

การเจริญและการเหลือรอดของ *Lactobacillus acidophilus* ในเครื่องดื่มนมแอซิโดฟิลัส และระบบกระเพาะอาหาร-ลำไส้

จำลอง

อาทิพย์ คมจำ*

บทคัดย่อ

Lactobacillus acidophilus เป็นแบคทีเรียโปรไบโอติกที่มีประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์ ด้วยเหตุนี้จึงสนใจนำมาศึกษาเป็นเชื้อเริ่มต้นในการผลิตเครื่องดื่มนมแอซิโดฟิลัส จากการศึกษาเพื่อคัดเลือกเชื้อ *L. acidophilus* สายพันธุ์ที่มีศักยภาพในการเป็นเชื้อเริ่มต้น โดยทำการศึกษาเชื้อ *L. acidophilus* TISTR No.450 *L. acidophilus* TISTR No.1034 *L. acidophilus* TISTR No.1338 และ *L. acidophilus* Spring Valley® บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง แล้วติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และค่าความเป็นกรด พบว่าเชื้อ *L. acidophilus* TISTR No.450 และ *L. acidophilus* TISTR No.1338 ให้ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำที่สุดคือ 4.23 และ 4.36 ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากค่าความเป็นกรด-ด่างที่ได้จากเชื้ออีกสองสายพันธุ์ ($p \leq 0.05$) ส่วนเปอร์เซ็นต์ความเป็นกรด พบว่าเชื้อสายพันธุ์ *L. acidophilus* TISTR No.450 และ *L. acidophilus* TISTR No.1338 ให้ค่าเปอร์เซ็นต์ความเป็นกรด 0.68 และ 0.60 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงกว่าเปอร์เซ็นต์ความเป็นกรดที่ได้จากเชื้ออีก 2 สายพันธุ์ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นจึงคัดเลือกเชื้อ *L. acidophilus* TISTR No.450 และ *L. acidophilus* TISTR No.1338 ที่มีการเจริญอยู่ในช่วงล็อกเฟส (log phase) มาศึกษาหาชนิดและปริมาณเชื้อที่เหมาะสมในการเป็นเชื้อเริ่มต้น โดยทำการศึกษาเชื้อสายพันธุ์ *L. acidophilus* TISTR No.450 และ *L. acidophilus* TISTR No.1338 ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 3 ระดับ คือร้อยละ 2 3 และ 5 (ปริมาตร/ปริมาตร) พบว่าเมื่อผ่านการหมักที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 10 ชั่วโมง เชื้อ *L. acidophilus* TISTR No.1338 ที่ระดับปริมาณเชื้อร้อยละ 3 และ 5 มีจำนวนเชื้อมากที่สุด คือ 9.40 และ 9.46 ล็อก โคลิनीต่อมิลลิลิตร (log cfu/ml) ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างจากจำนวนเชื้อในสถานะการทดลองอื่นๆ ($p \leq 0.05$) นอกจากนี้เมื่อพิจารณาในแง่สายพันธุ์ของเชื้อพบว่าเชื้อ *L. acidophilus* TISTR No.1338 ให้ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำที่สุดคือ 4.92 และเปอร์เซ็นต์ความเป็นกรดสูงที่สุดคือ 0.51 และเมื่อพิจารณาระดับปริมาณเชื้อพบว่าเมื่อใช้เชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 จะให้ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำที่สุดคือ 4.78 เปอร์เซ็นต์ความเป็นกรดสูงที่สุดคือ 0.55 ดังนั้นจึงคัดเลือกเชื้อ *L. acidophilus* TISTR No.1338 ปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 มาทำการศึกษาผสมกับ *Streptococcus thermophilus* TISTR No.458 ที่มีการเจริญอยู่ในช่วงล็อกเฟส ในการผลิตเครื่องดื่มนมแอซิโดฟิลัส เปรียบเทียบกับเชื้อ *L. acidophilus* TISTR No.1338 เพียงสายพันธุ์เดียว (กลุ่มควบคุม) พบว่าการผสมเชื้อมีจำนวนเชื้อไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม ($p > 0.05$) ในขณะที่เชื้อผสมระหว่าง *L. acidophilus* TISTR No.1338 และ *S. thermophilus* TISTR No.458 ให้ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำที่สุดคือ 5.30 และเปอร์เซ็นต์ความเป็นกรดสูงที่สุดคือ 0.43 ในชั่วโมงที่ 5 ของการหมัก จากนั้นเมื่อเติมโปรไบโอติก (Prebiotic) คือ อินนูลิน เพื่อศึกษาการเหลือรอดโดยแปรปริมาณที่ใช้เป็นร้อยละ 0 0.5 1 และ 2 (น้ำหนัก/ปริมาตร) พบว่าเครื่องดื่มนมแอซิโดฟิลัสที่มีการเติมอินนูลินร้อยละ 2 จะมีจำนวนเชื้อที่มีชีวิตสูงที่สุดคือ 9.08 ล็อก โคลิनीต่อมิลลิลิตร โดยให้ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำที่สุดคือ 5.54 และเปอร์เซ็นต์ความเป็นกรดสูงที่สุดคือ 0.31 ในชั่วโมงที่ 6 ของการหมัก ซึ่งแตกต่างจากการเติมอินนูลินที่ระดับอื่น ($p \leq 0.05$) ส่วนผลการทดสอบทาง

* วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เทคโนโลยีการอาหาร) คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 117 หน้า.

ประสาทสัมผัส พบว่าผู้ทดสอบชิมมีความชอบในเครื่องดื่มแอซิโดฟิลัสที่มีการเติมและไม่เติมอินนูลินไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) และพบว่าองค์ประกอบทางเคมีของเครื่องดื่มแอซิโดฟิลัสประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 2.70 มันเนยร้อยละ 3.52 แลคโตสร้อยละ 5.81 และธาตุน้ำนมไม่รวมมันเนย (SNF) ร้อยละ 9.19 ส่วนการศึกษาการเจริญและการเหลือรอดของ *L. acidophilus* และ *S. thermophilus* ในเครื่องดื่มแอซิโดฟิลัสระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ (4 และ 8 °ซ) เป็นเวลา 28 วัน เมื่อพิจารณาในแง่อุณหภูมิในการเก็บรักษาพบว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8 °ซ มีจำนวนเชื้อ 9.18 ล็อกโคโลนีต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีจำนวนเชื้อสูงกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °ซ และเมื่อพิจารณาในแง่ระยะเวลาในการเก็บรักษา 28 วัน พบว่าในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 8 วัน มีจำนวนเชื้อสูงที่สุด คือ 9.27 ล็อกโคโลนีต่อมิลลิลิตร ซึ่งแตกต่างจากการเก็บรักษาที่ระยะเวลาอื่นๆ ($p\leq 0.05$) นอกจากนี้ในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8 °ซ เป็นเวลา 20 23 26 และ 28 วัน จะให้ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำที่สุด คือ 3.92 3.88 3.82 และ 3.80 ตามลำดับ และในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8 °ซ เป็นเวลา 23 26 และ 28 วัน ให้เปอร์เซ็นต์ความเป็นกรดสูงที่สุด คือ 0.90 0.90 และ 0.94 ตามลำดับ สำหรับการศึกษาการเหลือรอดของ *L. acidophilus* และ *S. thermophilus* ในระบบกระเพาะอาหาร-ลำไส้จำลอง พบว่าเชื้อ *L. acidophilus* และ *S. thermophilus* ในเครื่องดื่มแอซิโดฟิลัสสามารถเหลือรอดชีวิตในระบบกระเพาะอาหาร-ลำไส้จำลอง โดยมีจำนวนเชื้อเหลือรอด 8.33 ล็อกโคโลนีต่อมิลลิลิตร ซึ่งถือว่ามากกว่าระดับที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย (minimum Therapeutic Dose)

Growth and Survival of *Lactobacillus acidophilus* in Acidophilus Drink and Simulated Gastrointestinal System

Athit Khomkhum*

Abstract

Lactobacillus acidophilus is probiotic bacteria which have benefit to human health. Thus, they were used as starter for Acidophilus drink production. First, *L. acidophilus* TISTR No.450 *L. acidophilus* TISTR No.1034 *L. acidophilus* TISTR No.1338 and *L. acidophilus* Spring Valley® were incubated at 37°C for 18 hrs and meanwhile, pH and titratable acidity changes were monitored for screening and selecting potential starter. It was found that *L. acidophilus* TISTR No.450 and *L. acidophilus* TISTR No.1338 contributed the pH of 4.23 and 4.36 respectively which were significantly different from two other strains ($p \leq 0.05$). Likewise, *L. acidophilus* TISTR No.450 and *L. acidophilus* TISTR No.1338 contributed titratable acidity of 0.68 and 0.60 respectively which were also significantly different from two other strains ($p \leq 0.05$). Therefore, *L. acidophilus* TISTR No.450 and *L. acidophilus* TISTR No.1338 growing into log phase were determined for appropriate strain and percentage (2.3 and 5%, v/v) as starter and found that after incubated at 37°C for 10 hrs, *L. acidophilus* TISTR No.1338 at 3 and 5% achieved the highest numbers as 9.40 and 9.46 log cfu/ml respectively which were significantly different from the numbers in other conditions ($p \leq 0.05$). Moreover, when strains were considered, *L. acidophilus* TISTR No.1338 contributed the lowest pH as 4.92 and the highest titratable acidity as 0.51. In addition, when inoculum percentages were considered, the 5% inoculum contributed the lowest pH as 4.78 and the highest titratable acidity as 0.55. Thus, *L. acidophilus* TISTR No.1338 at 5% inoculum was chosen to mix with *Streptococcus thermophilus* TISTR No.458 growing into log phase compared with the control (only *L. acidophilus* No.1338 strain) to produce acidophilus drink and found that the mixture of *L. acidophilus* TISTR No.1338 plus *S. thermophilus* TISTR No.458 and only *L. acidophilus* TISTR No.1338 gave the insignificant numbers of bacteria ($p > 0.05$) and the mixture one gave the lowest pH as 5.30 and highest titratable acidity as 0.43 after 5 hrs of fermentation. Furthermore, inulin as prebiotic at 0.5, 1 and 2% (w/v) was evaluated on bacterial survival and found that acidophilus drink with 2% inulin gave out the highest numbers as 9.08 log cfu/ml with lowest pH of 5.54 and highest titratable acidity of 0.31 after 6 hrs of fermentation which was significantly different from other inulin levels ($p \leq 0.05$). Also, sensory evaluation was determined and found that there were no significant differences in likings between acidophilus drink with and without inulins ($p > 0.05$). Furthermore, the chemical composition of acidophilus drink was analyzed as following : 2.7% Protein 3.52% Butter fat 5.81% Lactose and 9.19% Solid not fat (SNF). Also, growth and survival of *L. acidophilus* and *S. thermophilus* in acidophilus drink during storage at 4 and 8°C for 28 days were investigated and found that for storage temperature consideration, the Lactics numbers at 8°C were higher than the ones at 4°C ($p \leq 0.05$) and for storage time consideration, the Lactics numbers were highest (9.27

* Master of Science (Food Technology), Faculty of Technology, Khon Kaen University. 117 pages.

log cfu/ml) after 8 days storage which were different from other storage times ($p \leq 0.05$). Moreover, pH value was lowest as 3.92 3.88 3.82 and 3.80 after 20 23 26 and 28 days storage at 8°C respectively and titratable acidity was highest as 0.90 0.90 and 0.94 for 8°C storage at 23 26 and 28 days respectively. Finally, the survival of *L. acidophilus* and *S. thermophilus* in simulated gastrointestinal system was determined and found that the survival numbers were 8.33 log cfu/ml which were higher than the minimum therapeutic dose.