ชื่อเรื่อง คุณสมบัติการส่งเสริมสุขภาพของโพรไบโอติคสายพันธุ์ *Lactobacillus pentosus* เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อเริ่มต้นในการผลิตเครื่องดื่มถั่วเหลืองโพรไบโอติค
ผู้วิจัย นางสาวอรุณรัศมี แสงศิลา
ปริญญา ปรัชญาดุษฎีบัณฑิต (ปร.ด.) **สาขาวิชา** เทคโนโลยีชีวภาพ
กรรมการควบคุม ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ปริยาภรณ์ อิศรานุวัฒน์
Prof. Dr. Annie Pfohl-Leszkowicz
มหาวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหาสารคาม **ปีที่พิมพ์** 2558

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ (1) ศึกษาคุณสมบัติการส่งเสริมสุขภาพของโพรไบโอติคแลคโต-บาซิลัสเพนโทซัส (*Lb. pentosus*) สายพันธุ์ต่าง ๆ (2) ผลิตเครื่องดื่มถั่วเหลืองโพรไบโอติค และศึกษาคุณสมบัติทางเคมี ประเมินการยอมรับทางประสาทสัมผัส และอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ เชื้อโพรไบโอติคแลคโตบาซิลัสเพนโทซัส จำนวน 8 สายพันธุ์ ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ได้แก่ DM068 JM0812 JM085 UM054 UM055 VM095 VM096 และYM122 ศึกษารูปแบบการเจริญของเชื้อ *Lb. pentosus* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ De Man Rogosa Sharpe (MRS) ซึ่งมีน้ำตาลชนิดต่างๆ ได้แก่ แลคโตส (lactose) ราฟิโนส (raffinose) และน้ำตาลฟรุคโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์ (fructooligosaccharide) เปรียบเทียบกับน้ำตาลกลูโคส ผลการทดลองพบว่าเชื้อแลคโตบาซิลัสเพนโทซัสจำนวน 5 จาก 8 สายพันธุ์ ได้แก่ UM054 UM055 VM095 VM096 และYM122 สามารถเจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมน้ำตาลโอลิโกแซคคาร์ไรด์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลูโคส โดยค่าการเจริญสูงสุดพบในชั่วโมงที่ 12-15 มีค่า 2.72-2.91 ค่าพีเอช 3.60-3.70 ที่ 24 ชั่วโมง การใช้น้ำตาล (sugar utilization) และการผลิตกรดไขมันสายสั้น (SCFAs production) จะขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำตาลที่เติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อและสายพันธุ์ที่ทดสอบ ($p < 0.05$) เชื้อสามารถใช้น้ำตาลกลูโคส (94.38%) ได้ดีกว่าน้ำตาลราฟฟิโนส (68.78%) น้ำตาลแลคโตส (68.34%) และน้ำตาลฟลุคโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์ (22.65%) ตามลำดับ เชื้อแบคทีเรียทั้ง 5 สายพันธุ์แสดงความสามารถในการผลิตกรดอินทรีย์และกรดไขมันสายสั้น โดยกรดแลคติค (16.64-18.13 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) กรดอะซิติค (89.02-98.49 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร) กรดโพรพิโอนิก (38.31-64.70 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร) และกรดบิวทีริก (37.82-46.08 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร) การทดสอบคุณสมบัติด้านการส่งเสริมสุขภาพ ได้แก่ ค่ากิจกรรมเอนไซม์ BSH ของเชื้อทดสอบโดยวัดจากขนาดของวงตะกอน (precipitation zone) พบว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยมีค่าอยู่ระหว่าง 8.83-10.17 มิลลิเมตร สายพันธุ์ VM096 VM095 YM122 มีค่ากิจกรรมเอนไซม์ BSH สูงสุด ตามลำดับ ความสามารถจับคอเลสเตอรอลสูงสุด ได้แก่ VM096 (44.71%) UM055 (41.63%) VM095 (39.34%) YM122 (35.68%) ตามลำดับ เชื้อทดสอบทั้งหมดมีความสามารถในการจับไมโครทอกซินซีราลีโนน แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ขึ้นกับระดับความเข้มข้นของซีราลีโนนที่ใช้ทดสอบในสารละลายบัฟเฟอร์ ที่ระดับความเข้มข้นทดสอบสูงสุด (75.70 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ทุกสายพันธุ์มีความสามารถจับซีราลีโนนสูงถึง 60.15-83.17% เชื้อทดสอบมีค่าความสามารถยึดจับเยื่อบุ ระหว่าง 6.24 %-8.20 % ซึ่ง VM096 มีค่าสูงสุด จากผลการทดลองดังกล่าว จึงเลือกสายพันธุ์ VM095 VM096 และ YM122 ซึ่งมีการเจริญที่ดีในน้ำตาลโอลิโกแซค

คาร์ไรด์และผลิตกรดไขมันสายสั้นได้ดี มีกิจกรรมของเอนไซม์ BSH ซึ่งส่งเสริมความสามารถในการจับคอเลสเตอรอล มีสามารถจับเยื่อบุสูงซึ่งเป็นคุณสมบัติที่ช่วยส่งเสริมสุขภาพ อีกทั้งยังมีความสามารถในการจับสารไมโครทอกซินซีลารีโนน มาใช้เพื่อเป็นหัวเชื้อสำหรับการผลิตเครื่องดื่มถั่วเหลืองโพรไบโอติคโดยใช้สายพันธุ์เดี่ยวๆ ในการเตรียมนมถั่วเหลืองหมัก คุณสมบัติของนมถั่วเหลืองหมักที่ได้ พบว่ามีจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นสูงสุดมากกว่า 9 log CFU ต่อมิลลิลิตร ค่าพีเอช (5.31-5.37) และค่าไตเตรทกรด (0.27-0.29%) สายพันธุ์ VM096 จะสามารถใช้วัตถุดิบน้ำนมถั่วเหลืองได้ดีกว่า VM095 และ YM122 ขณะที่ VM095 มีความสามารถผลิตแลคติคและกรดไขมันสายสั้นได้สูงกว่า VM096 และ YM122 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เตรียมเครื่องดื่มถั่วเหลืองโพรไบโอติคจากนมถั่วเหลืองหมักแล้วเติมน้ำผึ้งแท้อัตราส่วน 10% โดยปริมาตร ประเมินการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี 9-point hedonic scale พบว่าเครื่องดื่มถั่วเหลืองที่หมักด้วยแลคโตบาซิลัสเพนโทซัสสายพันธุ์ VM095 มีคุณสมบัติด้านต่างๆ ดีที่สุด มีจำนวนเซลล์เหลือรอดชีวิตสูงสุดถึง 10 log CFU ต่อมิลลิลิตร ค่าพีเอช 3.49 จากการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าเชื้อแลคโตบาซิลัสเพนโทซัสสายพันธุ์ VM095 มีศักยภาพที่จะนำมาใช้เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น เพื่อผลิตผลิตภัณฑ์โพรไบโอติค เนื่องจากเชื้อมีสามารถเจริญได้ดีในเครื่องดื่มถั่วเหลือง มีปริมาณเชื้อเหลือรอดมากกว่า 6 log CFU ต่อมิลลิลิตร นานถึง 4 สัปดาห์ มีคุณสมบัติส่งเสริมสุขภาพและเป็นที่ยอมรับในด้านคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์จากผู้ทดสอบชิม ดังนั้นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มถั่วเหลืองโพรไบโอติคจึงเป็นผลิตภัณฑ์ทางเลือกที่เหมาะสำหรับผู้บริโภคกลุ่มมังสวิรัติ และกลุ่มที่มีปัญหาสุขภาพ เช่น ผู้หญิงวัยหมดประจำเดือน ผู้สูงวัย และกลุ่มที่ไม่สามารถดื่มนมโคได้

คำสำคัญ : โพรไบโอติค, ส่งเสริมสุขภาพ, นมถั่วเหลืองหมัก, แบคทีเรียแลคติค, คอเลสเตอรอล

TITLE Health-Promoting Properties of Probiotic *Lactobacillus pentosus* Strains Using as Starter Culture for Probiotic Soya Beverage Production

AUTHOR Miss Arunrussamee Sangsila

DEGREE The Doctor of Philosophy degree in Biotechnology

ADVISORS Assist. Prof. Dr. Pariyaporn Itsaranuwat

Prof. Dr. Annie Pfohl-Leszkowicz

UNIVERSITY Mahasarakham University **YEAR** 2015

ABSTRACT

The aims of this study were to:(1) to investigate health-promoting properties of the probiotic *Lb. pentosus* strains, (2) to produce a probiotic soya beverage and study its properties, evaluate its sensory properties, and product's shelf life. The 8 probiotic *Lb. pentosus* strains namely DM068, JM0812, JM085, UM054, UM055, VM095, VM096, and YM122 were used in experiment. The growth profiles of *Lb. pentosus* in MRS medium containing different sugars such as lactose, raffinose, FOS, and glucose (as a control) was observed. The results found that 5 of 8 tested strains (UM054, UM055, VM095, VM096 and YM122) had ability to growth in oligosaccharide sugars (lactose, raffinose and FOS) better than glucose ($p < 0.05$). The maximum growth at 12-15 h in oligosaccharide sugars reached 2.72-2.91, pH values at 24 h were achived 3.60-3.70. Sugar utilisation and SCFAs production of *Lb. pentosus* were dependent on the type of sugar present as well as the strain ($p < 0.05$). The consumption of glucose greater than raffinose, lactose, FOS by 94.83 %, 68.78%, 68.34 %, and 22.65 %, respectively. Those 5 strains were expressed the capability to produce organic acid and SCFAs by lactic acid (16.64-18.13 mg/mL), acetic acid (89.02-98.49 μmol/mL), propionic acid (38.31-64.70 μmol/mL), butyric acid (37.82-46.08 μmol/mL). The health-promoting properties were determined. BSH activities as demonstrated by precipitation zones ($p < 0.05$) with diameters between 8.83-10.17 mm. The greatest precipitation zone was found in VM096 followed by VM095, YM122, respectively. The highest percentage of cholesterol reduced was VM096 (44.71%) follow by UM055 (41.63%), VM095 (39.34%), YM122 (35.68%), respectively. For *In-vitro* ZEA binding abilities, all strains

were showed significant ($p < 0.05$) at various concentration levels of ZEA in buffer solution. At the highest concentration level of ZEA (75.70 μg/mL), tested strains could bind ZEA reached 60.15-83.17%. Cell surface hydrophobicity of all strains was ranged 6.24%-8.20%, VM096 showed the highest value. From the results above, best 3 strains that VM095, VM096, and YM122 were selected for a starter culture due to their had a good growth profile and SCFAs production on oligosaccharide sugar, exhibited the cholesterol binding via BSH activity in culture media, high adhesion ability with health beneficial properties, and also ZEA binding abilities. The fermented soya milk inoculated with individual cultures of VM095, VM096, and YM122 strains were carried out. The maximum increase in cells number in samples is greater than 9 log CFU/mL, pH values of 5.31-5.37, the acidity of 0.27-0.29%. The VM096 strain exploited these substrates more efficiently than YM122 and VM095. In case of lactic acid and SCFAs production, the sample inoculated with VM095 strain had the highest values ($p < 0.05$). The acceptant for soya beverage was considered by using the 9-point hedonic scale. The sample inoculated with VM095 strain had the best properties of sensory score and the viable cells reached the maximum of 10 log CFU/mL, pH value of 3.49. This study showed that *Lb. pentosus* VM095 had the potential to be used as a starter culture for probiotic products due to its ability to grow in soya beverage during storage of 4 weeks to maintain high amount of viable cells to meet a recommended standard of having at least 6 log CFU/mL of viable cells in the probiotic products. Therefore, probiotic soya beverage is an alternative product for vegetarians and health-conscious consumers such as lactose-intolerant, ageing and menopauses women**.**

Keywords: probiotics, health-promoting properties, fermented soya milk, lactic acid bacteria, cholesterol