ผลของชนิดบรรจุภัณฑ์และอุณหภูมิการเก็บรักษาต่อคุณภาพผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก
Effect of Package Type and Storage Temperature on Quality of Probiotic Fortified Vegetable Tablets

กรองกาญจน์ ทองมาศ[1,2] และ กิติพงศ์ อัศตรกุล[1,2]*
Krongkan Thongmat[1,2] and Kitipong Assatarakul[1,2]*

Received: June 4, 2019
Revised: July 31, 2019
Accepted: August 13, 2019

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาผลของชนิดบรรจุภัณฑ์ (ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์และขวดยาพลาสติก high density polyethylene, HDPE) และอุณหภูมิการเก็บรักษา (4 และ 25 องศาเซลเซียส) ต่อคุณภาพผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก โดยวิเคราะห์ค่าสี ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging activity (DPPH) และปริมาณการรอดชีวิตของโพรไบโอติก (*Lactobacillus rhamnosus*) ระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยวิเคราะห์คุณภาพผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติกทุกสัปดาห์ จากผลการทดลองพบว่าการเก็บรักษาผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติกที่อุณหภูมิ 4 และ 25 ในบรรจุภัณฑ์ 2 ชนิด ได้แก่ ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ และขวดยาพลาสติก HDPE ไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีของผลิตภัณฑ์ เมื่อเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เพิ่มมากขึ้นส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านออกซิเดชันลดลง โดยตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่าตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกันกับฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่มีฤทธิ์การต้านออกซิเดชันสูงกว่าตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และปริมาณการรอดชีวิตของโพรไบโอติกติกสายพันธุ์ *L. rhamnosus* ในทุกภาวะการเก็บมีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้น โดยพบการรอดชีวิตของ *L. rhamnosus* ของตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มากกว่าของตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยปริมาณ *L. rhamnosus* ของตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสยังคงมีค่าประมาณ 6 log CFU/g ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อาหารจากโพรไบโอติกในประกาศกระทรวงสาธารณสุขเมื่อสิ้นสุดเก็บรักษา และพบว่าชนิดของบรรจุภัณฑ์ไม่ส่งผลต่อการรอดชีวิตของโพรไบโอติระหว่างการเก็บรักษา

คำสำคัญ: ฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด โพรไบโอติก ผักผงอัดเม็ด

ABSTRACT

The objectives of this study were to investigate the effect of packaging type (aluminum foil bag and high density polyethylene or HDPE plastic bottle) and storage temperature (4°C and 25°C) on quality of probiotic fortified vegetable tablets by monitoring the change of the color values, total phenolic content (TPC), antioxidant activity by 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging activity (DPPH) assay and the survival of probiotics (*Lactobacillus rhamnosus*) during the storage. Samples were evaluated for each parameters every week for 4 weeks. The results showed that the storage of probiotic fortified vegetable tablets at 4°C and 25°C in two types of packaging including aluminum foil bag and HDPE plastic bottle did not affect product color changes. An increase in storage time resulted in a lower in total phenolic content and antioxidant activity. Total phenolic content and antioxidant activity of samples stored at 4°C were higher than samples stored at 25°C. Similarly, the number of viable cells of probiotics strains *L. rhamnosus* in all storage conditions tended to decrease when the storage time increased. The survival of *L. rhamnosus* of samples stored at 4°C was higher than samples stored at 25°C. In addition, the number of viable *L. rhamnosus* of the sample stored at 4°C was still approximately 6 log CFU/ g according to food product standards from probiotics in the Ministry of Public Health announcement at the end of the storage for 4 weeks and the packaging type did not affect the survival of probiotics during the storage.

Keywords: antioxidant activity, total phenolic compound, probiotic, fortified vegetable tablets

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th
[1]Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330
[2]Special Task force of Activating Research (STAR) in Novel Technology for Food Packaging and Control of Shelf Life, Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, 10330

บทนำ

ผลิตภัณฑ์เสริมโพรไบโอติกส่วนใหญ่ที่มีอยู่ในท้องตลาด จัดอยู่ในผลิตภัณฑ์จากนม (milk based products) เช่น นมเปรี้ยว โยเกิร์ตผสมโพรไบโอติก และคีเฟอร์ ปัจจุบันได้มีการพัฒนาผลิตภัณฑ์เสริมโพรไบโอติกที่ไม่ใช่ผลิตภัณฑ์ที่มาจากนม (non milk based products) ในท้องตลาดหลากหลายชนิด ผลิตภัณฑ์ผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติกเป็นผลิตภัณฑ์ทางเลือกใหม่เพื่อสุขภาพในท้องตลาด โดยอบแห้งผักด้วยระบบสุญญากาศ บดให้เป็นผงผสมกับผงโพรไบโอติกแล้วขึ้นรูปด้วยการตอกเม็ด ผักที่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์ชนิดนี้ เช่น บีทรูท ป่วยเล้งขึ้นฉ่ายฝรั่ง ฟักทองญี่ปุ่น บร็อคโคลี มะเขือเทศเชอรี่ แครอท ผักชีล้อม กะหล่ำปลีม่วง พริกหวาน พาร์สเลย์ และต้นหอมญี่ปุ่น เป็นต้น ในผักและผลไม้ต่างชนิดกันจะมีสารประกอบฟีนอลิกที่มีความหลากหลายเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย อย่างไรก็ตามสารประกอบฟีนอลิกต่างๆ ที่ได้จากพืช สามารถนำมาใช้เป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) และต้านการอักเสบที่ดี สามารถยับยั้งหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดอนุมูลอิสระ (free radical) และช่วยลดความเสี่ยงของโรคบางชนิดได้ [1] ทำให้ได้รับความสนใจมากขึ้นในปัจจุบัน ดังนั้นจึงมีผู้ใช้สารประกอบดังกล่าวมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริมเป็นจำนวนมาก

สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) เป็นสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) พบได้ทั่วไปในพืชหลากหลายชนิด โดยพืชสร้างสารดังกล่าวขึ้นเพื่อประโยชน์ในการเจริญเติบโต ทำให้พืชแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันของปริมาณและชนิดของสารประกอบฟีนอลิก โครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิก จะมีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) อย่างน้อย 1 หมู่ ต่ออยู่กับวงเบนซีน ซึ่งปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ควรได้รับต่อวันอยู่ที่ประมาณ 150-1000 mg ต่อวัน [2] สามารถพบสารประกอบ ฟีนอลิกในส่วนประกอบต่างๆ ของพืช เช่น เมล็ด ราก ใบ และเปลือก โดยจะพบอนุพันธุ์สารประกอบ ฟีนอลิกหลายชนิด เช่น กรดฟีนอลิก (phenolic acids) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ลิกนิน (lignins) และแอนโทไซยานิน (anthocyanin) โดยความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิกเป็นผลมาจากหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) และอะตอมไฮโดรเจนที่ถ่ายโอนให้แก่อนุมูลอิสระ [3] สารประกอบฟีนอลิกจะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระ และไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่นๆ เมื่ออนุมูลอิสระได้รับอะตอมของไฮโดรเจนไปแล้ว อนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกจะไม่ทำปฏิกิริยาอื่นต่อไป จึงสามารถยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ที่มีอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุ ซึ่งช่วยชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิกสามารถเป็นตัวช่วยทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของปริมาณจุลินทรีย์ภายในลำไส้ใหญ่ได้ เนื่องจากสารประกอบดังกล่าวมีความสามารถในการยับยั้งและการกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์บางชนิดได้ [4]

โพรไบโอติก (probiotics) หมายถึง “จุลินทรีย์ที่มีชีวิต ซึ่งเมื่อร่างกายได้รับในปริมาณที่เพียงพอ จะทำให้เกิดผลที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ” [5] โดยโพรไบโอติก ช่วยปรับสมดุลในระบบลำไส้ของผู้บริโภค ช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคภายในลำไส้ [6,7,8] ช่วยให้ระบบการย่อยและการดูดซึมสารอาหารดีขึ้น สามารถลดความเสี่ยงของการเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่ และกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันได้ [9,10,11] สายพันธุ์ของโพรไบโอติกที่รู้จักโดยทั่วไปได้แก่ Lactobacilli และ Bifidobacteria [12] ซึ่งในผลิตภัณฑ์ผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติกต้องคำนึงถึงปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และปริมาณของโพรไบโอติกที่ยังมีชีวิตอยู่ ให้คงเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์ไม่น้อยกว่า 10^6 CFU ต่อกรัมอาหาร ตลอดอายุการเก็บรักษา ดังนั้นการเลือกใช้บรรจุภัณฑ์และภาวะการเก็บรักษาที่เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์จึงสามารถช่วยยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้ โดยบรรจุภัณฑ์จะสามารถป้องกันผลิตภัณฑ์จากปัจจัยสิ่งแวดล้อม เช่น แสงแดด ความชื้น อุณหภูมิ และแก๊สต่างๆ ในระหว่างการเก็บรักษา การเลือกใช้ภาชนะบรรจุที่เหมาะสมกับผลิตภัณฑ์จะช่วยให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพที่ดี เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและทางกายภาพของผลิตภัณฑ์น้อยที่สุด อีกทั้งอุณหภูมิในการเก็บรักษาก็สามารถส่งผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ดังนั้นจึงควรเก็บรักษาในภาวะอุณหภูมิที่เหมาะสม เพื่อหลีกเลี่ยงการเร่งอัตราการเสื่อมสลายของผลิตภัณฑ์จากอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงไป [13,14]

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th

[1]ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

[2]กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีใหม่สำหรับบรรจุภัณฑ์และการควบคุมอายุการเก็บอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาผลของชนิดบรรจุภัณฑ์ (อะลูมิเนียมฟอยล์และขวดยาพลาสติก HDPE) และอุณหภูมิการเก็บรักษา (4 และ 25 องศาเซลเซียส) ต่อการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก ได้แก่ ค่าสี (L*, a* และ b*) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน และการรอดชีวิตของโพรไบโอติกในระหว่างการเก็บรักษา เพื่อเป็นแนวทางในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติกให้มีคุณภาพที่ดี สามารถลดการเปลี่ยนแปลงที่ส่งผลให้เกิดความเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ทั้งทางเคมีและทางกายภาพได้

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

1. ตัวอย่างผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก

ตัวอย่างผักผงได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทเชียงใหม่ ไบโอเวกกี้ จำกัด ประกอบด้วยผัก 12 ชนิด ได้แก่ บีทรูท ป๋วยเล้ง ขึ้นฉ่ายฝรั่ง ฟักทองญี่ปุ่น บร็อคโคลี มะเขือเทศเชอรี่ แครอท ผักชีล้อม กะหล่ำปลีม่วง พริกหวาน พาร์สเลย์ และต้นหอมญี่ปุ่น ผักทั้งหมดอยู่ในลักษณะผงละเอียดที่ผ่านการทำแห้งแบบสุญญากาศผสมและขึ้นรูปด้วยการตอกเม็ดรวมกับโพรไบโอติกสายพันธุ์ *Lactobacillus rhamnosus* ชนิดผงแห้ง ให้มีปริมาณโพรไบโอติกที่ยังมีชีวิตอยู่คงเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์ไม่น้อยกว่า 10^6 CFU ต่อกรัมอาหาร ตลอดอายุการเก็บรักษา (ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อาหารจากโพรไบโอติกในประกาศกระทรวงสาธารณสุข) โพรไบโอติกที่ใช้ในการทดลอง จำหน่ายทางการค้าโดยบริษัท แบรนแทค ประเทศไทยจำกัด เป็นสายพันธุ์ที่ผ่านการรับรองจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา ว่าเป็นสายพันธุ์โพรไบโอติกที่อนุญาตให้ใช้ในการผลิตอาหารในประเทศไทยและมีเอกสารการรับรองสายพันธุ์อย่างถูกต้อง

2. การศึกษาผลของภาวะการเก็บรักษาต่อคุณภาพของผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก

บรรจุตัวอย่างผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติกในบรรจุภัณฑ์ 2 ชนิดคือ ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ ขนาด 10x15 cm. แล้วผนึกถุงด้วยเครื่องผนึกถุงอัตโนมัติ และขวดยาพลาสติก HDPE ขนาด 100 mL โดยบรรจุตัวอย่างผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติกลงในบรรจุภัณฑ์แต่ละชนิดอย่างละ 10 g แล้วเก็บรักษาที่ 2 อุณหภูมิ (4 และ 25 องศาเซลเซียส) จากนั้นวิเคราะห์ค่าสี (L*, b* และ a*) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน และอัตราการรอดชีวิตของโพรไบโอติก โดยวิเคราะห์คุณภาพผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติกทุกสัปดาห์ เป็นเวลา 4 สัปดาห์

3. การสกัดตัวอย่างผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก

บดผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติกให้เป็นผงละเอียด จากนั้นสกัดสารด้วยตัวทำละลายเมทานอลเข้มข้นร้อยละ 70 (v/v) ในอัตราส่วนผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติกต่อตัวทำละลาย 1:20 (กรัมน้ำหนักแห้ง : มิลลิลิตร) และเขย่าด้วยเครื่อง shaking water bath ความเร็วรอบ 150 rpm ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman No.1 ระเหยตัวทำละลายเมทานอลด้วยเครื่อง rotary evaporator ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และเก็บสารสกัดที่ได้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน

4. การวัดค่าสีของผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก

วัดสีของผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติกด้วยเครื่อง Chroma meter (Monica Minolta รุ่น CR-400, Japan) ระบบสี CIE และบันทึกค่า L*, a* และ b* โดยปรับมาตรฐานเครื่องก่อนการวัดตัวอย่างทุกครั้งและวัดค่าสีบนผิวของตัวอย่างจำนวน 3 จุด แล้วบันทึกผล คำนวณค่า hue (relative position of color between lightness and redness) และ chroma (color intensity) ตามสมการ

$$\text{hue angle} = \tan^{-1}[b^*/a^*]$$

$$\text{chroma} = (a^{*2}+b^{*2})^{1/2}$$

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th
[1]Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330
[2]Special Task force of Activating Research (STAR) in Novel Technology for Food Packaging and Control of Shelf Life, Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, 10330

5. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดย Folin-Ciocalteu ตามวิธีของ Waterhouse (2002) [15]

ปิเปตตัวอย่าง ปริมาตร 100 µL จากข้อ 3 ลงในขวดปรับปริมาตร 10 mL เติมน้ำกลั่น 7 mL และ Folin-Ciocalteu reagent 500 µL ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ประมาณ 1-8 นาที จากนั้นเติมสารละลาย Na_2CO_3 อิ่มตัวปริมาตร 1.5 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ตั้งทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้องในที่มืด แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm และคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเทียบกับกราฟมาตรฐาน (สารละลายมาตรฐาน gallic acid) โดยรายงานค่าสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในหน่วย mg GAE/100 g dry wt.

6. การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน ด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ดัดแปลงจากวิธีของ Brand-Williams et al. (1995) [16]

เตรียม stock solution โดยชั่ง DPPH 24 mg ละลายในเมทานอล 50 mL เทลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยเมทานอลจะได้สารละลาย DPPH ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 6×10^{-4} M เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ไม่เกิน 5 วัน และทำการเตรียม daily solution โดยปิเปตสารละลาย DPPH (stock solution) 10 mL ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 mL แล้วปรับปริมาตรด้วยเมทานอล จะได้สารละลาย DPPH ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 1.2×10^{-4} M วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm ของ daily solution ซึ่งเป็นค่า ($A_{initial}$) โดยใช้เมทานอลสำหรับ set blank ค่า ($A_{initial}$) และควรมีค่าประมาณ 1.1 หากค่าการดูดกลืนแสงมีค่ามากกว่าหรือน้อยกว่า 1.1 ให้เติมเมทานอลหรือ stock solution เพื่อปรับค่า จากนั้นปิเปตตัวอย่าง 250 µL ผสมกับสารละลาย DPPH 4.75 mL ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืด เป็นเวลา 15 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงเช่นเดียวกันกับ daily solution จากนั้นหักลบค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH (stock solution) จากค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากตัวอย่าง (A_{final}) ได้เป็นผลต่างของค่าการดูดกลืนแสง ($A_{differance}$)

$$A_{differance} = A_{initial} - A_{final}$$

นำค่า $A_{differance}$ ที่ได้จากตัวอย่างไปคำนวณหาค่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเทียบกับ $A_{differance}$ ของกราฟมาตรฐาน trolox รายงานค่าฤทธิ์การต้านออกซิเดชันในหน่วย mM trolox/100 g dry wt.

7. การวิเคราะห์การรอดชีวิตของโพรไบโอติก ตามวิธีของ AOAC (2005) [17]

วิเคราะห์ปริมาณ *L. rhamnosus* ด้วยวิธีการ pour plate technique ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar (Merck, Germany) โดยชั่งตัวอย่างผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก 5 กรัม ละลายในสารละลายเปปโตนความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (w/v) ปริมาตร 50 mL จากนั้นทำ serial dilution แล้วดูดสารละลายของตัวอย่าง ลงในจานเพาะเชื้อจานละ 1 mL ที่ระดับเจือจางละ 2 จาน จากนั้นเทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในจานเพาะเชื้อแล้วผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้รอจนอาหารแข็งตัวแล้วคว่ำจานเพาะเชื้อ ใส่ใน anaerobic jar ก่อนนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนีภายในช่วง 25-250 โคโลนี และรายงานค่าการรอดชีวิตของโพรไบโอติกในหน่วย colony forming units/mL (CFU/mL)

8. การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

ออกแบบการทดลองโดยใช้แผนการทดลองแบบ Factorial in CRD จากนั้นวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของข้อมูลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS version 22 (Statistical Package for Social Sciences) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p\leq0.05$) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th
[1]ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330
[2]กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีใหม่สำหรับบรรจุภัณฑ์และการควบคุมอายุการเก็บอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ค่าสีของตัวอย่างผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติกระหว่างการเก็บรักษา

ค่าสีสามารถแสดงได้ด้วยค่า L* (lightness), a* (redness) และ b* (yellowness) โดยค่า L* เป็นค่าที่แสดงความสว่าง (L* มีค่ามากสุดเท่ากับ 100 ซึ่งหมายถึงสว่างมาก และมีค่าน้อยสุด เท่ากับ 0 ซึ่งหมายถึงสีดำ) ในขณะที่ค่า a* ที่เป็นบวกหมายถึงสีแดงและค่า a* ที่เป็นลบหมายถึงสีเขียว นอกจากนี้ค่า b* ที่เป็นบวกหมายถึงสีเหลืองและค่า b* ที่เป็นลบหมายถึงสีน้ำเงิน [18] โดยค่าที่บ่งบอกถึงความเข้มหรือความสดใสของสีคือค่า chroma ถ้ามีค่าน้อยสีจะเข้ม และถ้ามีค่ามากสีจะสดใส และค่าสีที่สะท้อนมาจากสีของตัวอย่างคือค่า hue [19] จากการศึกษาพบว่าชนิดของบรรจุภัณฑ์และอุณหภูมิในการเก็บรักษาไม่ส่งผลต่อค่าสีของผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก อย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) โดยตัวอย่างผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก มีค่า L* ประมาณ 73.97-77.69 ซึ่งหมายถึงมีความสว่างค่อนข้างมาก และมีค่า a* ประมาณ 5.19-5.80 ซึ่งหมายถึงมีค่าสีแดงอ่อนๆ ในขณะที่ค่า b* มีค่าประมาณ 13.13-15.09 ซึ่งหมายถึงมีสีค่อนข้างไปทางสีเหลือง เมื่อพิจารณาค่าสีในระบบ Munsell ตัวอย่างมีค่า chroma ประมาณ 13.34-16.05 ซึ่งบ่งบอกถึงความเข้มของสี และตัวอย่างมีค่า hue ประมาณ 66.27-70.00 องศา ซึ่งเป็นตัวเลขที่ระบุตำแหน่งของสีและมีหน่วยเป็นองศา โดย 45-90 องศา แสดงสีส้มแดงถึงสีเหลือง ดังนั้นเมื่อพิจารณาค่าสีทั้งหมดพบว่าตัวอย่างผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติกมีสีเหลืองครีม

Table 1 Color (CIE L*, a*, b*, chroma and hue) of probiotic fortified vegetable tablets during storage

	Package	Temperature (°C)	Storage time Week 1	Week 2	Week 3	Week 4
L* value^{NS}	HDPE	4	75.92 ± 1.21	74.64 ± 1.68	74.80 ± 1.70	73.97 ± 1.91
		25	77.39 ± 1.60	75.28 ± 0.90	75.72 ± 1.61	74.36 ± 2.04
	Aluminium foil	4	77.69 ± 0.39	75.67 ± 0.12	77.62 ± 0.88	74.51 ± 0.32
		25	77.32 ± 1.20	75.60 ± 1.12	77.22 ± 0.52	74.50 ± 0.31
a* value^{NS}	HDPE	4	5.29 ± 0.35	5.46 ± 0.39	5.77 ± 0.38	5.80 ± 0.38
		25	5.28 ± 0.23	5.32 ± 0.34	5.76 ± 0.10	5.49 ± 0.30
	Aluminium foil	4	5.55 ± 0.28	5.25 ± 0.19	5.58 ± 0.19	5.58 ± 0.02
		25	5.49 ± 0.45	5.19 ± 0.10	5.60 ± 0.47	5.50 ± 0.10
b* value^{NS}	HDPE	4	13.85 ± 2.89	13.51 ± 3.23	13.13 ± 0.93	13.26 ± 0.50
		25	13.72 ± 2.18	14.19 ± 1.61	14.25 ± 0.13	13.25 ± 0.57
	Aluminium foil	4	14.33 ± 2.15	13.74 ± 3.18	13.47 ± 0.51	13.41 ± 0.22
		25	15.09 ± 1.94	13.59 ± 1.25	13.77 ± 0.70	13.60 ± 0.39
chroma^{NS}	HDPE	4	14.83 ± 2.91	14.57 ± 3.25	13.34 ± 1.01	14.47 ± 0.63
		25	14.71 ± 2.19	15.15 ± 1.64	15.37 ± 0.16	14.34 ± 0.64
	Aluminium foil	4	15.37 ± 2.16	14.71 ± 3.18	14.58 ± 0.54	14.52 ± 0.22
		25	16.05 ± 1.99	14.55 ± 1.25	14.86 ± 0.84	14.67 ± 0.41
hue^{NS}	HDPE	4	69.09 ± 8.31	67.99 ± 8.32	66.27 ± 4.73	66.37 ± 5.27
		25	68.95 ± 7.81	69.45 ± 7.81	67.99 ± 5.24	67.49 ± 6.22
	Aluminium foil	4	68.83 ± 8.25	69.08 ± 8.65	67.49 ± 6.95	67.41 ± 8.48
		25	70.00 ± 7.69	69.09 ± 8.54	67.87 ± 5.61	67.98 ± 7.56

Remark: mean ± SD (from 3 replicates)

^{NS} means within the same row were not significantly different ($p>0.05$)

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th

[1]Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330

[2]Special Task force of Activating Research (STAR) in Novel Technology for Food Packaging and Control of Shelf Life, Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, 10330

2. ผลของภาวะการเก็บรักษาต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติกระหว่างการเก็บรักษา

สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) เป็นไฟโตนิวเทรียนท์ (phytonutrient) หรืออินทรีย์สารจากพืช พบได้ทั่วไปในผัก ผลไม้ และพืชชนิดต่างๆ นอกจากนี้ยังพบในผลิตภัณฑ์ชา ไวน์ น้ำส้มสายชูหมัก โกโก้ และเบียร์ โดยโครงสร้างประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) จับกับหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อยหนึ่งหมู่ในโมเลกุล จำแนกได้จากจำนวนของวงแหวนและธาตุที่มาจับกับวงแหวนนั้นๆ เช่น กรดฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ สติลบีน และลิกแนน ทั้งยังมีคุณสมบัติที่มีประโยชน์ในเชิงสุขภาพและทางการแพทย์ สามารถใช้ลดความเสี่ยงของการเกิดโรคได้หลายชนิด เช่น โรคหัวใจ โรคมะเร็ง และโรคเบาหวาน เป็นต้น เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกมีคุณสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชัน จึงช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคดังกล่าว สารประกอบฟีนอลิกยังช่วยป้องกันฟันผุ และต้านเชื้อจุลินทรีย์บางชนิดได้อีกด้วย [20]

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติกเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าเมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของทุกตัวอย่างมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยในสัปดาห์แรก ตัวอย่างมีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดประมาณ 550.77 ± 39.35 ถึง 514.38 ± 8.45 (mg GAE/100 g,db) เมื่อเก็บตัวอย่างเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงเหลือประมาณ 384.11 ± 2.67 ถึง 360.22 ± 21.61 (mg GAE/100 g,db) อย่างไรก็ตามผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติกที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าตัวอย่างที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นอกจากนั้นยังพบว่าชนิดของบรรจุภัณฑ์ที่ใช้ในการเก็บรักษาไม่ส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ดังแสดงใน Table 2 เนื่องจากบรรจุภัณฑ์อะลูมิเนียมฟอยล์ และขวดยาพลาสติกชนิด HDPE สามารถป้องกันแสง และป้องกันความชื้นได้ดี จึงไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยการลดลงของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในระหว่างการเก็บรักษานี้ เกิดจากปฏิกิริยาการเสื่อมสลายทางเคมีในระหว่างการเก็บรักษา [21] ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่ศึกษาภาวะการเก็บรักษาต่อคุณภาพของข้าว โดยเก็บข้าวที่อุณหภูมิ 4 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 เดือน และพบว่าเมื่ออายุการเก็บผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้น ข้าวที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์การต้านออกซิเดชันลดลงมากกว่าตัวอย่างที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส [22] นอกจากนี้ข้าวกล้องและข้าวขาวขัดสีที่หุงสุก ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง มีปริมาณสารต้านออกซิเดชันและฤทธิ์การต้านออกซิเดชันสูงกว่าตัวอย่างที่เก็บรักษาเป็นเวลา 24 ชั่วโมง [23] ซึ่งแสดงให้เห็นว่าระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ส่งผลต่อปริมาณและฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน โดยการเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูงกว่าและเป็นระยะเวลาที่นานกว่าส่งผลให้สารต้านออกซิเดชันและฤทธิ์การต้านออกซิเดชันลดลงมากกว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำกว่าและระยะเวลาการเก็บรักษาน้อยกว่า

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th
[1]ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330
[2]กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีใหม่สำหรับบรรจุภัณฑ์และการควบคุมอายุการเก็บอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

Table 2 Total phenolic content of probiotic fortified vegetable tablets during storage

Storage time (weeks)	Phenolic compound (mg GAE/100 g,db*)			
	HDPE		Aluminium foil	
	4°C	25°C	4°C	25°C
0	658.27 ± 49.31$^{A, a}$	658.27 ± 49.31$^{A, a}$	658.27 ± 49.31$^{A, a}$	658.27 ± 49.31$^{A, a}$
1	550.77 ± 39.35$^{A, b}$	517.16 ± 19.08$^{A, b}$	531.61 ± 44.29$^{A, b}$	514.38 ± 8.45$^{A, b}$
2	484.94 ± 12.94$^{A, c}$	464.66 ± 35.38$^{A, c}$	468.55 ± 21.49$^{A, c}$	462.72 ± 53.63$^{A, c}$
3	427.72 ± 23.81$^{A, c}$	407.99 ± 16.84$^{A, c}$	430.49 ± 20.63$^{A, c}$	418.55 ± 52.53$^{A, c}$
4	382.99 ± 32.47$^{A, e}$	360.22 ± 21.61$^{A, e}$	384.11 ± 2.67$^{A, e}$	379.94 ± 24.73$^{A, e}$

Remark: mean ± SD (from 3 replicates)

^{A} same letter with in each row indicates no significant differences ($p>0.05$)

$^{a-e}$ different letter within each column indicates significant differences ($p\leq0.05$)

* mg GAE/100 g, db = mg gallic acid equivalent / 100 grams dry basis

3. ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติกระหว่างการเก็บรักษา

จากการศึกษาฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติกระหว่างการเก็บรักษาด้วยวิธี DPPH พบว่าการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีฤทธิ์การต้านออกซิเดชันสูงกว่าผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ในบรรจุภัณฑ์ทั้งสองชนิด ดังแสดงใน Table 3 และเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มมากขึ้น ส่งผลให้ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) โดยผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติกมีฤทธิ์การต้านออกซิเดชันเริ่มต้นเท่ากับ 654.43 ± 49.23 mM trolox/100 g, db และมีค่าลดลงเมื่อสิ้นสุดการเก็บรักษา ซึ่งมีค่าในช่วง 391.61 ± 5.38 – 444.43 ± 57.97 mM trolox/100 g, db การลดลงของฤทธิ์การต้านออกซิเดชันเป็นผลมาจากสารประกอบฟีนอลิก เนื่องจากสมบัติในการต้านออกซิเดชันนั้นสัมพันธ์กับโครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลิก จำนวนหมู่ ไฮดรอกซิล รวมไปถึงความสามารถในการเกิดคอนจูเกชัน (conjugation) และเรโซแนนซ์ (resonance) ในโมเลกุล [24] เมื่อมีการลดลงของสารประกอบฟีนอลิกหรือสารต้านออกซิเดชันจากปฏิกิริยาการเสื่อมสลายทางเคมีในระหว่างการเก็บรักษานั้น จะส่งผลให้ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของตัวอย่างลดลงด้วย นอกจากนั้นยังพบว่าอุณหภูมิที่แตกต่างกันในการเก็บรักษา ส่งผลต่อฤทธิ์การต้านออกซิเดชันและปริมาณสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ จากงานวิจัย Zhou et al. (2004) ที่ศึกษาการเก็บรักษาข้าวที่อุณหภูมิ 4 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 เดือน พบว่า เมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ข้าวที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีฤทธิ์การต้านออกซิเดชันและมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงมากกว่าตัวอย่างทีเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th

[1]Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330

[2]Special Task force of Activating Research (STAR) in Novel Technology for Food Packaging and Control of Shelf Life, Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, 10330

Table 3 DPPH-Radical scavenging activity of probiotic fortified vegetable tablets during storage

Storage time (weeks)	DPPH-radical scavenging activity (mM trolox/100 g, db)			
	HDPE		Aluminium foil	
	4°C	25°C	4°C	25°C
0	654.43 ± 49.23$^{A, a}$	654.43 ± 49.23$^{A, a}$	654.43 ± 49.23$^{A, a}$	654.43 ± 49.23$^{A, a}$
1	630.33 ± 28.78$^{A, b}$	573.41 ± 24.61$^{A, b}$	623.66 ± 7.31$^{A, b}$	588.28 ± 8.88$^{A, b}$
2	593.66 ± 16.25$^{A, b}$	541.61 ± 37.71$^{A, b}$	601.35 ± 26.60$^{A, b}$	568.53 ± 22.01$^{A, b}$
3	501.10 ± 28.94$^{A, c}$	471.87 ± 25.56$^{A, c}$	511.87 ± 9.49$^{A, c}$	443.40 ± 21.12$^{A, c}$
4	444.43 ± 57.97$^{A, d}$	391.61 ± 5.38$^{A, d}$	436.48 ± 27.10$^{A, d}$	404.17 ± 21.86$^{A, d}$

Remark: mean ± SD (from 3 replicates)

^{A} same letter with in each row indicates no significant differences ($p>0.05$)

$^{a-d}$ different letter within each column indicates significant differences ($p\leq0.05$)

4. ปริมาณการรอดชีวิตของโพรไบโอติกในระหว่างกระบวนการเก็บรักษา

L. rhamnosus เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีรูปร่างเป็นท่อนเดี่ยว หรือต่อกันเป็นสายสั้น ไม่สร้างสปอร์ เจริญได้ทั้งในภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) ไม่เคลื่อนที่ เป็นเชื้อประจำถิ่นในร่างกายมนุษย์ที่พบได้ในหลายบริเวณ เช่น ช่องปาก ช่องคลอด และลำไส้ ทนต่อการถูกทำลายด้วยกรดที่กระเพาะและด่างที่ลำไส้เล็ก *L. rhamnosus* เป็นโพรไบโอติกที่มีความปลอดภัย โดยจัดอยู่ในกลุ่มแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลคติค (lactic acid bacteria) ได้ จึงถูกนำมาใช้ประโยชน์ในการหมักอาหารบางชนิด เช่น นมเปรี้ยว โยเกิร์ต และเนย เป็นต้น *L. rhamnosus* สามารถสร้างและปล่อยสารออกมาฆ่าเชื้อดื้อยา เช่น การลดจำนวนจุลินทรีย์ก่อโรคและจุลินทรีย์ก่อโรคในลำไส้ สามารถเกาะติดกับเยื่อบุลำไส้ได้ดีกว่ากว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติกสายพันธุ์อื่น จากคุณสมบัติที่เป็นประโยชน์ในเชิงสุขภาพ ทำให้มีการนำ *L. rhamnosus* มาใช้ประโยชน์กันอย่างแพร่หลาย จากงานวิจัยการรักษาโรคท้องร่วงในทารก โดยการให้โพรไบโอติกสายพันธุ์ *L. rhamnosus* GG แก่ทารก พบว่าผู้ป่วยหายจากอาการป่วยได้เร็วขึ้น และสามารถลดระยะเวลาและความรุนแรงของอาการท้องร่วงได้ดี [25] นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาโดยการให้โพรไบโอติกสายพันธุ์เดียวกันแก่ผู้ป่วยเด็กที่มีอาการผื่นแพ้ผิวหนัง และผลการทดลองพบว่าการบริโภค *L. rhamnosus* GG ช่วยลดอาการดังกล่าวได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้บริโภคโพรไบโอติก [26] และยังมีรายงานที่ใช้ *L. rhamnosus* ในการรักษาโรคอื่นๆ อีกมากมาย เช่น ลดอาการลำไส้อักเสบ [27,28] และลดการติดเชื้อในช่องคลอด [29,30] เป็นต้น

Figure 1 แสดงปริมาณการรอดชีวิตของ *L. rhamnosus* ในตัวอย่างผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติกระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส ในบรรจุภัณฑ์สองชนิด (ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์และขวดยาพลาสติก HDPE) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ จากผลการทดลองพบว่าปริมาณเริ่มต้นของ *L. rhamnosus* มีค่าประมาณ 6 log CFU/g (ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อาหารโพรไบโอติกในประกาศกระทรวงสาธารณสุข) เมื่อเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นปริมาณการรอดชีวิตของ *L. rhamnosus* มีค่าลดลด โดยในสัปดาห์ที่ 3 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส *L. rhamnosus* มีการรอดชีวิตประมาณ 5 log CFU/g ซึ่งต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานผลิตภัณฑ์อาหารจากโพรไบโอติกในประกาศกระทรวงสาธารณสุข อย่างไรก็ตามตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ยังคงมีปริมาณโพรไบโอติกอยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด (ประมาณ 6 log CFU/g) จากงานวิจัยของ Ikigai et al. (1993) [31] ที่ศึกษาเกี่ยวกับ

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th

[1]ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

[2]กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีใหม่สำหรับบรรจุภัณฑ์และการควบคุมอายุการเก็บอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

สารสกัดจากพืชที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ พบว่าแบคทีเรียแกรมลบมีความสามารถในการต้านทานต่อสารประกอบฟีนอลิกได้สูงกว่าแบคทีเรียแกรมบวก เนื่องจากในชั้นเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบมีสารลิโปพอลีแซกคาไรด์ (lipopolysaccharides) ซึ่งมีสมบัติในการปกป้องเซลล์แบคทีเรีย จึงสามารถป้องกันการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียได้ ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยนี้ โดย *L. rhamnosus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ดังนั้นในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์จึงอาจจะถูกยับยั้งการเจริญโดยสารประกอบฟีนอลิกได้ นอกจากนี้ Moreno et al. (2016) ได้รายงานสมบัติการต้านจุลินทรีย์ของสารประกอบฟีนอลิกจากโรสแมรี่ว่า การยับยั้งจุลินทรีย์จากสารสกัดเกิดจากการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ซึ่งขึ้นกับอัตราการแพร่เข้าสู่เซลล์ หรือการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ ส่งผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงการแพร่ผ่านเข้าออกของสาร และทำให้จุลินทรีย์ตายในที่สุด [32]

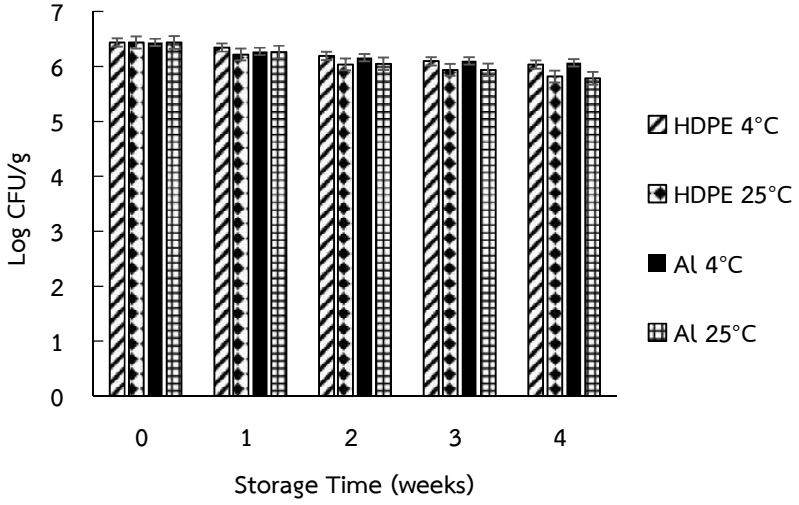

Figure 1 Viability of *L. rhamnosus* (Log CFU/g) of probiotic fortified vegetable tablets stored in aluminium foil (Al) and high density polyethylene (HDPE) bottle at 4°C and 25°C

สรุปผล

การเก็บรักษาผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก ในบรรจุภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิดได้แก่ ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ และขวดยาพลาสติก HDPE และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 สัปดาห์ ไม่ส่งผลต่อค่าสี (L* b* a*) ของผลิตภัณฑ์ และการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 และ 25 องศาเซลเซียส ไม่ส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านออกซิเดชันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านออกซิเดชันลดลง ในทางกลับกันการเก็บรักษาผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติกในบรรจุภัณฑ์ทั้ง 2 ชนิด ไม่ส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านออกซิเดชัน นอกจากนี้อัตราการรอดชีวิตของโพรไบโอติกมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) เมื่อเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น โดยการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบการรอดชีวิตของโพรไบโอติกมากกว่าที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยสัปดาห์ที่ 4 ในการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติกยังคงมีปริมาณของ *L. rhamnosus* อยู่ที่ประมาณ 6 log CFU/g (ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อาหารจากโพรไบโอติกในประกาศกระทรวงสาธารณสุข) ซึ่งชนิดของบรรจุภัณฑ์ไม่ส่งผลต่อการรอดชีวิตของโพรไบโอติก ดังนั้น

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th
[1]Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330
[2]Special Task force of Activating Research (STAR) in Novel Technology for Food Packaging and Control of Shelf Life, Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, 10330

อุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์จึงเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อคุณภาพผักผงอัดเม็ดเสริมโพรไบโอติก ผลการทดลองจากงานวิจัยนี้สามารถใช้เป็นข้อมูลในการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมต่อไปได้ เพื่อให้ผลิตภัณฑ์ยังคงคุณภาพและมีประโยชน์ต่อผู้บริโภคสูงสุด

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กองทุนรัชดาภิเภษสมโภช รหัสโครงการ CU-GR_62_001_23_001-T (Ratchadaphiseksomphot Endowment Fund) ประจำปี 2562

เอกสารอ้างอิง

[1] Habila, J.D., Bello, I.A., Dzikwi, A.A., Musa, H. and Abubakar, N. (2010). Total phenolics and antioxidant activity of *Tridax procumbens* Linn. African Journal of Pharmacy and Pharmacology. 4(3): 123-126.

[2] Brat, P., Georgé, S., Bellamy, A., Du Chaffaut, L., Scalbert, A., Mennen, L., Arnault, N. and Amiot, M.J. (2006). Daily polyphenol intake in France from fruit and vegetables. The Journal of Nutrition. 136(9): 2368–2373.

[3] Chen, J.H. and Ho, C.T. (1997). Antioxidant activities of caffeic acid and Its related hydroxycinnamic acid compounds. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 45: 2374-2378.

[4] Smith, A.H., Zoetendal, E. and Mackie, R.I. (2005). Bacterial mechanisms to overcome inhibitory effects of dietary tannins. Microbial Ecology. 50: 197–205.

[5] Notification of the Ministry of Public Health (2011). Use of probiotic microorganisms in foods. Published in the Government Gazette. 128(86): 21-25.

[6] Charalampopoulos, D., Wang, R., Pandiella, S.S. and Webb, C. (2002). Application of cereals and cereal components in functional foods: a review. International Journal of Food Microbiology. 79: 131-141.

[7] Ziemer, C.J. and Gibson, G.R. (1998). An overview of probiotics, prebiotics and synbiotics in the functional food concept: Perspectives and future Strategies. International Dairy Journal. 8(5-6): 473-479.

[8] Saarela, J.S. (2000). Probiotics and infectious diarrhea. The American Journal of Gastroenterology. 95(1): S16-S18.

[9] Zubillaga, M., Weill, R., Postaire, E., Goldman, C., Caro, R. and Boccio, J. (2001). Effect of probiotics and functional foods and their use in different diseases. Nutrition Research. 21(3): 569-579.

[10] Perdigon, G., Alvarez, S., Rachid, M., Agüero, G. and Gobbato, N. (1995). Immune system stimulation by probiotics. Journal of Dairy Science. 78(7): 1597-1606.

[11] Brady, L.J., Gallaher, D.D. and Busta, F.F. (2000). The role of probiotic cultures in the prevention of colon cancer. The Journal of Nutrition. 130(2S): 410S-414S.

[12] Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. The Journal of Nutrition. 125(6): 1401-1412.

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th

[1]ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

[2]กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีใหม่สำหรับบรรจุภัณฑ์และการควบคุมอายุการเก็บอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

[13] Santiyanon, N. (2008). Stability of pharmaceutical product and storage. Thai Pharmaceutical and Health Science Journal. 3(1): 180-187.

[14] Food and Drug Administration. (1999). Drug stability. 1: 1-139.

[15] Waterhouse, A.L. (2002). Determination of total phenolic compounds. Current Protocols in Food Analytical Chemistry. Units I: I1.1.1-I1.1.8.

[16] Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. and Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Food Science and Technology. 28(1): 25-30.

[17] AOAC. (2005). Official methods of analysis of AOAC international (18th ed.). Gaithersberg, MD, USA: AOAC International.

[18] Hunter Associates Laboratory. (2008). CIE L* a* b* Color Scale. Application Note. 8: 1-4

[19] McGuire, R.G. (1992). Report of objective color measurements. HortScience 27(12): 1254-1255.

[20] Bravo, L. (1998). Polyphenols: Chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. Nutrition Reviews. 56(11): 317-333.

[21] Norkaew, O., Boontakham, P., Dumri, K., Noenplab, A.N.L., Sookwong, P. and Mahatheeranont, S. (2017). Effect of post-harvest treatment on bioactive phytochemicals of Thai black rice. Food Chemistry. 217: 98-105.

[22] Zhou, Z., Chen, X., Zhang, M. and Blanchard, C. (2014). Phenolics, flavonoids, proanthocyanidin and antioxidant activity of brown rice with different pericarp colors following storage. Journal of Stored Products Research. 59: 120-125.

[23] Chmiel, T., Saputro, I.E., Kusznierewicz, B. and Bartoszek, A. (2018). The Impact of cooking method on the phenolic composition, total antioxidant activity and starch digestibility of rice (*Oryza sativa* L.). Journal of Food Processing and Preservation. 42(1): 31.

[24] Rice-Evans, C.A., Miller, N.J. and Paganga, G. (1996). Structure-antioxidant activity relationships of flavonoid and phenolic acids. Free Radical Biology and Medicine. 20: 933-938.

[25] Guandalini, S., Pensabene, L., Zikri, M.A., et al. (2000). *Lactobacillus* GG administered in oral rehydration solution to children with acute diarrhea: A multicenter European trial. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. 30: 54-60.

[26] Kalliomaki, M., Kirjavainen, P., Eerola, E., Kero, P., Salminen, S. and Isolauri, E. (2001). Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing. The Journal of Allergy and Clinical Immunology. 107: 129-134.

[27] Madden, J.A.J. and Hunter, J.O. (2002). A review of the role of the gut microflora in irritable bowel syndrome and the effects of probiotics. British Journal of Nutrition. 88: S67–S72.

[28] Hoveyda, N., Heneghan, C., Mahtani, K.R., Perera, R., Roberts, N. and Glasziou, P. (2009). A systematic review and meta-analysis: probiotics in the treatment of irritable bowel syndrome.BMC Gastroenterol. 9: 15.

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th

[1]Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330

[2]Special Task force of Activating Research (STAR) in Novel Technology for Food Packaging and Control of Shelf Life, Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok, Thailand, 10330

[29] Reid, G., Burton, J., Hammond, J.A. and Bruce, A.W. (2004). Nucleic acid-based diagnosis of bacterial vaginosis and improved management using probiotic lactobacilli. Journal of Medicinal Food. 7(2): 223-228.

[30] Falagas, M., Betsi, G.I. and Athanasiou, S. (2007). Probiotics for the treatment of woman with bacterial vaginosis. Clinical Microbiology and Infection. 13(7): 657-664.

[31] Ikigai, H., Nakae T., Hara, Y. and Shimamura, T. (1993). Bactericidal catechins damage the lipid bilayer. Biochimica et Biophysica Acta. 1147(1): 132–136.

[32] Moreno, S., Scherer, T., Romano, C.S. and Vojnov, A.A. (2006). Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. Free Radical Research. 40: 223-231.

* Corresponding author e-mail: Kitipong.A@chula.ac.th

[1]ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330

[2]กลุ่มวิจัยเทคโนโลยีใหม่สำหรับบรรจุภัณฑ์และการควบคุมอายุการเก็บอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพฯ 10330