

โปรไบโอติกแบคทีเรียแลคติกสำหรับประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารมังสะวิรัติ

วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล¹ ดวงพร กัณชโชติ² และ วราภรณ์ วุฑฒะกุล³

Abstract

Charernjiratrakul, W.; Kantachote, D. and Vuddhakul, V.

Probiotic Lactic Acid Bacteria for Applications in Vegetarian Food Products

Total of 225 strains of lactic acid bacteria were isolated from 152 samples of various fermented foods. The strains were investigated for their probiotic properties based on stability in bile salt (0.30%) and high acidity (pH 3), growth under both aerobic and anaerobic conditions, ability to grow without vitamin B12. According to the above criteria, 40 strains were selected. Using an agar spot method, 16 strains were able to inhibit *Salmonella typhimurium*, *S. typhi*, *S. enteritidis*, *S. paratyphi* and 4 strains of *E. coli* O157 : H7 as clear zone greater than 10 mm. Moreover, utilization of protein or fat or starch was also considered. According to the above criteria, 5 strains were able to utilize protein and selected for antibiotics sensitivity test. The selected strains were susceptible to following antibiotics: ampicillin, chloramphenicol, erythromycin, kanamycin, tetracycline and vancomycin; however the strains were resistant to ceftazidime and norfloxacin. These strains grew under media of MRS and coconut juice medium (no materials from animal) over 24 hours with no difference. Five active isolates were identified as *Lactobacillus plantarum* LL13, LN18, LP11, LS35 and *Pediococcus pentosaceus* LT02 by API 50 CHL system. All the lactic cultures grew well on carrot juice and reduced the pH of fermented carrot juice from 6.3 to below 4.0 after 24 h of fermentation at 35 °C. After 72 h of fermentation, fermented carrot juice with all probiotic lactic acid bacteria were able to inhibit *E. coli* O157 : H7 better than *S. typhi*. The lactic cultures in fermented carrot juice lost their viability about 1-2 log cycles after 15 days of cold storage at 4 °C. Probiotic carrot juice could serve as a healthy beverage for vegetarians and other consumers.

Key words : lactic acid bacteria, probiotic, vegetarian food products, fermented foods

Department of Microbiology, Faculty of Science, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkla. 90112. Thailand.

¹ วท.ม. (จุลชีววิทยา) รองศาสตราจารย์ ² Ph.D. (Soil Science) รองศาสตราจารย์

³ Ph.D. (Microbiology) รองศาสตราจารย์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อำเภอหาดใหญ่ จังหวัดสงขลา 90112

บทคัดย่อ

วิลาวัลย์ เจริญจิระตระกูล ดวงพร กันธโชติ และ วราภรณ์ วุฑฒะกุล

โปรไบโอติกแบคทีเรียแลคติกสำหรับประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารมังสะวิรัติ

การแยกแบคทีเรียแลคติกจากอาหารหมักของไทย จำนวน 152 ตัวอย่าง สามารถแยกแบคทีเรียแลคติกได้ 225 สายพันธุ์ นำเชื้อมาทดสอบสมบัติการเป็นโปรไบโอติกได้แก่ การทนต่อเกลือน้ำดีที่มีความเข้มข้น 0.30 % ทนต่อกรดที่ระดับพีเอช 3 เจริญได้ทั้งสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน เจริญในอาหารที่ขาดวิตามินบี 12 สามารถคัดเลือกเชื้อที่มีสมบัติดังกล่าวได้ 40 สายพันธุ์ เมื่อนำมาทดสอบการยับยั้งโดยวิธี agar spot พบว่ามีแบคทีเรียแลคติก 16 สายพันธุ์ ที่สามารถยับยั้ง *Salmonella typhimurium*, *S. typhi*, *S. enteritidis*, *S. paratyphi* และ *E. coli* O157 : H7 4 สายพันธุ์ โดยมีขอบวงใสของการยับยั้งมากกว่า 10 มม. คัดเลือกเชื้อได้ 5 สายพันธุ์ที่สามารถย่อยโปรตีนได้ดี และ เมื่อนำเชื้อดังกล่าวมาทดสอบกับยาปฏิชีวนะ พบว่าทุกสายพันธุ์ไวต่อยาปฏิชีวนะ ampicillin, cephalothin, cefoperazone, tetracycline และ chloramphenicol แต่ดื้อต่อยาปฏิชีวนะ polymyxinB, kanamycin, streptomycin, norfloxacin และ vancomycin แบคทีเรียแลคติกทั้ง 5 สายพันธุ์มีการเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และ อาหารน้ำมะพร้าว (อาหารที่ปราศจากแหล่งที่มาจากเนื้อสัตว์) ภายในเวลา 24 ชั่วโมง ได้ไม่แตกต่างกัน และเมื่อบ่งชี้ชนิดโดยใช้ API 50 CHL พบว่าเป็น *Lactobacillus plantarum* LL13, LN18, LP11, LS35 และ *Pediococcus pentosaceus* LT02 ทุกสายพันธุ์เติบโตได้ดีในน้ำแครอท โดยสามารถทำให้น้ำแครอทหมักลดพีเอชลงต่ำกว่า 4.0 เมื่อการหมักผ่านพ้นไป 24 ชั่วโมง ที่ 35 °C น้ำแครอทที่ได้จากการหมักด้วยแบคทีเรียแลคติกทุกสายพันธุ์เป็นเวลา 72 ชั่วโมง สามารถยับยั้ง *E. coli* O157 : H7 ได้ดีกว่า *S. typhi* และเมื่อเก็บรักษาน้ำแครอทหมักไว้ที่เย็นอุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 15 วัน จำนวนเชื้อแบคทีเรียแลคติกจะลดลงประมาณ 1-2 log น้ำแครอทหมักด้วยโปรไบโอติกแบคทีเรียแลคติกสามารถที่จะใช้เป็นเครื่องดื่มนำรสสุขภาพสำหรับผู้บริโภคอาหารมังสะวิรัติและผู้บริโภคอื่นๆด้วยเช่นกัน

ปัจจุบันความต้องการในการบริโภคผลิตภัณฑ์อาหารที่เกี่ยวกับสุขภาพเพิ่มขึ้นอย่างมาก ดังนั้นจึงทำให้มีการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องกับสุขภาพที่เฉพาะมากขึ้น ผลิตภัณฑ์ที่ได้รับความนิยมอย่างหนึ่งคือ อาหารเสริมโปรไบโอติกซึ่งมีจุลินทรีย์ที่มีชีวิตซึ่งก่อประโยชน์ให้กับสุขภาพของผู้บริโภคในการคงไว้หรือช่วยปรับสภาพความสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร (Saarela *et al.*, 2000) กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน ลดเอ็นไซม์ที่เป็นสาเหตุให้เกิดมะเร็ง ป้องกันและรักษาโรคท้องร่วงทั้งที่เกิดจากแบคทีเรียและไวรัส เป็นต้น (Kaur *et al.*, 2001 ; Reid, 1999) แบคทีเรียที่มีสมบัติที่เหมาะสมในการใช้เป็นโปรไบโอติก ได้แก่แบคทีเรียแลคติก ส่วนใหญ่เป็นสกุล *Lactobacillus* spp. และ *Bifidobacterium* spp. ทั้งนี้เนื่องจากแบคทีเรียเหล่านี้ทนกรดและเกลือแร่ดี ทำให้สามารถอยู่รอดในระบบทางเดินอาหารซึ่งเป็น สมบัติที่สำคัญในการเป็นโปรไบโอติก (Reid, 1999; Vinderola and Reinheimer, 2003; Cebeci and Gurakan, 2003) รวมทั้งสามารถสร้างกรด เปอร้ออกไซด์และแบคทีเรียโอซินในการต่อต้านการเติบโตของเชื้อก่อโรค (Saarela *et al.*, 2000) เนื่องจากในปัจจุบันผลิตภัณฑ์อาหาร โปรไบโอติกที่จำหน่ายในท้องตลาดจะมีเฉพาะในรูปผลิตภัณฑ์นม (Saarela *et al.*, 2000) เช่น ชาจุลัทและนมเปรี้ยวชนิดต่างๆเท่านั้น ในขณะที่ผู้บริโภคอาหารมังสะวิรัติได้เพิ่มจำนวนขึ้นอย่างมากในทุกภูมิภาค แต่ยังไม่มียผลิตภัณฑ์มังสะวิรัติเสริมโปรไบโอติก จึงทำให้ผู้บริโภคที่เป็นมังสะวิรัติหรือผู้ที่ไม่ชอบบริโภคผลิตภัณฑ์นมขาดโอกาสในการได้รับประโยชน์จากแบคทีเรียโปรไบโอติก (Heenan *et al.*, 2004) ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อแยกแบคทีเรียแลคติกจากอาหารหมักจากพืชให้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ นำมาคัดเลือกสมบัติซึ่งทดสอบได้ในห้องปฏิบัติการว่าเหมาะสมสำหรับใช้เป็นโปรไบโอติก ความสามารถในการเติบโตและการอยู่รอดในอาหารที่ปราศจากแหล่งอาหารจากสัตว์เพื่อนำไปประยุกต์ใช้เป็นหัวเชื้อในผลิตภัณฑ์โปรไบโอติกมังสะวิรัติ รวมทั้งทดลองหมักและศึกษาความสามารถในการอยู่รอดของโปรไบโอติกแบคทีเรียแลคติกที่คัดเลือกได้ในอาหารหมักจากพืช เพื่อเป็นแนวทางที่จะช่วยเพิ่มความปลอดภัยและสุขภาพที่ดีของผู้บริโภคกลุ่มมังสะวิรัติหรือผู้ที่ไม่นิยมบริโภคผลิตภัณฑ์นม รวมทั้งเพิ่มทางเลือกให้กับผู้บริโภคทุกกลุ่มอีกด้วย