัณฑ์เนื้อหมักพื้นบ้าน จากคณะเทคโนโลยีและการพัฒนาชุมชน มหาวิทยาลัยทักษิณ ที่ผ่านการตรวจสอบสมบัติด้านโพรไบโอติกเบื้องต้น โดยจัดเก็บ stock culture ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เมื่อต้องการทำการทดลอง นำ stock culture มาละลายน้ำแข็ง และพาะเลี้ยงบน MRS agar บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะไร้อากาศ แล้วถ่ายเชื้อลงใน MRS broth บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้ออยู่ในสภาวะ late log phase (non-stressed cells) ดัดแปลงจากวิธีของ Tangwatcharin *et al*. (2006) and Guergoletto *et al*. (2010) จากนั้นปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 14,000 ´g เป็นเวลา 10 นาที เพื่อแยกแบคทีเรียออกจากอาหารเลี้ยงเชื้อเดิม แล้วล้างเซลล์แบคทีเรียด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.85% (w/v) และล้างเช่นนี้ 3 ครั้ง จะได้สารละลายแบคทีเรียความเข้มข้นประมาณ 10^8-10^9cfu/ml โดยมีค่า OD_{600} อยู่ในช่วง 0.7-0.8 และเจือจางให้มีแบคทีเรียเริ่มต้นประมาณ 10^5cfu/ml

การเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติกในอาหารเหลวที่มีการเติมใยอาหาร และรีซิสแทนต์สตาร์ช ตามวิธีการที่ดัดแปลงมาจาก Rycroft *et al*. (2001) โดยเพาะเลี้ยงเชื้อ *L. plantarum* TU2 ที่ความเข้มข้นเชื้อเริ่มต้น 10^5 cfu/ml ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MRS ที่มีการเติมผงเปลือกและเนื้อกล้วยไข่ดิบ ใยอาหาร และรีซิสแทนต์สตาร์ช ความเข้มข้น 1% (w/v) บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 0 3 6 9 12 และ 24 ชั่วโมง จากนั้นวิเคราะห์การส่งเสริมการเจริญของเชื้อ *L. plantarum* TU2 โดยหาปริมาณเชื้อ *L. plantarum* TU2 อัตราการเจริญสูงสุด ระยะเวลาหนึ่งชั่วอายุ น้ำตาลรีดิวซ์ กรดทั้งหมด กรดแลกติก กรดไขมันอิสระสายสั้น อะซิเตต กรดโพรพิโอเนต กรดบิวทิวเรต และค่า pH ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

การวิเคราะห์หาปริมาณแบคทีเรียโพรไบโอติก ตามวิธีการของ Swetwiwathana *et al*. (2007) โดย การตรวจนับเชื้อ *L. plantarum* TU2 ที่ระยะเวลาบ่มต่าง ๆ โดยวิธีการ pour plate ด้วย MRS agar ที่เติมแคลเซียมคาร์บอเนต ความเข้มข้น 1% (w/v) และทำการบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ภายใต้สภาวะไร้อากาศ จากนั้นตรวจนับปริมาณโคโลนีของเชื้อที่มีบริเวณใสรอบโคโลนี และสุ่มตรวจดูลักษณะของเชื้อด้วยการย้อมสีแกรม และ catalase test

การวิเคราะห์หาค่าจลพลศาสตร์การเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติกแต่ละชนิด โดยคำนวณหาค่าอัตราการเจริญสูงสุด (μ_{max}) และ ระยะเวลาหนึ่งชั่วอายุ (generation time, λ) ตามวิธีการของ Oliveira *et al*. (2011) ดังสมการต่อไปนี้

$$\mu_{max} = \ln(X_2/X_1)/(t_2-t_1)$$

โดยที่ X_1 และ X_2 คือจำนวนแบคทีเรีย

t_1 และ t_2 คือระยะเวลาในการบ่ม

$$\lambda = \ln 2/\mu_{max}$$

4. การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด และกรดไขมันสายสั้นของเชื้อ *L. plantarum* TU2 ด้วยการเสริมใยอาหาร และรีซิสแทนต์สตาร์ชสกัดจากเปลือกและเนื้อกล้วยไข่ดิบ

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ด้วยวิธี 3,5-dinitrosalicylic acid ตามวิธีการของ Miller (1959)

การวิเคราะห์ค่า pH ของ MRS broth ในระหว่างการหมัก ด้วยเครื่อง pH meter (Sartorius pH meter PB-11, USA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมดด้วยวิธีการของ Swetwiwathana *et al*. (2003)

วิเคราะห์หาปริมาณกรดแลกติก และกรดไขมันอิสระสายสั้น ได้แก่ อะซิเตต โพรพิโอเนต และบิวทิเรต ด้วยวิธี Gas chromatography (GC) ตามวิธีการข้อ Zhao and Lin (2009)

5. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การศึกษานี้ จัดกลุ่มการทดลองแบบ 3×6 factorial in completely randomized design (CRD) โดยปัจจัย A คือ ชนิดของพรีไบโอติกส์ ได้แก่ กลุ่มควบคุม ใยอาหารสกัดจากผงเปลือกกล้วยไข่ดิบ และรีซิสแทนต์สตาร์ชสกัดจากผงเนื้อกล้วยไข่ดิบ และปัจจัย B คือ ระยะเวลาในการบ่ม ได้แก่ 0 3 6 9 12 และ 24 ชั่วโมง โดยทำการวิเคราะห์ทางสถิติและเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ย (LSMeans) ของการเจริญของเชื้อ *L. plantarum* TU2 น้ำตาลรีดิวซ์ ค่า pH กรดทั้งหมด กรดแลกติก กรดไขมันอิสระสายสั้น อะซิเตต โพรพิโอเนต และบิวทิเรต โดย GLM procedure และ PDIFF ตามลำดับ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรม SAS (Statistical Analysis System Institute, 1998) ยกเว้นอัตราการเจริญสูงสุด และระยะเวลาหนึ่งชั่วอายุของเชื้อ *L. plantarum* TU2 ทำการวางแผนแบบ CRD โดยทำการวิเคราะห์ทางสถิติและเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดย ANOVA procedure และ Duncan's New Multiple Range Test ตามลำดับ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ด้วยโปรแกรม SAS (Statistical Analysis System Institute, 1998)

ผลการศึกษาและวิจารณ์

1. การเจริญของเชื้อ *L. plantarum* TU2 ด้วยการเสริมใยอาหาร และรีซิสแทนต์สตาร์ชสกัดจากเปลือกและเนื้อกล้วยไข่ดิบ

จากการศึกษาการเจริญของเชื้อ *L. plantarum* TU2 ด้วยการเสริมใยอาหาร และรีซิสแทนต์สตาร์ชสกัดจากเปลือกกล้วยและเนื้อกล้วยไขดิบ โดยตรวจนับปริมาณ อัตราการเจริญสูงสุด และชั่วอายุของเชื้อ *L. plantarum* TU2 ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ที่มีการเสริมใยอาหาร และรีซิสแทนต์สตาร์ช ความเข้มข้น 1% (w/v) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ที่อุณหภูมิการบ่ม 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 3 6 9 12 และ 24 ชั่วโมง พบว่า เชื้อ *L. plantarum* TU2 ในอาหารที่เลี้ยงเชื้อ MRS broth ที่มีการเสริมใยอาหารสกัด และรีซิสแทนต์สตาร์ชสกัด สามารถเจริญได้ดีกว่ากลุ่มควบคุม (Figure 1A) และเมื่อทำการวิเคราะห์หาค่าจลนพลศาสตร์การเจริญของเชื้อ *L. plantarum* TU2 โดยคำนวณหาอัตราการเจริญสูงสุด และระยะเวลาหนึ่งชั่วอายุ พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ที่มีการเติมรีซิสแทนต์สตาร์ชและใยอาหารส่งเสริมให้เชื้อ *L. plantarum* TU2 มีอัตราการเจริญมากกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$) โดยมีค่า 0.96±0.04 0.94±0.01 และ 0.63±0.01 log cfu/ชั่วโมง ตามลำดับ (Figure 1B) ซึ่งสอดคล้องกับระยะเวลาหนึ่งชั่วอายุของแบคทีเรียแลกติกนี้มีค่าผกผันกับอัตราการเจริญสูงสุด โดยพบว่า เชื้อ *L. plantarum* TU2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ที่มีการเติมรีซิสแทนต์สตาร์ชและใยอาหาร มีระยะเวลาหนึ่งชั่วอายุน้อยกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$) โดยมีค่า 0.72±0.03 0.73±0.01 และ 1.08±0.02 ชั่วโมง ตามลำดับ (Figure 1C) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเชื้อ *L. plantarum* สามารถผลิตเอนไซม์ cellulase และ hemicellulase ได้ (Sharp *et al*., 1992) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่พบว่า ใยอาหาร และรีซิสแทนต์สตาร์ชสกัดจากเปลือกและเนื้อกล้วยไข่ดิบมีเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ โดยเฉพาะใยอาหารมีปริมาณเฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลสสูงถึง 42.27±0.70 และ 17.99±0.48 g/100 g dry matter ตามลำดับ นอกจากนี้ รีซิสแทนต์สตาร์ชที่สกัดได้มีปริมาณรีซิสแทนต์สตาร์ชสูงถึง 45.71±0.26 g/100 g dry matter (สุชาติ และผุสดี, 2558) ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับเมตาบอลิสมของแบคทีเรียโพรไบโอติกเพื่อใช้ในกระบวนการผลิตพลังงานในการเจริญ (Dangsungnoen *et al*., 2012)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การผลิตกรดทั้งหมด และกรดไขมันสายสั้นของเชื้อ *L. plantarum* TU2 ด้วยการเสริมใยอาหาร และรีซิสแทนต์สตาร์ชสกัดจากเปลือกและเนื้อกล้วยไข่ดิบ

จากการศึกษาผลของการเสริมใยอาหารสกัด และรีซิสแทนต์สตาร์ชสกัดจากเปลือกกล้วยและเนื้อกล้วยไข่ดิบต่อการผลิตกรดทั้งหมด และกรดไขมันสายสั้นของเชื้อ *L. plantarum* TU2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth โดยทำการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ค่า pH ปริมาณกรดทั้งหมด กรดแลกติก กรดไขมันสายสั้นทั้งหมด อะซิเตต โพรพิโอเนต และบิวทิวเรตในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MRS ที่มีการเสริมใยอาหาร และรีซิสแทนต์สตาร์ชความเข้มข้น 1% (w/v) เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ที่อุณหภูมิการบ่ม 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 3 6 9 12 และ 24 ชั่วโมง พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MRS ทุกกลุ่มมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงตามระยะเวลาการบ่มที่นานขึ้น (Figure 2A) ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อ *L. plantarum* TU2 ใช้น้ำตาลรีดิวซ์เป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อใช้ในกระบวนการผลิตกรด ส่งผลให้อาหารเลี้ยงเชื้อมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลงลง ค่า pH ลดลง แต่ปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้น (Figure 2B และ 2C ตามลำดับ) อย่างไรก็ตาม กลุ่มที่มีการเสริมใยอาหารและรีซิสแทนต์สตาร์ชมีปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้น แต่ค่า pH ลดลงเร็วกว่ากลุ่มควบคุม ทั้งนี้อาจเนื่องจากใยอาหารและรีซิสแทนต์สตาร์ชมีน้ำตาลรีดิวซ์เป็นประกอบ โดยมีปริมาณ 0.26±0.01 และ 0.31±0.01 g/100 g dry matter ตามลำดับ (สุชาติ และผุสดี, 2558) นอกจากนี้สอดคล้องกับอัตราการเจริญสูงสุดและระยะเวลาหนึ่งชั่วอายุ ที่พบว่า กลุ่มที่มีการเสริมใยอาหารและรีซิสแทนต์สตาร์ชช่วยส่งเสริมให้เชื้อ *L. plantarum* TU2 สามารถเจริญได้อย่างรวดเร็ว ทำให้กลุ่มที่มีการเสริมใยอาหารและรีซิสแทนต์สตาร์ชมีอัตราการเจริญสูงสุดมากกว่าและระยะเวลาหนึ่งชั่วอายุน้อยกว่ากลุ่มควบคุม

จาก Figure 3 แสดงให้เห็นว่า ตัวอย่างกลุ่มที่มีการเสริมใยอาหารและรีซิสแทนต์สตาร์ชสกัดจากเปลือกและเนื้อกล้วยไข่ดิบช่วยส่งเสริมการผลิตกรดแลกติก และกรดไขมันสายสั้นทั้งหมดของเชื้อ *L. plantarum* TU2 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม โดยเฉพาะกลุ่มที่มีการเสริมรีซิสแทนต์สตาร์ชส่งเสริมให้แบคทีเรียโพรไบโอติกนี้จะสามารถผลิตกรดแลกติกและกรดไขมันสายสั้นทั้งหมดกลุ่มที่มีการเสริมใยอาหารเมื่อบ่มเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ($P<0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 153.23±2.50 และ 4.27±0.20 mmol/ml ตามลำดับ แต่อย่างไรเมื่อบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทั้งสองกลุ่มมีปริมาณกรดแลกติกและกรดไขมันสายสั้นทั้งหมดแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องจากกล้วยมีฟรุกแทนส์เป็นองค์ประกอบ ซึ่งมีสมบัติเป็นพรีไบโอติกจัดอยู่ในกลุ่มฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (L'homme *et al*., 2001; Oku *et al*., 1984) และแบคทีเรียโพรไบโอติกสามารถย่อยและสร้างกรดไขมันสายสั้น ส่วนฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์เป็นแหล่งอาหารให้แบคทีเรียกลุ่ม lactobacilli ผลิตแลกเตต และกรดไขมันสายสั้น (Rycroft *et al*., 2001) เนื่องจากแบคทีเรียกลุ่มนี้จะผลิตเอนไซม์ β-fructofuranosidases เพื่อย่อยสลายฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์เป็นแหล่งพลังงานในการเจริญ และผลิตกรดไขมันสายสั้น (Rossi *et al*., 2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

05 - [illegible].indd 41 23/3/2559 15:51:09

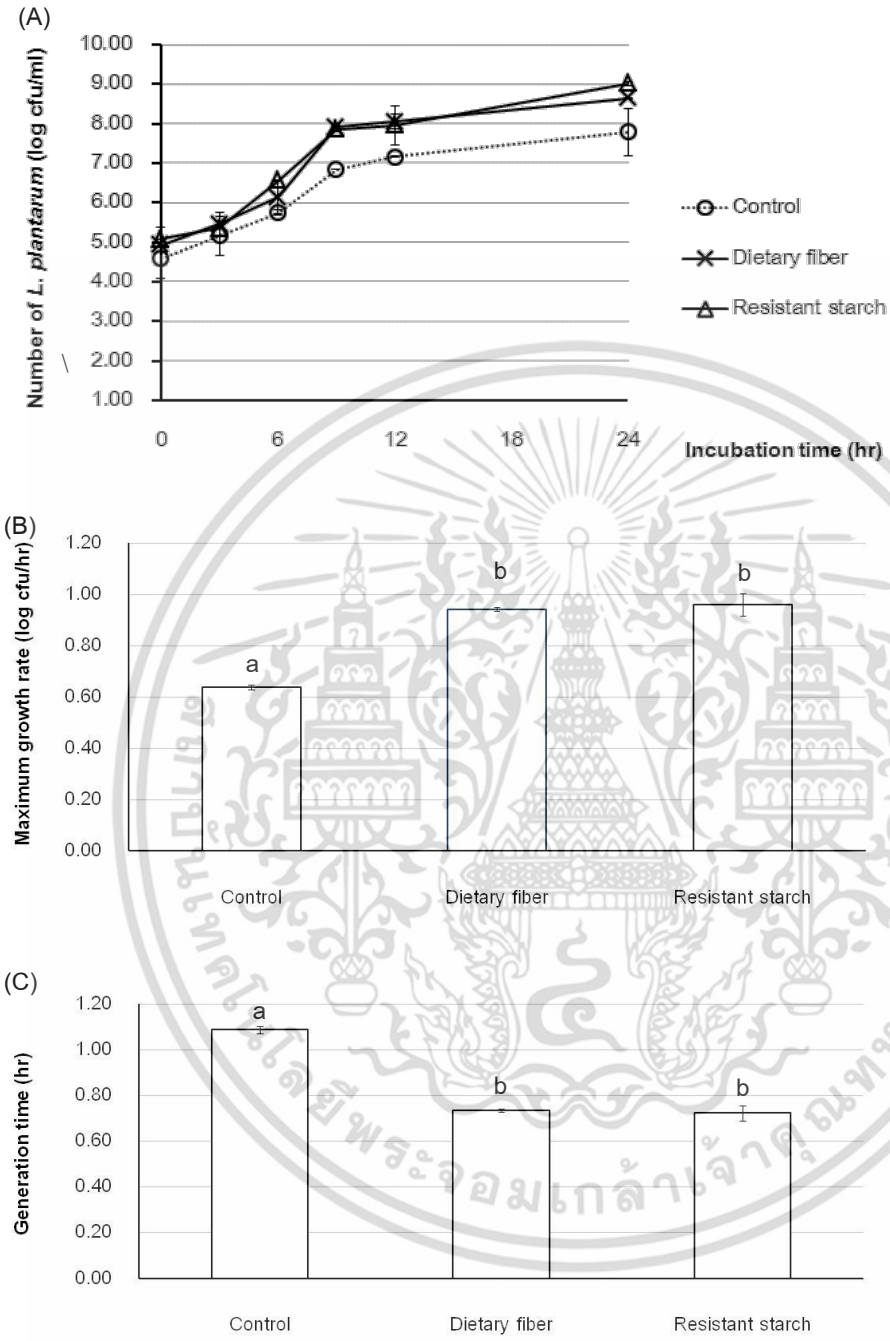

Figure 1 Growth (A), maximum growth rate (B) and generation time (C) of *L. plantarum* in MRS broth (control) supplement with dietary fiber and resistant starch extracted from banana peel and pulp; a-b Different letters indicate that values are significantly different ($P<0.05$).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

05 - [illegible].indd 42 23/3/2559 15:51:09

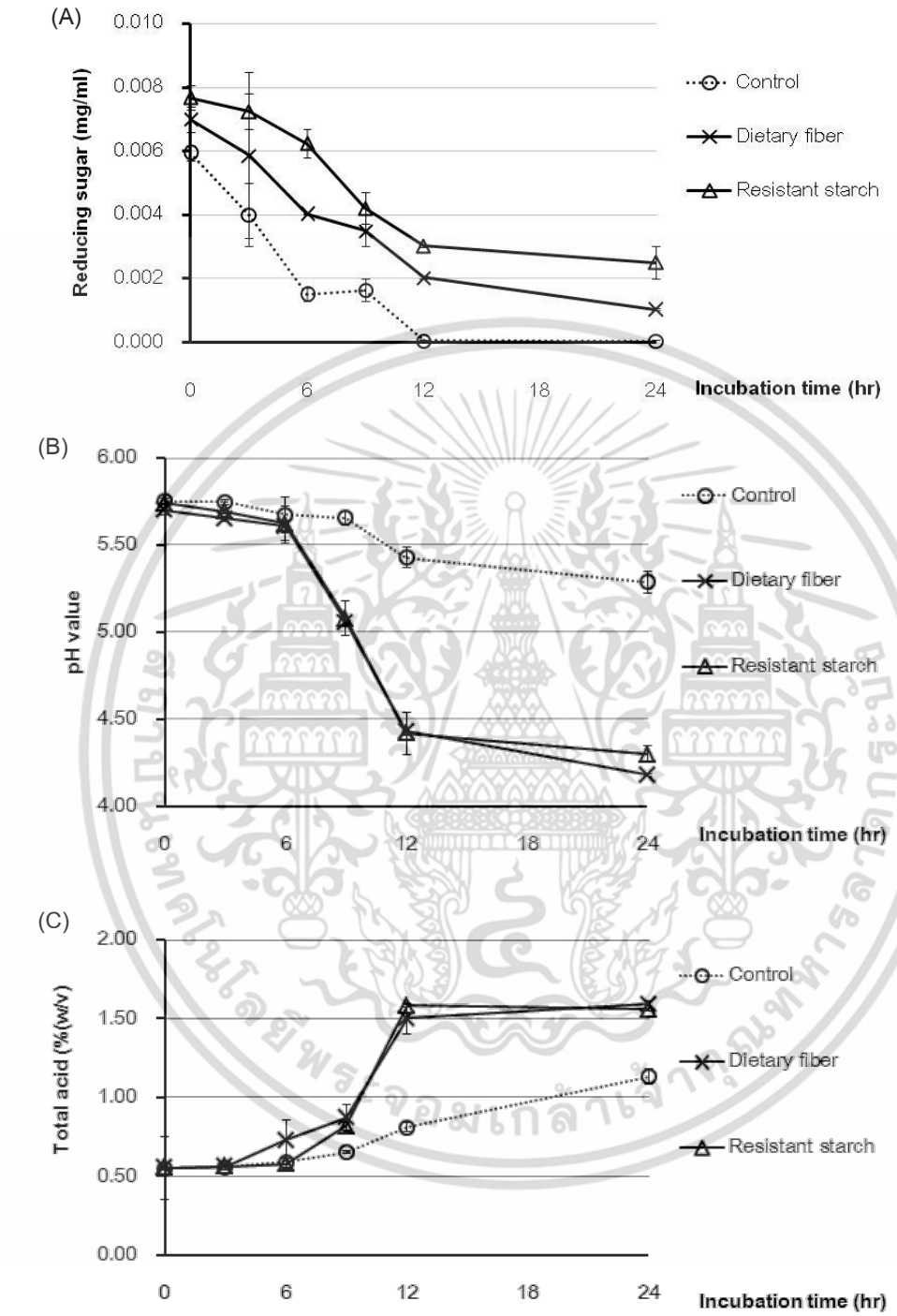

Figure 2 Reducing sugar (A), pH value (B) and total acid (C) of changing by *L. plantarum* TU2 in MRS broth (control) and MRS broth supplement with dietary fiber and resistant starch extracted from banana peel and pulp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

05 - [illegible].indd 43 23/3/2559 15:51:09

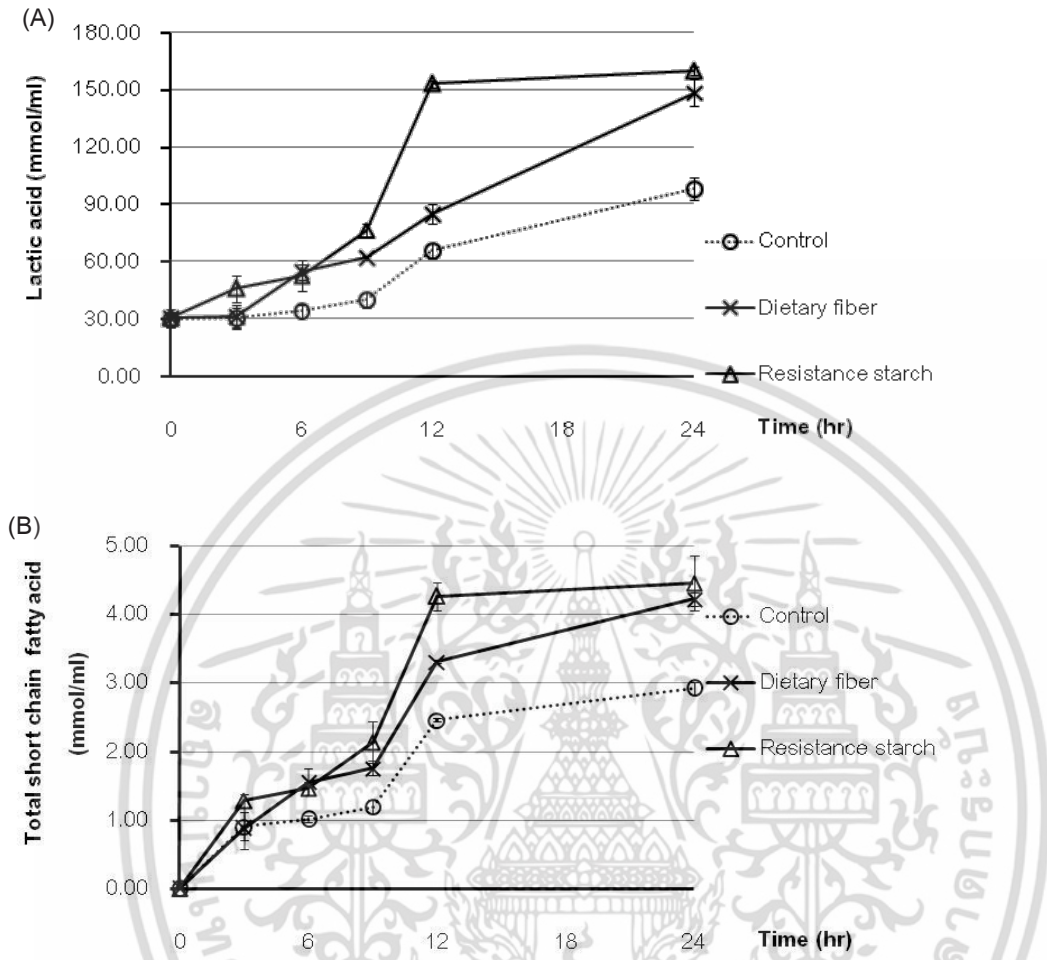

Figure 3 Lactic acid (A) and total short chain fatty acid (B) produced by *L. plantarum* TU2 in MRS broth (control) and MRS broth supplement with dietary fiber and resistant starch extracted from banana peel and pulp.

นอกจากนี้ในการศึกษาครั้งนี้ยังพบว่าการเสริมใยอาหารและรีซิสแทนต์สตาร์ชสกัดจากเปลือกและเนื้อกล้วยไข่ดิบยังช่วยส่งเสริมการผลิตอะซิเตต โพรพิโอเนต และบิวทิวเรตของเชื้อ *L. plantarum* TU2 ตลอดระยะเวลาการบ่ม 24 ชั่วโมง โดยเฉพาะเมื่อบ่มเป็นเวลา 12 ชั่วโมง แบคทีเรียโพรไบโอติกนี้จะผลิตกรดไขมันสายสั้นทั้งสามชนิดนี้อย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะอย่างยิ่งอะซิเตตและบิวทาเรต โดยมีอัตราส่วนปริมาณอะซิเตต:โพรพิโอเนต:บิวทิวเรต เท่ากับ 50.00:13.16:36.84 และ 48.43:14.84:36.73 ตามลำดับ (Figure 4A, B and C) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่พบว่า การเสริมฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์จะส่งเสริมให้แบคทีเรียกลุ่ม lactobacilli ผลิตอะซิเตต โพรพิโอเนต และบิวทาเรตเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะอะซิเตต (Rycroft *et al*., 2001) ซึ่งการส่งเสริมการเจริญและการผลิตกรดไขมันสายสั้นของแบคทีเรียโพรไบโอติกเป็นสมบัติความเป็นพรีไบโอติกที่สำคัญ เนื่องจากกรดไขมันสายสั้นที่แบคทีเรียโพรไบโอติกผลิตขึ้นนี้ เป็นสารที่มีประโยชน์ต่อระบบทางเดินอาหาร โดยจะทำให้ลำไส้มีความเป็นกรดมากขึ้นซึ่งเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่ง บิวทิเรตเป็นแหล่งพลังงานสำหรับเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้ ทำให้เยื่อบุผิวลำไส้ใหญ่แบ่งตัวเพิ่มขึ้น มีการกระตุ้นเลือดให้มาเลี้ยงเยื่อบุลำไส้มากขึ้น ทำให้ลำไส้ใหญ่สามารถ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดูดซึมน้ำและเกลือแร่ได้ดีขึ้น (Hoverstad and Bjorneklett, 1984, Geoffrey and James, 2009)

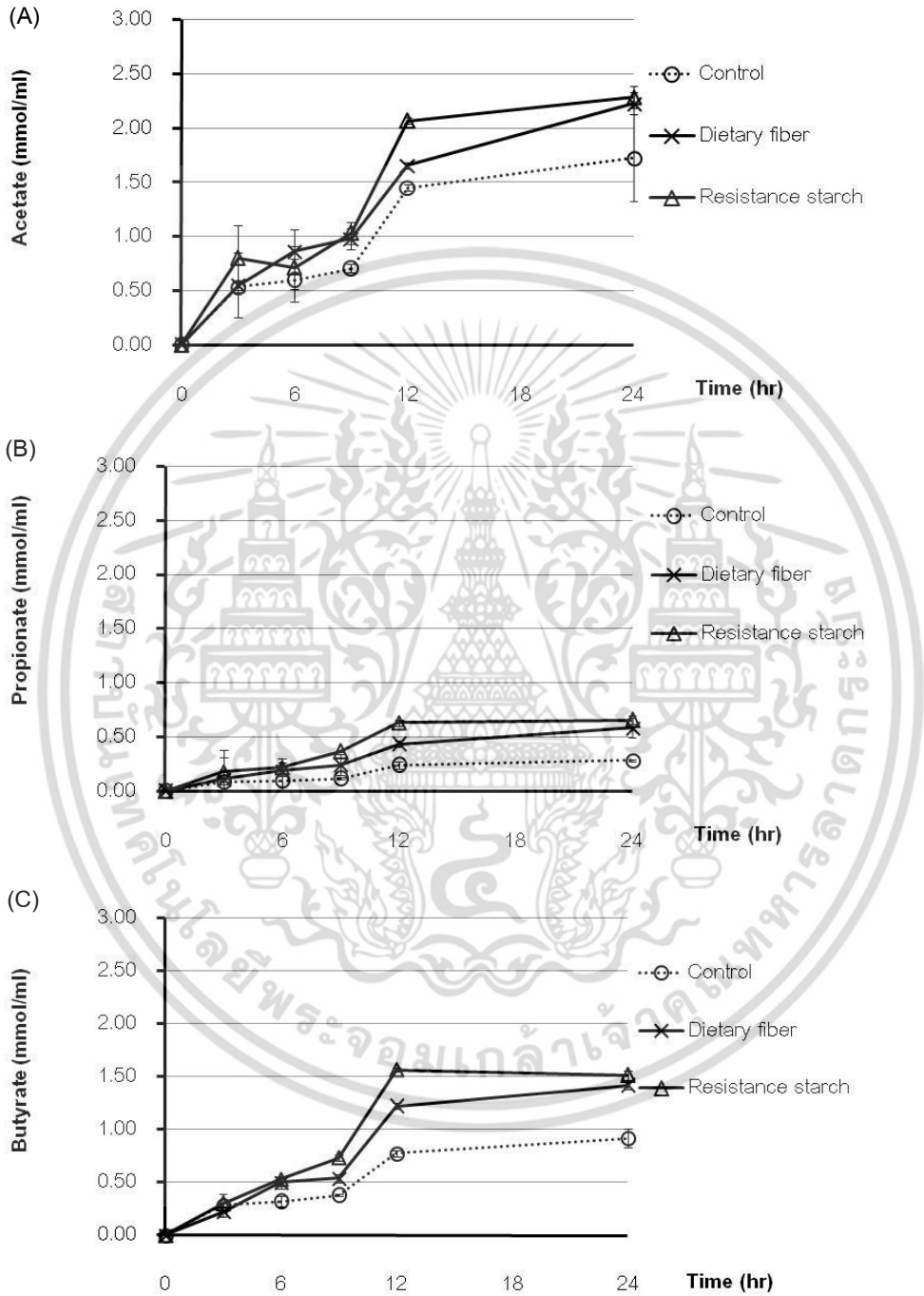

Figure 4 Acetate (A), propionate (B) and butyrate produced by *L. plantarum* TU2 in MRS broth (control) and MRS broth supplement with dietary fiber and resistant starch extracted from banana peel and pul

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

05 - [illegible].indd 45 23/3/2559 15:51:09

สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่าใยอาหารและรีซิสแทนต์สตาร์ชที่สกัดได้จากเปลือกและเนื้อกล้วยไข่ดิบมีสมบัติความเป็นพรีไบโอติกที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติกในการนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อหมักต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณรายได้จากงบยุทธศาสตร์โครงการพี่เลี้ยง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และงบประมาณแผ่นดิน มหาวิทยาลัยทักษิณ

เอกสารอ้างอิง

สุชาติ สุขสถิตย์ และ ผุสดี ตังวัชรินทร์. 2558. องค์ประกอบทางเคมี สมบัติทางกายภาพ และสมบัติด้านพรีไบโอติกเบื้องต้นของใยอาหารและรีซิสแทนต์สตาร์ชสกัดจากเปลือกและเนื้อกล้วยไข่ดิบ. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 33:

Bellisle, F., A.T. Diplock, G. Hornstra, B. Koletzkos, M. Roberfoid, S. Salminen and W.H.M. Saris. 1998. Functional food science in Europe. Br. J. Nutr. 80: S1–S193.

Caussiol, L. 2001. Postharvest quality of conventionally and organically grown banana fruit. Thesis of Master of Science by Research in Postharvest Technology, Institute of Agritechnolgy, Cranfield University at Silsoe.

Dangsungnoen, P., A, Moongngarm and S. Deeseenthum. 2012. Comparison of resistant starch content and survival of *Lactobacillus* spp. on four different sources of resistant starch. 2012 International Conference on Life Science and Engineering (IPCBEE 2012), Singapore. pp. 79-83.

Forest, V., M. Clement, F. Pierre, K. Meflah and J. Menanteau. 2003. Butyrate restores motile function and actin cytoskeletal network integrity in apc mutated mouse colon epithelial cells. Nutr. Cancer. 45: 84-92.

Geoffrey, A.P. and V. James. 2009. Targeting the human microbiome with antibiotics, probiotics and prebiotics : gastroenterology enters the metagenomics era. J. Gastro. Hepatol. 136: 2015-2031.

Guergoletto, K.B., M. Magnani, J.S. Martin, C.G.T.J. Andrade and S. Garcia. 2010. Survival of *Lactobacillus casei* (LC-1) adhered to prebiotic vegetal fibers. Innov. Food Sci. Emerg. Technol. 11: 415-421.

Hoverstad, T. and A. Bjorneklett. 1984. Short-chain fatty acids and bowel functions in man. Scand. J. Gastroenterol. 19: 1059-1065.

Hoverstad, T., O. Fausa, A. Bjorneklett, and T. Bohmer. 1984. Short-chain fatty acids in the normal human feces. Scand. J. Gastroenterol. 19: 375-381.

Howard, M. D., D. T. Gordon, K. A. Garleb, and M. S. Kerley. 1995. Dietary fructooligosaccharide, xylooligosaccharide and gum arabic have variable effects on cecal and colonic microbiota and epithelial cell proliferation in mice and rats. J. Nutr. 125:2604–2609.

L'Homme, C., J.L. Peschet, A. Puigserver and A. Biagini. 2001. Evaluation of fructans in various fresh and stewed fruits by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection. J. Chromatogr. A. 920: 291-297.

Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Anal. Chem. 31: 426–428.

Oku, T., T. Tokunaga, and N. Hosoya. 1984. Nondigestibility of a new sweetener, "Neosugar," in the rat. J. Nutr. 114: 1574–1581.

Oliveira, R.P.D.S., P. Perego, M.N.D. Oliveira and A. Converti. 2011. Effect of inulin as a prebiotic to improve growth and counts of a probiotic cocktail in fermented skim milk. LWT-Food Sci. Technol. 44: 520-523.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

05 - [illegible].indd 46 23/3/2559 15:51:09

Rossi, M., C. Corradini, A. Amaretti, M. Nicolini, A. Pompei, S. Zanoni and D. Matteuzzi. 2005. Fermentation of fructooligosaccharides and inulin by bifidobacteria: a comparative study of pure and fecal cultures. Appl. Environ. Microbiol. 71: 6150–6158.

Rycroft, C.E., M.R. Jones, G.R. Gibson and R.A. Rastall. 2001. A comparative in vitro evaluation of the fermentation properties of prebiotic oligosaccharides. J. Appl. Microbiol. 91: 878–887.

Sharp, R., A.G. O'Donnell, H.G. Gilbert and G.P. Hazlewood. 1992. Growth and survival of genetically manipulated *Lactobacillus plantarum* in silage. Appl. Environ. Microbiol. 58: 2517-2522.

Statistical Analysis System Institute. 1998. SAS software. Statistical Analysis Systems Institute Inc., USA.

Swetwiwathana, A., T. Zendo, N. Lotong, J. Nakayama and K. Sonomoto. 2003. Screening of Bacteriocin-producing Bacteria Associated in Nham (Traditional Thai Fermented Meat). The 49th International Congress of Meat Science and Technology (ICoMST) Proceedings, Brazil. pp. 322 - 324.

Swetwiwathana, A., T. Zendo, J. Nakayama and K. Sonomoto. 2007. Screening of bacteriocin-producing lactic acid bacteria associated with Thai fermented meat-rice sausage. Proceeding of 53rd International Congress of Meat Science and Technology. pp. 59-60.

Tangwatcharin, P., S. Chanthachum, P. Khopaibool and M.W. Griffiths. 2006. Morphological and physiological responses of *Campylobacter jejuni* to stress. J. Food Prot. 69: 2747-2753.

Wachirasiri, P., S. Julakarangka and S. Wanlapa. 2009. The effects of banana peel preparations on the properties of banana peel dietary fibre concentrate. Songklanakarin J. Sci. Technol. 31: 605-611.

Wichienchot, S., M. Jatupornpipat and R.A. Rastall. 2010. Oligosaccharides of pitaya (dragon fruit) flesh and their prebiotic properties. Food Chem. 120: 850-857.

Williams, C.H., S.A. Witherly and R.K. Buddington. 1994. Influence of dietary neosugar on selected bacterial groups of the human faecal microbiota. Microbiol. Ecol. Health Dis. 7: 91–97.

Yamazaki, E., K. Murakami and O. Kurita. 2005. Easy preparation of dietary fiber with the high water-holding capacity from food sources. Plant Foods Hum. Nutr. 60: 17-23.

Zdunczyk, Z.Z., B. Król, J. Juśkiewicz and M. Wróblewska. 2005. Biological properties of fructooligosaccharides with different contents of kestose and nystose in rats. Arch. Anim. Nutr. 59: 247-56.

Zhao, X.H. and Y. Lin. 2009. Resistant starch prepared from high-amylose maize starch with citric acid hydrolysis and its simulated fermentation in vitro. Eur. Food Res. Technol. 228: 1015-1021.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

05 - [illegible].indd 47 23/3/2559 15:51:09