



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การรอดชีวิตของ *Pediococcus pentosaceus* ในโมเดลจำลองและน้ำผัก

Survival of *Pediococcus pentosaceus* in Model Solution and Vegetable juices

นางสาวสวามินี นวลแขก

นางสาวนิชชา จำเริญศักดิ์ศรี

นายสมบูรณ์ ธนาสุภวัฒน์

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การรอดชีวิตของ *Pediococcus pentosaceus* ในโมเดลจำลองและน้ำผัก

Survival of *Pediococcus pentosaceus* in Model Solution and Vegetable juices

นางสาวสวามิณี นวลเชกุล

นางสาวนิชชา จำเริญศักดิ์ศรี

นายสมบูรณ์ ธนาศุภวัฒน์

RC4

ศ 426 ก

2560

เลขหมู่.....

เลขทะเบียน 149078

วันเดือนปี 4 ต.ค. 2561

b. 12880474

i.

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ การรอดชีวิตของ *Pediococcus pentosaceus* ใน โมเดลจำลองและน้ำผัก
แหล่งเงิน เงินรายได้คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประจำปีงบประมาณ 2559 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 90,000 บาท
ระยะเวลาทำการวิจัย 2 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2558 ถึง 26 กันยายน 2560
สวามิณี นवलเชกุล, คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
นิชชา จำเริญศักดิ์ศรี, คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
สมบูรณ์ ชนาสุภวัฒน์, คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือศึกษาการรอดชีวิตของ *Pediococcus pentosaceus* PC 73-3 ใน
สารละลายจำลองน้ำผัก และพัฒนาแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่จะสามารถอธิบายถึงค่าความเป็นกรด-
ด่าง กรดอินทรีย์ และสารประกอบฟีนอลิก ออกแบบการทดลองโดยใช้เซ็นทรัลคอมโพสิตดีไซน์ (CCD)
โดยมีการศึกษา 3 ปัจจัย 5 ระดับ แบ่งเป็น ค่าความเป็นกรด-ด่าง (3.0–7.0) กรดอินทรีย์ (0–5 กรัม/ลิตร)
และสารประกอบฟีนอลิก (50–150 มิลลิกรัม/ลิตร) รวมทั้งหมด 17 สิ่งทดลอง จำนวนเซลล์เริ่มต้นใน
สารละลายจำลองน้ำผักอยู่ที่ 1×10^8 CFU/มิลลิตร เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 สัปดาห์
การวิเคราะห์ความแปรปรวนใช้สเตปไวทรีเกรซชัน พบว่าข้อมูลมีความน่าเชื่อถือและเหมาะสมดี ผลการ
ทดลอง พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่าง และความเข้มข้นกรดอินทรีย์สูง ช่วยส่งเสริมการอยู่รอดของเซลล์ ใน
ขณะเดียวกัน สารประกอบฟีนอลิกไม่มีผลมากนัก การอยู่รอดของเซลล์ตลอดอายุการเก็บรักษาได้มีการ
ทดลองในน้ำผัก เช่น ในน้ำผักข้าว น้ำบิทรูท น้ำมะเขือเทศ น้ำหนุ่ยปักกิ่ง น้ำแครอท น้ำไบบ่านาง และน้ำ
ไบบัวบก แบบจำลองทางคณิตศาสตร์สามารถทำนายได้ค่อนข้างดีในน้ำผัก พบอัตราการรอดชีวิตสูง
หลังจากเก็บรักษา 6 สัปดาห์ในน้ำบิทรูท น้ำมะเขือเทศ น้ำหนุ่ยปักกิ่ง น้ำแครอท น้ำไบบ่านาง และน้ำไบบ
บัวบก ซึ่งน้ำทั้งหมดนั้นมีค่าความเป็นกรด-ด่างประมาณ 6.0 ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำสุด พบในน้ำผัก
ข้าว (pH ประมาณ 3.25) ซึ่งทำให้การรอดชีวิตของเซลล์ต่ำกว่า 10^6 CFU/มิลลิตร หลังจากเก็บ 3 สัปดาห์
ในกรณีของน้ำมะเขือเทศ ความเข้มข้นของเซลล์ลดลงเพียง 0.84 logs หลังการเก็บ 6 สัปดาห์ แม้ว่าน้ำ
มะเขือเทศจะมีค่าความเป็นกรด (pH ประมาณ 4.10) ซึ่งเหตุผลนี้อาจจะมาจากสารประกอบอื่นๆ ที่ช่วยใน
การปกป้องเซลล์ไม่ว่าจะเป็น โปรตีน และเส้นใยอาหาร

คำสำคัญ: รอดชีวิต น้ำผัก แบบจำลองทางคณิตศาสตร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Research Title: Survival of *Pediococcus pentosaceus* in Model Solution and Vegetable juices

Researcher: Sawaminee Nualkaekul¹, Nitcha Chamroensaksri², Somboon Tanasupawat³

¹Faculty of Agro-Industry, King Mongkuts Institute of Technology Ladkrabang.

²Faculty of Science, Department of Biology, Mahasarakham University.

³Faculty of Pharmaceutical Sciences, Department of Biochemistry and Microbiology, Chulalongkorn University.

ABSTRACT

The objective of this work was to study the survival of *Pediococcus pentosaceus* PC 73-3 in model solutions and develop a mathematical model describing its dependence on pH, organic acid and phenolic compound. A Central Composite Design (CCD) was developed studying each of the three factors at five levels within the following ranges, i.e., pH (3.0–7.0), organic acid (0–5 g/L), and phenolic compound (50–150 mg/L). In total, 17 experimental runs were carried out. The initial cell concentration in the model solutions was approximately 1×10^8 CFU/mL; the solutions were stored at 4 °C for 6 weeks. Analysis of variance (ANOVA) of the stepwise regression showed that a second order polynomial model fits well the data. The results demonstrated that high pH and organic acid concentration enhanced cell survival; on the other hand, phenolic compound did not. Cell survival during storage was also investigated in various types of vegetable juices, including gac fruit, beetroot, tomato, murdannia, carrot, bamboo grass and centella juice. The model predicted well the cell survival in almost vegetable juices. High rate of cell survival was observed after 6 weeks of storage in beetroot, tomato, murdannia, carrot, bamboo grass and centella juice, all of which had a pH of around 6.0. The lowest pH was found in gac fruit juice (pH~3.25) which the cell survival decrease lower than 10^6 CFU/mL after 3 weeks of storage. In the case of tomato juice, the cell concentration decreased approximately 0.84 logs after 6 weeks of storage, even though it had the low pH (pH~4.10). The reason might come from other compounds that can protect the cells during storage; these were likely to be proteins and dietary fiber.

Keywords : survival, vegetable juices, mathematical model

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากแหล่งทุนเงินรายได้ จากคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง สัญญาเลขที่ 2559-17-003 ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2559

นางสาวสวามินี นवलเชกุล
นางสาวนิชชา จำเริญศักดิ์ศรี
นายสมบรูณ์ ธนาสุภวัฒน์



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญภาพ.....	ช
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	1
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	1
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	2
2.1 โพรไบโอติก.....	2
2.2 คุณสมบัติของโพรไบโอติก.....	3
2.3 บทบาทของจุลินทรีย์โพรไบโอติกต่อสุขภาพ.....	5
2.4 จุลินทรีย์ที่จัดเป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติก.....	5
2.5 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความอยู่รอดของโพรไบโอติก.....	9
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	11
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	14
3.1 การเตรียม <i>Pediococcus pentosaceus</i>	14
3.2 แผนการทดลองแบบ Central Composite Design (CCD).....	14
3.3 การเตรียมสารละลายจำลองน้ำผัก.....	15
3.4 การศึกษาการรอดชีวิต.....	15
3.5 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี.....	15
3.6 การรอดชีวิตในน้ำผัก.....	15
3.7 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ.....	15
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	16
4.1 การรอดชีวิตของเซลล์ในแบบจำลองน้ำผัก.....	16
4.2 การพัฒนาโมเดลทางคณิตศาสตร์.....	16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.3 การรอดชีวิตในน้ำฝัก.....	16
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	21
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	21
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	21
บทที่ 6 สรุปผลผลิตงานวิจัย.....	22
เอกสารอ้างอิง.....	23
ภาคผนวก.....	26
ภาคผนวก ก ไปสเตอร์และบทคัดย่อ.....	27
ภาคผนวก ข ต้นฉบับสำหรับตีพิมพ์.....	30
ภาคผนวก ค สรุปค่าใช้จ่ายการดำเนินโครงการวิจัย.....	41
ภาคผนวก ง โมเดลทางคณิตศาสตร์ที่ใช้ทำนายการรอดชีวิต.....	42
ประวัตินักวิจัย.....	43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 จุลินทรีย์มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก.....	6
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการรอดชีวิตของโพรไบโอติกในน้ำชนิดต่างๆ.....	12
3.1 การแบ่งระดับของปัจจัยต่าง ๆ.....	13
3.2 สิ่งทดลองสำหรับการทดสอบในแบบจำลองน้ำฝัก.....	14
4.1 ผลการรอดชีวิตของ <i>P. pentosaceus</i> ในแบบจำลองน้ำฝักตลอดอายุการเก็บรักษา 6 สัปดาห์.....	17
4.2 ส่วนประกอบของสารละลายจำลองเพื่อใช้ทดสอบสมการทางคณิตศาสตร์.....	18
4.3 การรอดชีวิตของ <i>P. pentosaceus</i> ในน้ำฝัก (log ₁₀ CFU/mL) ระหว่างการเก็บรักษา 6 สัปดาห์.....	19
4.4 องค์ประกอบในน้ำฝัก.....	20



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกที่ไม่ได้ผลิตจากนมที่จำหน่ายในปัจจุบัน.....	8
4.1 พื้นผิวตอบสนองผลของค่าความเป็นกรด-ด่าง และกรดอินทรีย์ ซึ่งมีผลการรอดชีวิตของเซลล์.....	16
4.2 Linear regression ของค่าสังเกต กับค่าทำนายจากสมการ $[\log_{10}N_{0week} - \log_{10}N_{6week}]$	18
4.3 กราฟแสดงการรอดชีวิตของ <i>P. pentosaceus</i> ในน้ำผัก (\log_{10} CFU/mL).....	20



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โพรไบโอติก หมายถึงจุลินทรีย์ในสภาพที่ยังมีชีวิตอยู่ ที่อยู่ในรูปที่เป็นอาหารหรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร เมื่อรับประทานด้วยปริมาณที่พอเหมาะจะส่งเสริมสุขภาพให้กับผู้บริโภค ส่วนใหญ่เรามักพบในผลิตภัณฑ์นมหมัก เช่น โยเกิร์ต นมเปรี้ยว การที่จะทานผลิตภัณฑ์เหล่านี้ให้ได้ประโยชน์จะต้องได้รับจุลินทรีย์ที่มีชีวิตในปริมาณที่เพียงพออย่างน้อย 10^6 - 10^7 CFU/มิลลิลิตร หรือ 10^9 CFU ต่อวัน ผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกได้มีการนำมาใช้บ้างแล้วในน้ำผลไม้ เนื่องจากทานได้ทุกเพศทุกวัย และช่วยลดปัญหาคอเลสเตอรอลในผลิตภัณฑ์นม และผู้บริโภคที่ไม่สามารถทานแลคโตสได้ น้ำผลไม้มีปริมาณน้ำตาลสูง เหมาะแก่การนำไปใช้ประโยชน์ของจุลินทรีย์ แต่ก็มีค่าความเป็นกรด และมีปริมาณฟีนอลิกคอมพาวด์สูง ซึ่งมีผลต่อการอยู่รอดได้ของจุลินทรีย์โพรไบโอติกเช่นกัน น้ำผักชนิดต่าง ๆ จึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกของผู้บริโภคที่รักสุขภาพ น้ำผักมีปริมาณน้ำตาลไม่สูงมากนัก ดีต่อสุขภาพ ส่วนค่าความเป็นกรดต่าง และฟีนอลิกคอมพาวด์ จะแตกต่างกันในน้ำแต่ละชนิด ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงต้องการศึกษาปัจจัยหลักที่มีผลต่อการอยู่รอดของ *Pediococcus pentosaceus* PC 73-3 เช่น ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณกรด และฟีนอลิกคอมพาวด์ในสารละลายจำลองน้ำผัก เพื่อดูแนวโน้มการรอดชีวิต รวมถึงมีการทำเป็นสมการทางคณิตศาสตร์ และนำมาเทียบเคียงศึกษาการรอดชีวิตในน้ำผักชนิดต่าง ๆ เพื่อเปรียบเทียบผลการใช้ได้ของสมการ เพื่อคาดหวังว่าจะสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในการทำนายการรอดชีวิตของน้ำผักชนิดอื่น ๆ ได้ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการรอดชีวิตของ *Pediococcus pentosaceus* ในน้ำผักจำลอง

1.2.2 สร้างสมการทางคณิตศาสตร์เพื่อนำมาทำนายการรอดชีวิต

1.2.3 ศึกษาการรอดชีวิตของ *Pediococcus pentosaceus* ในน้ำผักชนิดต่าง ๆ เพื่อเปรียบเทียบกับ

สมการทำนาย

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาการรอดชีวิตของ *Pediococcus pentosaceus* ในแบบจำลองน้ำผัก เพื่อนำมาทำเป็นสมการความสัมพันธ์ทางคณิตศาสตร์ และนำสมการนั้นมาทำนายและทดลองใช้ในน้ำผักชนิดต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

แนวคิด ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 โพรไบโอติก (Probiotic)

โพรไบโอติก (Probiotic) หมายถึง กลุ่มของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์และสัตว์ ซึ่งพบได้ในบริเวณลำไส้ และรวมถึงจุลินทรีย์ที่เตรียมขึ้นเพื่อใช้เป็นส่วนผสมในอาหารในรูปแบบที่มีชีวิต อาหารประเภทโพรไบโอติกโดยทั่วไปมีส่วนผสมของจุลินทรีย์หนึ่งชนิดหรือมากกว่าก็ได้ ซึ่งจุลินทรีย์กลุ่มนี้ต้องได้รับการศึกษาและตรวจสอบอย่างแน่ชัดแล้วว่าไม่มีผลเสียต่อสุขภาพของผู้บริโภค และเมื่อมนุษย์บริโภคเข้าไปแล้วจะเป็นตัวช่วยควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ที่ร่างกายไม่ต้องการให้อยู่ในปริมาณที่ไม่ก่อให้เกิดโรค หรือก่อให้เกิดปัญหาต่างๆ ให้แก่ร่างกายได้ เชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกส่วนใหญ่ได้รับการจากการบริโภคอาหารที่มีส่วนประกอบของโพรไบโอติก เช่น ผลิตภัณฑ์นมหมักชนิดต่างๆ แหนมสด เป็นต้น (สุนิดา, 2552)

ปัจจุบันมีกระแสเกี่ยวกับประโยชน์ของเชื้อจุลินทรีย์ ที่มีผลต่อสุขภาพมากกว่า 20 ปี ว่ามีส่วนช่วยให้สุขภาพดีและอายุยืน คนส่วนใหญ่อาจได้ยินได้ฟังแต่ไม่ทราบในรายละเอียด จะทราบแต่เพียงว่าเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ดีมีในนมเปรี้ยว โยเกิร์ต และเครื่องดื่มต่างๆ ข้อมูลเหล่านี้มักพบได้ตามโฆษณา ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารประเภทนี้เรารู้จักเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้ และคำว่าโพรไบโอติก (Probiotics) เริ่มด้วยนักวิทยาศาสตร์ ชาวรัสเซียชื่อ Metchnikoff E จากสถาบันหลุยส์ปาสเตอร์ สังเกตว่าชาวบัลแกเรีย เป็นกลุ่มคนที่มีอายุยืน ได้ศึกษาถึงชีวิตความเป็นอยู่และอาหารที่มีบทบาทสำคัญต่อสุขภาพพบว่าชาวบัลแกเรียรับประทานอาหารจำพวกนมหมักเป็นประจำทุกวัน เขาได้ทำการศึกษาพบว่า เชื้อจุลินทรีย์ชนิด *Lactobacilli* ใช้น้ำตาลที่มีในน้ำนมและเปลี่ยนไปเป็นกรดแลคติก (Lactic acid bacteria, LAB) เชื้อจุลินทรีย์ชนิดนี้มีคุณสมบัติที่ดีคือยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้สารอาหารจำพวกโปรตีนและไขมันเป็นอาหาร ผลที่ได้จะทำให้เกิดสารพิษหรือสารที่ทำให้เกิดความผิดปกติทางพันธุกรรมได้ ในปี ค.ศ. 1906 ได้มีรายงานการศึกษาเกี่ยวกับเชื้อ LAB พบว่าเชื้อ LAB สามารถหยุดยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Vibrio cholerae* ได้ ผลงานนี้ได้รับรางวัลโนเบล ในปี ค.ศ. 1908 นับว่าเป็นการจุดประกาย การศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ตั้งแต่นั้นมาจนถึงปัจจุบัน (สุกัจฉรา, 2557)

การคัดเลือกจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่จะนำมาใช้กับคนและสัตว์นั้น มีแนวทางหลัก ๆ คือ (1) สามารถอาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์หรือสัตว์ชนิดนั้น ๆ ได้ (2) ไม่เป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรค (3) สามารถเจริญเพิ่มจำนวนในทางเดินอาหารได้ (4) มีปริมาณสูงเพียงพอที่จะก่อให้เกิดผลดีต่อสุขภาพ (ประมาณ $10^7 - 10^9$ cfu/ml ของผลิตภัณฑ์) แต่เมื่อจะใช้โพรไบโอติกนั้นสำหรับมนุษย์ สิ่งต้องมุ่งเน้นก็คือเรื่องความปลอดภัยวัตถุประสงค์ของการนำไปใช้งาน และความเหมาะสมกับชนิดของผู้ถูกอาศัยโดยโพรไบโอติกนั้น หรือได้รับการรับรองจากสถาบันที่น่าเชื่อถือ เช่น องค์การอนามัยโลกก็ได้ให้การรับรองว่าจุลินทรีย์ใดเป็นชนิดที่มีความปลอดภัย (Generally Regarded As Safe หรือ GRAS) การค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 คุณสมบัติของโพรไบโอติก

การคัดเลือกโพรไบโอติกที่มีความเหมาะสม เพื่อใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์หมักจากพืช หรือผลิตโพรไบโอติกโดยผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้จากพืช จึงเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการพัฒนาผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกที่ได้จากพืช ซึ่งจะช่วยให้เพิ่มทางเลือกให้กับกลุ่มผู้บริโภคที่มีภาวะไม่ย่อยน้ำตาลแลคโตสในนม (lactose intolerant) และผู้บริโภคมังสวิรัตที่ไม่ดื่มนมได้อีกทางหนึ่งซึ่งมีคุณสมบัติต่างๆ เช่น

2.2.1 ความสามารถในการเจริญได้ในภาวะที่มีเกลือน้ำดีร้อยละ 0.15 และ 0.30 ทั้งนี้เพื่อให้สัมพันธ์กับสภาวะการหลังเกลือน้ำดีภายในลำไส้เล็กในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ ที่มีความเข้มข้นของเกลือน้ำดีประมาณร้อยละ 0.30 - 0.50 และเป็นแหล่งที่โพรไบโอติกแบคทีเรียอาศัยอยู่ (ไชยวัฒน์, 2553)

2.2.2 ความสามารถในการเจริญได้ในภาวะความเป็นกรด - ต่าง 2, 3, 4, 8 และ 9 ซึ่งเป็นระดับความเป็นกรด-ต่าง เช่นเดียวกับที่พบในกระเพาะอาหารของมนุษย์ซึ่งมีความเป็นกรดที่ระดับค่าพีเอชเท่ากับ 3 หรือต่ำกว่าและในลำไส้เล็กที่ที่มีความเป็นด่างในระดับค่าพีเอชประมาณ 8 ถึง 9 ทั้งนี้ความสามารถของแบคทีเรียที่เจริญได้ในสภาวะดังกล่าวบ่งบอกถึงความสามารถในการเจริญรอดชีวิตจากภาวะความเป็นกรดต่างในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ได้ (ไชยวัฒน์, 2553)

2.2.3 ความสามารถในการย่อยสารชีวโมเลกุลขนาดใหญ่ คือ แป้ง และ โปรตีน ซึ่งสามารถช่วยในการส่งเสริมระบบการย่อยสารอาหารเพื่อการดูดซึมไปใช้ประโยชน์ต่อร่างกายของมนุษย์ได้ (ไชยวัฒน์, 2553)

2.2.4 สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีอากาศ สายพันธุ์แบคทีเรียแลคติกที่สามารถเป็นแบคทีเรียโพรไบโอติกได้ต้องมีคุณลักษณะที่สามารถเจริญได้ทั้งสภาวะที่มีและไม่มีอากาศได้ ถ้าสามารถเจริญได้ใกล้เคียงกันทั้งสองสภาวะ ยิ่งเป็นผลดีต่อการรอดชีวิตในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ (ไชยวัฒน์, 2553)

2.2.5 การไม่แก่งแย่งสารอาหารที่จำเป็นต่อร่างกายมนุษย์ โดยการทดสอบความสามารถในการเจริญได้ในอาหารเพาะเลี้ยงที่ไม่มีวิตามินบี 12 (Cobalamin free medium) ทั้งนี้เนื่องจากการดูดซึมวิตามินเข้าสู่ร่างกายมักเกิดที่ลำไส้เล็ก และวิตามินบี 12 เป็นวิตามินที่ละลายน้ำ ชนิดหนึ่งที่ถูกดูดซึมในบริเวณลำไส้เล็ก ซึ่งแหล่งที่มาของวิตามินบี 12 ในแหล่งอาหารจากธรรมชาตินั้น พบว่ามีเฉพาะในเนื้อสัตว์เท่านั้น ดังนั้นสายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกนี้จึงน่าจะเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคกลุ่มมังสวิรัต (ไชยวัฒน์, 2553)

2.2.6 ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารและแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของอาหารเน่าเสีย (ไชยวัฒน์, 2553)

2.2.7 คือตัวยาในกลุ่มยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์ได้แก่ยาปฏิชีวนะ vancomycin และ bacitracin คือตัวยาในกลุ่มยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน ได้แก่ยาปฏิชีวนะ gentamicin kanamycin และ streptomycin คือตัวยาในกลุ่มยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก ได้แก่ ยาปฏิชีวนะ norfloxacin และคือตัวยาในกลุ่มยับยั้งการทำหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์ ได้แก่ยาปฏิชีวนะ polymyxin B นอกจากนี้มีความไวต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์หรือทรัพย์สินทางปัญญาที่ผู้อื่นมิอาจทำซ้ำหรือดัดแปลงโดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตอบสนองยากลุ่มยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์ ได้แก่ ยาปฏิชีวนะกลุ่ม Cephalosporins และ Penicillin เช่น ampicillin cephalothin cefoperazone และ ceftazidime และไวต่อการตอบสนองยากลุ่มยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน ได้แก่ ยาปฏิชีวนะ tetracycline chloramphenicol และ erythromycin (ไชยวัฒน์, 2553)

2.2.8 ความสามารถในการเกาะติดผนังลำไส้ของเจ้าบ้านเป็นคุณสมบัติที่มีความสำคัญในการส่งเสริมสุขภาพของผู้ถูกอาศัย เพราะเป็นการเริ่มต้นของการอาศัยในระบบทางเดินอาหารของสิ่งมีชีวิต และช่วยปรับปรุงระบบภูมิคุ้มกันของเจ้าบ้านหรือผู้ถูกอาศัยได้ แบคทีเรียที่สามารถเกาะติดลำไส้ผู้ถูกอาศัยได้ จะเป็นตัวขับเคลื่อนสำคัญให้ร่างกายผู้ถูกอาศัยเกิดกลไกการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย โดยเฉพาะในลำไส้มีเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันกว่าร้อยละ 80 อยู่บริเวณนี้ จึงถือว่าระบบทางเดินอาหารเป็นแหล่งที่มีบทบาทสูงต่อสุขภาพของสิ่งมีชีวิต เมื่อแบคทีเรียเข้าไปในร่างกายจะทำให้ระบบภูมิคุ้มกันจดจำว่าเป็นจุลินทรีย์ชนิดดีหรือชนิดที่ไม่ดีและมีการตอบสนองที่แตกต่างกัน อย่างเช่น ถ้าเป็นโพรไบโอติกซึ่งเป็นจุลินทรีย์ชนิดดีมีประโยชน์ เมื่อผ่านเข้ามาในระบบทางเดินอาหารและเกาะติดผิวเยื่อบริเวณลำไส้ ระบบภูมิคุ้มกันจะจดจำมีความทนทาน (oral tolerance) ยอมรับให้อยู่ร่วมกันโดยจุลินทรีย์จะอาศัยอาหารในการเจริญเติบโต และผลพลอยได้ก็คือทำให้เจ้าบ้านได้รับสิ่งที่เป็นประโยชน์ร่วมด้วยเป็นการอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัย โดยโพรไบโอติกสามารถทำให้สภาพแวดล้อมที่อาศัยอยู่มีสภาพเป็นกรด ทำให้เชื้อก่อโรคซึ่งมักไม่ทนกรดนั้นไม่สามารถเจริญเติบโตได้ (ไชยวัฒน์, 2553)

นอกจากนี้โพรไบโอติกเพิ่มคุณค่าทางอาหารโดยช่วยให้ระบบย่อยอาหารทำงานได้ดี และช่วยบังคับการเคลื่อนที่ภายในระบบทางเดินอาหารยังสามารถผลิตเอนไซม์ที่ช่วยย่อยสารอาหารบางชนิด และสามารถผลิตวิตามิน สามารถผลิตสารต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรค เช่น กรดอินทรีย์ แบคทีเรียโอซิน ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และสารชนิดอื่นๆ นอกจากนี้ ยังช่วยปรับสมดุลจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ให้สามารถควบคุม จุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหารได้ซึ่งอาจส่งผลดีต่อสุขภาพในด้านอื่นๆ เช่น ช่วยลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือด ช่วยกระตุ้นหน้าที่ของระบบภูมิคุ้มกัน ช่วยป้องกันการติดเชื้อลดการเกิดโรคมะเร็ง

แต่ในทางกลับกัน ถ้าเป็นจุลินทรีย์ชนิดที่ไม่ดีหรือเป็นเชื้อก่อโรค ระบบภูมิคุ้มกันจะตอบสนองแบบต่อต้านโดยกลไกต่างๆ ในการเหนี่ยวนำให้เซลล์ที่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกันมาทำลายหรือดักจับแล้วขับออกจากร่างกาย หรืออาจเหนี่ยวนำให้ระบบภูมิคุ้มกันสร้างสารมาทำลายเชื้อโรคซึ่งถ้ารุนแรงอาจมีการทำลายเซลล์ของเราจนเกิดภาวะการอักเสบรุนแรงได้ ฉะนั้นคุณสมบัติการเกาะติดเซลล์เยื่อของโพรไบโอติกจึงเป็นคุณสมบัติที่มีความสำคัญที่จะเป็นตัวขับเคลื่อนส่งผลต่อสุขภาพของผู้ถูกอาศัย (ไชยวัฒน์, 2553)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 บทบาทของจุลินทรีย์โพรไบโอติกต่อสุขภาพ

จุลินทรีย์โพรไบโอติกจะช่วยรักษาสมดุลของระบบทางเดินอาหารและระบบขับถ่าย สามารถลดการเกิดอาการท้องร่วง ลดการติดเชื้อภายในลำไส้ บรรเทาอาการท้องเสียในทารก ป้องกันและลดภาวะท้องผูก ปรับปรุงความสามารถในการเคลื่อนไหวของลำไส้ และเพิ่มความนุ่มของอุจจาระ เนื่องจากจุลินทรีย์โพรไบโอติกจะมีกลไกในการต่อต้านการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น แย่งที่ยึดเกาะแย่งอาหาร และผลิตสารยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อื่น เช่น กรดแลคติก กรดอะซิติก แบคทีเรียโอซิน ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เป็นต้น นอกจากนี้ประโยชน์ในการรักษาสมดุลในระบบทางเดินอาหารแล้ว ยังมีประโยชน์ในด้านอื่นๆ เช่น ลดภาวะที่ร่างกายไม่สามารถย่อยน้ำตาลแลคโตส มีรายงานว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติกสามารถลดอาการท้องอืด ท้องเฟ้อ ท้องเดิน ปวดท้องจากการดื่มนม เนื่องจากจุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์ β -galactosidase ย่อยแลคโตสในนมได้ ทำให้หมดปราศจากน้ำตาลแลคโตสหรือมีอยู่น้อยเป็นผลให้ผู้ที่ไม่มีการสร้างเอนไซม์ดังกล่าวสามารถดื่มนมและผลิตภัณฑ์นมได้ โดยไม่ทำให้เกิดอาการท้องอืดหรือปวดท้อง ป้องกันหรือรักษาระดับการเกิดสารก่อมะเร็ง จุลินทรีย์โพรไบโอติกมีส่วนช่วยป้องกันมะเร็งลำไส้โดยอาศัยกลไกต่างๆ เช่น ช่วยลดการทำงานของสารก่อมะเร็ง ลดสารเมแทบอลิต์ที่ไม่พึงประสงค์ เช่น แอมโมเนีย อินโดล สแกโทล และลดปริมาณเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็ง ปรับปรุงการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน โดยจุลินทรีย์โพรไบโอติกสามารถกระตุ้น การทำงานของเม็ดเลือดขาวเพื่อจับกินเชื้อโรคและช่วยหลังสารเคมีที่เกี่ยวข้องกับการทำลายเชื้อโรค เช่น ไซโตไคน์ (cytokines) แกมมาโกลบูลิน A อินเตอร์ลิวคิน -1, 2, 5, 6(IL-1, IL-2, IL-5, IL-6) และทูเมอริฟิเคชันแฟกเตอร์แอลฟา (TNF-2) ทำให้ร่างกายป้องกันต่อต้านสิ่งแปลกปลอมและกำจัดเชื้อโรคได้ดียิ่งขึ้น ลดภาวะภูมิแพ้และการอักเสบรุนแรงจุลินทรีย์โพรไบโอติกช่วยลดการสร้างแอนติบอดีที่เกี่ยวข้องกับการตอบสนองต่อสารก่อภูมิแพ้คือ Immunoglobulin E; IgE และการอักเสบอย่างรุนแรงของร่างกายได้ ลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด เนื่องจากคอเลสเตอรอลเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์กลีเซอรีน ซึ่งจุลินทรีย์โพรไบโอติกสามารถสร้างเอนไซม์มาย่อยกลีเซอรีนกลายเป็นกลีเซอรีนอิสระ และขับออกทางอุจจาระได้ จึงทำให้ร่างกายใช้คอเลสเตอรอลเพิ่มเพื่อมาสังเคราะห์กลีเซอรีนทดแทน ส่งผลให้ปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือดลดลง (นฤมล, 2558)

2.4 จุลินทรีย์ที่จัดเป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติก

จุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการผลิตผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม คือ *Lactobacillus* sp. *Bifidobacterium* sp. และอื่นๆ ดังแสดงในตารางที่ 2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 จุลินทรีย์มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก

Lactobacillus species	Bifidobacterium species	Others
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Bacillus cereus</i>
<i>L. amylovorus</i>	<i>B. anonalis</i>	<i>Clostridium botyricum</i>
<i>L. brevis</i>	<i>B. breve</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>L. casei sp.rhamnosus</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>B. lactis</i>	<i>Lactococcuslactis</i>
<i>L. delbrueckii sp.bulgarius</i>	<i>B. longum</i>	<i>sp.cremoriss</i>
<i>L. fermentum</i>		<i>Lactococcuslactis sp.lactis</i>
<i>L. gasseri</i>		<i>Leuconostocmesenteroidessp.</i>
<i>L. helveticus</i>		<i>dextranicum</i>
<i>L. johnsonii</i>		<i>Pediococcus acidilactis</i>
<i>L. lactis</i>		<i>Propionibacteriumfreuden-</i>
<i>L. paracasei</i>		<i>recchii</i>
<i>L. plantarum</i>		<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>L. reuteri</i>		<i>Streptococcus salvarius</i>
		<i>sp.thermophilus</i>

ที่มา: Prado et al. (2008)

Lactobacillus sp. เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ มีรูปร่างเป็นท่อน หรือ กลม กระจายเป็นเซลล์เดี่ยวหรือต่อกันเป็นเส้นสาย สามารถเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสให้เป็นกรดได้สูง และนำมาใช้ประโยชน์ในการหมักอาหารบางชนิด เช่น โยเกิร์ต เนย เป็นต้น พบทั่วไปในสิ่งแวดล้อม และในระบบทางเดินอาหาร และ *Bifidobacterium* sp.เป็นแบคทีเรีย แกรมบวก รูปร่างท่อน เจริญในสภาพไร้ออกซิเจน ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ มีอยู่หลายสายพันธุ์ ที่นำมาใช้ประโยชน์ในการผลิต นมหมัก ได้แก่ *B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis* และ *B. breve* สายพันธุ์ที่พบมากที่สุดในร่างกาย คือ *B. infantis* และพบมากในทารกที่ดื่มนมแม่มากกว่าดื่มนมขวด (นฤมล, 2558)

ในปัจจุบันมีการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกที่ไม่ได้ผลิตจากนมทั้งในประเทศและต่างประเทศ ในรูปผลิตภัณฑ์หมักต่างๆ ซึ่งสามารถแบ่งกลุ่มตามวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตได้เป็น 3 กลุ่ม คือ ผลิตภัณฑ์หมักจากผัก ผลไม้ จากธัญพืช และจากเนื้อสัตว์ ดังต่อไปนี้

ผักและผลไม้

ในปัจจุบันการพัฒนาเครื่องดื่มจากน้ำผักผลไม้เสริมด้วยจุลินทรีย์โพรไบโอติกและพรีไบโอติก เป็นเรื่องน่าสนใจ เนื่องจากนอกจากจะช่วยแก้ปัญหาอาการแพ้นม แล้วในน้ำผักผลไม้ยังประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิตามิน แร่ธาตุ เส้นใย สารต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ยังรับประทานง่าย รสชาติถูกใจผู้บริโภคอีกด้วย ดังนั้นในปัจจุบันจึงมีการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์ โพรไบโอติกจากผักและผลไม้ในประเทศต่างๆ ดังต่อไปนี้ในปีคริสต์ศักราช 1996 บริษัท Valio จำกัด ได้เริ่มพัฒนาเครื่องดื่มผลิตภัณฑ์ น้ำผลไม้โพรไบโอติก Gefilus ซึ่งผลิตจากเชื้อ *L. rhamnosus* GG และ *Propionibacterium freudenreichii* ซึ่งสามารถเก็บไว้ในตู้เย็นได้นาน 5 สัปดาห์ นอกจากนี้บริษัท Tine BA ประเทศนอร์เวย์ ได้ผลิตเครื่องดื่มน้ำผลไม้ Biola เป็นน้ำผลไม้โพรไบโอติกที่ประกอบด้วยผลไม้ 95 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีการเติมน้ำตาล และมีหลายรสชาติ ผลิตจากเชื้อ *L. rhamnosus* GG และผลิตภัณฑ์ Hardaliye เป็นเครื่องดื่มกรดแลคติกจากการหมักน้ำองุ่นแดง และมีการเติมเมล็ดคัมภีร์คอบและกรดเบนโซอิกเพื่อยับยั้งการเจริญของยีสต์สามารถพบเครื่องดื่มชนิดนี้ได้ในตุรกี หลังกระบวนการหมักจะเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C แบคทีเรียแลคติกที่พบ ได้แก่ *L. paracasei*, *L. casei*, *L. brevis*, *L. pontis*, *L. acetotolerans*, *L. sanfransisco* และ *L. vaccinostercus* ต่อมาในปี 2011 ได้มีการศึกษาการผลิตน้ำทับทิมโพรไบโอติกจากเชื้อจุลินทรีย์แลคติก พบว่า *L. plantarum* และ *L. delbruekii* สามารถหมักได้เร็วและมีชีวิตรอดในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำกว่า *L. paracasei* และ *L. acidophilus* ส่วนในประเทศไทย สุคนธ์ ตันติไพบูลย์วุฒิ และคณะ (2554) รายงานว่า น้ำลำไยที่หมักด้วย *L. casei* TISTR 390 และ *L. plantarum* TISTR 863 สามารถเจริญได้ดีและมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ถึง 9 log cfu/ml. เมื่อบ่มเป็นเวลา 72 ชั่วโมง และเมื่อเก็บรักษาไว้ในตู้เย็น 2 สัปดาห์ยังคงมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เหลือรอดไม่น้อยกว่า 6 log cfu/ml. และพบว่าการเติมน้ำตาลและน้ำผึ้งที่ความเข้มข้น 10 % จะช่วยเพิ่มการมีชีวิตรอดของแบคทีเรียแลคติกได้ (นฤมล, 2558)

ธัญพืช

จากการผลิตและวิจัยที่ผ่านมาได้มีการวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกโดยใช้ธัญพืชเป็นวัตถุดิบในกระบวนการหมัก เนื่องจากธัญพืชเป็นแหล่งสารอาหารให้กับเชื้อจุลินทรีย์ประกอบด้วย โปรตีน คาร์โบไฮเดรต วิตามิน เกลือแร่ และเส้นใย นอกจากนี้ยังพบว่าธัญพืชหลายชนิดมีใยอาหารที่มีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติกซึ่งเป็นแหล่งอาหารให้กับจุลินทรีย์โพรไบโอติกได้ เช่น ข้าว ข้าวโพด ถั่วเหลือง พืชหัว อื่นๆ จากข้อดีดังกล่าวจึงทำให้มีการผลิตเครื่องดื่มธัญพืชหมักในหลายๆ ประเทศ เช่น ในปี 2003 มีรายงานของ Blandino *et al.* ว่ามีการผลิตเครื่องดื่มพื้นเมืองชื่อว่า Boza เป็นเครื่องดื่มที่บริโภคในประเทศบัลแกเรีย แอลเบเนีย ตุรกีและโรมาเนีย มีลักษณะเป็นคอลลอยด์ที่มีสีน้ำตาลอ่อน มีรสหวานอมเปรี้ยวเล็กน้อย ผลิตจากข้าวสาลี ข้าวไรย์ ข้าวฟ่าง ข้าวโพด และธัญพืชอื่นๆ ผสมกับน้ำตาล หมักด้วยยีสต์และแบคทีเรียกรดแลคติก เครื่องดื่มดังกล่าวเป็นเครื่องดื่มที่นิยมบริโภคในชีวิตประจำวันของผู้คนทุกเพศทุกวัย เนื่องจากมีรสชาติ กลิ่น ที่น่าพึงพอใจและมีคุณค่าทางโภชนาการสูง เชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้ส่วนใหญ่ประกอบด้วยแบคทีเรียกรดแลคติก:ยีสต์ ในอัตราส่วน 2:4 ตามลำดับ โดยแบคทีเรียกรดแลคติกที่พบ ได้แก่ *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. fermentum*, *L. coprophilus*, *Leuconostoc creffinolactis*, *Leuconostoc mesenteroides* และ *L. brevis* ส่วนยีสต์ที่พบ ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida tropicalis*, *C. glabrata*, *Geotrichum penicillatum* และ *G. candidum* (นฤมล, 2558)

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์ของบริษัทฯ เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื้อสัตว์

เนื้อสัตว์เป็นแหล่งอาหารที่ดีสำหรับเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องจากมีสารอาหารที่อุดมสมบูรณ์ ผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก แบ่งตามวัตถุดิบหลักๆ ได้ 2 กลุ่ม คือ เนื้อ และปลา ซึ่งผลิตภัณฑ์จากเนื้อหมัก เช่น แหนม ไส้กรอกเปรี้ยว เป็นต้น ซึ่งจะเกิดการหมักเนื่องจากแบคทีเรียกรดแลคติกร่วมกับยีสต์ โดยในกระบวนการหมักจะมีการเติมส่วนผสมต่างๆ เช่น น้ำตาล ข้าวสุก เพื่อเป็นสารอาหารให้จุลินทรีย์เจริญเติบโตเพื่อยับยั้งการเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคและที่ทาให้อาหารเน่าเสีย สารประกอบไนไตรท์ ไนเตรต เพื่อช่วยปรับปรุงสีและยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคบางชนิด และเครื่องเทศ ปรับปรุงกลิ่นรสและยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค ในกรณีไส้กรอกเปรี้ยว จะมีการเติมไขมัน และหมักในไส้ ส่วนแหนมอาจหมักในถุงพลาสติกหรือใบตอง เป็นต้นเมื่อจุลินทรีย์เกิดการหมักจะทำให้เนื้อหมัก มีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงเหลือต่ำกว่า 4.6 จึงสามารถยับยั้งการเจริญและการงอกของสปอร์ของจุลินทรีย์ก่อโรคได้ ซึ่งแบคทีเรีย แลคติกที่มีบทบาทในกระบวนการหมัก เช่น *L. casei*, *L. curvatus*, *L. pentosus*, *L. plantarum*, *L. sakei*, *Pediococcus acidilactici* และ *P. pentosaceus* โดยกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ ดังนั้นจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการหมักจะเป็นจุลินทรีย์ที่ทนเกลือ เช่น *Lactobacillus* sp., *L. plantarum*, *L. pentosus* และ *Leuconostoc* sp. เป็นต้น แต่อย่างไรก็ตามในกระบวนการหมักในปัจจุบันส่วนใหญ่เป็นการหมักตามธรรมชาติ ไม่มีการเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก จึงทำให้ผลิตภัณฑ์ปลาหมักดังกล่าวมีจุลินทรีย์โพรไบโอติกน้อยกว่ามาตรฐาน และอาจมีจุลินทรีย์ก่อโรคปนเปื้อนอยู่ได้ ดังนั้นจึงไม่สามารถจัดเป็นผลิตภัณฑ์โพรไบโอติก ซึ่งการที่จะสามารถจัดเป็นผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกได้ควรพิสูจน์ว่าผลิตภัณฑ์มีปริมาณจุลินทรีย์โพรไบโอติกเป็นองค์ประกอบตามมาตรฐานที่กำหนด และมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค (นฤมล, 2558)

ในประเทศไทยมีการผลิตและจำหน่ายผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก เช่น แหนม ไส้กรอกอีสาน เป็นต้น รวมทั้งน้ำผลไม้เสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติก *L. paracasei* ภายใต้เครื่องหมายการค้ามาลี แต่ในต่างประเทศมีการผลิตและจำหน่ายอย่างแพร่หลาย เช่น น้ำผลไม้โพรไบโอติก ในเครื่องหมายทางการค้า Good Belly ซึ่งผลิตจาก *Lactobacillus plantarum* 299v แสดงดังภาพที่ 1 (นฤมล, 2558)



ภาพที่ 2.1 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกที่ไม่ได้ผลิตจากนมที่จำหน่ายในปัจจุบัน ได้แก่ แหนม (A), น้ำผลไม้เสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติกในเครื่องหมายการค้ามาลี (B), น้ำผลไม้โพรไบโอติกในเครื่องหมายทางการค้า Good Belly (C)

ที่มา: เทสโก้โลตัสสตอทคอม; MGR Online; Good Belly.com/สืบค้นเมื่อ 25 มีนาคม 2560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5. ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความอยู่รอดของโพรไบโอติก

พารามิเตอร์หลักที่ส่งผลกระทบต่อชีวิตของโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์อาหารได้แก่พันธุ์/สายพันธุ์ที่ใช้ (Kailasapathy et al. 2008), ผลของกระบวนการผลิตโพรไบโอติก (Saarela et al. 2009), องค์ประกอบของผลิตภัณฑ์อาหาร (Shah 2000), อุณหภูมิและเวลา (Saarela et al. 2006a), ระดับออกซิเจน (โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีของ *Bifidobacterium*) (Shah 2000), และชนิดของภาชนะบรรจุ (Champagne et al. 2008) โดยข้อความด้านล่างจะกล่าวถึงรายละเอียดเพิ่มเติม

2.5.1 สกูล/พันธุ์/สายพันธุ์

ชนิดของโพรไบโอติกมีผลมากต่อความทนทาน (Alamprese et al. 2002; Champagne & Gardner, 2008) ทั่วไป สายพันธุ์ของ *Bifidobacterium* ดูเหมือนจะ มีความอ่อนแอกว่าสายพันธุ์ *Lactobacillus* (Shah, 2000; Annan et al., 2008) แม้ว่าศึกษาที่สปีชีส์เดียวกัน *L. casei* and *L. rhamnosus* อยู่รอดดีกว่า *L. acidophilus* ในชีสระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ (Champagne et al. 2005) ในการศึกษาอื่น ให้ผลในทำนองเดียวกัน *L. Rhamnosus* พบการอยู่รอดดีระหว่างการเก็บรักษา ในน้ำผลไม้ที่ 4 °C 80 วัน ในขณะที่สองสายพันธุ์ของ *L. acidophilus* พบความเสถียรต่ำกว่า (Champagne & Gardner, 2008) นอกจากนี้ Sadaghdar et al. (2012) รายงานว่า *Lactobacillus* strains และ *L. casei* แสดงการอยู่รอดสูงสุดระหว่างการเก็บรักษาตู้เย็นในผลิตภัณฑ์นมหมัก (5 °C, 21 วัน), ในขณะที่ *L. acidophilus* พบการอยู่รอดต่ำ

2.5.2 ผลของกระบวนการผลิตโพรไบโอติก

โพรไบโอติกที่ผลิตผ่านกระบวนการหมัก ในระหว่างที่เซลล์เติบโตใน bioreactors และมีหลังการเก็บเกี่ยว การใช้ cryo protectant ที่เหมาะสม และการอบแห้ง มีแนวโน้มที่มีผลต่อความทนทานของโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์อาหาร แนวโน้มที่จะมีบทบาทสำคัญ pH เวลาเจริญเติบโต และ สภาพบรรยากาศ มีผลต่อสรีรวิทยาของเซลล์ (Saarela et al. 2009) Palmfeldt and Hahn-Hagerdal (2000) รายงานว่าการเติบโต *L. reuteri* ที่ pH 5 แทน ที่ pH 6 เพิ่มศักยภาพของเซลล์ระหว่างการอบแห้งแบบแช่เยือกแข็ง พบว่า อัตราการอยู่รอดสูงสุด (ประมาณ 80%) เมื่อเซลล์ถูกเลี้ยงที่ pH 5 และเก็บเกี่ยวหลัง 2.5 ชั่วโมงในระยะ stationary phase ผู้เขียนเดียวกันยังมีรายงานอีกว่า การตอบสนองของเซลล์ยังสามารถป้องกันเซลล์จากความเครียดอื่น ๆ นอกจากนี้ ยังพบว่าระยะ stationary phase เซลล์สามารถคงทนได้มากกว่าช่วงระยะอื่น (Kim et al. 2001 Saarela et al. 2009) เซลล์โพรไบโอติกสามารถเพิ่มลงในผลิตภัณฑ์อาหารเป็นแบบสด แช่แข็ง หรือแช่เยือกแข็ง (Saarela et al. 2006a) ได้ แช่เยือกแข็ง เป็นวิธีการทั่วไปที่ใช้สำหรับผลิตผงแบคทีเรียแช่แข็ง แช่เยือกแข็งต่อการจัดการมากกว่าเซลล์แช่แข็ง (Saarela et al. 2006a) มีข้อมูลน้อยมากเกี่ยวกับผลกระทบของกระบวนการทำแห้งการอยู่รอดต่อไปของโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์อาหาร (Gardiner et al. 2000) Saarela et al (2006b) พบรายงานการใช้เซลล์สด *L. Rhamnosus* ที่ถูกเพิ่มลงในน้ำแอปเปิ้ลผสมกับการผสมข้าวโอ๊ต (ข้าวโอ๊ตแป้งกับ 20% β -กลูแคน) เซลล์ *L. Rhamnosus* รอดดีกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลล์แห้ง เซลล์คงจะบาดเจ็บในระหว่างการแช่แข็งกระบวนการทำแห้ง และเซลล์จึงมีความไวต่อสภาวะ เป็นกรดของผลิตภัณฑ์

2.5.3. องค์ประกอบของผลิตภัณฑ์อาหาร

การรอดชีวิตของแบคทีเรียขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น pH กรด อินทรีย์ น้ำตาล เส้นใยอาหาร โปรตีน สารประกอบฟีนอลิก และวอเตอร์แอกติวิตี (Shah 2000 Champagne & Gardner 2008) ผลกระทบเหล่านี้อาจจะสามารถอธิบายความแตกต่างในการอยู่รอดของ เซลล์ระหว่างผลิตภัณฑ์อาหารต่าง ๆ เช่น การอยู่รอดของ *L. rhamnosus* ได้สูงกว่าเมื่อเทียบกับน้ำแอปเปิ้ล รัญพีซอาหารเข้าเคลือบช็อคโกแลต (Saarela et al. 2006b), ในขณะที่ความอยู่รอดของ *B. animalis* subsp. *lactis* E-2010 (บีบี-12) ในน้ำนมได้สูงกว่าในน้ำผลไม้ (Saarela et al. 2006a)

ระหว่างปัจจัยดังกล่าวข้างต้น สิ่งดูเหมือนจะมีผลต่อการอยู่รอดโพรไบโอติกส่วนใหญ่ คือ ค่า pH ต่ำและปริมาณกรดอินทรีย์ (Champagne et al. 2005 Saarela et al. 2009) กรดทำลายเซลล์ แบคทีเรียนั้นเข้าสู่ภายในพลาสมา พวกเขายกตัวออก ลดค่า pH ภายในเซลล์ และยับยั้งการทำปฏิกิริยา เผลผลาญอาหาร เพื่อรักษาค่า pH ภายในเซลล์ของเซลล์ การใช้พลังงานที่เพิ่มขึ้นจึงจำเป็น (Shabala et al. 2006; Saarela et al. 2009) ในอาหารพลังงานนี้สามารถพบได้จากการหมักน้ำตาล (เช่นกลูโคส) จึงเพิ่มความอยู่รอดของเซลล์ (Dave & Shah, 1998; Sandholm et al., 2002) ในแบบจำลองระบบ มันแสดงให้เห็นที่ที่สภาวะ pH ต่ำ (pH ~ 2.0) การปรากฏตัวของน้ำตาลเพิ่มความอยู่รอดของสายพันธุ์ *Lactobacillus* ใน ระยะสั้น อย่างไรก็ตามน่าจะเป็นสายพันธุ์เฉพาะด้วย เช่น *L. rhamnosus* GG (Charalampopoulos et al., 2003) อยู่รอดได้ดีกว่า *L. rhamnosus* E800 (Corcoran et al. 2005) ในแง่ของแหล่งไนโตรเจน มันแสดงให้เห็นว่าเวย์โปรตีน ซึ่งมักจะถูกเพิ่มใน โยเกิร์ต เปปไทด์และกรดอะมิโนเซลล์ มีผลในการอยู่รอดที่ดีขึ้นระหว่างการเก็บรักษา (Dave และ Shah 1998 Shah 2000)

ใยอาหารเป็นส่วนที่กินได้ของพืชที่ทนต่อการย่อยอาหารและการดูดซึมในลำไส้เล็ก ของมนุษย์ และเป็นทั้งหมด หรือเพียงบางส่วนหมักในลำไส้ใหญ่ (Saarela et al. 2006b) เส้นใยสามารถ ปกป้องเซลล์โพรไบโอติกผ่านทางกลไกที่เกี่ยวข้องกับ immobilisation ทางกายภาพของเซลล์ (Saarela et al., 2006b; do Espirito Santo et al., 2012) ตัวอย่างของเส้นใยอาหาร เช่น ข้าวโอ๊ต β -กลูแคน ที่ลงใน โยเกิร์ตทำให้การอยู่รอดของ *B. animalis* subsp. *lactis* ดีขึ้นในระหว่างการเก็บในตู้เย็นเป็นเวลานาน (Vasiljevic et al., 2007) นักวิจัยอื่น ๆ มีรายงานว่า แป้งข้าวโอ๊ตกับ 20% β -กลูแคน สามารถป้องกัน *L. Rhamnosus* ระหว่างการเก็บรักษาในน้ำแอปเปิ้ล (Saarela et al. 2006b)

2.5.4 อุณหภูมิและเวลา

การเก็บผลิตภัณฑ์นมที่ประกอบด้วยโพรไบโอติก เช่น โยเกิร์ตและนมหมักในตู้เย็นช่วย เพิ่มศักยภาพของโพรไบโอติก (Krasaekoopt et al. 2003) โดยทั่วไปอุณหภูมิต่ำช่วยเพิ่มความอยู่รอดของ โพรไบโอติก ดังนั้นตู้เย็นจึงมีการใช้อุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียสเป็นอุณหภูมิเหมาะสมที่สุด (Saarela et al.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2006a Champagne et al. 2008) ในสภาพแวดล้อมที่เป็นกรด อัตราการแพร่ของกรดลงในเซลล์ในอุณหภูมิสูง (เช่น 25 ° C) จะเร็วกว่าในต่ำอุณหภูมิ (เช่น 4 ° C) (Salminen & Wright, 1998)

2.5.5. ระดับออกซิเจน

การศึกษาจำนวนมากได้แสดงให้เห็นว่า ออกซิเจนมีผลต่อการอยู่รอดของโพรไบโอติก โดยทั่วไป สายพันธุ์ของบีฟิโดแบคทีเรีย มีความไวต่อออกซิเจนมากกว่าแลคโตบาซิลลัส (Talwalkar & Kallasapathy, 2003 Burgain et al. 2011) Champagne et al. (2008) แสดงผลว่าออกซิเจนไม่มีผลกับการอยู่รอดของ *L. rhamnosus* R0011 ในน้ำแอปเปิ้ล ในสภาวะที่ยังไม่เปิดขวด และเปิดขวดพร้อมเขย่า บีฟิโดแบคทีเรียไม่ใช้ออกซิเจน อย่างไรก็ตาม ความไวต่อออกซิเจนเปลี่ยนแปลงตามสายพันธุ์และสปีชีส์ (Biavatie et al., 2000) ออกซิเจนไม่สามารถทำลายเซลล์ด้วยตัวเอง ในเมแทบอลิซึม ออกซิเจนบางส่วนลดลงเป็นน้ำ ยังนำไปสู่การก่อตัวของปฏิกิริยา ซึ่งรวมถึงการซูเปอร์ออกไซด์ไอออนอนุมูล (O_2^-), ไฮดรอกซิลอนุมูล (OH), และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ตัวกลางเหล่านี้มีความเป็นพิษต่อเซลล์ (Miyoshi, et al., 2003)

2.5.6 ชนิดของภาชนะบรรจุ

ภาชนะและบรรจุภัณฑ์เป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความอยู่รอดของเซลล์ ทั่วไประดับออกซิเจนในภาชนะระหว่างการเก็บรักษาควรต่ำที่สุดเพื่อหลีกเลี่ยงการตายของเซลล์ (Cruz et al., 2007) Dave and Shah (1997) ศึกษาการอยู่รอดของแบคทีเรียในโยเกิร์ตในแก้วและภาชนะพลาสติกความหนาแน่นสูง 35 วัน ระดับของออกซิเจนละลายน้ำได้ต่ำกว่าในแก้วมากกว่าในบรรจุภัณฑ์พลาสติก อย่างมีนัยสำคัญ และเป็นผลให้เซลล์อยู่รอดได้สูงกว่า Jayamanne and Adams (2004) พบว่า *Bifidobacterium* สายพันธุ์ meekiri ในนมควายหมักกรดดีที่สุดในขวดแก้ว ตามด้วยพลาสติก และภาชนะหม้อดิน เมื่อเก็บไว้ที่ 29 องศาเซลเซียส เป็นเวลามากกว่า 4 วัน เหตุผลหลักสำหรับจำนวนเซลล์ต่ำในหม้อดินคือการกระจายของออกซิเจนในภาชนะบรรจุ

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Nualkaekul et al., 2011a,b ศึกษาการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์ในสารละลายสังเคราะห์ที่ทำเลียนแบบน้ำผลไม้ โดยเก็บรักษาในตู้เย็นเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ คัดเลือกปัจจัยที่มีผลต่อการอยู่รอด คือ ค่าความเป็นกรด-ด่าง กรดซิตริก กรดแอสคอร์บิก โปรตีน และเส้นใยอาหาร ใช้โมเดลทางคณิตศาสตร์มาช่วยในการพัฒนา ทำนายแนวโน้มว่าค่าความเป็นกรด-ด่างมีผลทางด้านลบกับการอยู่รอดของเซลล์ ในขณะที่กรดซิตริก โปรตีน และเส้นใยอาหารมีผลในด้านบวก แต่ทว่ากรดแอสคอร์บิกไม่มีผลใด ๆ โมเดลทางคณิตศาสตร์สามารถใช้ทำนายการรอดชีวิตของจุลินทรีย์โพรไบโอติกในน้ำส้ม น้ำแบล็คเคอเรียนท์ และน้ำสับประรด ได้เป็นอย่างดี อย่างไรก็ตามมันล้มเหลวสำหรับการทำนายในน้ำสตอเบอร์รี่ น้ำแครนเบอร์รี่ และน้ำทับทิม ซึ่งคาดว่าน่าจะเป็นผลของค่าความเป็นกรด และสารประกอบฟีนอลิกที่มีปริมาณสูง ได้มีการรายงานการรอดชีวิตของโพรไบโอติกในน้ำชนิดต่างๆ สรุปดังตารางที่ 2.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่หรือใช้ซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการรอดชีวิตของโพรไบโอติกในน้ำชนิดต่างๆ

สายพันธุ์	ชนิดของน้ำ	pH	เงื่อนไขการเก็บรักษา	การรอดชีวิต	อ้างอิง
<i>B. animalis</i> subsp. <i>lactis</i> E-2010 (Bb-12)	น้ำส้ม น้ำอุน น้ำเสาวรส	3.7	เก็บที่ 4 and 20 °C มากกว่า 6 สัปดาห์	ที่ 20 °C การรอดชีวิตลดลง 4 log CFU/mL จาก 7.5-8.4 log CFU/mL	Saarela et al. (2006a)
<i>L. rhamnosus</i> E-97800	แอปเปิ้ล	3.5	เติม oat flour กับ 20% β -glucan เก็บ 12 สัปดาห์ที่ 4 °C และ 20 °C	เก็บที่ 4 °C ดีกว่าที่ 20 °C ไม่พบการปกป้องจาก oat flour	Saarela et al. (2006b)
<i>L. salivarius</i> UCC118, <i>L. salivarius</i> UCC500, <i>B. lactis</i> Bb-12, <i>L. casei</i> DN-114 001, <i>L. rhamnosus</i> GG and <i>L. paracasei</i> NFBC43338	น้ำส้ม น้ำสัปรด น้ำแครนเบอร์รี่	OJ ~ 3.65, PJ ~ 3.40, CJ ~ 2.50	เก็บ 12 สัปดาห์ที่ 4 °C	เซลล์เริ่มต้น 10 ⁸ log CFU/mL การรอดชีวิตมากกว่า 10 ⁷ CFU mL ในน้ำส้ม และสูงกว่า 10 ⁶ CFU/mL ในน้ำสัปรด รดหลังการเก็บ 12 สัปดาห์	Sheehan et al. (2007)
<i>L. rhamnosus</i> , <i>B. longum</i> , <i>L. salivarius</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>B. lactis</i> type Bi-04 and <i>B. lactis</i> type Bi-07	น้ำส้ม น้ำแอปเปิ้ล	~ 2.8	เก็บ 6 สัปดาห์ที่ 4 °C	ไม่พบการรอดชีวิตหลังสัปดาห์ที่ 5	Ding and Shah (2008)
<i>L. acidophilus</i> LB2, LB3 and LB45, <i>L. brevis</i> LB6, <i>L. rhamnosus</i> LB11 and LB24, <i>L. fermentum</i> LB32, <i>L. plantarum</i> LB42 and <i>L. reuteri</i> LB38.	น้ำสัปรด น้ำแอปเปิ้ล น้ำส้ม น้ำลูกแพร์ น้ำอุน น้ำเสาวรส น้ำเลมอน	4.2	เก็บ 80 วันที่ 4 °C	ส่วนใหญ่พบการรอดชีวิตที่สูง หลังการเก็บ 80 วัน	Champagne and Gardner (2008)
<i>L. rhamnosus</i> R0011	น้ำปั่นแอปเปิ้ล แพร์ ราสเบอร์รี่	3.6-3.9	เก็บ 6 สัปดาห์ที่ 2 และ 7 °C ภายใต้สภาวะไม่มีอากาศ (ปิดฝาขวด) และมีอากาศ (เปิดขวด เขย่า)	ขวดที่ไม่ได้เปิด การมีชีวิตรอด 75% หลัง 5 สัปดาห์ของการเก็บที่ 7 °C ในขณะที่เปิดขวด ที่ 7 °C การมีชีวิตรอด 20-40%. การรอดชีวิตของการเก็บที่ 4 °C ดีกว่าการเก็บที่ 7 °C เป็น 2 เท่า	Champagne et al. (2008)

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 การเตรียม *Pediococcus pentosaceus*

Pediococcus pentosaceus PC 73-3 (ไอโซเลตจากปลาจ่อม โดย ศ.ดร.สมบูรณ์ ธนาสุภวัฒน์ และ ได้มีการทดสอบ IL-12 แล้วพบว่ามีค่าสูงถึง 1062.29 pg/mL) ได้นำมาใช้สำหรับการทดลองนี้ มีการเก็บรักษาใน 2 มิลลิลิตร-cryovials ที่มีกลีเซอริน 20 % ที่ตู้แช่แข็ง -80 องศาเซลเซียส เพิ่มปริมาณของเซลล์โดยเลี้ยงในอาหาร MRS broth บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 16 ชั่วโมงในสภาวะมีอากาศ เซลล์เก็บโดยการปั่นเหวี่ยงและใช้ PBS ล้าง ความเข้มข้นของเซลล์อยู่ที่ 10^{10} CFU ต่อมิลลิลิตร

3.2 แผนการทดลองแบบ Central Composite Design (CCD)

วางแผนการทดลองแบบ Central Composite Design (CCD) โดยศึกษาปัจจัย 3 ชนิด ชนิดละ 5 ระดับ คือ (ตารางที่ 1.1)

3.2.1 ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ช่วงตั้งแต่ 3-7

3.2.2 ปริมาณกรด (กรดซิตริก+กรดมาลิก) ช่วงตั้งแต่ 0-5 กรัมต่อลิตร

3.2.3 สารประกอบฟีนอลิก (Gallic acid) ช่วงตั้งแต่ 50-150 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 3.1 การแบ่งระดับของปัจจัยต่าง ๆ

ปัจจัย	-1.68	-1	0	+1	+1.68
pH	3	3.81	5	6.19	7
ปริมาณกรด	0	1.01	2.5	3.99	5
สารประกอบฟีนอลิก	50	70.24	100	129.76	150

ได้เป็น 17 สิ่งทดลอง ดังรายละเอียดตามตารางที่ 1.2

ตารางที่ 3.2 สิ่งทดลองสำหรับการทดสอบในแบบจำลองน้ำผัก

Solution	pH	Citric + malic acid	Phenolic Compound	pH	Citric + malic acid (g/L)	Phenolic Compound (mg/L)
1	-1	-1	-1	3.81	1.01	70.24
2	1	-1	-1	6.19	1.01	70.24
3	-1	1	-1	3.81	3.99	70.24
4	1	1	-1	6.19	3.99	70.24
5	-1	-1	1	3.81	1.01	129.76
6	1	-1	1	6.19	1.01	129.76
7	-1	1	1	3.81	3.99	129.76
8	1	1	1	6.19	3.99	129.76
9	0	0	-1.68	5	2.5	50
10	0	0	+1.68	5	2.5	150
11	-1.68	0	0	3	2.5	100
12	+1.68	0	0	7	2.5	100
13	0	-1.68	0	5	0	100
14	0	+1.68	0	5	5	100
15	0	0	0	5	2.5	100
16	0	0	0	5	2.5	100
17	0	0	0	5	2.5	100

ใช้สถิติเพิลรีเกรชัน (Multiple regression) วิเคราะห์

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3$$

ค่า Y คือ $[\log_{10} N_{0week} - \log_{10} N_{6week}]$, $\beta_0, \beta_1, \beta_2, \beta_3, \dots, \beta_{23}$ คือ regression coefficients, และ X_1, X_2, X_3 คือ ค่าความเป็นกรด-ด่าง กรดซิตริก+กรดมาลิก และค่าสารประกอบฟีนอลิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3. การเตรียมสารละลายจำลองน้ำผัก

ทำได้โดยผสมน้ำตาลซูโครสให้ได้ความเข้มข้น 2 % และปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของสารละลายโดยใช้ 1 M HCl และ NaOH ปริมาณกรดซิตริก และกรดมาลิกให้ผสมกันในอัตราส่วน 1:1 และใช้กรดมาลิกใส่ในปริมาณตามที่กำหนดในตารางที่ 1.1 หลังจากนั้นใช้ฟิลเตอร์สเตอริไรซ์ ขนาด 0.22 μm และใส่เชื้อลงไปให้มีความเข้มข้นเริ่มต้น 10^8 CFU/mL เก็บรักษาไว้ที่ตู้เย็นอุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส มีการเก็บตัวอย่างทุกสัปดาห์เพื่อวัด pH และดูแนวโน้มการรอดชีวิต

3.4. การศึกษาการรอดชีวิต

ใช้วิธี Spread plate โดยเก็บตัวอย่างทุกสัปดาห์จนกระทั่ง 6 สัปดาห์ มีการทำเจือจางโดยใช้ PBS และมีการสเปรดบน MRS agar 3 ซ้ำ มีการบ่มเพลทที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 3 วัน หลังจากนั้นจึงนำมานับผล

3.5. การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และใช้เครื่อง HPLC (Nualkaekul et al., 2011a) ส่วนปริมาณฟีนอลิกคอมพาวด์ใช้ Folin-Ciocalteu assay (Lukanin et al., 2003) โดยมีการปั่นเหวี่ยงให้สีก่อน และใช้ 0.5 มิลลิลิตรของน้ำผักที่ใส่แล้วมาผสมกับ 0.5 มิลลิลิตรของ Folin-Ciocalteu reagent และสารละลาย 20% Na_2CO_3 เจือจางโดยน้ำกลั่นให้ได้ 50 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 30 นาทีที่อุณหภูมิห้อง ใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์วัดที่ 630 nm นำมาเทียบค่ากับสารละลายมาตรฐานกาตาลิก แอซิด

3.6. การรอดชีวิตในน้ำผัก

ได้มีการชื้อน้ำผัก 7 ชนิด (น้ำผักข้าว น้ำบิทรูท น้ำมะเขือเทศ น้ำหน้้าบักกิ้ง น้ำแครอท น้ำใบย่านาง น้ำใบบัวบก) จากซูเปอร์มาร์เก็ตท้องถิ่น นำมาทำการพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส 30 วินาที ก่อนทำการใส่เชื้อลงไปให้มีความเข้มข้นเริ่มต้นประมาณ 10^8 CFU/mL มีการเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส 6 สัปดาห์ มีการเก็บตัวอย่างวิเคราะห์ทุกสัปดาห์สำหรับค่าความเป็นกรดต่าง องค์ประกอบทางเคมีที่เปลี่ยนไป และการรอดชีวิต ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.7. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ใช้โปรแกรมสำเร็จรูปคำนวณ และมีการใช้ t-test ในการเปรียบเทียบระหว่างคู่ระหว่างสัปดาห์ที่ 0 และสัปดาห์ที่ 6 ถ้าค่า P-value ต่ำกว่า 0.05 หมายความว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4 ผลการวิจัย

4.1 การรอดชีวิตของเซลล์ในแบบจำลองน้ำผัก

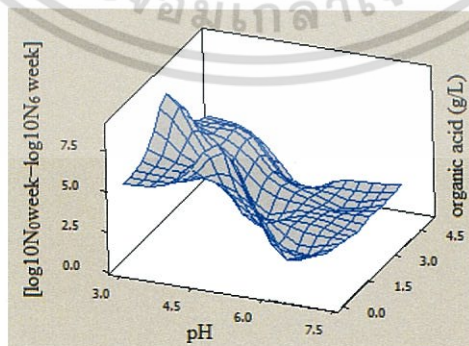
ความเข้มข้นของ *P. pentosaceus* ระหว่างการเก็บรักษาในแบบจำลองน้ำผัก ความแตกต่างของ \log ในระหว่างสัปดาห์ที่ 0 และสัปดาห์ที่ 6 [$\log_{10}N_{0\text{week}} - \log_{10}N_{6\text{week}}$] แสดงในตารางที่ 4.1 ในจำนวนสารละลายจำลองเกือบทั้งหมด จำนวนของเซลล์ลดลงอย่างช้า ๆ หลัง 2 อาทิตย์ของการเก็บรักษา โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีของสารละลายที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำ จำนวนความเข้มข้นของเซลล์ก็ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในสัปดาห์ที่ 5 และ 6 อย่างไรก็ตามส่วนใหญ่เซลล์สามารถอยู่รอดได้และมีจำนวนมากกว่า 10^7 CFU/mL จำนวนการรอดชีวิตของเซลล์ที่ต่ำที่สุด ถูกพบในสิ่งทดลองที่ 11 ซึ่งมีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำที่สุด ($\text{pH} = 3$) ค่าความเข้มข้นของกรดอินทรีย์คู่เหมือนจะช่วยสนับสนุนการอยู่รอดของเซลล์ ดังจะเห็นได้จากผลในสิ่งทดลองที่ 4, 8 และ 14

4.2 การพัฒนาโมเดลทางคณิตศาสตร์

การวิเคราะห์ ANOVA แบบ stepwise regression โข้ว second order polynomial model พอดีกับข้อมูล R^2 ของโมเดลเท่ากับ 84.1% ผลการทดสอบ พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่าง และ กรดอินทรีย์ มีผลอย่างมีนัยสำคัญกับ โมเดลการรอดชีวิต ในขณะที่สารประกอบฟีนอลิกไม่มีผล

The polynomial mathematic model that was used to estimate the log difference, [$\log_{10}N_{0\text{week}} - \log_{10}N_{6\text{week}}$], was:

$$[\log_{10}N_{0\text{week}} - \log_{10}N_{6\text{week}}] = 34.3 - 10.5 [\text{pH}] - 3.62 [\text{Acid}] + 0.052 [\text{Phenolic}] + 0.894 [\text{pH}]^2 + 0.538 [\text{Acid}]^2 - 0.000187 [\text{Phenolic}]^2 + 0.076 [\text{pH}] [\text{Acid}] - 0.0030 [\text{pH}] [\text{Phenolic}] - 0.0014 [\text{Acid}] [\text{Phenolic}]$$



ภาพที่ 4.1 พื้นผิวตอบสนองผลของค่าความเป็นกรด-ด่าง และกรดอินทรีย์ ซึ่งมีผลการรอดชีวิตของเซลล์ [$\log_{10}N_{0\text{week}} - \log_{10}N_{6\text{week}}$]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

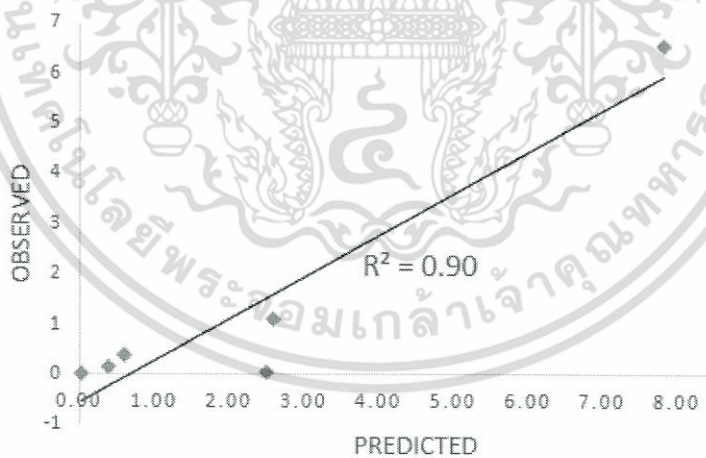
ตารางที่ 4.1 ผลการรอดชีวิตของ *P. pentosaceus* ในแบบจำลองน้ำผักตบชวยุการเก็บรักษา 6 สัปดาห์ (\log_{10} CFU/mL)

Solution	Survival in each week							[$\log_{10}N_{0\text{week}} - \log_{10}N_{\text{each week}}$]					
	0	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
1	8.66±0.05	7.92±0.22	5.32±0.13	4.66±0.22	3.84±0.06	3.33±0.08	3.25±0.02	0.74	3.34	4.00	4.82	5.33	5.41
2	8.48±0.09	8.44±0.07	8.45±0.11	8.23±0.08	8.20±0.01	7.59±0.12	7.48±0.10	0.04	0.03	0.25	0.28	0.89	1.00
3	8.64±0.08	7.70±0.17	6.04±0.06	5.07±0.11	4.97±0.03	3.87±0.15	3.88±0.06	0.93	2.59	3.57	3.67	4.77	4.76
4	8.51±0.06	8.46±0.03	8.39±0.02	8.38±0.03	8.23±0.05	7.93±0.07	6.89±0.05	0.06	0.12	0.13	0.28	0.58	1.62
5	8.56±0.08	7.86±0.03	5.25±0.15	3.83±0.01	4.02±0.02	3.37±0.10	3.48±0.02	0.70	3.32	4.74	4.54	5.20	5.08
6	8.48±0.11	8.44±0.09	8.17±0.09	8.25±0.04	8.11±0.04	7.88±0.02	7.50±0.02	0.04	0.31	0.22	0.36	0.60	0.97
7	8.50±0.12	7.64±0.28	5.79±0.15	5.35±0.08	4.59±0.01	3.83±0.13	3.58±0.05	0.86	2.70	3.14	3.91	4.66	4.92
8	8.57±0.08	8.51±0.13	8.45±0.06	8.32±0.02	8.20±0.06	8.17±0.02	7.95±0.05	0.06	0.12	0.25	0.37	0.39	0.62
9	8.57±0.07	8.54±0.01	8.33±0.11	8.34±0.01	8.14±0.06	7.94±0.03	7.67±0.02	0.02	0.24	0.23	0.42	0.63	0.89
10	8.65±0.04	8.45±0.03	8.54±0.08	8.34±0.08	8.02±0.05	7.98±0.09	7.89±0.06	0.20	0.11	0.31	0.63	0.66	0.75
11	8.16±0.14	4.64±0.19	0	0	0	0	0	3.52	8.16	8.16	8.16	8.16	8.16
12	8.56±0.04	8.49±0.02	8.41±0.09	8.28±0.02	7.74±0.13	8.23±0.06	6.98±0.03	0.06	0.15	0.27	0.82	0.32	1.57
13	8.66±0.17	6.28±0.30	4.23±0.07	2.83±0.13	0	0	0	2.38	4.44	5.83	8.66	8.66	8.66
14	8.50±0.16	8.50±0.05	8.29±0.07	8.31±0.03	8.28±0.05	8.15±0.03	7.86±0.08	0.00	0.21	0.19	0.22	0.35	0.64
15	8.77±0.08	8.61±0.08	8.37±0.13	8.45±0.06	8.21±0.05	7.92±0.10	7.69±0.02	0.15	0.39	0.32	0.56	0.84	1.08
16	8.59±0.03	8.56±0.02	8.37±0.05	8.29±0.10	8.19±0.04	7.93±0.03	7.59±0.12	0.03	0.22	0.29	0.40	0.66	1.00
17	8.57±0.06	8.55±0.03	8.50±0.11	8.30±0.08	8.06±0.01	8.05±0.01	7.83±0.06	0.02	0.06	0.27	0.50	0.52	0.73

ตารางที่ 4.2 ส่วนประกอบของสารละลายจำลองเพื่อใช้ทดสอบสมการทางคณิตศาสตร์

Solution	pH	Organic acid	Phenolic Compound
1	3.5	1	100
2	4	3	125
3	4.5	0	50
4	5	4	75
5	5.5	2	150
6	6	5	65

จากภาพที่ 4.1 แสดงพื้นผิวตอบสนองของ $[\log_{10}N_{0week} - \log_{10}N_{6week}]$ โดยมีฟังก์ชันของค่าความเป็นกรด-ด่าง และกรดอินทรีย์ ภาพที่ 4.2 แสดงความสัมพันธ์ของค่าที่สังเกตได้ (ทดลองโดยใช้ 6 สิ่งทดลอง ดังตารางที่ 4.2) กับค่าที่ใช้การทำนายจากสมการทางคณิตศาสตร์ $[\log_{10}N_{0week} - \log_{10}N_{6week}]$ ผลแสดงว่าโมเดลทางคณิตศาสตร์ใช้ได้ในการทำนาย โดยมีค่า regression coefficient $R^2 = 0.90$



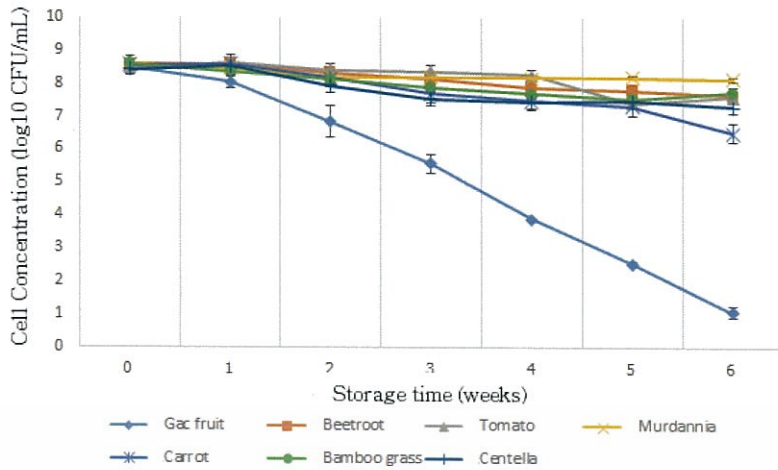
ภาพที่ 4.2 Linear regression ของค่าสังเกต กับค่าทำนายจากสมการ $[\log_{10}N_{0week} - \log_{10}N_{6week}]$ ที่มาจากสารละลายจำลอง 6 สิ่งทดลอง

4.3 การรอดชีวิตในน้ำผัก

การทดลองของ $\log [\log_{10}N_{0week} - \log_{10}N_{6week}]$ หลังจาก 6 สัปดาห์ของการเก็บรักษา ในน้ำผักชนิดต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 4.3 ที่ซึ่งกราฟการรอดชีวิต แสดงในภาพที่ 4.3 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 การรอดชีวิตของ *P. pentosaceus* ในน้ำผัก (log₁₀ CFU/mL) ระหว่างการเก็บรักษา 6 สัปดาห์

Type of juices	Week 0	Week 1	Week 2	Week 3	Week 4	Week 5	Week 6	[log ₁₀ N ₀ week ⁰ —log ₁₀ N ₆ week]	
								Predicted	Observed
Gac fruit	8.52±0.10	8.07±0.18	6.86±0.49	5.58±0.27	3.91±0.02*	2.56±0.07*	1.10±0.17*	6.62	7.42
Beetroot	8.58±0.10	8.60±0.02	8.34±0.04	8.16±0.06	7.89±0.04	7.81±0.05	7.67±0.02	1.17	0.90
Tomato	8.47±0.06	8.63±0.05	8.42±0.13	8.39±0.11	8.28±0.04	7.43±0.06	7.63±0.01	3.21	0.84
Murdannia	8.59±0.09	8.46±0.11	8.21±0.19	8.21±0.02	8.19±0.04	8.22±0.06	8.16±0.06	0.72	0.43
Carrot	8.56±0.02	8.59±0.05	8.19±0.04	7.71±0.06	7.49±0.18	7.34±0.05	6.53±0.21	1.39	2.02
Bamboo grass	8.59±0.08	8.37±0.25	8.13±0.03	7.91±0.02	7.71±0.03	7.56±0.22	7.76±0.04	0.16	0.83
Centella	8.43±0.29	8.53±0.03	7.94±0.21	7.55±0.05	7.46±0.10	7.49±0.13	7.32±0.15	1.70	1.11



ภาพที่ 4.3 กราฟแสดงการรอดชีวิตของ *P. pentosaceus* ในน้ำผัก (log₁₀ CFU/mL) ระหว่างการเก็บรักษา 6 สัปดาห์

แบบจำลองทำนายความอยู่รอดของเซลล์ได้ดีในน้ำผักเกือบทุกชนิด ดังแสดงในตารางที่ 4.3 อัตราของการอยู่รอดสูงสุดของเซลล์พบว่า หลังจาก 6 สัปดาห์ของการเก็บใน น้ำบีทรูท น้ำมะเขือเทศ น้ำยาบักกิ้ง น้ำแครอท น้ำโยน่าง และน้ำโอบัวบก ที่มีค่า pH ประมาณ 6 ค่าความเป็นกรด-ด่างที่พบต่ำสุดอยู่ในน้ำผักขาว (pH~3.25) ซึ่งการอยู่รอดของเซลล์ลดลงต่ำกว่า 10⁶ CFU/mL หลังการเก็บ 3 สัปดาห์ ในกรณีของน้ำมะเขือเทศ ความเข้มข้นของเซลล์ลดลงประมาณ 0.84 log หลังจากเก็บ 6 สัปดาห์ แม้ว่ามันมีค่า pH ต่ำ (pH ~ 4.10) แต่ก็อยู่รอดได้ดี เพราะเส้นใยอาหารช่วยปกป้องเซลล์ระหว่างการเก็บรักษา ดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 องค์ประกอบในน้ำผัก

Type of juices	Total sugar (g/L)	pH	Organic acid (g/L)	Total phenol (mg/L)	Dietary fiber (g/L)
Gac fruit	97.63±0.02	3.25±0.09	4.12±0.11	105.03±6.11	5.55±1.42
Beetroot	22.14±0.05	6.11±0.04	1.60±0.03	85.52±6.92	1.61±0.88
Tomato	44.53±0.02	4.10±0.13	4.02±0.09	100.92±11.22	12.72±0.43
Murdannia	0.27±0.01	5.84±0.10	1.90±0.13	94.47±5.14	0.54±0.21
Carrot	45.98±0.05	6.01±0.08	1.34±0.04	118.18±6.33	7.24±1.67
Bamboo grass	0.28±0.01	6.06±0.14	1.60±0.08	113.26±7.62	0.74±0.78
Centella	0.35±0.06	6.59±0.01	1.37±0.07	113.50±9.16	0.62±0.36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ตามรูปแบบสมการการคณิตศาสตร์ พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่าง และกรดอินทรีย์ สนับสนุนการอยู่รอดของ *P. pentosaceus* ในน้ำผักชนิดต่างๆ ระหว่างการเก็บรักษาที่ตู้เย็นเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ การอยู่รอดเกิดขึ้นได้ดีในน้ำผักเกือบทุกชนิด ยกเว้นน้ำผักข่าที่มีความเป็นกรดสูง แบบจำลองทางคณิตศาสตร์สามารถทำนายการอยู่รอดของเซลล์ในน้ำผักได้ดี แม้ว่าในบางกรณีอาจจะไม่ตรงมากนัก เนื่องจากมีองค์ประกอบอื่นที่มีบทบาทด้วยเช่นกัน เช่น เส้นใยอาหาร

ข้อเสนอแนะ

การได้มาซึ่งจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่มีประสิทธิภาพ ต้องมีการคัดเลือก ศึกษาคุณสมบัติ จึงจะได้สายพันธุ์ที่มีความปลอดภัยและมีประสิทธิภาพในการส่งเสริมสุขภาพผู้บริโภค รวมทั้งยังต้องคำนึงถึงแหล่งที่มาของจุลินทรีย์ ความสามารถในการเจริญสภาวะและระยะเวลาที่เหมาะสมในการผลิตสารที่สำคัญ นอกจากนี้การนำผลิตภัณฑ์ไปจำหน่ายเพื่อการบริโภคยังต้องคำนึงถึงปัจจัยหลายปัจจัย เช่น water activity (aw) กระบวนการผลิต อุณหภูมิในการเก็บรักษา อายุ การเก็บรักษา ปริมาณออกซิเจน ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณเกลือ และปริมาณส่วนผสมอื่นๆ ที่มีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติก

อย่างไรก็ตามผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกในประเทศไทยไม่ค่อยได้รับความนิยม ถึงแม้ว่าจะมีผลิตภัณฑ์หมักที่สืบทอดจากภูมิปัญญาท้องถิ่น อาทิเช่น ผักดอง ปลาร้า ส้มผัก และอื่นๆ และมีความได้เปรียบในเรื่องความหลากหลายของผลผลิตทางการเกษตร ทั้งพืช ผัก และผลไม้ แต่คนไทยยังขาดการสร้างมูลค่าเพิ่ม ดังเช่นผลิตภัณฑ์ในประเทศอื่นๆ เช่น นัต โตะของญี่ปุ่น กิมจิของเกาหลี มะกอกดองของประเทศทางยุโรป เป็นต้น

อีกทั้งผู้บริโภคในประเทศไทยส่วนใหญ่ยังขาดความรู้ความเข้าใจถึงประโยชน์ผลิตภัณฑ์ดังกล่าว รวมทั้งยังไม่เชื่อมั่นในเรื่องความปลอดภัยในการบริโภค ดังนั้นในการจำหน่ายและการนำผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกมาใช้ในการบริโภค ควรส่งเสริมให้เกิดความรู้ความเข้าใจเกี่ยวกับจุลินทรีย์ และผลิตภัณฑ์เป็นอย่างดี เพื่อให้ผู้บริโภคเกิดความเชื่อมั่นต่อความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์และส่งผลต่อประโยชน์ต่อสุขภาพสูงสุด

บทที่ 6
สรุปผลผลิตที่ได้จากงานวิจัย

6.1 งานประชุมวิชาการ Food Innovation Asia Conference 2017 นำเสนอโปรสเตอร์ และ บทคัดย่อ ในหัวข้อ Survival of *Lactobacillus acidipiscis* SR7-1, *Lactobacillus futsaii* KC74-1 and *Pediococcus pentosaceus* PC 73-3 in Vegetable juices (ภาคผนวก ก)

6.2 ต้นฉบับสำหรับส่งและตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติ ในหัวข้อ Survival of *Pediococcus pentosaceus* in Model Solution and Vegetable juices. (ภาคผนวก ข)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- ไชยวัฒน์ ไชยสุด และศิริพร ศิริสุน. (2553). โพรไบโอติกจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ วารสาร
สำนักการแพทย์ทางเลือก หน่วยวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพ คณะเภสัชศาสตร์
มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 3, 4-12.
- นฤมล มงคลชนวัฒน์. (2558). ผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกที่ไม่ผลิตจากนมกับสุขภาพ วารสารวิทยาศาสตร์
บูรพา สาขาเทคโนโลยีการจัดการและการพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร,
2, 209-217.
- สุนิดา เมืองโคตร. (2552). จุลินทรีย์โพรไบโอติก. การเกษตรราชภัฏ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
การอาหาร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี, 8(2), 47-58.
- สุภัจฉรา นพจินดา. (2557). โพรไบโอติกกับการส่งเสริมสุขภาพ. วารสารพยาบาลทหารบก, 3, 430-435.
- Alamprese, C., Foschino, R., Rossi, M., Pompei, C., & Savani, L. (2002). Survival of *Lactobacillus
johnsonii* La1 and influence of its addition in retail-manufactured ice cream produced with
different sugar and fat concentrations. *International Dairy Journal*, 12, 201-208.
- Annan, N. T., Borza, A. D., & Hansen, L. T. (2008). Encapsulation in alginate-coated gelatin
microspheres improves survival of the probiotic *Bifidobacterium adolescentis* 15703T during
exposure to simulated gastro-intestinal conditions. *Food Research International*, 41, 184-193.
- Biavati, B., Vescovo, M., Torriani, S., & Bottazzi, V. (2000). Bifidobacteria: history, ecology,
physiology and applications. *Annals of Microbiology*, 50, 117-131.
- Burgain, J., Gaiani, C., Linder, M., & Scher, J. (2011). Encapsulation of probiotic living cells: from
laboratory scale to industrial applications. *Journal of Food Engineering*, 104, 467-483.
- Champagne, C. P., Gardner, N. J., & Roy, D. (2005). Challenges in the addition of probiotic cultures to
foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45, 61-84.
- Champagne, C. P., Raymond, Y. & Gagnon, R. (2008). Viability of *Lactobacillus Rhamnosus* R0011
in an apple-based fruit juice under simulated storage conditions at the consumer level. *Food
Microbiology and Safety*, 73, 221-226.
- Champagne, C. P., & Gardner, N. J. (2008). Effect of storage in a fruit drink on subsequent survival of
probiotic lactobacilli to gastro-intestinal stresses. *Food Research International*, 41, 539-543.
- Charalampopoulos, D., Pandiella, S. S., & Webb, C. (2003). Evaluation of the effect of malt, wheat and
barley extracts on the viability of potentially probiotic lactic acid bacteria under acidic
conditions. *International journal of food microbiology*, 82, 133-141.
- Cruz, A. G. D., Faria, J. A. F., & Dender, A. G. F. V. (2007). Packaging system and probiotic dairy
foods. *Food Research International*, 40, 951-956.

เอกสารนี้เผยแพร่โดยศูนย์บริการวิชาการ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Dave, R. I., & Shah, N. P. (1997). Effectiveness of ascorbic acid as an oxygen scavenger in improving viability of probiotic bacteria in yoghurts made with commercial starter cultures. *International Dairy Journal*, 7, 435-443.
- Dave, R. I., & Shah, N. P. (1998). Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt. *Journal of Dairy Science*, 81, 2804-2816.
- Ding, W. K., & Shah, N. P. (2008). Survival of free and microencapsulated probiotic bacteria in orange and apple juices. *International Food Research Journal*, 15, 219-232.
- do Espirito Santo, A. P., Cartolano, N. S., Silva, T. F., Soares, F. A. S. M., Gioielli, L. A., Perego, P., Converti, A., & Oliveira, M. N. (2012). Fibers from fruit by-products enhance probiotic viability and fatty acid profile and increase CLA content in yoghurts. *International Journal of Food Microbiology*, 154, 135-144.
- Gardiner, G. E., O'Sullivan, E., Kelly, J., Auty, M. A. E., Fitzgerald, G. F., Collins, J. K., Ross, R. P., & Stanton, C. (2000). Comparative survival rates of human-derived probiotic *Lactobacillus paracasei* and *L. salivarius* strains during heat treatment and spray drying. *Applied and Environmental Microbiology*, 66, 2605-2612.
- Jayamanne, V. S., & Adams, M. R. (2004). Survival of probiotic bifidobacteria in buffalo curd and their effect on sensory properties. *International Journal of Food Science and Technology*, 39, 719-725.
- Kailasapathy, K., Harmstorf, I., & Phillips, M. (2008). Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis ssp. lactis* in stirred fruit yoghurts. *LWT - Food Science and Technology*, 41, 1317-1322.
- Kim, W. S., Perl, L., Park, J. H., Tandianus, J. E., & Dunn, N. W. (2001). Assessment of stress response of the probiotic *Lactobacillus acidophilus*. *Current Microbiology*, 43, 346-350.
- Krasaekoopt, W., Bhandari, B., & Deeth, H. (2003). Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yogurt. *International Dairy Journal*, 13, 3-13.
- Lukanin, O.S., Gunko, S.M., Bryk, M.T., & Nigmatullin, R.R. (2003). The effect of content of apple juice biopolymers on the concentration by membrane distillation. *Journal of Food Engineering*, 60, 275-280.
- Nualkaekul, S., & Charalampopoulos, D. (2011a). Survival of *Lactobacillus plantarum* in model solutions and fruit juices. *International Journal of Food Microbiology*, 146, 111-117.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Nualkaekul, S., Salmeron, I., & Charalampopoulos, D. (2011b). Investigation of the factors influencing the survival of *Bifidobacterium longum* in model acidic solutions and fruit juices. *Food Chemistry*, *129*, 1037-1044.
- Palmfeldt, J., & Hahn-Hagerdal, B. (2000). Influence of culture pH on survival of *Lactobacillus reuteri* subjected to freeze-drying. *International Journal of Food Microbiology*, *55*, 235-238.
- Prado, F. C., Parada, J. L., Pandey, A., & Socol, C. R. (2008). Trends in non-dairy probiotic beverages. *Food Research International*, *41*, 111-123.
- Saarela, M., Virkajarvi, I., Alakomi, H. L., Mattila, P. S., & Matto, J. (2006a). Stability and functionality of freeze-dried probiotic *Bifidobacterium* cells during storage in juice and milk. *International Dairy Journal*, *16*, 1477-1482.
- Saarela, M., Virkajarvi, I., Nohynek, L., Vaari, A., & Matto, J. (2006b). Fibres as carriers for *Lactobacillus rhamnosus* during freeze-drying and storage in apple juice and chocolate-coated breakfast cereals. *International Journal of Food Microbiology*, *112*, 171-178.
- Sadaghdar, Y., Mortazavian, A. M., & Ehsani, M. R. (2012). Survival and activity of 5 probiotic Lactobacilli strains in 2 types of flavored fermented milk. *Food Science and Biotechnology*, *21*, 151-157.
- Salminen, S., & Wright, A. V. (1998). *Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects*. 2nd edition, Marcel Dekker, Inc, New York, U.S.A. 617 pp.
- Sandholm, T. M., Myllarinen, P., Crittenden, R., Mogensen, G., Fonden, R. & Saarela, M. (2002). Technological challenges for future probiotic foods. *International Dairy Journal*, *12*, 173-182.
- Shabala, L., McMeekin, T., Budde, B. B., & Siegumfeldt, H. (2006). *Listeria innocua* and *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* employ different strategies to cope with acid stress. *International Journal of Food Microbiology*, *110*, 1-7.
- Shah, N. P. (2000). Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal of Dairy Science*, *83*, 894-907.
- Sheehan, V. M., Ross, P., & Fitzgerald, G. F. (2007). Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, *8*, 279-284.
- Talwalkar, A., & Kailasapathy, K. (2003). Metabolic and biochemical responses of probiotic bacteria to oxygen. *Journal of Dairy Science*, *86*, 2537-2546.
- Vasiljevic, T., Kealy, T., & Mishra, V. K. (2007). Effects of β -Glucan addition to a probiotic containing yoghurt. *Journal of Food Science*, *72*, 405-411.

เอกสารนี้เป็นทรัพย์สินทางปัญญาของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี การนำข้อมูลนี้ไปใช้โดยไม่ได้รับอนุญาตให้เข้าไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Survival of *Lactobacillus acidipiscis* SR7-1, *Lactobacillus futsaii* KC74-1 and *Pediococcus pentosaceus* PC 73-3 in Vegetable juices

Sawaminee Nualkaekul^{1*}, Nitcha Chamroensaksri², Somboon Tanasupawat³

¹Faculty of Agro-Industry, King Mongkuts Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520 Thailand

²Department of Biology, Faculty of Science, Maharakham University, Maha Sarakham 44150 Thailand

³Department of Biochemistry and Microbiology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand

*Corresponding author. E-mail: knsawami@kmitl.ac.th

Abstract

The lactic acid bacteria are generally as safe and the most of significant group of probiotic bacteria. Currently, many research in product development focuses on the using probiotic - lactic acid bacteria as starter culture for the fermented food production. However, the supplementation of probiotic-lactic acid bacteria in vegetable juice have not been extensively studied. The aim of this research was to study the survival of three species of lactic acid bacteria in tropical vegetable juice in Thailand. The lactic acid bacteria in this study were isolated from fermented food in previous studies and interleukin-12 inducing strain. There are *Lactobacillus acidipiscis* SR7-1, *Lactobacillus futsaii* KC74-1 and *Pediococcus pentosaceus* PC 73-3. Seven vegetable juices were purchased from a local supermarket including gac fruit, beetroot, tomato, murdannia, carrot, bamboo grass and centella juice. Each strain of lactic acid bacteria was cultivated and prepared as cell inoculum to approximately 10^{10} CFU/ml. One milliliter of each inoculum was added into 99 ml of each juice, so that the initial cell concentration in juice was approximately 10^8 CFU/ml. The juices were stored at 4 °C for 6 weeks and then taken at weekly interval for determined the pH and the ability to survive in juice and expressed as colony forming units (CFU/ml.). *L. acidipiscis* SR7-1 seem to be more sensitive than *L. futsaii* KC74-1 and *P. pentosaceus* PC 73-3. High rate of cell survival was observed after 6 weeks of storage in beetroot, tomato, murdannia, carrot, bamboo grass and centella juice, all of which had a pH of around 6.0. The lowest pH was found in gac fruit juice (pH~3.25) which the cell survival decrease lower than 10^6 CFU/mL after 1 week (*L. acidipiscis* SR7-1), 3 weeks (*L. futsaii* KC74-1) and 5 weeks (*P. pentosaceus* PC 73-3) of storage. In the case of tomato juice, the cell concentration decreased approximately 0.84 - 2.63 logs after 6 weeks of storage, even though it had the low pH (pH~4.10). The reason might come from other compounds that can protect the cells during storage; these were likely to be dietary fiber. Additional, the pH of vegetable juices decrease during 6 week of storage might be the production of lactic acid. The results demonstrated that high pH enhanced cell survival.

Keywords: survival, vegetable juices, pH

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การรอดชีวิตของ *Lactobacillus acidipiscis* SR7-1, *Lactobacillus futsaii* KC74-1 และ *Pediococcus pentosaceus* PC 73-3 ในน้ำผัก

ศวามินี นवलเชกุล^{1*}, นิชชา จำเริญศักดิ์ศรี², สมบูรณ์ ธนาสุภวัฒน์³

¹คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ ประเทศไทย 10520

²คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, มหาสารคาม ประเทศไทย 44150

³คณะเภสัชศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ ประเทศไทย 10330

* E-mail knsawami@kmitl.ac.th

บทคัดย่อ

แบคทีเรียกรดแลคติกเป็นแบคทีเรียที่มีความปลอดภัยและเป็นกลุ่มแบคทีเรียโปรไบโอติกที่มีนัยสำคัญที่สุด ปัจจุบันการวิจัยเกี่ยวกับการพัฒนาผลิตภัณฑ์หลายอย่างมุ่งเน้นไปที่การใช้แบคทีเรียแลคติกเป็นเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นในการผลิตอาหารหมัก แต่อย่างไรก็ตามยังไม่มีการศึกษาการเสริมแบคทีเรียกรดแลคติกในน้ำผักมากนัก ดังนั้นการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการรอดชีวิตของแบคทีเรียกรดแลคติกในน้ำผักเขตร้อนในประเทศไทย แบคทีเรียกรดแลคติกในการศึกษานี้ถูกแยกจากอาหารหมักในการศึกษาก่อนหน้านี้และทุกสายพันธุ์สามารถผลิตอินเทอร์ลิควิน-12 ได้แก่ *Lactobacillus acidipiscis* SR7-1, *Lactobacillus futsaii* KC74-1 และ *Pediococcus pentosaceus* PC 73-3 น้ำผัก 7 ชนิดที่ซื้อจากซูเปอร์มาร์เก็ตท้องถิ่น ได้แก่ น้ำผักข้าว น้ำบีทรูท น้ำมะเขือเทศ น้ำหนุ่ยบักกิ้ง น้ำแครอท น้ำใบย่านาง และน้ำใบบัวบก แบคทีเรียทั้งสามสายพันธุ์ถูกนำมาเพาะเลี้ยงและเก็บเซลล์ที่ความเข้มข้น 10^{10} CFU/มิลลิลิตร เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อเติมในน้ำผัก จากนั้นนำ 1 มิลลิลิตรของกล้าเชื้อเติมลงในน้ำผักปริมาตร 99 มิลลิลิตร ดังนั้นเซลล์เริ่มต้นในน้ำผักมีประมาณ 10^8 CFU/ml. แล้วนำไปเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส นาน 6 สัปดาห์ และเก็บตัวอย่างช่วงเวลาห่างกันทุกๆ 1 สัปดาห์เพื่อวิเคราะห์หาค่าความเป็นกรด-ด่าง และความสามารถในการอยู่รอดในน้ำผัก โดยรายงานผลเป็นหนึ่งหน่วยโคโลนีต่อมิลลิลิตร *L. acidipiscis* SR7-1 ดูเหมือนจะอ่อนแอกว่า *L. futsaii* KC74-1 และ *P. pentosaceus* PC 73-3 พบอัตราการรอดชีวิตสูงหลังจากเก็บรักษา 6 สัปดาห์ในน้ำบีทรูท น้ำมะเขือเทศ น้ำหนุ่ยบักกิ้ง น้ำแครอท น้ำใบย่านาง และน้ำใบบัวบก ซึ่งน้ำทั้งหมดนั้นมีค่าความเป็นกรด-ด่างประมาณ 6.0 ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ต่ำสุด พบในน้ำผักข้าว (pH ประมาณ 3.25) ซึ่งทำให้การรอดชีวิตของเซลล์ลดลงต่ำกว่า 10^6 CFU/มิลลิลิตร หลังจากเก็บ 1 สัปดาห์ (*L. acidipiscis* SR7-1) 3 สัปดาห์ (*L. futsaii* KC74-1) และ 5 สัปดาห์ (*P. pentosaceus* PC 73-3) ของการเก็บรักษา ในกรณีของน้ำมะเขือเทศ ความเข้มข้นของเซลล์ลดลงเพียง 0.84 -2.63 logs หลังการเก็บ 6 สัปดาห์ แม้ว่าน้ำมะเขือเทศจะมีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำ (ประมาณ 4.10) ซึ่งเหตุผลนี้อาจจะมาจากสารประกอบอื่นที่ช่วยในการปกป้องเซลล์ซึ่งน่าจะเป็นเส้นใยอาหาร นอกจากนี้ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำผักลดลงตลอดช่วงการเก็บรักษา 6 สัปดาห์ซึ่งน่าจะเป็นผลจากการสร้างกรดแลคติก ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าค่าระดับค่าความเป็นกรด-ด่างที่สูงช่วยส่งเสริมการรอดชีวิตของเซลล์

คำสืบค้น: รอดชีวิต น้ำผัก ค่าความเป็นกรด-ด่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Survival of *Lactobacillus acidipiscis* SR7-1, *Lactobacillus futsaii* KC74-1 and *Pediococcus pentosaceus* PC 73-3 in Vegetable juices

FSTAT FEA PROPAP ABIA BDT Sawaminee Nualkaekul^{1*}, Nitcha Chamroensakri², Somboon Tanasupawat³

Abstract: The aim of this research was to study the survival of three species of lactic acid bacteria in tropical vegetable juice in Thailand. The lactic acid bacteria in this study were isolated from fermented food in previous studies and interleukin-12 inducing strain. There are *Lactobacillus acidipiscis* SR7-1, *Lactobacillus futsaii* KC74-1 and *Pediococcus pentosaceus* PC 73-3. Seven vegetable juices were purchased from a local supermarket including gac fruit, beetroot, tomato, murdannia, carrot, bamboo grass and centella juice. The initial cell concentration in juice was approximately 10⁸ CFU/ml. The juices were stored at 4 °C for 6 weeks. *L. acidipiscis* SR7-1 seem to be more sensitive than *L. futsaii* KC74-1 and *P. pentosaceus* PC 73-3. High rate of cell survival was observed after 6 weeks of storage in beetroot, tomato, murdannia, carrot, bamboo grass and centella juice, all of which had a pH of around 6.0. The lowest pH was found in gac fruit juice (pH=3.25) which the cell survival decrease lower than 10⁶ CFU/ml after 1 week (*L. acidipiscis* SR7-1), 3 weeks (*L. futsaii* KC74-1) and 5 weeks (*P. pentosaceus* PC 73-3) of storage. In the case of tomato juice, the cell concentration decreased approximately 0.84 - 2.63 logs after 6 weeks of storage, even though it had the low pH (pH=4.10). The reason might come from other compounds that can protect the cells during storage; these were likely to be dietary fiber. Additional, the pH of vegetable juices decrease immediately after inoculated might be the lactic acid production of the cells. The results demonstrated that high pH of juices enhanced cell survival.

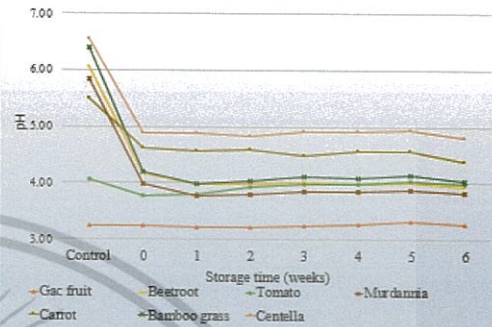


Figure 1 The pH of control (without cells) and vegetable juices during 6 weeks of storage.

Table 1 The cell survival in gac fruit, beetroot, tomato, murdannia, carrot, bamboo grass and centella juices during 6 weeks of storage.

Type of juices	Log10 (CFU/mL)						
	Week 0	Week 1	Week 2	Week 3	Week 4	Week 5	Week 6
<i>Lactobacillus acidipiscis</i> strain SR7-1 (isolated from soy sauce IL-12 = 1089.19 pg/mL)							
Gac fruit	8.07±0.12	-	-	-	-	-	-
Beetroot	8.42±0.10	7.64±0.10	7.65±0.09	7.84±0.21	7.62±0.30	7.34±0.09	7.40±0.09
Tomato	8.31±0.14	7.16±0.28	6.94±0.47	6.57±0.08	6.33±0.17	5.92±0.27	5.68±0.07
Murdannia	8.23±0.04	6.59±0.14	5.97±0.40	5.79±0.05	5.47±0.30	5.15±0.13	4.80±0.24
Carrot	8.30±0.00	8.56±0.07	8.20±0.24	7.90±0.14	7.87±0.05	7.83±0.06	7.42±0.32
Bamboo grass	8.39±0.16	6.99±0.01	6.37±0.53	6.07±0.01	5.99±0.08	5.93±0.01	5.61±0.28
Centella	8.29±0.01	7.82±0.04	7.51±0.23	7.60±0.19	7.62±0.07	7.50±0.07	7.47±0.01
<i>Lactobacillus futsaii</i> strain KC74-1 (isolated from fermented fish IL-12 = 1084.42 pg/mL)							
Gac fruit	8.36±0.10	6.77±0.02	6.42±0.28	6.20±0.05	4.39±0.68	3.80±0.17	3.05±0.56
Beetroot	8.41±0.11	8.45±0.05	8.42±0.02	8.26±0.15	8.13±0.04	8.04±0.07	7.70±0.26
Tomato	8.42±0.10	8.08±0.07	8.03±0.02	7.95±0.08	7.47±0.37	7.04±0.19	6.76±0.14
Murdannia	8.46±0.22	7.92±0.06	7.36±0.42	6.97±0.12	6.68±0.19	6.58±0.01	6.51±0.06
Carrot	8.49±0.16	8.47±0.19	8.24±0.01	7.66±0.49	6.98±0.35	6.49±0.25	6.27±0.06
Bamboo grass	8.53±0.05	8.32±0.28	8.27±0.23	7.60±0.69	7.20±0.00	6.80±0.35	6.32±0.25
Centella	8.50±0.19	8.56±0.07	8.24±0.21	8.02±0.08	7.55±0.37	7.01±0.29	6.66±0.16
<i>Pediococcus pentosaceus</i> strain PC73-1 (isolated from fermented fish IL-12 = 1062.29 pg/mL)							
Gac fruit	8.50±0.17	7.20±0.17	6.99±0.01	6.65±0.29	6.26±0.19	5.99±0.14	5.47±0.37
Beetroot	8.40±0.17	8.31±0.15	8.10±0.04	8.12±0.04	8.02±0.11	7.70±0.22	7.42±0.14
Tomato	8.30±0.00	8.51±0.03	7.33±0.58	7.78±0.68	8.08±0.00	8.10±0.02	8.09±0.02
Murdannia	8.46±0.02	7.77±0.10	7.47±0.16	7.44±0.06	7.50±0.02	7.46±0.04	7.44±0.01
Carrot	8.55±0.24	8.54±0.21	8.30±0.00	8.04±0.23	7.47±0.37	6.32±0.38	6.64±0.03
Bamboo grass	8.41±0.09	8.05±0.05	7.53±0.40	7.46±0.14	7.47±0.07	7.47±0.03	7.32±0.15
Centella	8.35±0.05	7.84±0.16	7.76±0.09	7.39±0.37	7.06±0.10	7.03±0.02	6.98±0.05

Table 2 Compositional in vegetable juices.

Type of juices	Total sugar (g/L)	Organic acid (g/L)	Dietary fiber (g/L)	Total phenol (mg/L)
Gac fruit	97.6±0.02	4.13±0.11	5.55±1.42	105.03±6.11
Beetroot	22.14±0.06	1.60±0.03	1.61±0.88	85.52±6.92
Tomato	44.53±0.02	4.02±0.09	12.73±0.43	100.92±11.22
Murdannia	0.27±0.01	1.90±0.13	3.54±0.21	94.47±5.14
Carrot	45.98±0.06	1.94±0.04	7.24±1.67	118.18±6.33
Bamboo grass	0.28±0.01	1.60±0.08	0.74±0.78	113.26±7.62
Centella	0.35±0.06	1.37±0.07	0.62±0.36	113.50±9.16



Figure 2 Vegetable juices (1) Gac fruit, (2) Beetroot, (3) Tomato, (4) Murdannia, (5) Carrot, (6) Bamboo grass and (7) Centella.

¹Faculty of Agro-Industry, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Thailand
²Department of Biology, Faculty of Science, Mahasarakham University, Thailand
³Department of Bio-chemistry and Microbiology, Chulalongkorn University, Thailand

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข **Survival of *Pediococcus pentosaceus* in Model Solution and Vegetable juices**

Sawaminee Nualkaekul^{1*}, Nitcha Chamroensaksri², Somboon Tanasupawat³

¹*Faculty of Agro-Industry, King Mongkuts Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520 Thailand*

²*Department of Biology, Faculty of Science, Mahasarakham University, Maha Sarakham 44150 Thailand*

³*Department of Biochemistry and Microbiology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Chulalongkorn University, Bangkok 10330, Thailand*

*Corresponding author. E-mail: knsawami@kmitl.ac.th

Abstract

The objective of this work was to study the survival of *Pediococcus pentosaceus* PC 73-3 in model solutions and develop a mathematical model describing its dependence on pH, organic acid and phenolic compound. A Central Composite Design (CCD) was developed studying each of the three factors at five levels within the following ranges, i.e., pH (3.0–7.0), organic acid (0–5 g/L), and phenolic compound (50–150 mg/L). In total, 17 experimental runs were carried out. The initial cell concentration in the model solutions was approximately 1×10^8 CFU/mL; the solutions were stored at 4 °C for 6 weeks. Analysis of variance (ANOVA) of the regression showed that a second order polynomial model fits well the data. The results demonstrated that high pH and organic acid concentration enhanced cell survival; on the other hand, phenolic compound did not. Cell survival during storage was also investigated in various types of vegetable juices, including gac fruit, beetroot, tomato, murdannia, carrot, bamboo grass and centella juice. The model predicted well the cell survival in almost vegetable juices. High rate of cell survival was observed after 6 weeks of storage in beetroot, tomato, murdannia, carrot, bamboo grass and centella juice, all of which had a pH of around 6.0. The lowest pH was found in gac fruit juice (pH~3.25) which the cell survival decrease lower than 10^6 CFU/mL after 3 weeks of storage. In the case of tomato juice, the cell concentration decreased approximately 0.84 logs after 6 weeks of storage, even though it had the low pH (pH~4.10). The reason might come from other compounds that can protect the cells during storage; these were likely to be proteins and dietary fiber.

Keywords: survival, vegetable juices, mathematical model

1. Introduction

Probiotics are defined as “Live microorganisms which, when administered in adequate amounts, confer a health benefit on the host” (FAO/WHO, 2002). Probiotics can exert several beneficial effects, including the prevention or treatment of intestinal infections, irritable bowel syndrome and inflammatory bowel disease, the stimulation of the immune system, the improvement in the digestibility of food products, the control of blood cholesterol levels, and the prevention of atopic allergies (Gionchetti et al., 2002; Kajander et al., 2005; Saggiaro, 2004). However, in order to exert their health benefits, the minimum concentration of live probiotic bacteria at the expiry date of the product should be around 10^7 CFU/mL (Ding and Shah, 2008; Homayouni et al., 2008; Krasaekoopt et al., 2003). The high numbers have been suggested because during passage through the stomach and the

small intestine, a significant number of bacterial cells die (Shah, 2000). As a result, the survival of the strains during processing and subsequent storage of the food product is of paramount importance.

Probiotics are mainly used in the production of fermented milks (Sanchez et al., 2009) and other dairy products, such as yoghurt (Kailasapathy, 2006), ice cream (Homayouni et al., 2008), cheese (Fritzen-Freire Muller et al., 2010), and to a lesser extent fermented meats, cereals, vegetables, and fruits (Champagne and Gardner, 2005). Other non-dairy foods that can be used as vehicles for probiotics are fruit juices or vegetable juices, as they are suitable for consumers that are lactose intolerant (Prado et al., 2008).

Pediococcus pentosaceus is a gram-positive, facultative anaerobic, non-motile, and non-spore forming bacterium. It is a member of the industrially important lactic acid bacteria that grows on lactobacilli MRS broth at 37°C (Moslehi et al., 2016). *P. pentosaceus* is a crucial industrial starter culture for fermenting foods, such as various meats, vegetables, and cheeses. (Cheng-Chih Tsai et al., 2014).

The aim of this study was to enhance the existing knowledge on the effect of the juice composition on the survival of lactic acid bacteria. For this reason, a mathematical model was developed describing the survival a potential probiotic *P. pentosaceus* during refrigerated storage in model solutions, as a factor of pH, organic acid and phenolic compound. These results were then used to explain the survival of *P. pentosaceus* in various types of vegetable juices, taking also into account the compositional characteristics of the juices.

2. Materials and methods

2.1. Preparation of culture

P. pentosaceus PC 73-3 (IL-12 = 1062.29 pg/mL), isolated from Pla Chom, was used in this study. The strain was preserved in 2 mL-cryovials containing 20% glycerol, stored at -80 °C. The cells were cultivated at 200 rpm, 30 °C, in 100 mL of MRS broth (Difco) for 16 h. The cells were harvested by centrifugation at 5000 g for 15 min. The pellets were washed twice with 0.1 M phosphate buffer saline and were resuspended in 10 mL of PBS. The cell concentration in the final PBS/cell suspension was approximately 10¹⁰ CFU/mL.

2.2. Experimental design

The experiments were designed using a Central Composite Design (CCD). Three factors (pH, organic acid and phenolic compound) were studied at five different levels. Seventeen experimental runs were performed in total; these are detailed in Table 1. The values for each of the factors were chosen so that they reflect the values usually found in vegetable juices.

Table 1 Central Composite Design (CCD) studying the survival of *P. pentosaceus* during refrigerated storage as a function of pH, organic acid and phenolic compound.

Solution	pH	Organic acid	Phenolic Compound	pH	Organic acid (g/L)	Phenolic Compound (mg/L)
1	-1	-1	-1	3.81	1.01	70.24
2	1	-1	-1	6.19	1.01	70.24
3	-1	1	-1	3.81	3.99	70.24
4	1	1	-1	6.19	3.99	70.24
5	-1	-1	1	3.81	1.01	129.76
6	1	-1	1	6.19	1.01	129.76
7	-1	1	1	3.81	3.99	129.76

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษานั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8	1	1	1	6.19	3.99	129.76
9	0	0	- 1.68	5	2.5	50
10	0	0	+ 1.68	5	2.5	150
11	- 1.68	0	0	3	2.5	100
12	+ 1.68	0	0	7	2.5	100
13	0	- 1.68	0	5	0	100
14	0	+ 1.68	0	5	5	100
15	0	0	0	5	2.5	100
16	0	0	0	5	2.5	100
17	0	0	0	5	2.5	100

Multiple regression analysis was performed in order to fit a second order polynomial equation, described below, to the data:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3$$

Where Y is the response [$\log_{10} N_0$ week – $\log_{10} N_6$ week], $\beta_0, \beta_1, \beta_2, \beta_3, \dots, \beta_{23}$

are the regression coefficients, and X_1, X_2, X_3 , are the pH, organic acid

concentration, and phenolic compound concentration, respectively. The modelling was

conducted using a enter selection method within the Minitab statistical (Version 16, USA).

The data were statistically treated by analysis of variance (ANOVA). Three- and higher-

order interactions were neglected. In order to validate the model, six conditions were

randomly selected, within the ranges of pH, organic acid and phenolic compound that were

used to construct the model; these are detailed in Table 2. The cell viability was assessed

after 6 weeks of storage. The [$\log_{10} N_0$ week – $\log_{10} N_6$ week] data were then compared to

the ones predicted from the model, using regression analysis.

Table 2 Composition of the model solutions used for the validation of the mathematical model

Solution	pH	Organic acid	Phenolic Compound
1	3.5	1	100
2	4	3	125
3	4.5	0	50
4	5	4	75
5	5.5	2	150
6	6	5	65

2.3. Preparation of model solutions

The model solutions contained 50 g/L sucrose, 25 g/L glucose and 25 g/L fructose which adjusted in 4% concentration, and appropriate amounts of organic acid (Citric acid and Malic acid in ratio 1:1) and phenolic compound (Gallic acid represents all other phenolic compound), as detailed in Table 1. Their pH was adjusted with 2 M NaOH (Sigma, Singapore). The solutions were filter-sterilised (0.22 μ m) into 100 mL sterile bottles. The PBS/cell suspension was added so that the initial cell concentration was approximately 10^8 CFU/mL. The solutions were stored at 4 °C for 6 weeks. Samples were collected every week and analyzed for pH, viable cell counts and compositional changes.

2.4. Bacterial enumeration

The plate count method was used to determine the number of viable bacterial cells. The culture was serially diluted in PBS; 0.1 mL of the suspension was then spread onto a MRS agar (Difco) plate, in triplicate. The plates were incubated aerobically at 30 °C for about 3 days, after which they were counted and expressed as CFU/mL.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5. Chemical analyses

Sucrose concentrations determined by modified from Barroso *et al.* (2016) by using high performance liquid chromatography (HPLC) using Shimadzu (Shimadzu Cooperation Analytical & Measuring Instruments Division Kyoto, Japan) LC-20AD series pumping system, SIL-20A Series Auto injector system consisting of Inertsil NH2 column with 4.6 x 250 mm. i.d. (GL Sciences Inc., Japan) and RID-10A Series Refractive Index Detector. The isocratic mobile phase was acetonitrile/water (80/20) with a flow rate of 1.5 mL/min, and the temperature was set at 40 °C.

For glucose, fructose, citric, malic, acetic and lactic acids concentration were determined by modified from Yang *et al.* (2017) using a cation exchange column with a 300 × 7.8 mm i.d (Aminex HPX-87H) equipped with a cation H⁺ microguard cartridge (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA). The 0.005M H₂SO₄ as the mobile phase at isocratic flow rate of 0.5 mL/min; the analysis was conducted at 65 °C. 0.005M H₂SO₄ prepared by diluting reagent grade sulfuric acid with distilled water, filtering through a 0.45-µm membrane filter (Sartorius, AG, Gottingen, Germany), and degassing under vacuum. Analytical grade reagents were used as standards (Sigma Chemical, Milano, Italy).

The total dietary fibre in juice samples was determined by a combination of enzymatic and gravimetric methods (AOAC, 1997), using a total dietary fibre assay kit (Sigma, Singapore). One gramme of freeze-dried sample of each juice was dissolved into 50 mL of 0.08 M sodium phosphate buffer (pH 6.0). α-Amylase (0.1 mL) was then added and the contents mixed in a water bath at 95 °C for 15 min. After cooling, the pH of the solutions was adjusted to 7.5 by adding 10 mL of 0.275 N NaOH; then 0.1 mL of protease solution was added, and the solutions were incubated at 60 °C for 30 min. Subsequently, the pH of the solutions was adjusted between pH 4.0 and 4.6 using 0.325 M HCl; 0.1 mL of amyloglucosidase was then added and the solutions were incubated at 60 °C for 30 min. Four volumes of 95% ethanol were added into each solution; these were left overnight at room temperature to allow complete precipitation. The solution was filtered and the residue was washed thrice with 20 mL of 78% ethanol, twice with 10 mL of 95% ethanol, and twice with 10 mL acetone, and was then air-dried. After drying, the residue was weighed and the sample split in two. One half was used for analysing the protein content, using the bicinchoninic acid protein assay kit (Sigma, Singapore) and the other half the ash content. The total dietary fibre was calculated as the weight of the residue minus the weights of protein and ash.

The total phenol content of juices was determined using the Folin–Ciocalteu assay (Lukanin *et al.*, 2003). The juices were initially clarified by centrifugation (10,000 g, 10 min, 4 °C). Then, 0.5 mL of each clarified juice was mixed with 0.5 mL of Folin–Ciocalteu reagent and 5 mL of 20% Na₂CO₃ solution. The solutions were diluted to 50 mL with distilled water, and mixed thoroughly. The assay mixtures were allowed to stand for about 30 min at room temperature. The absorbance was measured at 630 nm; the blank was distilled water. The total phenol concentration was calculated using a calibration curve, prepared with various concentrations of gallic acid.

2.6. Cell survival in vegetable juices

Seven commercial vegetable juices (gac fruit, beetroot, tomato, murdannia, carrot, bamboo grass and centella juice.) were purchased from a local supermarket. The PBS/cell suspension was added into 100 mL of each juice, so that the initial cell concentration was approximately 10⁸ CFU/mL. The juices were stored at 4 °C for 6 weeks. Samples were collected weekly and analysed for pH, viable cell counts and compositional changes. The

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

survival experiments were conducted in triplicate for each condition, using different inoculums for each of the replicates.

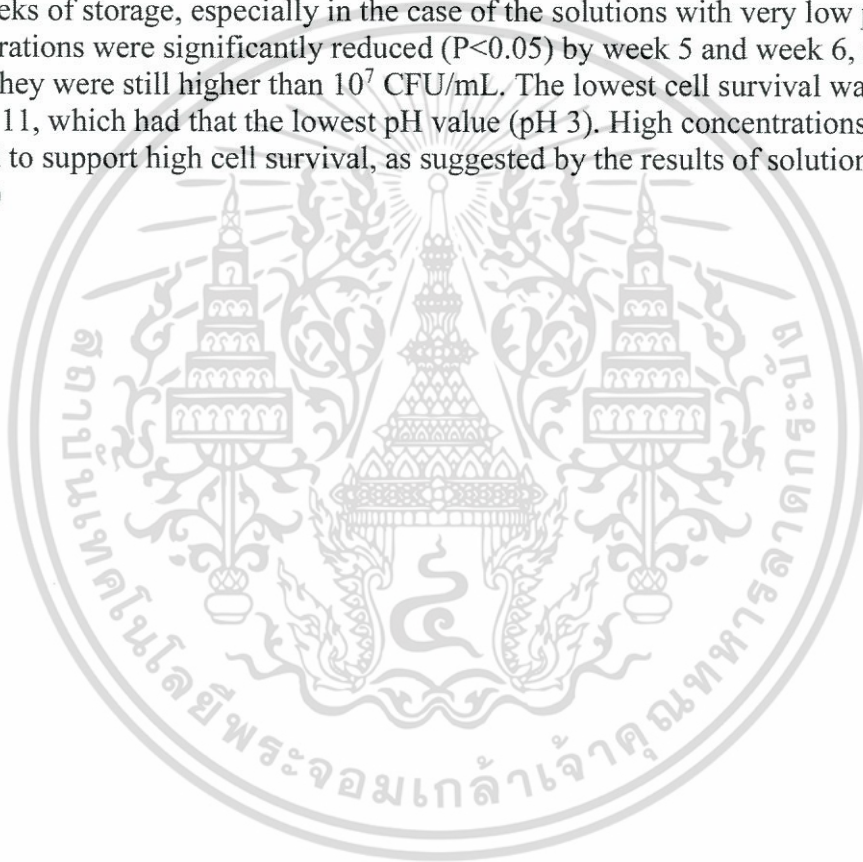
2.7. Statistical analysis

Comparisons between the various sets of data were carried out using the t-test. A P-value below 0.05 (presented as $P < 0.05$) was considered statistically significant.

3. Results

3.1. Cell survival in model solutions

The evolution of the cell concentration of *P. pentosaceus* during storage in the model solutions, and the log difference between week 0 and week 6, $[\log_{10}N_{0\text{week}} - \log_{10}N_{6\text{week}}]$ are presented in Table 2. In all the solutions, the number of cells started to decrease slowly after the first two weeks of storage, especially in the case of the solutions with very low pH. The cell concentrations were significantly reduced ($P < 0.05$) by week 5 and week 6, although in most cases they were still higher than 10^7 CFU/mL. The lowest cell survival was observed for solution 11, which had that the lowest pH value (pH 3). High concentrations of organic acid seemed to support high cell survival, as suggested by the results of solutions 4, 8, and 14 (Table 3)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table3 Evolution of the cell concentration of *P. pentosaceus* concentration during refrigerated storage for six weeks

Solution	Survival in each week						[log ₁₀ N ₀ week-log ₁₀ N _{each week}]						
	0	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6
1	8.66±0.05	7.92±0.22	5.32±0.13	4.66±0.22	3.84±0.06	3.33±0.08	3.25±0.02	0.74	3.34	4.00	4.82	5.33	5.41
2	8.48±0.09	8.44±0.07	8.45±0.11	8.23±0.08	8.20±0.01	7.59±0.12	7.48±0.10	0.04	0.03	0.25	0.28	0.89	1.00
3	8.64±0.08	7.70±0.17	6.04±0.06	5.07±0.11	4.97±0.03	3.87±0.15	3.88±0.06	0.93	2.59	3.57	3.67	4.77	4.76
4	8.51±0.06	8.46±0.03	8.39±0.02	8.38±0.03	8.23±0.05	7.93±0.07	6.89±0.05	0.06	0.12	0.13	0.28	0.58	1.62
5	8.56±0.08	7.86±0.03	5.25±0.15	3.83±0.01	4.02±0.02	3.37±0.10	3.48±0.02	0.70	3.32	4.74	4.54	5.20	5.08
6	8.48±0.11	8.44±0.09	8.17±0.09	8.25±0.04	8.11±0.04	7.88±0.02	7.50±0.02	0.04	0.31	0.22	0.36	0.60	0.97
7	8.50±0.12	7.64±0.28	5.79±0.15	5.35±0.08	4.59±0.01	3.83±0.13	3.58±0.05	0.86	2.70	3.14	3.91	4.66	4.92
8	8.57±0.08	8.51±0.13	8.45±0.06	8.32±0.02	8.20±0.06	8.17±0.02	7.95±0.05	0.06	0.12	0.25	0.37	0.39	0.62
9	8.57±0.07	8.54±0.01	8.33±0.11	8.34±0.01	8.14±0.06	7.94±0.03	7.67±0.02	0.02	0.24	0.23	0.42	0.63	0.89
10	8.65±0.04	8.45±0.03	8.54±0.08	8.34±0.08	8.02±0.05	7.98±0.09	7.89±0.06	0.20	0.11	0.31	0.63	0.66	0.75
11	8.16±0.14	4.64±0.19	0	0	0	0	0	3.52	8.16	8.16	8.16	8.16	8.16
12	8.56±0.04	8.49±0.02	8.41±0.09	8.28±0.02	7.74±0.13	8.23±0.06	6.98±0.03	0.06	0.15	0.27	0.82	0.32	1.57
13	8.66±0.17	6.28±0.30	4.23±0.07	2.83±0.13	0	0	0	2.38	4.44	5.83	8.66	8.66	8.66
14	8.50±0.16	8.50±0.05	8.29±0.07	8.31±0.03	8.28±0.05	8.15±0.03	7.86±0.08	0.00	0.21	0.19	0.22	0.35	0.64
15	8.77±0.08	8.61±0.08	8.37±0.13	8.45±0.06	8.21±0.05	7.92±0.10	7.69±0.02	0.15	0.39	0.32	0.56	0.84	1.08
16	8.59±0.03	8.56±0.02	8.37±0.05	8.29±0.10	8.19±0.04	7.93±0.03	7.59±0.12	0.03	0.22	0.29	0.40	0.66	1.00
17	8.57±0.06	8.55±0.03	8.50±0.11	8.30±0.08	8.06±0.01	8.05±0.01	7.83±0.06	0.02	0.06	0.27	0.50	0.52	0.73

Standard deviation (±S.D.) calculated with 95% confidence

Table 4 Evolution of the cell concentration (log₁₀ CFU/mL) of *P. pentosaceus* in vegetable juices during six weeks of storages.

Type of juices	Survival in each week						[log ₁₀ N ₀ week-log ₁₀ N ₆ week]		
	0	1	2	3	4	5	6	Predicted	Observed
Gac fruit	8.52±0.10	8.07±0.18	6.86±0.49*	5.58±0.27*	3.91±0.02*	2.56±0.07*	1.10±0.17*	6.62	7.42
Beetroot	8.58±0.10	8.60±0.02	8.34±0.04	8.16±0.06	7.89±0.04*	7.81±0.05*	7.67±0.02*	1.17	0.90
Tomato	8.47±0.06	8.63±0.05	8.42±0.13	8.39±0.11	8.28±0.04	7.43±0.06*	7.63±0.01*	3.21	0.84
Murdannia	8.59±0.09	8.46±0.11	8.21±0.19	8.21±0.02*	8.19±0.04*	8.22±0.06*	8.16±0.06*	0.72	0.43
Carrot	8.56±0.02	8.59±0.05	8.19±0.04*	7.71±0.06*	7.49±0.18*	7.34±0.05*	6.53±0.21*	1.39	2.02
Bamboo grass	8.59±0.08	8.37±0.25	8.13±0.03*	7.91±0.02*	7.71±0.03*	7.56±0.22*	7.76±0.04*	0.16	0.83
Centella	8.43±0.29	8.53±0.03	7.94±0.21*	7.55±0.05*	7.46±0.10*	7.49±0.13*	7.32±0.15*	1.70	1.11

Standard deviation (±S.D.) and t-test between week 0 and each week calculated with 95% confidence, *significant (P<0.05).

3.2. Model development

ANOVA analysis of the stepwise regression demonstrated that a second order polynomial model fit well the data. The R^2 values of the model was $R^2=84.1\%$. Moreover, the residual plots did not show any trend in the distribution of the residuals around the zero line, further confirming the goodness of fit. Based on the regression coefficient estimates and the corresponding Prob>F values, it was deduced that the pH and organic acid concentration had a significant effect on the model, whereas the phenolic compound concentration did not

The polynomial mathematic model that was used to estimate the log difference, $[\log_{10}N_{0\text{week}}-\log_{10}N_{6\text{week}}]$, was:

$$[\log_{10}N_{0\text{week}}-\log_{10}N_{6\text{week}}]= 34.3 - 10.5 [\text{pH}] - 3.62 [\text{Acid}] + 0.052 [\text{Phenolic}] + 0.894 [\text{pH}]^2 + 0.538 [\text{Acid}]^2 - 0.000187 [\text{Phenolic}]^2 + 0.076 [\text{pH}] [\text{Acid}] - 0.0030 [\text{pH}] [\text{Phenolic}] - 0.0014 [\text{Acid}] [\text{Phenolic}]$$

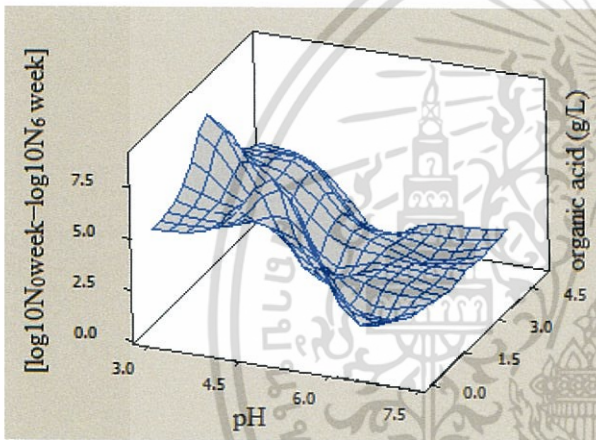


Fig1 Response surface plot illustrating the effect of pH, organic acid, and their interaction on the log decrease $[\log_{10}N_{0\text{week}}-\log_{10}N_{6\text{week}}]$.

Fig. 1 shows the response surface plot of $[\log_{10}N_{0\text{week}}-\log_{10}N_{6\text{week}}]$ as a function of pH and organic acid concentration. Fig. 2 shows the correlation between the observed and the predicted values of the log decrease $[\log_{10}N_{0\text{week}}-\log_{10}N_{6\text{week}}]$, for six solutions (Table 2), as part of a model validation study. The latter result suggested that the model had a good predictive ability, as the regression coefficient, (R^2), was 0.90.

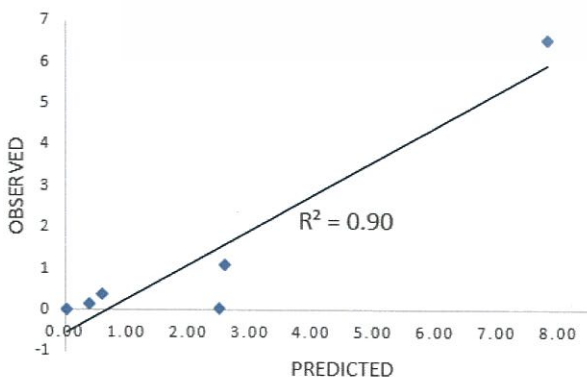


Fig. 2 Linear regression of the observed versus the predicted values of the log decrease $[\log_{10}N_{0\text{week}}-\log_{10}N_{6\text{week}}]$ from six model solutions.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3. Cell survival in vegetable juices

The log decrease [$\log_{10}N_{0\text{week}} - \log_{10}N_{6\text{week}}$] after 6 weeks of storage in the various vegetable juices is shown in Table 4, whereas the survival curves are shown in Fig. 2.

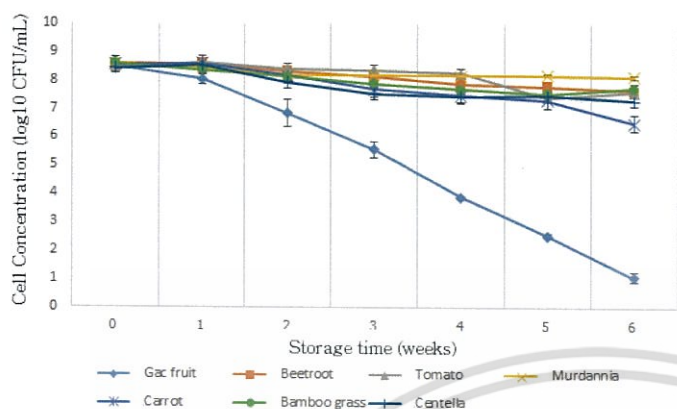


Fig. 2. Evolution of the cell concentration (\log_{10} CFU/mL) of *P. pentosaceus* in vegetable juices during six weeks of storages.

The model predicted well the cell survival in almost vegetable juices. (Table 4) High rate of cell survival was observed after 6 weeks of storage in beetroot, tomato, murdannia, carrot, bamboo grass and centella juice, all of which had a pH of around 6.0. The lowest pH was found in gac fruit juice (pH~3.25) which the cell survival decrease lower than 10^6 CFU/mL after 3 weeks of storage. In the case of tomato juice, the cell concentration decreased approximately 0.84 logs after 6 weeks of storage, even though it had the low pH (pH~4.10). The reason might come from other compounds that can protect the cells during storage; these were likely to be dietary fiber.

Table 5 Compositional in vegetable juices.

Type of juices	Total sugar (g/L)	pH	Organic acid (g/L)	Total phenol (mg/L)	Dietary fiber (g/L)
Gac fruit	97.63±0.02	3.25±0.09	4.12±0.11	105.03±6.11	5.55±1.42
Beetroot	22.14±0.05	6.11±0.04	1.60±0.03	85.52±6.92	1.61±0.88
Tomato	44.53±0.02	4.10±0.13	4.02±0.09	100.92±11.22	12.72±0.43
Murdannia	0.27±0.01	5.84±0.10	1.90±0.13	94.47±5.14	0.54±0.21
Carrot	45.98±0.05	6.01±0.08	1.34±0.04	118.18±6.33	7.24±1.67
Bamboo grass	0.28±0.01	6.06±0.14	1.60±0.08	113.26±7.62	0.74±0.78
Centella	0.35±0.06	6.59±0.01	1.37±0.07	113.50±9.16	0.62±0.36

4. Discussion

In order for probiotics to survive the adverse conditions of the gastrointestinal tract and reach the intestine in sufficient numbers, they need to be present at a concentration of at least 10^7 CFU/mL in the product at the end of shelf-life; this, in the case of vegetable juices, corresponds to approximately 10^9 CFU per portion. The aim of this work was to evaluate, through the development of a mathematical model, the effect of pH, organic acid and phenolic compound on the survival of *P. pentosaceus* cells during refrigerated storage, and evaluate the ability of the model to predict the cell survival in various vegetable juices. The reason for selecting these three factors is that they have been suggested to play an important role for the survival of lactobacilli in foods, including juices (Champagne and Gardner, 2005).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

It must be noted however, that in addition to citric acid, malic acid is usually present at similar amounts in most juices (Ranken and Kill, 1993); this was taken into account when applying the model to the data from the juices. Moreover, it should be noted that for a commercial application, instead of fresh cells, which were used in this study, either frozen or freeze dried cells are used. This aspect needs to be investigated further, as it is likely that the preparation of the cells will affect their survival during storage in the juices.

Based on the results from the model solutions and the stepwise regression analysis that was conducted, it was deduced that pH and organic acid were the main factors influencing cell survival during storage, whereas phenolic compound did not. The strong influence of pH on cell survival in various food products has been widely suggested (Champagne and Gardner, 2005). In the case of lactic acid bacteria, pH homeostasis between the intracellular and the extracellular environment is maintained by the action of a proton translocating ATPase. The enzyme hydrolyses ATP, which generates the energy for the extrusion of protons from the cytoplasm (Corcoran et al., 2005). As a result, other crucial cellular functions are deprived of ATP, and cell viability cannot be maintained. There is very little information regarding the role of citric and malic acids in the survival of lactic acid bacteria during storage. However, taking into account the fact that these organic acids are commonly used preservatives with antimicrobial properties, it was expected that organic acid would have a negative effect on cell survival in the model solutions. However, organic acid had a significant positive effect on cell survival. A likely explanation for this could be that organic acid was metabolised by the cells.

Regarding the compositional changes taking place during storage in the model solutions, lactic acid was produced after 6 weeks of storage, suggesting that the cells were metabolising the available energy sources. The amounts produced were small though, ranging between 0 and 0.8 g/L. The higher amounts were observed for the experimental runs that demonstrated the higher survival, suggesting that the cells most likely used the energy generated through the metabolism to maintain their viability. The pH of the solutions however did not change (data not shown), presumably due to the high buffering capacity of the solutions. Despite the likely protection offered by organic acid, the amounts of organic acid did not change significantly during storage ($P \geq 0.05$, data not shown), whereas no acetic acid was produced based on the HPLC data. Fermentation studies have shown that organic acid was metabolised by *Lactobacillus* species, such as *L. plantarum* and *L. casei*, when present in the growth media along with sugars. In all these cases, the pH of the media ranged between 4 and 5, and the main product was acetic acid, with the concomitant production of ATP (Kennes et al., 1991; Palles et al., 1998). A likely possibility for the fact that reduction in the organic acid concentration was not observed in this study, could be that the cells were maintained at 4 °C and at very low pH values (in contrast to the higher temperatures and pH values of the published studies), and as a result they did not metabolise high amounts of citric acid, to show statistically significant changes in the compositional data.

The application of the developed model in the juices indicated that cell survival was predicted well in almost vegetable juices. This indicated that in these particular juices, the pH and the level of organic acids were the main factors influencing cell survival. The cells survived well in beetroot, tomato, murdannia, carrot, bamboo grass and centella juice; one reason for this was probably the high pH of these juices, which was around pH 6. In the case of tomato juice, the cell concentration decreased approximately 0.84 logs after 6 weeks of storage, even though it had the low pH (pH ~4.10). The reason might come from other

compounds that can protect the cells during storage; these were likely to be dietary fiber. It has been suggested that dietary fibres can protect probiotic cells during processing and storage, via a mechanism that involves the physical immobilisation of the cells on to the fibre (Saarela et al. 2006b). Examples of such fibres include oat β -glucan, the addition of which into yoghurt resulted in improved survival of *B. animalis* subsp. *lactis* during prolonged cold storage (Vasiljevic et al., 2007). Other researchers have reported that oat flour with 20% β -glucan was able to protect *L. rhamnosus* during storage in apple juice (Saarela et al., 2006b). Moreover, Sendra et al. (2008) reported the citrus fibres enhanced *L. acidophilus* CECT 903 and *L. casei* CECT 475 survival during storage at 4 °C for 40 days in fermented milks.

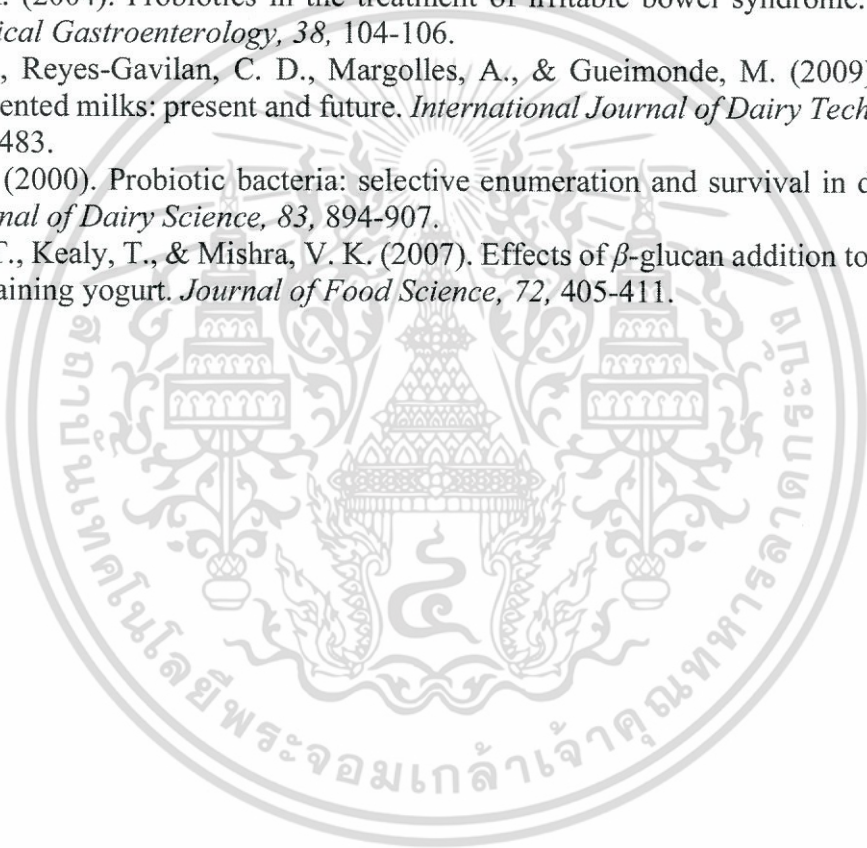
5. Conclusions

According to the developed mathematical model, high levels of pH and organic acid supported the survival of *Pediococcus pentosaceus* in model solutions during refrigerated storage. Among the various vegetable juices tested the cells survived well in almost vegetable juices, whereas they decreased lower than 10^6 CFU/mL after 3 weeks of storage in gac fruit juice. The mathematical model was able to predict in some cases the cell survival in the vegetable juices, although in some other cases it did not, most likely because other components of the juices were playing a role, such as dietary fibres.

6. References

- Champagne, C. P., Gardner, N. J., & Roy, D. (2005). Challenges in the addition of probiotic cultures to foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 45, 61-84.
- Cheng-Chih Tsai, Sew-Fen Leu, Quan-Rong Huang, Lan-Chun Chou, and Chun-Chih Huang. (2014). Safety Evaluation of Multiple Strains of *Lactobacillus plantarum* and *Pediococcus pentosaceus* in Wistar Rats Based on the Ames Test and a 28-Day Feeding Study. Department of Food Science and Technology, Hungkuang University, No. 1018, Section 6.
- Corcoran, B. M., Stanton, C., Fitzgerald, G. F., & Ross, R. P. (2005). Survival of probiotic lactobacilli in acidic environments is enhanced in the presence of metabolizable sugars. *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 3060-3067.
- FAO/WHO. (2002). *Report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food*. London (Ontario, Canada) April 30 and May 1, 1-11.
- Fritzen-Freire, C. B., Müller, C. M. O., Laurindo, J. B., & Prudêncio, E. S. (2010). The influence of *Bifidobacterium* Bb-12 and lactic acid incorporation on the properties of Minas Frescal cheese. *Journal of Food Engineering*, 96, 621-627.
- Gionchetti, P., Rizzello, F., Venturi, A., Palmonari, V., & Morselli, C. (2002). Probiotics: role in inflammatory bowel disease. *Digestive and Liver Diseases*, 34, 58-62.
- Homayouni, A., Azizi, A., Ehsani, M. R., Yarmand, M. S., & Razavi, S. H. (2008). Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. *Food Chemistry*, 111, 50-55.
- Kailasapathy, K. (2006). Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. *LWT - Food Science and Technology*, 39, 1221- 1227.
- Kajander, K., Hatakka, K., Poussa, T., Farkkila, M., & Korpela, R. (2005). A probiotic mixture alleviates symptoms in irritable bowel syndrome patients: a controlled 6-month intervention. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 22, 387-394.
- Kennes, C., Dubourguier, H. C., Albagnac, G., & Nyns, E. J. (1991). Citrate metabolism by *Lactobacillus plantarum* isolated from orange juice. *Journal of Applied Bacteriology*, 70, 380-384.

- Krasaekoopt, W., Bhandari, B., & Deeth, H. (2003). Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *International Dairy Journal*, 13, 3-13.
- Palles, T., Beresford, T., Condon, S., & Cogan, T. M. (1998). Citrate metabolism in *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Applied Microbiology*, 85, 147-154.
- Prado, F. C., Parada, J. L., Pandey, A., & Soccol, C. R. (2008). Trends in non-dairy probiotic beverages. *Food Research International*, 41, 111-123.
- Ranken, M. D., & Kill, R. C. (1993). *Food industries manual 23rd edition*. Published with the authority of the Leatherhead Food Research Association, 596 pp.
- Saarela, M., Virkajarvi, I., Nohynek, L., Vaari, A., & Matto, J. (2006). Fibres as carriers for *Lactobacillus rhamnosus* during freeze-drying and storage in apple juice and chocolate-coated breakfast cereals. *International Journal of Food Microbiology*, 112, 171-178.
- Saggiaro, A. (2004). Probiotics in the treatment of irritable bowel syndrome. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 38, 104-106.
- Sanchez, B., Reyes-Gavilan, C. D., Margolles, A., & Gueimonde, M. (2009). Probiotic fermented milks: present and future. *International Journal of Dairy Technology*, 62, 472-483.
- Shah, N. P. (2000). Probiotic bacteria: selective enumeration and survival in dairy foods. *Journal of Dairy Science*, 83, 894-907.
- Vasiljevic, T., Kealy, T., & Mishra, V. K. (2007). Effects of β -glucan addition to a probiotic containing yogurt. *Journal of Food Science*, 72, 405-411.



ชื่อโครงการ : การรอดชีวิตของ <i>Pediococcus pentosaceus</i> ในโมเดลจำลองระยะน้ำผัก													
ชื่อหัวหน้าโครงการ: นางสาววามิณี นวลเชตุล													
ว/ศ/ป	รายการ	เลขที่อ้างอิง	รายการรับ - จ่าย			รายรับ	รายจ่าย					รวม	
			รับ	จ่าย	คงเหลือ		คงเหลือรับ	ระบุบุคลากร	งบดำเนินงาน				งบลงทุน
							ค่าจ้างชั่วคราว	ค่าตอบแทน	ค่าใช้สอย	ค่าวัสดุ	ค่าสารเคมี	ค่าครุภัณฑ์	รายจ่าย
	งบประมาณที่ได้รับอนุมัติ (ตามแผน)		90,000.00										-
17 ธ.ค. 58	จำนวนเงินที่ได้รับ (งวดที่ 1 = 85%)		76,500.00			2.64							
30 มี.ย. 59	จำนวนเงินที่ได้รับ (งวดที่ 2 = 15%)		13,500.00			1.43							
	จำนวนเงินที่ได้รับ (งวดที่ 3)												
	หัก ค่าใช้จ่าย (ครั้งที่ 1)			52,020.00					52,020.00	-	-	-	52,020.00
	ค่าใช้จ่าย (ครั้งที่ 2)			42,762.00					-	42,762.00	-	-	42,762.00
	งบประมาณคงเหลือ		90,000.00	94,782.00	4,777.93	4.07							94,782.00
	รายละเอียดค่าใช้จ่าย												
	ครั้งที่ 1												
	28/12/2558	ค่าเดินทาง(ไปมหาวิทยาลัยมหาสารคาม)	32						1000				1,000.00
	2/1/2559	ค่าเดินทาง(กลับมหาวิทยาลัยมหาสารคาม)	48373						1000				1,000.00
	21/1/2559	ค่าเดินทาง (ไปมหาวิทยาลัยมหาสารคาม)	TH1601-00571						1000				1,000.00
	24/1/2559	ค่าเดินทาง (กลับมหาวิทยาลัยมหาสารคาม)	420371						950				950.00
	6/2/2559	ค่าเดินทาง (ไปมหาวิทยาลัยมหาสารคาม)	TH1602-00300						980				980.00
	9/2/2559	ค่าเดินทาง (กลับมหาวิทยาลัยมหาสารคาม)	11						1,090				1,090.00
	17/2/2559	ค่าเดินทาง (ไปมหาวิทยาลัยมหาสารคาม)	39633						1,000				1,000.00
	21/2/2559	ค่าเดินทาง (กลับมหาวิทยาลัยมหาสารคาม)	56726						1,000				1,000.00
	18/2/2559	ค่าจ้างเหมาบริการวิเคราะห์ HPLC	N1						20,000				20,000.00
	18/2/2559	ค่าจ้างเหมาบริการวิเคราะห์ Phenolic compound	N2						10,000				10,000.00
	14/3/2559	ค่าจ้างเหมาในการวิเคราะห์ความอยู่รอดของจุลินทรีย์ในน้ำผัก	N3						14,000				14,000.00
													-
	รวมครั้งที่ 1								52,020.00				52,020.00
	ครั้งที่ 2												
	27/12/2558	ค่าวัสดุและอุปกรณ์ในการทำแท่ง	57260							7,704			7,704.00
	27/12/2558	ค่าวัสดุและอุปกรณ์ในการทำแท่ง	57851							19,688			19,688.00
	27/12/2558	ค่าวัสดุและอุปกรณ์ในการทำแท่ง	57860							13,268			13,268.00
	24/12/2558	ค่าวัสดุและอุปกรณ์ในการทำแท่ง	V1							365			365.00
	28/12/2558	ค่าวัสดุและอุปกรณ์ในการทำแท่ง	1.1166E+13							957			957.00
	27/12/2558	น้ำผักชนิดต่าง ๆ	5.52122E+11							780			780.00
	รวมครั้งที่ 2									42,762.00			42,762.00

ภาคผนวก ง

โมเดลทางคณิตศาสตร์ที่ใช้ทำนายการรอดชีวิตของ *P. pentosaceus* ในแต่ละสัปดาห์

Week	R ²	The mathematic model
6	0.84	$[\log_{10}N_{0week} - \log_{10}N_{6week}] = 34.317 - 10.495[\text{pH}] - 3.624[\text{Acid}] + 0.052[\text{Phenolic}] + 0.894[\text{pH}]^2 + 0.538[\text{Acid}]^2 + 0.76[\text{pH}][\text{Acid}] - 0.003[\text{pH}][\text{Phenolic}] - 0.001[\text{Acid}][\text{Phenolic}]$
5	0.87	$[\log_{10}N_{0week} - \log_{10}N_{5week}] = 34.979 - 10.060[\text{pH}] - 3.825[\text{Acid}] + 0.028[\text{Phenolic}] + 0.815[\text{pH}]^2 + 0.564[\text{Acid}]^2 + 0.41[\text{pH}][\text{Acid}] - 0.001[\text{pH}][\text{Phenolic}]$
4	0.84	$[\log_{10}N_{0week} - \log_{10}N_{4week}] = 35.073 - 10.480[\text{pH}] - 4.201[\text{Acid}] + 0.043[\text{Phenolic}] + 0.837[\text{pH}]^2 + 0.527[\text{Acid}]^2 + 0.126[\text{pH}][\text{Acid}] + 0.001[\text{pH}][\text{Phenolic}] + 0.001[\text{Acid}][\text{Phenolic}]$
3	0.91	$[\log_{10}N_{0week} - \log_{10}N_{3week}] = 33.686 - 10.838[\text{pH}] - 2.836[\text{Acid}] + 0.045[\text{Phenolic}] + 0.886[\text{pH}]^2 + 0.374[\text{Acid}]^2 + 0.137[\text{pH}][\text{Acid}] - 0.001[\text{pH}][\text{Phenolic}] - 0.003[\text{Acid}][\text{Phenolic}]$
2	0.89	$[\log_{10}N_{0week} - \log_{10}N_{2week}] = 31.252 - 10.424[\text{pH}] - 2.115[\text{Acid}] + 0.041[\text{Phenolic}] + 0.86[\text{pH}]^2 + 0.258[\text{Acid}]^2 + 0.090[\text{pH}][\text{Acid}] + 0.001[\text{pH}][\text{Phenolic}]$
1	0.69	$[\log_{10}N_{0week} - \log_{10}N_{1week}] = 10.505 - 3.795[\text{pH}] - 0.624[\text{Acid}] + 0.029[\text{Phenolic}] + 0.327[\text{pH}]^2 + 0.113[\text{Acid}]^2 - 0.022[\text{pH}][\text{Acid}] - 0.00008457[\text{Acid}][\text{Phenolic}]$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อมูลประวัติคณะผู้วิจัย

ประวัติส่วนตัว

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาวสวามินี นวลแขกกุล (หัวหน้าโครงการ สัดส่วนงานวิจัย 80%)

ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Sawaminee Nualkaekul

2. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

3. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

1 ซอยฉลองกรุง 1 เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ ๑ 10520

โทรศัพท์ 02-329-8526 ต่อ 7263 มือถือ 094-262-3928

อีเมลล์: knsawami@kmitl.ac.th, sawamineen@hotmail.com

4. ประวัติการศึกษา

ระดับการศึกษา	ปีที่สำเร็จ	สถาบันการศึกษา	วิชาเอก/สาขา	ชื่อปริญญา
ปริญญาตรี	2544	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	สัตวบาล	วท.บ. (เกษตรศาสตร์)
ปริญญาโท	2547	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์	พัฒนาผลิตภัณฑ์	วท.ม. (พัฒนา ผลิตภัณฑ์ อุตสาหกรรมเกษตร)
ปริญญาเอก	2555	University of Reading (UK)	Food and Nutritional Sciences	PhD (Food and Nutritional Sciences)

5. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ (แตกต่างจากวุฒิการศึกษา) ระบุสาขาวิชาการ

สาขาเกษตรศาสตร์และชีววิทยา

6. ประสิทธิภาพที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัย

ปี	งานวิจัย	แหล่งทุน	สถานะ
2015	Improving survival of probiotic bacteria using bacterial poly- γ -glutamic acid	-	ผู้ร่วมวิจัย Published: International Journal of Food Microbiology, 196: 24-31
2015	Effect of Packaging Films on the Quality and Storage Stability of Cheese Shake Biscuits made from Germinated Hom Nin Brown Rice Flour with Sugar Reduced Pineapple Paste Filling.	สกอ.2557	ผู้ร่วมวิจัย Published: Ubon Ratchathani University Sci. J., 17(1): 89-94.
2014	Development of pineapple paste formulation using sweetener	สกอ.2557	ผู้ร่วมวิจัย Published: Agricultural Sci. J. 45(2)(Suppl.): 621-624
2013	Development recipe and process of sour pickled green mustard for exporting under the European Conformity (CE) and Thai Product Standard (TCPS)	เงินรายได้มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ 2556	หัวหน้าโครงการ: โครงการเสร็จสิ้นแล้ว
2013	Influence of encapsulation and coating materials on the survival of <i>Lactobacillus plantarum</i> and <i>Bifidobacterium longum</i> in fruit juices.	Thesis ปริญญาเอก	Published: Food Research International, 53, 304-311.
2012	Chitosan coated alginate beads for the survival of microencapsulated <i>Lactobacillus plantarum</i> in pomegranate juice.	Thesis ปริญญาเอก	Published: Carbohydrate Polymers, 90, 1281-1287.
2012	Survival of freeze dried <i>Lactobacillus plantarum</i> in instant fruit powders and reconstituted fruit juices.	Thesis ปริญญาเอก	Published: Food Research International, 48, 627-633.
2011	Survival of <i>Lactobacillus plantarum</i> in model solutions and fruit juices.	Thesis ปริญญาเอก	Published: International Journal of Food Microbiology, 146(2), 111-117.
2011	Investigation of the factors influencing the survival of <i>Bifidobacterium longum</i> in model acidic solutions and fruit juices.	Thesis ปริญญาเอก	Published: Food Chemistry, 129(3), 1037-1044.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผู้ร่วมวิจัย (ลำดับที่ 1)

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) ดร. นิชชา จำเริญศักดิ์ศรี (สัดส่วนงานวิจัย 10%)

ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Dr. Nitcha Chamroensaksri

2. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์

3. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

ต. ขามเรียง อ.กันทรวิชัย จ. มหาสารคาม 45150

โทร : 0-4375-4245

อีเมล: chamroensaksri@gmail.com

ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2551 วท.ค. (เกสรเคมีและผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2548 วท.ม. (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

พ.ศ. 2546 วท.บ. (เทคโนโลยีชีวภาพ) มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

ผู้ร่วมวิจัย (ลำดับที่ 2)

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) ศ.ดร.สมบูรณ์ ธนาสุภวัฒน์ (สัดส่วนงานวิจัย 10%)

ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Prof. Dr. Somboon Tanasupawat

2. ตำแหน่งปัจจุบัน ศาสตราจารย์

3. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก

คณะเกษตรศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

254 ถ.พญาไท เขตปทุมวัน กทม. 10330

โทร. 02-215-0871-7

อีเมล: Somboon.T@chula.ac.th

ประวัติการศึกษา

B.Sc. (Biology) Kasetsart University, Thailand, 1978

M.Sc. (Microbiology) Kasetsart University, Thailand, 1981

Dip. in Microbiology and Biotechnology Osaka University, Japan, 1986

Ph.D. (Agricultural Chemistry) Tokyo University of Agriculture, Japan, 1993

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้