

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาผลของโยอาหารและวีชีสแทนส์ตารซ์สกัดจากเปลือกกล้วยและเนื้อมีกล้วยไข่ดิบต่อการเจริญและการผลิตกรดไขมันสายสั้นของเชื้อ *Lactobacillus plantarum* TU2 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MRS โดยทำการวิเคราะห์การเจริญ การผลิตกรดทั้งหมด กรดแลกติก กรดไขมันสายสั้น อะซิเตด โพรพิโอเนต และบิวทิเรตของเชื้อ *L. plantarum* TU2 พบว่า โยอาหารและวีชีสแทนส์ตารซ์ส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียชนิดนี้ โดยเชื้อ *L. plantarum* TU2 ที่ทำการเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว De Man, Rogosa and Sharpe (MRS) ที่มีการเสริมโยอาหารและวีชีสแทนส์ตารซ์ มีอัตราการเจริญมากกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$) โดยมีค่า 0.94 ± 0.01 0.96 ± 0.04 และ 0.63 ± 0.01 log cfu/ชั่วโมง ตามลำดับ เช่นเดียวกันกับระยะเวลาหนึ่งชั่วโมงของทั้งสองกลุ่มมีระยะเวลาน้อยกว่ากลุ่มควบคุม ($P<0.05$) โดยมีค่า 0.73 ± 0.01 0.72 ± 0.03 และ 1.08 ± 0.02 ชั่วโมง ตามลำดับ ยิ่งไปกว่านั้น การเสริมโยอาหารและวีชีสแทนส์ตารซ์ ยังทำให้เชื้อ *L. plantarum* TU2 สามารถผลิตกรดทั้งหมด กรดแลกติก และกรดไขมันสายสั้น โดยเฉพาะกรดอะซิเตด และบิวทิเรตเพิ่มมากขึ้น ($P<0.05$) โยอาหารและวีชีสแทนส์ตารซ์ที่สกัดได้จากเปลือกและเนื้อมีกล้วยไข่ดิบมีสมบัติความเป็นพรีไบโอติกและสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์หมัก

Abstract

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

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

² คณะเทคโนโลยีและการพัฒนาชุมชน มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง อ.ป่าพะยอม จ.พัทลุง 93210



คำนำ

ปัจจุบันผู้บริโภคพยายามมองหาอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ปลอดภัย และส่งผลดีต่อสุขภาพ จึงเป็นที่มาของผลิตภัณฑ์อาหารฟังก์ชัน (functional food) ซึ่งเป็นอาหารที่มีผลต่อการทำหน้าที่ต่างๆ (function) ในร่างกาย ส่งผลดีต่อสุขภาพโดยมีบทบาทในการลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรค อวัยวะหรือระบบเป้าหมาย ได้แก่ ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ความดันโลหิต การเผาผลาญของไขมัน การต้านอนุมูลอิสระ และระบบการย่อยอาหาร ถ้าได้ใหญ่เป็นอวัยวะเป้าหมายหนึ่งที่มีการศึกษากันมากในเรื่องของอาหารฟังก์ชัน องค์ประกอบของอาหารที่มีคุณสมบัติให้ผลดีต่อสุขภาพถ้าได้ โดยเฉพาะ โปรไบโอติก ซึ่งเป็นส่วนของอาหารที่ไม่ถูกย่อยในทางเดินอาหาร มีผลทำให้กระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียโปรไบโอติกในลำไส้ใหญ่ เช่น แบคทีเรียกลุ่ม bifidobacteria และ lactobacilli โดยโปรไบโอติกจะพบมากในหัวหอม ถั่วลันเตา กระเทียม อาร์ทิโชก ชิคอรี และหน่อไม้ฝรั่ง เป็นต้น (Bellisle et al., 1998)

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

กลุ่มแม่บ้านเกษตรกรของจังหวัดในภาคกลางและภาคใต้ของประเทศไทย เช่น จังหวัดกำแพงเพชร พัทลุง และนครศรีธรรมราช เป็นต้น ได้มีแปรรูปกล้วยไข่ดิบกรอบแก้ว เป็นสแน็คพื้นบ้านหลากหลายรูปแบบจนเป็นสินค้ายอดนิยมประเภทหนึ่งตำบลหนึ่งผลิตภัณฑ์ ตลาดของกล้วยไข่แปรรูปขยายตัวเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ส่งผลให้เกษตรกรเพิ่มปริมาณการผลิตเพื่อตอบสนองความต้องการและตลาดที่เพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้ปริมาณเปลือกกล้วยดิบ ซึ่งเป็นของเหลือและของเสียที่เกิดจากการผลิตได้เพิ่มมากขึ้น ก่อให้เกิดปัญหาทางด้านสิ่งแวดล้อม จึงเป็นที่มาของการศึกษาวิจัยในครั้งนี้ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของใยอาหารและรีซิสแทนต์สตรัคที่สกัดแยกได้จากเปลือกและเนื้อกล้วยไข่ดิบต่อการเจริญและการผลิตกรดไขมันสายสั้นของเชื้อ *L. plantarum* TU2 เป็นการศึกษาข้อมูลพื้นฐานด้านความเป็นพรีไบโอติกของใยอาหารและรีซิสแทนต์สตรัคจากเปลือกและเนื้อกล้วยไข่ดิบ เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารหมักต่อไป

1. การเก็บรวบรวมเปลือกและเนื้อกล้วยไข่ดิบ

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

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

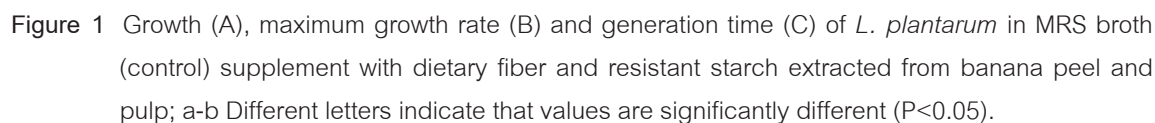
ส่วนผงเนื้อกล้วย นำมาสกัดวิธีสแตนด์สตาร์ช ตามวิธีการที่ดัดแปลงมาจาก Zhao and Lin (2009) โดยไฮโดรไลซ์แป้งด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริกความเข้มข้น 0.1 mol/l ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วปรับค่า pH เท่ากับ 7 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 mol/l เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา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

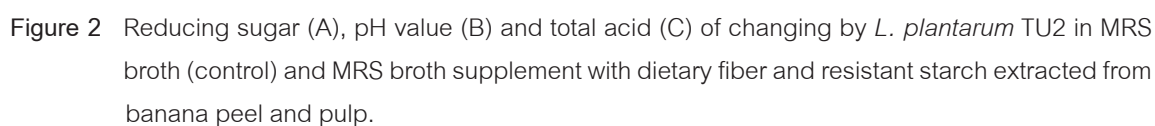


23/3/2559 15:51:09



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





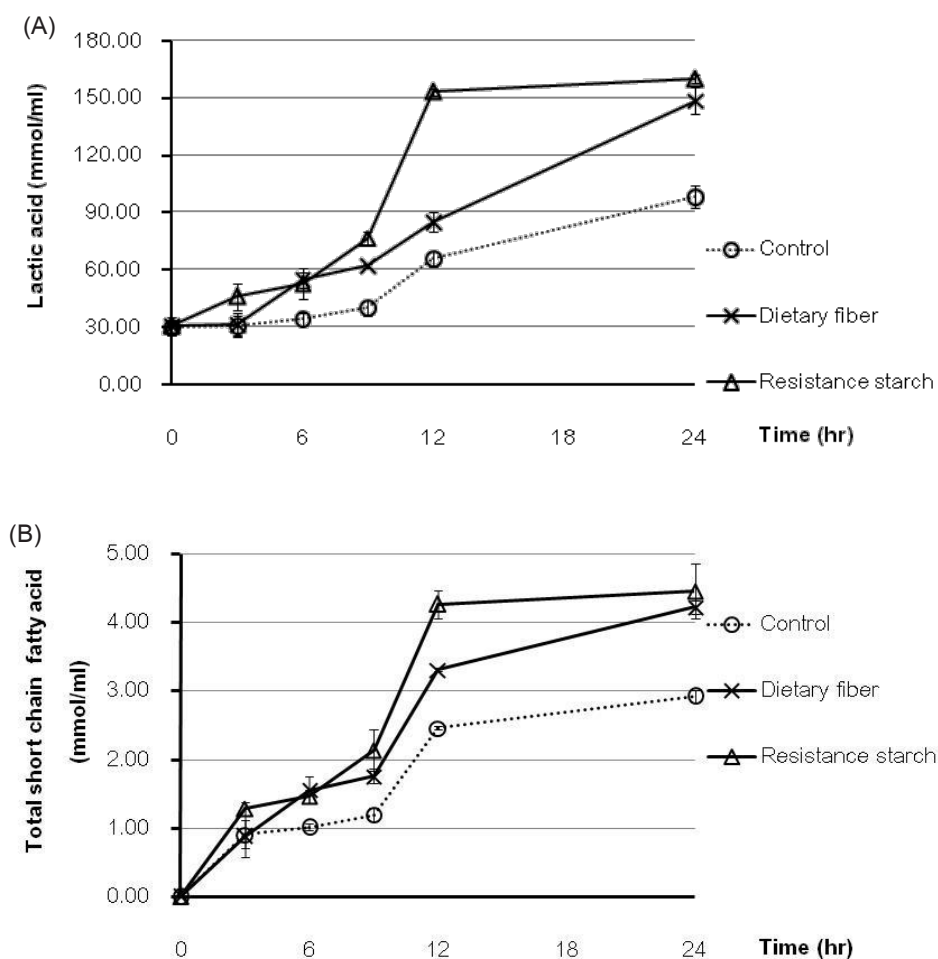


Figure 3 Lactic acid (A) and total short chain fatty acid (B) produced by *L. plantarum* TU2 in MRS broth (control) and MRS broth supplement with dietary fiber and resistant starch extracted from banana peel and pulp.

นอกจากนี้ในการศึกษาค้างนี้ยังพบว่า การเสริมใยอาหารและรีชีสแทนส์สตาบิลไรส์สกัดจากเปลือกและเนื้อกล้วย ไข่ดิบยังช่วยส่งเสริมการผลิตอะซิเตต โพรพิโอเนต และบิวทิเรตของเชื้อ *L. plantarum* TU2 ตลอดระยะเวลาการบ่ม 24 ชั่วโมง โดยเฉพาะเมื่อบ่มเป็นเวลา 12 ชั่วโมง แบคทีเรียโพรปิโอติกนี้จะผลิตกรดไขมันสายสั้นทั้งสามชนิดนี้อย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะอย่างยิ่งอะซิเตตและบิวทิเรต โดยมีอัตราส่วนปริมาณอะซิเตต:โพรพิโอเนต:บิวทิเรต เท่ากับ 50.00:13.16:36.84 และ 48.43:14.84:36.73 ตามลำดับ (Figure 4A, B and C) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่พบว่า การเสริมฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์จะส่งเสริมให้แบคทีเรียกลุ่ม lactobacilli ผลิตอะซิเตต โพรพิโอเนต และบิวทิเรตเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะอะซิเตต (Rycroft *et al.*, 2001) ซึ่งการส่งเสริมการเจริญและการผลิตกรดไขมันสายสั้นของแบคทีเรียโพรปิโอติกเป็นสมบัติความเป็นพรปิโอติกที่สำคัญ เนื่องจากกรดไขมันสายสั้นที่แบคทีเรียโพรปิโอติกผลิตขึ้นนี้ เป็นสารที่มีประโยชน์ต่อระบบทางเดินอาหาร โดยจะทำให้ลำไส้มีความเป็นกรดมากขึ้นซึ่งเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค โดยเฉพาะอย่างยิ่ง บิวทิเรตเป็นแหล่งพลังงานสำหรับเซลล์เยื่อบุผนังลำไส้ ทำให้เยื่อบุผนังลำไส้ใหญ่แบ่งตัวเพิ่มขึ้น มีการกระตุ้นเลือดให้มาเลี้ยงเยื่อบุผนังลำไส้มากขึ้น ทำให้ลำไส้ใหญ่สามารถ

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

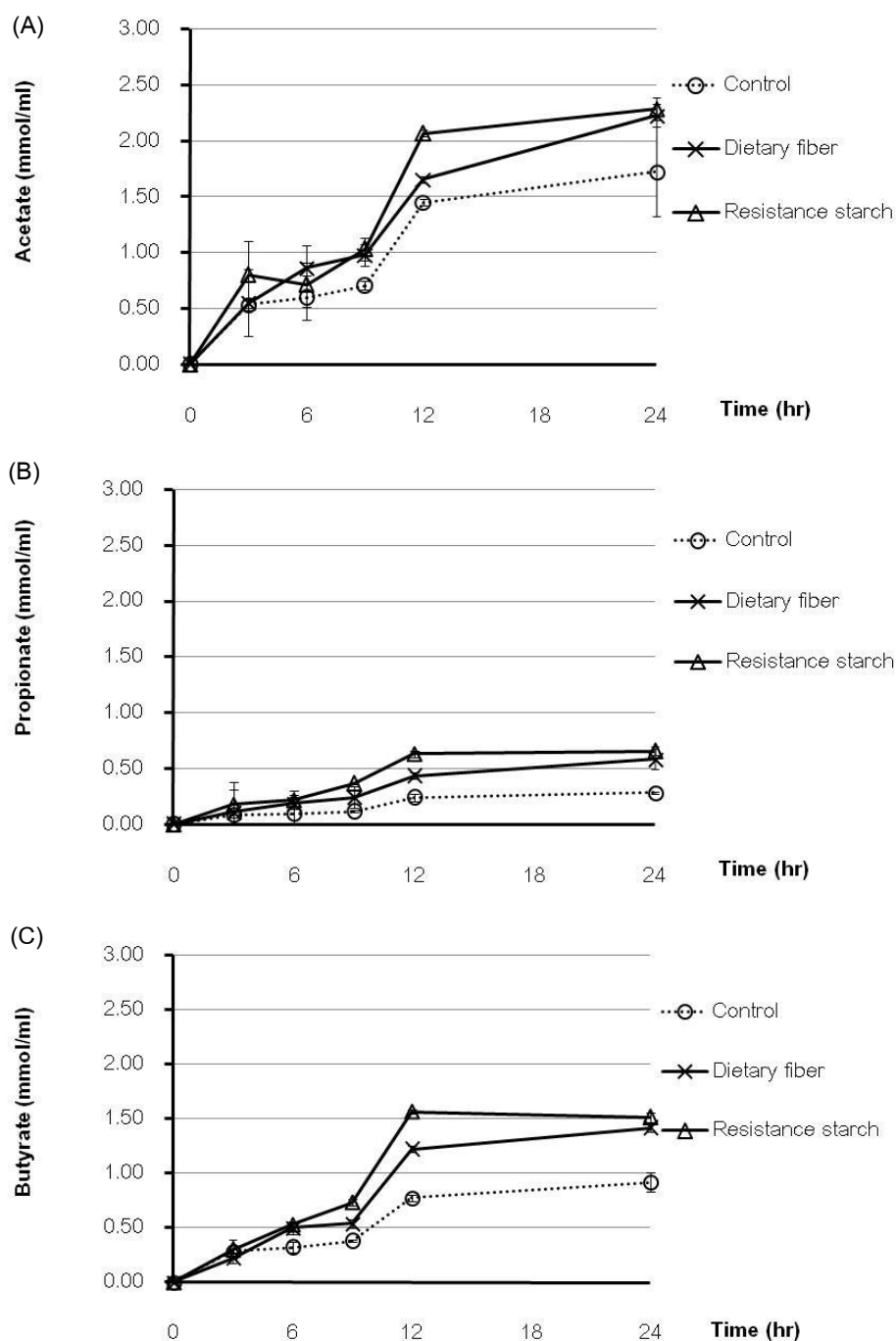


Figure 4 Acetate (A), propionate (B) and butyrate produced by *L. plantarum* TU2 in MRS broth (control) and MRS broth supplement with dietary fiber and resistant starch extracted from banana peel and pul

