



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการปริมาณฟลักโตโอลิโกแซคคาไรด์และคุณสมบัติฟรีไบโอติกในลันจี สับปะรด ลำไย
และส้มเขียวหวาน

โดย นายไพโรจน์ วงศ์พุทธิสิน และคณะ

พฤษภาคม 2555

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการปริมาณฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์และคุณสมบัติฟรีไบโอติกในลีนจี่ สับปะรด ลำไย
และส้มเขียวหวาน

คณะผู้วิจัย

สังกัด

- | | |
|----------------------------|-----------------------------------|
| 1. นายไพโรจน์ วงศ์พุทธิสิน | มหาวิทยาลัยแม่โจ้ |
| 2. นางสาวนิอร โฉมศรี | มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา |
| 3. นางสาวรุ่งทิพย์ กาวารี | มหาวิทยาลัยแม่โจ้ |
| 4. นางสาวนงคราญ พงศ์ตระกูล | มหาวิทยาลัยแม่โจ้ |

ชุดโครงการวิจัยแห่งชาติ : “Thai Fruits – Functional Fruits”

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย สกว.ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทคัดย่อ

น้ำตาลกลุ่มฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS) เป็นสารพรีไบโอติกที่มีประสิทธิภาพสูงในการกระตุ้นการเจริญเติบโตจุลินทรีย์โปรไบโอติกในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์ ก่อให้เกิดภาวะสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ น้ำตาลกลุ่ม FOS นี้สามารถพบได้ในผักและผลไม้หลายชนิด ดังนั้นงานวิจัยชิ้นนี้จึงได้ทำการศึกษาปริมาณน้ำตาลกลุ่ม FOS ในผลไม้เศรษฐกิจในเขตภาคเหนือของไทยจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ ลิ้นจี่ สับปะรด ลำไย และส้มเขียวหวาน ชนิดละ 3 สายพันธุ์ พร้อมทั้งศึกษาคุณสมบัติการกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อโปรไบโอติกโดยน้ำผลไม้เหล่านี้ด้วยในระดับ *in vitro* ทั้งนี้เพื่อให้ได้ข้อมูลเชิงวิทยาศาสตร์สำหรับการส่งเสริมการบริโภคผลไม้ไทยเหล่านี้ต่อไป หลังการวิเคราะห์น้ำตาลในผลไม้ด้วยเครื่อง HPLC พบว่ามีน้ำตาลกลุ่ม FOS หนึ่งชนิด คือน้ำตาลคีสโตส ซึ่งพบในสับปะรด ลำไย และส้มเขียวหวานเท่านั้น และพบในปริมาณใกล้เคียงกันคือประมาณ 0.1-0.16 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักเนื้อผลไม้สด นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำผลไม้หลายตัวอย่างที่สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อโปรไบโอติกได้ แต่กระตุ้นได้ในระดับที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำผลไม้และสายพันธุ์ของเชื้อโปรไบโอติก การเจริญของเชื้อโปรไบโอติกในน้ำผลไม้จะช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Salmonella enterica* Typhimurium ที่นำมาทดสอบครั้งนี้ได้ แม้ว่าปริมาณน้ำตาลกลุ่ม FOS จะพบในผลไม้เหล่านี้ในปริมาณที่ไม่สูงมาก แต่หากมีการส่งเสริมให้มีการบริโภคควบคู่กับอาหาร ผัก ผลไม้ทั่วไปในชีวิตประจำวันแล้ว ก็จะช่วยเสริมให้ร่างกายได้รับสารพรีไบโอติกที่เพียงพอได้

คำสำคัญ: ลิ้นจี่ สับปะรด ลำไย ส้มเขียวหวาน น้ำตาลกลุ่มฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สารพรีไบโอติก

ABSTRACT

Fructooligosaccharides (FOS) is a high efficiency prebiotic substance for promoting of probiotic growth in human and animal colon, subsequently microbial balance in a colon is obtained. FOS can be found in many fruits and vegetables. Thus the content of FOS in the important fruits of Northern Thailand; i.e. lychee, pineapple, longan and tangerine (3 cultivars per each) was then investigated. Furthermore, probiotic growth stimulation by these fruit juices was also studied *in vitro*. The consumption of these fruits can be promoted to consumer after receiving of this scientific information. The results showed that kestose was only one FOS that was detected in all cultivars of pineapple, longan and tangerine using HPLC apparatus. The content of kestose in these fruits was in the range of 0.1-1.6 % by wt. of fresh fruit. Moreover, it was found that growth of probiotic could be stimulated by many fruit juice samples; however stimulation level was different depending on cultivar of fruit and bacterial strain. Growth suppression of *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* Typhimurium was observed when probiotic growth was promoted. Although low quantity of FOS was found in the fruits, but to promote consumption these fruit simultaneously with daily meals will serve adequate prebiotic for health benefit.

Keywords: Lychee, pineapple, Longan, tangerine, fructooligosaccharides, prebiotic

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
ABSTRACT	ข
สารบัญ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญภาพ	จ
บทนำ	1
ตรวจเอกสาร	2
วัสดุและวิธีการวิจัย	15
ผลการทดลองและวิจารณ์	19
สรุปผลการวิจัย	47
เอกสารอ้างอิง	48
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก	53
ภาคผนวก ข	54
ภาคผนวก ค	55
ภาคผนวก ง	59
ภาคผนวก จ	60

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	แสดงปริมาณผลผลิตลิ้นจี่ในแต่ละปีแบ่งตามพื้นที่เพาะปลูก (จังหวัดที่สำคัญ)	2
ตารางที่ 2	แสดงปริมาณผลผลิตสับปะรดในแต่ละปีแบ่งตามพื้นที่เพาะปลูก	3
ตารางที่ 3	แสดงผลผลิตลำไยในปีต่างๆ ตามพื้นที่การเพาะปลูก	5
ตารางที่ 4	องค์ประกอบน้ำตาลของผลลำไยในระยะเก็บเกี่ยวผล	5
ตารางที่ 5	คุณค่าทางโภชนาการและส่วนประกอบทางเคมีของเนื้อลำไยสดและเนื้อลำไยอบแห้ง	6
ตารางที่ 6	แสดงพื้นที่เพาะปลูกและผลผลิตของส้มเขียวหวานในปี 2553	7
ตารางที่ 7	ตัวอย่างของจุลินทรีย์ที่ได้รับการยอมรับว่าเป็นโปรไบโอติก	8
ตารางที่ 8	แสดงตัวอย่าง NDOs ที่มีการผลิตในทางการค้า	9
ตารางที่ 9	แสดงปริมาณของน้ำตาล FOS ในผลไม้ชนิดต่างๆ	14
ตารางที่ 10	แสดงผลการเตรียมน้ำผลไม้ด้วยเครื่องคั้นเมื่อเทียบกับน้ำหนักผลไม้สด 1 กิโลกรัม	19
ตารางที่ 11	แสดงความข้มูลน้ำหนักรของน้ำผลไม้ 1 มิลลิลิตร	20
ตารางที่ 12	แสดงปริมาณน้ำตาลในเนื้อผลไม้แต่ละชนิด	21
ตารางที่ 13	แสดงปริมาณน้ำตาลฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์และชนิดอื่นๆ ในเนื้อผลไม้แต่ละชนิดจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC	29
ตารางที่ 14	แสดงค่า pH ของน้ำผลไม้ก่อนและหลังการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย	35
ตารางที่ 15	แสดงค่า pH ของน้ำผลไม้ก่อนและหลังการเพาะเลี้ยงเชื้อผสม	36
ตารางที่ 16	แสดงการเปลี่ยนแปลงจำนวนประชากรจุลินทรีย์จากทางเดินอาหารมนุษย์เมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำผลไม้	44
ตารางที่ 17	เปรียบเทียบวัตถุดิบประสงค กิจกรรมที่วางแผนไว้ กิจกรรมที่ได้ดำเนินไปแล้ว และผลที่ได้รับ	59

สารบัญภาพ

		หน้า
ภาพที่ 1	ลักษณะโครงสร้างทางเคมีของน้ำตาล FOS ชนิดต่างๆ	13
ภาพที่ 2	กลไกการสังเคราะห์น้ำตาล FOS จากน้ำตาลซูโครส	13
ภาพที่ 3	การเคลื่อนที่ของน้ำตาลมาตรฐานได้แก่ lane 1 : น้ำตาลผสม 5 ชนิด, lane 2 : กลูโคส, lane 3 : ฟรุ็กโตส, lane 4 : ซูโครส, lane 5 : 1- คีส์โตส, lane 6 : นีสโตส	23
ภาพที่ 4	แสดงองค์ประกอบของน้ำตาลชนิดต่างๆ ในน้ำล้นจี 3 สายพันธุ์ โดย lane 1 : น้ำตาลมาตรฐาน lane 2 : พันธุ์ฮวาย, lane 3 : พันธุ์จักรพรรดิ, lane 4 : พันธุ์โอเฮียะ	24
ภาพที่ 5	แสดงองค์ประกอบของน้ำตาลชนิดต่างๆ ในน้ำสับปะรด 3 สายพันธุ์ โดย lane 1 : น้ำตาลมาตรฐาน, lane 2 : พันธุ์นางแล, lane 3 : พันธุ์ภูแล, lane 4 : พันธุ์ปัดตาเวีย	25
ภาพที่ 6	แสดงองค์ประกอบของน้ำตาลชนิดต่างๆ ในน้ำลำไย 3 สายพันธุ์ โดย lane 1 : น้ำตาลมาตรฐาน, lane 2 : พันธุ์ดอ, lane 3 : พันธุ์เปี้ยวเขียว, lane 4 : พันธุ์ชมพู	26
ภาพที่ 7	แสดงองค์ประกอบของน้ำตาลชนิดต่างๆ ในน้ำส้ม 3 สายพันธุ์ โดย lane 1 : น้ำตาลมาตรฐาน lane 2 : พันธุ์โอเชียน, lane 3 : พันธุ์สายน้ำผึ้ง, lane 4 : พันธุ์สีทอง	27
ภาพที่ 8	แสดงโครมาโตแกรมของน้ำตาลมาตรฐาน 5 ชนิดเมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่องHPLC	29
ภาพที่ 9	การเจริญของเชื้อ <i>L. lactis</i> เมื่อเลี้ยงในน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ	32
ภาพที่ 10	การเจริญของเชื้อ <i>L. plantarum</i> เมื่อเลี้ยงในน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ	32
ภาพที่ 11	การเจริญของเชื้อ <i>L. acidophilus</i> เมื่อเลี้ยงในน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ	33
ภาพที่ 12	การเจริญของเชื้อ <i>L. bulgaricus</i> เมื่อเลี้ยงในน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ	33
ภาพที่ 13	การเจริญของเชื้อ <i>E. coli</i> เมื่อเลี้ยงในน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ	34
ภาพที่ 14	การเจริญของเชื้อ <i>Sal. Typhimurium</i> เมื่อเลี้ยงในน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ	34
ภาพที่ 15	การเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรเชื้อทดสอบแต่ละกลุ่มเมื่อเลี้ยงร่วมกันในน้ำล้นจีพันธุ์โอเฮียะ	37
ภาพที่ 16	การเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรเชื้อทดสอบแต่ละกลุ่มเมื่อเลี้ยงร่วมกันในน้ำล้นจีพันธุ์ฮวาย	37
ภาพที่ 17	การเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรเชื้อทดสอบแต่ละกลุ่มเมื่อเลี้ยงร่วมกันในน้ำล้นจีพันธุ์จักรพรรดิ	38
ภาพที่ 18	การเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรเชื้อทดสอบแต่ละกลุ่มเมื่อเลี้ยงร่วมกันในน้ำสับปะรดพันธุ์ภูแล	38

		หน้า
ภาพที่ 19	การเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรเชื้อทดสอบแต่ละกลุ่มเมื่อเลี้ยงร่วมกันในน้ำสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย	39
ภาพที่ 20	การเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรเชื้อทดสอบแต่ละกลุ่มเมื่อเลี้ยงร่วมกันในน้ำสับปะรดพันธุ์นางแล	39
ภาพที่ 21	การเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรเชื้อทดสอบแต่ละกลุ่มเมื่อเลี้ยงร่วมกันในน้ำลำไยพันธุ์เปี้ยวเขียว	40
ภาพที่ 22	การเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรเชื้อทดสอบแต่ละกลุ่มเมื่อเลี้ยงร่วมกันในน้ำลำไยพันธุ์ดอ	40
ภาพที่ 23	การเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรเชื้อทดสอบแต่ละกลุ่มเมื่อเลี้ยงร่วมกันในน้ำลำไยพันธุ์ชมพู	41
ภาพที่ 24	การเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรเชื้อทดสอบแต่ละกลุ่มเมื่อเลี้ยงร่วมกันในน้ำส้มเขียวหวานพันธุ์โอเชียน	41
ภาพที่ 25	การเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรเชื้อทดสอบแต่ละกลุ่มเมื่อเลี้ยงร่วมกันในน้ำส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้ง	42
ภาพที่ 26	การเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรเชื้อทดสอบแต่ละกลุ่มเมื่อเลี้ยงร่วมกันในน้ำส้มเขียวหวานพันธุ์สีทอง	42
ภาพที่ 27	(A) น้ำสับปะรด (B) น้ำลิ้นจี่ (C) น้ำลำไย (D) น้ำส้มเขียวหวาน (E) เครื่องคั้นน้ำผลไม้ Sakaya และ (F) การเตรียมน้ำผลไม้ปลอดเชื้อด้วยหัวกรองยี่ห้อ Minisart™	54
ภาพที่ 28	ลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกบนอาหารแข็ง MRS (A) เชื้อ <i>Salmonella-Shigella</i> spp. บนอาหารแข็ง SS (B) และ เชื้อ <i>E. coli</i> บนอาหารแข็ง EMB (C)	55
ภาพที่ 29	โครมาโทแกรมของน้ำลิ้นจี่ พันธุ์ฮงฮวย	56
ภาพที่ 30	โครมาโทแกรมของน้ำลิ้นจี่ พันธุ์โอเชียน	56
ภาพที่ 31	โครมาโทแกรมของน้ำลิ้นจี่ พันธุ์จักรพรรดิ	56
ภาพที่ 32	โครมาโทแกรมของน้ำสับปะรด พันธุ์นางแล เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC	57
ภาพที่ 33	โครมาโทแกรมของน้ำสับปะรด พันธุ์ภูแล เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC	57
ภาพที่ 34	โครมาโทแกรมของน้ำสับปะรด พันธุ์ปัตตาเวีย เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC	57
ภาพที่ 35	โครมาโทแกรมของน้ำลำไย พันธุ์เปี้ยวเขียว เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC	58
ภาพที่ 36	โครมาโทแกรมของน้ำลำไย พันธุ์ดอ เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC	58
ภาพที่ 37	โครมาโทแกรมของน้ำลำไย พันธุ์ชมพู เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC	58
ภาพที่ 38	โครมาโทแกรมของน้ำส้ม พันธุ์โอเชียน เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC	59
ภาพที่ 39	โครมาโทแกรมของน้ำส้ม พันธุ์สายน้ำผึ้ง เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC	59
ภาพที่ 40	โครมาโทแกรมของน้ำส้ม พันธุ์สีทอง เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC	59

บทนำ

ลีนจี สับปะรด ลำไย และส้มเขียวหวาน เป็นผลไม้ที่มีการเพาะปลูกกันอย่างแพร่หลายในหลายจังหวัดของภาคเหนือตอนบน ผลไม้เหล่านี้นอกจากให้พลังงานแก่ร่างกายแล้ว ยังมีสารออกฤทธิ์ชีวภาพอีกหลายชนิดที่ช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคต่างๆ ในการนี้คณะผู้วิจัยได้สนใจศึกษาสารที่มีคุณสมบัติเป็นสารพรีไบโอติกที่พบอยู่ในผลไม้เหล่านี้ โดยพรีไบโอติกเป็นสารที่สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตให้กับจุลินทรีย์โปรไบโอติก จึงส่งผลให้เกิดสมดุลแก่ประชากรจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารและก่อให้เกิดสุขภาพที่ดีแก่ผู้บริโภคได้ในที่สุด

ผลไม้ที่สนใจนำมาศึกษาครั้งนี้มีรายงานว่าพบน้ำตาลฟรุกโตส กลูโคส และซูโครสเป็นองค์ประกอบอยู่ในปริมาณมาก ซึ่งสามารถเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์โอลิโกแซคคาไรด์ชนิดฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Fructooligosaccharide; FOS) ในพืชได้ โดยใช้เอนไซม์ sucrose-sucrose transferase เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังที่พบในกลไกการสังเคราะห์ FOS ของผลกล้วย (Agopian et al., 2009; Henderson et al., 1959) ดังนั้นจึงคาดว่า อาจมีการสะสม FOS ในผลไม้เหล่านี้ด้วย ซึ่งน้ำตาล FOS นี้เป็นที่ยอมรับกันอย่างกว้างขวางว่าเป็นสารพรีไบโอติกที่มีประสิทธิภาพสูง จึงเป็นที่มาของงานวิจัยขึ้นนี้ที่ได้มุ่งศึกษาถึงปริมาณของ FOS ในผลไม้ทั้งสี่และแต่ละสายพันธุ์ พร้อมทั้งศึกษาถึงคุณสมบัติพรีไบโอติกของผลไม้ดังกล่าวด้วย เพื่อให้ได้ข้อมูลหลักฐานทางวิทยาศาสตร์สนับสนุนให้เกิดความมั่นใจในการส่งเสริมการบริโภคลีนจี สับปะรด ลำไยและส้มเขียวหวานเป็นอาหารฟังก์ชันต่อไป โดยแผนการวิจัยนั้นจะทำการรวบรวมตัวอย่างผลไม้สายพันธุ์ต่างๆ จากแหล่งเพาะปลูกที่สำคัญต่อไปนี้ ลีนจีจากจังหวัดเชียงรายและพะเยา สับปะรดจากจังหวัดเชียงรายและลำปาง ลำไยจากจังหวัดลำพูน และส้มเขียวหวานจากจังหวัดเชียงใหม่ จากนั้นทำการวิเคราะห์ปริมาณ FOS โดยวิธีการทางเคมีและเครื่อง HPLC สุดท้ายทำการศึกษาคุณสมบัติพรีไบโอติกบางประการของผลไม้ในระดับ *In vitro* study ก่อนที่จะได้ประชาสัมพันธ์ให้ผู้บริโภคได้รับทราบข้อมูลคุณประโยชน์ในแง่การเป็นสารพรีไบโอติกต่อไป

ตรวจเอกสาร

1. ข้อมูลผลไม้ที่ทำการศึกษา

1.1 ลิ้นจี่ (Lychee)

ลิ้นจี่เป็นผลไม้ประเภทผลเดี่ยวซึ่งมีลักษณะเปลือกสีแดงชนิดหนึ่งที่อยู่ในวงศ์ SAPINDACEAE มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Litchi chinensis* Sonn ลิ้นจี่เป็นไม้ผลอีกชนิดหนึ่งที่คนชอบรับประทาน เนื่องจากมีรสชาติดี หวาน หอม สีสวย จึงทำให้เป็นที่ต้องการทั้งภายในและต่างประเทศ นอกจากนี้จะรับประทานสดแล้ว ยังแปรรูปเป็นลิ้นจี่บรรจุกระป๋องด้วย ให้ผลผลิตคุ้มค่ากับการลงทุน จึงถือว่าเป็นผลไม้ทางเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทยที่สามารถนำผลผลิตที่ได้มาจำหน่ายในรูปแบบของผลไม้สดและผลไม้แปรรูป ปัจจุบันนี้ลิ้นจี่ได้รับการพัฒนาสายพันธุ์ให้มีความหลากหลายขึ้นเรื่อยๆ จากสายพันธุ์ดั้งเดิมที่มีอยู่แล้ว พื้นที่ส่งเสริมการปลูกนั้นจะอยู่ในเขตภาคเหนือของประเทศไทย โดยพันธุ์ที่นิยมปลูกคือ พันธุ์ฮงฮวย โอเฮียะ กิมเจง และจักรพรรดิ ในขณะที่พื้นที่จังหวัดสมุทรสงครามจะปลูกพันธุ์ค่อม ปริมาณการผลิตในพื้นที่สำคัญแสดงดังตารางที่ 1

ลิ้นจี่เป็นผลไม้ที่อุดมไปด้วยวิตามิน และน้ำตาล มีน้ำมันหอมระเหย และมีกรดอินทรีย์บางชนิด วิตามินบี 1 ในลิ้นจี่ช่วยป้องกันโรคเหน็บชา วิตามินบี 2 ช่วยให้ร่างกายเจริญเติบโตป้องกันไขมันอุดตันหลอดเลือด แคลเซียมเสริมสร้างกระดูกให้แข็งแรง อีกทั้งยังมีโนอะซินช่วยเปลี่ยนน้ำตาลและไขมันให้เป็นพลังงานช่วยระบบย่อยอาหาร เนื้อในผลกินเป็นยาบำรุงแก้อาการไอเรื้อรังแก้อาการคัดจมูก รักษาอาการท้องเดิน ลดกรดในกระเพาะอาหาร และบรรเทาอาการไม่ปกติของระบบทางเดินอาหาร (กรณีกาญจน์, 2552)

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณผลผลิตลิ้นจี่ในแต่ละปีแบ่งตามพื้นที่เพาะปลูก (จังหวัดที่สำคัญ)

จังหวัด	ผลผลิตลิ้นจี่ (ตัน)				
	ปี 2550	ปี 2551	ปี 2552	ปี 2553	ปี 2554
เชียงใหม่	23200	19100	27900	16052	14033
เชียงราย	20000	14100	18300	9251	8187
พะเยา	97000	88000	14500	8038	6375
น่าน	7300	4300	9600	5277	3454
สมุทรสงคราม	5100	148	5600	6	1496

ที่มา: ข้อมูลดัดแปลงจาก กรมการค้าภายใน (agri.dit.go.th)

1.2 สับปะรด (Pine apple)

สับปะรดมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Ananas comosus* เป็นผลไม้ที่มีความสำคัญในทางอุตสาหกรรมเกษตร เพราะนอกจากจะนิยมบริโภคสด ยังสามารถแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ได้อีกหลายชนิด ไม่ว่าจะเป็นสับปะรดกระป๋อง น้ำสับปะรด สับปะรดแช่แข็ง สับปะรดกวน สับปะรดอบแห้ง และอีกมากมาย ส่วนอื่นๆ ของสับปะรดก็สามารถใช้ประโยชน์ได้ เช่น เปลือกใช้เป็นอาหารสัตว์ และใบใช้ทำเส้นใยและกระดาษ เป็นต้น แหล่งปลูกสับปะรดหลักในประเทศไทยคือจังหวัด ประจวบคีรีขันธ์และระยอง ส่วนเขตภาคเหนือตอนบนนั้นก็พบว่าปลูกกันมากในจังหวัดลำปาง ดังแสดงข้อมูลในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณผลผลิตสับปะรดในแต่ละปีแบ่งตามพื้นที่เพาะปลูก

จังหวัด	ผลผลิตสับปะรด (ตัน)				
	ปี 2550	ปี 2551	ปี 2552	ปี 2553	ปี 2554
ประจวบคีรีขันธ์	928098	994550	779300	714561	741050
ระยอง	302555	283750	257700	333168	318510
ชลบุรี	198014	176700	151300	185882	177540
เพชรบุรี	115280	121050	106400	95783	107460
พิษณุโลก	111201	95000	71000	85430	154100
ราชบุรี	104281	115350	94200	81439	92820
ลำปาง	51941	55300	52290	64569	75000

ที่มา: ข้อมูลดัดแปลงจาก กรมการค้าภายใน (agri.dit.go.th)

สับปะรดที่นิยมปลูกในประเทศไทยมีหลายสายพันธุ์ ขึ้นกับแหล่งเพาะปลูก ยกตัวอย่างเช่น พันธุ์ปัตตาเวีย หรือที่เรียกว่าพันธุ์ศรีราชา ปลูกกันมากเพื่อป้อนโรงงานอุตสาหกรรม และการปลูกเพื่อขายผลสด เพราะมีรสหวานฉ่ำมีน้ำมาก แหล่งปลูกที่สำคัญคือ จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ชลบุรี เพชรบุรี โดยในภาคเหนือนั้นปลูกกันแพร่หลายในจังหวัดลำปาง พันธุ์อื่นๆ ที่นิยมปลูกในเขตจังหวัดภาคเหนือเช่น พันธุ์นางแลหรือน้ำผึ้ง ปลูกมากในจังหวัดเชียงราย ลักษณะทั่ว ๆ ไป คล้ายคลึงกับพันธุ์ปัตตาเวีย แต่มีรูปร่างของผลทรงกลมกว่าพันธุ์ปัตตาเวีย ตาฉุน เปลือกบางกว่าและรสหวานจัดกว่าพันธุ์ปัตตาเวีย ผลแก่มีเนื้อในสีเหลืองเข้ม มีเยื่อใยน้อยเหมาะสำหรับบริโภคสด เป็นที่นิยมมากในภาคเหนือ ผลมีเปลือกบางมาก ขนส่งทางไกลไม่ได้นัก และพันธุ์ภูแล ที่เป็นสับปะรดในกลุ่มสายพันธุ์ควินที่มีผู้นำมาจาก จังหวัดภูเก็ต มาปลูกครั้งแรกที่ ตำบลนางแล อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย แต่ด้วยสภาพพื้นที่ที่แตกต่างกัน ทั้งอากาศและภูมิประเทศ ทำให้สับปะรดที่ได้ มีลักษณะแตกต่างจากสับปะรดภูเก็ต คือ มีผลขนาดเล็ก เนื้อสีทอง มีจุดใหญ่ตรงกลาง สามารถปลูกได้ตลอดทั้งปี รับประทานได้ทั้งเนื้อและแกน

กรมวิชาการเกษตรรายงานเกี่ยวกับปัญหาและข้อจำกัดในการเพาะปลูกรวมถึงโอกาสของ สับปะรดไว้ดังต่อไปนี้

- (1) ผลผลิตต่อไร่ต่ำ
- (2) ต้นทุนการผลิตสูง
- (3) การกระจายตัวของผลผลิตไม่สม่ำเสมอ ทำให้ราคาผลผลิตไม่มีเสถียรภาพ โดยผลผลิต ออกสู่ตลาดมากใน 2 ช่วงฤดู คือ ช่วงเดือนเมษายน - มิถุนายน และเดือนพฤศจิกายน - มกราคม
- (4) คุณภาพผลผลิตบางส่วนไม่ได้มาตรฐานของโรงงาน เช่น การตกค้างของสารไนเตรทเกิน ระดับมาตรฐาน (25 ppm) ผลแกน และอาการไส้สีน้ำตาล
- (5) พันธุ์ปลูก มีการพัฒนาพันธุ์น้อยมาก มีการเสื่อมคุณลักษณะอันเนื่องมาจากการกลายพันธุ์ หรือการเสื่อมถอยทางพันธุกรรม
- (6) ความไม่สมดุลกันระหว่างการผลิตในภาคการเกษตร และการผลิตในภาคอุตสาหกรรม และการขายตัดราคาสินค้ากันในต่างประเทศ

นอกจากนี้จากรายงานการศึกษาของพรเทพ (2546) เกี่ยวกับการวิเคราะห์การตอบสนอง อุณหภูมิในประเทศไทย ก็ได้พบว่าแม้อุณหภูมิที่ผ่านมามีปัญหาการขาดแคลนสับปะรด แต่บางครั้งก็เกิดปัญหาเรื่องปริมาณอุปทานสับปะรดมากเกินความต้องการ ทำให้เกิดปัญหาความ ไม่มีเสถียรภาพในราคาสับปะรด

การบริโภคสับปะรดมีประโยชน์ต่อร่างกายหลายอย่าง นอกเหนือจากการให้พลังงานจาก น้ำตาลในผลสับปะรด โดยรายงานจากสื่อออนไลน์ <http://healthrecipes.com> กล่าวว่า สับปะรดเป็นแหล่งของวิตามินซี บี1 บี6 ธาตุแมงกานีส และทองแดง และมีสารพฤกษเคมีสำคัญที่ ช่วยต้านอนุมูลอิสระได้ นอกจากนี้ยังมีเอนไซม์โบรมิเลนในสับปะรดที่ช่วยย่อยโปรตีนในอาหาร และมีฤทธิ์ช่วยต้านการอักเสบ (anti-inflammatory property) อีกด้วย ยังมีรายงานที่น่าสนใจ อีกหนึ่งฉบับ ซึ่งพบว่าเอนไซม์โบรมิเลนจากสับปะรดนี้สามารถช่วยป้องกันการเกิดมะเร็งได้ โดย Bhui และคณะ (2010) ที่ศึกษาในเซลล์มะเร็งเต้านมของมนุษย์ (MCF-7) พบว่าโบรมิเลนช่วยชัก นำให้เกิดกระบวนการ autophagy และ apoptotic ในเซลล์มะเร็งดังกล่าว

1.3 ลำไย (Longan)

ลำไย เป็นพืชที่อยู่ในตระกูล Sapindaceae และมีชื่อวิทยาศาสตร์หลายชื่อ ได้แก่ *Euphoria longan* Lam.; *E. longan* Strend.; *Nephelium longan* Camb. และ *Dimocarpus longan* Lour. (พาวิณ และคณะ 2546; สุรภา, 2548) ซึ่งลำไยที่นิยมปลูกใน ประเทศไทยเพื่อบริโภคนั้นอาจแบ่งได้เป็น 2 สายพันธุ์ใหญ่ คือ ลำไยพื้นเมือง (ลำไยกระดุก) และลำไย กระโหลก โดยลำไยกระโหลกนี้ก็ยังแบ่งได้ออกเป็นอีกหลายสายพันธุ์ เช่น พันธุ์เปี้ยวเขียวหรืออี เปี้ยว พันธุ์ดอ หรืออีดอ พันธุ์แก้ว และพันธุ์ชมพู เป็นต้น ประเทศไทยมีพื้นที่เพาะปลูกลำไย กระจายเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว แหล่งปลูกที่สำคัญคือ จังหวัดภาคเหนือตอนบน ได้แก่ เชียงใหม่ ลำพูน เชียงราย ลำปาง แพร่ น่าน และตาก ดังแสดงปริมาณผลผลิตในตารางที่ 3

ข้อมูลจากกรมวิชาการเกษตร (<http://it.dia.go.th/vichakan/>; 1 พย. 2554) พบว่า ลำไยเป็นไม้ผลเศรษฐกิจสำคัญที่รัฐบาลจัดให้อยู่ในกลุ่มสินค้าเพื่อการส่งออก ที่มีมูลค่าการส่งออก สูงหลายพันล้านบาทในแต่ละปี โดยมีประเทศจีนเป็นประเทศคู่ค้าที่สำคัญของไทย จีนมีความ ต้องการบริโภคลำไยสดถึงปีละประมาณ 0.2-0.25 ล้านตัน ซึ่งส่วนใหญ่จะนำเข้าจากไทยและ

เวียดนาม ผลผลิตลำไยสดในแต่ละปีของไทยจะใช้บริโภคภายในประเทศเพียง 30 เปอร์เซ็นต์ ที่เหลือจะส่งออกในรูปผลสดและผลิตภัณฑ์ โดยที่ไทยไม่ต้องนำเข้าลำไยจากต่างประเทศเลย ลำไยเป็นผลไม้ที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจอันหนึ่งของภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย โดยเฉพาะอย่างยิ่งจังหวัดเชียงใหม่ ลำพูน และเชียงราย ซึ่งผลผลิตลำไยสามารถส่งออกจำหน่ายยังต่างประเทศทั้งในรูปผลสด อบแห้ง แช่แข็ง และลำไยกระป๋อง นำรายได้เข้าประเทศปีละหลายล้านบาท (อนันต์, 2547) องค์ประกอบทางเคมีและคุณค่าทางโภชนาการของลำไยสดเปรียบเทียบกับลำไยอบแห้ง แสดงได้ดังตารางที่ 4 และ 5

ตารางที่ 3 แสดงผลผลิตลำไยในปีต่างๆ ตามพื้นที่การเพาะปลูก

จังหวัด	ผลผลิตลำไย (ตัน)				
	ปี 2547	ปี 2548	ปี 2549	ปี 2550	ปี 2554
เชียงใหม่	202300	220200	140900	160900	185300
ลำพูน	215300	269800	155200	158800	160427
เชียงราย	57100	74300	50300	53600	48639
พะเยา	24800	41400	27400	25700	20377
น่าน	17600	20500	13200	16100	16718
ลำปาง	10100	10300	7000	9800	4694
ตาก	7300	10500	7500	9300	10279
แพร่	5500	6300	3700	4300	3681

ที่มา: ข้อมูลดัดแปลงจาก สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร (agri.dit.go.th) และ www.oae.go.th

ตารางที่ 4 องค์ประกอบน้ำตาลของผลลำไยในระยะเก็บเกี่ยวผล

ส่วนประกอบ	ลำไยปี 2526	ลำไยปี 2527
ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ (%)	20.10±0.10	18.30±0.20
ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (มก./ กรัม)	184.00±7.00	154.00±11.00
ปริมาณน้ำตาลซูโครส (มก./ กรัม)	72.00±15.00	29.00±3.00
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (มก./กรัม)	22.00±17.00	23.00±1.00
ปริมาณน้ำตาลฟรุคโตส (มก./กรัม)	28.00±17.00	17.00±1.00

ที่มา: ดัดแปลงจาก นพดล และคณะ, 2543.

ตารางที่ 5 คุณค่าทางโภชนาการและส่วนประกอบทางเคมีของเนื้อลำไยสดและเนื้อลำไยอบแห้ง

ส่วนประกอบ	เนื้อลำไยสด	เนื้อลำไยอบแห้ง
ความชื้น (%)	81.10	17.80
ไขมัน (%)	0.11	0.40
เส้นใย (%)	0.28	1.60
โปรตีน (%)	0.97	4.60
เถ้า (%)	0.56	2.86
คาร์โบไฮเดรต (%)	16.98	72.70
ค่าพลังงานความร้อน (กิโลจูล/ 100 กรัม)	72.79	311.80
แคลเซียม (มก./100 กรัม)	5.70	27.70
เหล็ก (มก./100 กรัม)	0.35	2.39
ฟอสฟอรัส (มก./100 กรัม)	35.30	159.50
วิตามิน ซี (มก./100 กรัม)	6920	137.80
โซเดียม (มก./100 กรัม)	-	4.50
โพแทสเซียม (มก./100 กรัม)	-	2012.00
ไนอะซีน (มก./100 กรัม)	-	3.03
กรดแพนโททีนิก (มก./100 กรัม)	-	0.57
วิตามินบีสอง (มก./100 กรัม)	-	0.375

ที่มา: สุรภา, 2548.

ได้มีการใช้ประโยชน์จากลำไยในทางการแพทย์มานาน โดยแพทย์แผนจีนนั้นได้นำลำไยแห้งมาใช้บำรุงเลือด ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการไหลเวียนของโลหิต บำรุงร่างกาย ลำไยสามารถป้องกันเชื้อโรคบางชนิดได้ เป็นยาบำรุงร่างกาย ช่วยบำรุงกำลัง ช่วยซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอ และช่วยบำรุงกำลังของสตรี ภายหลังจากการคลอดบุตร ช่วยบำรุงประสาท ในคนที่เป็นโรคประสาทอ่อนๆ นอนไม่หลับ ใจสั่น จะช่วยให้หลับสบาย ช่วยระงับประสาทที่อ่อนเพลียจากการตรากตรำทำงานหนัก ขี้ลืมนั่งง่าย ช่วยให้จำดี ช่วยลดความเครียดและแก้อาการเครียด กระวนกระวาย บำรุงประสาทตา บำรุงผิวพรรณ รับประทานขนาด 10-15 กรัม บำรุงม้าม บำรุงหัวใจ ช่วยย่อยอาหาร เป็นต้น (<http://www.oknation.net>; 31 มค. 2555)

1.4 ส้มเขียวหวาน (Orange/ tangerine)

ส้มเขียวหวานจัดเป็นพืชอยู่ในวงศ์ Rutaceae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Citrus reticulata* Blanco เป็นพืชไม้ยืนต้น ทรงพุ่มกลม กิ่งเรียวยาว มีหนามขนาดเล็กแหลม ใบเดี่ยว เรียงสลับ ดอกตั้งเดี่ยว หรือเป็นกลุ่มเล็กๆ ผลรูปกลมแบนหรือเกือบกลม เปลือกกล่อน ผลสีส้มสดถึงส้มแดง เมล็ดขนาดเล็ก มีสรรพคุณทางยาหลากหลาย ไม่ว่าจะเป็น ใช้ผลสำหรับแก้อาการไอ แก้น้ำลายเหนียว เป็นยาระบายอ่อน ๆ ใช้เปลือกแก้วิงเวียน หน้ามืด ตาลาย ใจสั่น และแก้อาการท้องอืด (<http://www.tistr.or.th/essentialoils>; 6 มิถุนายน 2555) นอกจากนี้ข้อมูลจากแหล่งออนไลน์ยังกล่าวว่า ส้มเขียวหวานมีสรรพคุณทางยาและโภชนาการ โดยน้ำส้มเขียวหวานช่วยป้องกันโรคหัวใจ และการติดเชื้อแบคทีเรีย ลดปริมาณโคเลสเตอรอลในโลหิต ช่วยระบบย่อยอาหารของร่างกาย ระบายได้มีแก้อาการท้องผูก และพบว่าส้มเขียวหวานน้ำหนัก 100 กรัม ให้วิตามินซี 42 มิลลิกรัม (<http://th.wikipedia.org>; 6 มิถุนายน 2555)

จากการรายงานของสำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ กล่าวว่า ส้มเขียวหวานสามารถปลูกได้ดีในดินที่มีการระบายน้ำได้ดี เช่น ดินร่วน ดินร่วนปนทรายเป็นต้น ส้มที่ปลูกในพื้นที่น้ำท่วมขังมักจะพบปัญหาโรครากเน่า โคนเน่าอยู่เสมอ ดินควรมีค่าเป็นกรด-ด่าง ประมาณ 5.7-6.9 อุณหภูมิเพาะปลูกไม่ควรร้อนหรือหนาวจัดเกินไป โดยถ้าปลูกในเขตภาคเหนือของไทย สภาพอากาศจะมีผลให้ผิวของส้มมีสีเหลืองเข้มมากขึ้น (www.oae.go.th/fruit; 6 มิถุนายน 2555) รายงานพื้นที่เพาะปลูกส้มเขียวหวานในภูมิภาคต่างๆ ของประเทศไทย ได้แสดงดังตารางที่ 6 ในเขตจังหวัดเชียงใหม่พบว่า ส้มที่นิยมปลูกกันคือพันธุ์สายน้ำผึ้ง และสีทอง ซึ่งผลผลิตจะออกสู่ตลาดในช่วงเดือนธันวาคม-กุมภาพันธ์ (www2.it.mju.ac.th/dbresearch/raen/index.php/; 6 มิถุนายน 2555)

ตารางที่ 6 แสดงพื้นที่เพาะปลูกและผลผลิตของส้มเขียวหวานในปี 2553

พื้นที่	พื้นที่ให้ผลผลิต (ไร่)	ผลผลิต (ตัน)
ภาคเหนือ	128,467	258,945
ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ	4,059	4,696
ภาคกลาง	4,767	4,534
ภาคใต้	7,328	12,015
เชียงราย	11,026	20,530
เชียงใหม่	45,476	122,239
กำแพงเพชร	21,459	51,696
สุโขทัย	27,979	45,718
พิจิตร	4,012	6,086
กระบี่	1,595	4,286
ยะลา	2,831	4,651

ที่มา: ดัดแปลงจาก www.oae.go.th/fruit/images/production/tangerine53.pdf;
6 มิถุนายน 2555

2. โพรไบโอติกและพรีไบโอติก

2.1 โพรไบโอติก (Probiotics)

โพรไบโอติก (probiotics) เป็นภาษากรีกที่แปลว่า “for life” โดย Parker เป็นคนแรกๆ ที่ให้นิยามของคำว่าโพรไบโอติกในเชิงเดียวกับที่ใช้ในทุกวันนี้ โดยได้ให้นิยามว่า “โพรไบโอติกเป็นสิ่งมีชีวิตหรือสารชนิดที่ก่อให้เกิดสมดุลของจุลินทรีย์ขึ้นภายในทางเดินอาหาร” (Schrezenmer and Vrese 2001) จึงอาจตีความรวมไปได้ถึงสารปฏิชีวนะ ต่อมาในปี 1989 Fuller ก็ได้ปรับปรุงนิยามนี้เสีย ใหม่กล่าวคือ “โพรไบโอติกคือจุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่เสริมในอาหารสัตว์เพื่อก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสัตว์นั้นๆ โดยปรับปรุงสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้” ส่วน Havenaar และคณะ (1992) ก็ได้นิยามคำว่าโพรไบโอติกไว้เช่นกัน โดยกล่าวว่า “โพรไบโอติกคือจุลินทรีย์เดี่ยวหรือผสมก็ได้ที่มีชีวิต ที่เมื่อเสริมให้คนหรือสัตว์แล้วก่อให้เกิดประโยชน์ต่อคนหรือสัตว์โดยปรับปรุงคุณสมบัติของจุลินทรีย์เจ้าถิ่น” หลังจากนั้นก็มีผู้ปรับปรุงนิยามเพิ่มเติมเรื่อยมา แต่อย่างไรก็ตามโดยรวมแล้วอาจกล่าวได้ว่า โพรไบโอติกคือจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพของคนและสัตว์นั่นเอง ตัวอย่างของจุลินทรีย์โพรไบโอติกแสดงดังตารางที่ 7

ตารางที่ 7 ตัวอย่างของจุลินทรีย์ที่ได้รับการยอมรับว่าเป็นโพรไบโอติก

<i>Lactobacillus</i> sp.	<i>Bifidobacterium</i> sp.	Other lactic acid bacteria	Non-lactic acid bacteria
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. adolescentis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i> ¹	<i>Bacillus subtilis</i> ¹
<i>L. amylovorus</i>	<i>B. animalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Saccharomyces</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>cerevisiae</i> ¹
<i>L. delbrueckii</i>	<i>B. breve</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>L. paracasei</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>	strain nissle
<i>L. plantarum</i>	<i>B. lactis</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	
<i>L. rhamnosus</i>	<i>B. longum</i>		

หมายเหตุ: ¹ ส่วนใหญ่ใช้เสริมในสัตว์

ที่มา: Holzapfel et al., 2001.

ประโยชน์ของการใช้โพรไบโอติกต่อคนและสัตว์มีมากมาย นอกเหนือจากการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogens) ในทางเดินอาหารอันเป็นสาเหตุของอาหารท้องร่วงแล้ว ยังช่วยลดระดับของลิปิดในซีรัมอีกด้วย เช่น *L. acidophilus* สามารถลดระดับโคเลสเตอรอลและลดอัตราการดูดซึม cholesterol micelles ในลำไส้ (Mazza, 1998) โพรไบโอติกบางสายพันธุ์ยังช่วยกำจัดสารก่อมะเร็งและ secondary bile salt ซึ่งจะก่อให้เกิดมะเร็งในลำไส้ได้ (Marteau et al., 2001) Rastall และคณะ (2000) ก็รายงานอีกว่าโพรไบโอติกช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันชนิดไม่จำเพาะเจาะจงให้กับร่างกายด้วย และที่เห็นได้ชัดที่สุดอีกประการหนึ่งคือโพรไบโอติกจะช่วยกำจัดน้ำตาลแลคโตสในน้ำนมที่ทำให้บางคนเกิดอาการแพ้น้ำนม (Wongputtisin, 2003)

2.2 พรีไบโอติก (Prebiotics)

คำนี้ได้ถูกเสนอขึ้นมาเป็นครั้งแรกโดย Gibson และ Roberfroid (1995) โดยให้นิยามว่า “พรีไบโอติกคือ ส่วนประกอบของอาหารที่ไม่สามารถถูกย่อยสลายโดยทางเดินอาหารของคนและสัตว์แต่ให้คุณประโยชน์แก่คนและสัตว์ โดยการกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์โปรไบโอติกในทางเดินอาหารอย่างเฉพาะเจาะจง” ดังนั้นคุณสมบัติของสารพรีไบโอติกจึงควรมีดังต่อไปนี้

- ไม่ถูกย่อยหรือดูดซึมในทางเดินอาหาร
- เป็นสารอาหารที่กระตุ้นการเจริญเติบโตของโปรไบโอติกที่เฉพาะเจาะจง
- สามารถทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของจุลินทรีย์อันจะก่อให้เกิดสุขภาพที่ดี

พรีไบโอติกสามารถเป็นได้ทั้งเปปไทด์สายสั้นๆ โปรตีน คาร์โบไฮเดรตหรือแม้กระทั่งลิพิด แต่สารกลุ่มที่ได้รับความนิยมและมีการศึกษามากที่สุดคือ โอลิโกแซคคาไรด์ที่ย่อยไม่ได้ (non-digestible oligosaccharides; NDOs) (Wongputtisin, 2003) ตัวอย่างของสารพรีไบโอติกกลุ่ม NDOs ที่มีการผลิตในทางการค้าแล้วแสดงดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 แสดงตัวอย่าง NDOs ที่มีการผลิตในทางการค้า

Names	Chemical structure	Glycosidic bond	Origins (Sources)	Trade name
FOS, inulin	Glucosyl (fructosyl) _n fructose (n=2-20)	β1→2	Plant	Raftiline Fibulin
Neosugar	Glucosyl (fructosyl) _n fructose (n=1-3)	β1→2	Enzymatic	Neosugar Actilight
Galactooligosaccharide(GOS or TOS)	Glucosyl (galactosyl) _n galactose (n=1-3)	β1→6	Enzymatic	Oligomate
Transgalactooligosaccharide	(galactosyl) _n galactose (n=2)	β1→6	Enzymatic	Cup-oligo
Isomaltooligosaccharide (IMO)	(glucosyl) _n glucose (n=2-7)	β1→4	Enzymatic	Isomalto
Sololigosaccharide (SOS)	Raffinose+stachyose (n=3-4)	-	Enzymatic	Soya-Oligo

ที่มา: Roberfroid, 1999.

มีรายงานว่า การเสริม NDOs ในอาหารคนจะช่วยก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพคือ ช่วยกระตุ้นการเจริญของโปรไบโอติกในลำไส้ เช่น การเสริม fructooligosaccharides (FOS) ในอาหารจะช่วยให้การเจริญของ *Bifidobacterium* sp. ดีขึ้นส่งผลให้ช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค เช่น *Clostridium* sp. (La Blay *et al.*, 1999; Kullen *et al.*, 1998; Bouhnik *et al.*, 1998; Campbell *et al.*, 1996) น้ำตาล FOS และอนุพันธ์ของซูโครสไม่ก่อให้เกิดฟันผุ ช่วยเพิ่มระดับของ short chain fatty acid (SCFA) เพิ่มการยืด-หดตัวของลำไส้ (peristalsis) (Mazza, 1998) NDOs ยังช่วยลดระดับไขมันในเลือดจึงช่วยลดโอกาสเกิดโรคหัวใจ ดังเช่นจากการศึกษาในชาย 12 คนที่มีอาการ hypercholesterolemia โดยเสริม inulin 20 กรัม ในไอศกรีมให้กินทุกวันเป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่าระดับของไตรกลีเซอไรด์และคอเลสเตอรอลลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (Causey *et al.*, 2000)

Cummings และคณะ (2001) กล่าวเกี่ยวกับพรีไบโอติกไว้ว่า ที่มีการศึกษากันมากคือสารกลุ่ม short – chain carbohydrates (SCCs) ที่ไม่ถูกย่อยโดยเอนไซม์ในมนุษย์หรือบางครั้งก็เรียกสารกลุ่มนี้ว่า non-digestible oligosaccharide (NDOs) ยกตัวอย่างเช่น Fructooligosaccharide, Isomaltoligosaccharide, Xylooligosaccharide, Polydextrose เป็นต้น ซึ่งมี Degree of Polymerization (DP) ประมาณ 2-10 แต่พรีไบโอติกที่มีในท้องตลาดนั้นพบว่ามี NDOs เป็นองค์ประกอบน้อย เช่น Xylooligosaccharide ซึ่งผลิตโดยบริษัท Suntory ประเทศญี่ปุ่น ประกอบด้วยโอลิโกแซคคาไรด์ 29.4 % , แป้ง 41 % และ น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว 15 % เป็นต้น จึงเป็นอุปสรรคสำคัญที่ใช้ศึกษาผลของพรีไบโอติกในคนและสัตว์

โอลิโกแซคคาไรด์สามารถได้มาโดยหลายวิธีเช่น (1) การสกัดจากพืช เช่น FOS, α -galactooligosaccharide (2) ใช้วิธีการย่อยโพลีแซคคาไรด์ด้วยเอนไซม์ (Controlled enzymatic hydrolysis) สารโอลิโกแซคคาไรด์ดังกล่าว เช่น FOS, Xylooligosaccharides (XOS) (3) วิธีการสังเคราะห์ด้วยเอนไซม์ (Enzymatic synthesis) โดยเอนไซม์กลุ่ม glycosyl transferase โอลิโกแซคคาไรด์ดังกล่าว เช่น FOS, α -glucoooligosaccharides, β -glucoooligosaccharides และ β -galactooligosaccharide เป็นต้น

ชิซุสุรุ และคณะ (2539) รายงานว่ากระบวนการสังเคราะห์โอลิโกแซคคาไรด์สามารถสังเคราะห์ได้อีกวิธีคือ ใช้ปฏิกิริยาย้อนกลับของเอนไซม์กลุ่มไกลโคซิเดส (glycosidase) ซึ่งปกติจะทำหน้าที่เร่งการสลายโพลีแซคคาไรด์หรือโอลิโกแซคคาไรด์ แต่เมื่ออยู่ในสภาวะที่เหมาะสมจะสามารถเร่งการสังเคราะห์โอลิโกแซคคาไรด์ได้ด้วย โดยจะนำผลผลิตที่ได้จากการสลายของโพลีแซคคาไรด์หรือโอลิโกแซคคาไรด์มาเป็นสับสเตรทในการสังเคราะห์โอลิโกแซคคาไรด์ (ส่วนใหญ่จะได้โอลิโกแซคคาไรด์สายสั้นๆ) แต่พันธะของโอลิโกแซคคาไรด์ที่ได้จากการทำงานของเอนไซม์กลุ่มนี้จะมีความจำเพาะน้อยกว่าพวกที่สร้างขึ้นจากเอนไซม์ไกลโคซิลทรานส์เฟอเรส (glycosyl transferase) และมักเกิดพันธะหลาย ๆ แบบปนกันอยู่

ได้มีผู้ศึกษาวิจัยการผลิตสารพรีไบโอติกเพื่อใช้เร่งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์โปรไบโอติก ยกตัวอย่างเช่น Cruz และคณะ (1999) ได้ศึกษาการผลิต Transgalactosylated oligosaccharides (TOS) เพื่อใช้เป็นสารพรีไบโอติกเร่งการเจริญของจุลินทรีย์แลคติก (Lactic acid bacteria) โดยผลิตจากการใช้ galactosyltransferase activity ของเอนไซม์ β -galactosidase ที่แยกจากเชื้อ *Penicillium simplicissimum* โดยมีน้ำตาลแลคโตสที่ความเข้มข้นสูง (60 %w/v) เป็นสารตั้งต้น

นอกจากนี้ยังมีรายงานวิจัยที่ยืนยันว่าสารพรีไบโอติกสามารถเร่งการเจริญของจุลินทรีย์โปรไบโอติกได้ เช่น งานของ Gibson และคณะ (1995) ได้ศึกษาผลของการบริโภค FOS ที่มีต่อจำนวนจุลินทรีย์ภายในลำไส้ ทำการทดลองในอาสาสมัครผู้ใหญ่ โดยให้บริโภค FOS หรือ อินูลิน 15 กรัม/วัน เป็นเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์หลักๆ ที่พบในอุจจาระ ผลปรากฏว่า FOS และ อินูลิน สามารถช่วยเพิ่มจำนวนของเชื้อไบฟิโดแบคทีเรียได้อย่างมีนัยสำคัญ และยังช่วยลดจำนวนของเชื้อ *Clostridium* ลงได้ด้วย ในขณะที่ Bourhnik และคณะ (1999) ก็ได้รายงานผลเหมือนกัน และยังรายงานถึงปริมาณที่น้อยที่สุดของ FOS (threshold dose) ที่มนุษย์บริโภคเข้าไปแต่ละวัน แล้วทำให้จำนวนไบฟิโดแบคทีเรียในลำไส้เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญว่า ควรบริโภค FOS ในปริมาณ 10 กรัม/วัน จึงจะสามารถตรวจพบการเพิ่มจำนวนของไบฟิโดแบคทีเรีย

Kaplan และ Hutkins (2000) ศึกษาการใช้ FOS ในการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์แลคติก และไบฟิโดแบคทีเรีย รวมทั้งหมด 24 สายพันธุ์ บนอาหาร MRS พบว่ามีเพียง *Lactobacillus* 12 สายพันธุ์ (จากทั้งหมด 16 สายพันธุ์) และ *Bifidobacteria* 7 สายพันธุ์ (จากทั้งหมด 8 สายพันธุ์) เท่านั้นที่สามารถเจริญได้

มีผู้ศึกษาถึงประโยชน์ของ FOS ที่มีต่อสุขภาพคนและสัตว์มากมาย ยกตัวอย่าง เช่น Ohta และคณะ (1997) ได้ศึกษาผลของการบริโภค FOS ที่มีต่อการป้องกันการเกิดโรค Osteopenia (โรคผิปกติของกระดูก) ซึ่งพบทั่วไปในมนุษย์ แต่การศึกษานี้ได้ศึกษาในหนู โดยกลุ่มทดลองให้อาหารที่มี FOS ในปริมาณ 75 กรัม/กก. อาหาร เป็นเวลา 4 สัปดาห์ เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับอาหารปกติ ผลการทดลองพบว่าหนูที่ได้รับ FOS ในอาหารเป็นประจำ จะสามารถดูดซึมแคลเซียมในลำไส้ใหญ่ได้มากกว่าหนูที่ไม่ได้รับ FOS นอกจากนี้ FOS ยังช่วยป้องกันการลดลงของแคลเซียมและแร่ธาตุต่างๆ ในกระดูก อันเป็นสาเหตุของการเกิดโรค osteopenia

Takahara และคณะ (2000) มีการศึกษาลำดับกับ Ohta และคณะ คือดูผลของการบริโภค FOS ที่มีต่อการเพิ่มของปริมาตร และปริมาณแร่ธาตุของกระดูกโคนขาในหนู โดยหนูที่นำมาทดลองจำนวน 16 ตัวมีอายุ 42 วัน จะถูกแบ่งเป็นกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง ที่ให้บริโภค FOS ปริมาณ 5 กรัม/100 กรัมอาหาร หลังจากให้หนูปรับตัวเป็นเวลา 3 วันแล้ว ก็มีการผสมแคลเซียมและแมกนีเซียมลงไปในอาหารด้วย ในปริมาณ 95 และ 8 มิลลิกรัม/วัน ตามลำดับ ผลการทดลองพบว่าในหนูที่ได้รับ FOS จะมีการดูดซึมแคลเซียมและแมกนีเซียมมาใช้ได้ดีกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับ FOS ทำให้ปริมาณของแร่ธาตุดังกล่าวในกระดูกสูงขึ้นด้วย นอกจากนี้ยังพบว่าการเพิ่มขึ้นของแร่ธาตุดังกล่าวอันเนื่องจากการบริโภค FOS นี้ยังอาจเป็นสาเหตุที่ช่วยให้ปริมาตรของกระดูกโคนขาของหนูเพิ่มขึ้นด้วย

Swanson และคณะ (2002) ได้ศึกษาผลกระทบที่มีต่อระบบภูมิคุ้มกัน, ความสามารถในการย่อยอาหารของระบบทางเดินอาหาร, จำนวนจุลินทรีย์ และปริมาณของ Protein catabolites (เช่น indole , phenol) ในลำไส้ใหญ่ของสุนัข เมื่อได้รับอาหารที่มีการเสริม FOS และ/หรือ MOS ผลการทดลองหลังจากวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าสุนัขกลุ่มที่ได้รับ MOS เสริมในอาหารจะพบจำนวน *Lactobacillus* spp. มากกว่ากลุ่มควบคุมที่ซึ่งไม่ได้รับ MOS ส่วนในกลุ่มที่ได้รับทั้ง FOS และ MOS จะพบปริมาณ IgA ในลำไส้เล็กส่วนท้าย และในซีรัมมากกว่าในกลุ่มควบคุม ปริมาณของ Lymphocytes ที่ซึ่งวัดจากเปอร์เซ็นต์ของเซลล์เม็ดเลือดขาวทั้งหมดที่พบในกลุ่มได้รับ MOS ก็มากกว่ากลุ่มควบคุมด้วย นอกจากนี้สุนัขที่ได้รับ FOS และ MOS จะพบสาร indole และ phenol ในมูลน้อยกว่ากลุ่มควบคุม โดยสรุปแล้วการเสริม FOS และ MOS ในอาหารจะมีประโยชน์ต่อสุขภาพและระบบภูมิคุ้มกันของสุนัข

จากรายงานวิจัยข้างต้นจะเห็นว่า การจะเพิ่มจำนวนของไบฟิโดแบคทีเรียหรือจุลินทรีย์โปรไบโอติกอื่น ๆ ซึ่งก่อประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์และสัตว์นั้น สามารถทำได้โดยการบริโภคสารโปรไบโอติกเพื่อเร่งการเจริญของโปรไบโอติก แต่การบริโภคจุลินทรีย์โปรไบโอติกโดยการรับประทานเข้าไปโดยตรงนั้นโอกาสรอดชีวิตของโปรไบโอติกมีค่อนข้างน้อย เนื่องจากสภาวะรุนแรงในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น ซึ่งผลงานวิจัยของ Amann และคณะ (1998) ได้ชี้ให้เห็นว่าการบริโภคเชื้อไบฟิโดแบคทีเรียเข้าสู่ร่างกายโดยตรงนั้น ไม่ได้ช่วยเพิ่มปริมาณของเชืดังกล่าวในร่างกายเลย ทำการศึกษาในอาสาสมัครทั้งชายหญิง โดยให้บริโภคเชื้อไบฟิโดแบคทีเรียในปริมาณ 10^{10} เซลล์เป็นประจำทุกวัน เป็นเวลา 12 วัน กลุ่มนักวิจัยให้คำอธิบายว่า ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อไบฟิโดแบคทีเรียที่บริโภคนั้นไม่สามารถรอดชีวิตจากสภาพกรดที่รุนแรงในกระเพาะอาหาร และสภาพต่างในลำไส้เล็ก

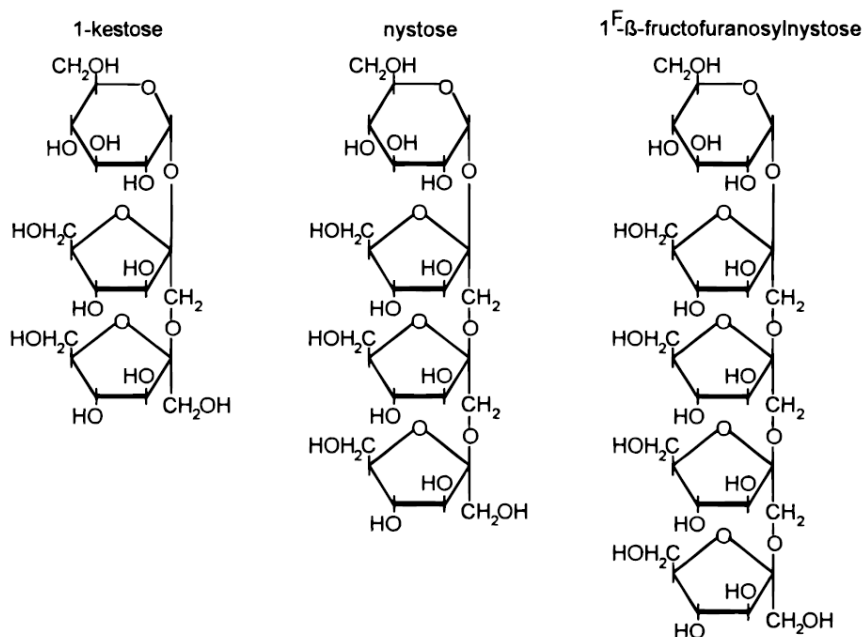
ส่วนต้น ดังนั้นการรับประทานสารฟรุ๊โบโอติกเข้าไปเพื่อช่วยเร่งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์โปรไบโอติกที่มีอยู่ในลำไส้แล้วให้แข็งแรงขึ้น จึงน่าจะก่อให้เกิดประโยชน์มากกว่าการบริโภคจุลินทรีย์โปรไบโอติกโดยตรง

2.3 น้ำตาลฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Fructooligosaccharide; FOS)

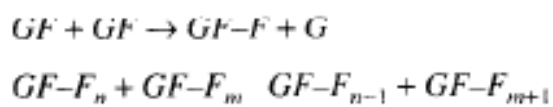
น้ำตาล FOS เป็นน้ำตาลชนิดโอลิโกแซคคาไรด์ที่ประกอบไปด้วยหน่วยของน้ำตาล D-fructose เชื่อมต่อกันอยู่ด้วยพันธะ β -(2, 1) และที่ส่วนปลายจะปิดท้ายด้วยน้ำตาล D-glucose ชนิดของน้ำตาล FOS จะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับจำนวนหน่วยของ D-fructose ในโมเลกุล และมีชื่อเรียกต่างกันไป ชนิดและลักษณะโครงสร้างของน้ำตาล FOS แสดงดังภาพที่ 1 กรณีของน้ำตาล kestose จะมีค่า specific rotation และค่า melting temperature เท่ากับ $+28.5^\circ$ และ $199-200^\circ\text{C}$ ตามลำดับ (Yun, 1996) น้ำตาล FOS เป็นน้ำตาลแคลอรีต่ำ ไม่เป็นสารก่อมะเร็ง ช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในทางเดินอาหาร เช่น *Bifidobacteria* ช่วยลดคอเลสเตอรอล ฟอสโฟลิปิด และไตรกลีเซอไรด์ในเลือดได้ (Kim *et al.*, 1998; Fernandez *et al.*, 2007) ซึ่งล้วนเป็นคุณสมบัติที่ดีของสารฟรุ๊โบโอติก

ในธรรมชาติพบน้ำตาล FOS ได้ในพืชชั้นสูงทั่วไป เช่น หอมหัวใหญ่ กระเทียม อาติไซค์ (Jerusalem artichoke) หน่อไม้ฝรั่ง ถั่วลิสง มะเขือเทศ เป็นต้น จากการสังเคราะห์โดยเอนไซม์ β -D-fructosyltransferase (FTF) (Yun, 1996; Maiorano *et al.*, 2008) แต่ในทางการค้าจะมีการสังเคราะห์น้ำตาล FOS จากซูโครสโดยใช้เอนไซม์ FTF จากจุลินทรีย์ (Maiorano *et al.*, 2008) กลไกการสังเคราะห์ FOS จากน้ำตาลซูโครสนั้นพบว่าเริ่มต้นจะมีการสลายพันธะระหว่างโมเลกุลน้ำตาลกลูโคสและซูโครสออกจากกัน จากนั้นย้ายฟรุคโตส (donor) ไปยังซูโครส (acceptor) หรือ FOS โมเลกุลอื่นๆ ดังแสดงในภาพที่ 2

Campbell และคณะ (1997) ได้ศึกษาถึงปริมาณน้ำตาล FOS ในผักและผลไม้หลายชนิดด้วยการใช้เครื่อง HPLC ผลการวิเคราะห์ได้แสดงดังตารางที่ 9 ส่วนในปี 2008 และ 2009 มีงานวิจัยจาก Der Agopian และคณะ ที่รายงานเกี่ยวกับการศึกษาปริมาณน้ำตาล FOS ในกล้วยจำนวน 8 สายพันธุ์ของประเทศบราซิลโดยใช้เครื่องมือ HPAEC-PAD และ GC ผลการศึกษาพบว่าทั้ง 8 สายพันธุ์มีน้ำตาล 1-kestose เป็นองค์ประกอบในทุกสายพันธุ์ในปริมาณในช่วงตั้งแต่ 297-1600 ไมโครกรัม/ กรัมน้ำหนักแห้ง ขึ้นกับชนิดสายพันธุ์ ส่วนน้ำตาล nystose นั้นพบเฉพาะในสายพันธุ์ Prata ในปริมาณ 105 ไมโครกรัม/ กรัมน้ำหนักแห้ง ในขณะที่น้ำตาลซูโครสนั้นพบว่ามีในปริมาณที่สูงมากประมาณ 200 มิลลิกรัม/ กรัมน้ำหนักแห้ง ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้สรุปว่า แม้จะพบ FOS ในกล้วยเหล่านี้ แต่เนื่องจากมีปริมาณที่ต่ำกว่าเกณฑ์ Functional recommended dose ของการบริโภค FOS จึงทำให้กล้วยเหล่านี้ไม่ใช่แหล่งของ FOS ที่ดีนัก



ภาพที่ 1 ลักษณะโครงสร้างทางเคมีของน้ำตาล FOS ชนิดต่างๆ
ที่มา: Campbell *et al.*, 1997.



ภาพที่ 2 กลไกการสังเคราะห์น้ำตาล FOS จากน้ำตาลซูโครส
ที่มา: Yun, 1996.

ตารางที่ 9 แสดงปริมาณของน้ำตาล FOS ในผลไม้ชนิดต่างๆ

พืช	มิลลิกรัม/ กรัมน้ำหนักแห้ง			
	Kestose	Nystose	GF4	Total
Apple, Red Delicious	0.6	0	0	0.6
Blackberry	0	0	1.2	1.2
Blueberry	0.2	0.1	0	0.3
Cantaloupe	0.3	0	0.4	0.7
Orange, navel	1.7	0	1.1	2.8
Strawberry	Trace	0	0	Trace
Watermelon	2.8	0	0.1	3.0
Asparagus	0.3	0	0	0.3
Chicory root	9.1	6.1	5.9	21.0
Garlic	8.7	1.2	0.4	10.3
Jerusalem artichoke	93.9	94.3	98.1	286.2
Leek	3.4	0.6	0.7	4.8
Onion, red	11.7	2.1	0.9	14.7

ที่มา: ดัดแปลงมาจาก Campbell *et al.*, 1997.

วัสดุและวิธีการวิจัย

1. วัสดุและอุปกรณ์

1.1 ผลไม้

- ลิ้นจี่ สายพันธุ์ฮวงฮวย โอเฮียะ และจักรพรรดิ จากจังหวัดเชียงใหม่
- สับปะรด สายพันธุ์ ปัตตาเวีย นางแล และภูแล จากจังหวัดลำปาง
- ลำไย สายพันธุ์สีชมพู เบี้ยวเขียว และดอ จากจังหวัดลำพูน
- ส้มเขียวหวาน สายพันธุ์ โอเชียน สายน้ำผึ้ง และสีทอง จากจังหวัดเชียงใหม่

1.2 เชื้อจุลินทรีย์

- เชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติก 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Lactobacillus acidophilus* TISTR1338, *L. lactisi* TISTR1464, *L. bulgaricus* TISTR451 และ *L. plantarum* TISTR541
- เชื้อแบคทีเรียเจ้าบ้าน 1 สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichia coli* จากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้
- เชื้อแบคทีเรียก่อโรค 1 สายพันธุ์ ได้แก่ *Salmonella enterica* Typhimurium TISTR292
- ประชากรจุลินทรีย์ผสมจากอุจจาระเด็กทารกอายุ 3 เดือน

1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

- อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Nutrient broth (NB) และ Nutrient agar (NA)
- อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) ยี่ห้อ Criterion[®]
- อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร Eosin methylene blue (EMB) ยี่ห้อ Himedia[®]
- อาหารเลี้ยงเชื้อสูตร *Salmonella-Shigella* (SS) Himedia[®]

1.4 สารเคมี

สารละลาย 3, 5 dinitrosalicylic acid (DNS)

สารละลาย 5% (w/v) Phenol

สารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น

น้ำตาลกลูโคส (HPLC grade)

น้ำตาลฟรุคโตส (HPLC grade)

น้ำตาลซูโครส (HPLC grade)

น้ำตาลคีสโตส (1-kestose) (HPLC grade)

น้ำตาลนิสโตส (Nystose) (HPLC grade)

Acetonitrile (HPLC grade)

บิวทานอล (Butanol)

เอทานอล (Ethanol)

1.5 อุปกรณ์และเครื่องมือ

เครื่องคั้นน้ำผลไม้ (Sakaya™)

ชุดกรอง Nalgene™ (Reusable bottle top filter unit)

แผ่นกรอง Nylon membrane filter ขนาด 0.2 ไมครอน

แผ่น TLC สำเร็จรูป เคลือบซิลิกาเจล 60 ยี่ห้อ MERCK®

เครื่องปั่นเหวี่ยงชนิดควบคุมอุณหภูมิ

เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง

ตู้แช่แข็ง

หม้อนิ่งฆ่าเชื้อความดัน

ชุดเครื่องมือ High performance liquid chromatography (HPLC)

อุปกรณ์เครื่องแก้ว

2. ขั้นตอนดำเนินการวิจัย

(1) รวบรวมตัวอย่างผลไม้จากแหล่งซื้อในแต่ละพื้นที่

(2) ทำการเตรียมน้ำผลไม้แต่ละชนิดโดย

สับปะรด: ล้างน้ำสะอาด ปอกเปลือกและตาดอก หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ นำไปคั้นน้ำด้วยเครื่องคั้นน้ำผลไม้ Sakaya™ กรองผ่านผ้าขาวบาง บรรจุลงขวดพลาสติก เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

ลิ้นจี่และลำไย: ล้างน้ำสะอาด ปอกเปลือก คว้านเมล็ด นำไปคั้นน้ำด้วยเครื่องคั้นน้ำผลไม้ Sakaya™ กรองผ่านผ้าขาวบาง บรรจุลงขวดพลาสติก เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

ส้มเขียวหวาน: ปอกเปลือก คั้นน้ำด้วยเครื่องคั้นน้ำส้ม กรองผ่านผ้าขาวบางเพื่อแยกเมล็ด บรรจุลงขวดพลาสติก และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

(3) การวิเคราะห์น้ำตาลในน้ำผลไม้

3.1 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar) : ใช้วิธี Phenol-sulfuric acid method โดยผสมตัวอย่างน้ำผลไม้ 500 ไมโครลิตร กับสารละลายฟีนอลความเข้มข้น 5% ปริมาณ 500 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที จากนั้นเติมกรดซัลฟริกเข้มข้น 2.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 นาโนเมตร คำนวณค่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเทียบกับกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส

3.2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar) : ใช้วิธี DNS method โดยผสมน้ำผลไม้ 500 ไมโครลิตร เติมสารละลาย DNS 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปต้มในน้ำเดือด 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น จากนั้นเติมน้ำกลั่นลงไป 4 มิลลิลิตร แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร คำนวณปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

3.3 คำนวณค่า Degree of polymerization (DP) จากสูตร

$$DP = \frac{\text{ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด}}{\text{ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์}}$$

3.4 วิเคราะห์องค์ประกอบน้ำตาลแต่ละชนิดในน้ำผลไม้ด้วยเทคนิค Thin layer chromatography (TLC) โดยใช้แผ่นอลูมิเนียมที่เคลือบด้วยซิลิกาเจลเป็น stationary phase สารละลายผสมระหว่าง Butanol: ethanol: น้ำ อัตราส่วน 5: 3: 2 เป็น Mobile phase ตัวอย่างน้ำผลไม้ที่หยดบนแผ่น silica gel ชนิดละ 0.25 ไมโครลิตร น้ำตาลมาตรฐานได้แก่ กลูโคส ฟรุคโตส ซูโครส คีโตส และนิสโตส ส่วนวิธีการทำให้จุดน้ำตาลปรากฏนั้นจะใช้การจุ่มแผ่นซิลิกาเจลลงในสารละลายกรดซัลฟริกความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ในเมทานอล จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียสจนกระทั่งจุดน้ำตาลปรากฏขึ้น

3.5 วิเคราะห์องค์ประกอบและปริมาณน้ำตาลแต่ละชนิดในน้ำผลไม้ด้วยเทคนิค High performance liquid chromatography (HPLC) โดยตัวอย่างน้ำผลไม้จะผ่านการปั่นเหวี่ยงกำจัดตะกอนที่ความเร็วรอบ 12,000 rpm 10 นาที จากนั้นกรองสารละลายส่วนใสผ่านแผ่นกรอง Nylon membrane ขนาด pore size 0.45 ไมครอน ฉีดตัวอย่างปริมาณ 20 ไมโครลิตร ผ่านคอลัมน์ Previal amino 5 micron (Alltech®) สารละลาย mobile phase ที่ใช้คือสารละลายผสมระหว่าง acetonitrile: water อัตราส่วน 75: 25 ที่อัตราเร็ว 1 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส อุปกรณ์ตรวจวัดคือ ELSD2000 (Alltech®) น้ำตาลมาตรฐานมาตรฐานที่ใช้ได้แก่ กลูโคส ฟรุคโตส ซูโครส คีโตส และนิสโตส ความบริสุทธิ์ระดับ HPLC grade

(4) การศึกษาการกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์โดยน้ำผลไม้

4.1 **Single culture study:** เตรียมน้ำผลไม้โดยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 rpm 10 นาที นำสารละลายส่วนใสมาทำให้ปลอดเชื้อโดยน้ำลันจี สับปะรด และลำไยทำการกรองโดยใช้ชุดกรอง Nalgene™ (Reusable bottle top filter unit) ผ่านแผ่นกรอง Nylon membrane filter ขนาด 0.2 ไมครอน บรรจุน้ำผลไม้ 50 มิลลิลิตร ลงในขวดชมพูปลอดเชื้อขนาด 250 มิลลิลิตร ในขณะที่น้ำส้มเขียวหวานทำการฆ่าเชื้อโดยใช้ความร้อนที่ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นถ่ายเชื้อลงไปประมาณ 10^5 cfu นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยไม่ต้องเขย่าให้อากาศ ทำการเก็บตัวอย่างช่วงเวลาที่ 0 และ 24 เพื่อนำมาวัดค่า pH และนับจำนวนเซลล์ ทั้งนี้เชื้อที่นำมาศึกษาครั้งนี้ได้แก่ *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. bulgaricus*, *L. plantarum*, *Escherichia coli* และ *Salmonella enterica* Typhimurium เชื้อแบคทีเรียแล็กติกจะทำการนับบนอาหาร MRS agar ในขณะที่เชื้อ *E. coli* และ *Sal. Typhimurium* จะทำการนับบนอาหาร EMB agar และ SS agar ตามลำดับ

4.2 **Mixed culture study:** เตรียมน้ำผลไม้ด้วยวิธีการเดียวกับข้อ 4.1 จากนั้นทำการถ่ายเชื้อแบคทีเรียแล็กติกปริมาณรวมประมาณ 10^8 cfu (ได้แก่ *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. bulgaricus* และ *L. plantarum*) เชื้อ *E. coli* ปริมาณ 10^8 cfu และ *Sal. Typhimurium* ปริมาณ 10^8 cfu ลงไปในน้ำผลไม้ขวดเดียวกัน นำไปบ่มที่

อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยไม่เขย่า เก็บตัวอย่างชั่วโมงที่ 0, 12 และ 24 เพื่อวิเคราะห์จำนวนเชื้อแต่ละชนิด โดยเชื้อแบคทีเรียแลคติกจะทำการนับบนอาหาร MRS agar ส่วนเชื้อ *E. coli* และ *Sal. Typhimurium* นับบนอาหาร EMB agar และ SS agar ตามลำดับ

4.3 Fecal culture study: โดยเตรียม fecal slurry จากอุจจาระทารกซึ่งผสมลงไปในน้ำผลไม้ปลอดเชื้อ (เตรียมดังข้อ 4.1) ในอัตราส่วน 5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) บ่มที่อุณหภูมิ 37°C และเก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 12, 24 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงจำนวนเชื้อในกลุ่มจุลินทรีย์แลคติก, *E. coli* และ *Salmonella-Shigella* sp.

(5) สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การเตรียมน้ำผลไม้

ผลการเตรียมน้ำผลไม้ทั้ง 9 ชนิดแสดงดังตารางที่ 10 และข้อมูลน้ำหนักของน้ำผลไม้ มิลลิกรัมแสดงในตารางที่ 11 ซึ่งจะเห็นได้ว่าสามารถเตรียมน้ำผลไม้ได้ด้วย %yield ที่แตกต่างกัน ขึ้นกับชนิดและสายพันธุ์ ทั้งนี้ น้ำหนักผลสดในที่นี้หมายถึง ผลไม้ที่ยังคงมีเปลือกและ/หรือเมล็ด ส่วน น้ำหนักส่วนเนื้อหมายถึง น้ำหนักผลไม้ที่ปอกเปลือกและเอาเมล็ดออกเป็นที่เรียบร้อยแล้ว ซึ่งก็หมายถึงส่วนเนื้อผลไม้ที่เราบริโภคได้นั่นเอง ยกเว้นกรณีของส้มเขียวหวานที่น้ำหนักส่วนเนื้อหมายรวมถึงทั้งเนื้อและเมล็ด เนื่องจากไม่สามารถแยกเมล็ดออกจากผลส้มได้ก่อนที่จะทำการคั้นน้ำ การแยกบันทึกข้อมูลเช่นนี้ก็เพื่อให้สามารถคำนวณปริมาณน้ำตาลฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ต่อหน่วยบริโภคต่อไป

ตารางที่ 10 แสดงผลการเตรียมน้ำผลไม้ด้วยเครื่องคั้นเมื่อเทียบกับน้ำหนักผลไม้สด 1 กิโลกรัม

ผลไม้	น้ำหนักผลสด (kg)	น้ำหนักส่วนเนื้อ (kg)	น้ำหนักน้ำผลไม้ (kg)	% Yield (เทียบกับผลสด)	% Yield (เทียบกับส่วนเนื้อ)
ลิ้นจี่					
โอวเฮียะ	1	0.63	0.47	47	74.6
ฮงฮวย	1	0.52	0.36	36	69.2
จักรพรรดิ	1	0.52	0.39	39	75
สับปะรด					
ภูแล	1	0.45	0.25	25	55.5
ปัตตาเวีย	1	0.60	0.39	39	65
นางแล	1	0.60	0.39	39	65
ลำไย					
เปี้ยวเขียว	1	0.65	0.44	44	67.7
ชมพู	1	0.69	0.40	40	58
ดอ	1	0.55	0.27	27	49.1
ส้มเขียวหวาน					
โอเชียน	1	0.75*	0.52	52	69.3
สายน้ำผึ้ง	1	0.83*	0.47	47	56.6
สีทอง	1	0.90*	0.56	56	62.2

*หมายเหตุ: น้ำหนักเนื้อของส้มเขียวหวานทั้งสามสายพันธุ์หมายถึงน้ำหนักส่วนเนื้อรวมเมล็ด

ตารางที่ 11 แสดงความข้มูลน้ำหนักของน้ำผลไม้ 1 มิลลิลิตร

ผลไม้	ปริมาตรน้ำผลไม้ (มล.)	น้ำหนักน้ำผลไม้ (กรัม)
ลิ้นจี่		
โอวเฮียะ	1	1.04
ฮงฮวย	1	1.05
จักรพรรดิ	1	1.05
สับปะรด		
ภูแล	1	1.04
ปัตตาเวีย	1	1.05
นางแล	1	1.06
ลำไย		
เปี้ยวเขียว	1	1.04
ชมพู	1	1.06
ดอ	1	1.04
ส้มเขียวหวาน		
โอเชียน	1	1.04
สายน้ำผึ้ง	1	1.03
สีทอง	1	1.00

2. การวิเคราะห์น้ำตาลในน้ำผลไม้

2.1 น้ำตาลรีดิวซ์ น้ำตาลทั้งหมด และค่า Degree of polymerization

จากการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลด้วยวิธีการทางชีวเคมี ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 12 โดยพบว่าลำไยมีปริมาณน้ำตาลที่สูงมากเมื่อเทียบกับผลไม้สามชนิด โดยมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดอยู่ในช่วงประมาณ 160-280 g/ kg เนื้อผลไม้ ในขณะที่ลิ้นจี่และสับปะรดมีน้ำตาลทั้งหมดอยู่ในช่วงประมาณ 109-116 และ 80-120 g/ kg เนื้อผลไม้ ตามลำดับ และส้มเขียวหวานมีน้ำตาลในปริมาณน้อยที่สุดดังแสดง และเมื่อคำนวณขนาดเฉลี่ยของโมเลกุลน้ำตาลในรูปของค่าจำนวนหน่วย (monomer) ก็พบว่าน้ำตาลในลิ้นจี่และส้มเขียวหวานมีขนาดเล็กที่สุด คือมีจำนวนหน่วยของน้ำตาลอยู่ในช่วง 1-2 เท่านั้น กล่าวคือส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ในขณะที่น้ำตาลในสับปะรดและลำไยนั้น มีจำนวนหน่วยน้ำตาลเฉลี่ยอยู่ในช่วงประมาณ 3-4 และ 3-5 ตามลำดับ ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีโอกาสพบโอลิโกแซคคาไรด์ในสับปะรดและลำไยมากกว่าในลิ้นจี่และส้มเขียวหวาน

ตารางที่ 12 แสดงปริมาณน้ำตาลในเนื้อผลไม้แต่ละชนิด

ชนิดผลไม้	สายพันธุ์ผลไม้	%น้ำตาล	ปริมาณน้ำตาล* (g/kg เนื้อผลไม้) $\pm$ SD		
			Total sugar	Reducing sugar	DP**
ลิ้นจี่	โอวเฮียะ	10.9	109.53 $\pm$ 2.77	87.99 $\pm$ 0.00	1.24
	ฮงฮวย	11.3	112.96 $\pm$ 2.86	71.21 $\pm$ 1.76	1.59
	จักรพรรดิ	11.6	116.48 $\pm$ 2.34	84.13 $\pm$ 2.39	1.38
สับปะรด	ภูแล	8.0	80.22 $\pm$ 3.36	18.99 $\pm$ 0.82	4.22
	ปัตตาเวีย	10.9	108.94 $\pm$ 8.42	27.78 $\pm$ 3.81	3.92
	นางแล	11.9	119.57 $\pm$ 10.14	34.07 $\pm$ 3.86	3.51
ลำไย	เปี้ยวเขียว	24.2	242.07 $\pm$ 34.48	70.22 $\pm$ 1.37	3.45
	ชมพู	28.4	284.00 $\pm$ 33.23	57.34 $\pm$ 0.57	4.95
	ดอ	16.2	162.31 $\pm$ 25.00	51.20 $\pm$ 0.49	3.17
ส้ม	โอเชียน	5.6	56.38 $\pm$ 0.46	48.70 $\pm$ 0.20	1.15
	สายน้ำผึ้ง	4.7	46.61 $\pm$ 5.78	37.36 $\pm$ 0.04	1.25
	สีทอง	5.3	53.15 $\pm$ 0.23	40.70 $\pm$ 0.05	1.30

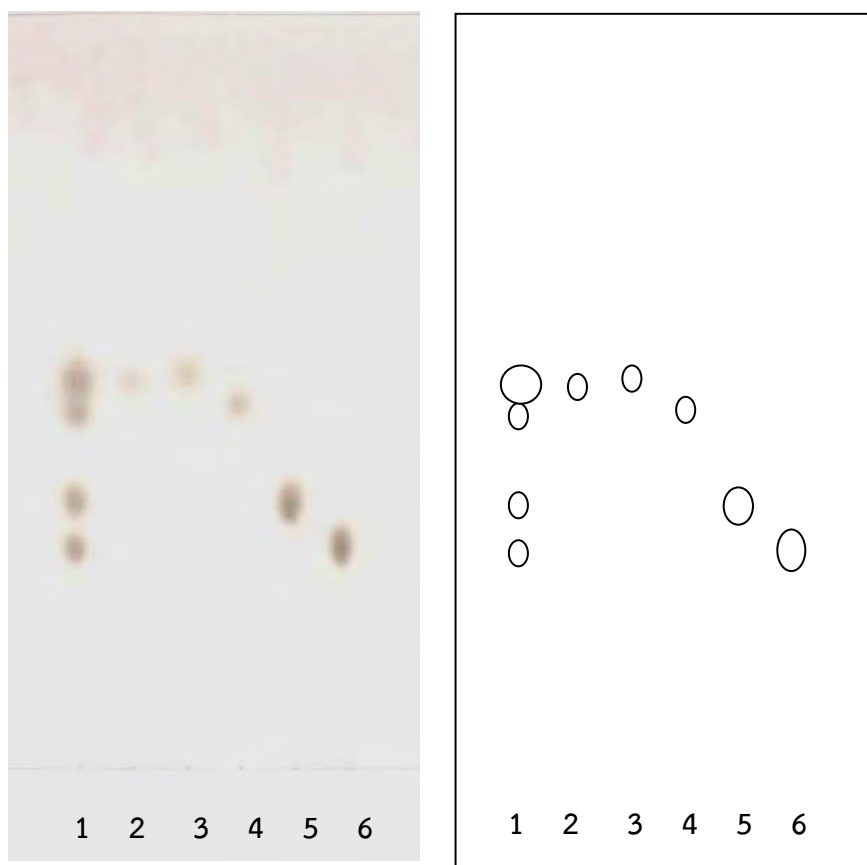
*วิเคราะห์ 3 ซ้ำ

**DP = Degree of polymerization

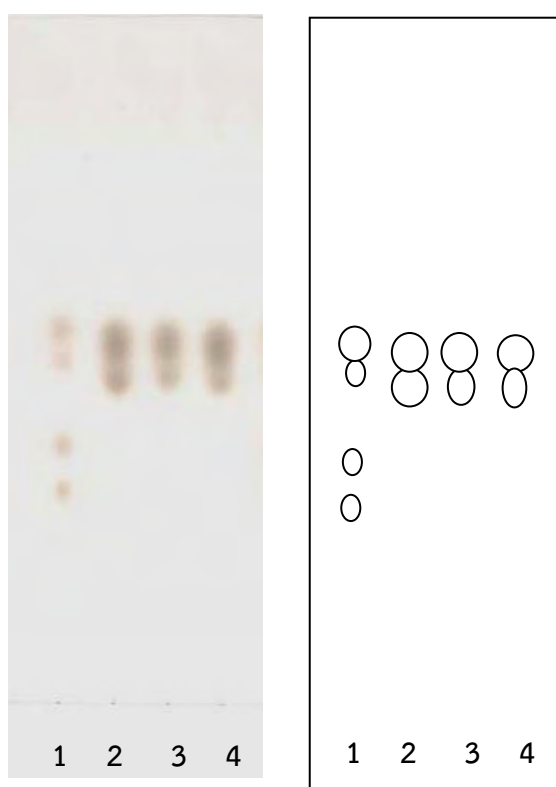
2.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำตาลด้วยเทคนิค TLC

เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำตาลในผลไม้ทั้ง 4 ชนิด ด้วยเทคนิค TLC แล้ว ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 3-7 โดยมีน้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส ซูโครส 1-คีสโตส และ นีสโตส เป็นน้ำตาลมาตรฐานเปรียบเทียบ จากผลการวิเคราะห์พบว่าไม่สามารถตรวจพบน้ำตาล FOS ชนิด 1-คีสโตส และนีสโตส ในน้ำลิ้นจี่ สับปะรดและส้มเขียวหวาน พบเพียงองค์ประกอบที่คาดว่าจะจะเป็นน้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส และซูโครส ในปริมาณค่อนข้างสูง อย่างไรก็ตาม ก็สามารถตรวจพบน้ำตาล 1-คีสโตส ในน้ำลำไยทั้ง 3 สายพันธุ์ แต่ไม่พบน้ำตาลนีสโตสในน้ำผลไม้ชนิดใด นอกจากนี้ยังพบว่าในน้ำลำไยยังมีน้ำตาลที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่กว่าน้ำตาลนีสโตสอยู่อีกด้วย ดังจะเห็นได้จากแถบน้ำตาลบริเวณจุดเริ่มต้นหยดสาร ซึ่งอาจเป็นน้ำตาล GF4 ($1^F\text{-}\beta\text{-fructofuranosyl}$ inystose) หรืออาจเป็นโพลีเมอร์กลุ่มอินูลินก็ได้ เป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่ง เทคนิคการวิเคราะห์ด้วย TLC นี้แม้จะง่ายและประหยัด แต่ก็มีควมไว (sensitivity) ในการวิเคราะห์ที่น้อย ดังนั้นอาจจะยังไม่สามารถสรุปได้ทันทีว่าน้ำลิ้นจี่และสับปะรดไม่มีน้ำตาล FOS เป็นองค์ประกอบ จึงต้องทำการศึกษาต่อไปด้วยเทคนิคที่มีความไวของการตรวจวัดที่สูงกว่า นั่นคือ HPLC

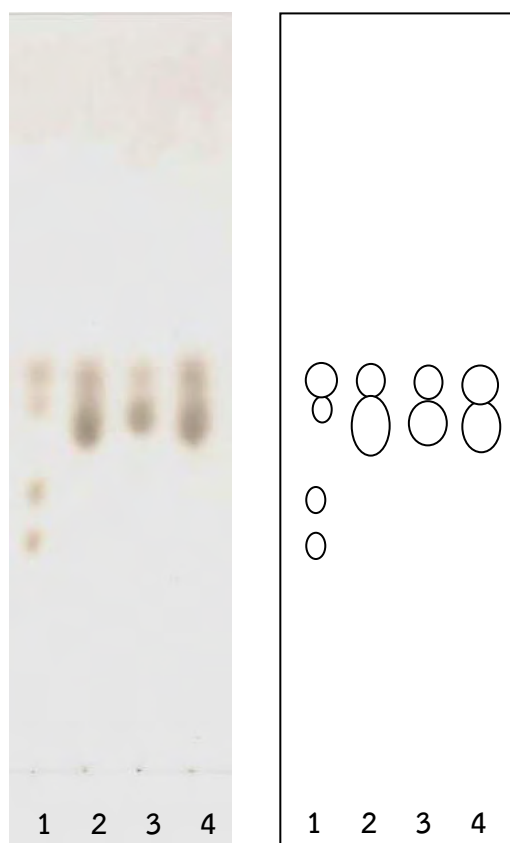
Mobile phase สำหรับใช้ในเทคนิค TLC เพื่อการวิเคราะห์น้ำตาลกลุ่ม FOS มีหลายระบบ เช่น Butanol: isopropanol: water: acetic acid อัตราส่วน 7: 5: 4: 2 (Yi et al., 2009) และ acetic acid: chloroform: water อัตราส่วน 7: 5: 1 (Kaplan and Hutkins, 2003) ส่วนระบบ Mobile phase ที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้คือ Butanol: ethanol: น้ำ อัตราส่วน 5: 3: 2 ซึ่งเป็นระบบที่มีการรายงานว่าสามารถแยกน้ำตาลกลุ่ม FOS ได้ดี โดยอ้างอิงมาจากการวิจัยของ Reiffová และ Nemcová (2006) น้ำตาลแต่ละชนิดจะแยกออกจากกันตามขนาดโมเลกุล โดยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวจะเคลื่อนที่ไปได้เร็วที่สุดตามด้วยน้ำตาลโมเลกุลคู่ อย่างไรก็ตามยังมีข้อจำกัดในการใช้วิธี TLC โดยระบบของ Mobile phase ชนิดนี้ คือไม่สามารถแยกน้ำตาลกลูโคสและฟรุคโตสออกจากกันได้ชัดเจน ทั้งนี้เนื่องมาจากน้ำหนักโมเลกุลที่เท่ากันแม้จะมีโครงสร้างที่ต่างกันก็ตาม ผลการทดลองของผู้วิจัยก็สอดคล้องกับในรายงานดังกล่าวนี้ รายงานดังกล่าวยังรายงานว่ น้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส และซูโครส มีค่า R_f เท่ากับ 0.519, 0.513 และ 0.472 ตามลำดับ ค่าตัวเลขดังกล่าวเกิดจากการระบุตำแหน่งแถบน้ำตาลอย่างแม่นยำโดยใช้เครื่อง Densitometer เข้าช่วย ทำให้สามารถคำนวณค่า R_f ที่ถูกต้องของน้ำตาลแต่ละชนิดได้ ซึ่งในงานวิจัยของผู้ทดลองนี้ ไม่ได้ทำการคำนวณค่า R_f ของน้ำตาลแต่ละองค์ประกอบไว้ เนื่องจากไม่สามารถหาตำแหน่งที่ชัดเจนของแถบน้ำตาลในการคำนวณค่า R_f ประเด็นนี้อาจมีความสำคัญไม่มากเนื่องจากเราสามารถระบุชนิดน้ำตาลได้แม่นยำขึ้นด้วยเครื่อง HPLC อยู่แล้วและน้ำตาลเป้าหมายของงานวิจัยนี้คือน้ำตาล FOS



ภาพที่ 3 การเคลื่อนที่ของน้ำตาลมาตรฐานได้แก่ lane 1 : น้ำตาลผสม 5 ชนิด, lane 2 : กลูโคส, lane 3 : ฟรุคโตส, lane 4 : ซูโครส, lane 5 : 1- คีส์โตส, lane 6 : นีสโตส



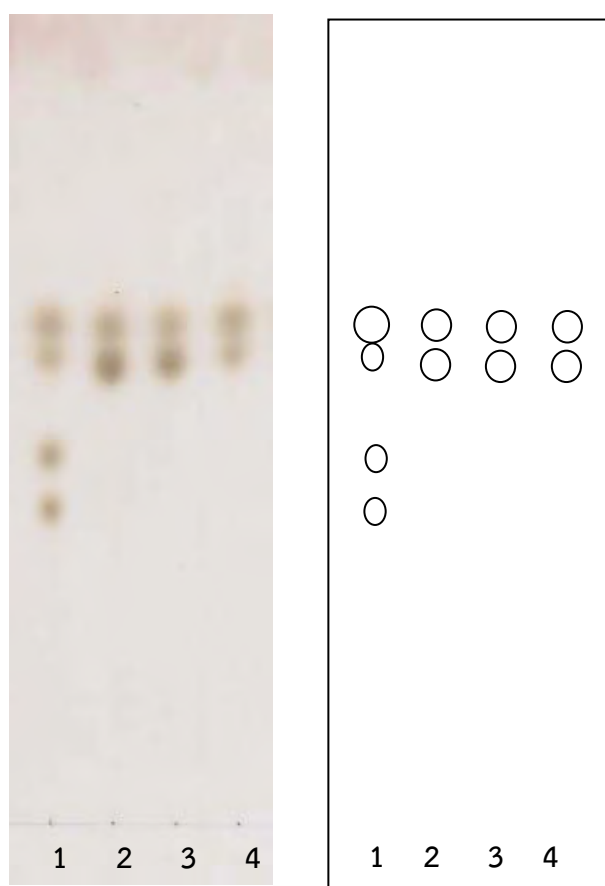
ภาพที่ 4 แสดงองค์ประกอบของน้ำตาลชนิดต่างๆ ในน้ำล้นจี 3 สายพันธุ์ โดย lane 1: น้ำตาลมาตรฐาน, lane 2 : พันธุ์ฮวงฮวย, lane 3 : พันธุ์จักรพรรดิ, lane 4 : พันธุ์โอเอียะ



ภาพที่ 5 แสดงองค์ประกอบของน้ำตาลชนิดต่างๆ ในน้ำสับปะรด 3 สายพันธุ์ โดย lane 1 : น้ำตาลมาตรฐาน, lane 2 : พันธุ์นางแล, lane 3 : พันธุ์ภูแล, lane 4 : พันธุ์ปัตตาเวีย



ภาพที่ 6 แสดงองค์ประกอบของน้ำตาลชนิดต่างๆ ในน้ำลำไย 3 สายพันธุ์ โดย lane 1 : น้ำตาลมาตรฐาน, lane 2 : พันธุ์ดอ, lane 3 : พันธุ์เขียวเขียว, lane 4 : พันธุ์ชมพู



ภาพที่ 7 แสดงองค์ประกอบของน้ำตาลชนิดต่างๆ ในน้ำส้ม 3 สายพันธุ์ โดย lane 1 : น้ำตาลมาตรฐาน, lane 2 : พันธุ์โอเชียน, lane 3 : พันธุ์สายน้ำผึ้ง, lane 4 : พันธุ์สีทอง

2.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบน้ำตาลด้วยเทคนิค HPLC

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบและปริมาณน้ำตาลด้วยเทคนิค HPLC แสดงดังตารางที่ 13 ซึ่งพบผลสอดคล้องกับการศึกษาด้วยเทคนิค TLC ในกรณีของน้ำลำไส้ที่ไม่สามารถตรวจพบน้ำตาล FOS ชนิด 1-คีสโตส และนิสโตส และน้ำลำไส้ที่ตรวจพบน้ำตาล 1-คีสโตส แต่ไม่พบนิสโตส แต่ในกรณีของน้ำสับปะรดและส้มเขียวหวานทั้งสามสายพันธุ์นั้น กลับให้ผลไม่สอดคล้องกัน กล่าวคือ สามารถตรวจน้ำตาล 1-คีสโตสในน้ำผลไม้เหล่านี้ด้วย โดยพบว่าปริมาณใกล้เคียงกับลำไส้เมื่อคำนวณในหน่วยกรัม น้ำตาลต่อกิโลกรัมเนื้อผลไม้ ในส่วนของน้ำตาลนิสโตสนั้นก็ยังคงไม่สามารถตรวจพบได้ อย่างไรก็ตาม ตามผลการวิเคราะห์น้ำตาลทั้งจากข้อ 2.1-2.3 ก็แสดงให้เห็นว่าน้ำผลไม้ทั้ง 4 ชนิด (12 สายพันธุ์) มีองค์ประกอบหลักเป็นน้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส และซูโครส ซึ่งล้วนสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทุกสายพันธุ์ ทั้งโปรไบโอติก จุลินทรีย์เจ้าถิ่น และเชื้อก่อโรคได้ แต่น้ำตาล FOS ที่ตรวจพบในน้ำผลไม้บางชนิดนี้อาจส่งผลดีให้จุลินทรีย์โปรไบโอติก สามารถเจริญเติบโตได้ดีขึ้น อันจะส่งผลให้เกิดสมดุลของประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ได้เร็วขึ้นก็เป็นได้ ซึ่งจะได้ทำการศึกษาคุณสมบัติการกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในแต่ละกลุ่มต่อไป อย่างไรก็ตามแม้ว่าน้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส และซูโครส ในผลไม้สามารถกระตุ้นการเจริญของเชื้อก่อโรคได้ แต่ก็ไม่น่าเป็นห่วงนัก เนื่องจากมนุษย์เราซึ่งเป็นผู้บริโภค ก็สามารถดูดซึมน้ำตาลเหล่านี้ไปใช้ประโยชน์ในร่างกายก่อนที่น้ำตาลเหล่านี้จะหลงเหลือไปยังแหล่งอาศัยของเชื้อก่อโรคในลำไส้ใหญ่ คงเหลือเพียงน้ำตาล FOS เท่านั้น

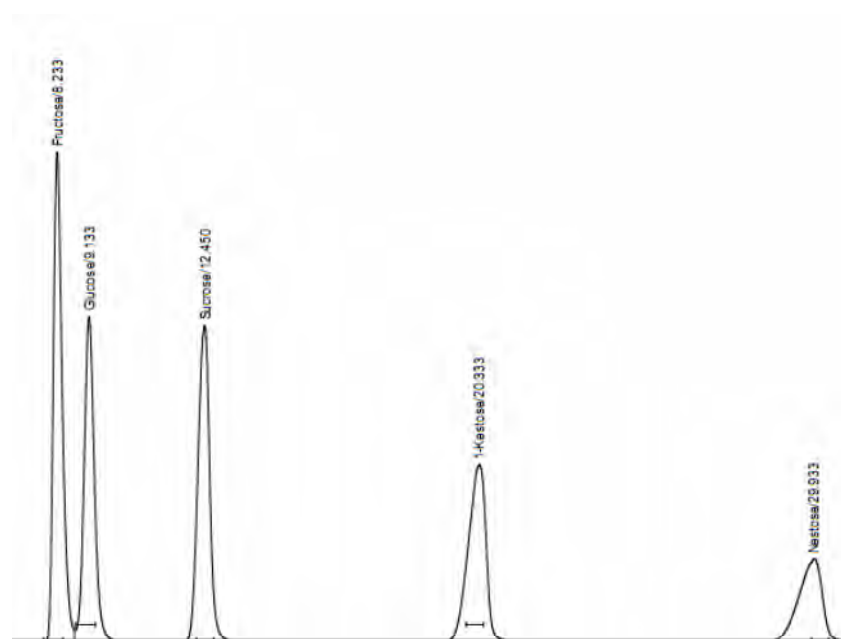
น้ำตาล FOS ไม่ได้มีเพียงแค่ 1-คีสโตสและนิสโตสเท่านั้น แต่ยังมี GF4 (1^F - β -fructofuranosylmaltose) ซึ่งเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่กว่านิสโตส ไปจนถึงอินูลินที่เป็นโพลิเมอร์ของน้ำตาลฟรุคโตส และมีจำนวนหน่วย (DP) มากเกินกว่าที่จะเรียกเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ได้ จึงสามารถพบอินูลินได้หลายชนิด ขึ้นกับจำนวนหน่วยของฟรุคโตสในโมเลกุล ดังนั้นเป็นการยากที่จะระบุให้ชัดเจนว่าจะศึกษาอินูลินตัวไหน นอกจากนี้จากผลการทดลองคำนวณค่า DP เฉลี่ยของน้ำผลไม้ พบว่ามีค่าต่ำมาก กล่าวคือน้ำตาลส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและโมเลกุลคู่ ยากที่จะพบการสะสมฟรุคโตสในรูปของโพลิเมอร์อย่างอินูลินได้ ประกอบกับข้อจำกัดด้านงบประมาณ จึงเป็นเหตุผลให้ตัดสินใจไม่วิเคราะห์อินูลินและ GF4

Antosova และคณะ (1999) ผู้ซึ่งทำการศึกษาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาล FOS ด้วยเครื่อง HPLC ได้กล่าวไว้ว่า โดยปกติแล้ว การเพิ่มอุณหภูมิของคอลัมน์จะทำให้ความหนืดของ mobile phase ลดลง สัมประสิทธิ์การแพร่เพิ่มขึ้น และการถ่ายเทมวลสารเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ประสิทธิภาพการแยก (Resolution) ของน้ำตาลดีขึ้น และยอด peak ในโครมาโทแกรมคมชัดขึ้นด้วย แต่อย่างไรก็ตาม ความร้อนที่สูงขึ้นจะทำให้น้ำตาลเกิดการเสถียรภาพมากขึ้น คณะผู้วิจัยจึงได้แนะนำให้ใช้อุณหภูมิในช่วง 40-60 องศาเซลเซียสในการวิเคราะห์น้ำตาล FOS ซึ่งแตกต่างจากสภาวะที่ผู้วิจัยได้ทำการทดลองครั้งนี้ เนื่องจากคอลัมน์ไม่มีอุปกรณ์ที่ช่วยควบคุมอุณหภูมิจึงขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของสิ่งแวดล้อมเป็นหลัก แต่จากการบันทึกอุณหภูมิในห้องวิจัย ก็พบว่าอุณหภูมิไม่แตกต่างกันมากนักในช่วงเวลาที่ทำงาน กล่าวคืออุณหภูมิอยู่ในช่วง 30-32 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 13 แสดงปริมาณน้ำตาลฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์และชนิดอื่นๆ ในเนื้อผลไม้แต่ละชนิดจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

ชนิดผลไม้	สายพันธุ์ผลไม้	ปริมาณน้ำตาล (g/ kg เนื้อผลไม้)				
		ฟรุกโตส	กลูโคส	ซูโครส	1-คีสโตส	นิสโตส
ลิ้นจี่	โอวเฮียะ	72.98	82.01	37.99	ND*	ND
	ฮงฮวย	58.91	66.95	61.07	ND	ND
	จักรพรรดิ	64.46	73.82	41.62	ND	ND
สับปะรด	ภูแล	10.12	11.34	99.19	1.01	ND
	ปัตตาเวีย	18.06	19.08	124.20	1.17	ND
	นางแล	21.33	24.18	129.35	1.20	ND
ลำไย	เปี้ยวเขียว	39.52	60.37	159.22	1.63	ND
	ชมพู	18.69	27.10	159.17	1.18	ND
	ดอ	18.12	24.10	93.47	1.10	ND
ส้มเขียว	โอเชียน	26.99	33.11	90.19	1.26	ND
หวาน	สายน้ำผึ้ง	12.89	14.41	40.94	1.04	ND
	สีทอง	21.07	24.10	23.74	1.15	ND

*Not detected: มีปริมาณน้อยจนไม่สามารถตรวจวัดได้



ภาพที่ 8 แสดงโครมาโตแกรมของน้ำตาลมาตรฐาน 5 ชนิด เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

3. การศึกษาการกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์โดยน้ำผลไม้

3.1 การเพาะเลี้ยงเชื้อเดี่ยว (Single culture)

หลังจากทำการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดลงในน้ำผลไม้แต่ละสายพันธุ์ ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 9-14 และค่า pH ก่อนและหลังการเพาะเลี้ยงแสดงในตารางที่ 14 โดยพบว่า น้ำลิ้นจี่ทั้ง 3 สายพันธุ์ไม่กระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อ *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *E. coli* และ *S. Typhimurium* และยังพบว่าลิ้นจี่สายพันธุ์จักรพรรดิก็ไม่กระตุ้นการเจริญของเชื้อ *L. plantarum* ด้วย ในขณะที่น้ำลิ้นจี่ทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถกระตุ้นการเจริญของเชื้อ *L. lactis* ได้ดีมาก ส่วนการศึกษาในน้ำสับปะรดนั้น ก็พบว่าทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถกระตุ้นการเจริญของเชื้อ *L. lactis*, *E. coli* และ *S. Typhimurium* ได้ดีมาก ส่วนน้ำสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียและนางแลสามารถกระตุ้นการเจริญของเชื้อ *L. acidophilus* ได้ดีมากเช่นกัน ส่วนเชื้อ *L. plantarum* และ *L. bulgaricus* นั้นพบว่าถูกกระตุ้นการเจริญได้น้อยกว่า แต่เมื่อพิจารณาการใช้น้ำลำไยเพาะเลี้ยงเชื้อก็พบว่าน้ำลำไยสามารถกระตุ้นการเจริญของเชื้อได้ทุกชนิด ซึ่งสามารถกระตุ้นการเจริญของโปรไบโอติกได้ดีกว่าเชื้อก่อโรคเล็กน้อย และสุดท้ายเมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยน้ำส้มเขียวหวาน ผลการทดลองพบว่าสายพันธุ์โอเซียนสามารถกระตุ้นได้เพียงการเจริญของ *L. lactis* และ *L. plantarum* เท่านั้น และยังเป็นที่น่าสนใจว่าน้ำส้มโอเซียน สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* และ *Sal. Typhimurium* ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *Sal. Typhimurium* ที่ไม่สามารถตรวจพบได้เลยเมื่อเลี้ยงในน้ำผลไม้ชนิดนี้ ส้มสายน้ำผึ้งก็เช่นเดียวกันที่พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* และ *Sal. Typhimurium* ได้ แต่น้ำส้มเขียวหวานสีทองกลับพบว่ายับยั้งได้เพียงการเจริญของ *E. coli* และเป็นการยับยั้งเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับส้มเขียวหวานสายพันธุ์อื่น แต่น้ำพันธุ์สีทองสามารถกระตุ้นการเจริญของเชื้อชนิดอื่นๆ ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *L. lactis*

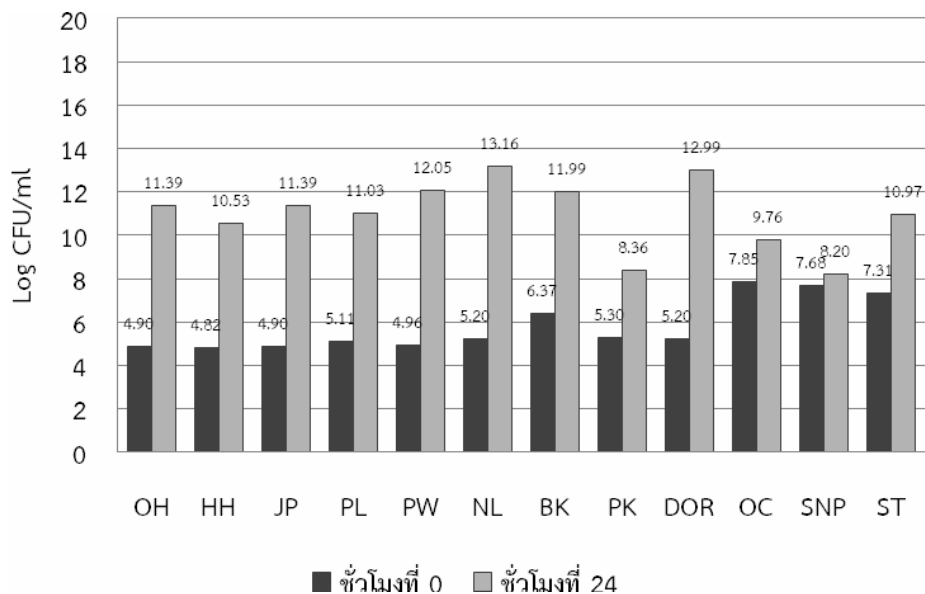
ปัจจัยที่ส่งผลให้การเจริญของเชื้อแต่ละสายพันธุ์เจริญในน้ำผลไม้แต่ละชนิดแตกต่างกันอาจเนื่องมาจากหลายปัจจัย เช่น ค่าความเป็นกรดต่ำ และสารอาหาร เป็นต้น โดยพบว่าน้ำลิ้นจี่และน้ำส้มเขียวหวานมีค่า pH ที่เป็นกรดสูงมาก ดังนั้นจึงอาจเป็นปัจจัยที่ทำให้เชื้อเจริญได้น้อยกว่า ในขณะที่ลำไยมีค่า pH ที่อยู่ในช่วงกลาง ประกอบกับมีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบสูงมาก จึงอาจเป็นสาเหตุทำให้มีเชื้อเจริญได้ทุกชนิด หรือแม้กระทั่งสารเมตาบอไลต์ต่างๆ ในน้ำผลไม้ก็มีส่วนช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ โดยมีรายงานว่าน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคได้หลายชนิด ได้แก่ *Streptococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Krebsiella pneumonia*, *E. coli* และ *Salmonella Typhi* โดยในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้นี้มีสาร D-limonene เป็นสารหลัก (Ayoola et al., 2008; Javed et al., 2011)

แม้ว่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่นำมาศึกษา นี้ ก็สามารถเจริญในน้ำผลไม้หลายๆ ชนิดได้ เช่นเดียวกับเชื้อโปรไบโอติก แต่ก็ยังเป็นสิ่งที่ไม่เหนือการคาดการณ์ เพราะในน้ำผลไม้เหล่านี้มีสารอาหารโดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำตาลโมเลกุลเล็กอยู่ในปริมาณสูงที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของเชื้อชนิดนี้ แต่จากการที่ตรวจพบน้ำตาล FOS ในน้ำผลไม้บางชนิด ก็ทำให้คาดได้ว่า น้ำตาล FOS นี้จะช่วยกระตุ้นให้เชื้อโปรไบโอติกเจริญได้เร็วขึ้น แล้วควบคุมการเจริญของเชื้อก่อโรคต่อไป ซึ่งผลการทดลองจะได้แสดงในหัวข้อต่อไปที่ได้ทดสอบเลี้ยงเชื้อผสมของโปรไบโอติกและเชื้อก่อโรคในน้ำผลไม้

น้ำตาลกลูโคสและฟรุคโตสเป็นน้ำตาลพื้นฐานที่จุลินทรีย์ทั้งโปรไบโอติกและเชื้อก่อโรคสามารถนำไปใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมได้ ดังเช่นในงานชิ้นนี้ที่ใช้ *E. coli* และ *Sal.*

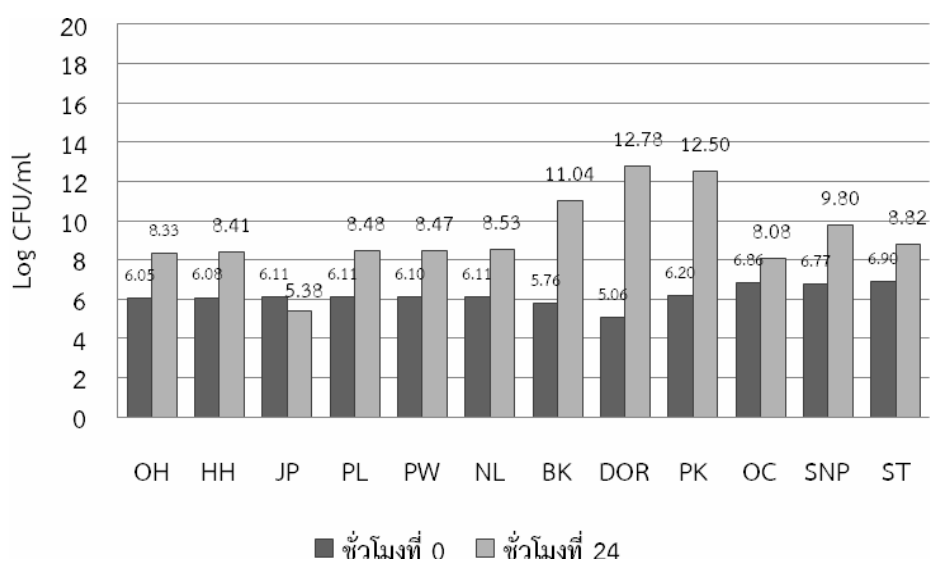
Typhimurium ซึ่งก็มีรายงานว่าสามารถใช้ประโยชน์จากกลูโคส ฟรุคโตส รวมทั้งซูโครสได้ (Cohen and Roth, 1953; Ferenci and Kornberg, 1973; Schmid et al., 1982; Geerse et al., 1989) เนื่องจากมีเอ็นที่เกี่ยวกับการสังเคราะห์เอนไซม์ในกระบวนการเมแทบอลิซึมน้ำตาลเหล่านี้ ในขณะที่ยังไม่พบรายงานที่ระบุว่าทั้ง *E. coli* และ *Salmonella* spp. สามารถเมแทบอลิซึมน้ำตาลกลุ่ม FOS ได้ ดังเช่นรายงานของ Oyarzabal และ Conner (1995) ที่ศึกษาใน *Salmonella* spp. จำนวน 6 serotype (*Sal. California*, *Sal. enteritidis*, *Sal. Heidelberg*, *Sal. Mission*, *Sal. Senftenberg* และ *Sal. Typhimurium*) เกี่ยวกับการใช้น้ำตาล FOS ซึ่งก็พบว่าไม่สายพันธุ์ใดเลยที่สามารถใช้น้ำตาล FOS ได้

ความสามารถในการใช้น้ำตาล FOS ของแบคทีเรียดังนั้น จะต้องอาศัยระบบการขนส่งน้ำตาลร่วมกับเอนไซม์เฉพาะในการเมแทบอลิซึมน้ำตาล FOS ซึ่งขึ้นอยู่กับเอ็นของแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ ส่งผลให้ความสามารถในการเจริญในน้ำตาลแต่ละชนิดของเชื้อแต่ละสายพันธุ์มีความแตกต่างกัน (Kaplan and Hutkins, 2003; Goh et al., 2007; Saulnier et al., 2007 อ้างโดย Saminathan et al., 2011) เอนไซม์ที่เกี่ยวกับการเมแทบอลิซึมน้ำตาล FOS มีหลายชนิด ได้แก่ Fructosidase (EC 3.2.1.26), inulinase (EC 3.2.1.7), levanase (EC 3.2.1.65), Fructofuranosidase (EC 3.2.1.26), Fructanase (EC 3.2.1.80) และ Levan biohydrolase (EC 3.2.1.64) (Barrangou et al., 2003) กรณีนของ *L. acidophilus* พบว่าการเมแทบอลิซึมของน้ำตาล FOS ถูกควบคุมโดยชุดของยีน *msm* locus ซึ่งประกอบไปด้วย *LacI* family, ATP-binding cassette (ABC) transport system, *bfrA* (ยีนสังเคราะห์ Fructosidase) และ *gtfA* (ยีนสังเคราะห์ Sucrose phosphorylase) และยังพบว่าน้ำตาลซูโครสและ FOS เป็นตัวกระตุ้นการทำงานของชุดยีน ส่วนน้ำตาลกลูโคสเป็นตัวยับยั้งชุดยีนนี้ (Barrangou et al., 2003)



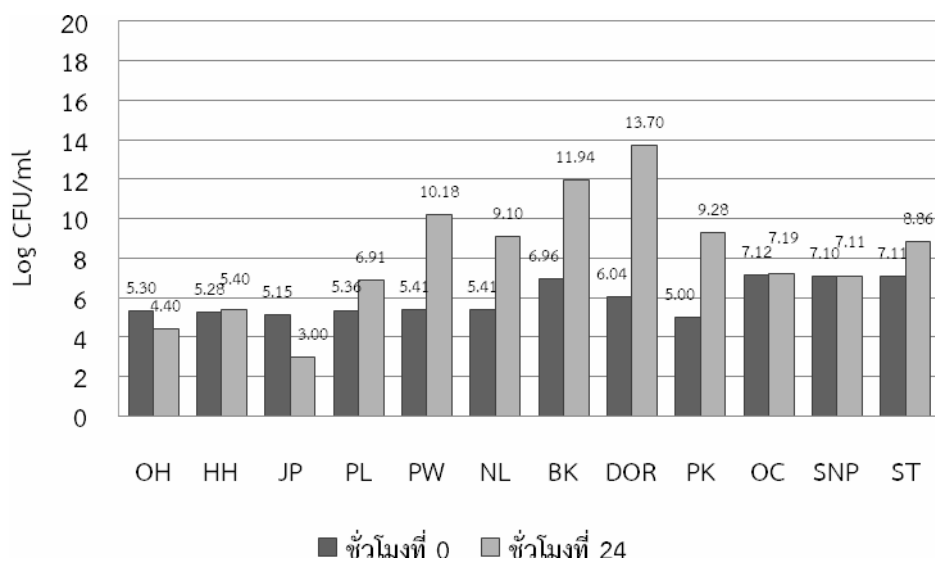
ภาพที่ 9 การเจริญของเชื้อ *L. lactis* เมื่อเลี้ยงในน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ

หมายเหตุ: OH = โอเอียะ, HH = ฮงฮาย, JP = จักรพรรดิ, PL = กล้วย, PW = ปัตตาเวีย, NL = นางแล, BK = เปี้ยวเขียว, DOR = ดอ, PK = ชมพู, OC = โอเอียน, SNP = สายน้ำผึ้ง, ST = สีสทอง



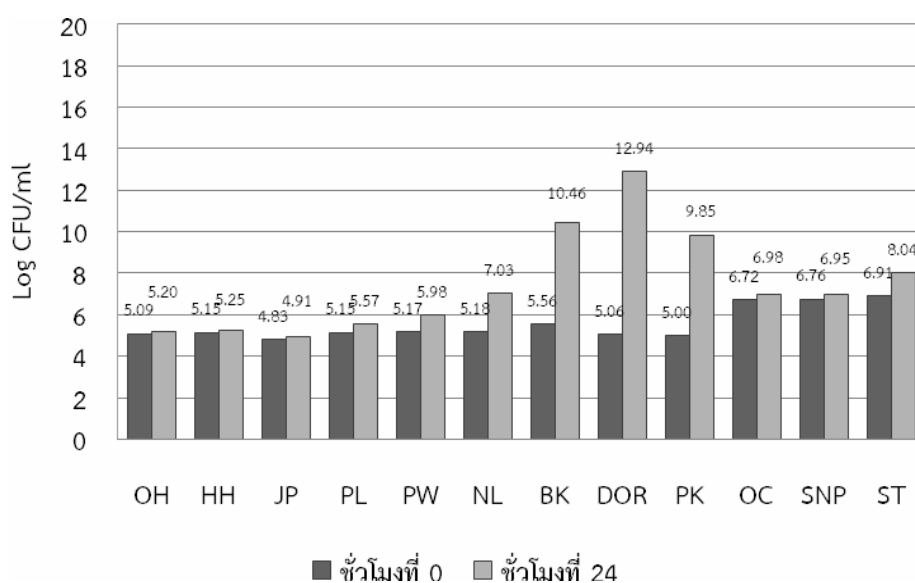
ภาพที่ 10 การเจริญของเชื้อ *L. plantarum* เมื่อเลี้ยงในน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ

หมายเหตุ: OH = โอเอียะ, HH = ฮงฮาย, JP = จักรพรรดิ, PL = กล้วย, PW = ปัตตาเวีย, NL = นางแล, BK = เปี้ยวเขียว, DOR = ดอ, PK = ชมพู, OC = โอเอียน, SNP = สายน้ำผึ้ง, ST = สีสทอง



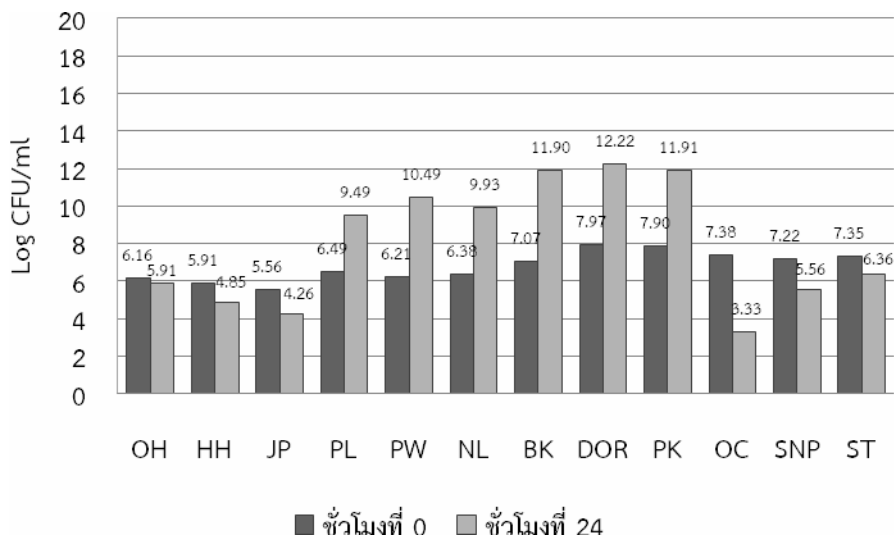
ภาพที่ 11 การเจริญของเชื้อ *L. acidophilus* เมื่อเลี้ยงในน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ

หมายเหตุ: OH = โอเฮียะ, HH = ฮงฮาย, JP = จักรพรรดิ, PL = ภูแล, PW = ปัตตาเวีย, NL = นางแล, BK = เปี้ยวเขียว, DOR = ดอ, PK = ชมพู, OC = โอเซียน, SNP = สายน้ำผึ้ง, ST = สีสทอง



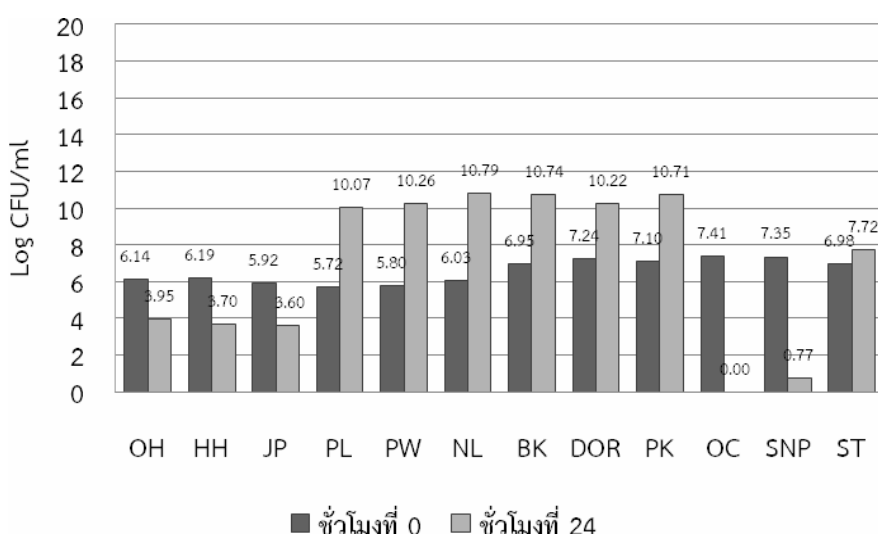
ภาพที่ 12 การเจริญของเชื้อ *L. bulgaricus* เมื่อเลี้ยงในน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ

หมายเหตุ: OH = โอเฮียะ, HH = ฮงฮาย, JP = จักรพรรดิ, PL = ภูแล, PW = ปัตตาเวีย, NL = นางแล, BK = เปี้ยวเขียว, DOR = ดอ, PK = ชมพู, OC = โอเซียน, SNP = สายน้ำผึ้ง, ST = สีสทอง



ภาพที่ 13 การเจริญของเชื้อ *E. coli* เมื่อเลี้ยงในน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ

หมายเหตุ: OH = โอเอียะ, HH = ฮงฮวย, JP = จักรพรรดิ, PL = กล้วย, PW = ปัตตาเวีย, NL = นางแล, BK = เปี้ยวเขียว, DOR = ดอ, PK = ชมพู, OC = โอเอียน, SNP = สายน้ำผึ้ง, ST = สีสทอง



ภาพที่ 14 การเจริญของเชื้อ *Sal. Typhimurium* เมื่อเลี้ยงในน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ

หมายเหตุ: OH = โอเอียะ, HH = ฮงฮวย, JP = จักรพรรดิ, PL = กล้วย, PW = ปัตตาเวีย, NL = นางแล, BK = เปี้ยวเขียว, DOR = ดอ, PK = ชมพู, OC = โอเอียน, SNP = สายน้ำผึ้ง, ST = สีสทอง

ตารางที่ 14 แสดงค่า pH ของน้ำผลไม้ก่อนและหลังการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

น้ำผลไม้	pH เริ่มต้น	pH สุดท้าย หลังการเลี้ยงเชื้อ 24 ชั่วโมง					
		L.	L.	L.	L.	<i>E. coli</i>	<i>Sal.</i>
		<i>lactis</i>	<i>plantarum</i>	<i>acidophilus</i>	<i>bulgaricus</i>		<i>Typhimurium</i>
โอเอียะ	4.80	3.91	3.95	4.47	4.45	4.31	4.34
ฮงฮวย	4.13	3.80	3.90	4.00	3.93	3.85	3.88
จักรพรรดิ	3.70	3.67	3.53	3.61	3.55	3.50	3.50
ภูแล	4.64	3.70	3.49	4.46	4.41	4.36	4.26
ปัตตาเวีย	4.62	3.71	3.50	3.75	4.39	4.34	4.32
นางแล	4.77	3.59	3.41	3.63	4.29	4.37	4.43
เปี้ยวเขียว	6.41	3.80	3.75	3.71	3.83	4.73	4.85
ดอ	7.34	3.84	3.90	3.81	3.95	4.72	4.80
ชมพู	6.16	4.15	4.50	4.25	4.30	4.88	4.97
โอเชียน	3.70	3.38	3.52	3.59	3.72	3.69	3.68
สายน้ำผึ้ง	3.72	3.40	3.43	3.53	3.67	3.72	3.69
สีทอง	4.17	3.51	3.56	3.62	3.75	4.16	4.16

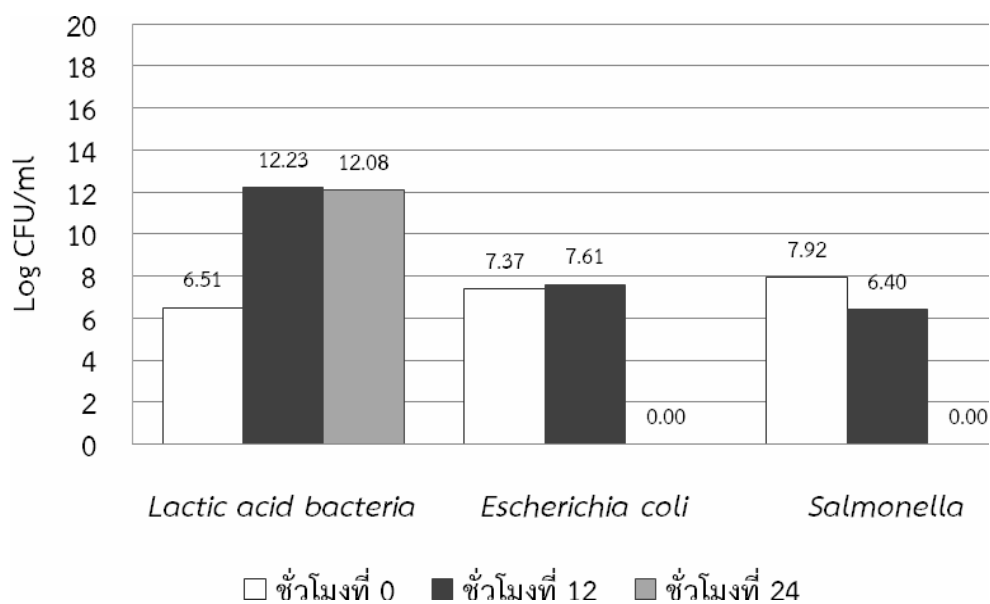
3.2 การเพาะเลี้ยงเชื้อผสม (Mixed culture)

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงจำนวนประชากรของเชื้อแต่ละกลุ่มทั้งโปรไบโอติก แบคทีเรียเจ้าบ้าน และแบคทีเรียก่อโรค เมื่อเลี้ยงร่วมกันในน้ำผลไม้แต่ละชนิดแสดงในภาพที่ 15-26 และค่า pH ที่เปลี่ยนแปลงไปหลังการเพาะเลี้ยงเชื้อแสดงในตารางที่ 15 การทดลองให้ผลไปในทิศทางเดียวกันในน้ำผลไม้ทั้ง 12 ชนิด คือการเจริญของเชื้อ *Sal. Typhimurium* ถูกยับยั้งจนไม่สามารถถูกตรวจวัดได้ในชั่วโมงที่ 24 ของการเพาะเลี้ยง แม้ไม่ได้เจือจางตัวอย่างในการนับเชื้อก็ตาม ยกเว้น *Sal. Typhimurium* ที่เลี้ยงในน้ำลำไยพันธุ์ชมพู ที่ยังสามารถตรวจพบได้บ้างเล็กน้อย สิ่งที่น่าสนใจอีกประการคือการเพาะเลี้ยงเชื้อผสมในน้ำส้มเขียวหวานทั้งสามสายพันธุ์ไม่สามารถตรวจพบ *Sal. Typhimurium* ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 ของการเพาะเลี้ยง ส่วน *E. coli* ที่เลี้ยงร่วมกันในน้ำลำไย สับปะรด และลำไย ก็พบว่าช่วง 12 ชั่วโมงแรกนั้นจะเพิ่มการเจริญเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่หลังจากนั้นชั่วโมงที่ 24 ก็ไม่สามารถตรวจพบได้อีกเลย ยกเว้นการเพาะเลี้ยงในน้ำส้มเขียวหวานที่พบว่า การเจริญจะลดลงอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งไม่สามารถตรวจพบได้เลยในชั่วโมงที่ 24 สอดคล้องกับผลการทดลองจากการเพาะเลี้ยงเชื้อเดี่ยว ในขณะที่เชื้อแบคทีเรียแลคติกยังคงสามารถเจริญเติบโตได้ เมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำผลไม้ทุกชนิด แต่เจริญได้น้อยกว่าเมื่อเลี้ยงในน้ำส้มเขียวหวานเช่นเดียวกับที่พบจากผลการทดลองเลี้ยงเชื้อเดี่ยว ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเชื้อโปรไบโอติกทั้งสี่สายพันธุ์สามารถเจริญได้ดีกว่าเชื้อ *E. coli* และ *Sal. Typhimurium* และมีกลไกในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้งสอง โดยกลไกการยับยั้งอาจไม่ได้มาจากกรดที่โปรไบโอติกสร้างขึ้นอย่างเดียวนั้น เพราะจากผลการทดลองการเพาะเลี้ยงเชื้อเดี่ยวที่ผ่านมา พบว่าทั้ง *E. coli* และ *Sal. Typhimurium* ยังคงเจริญได้แม้ pH จะลดต่ำลง โดยกลไกอื่นๆ ที่เป็นไปได้นั้น ยกตัวอย่างเช่น Hydrogenperoxide และการผลิตสารกลุ่มแบคทีริโอซินโดยเชื้อ *Lactobacillus* spp. เช่น Lactacin B, Lactacin F และ Acidocin CH5 จากเชื้อ *L. acidophilus*, Nisin จากเชื้อ *L. lactis* และ Lactocin S จาก *L. sake* เป็นต้น (Barefoot

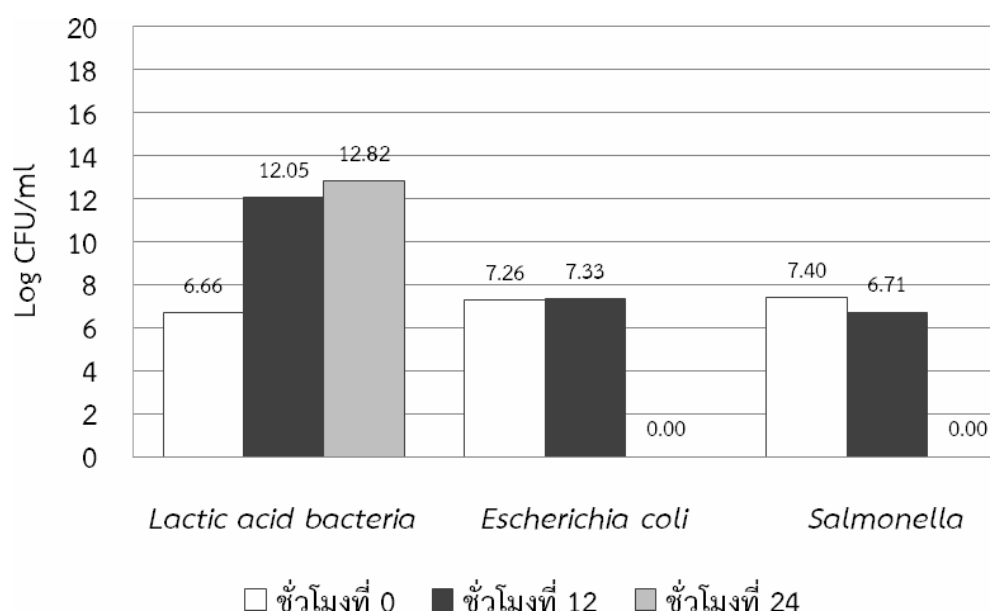
and Klaenhammer, 1983, Parada et al., 2007) รวมไปถึงสารยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคที่พบในน้ำส้มเขียวหวานดังที่ได้เคยกล่าวไว้แล้วก็เป็นไป อย่างไรก็ตามผลการทดลองนี้ก็แสดงให้เห็นแล้วว่า หากบริโภคน้ำผลไม้เหล่านี้แล้ว แม้เชื้อก่อโรคบางสายพันธุ์จะสามารถเจริญได้ในน้ำผลไม้ได้ แต่ในที่สุดแบคทีเรียโปรไบโอติกก็ยังสามารถเจริญและควบคุมการเจริญของเชื้อก่อโรคได้

ตารางที่ 15 แสดงค่า pH ของน้ำผลไม้ก่อนและหลังการเพาะเลี้ยงเชื้อผสม

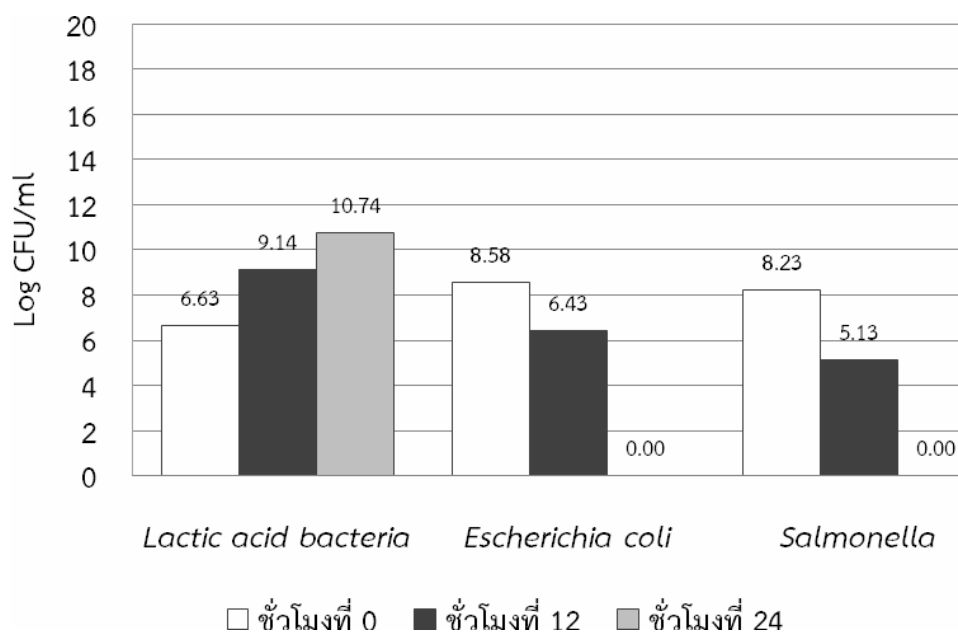
ค่า pH	น้ำลิ้นจี่			น้ำสับปะรด			ลำไย			ส้มเขียวหวาน		
	โอว เฮียะ	ฮง ฮวย	จักร พรดิ	ภูแล	ปัตตา เวีย	นางแล	เปี้ยว เขียว	ดอ	ชมพู	โอ เขียน	สาย น้ำผึ้ง	สีทอง
เริ่มต้น	4.80	4.13	3.70	4.64	4.62	4.77	6.41	7.34	6.16	3.67	3.68	4.16
สุดท้าย	3.72	3.78	3.54	3.48	3.60	3.44	3.98	3.89	4.00	3.62	3.56	3.69



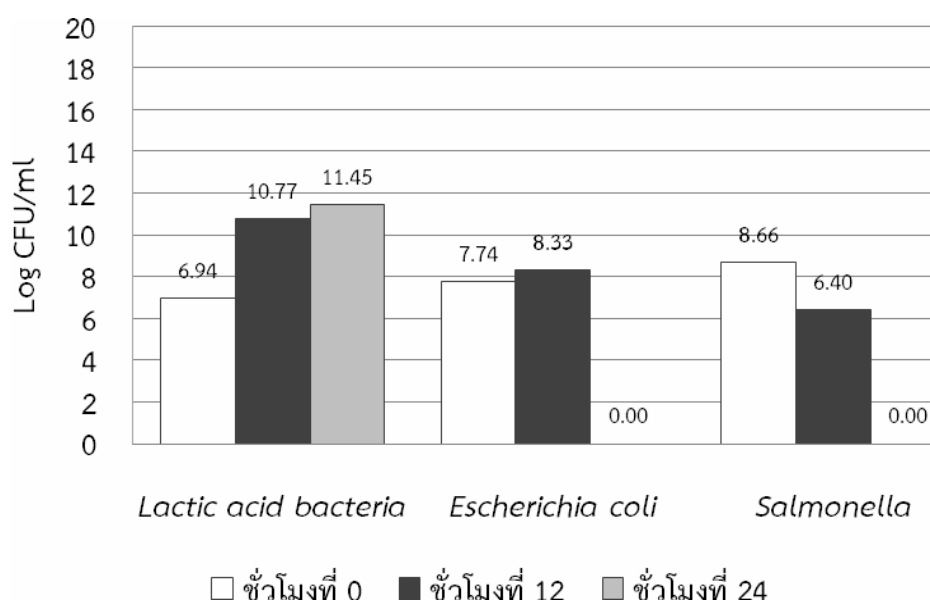
ภาพที่ 15 การเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรเชื้อทดสอบแต่ละกลุ่มเมื่อเลี้ยงร่วมกันในน้ำล้นจี่พันธุ์ โอเฮียะ



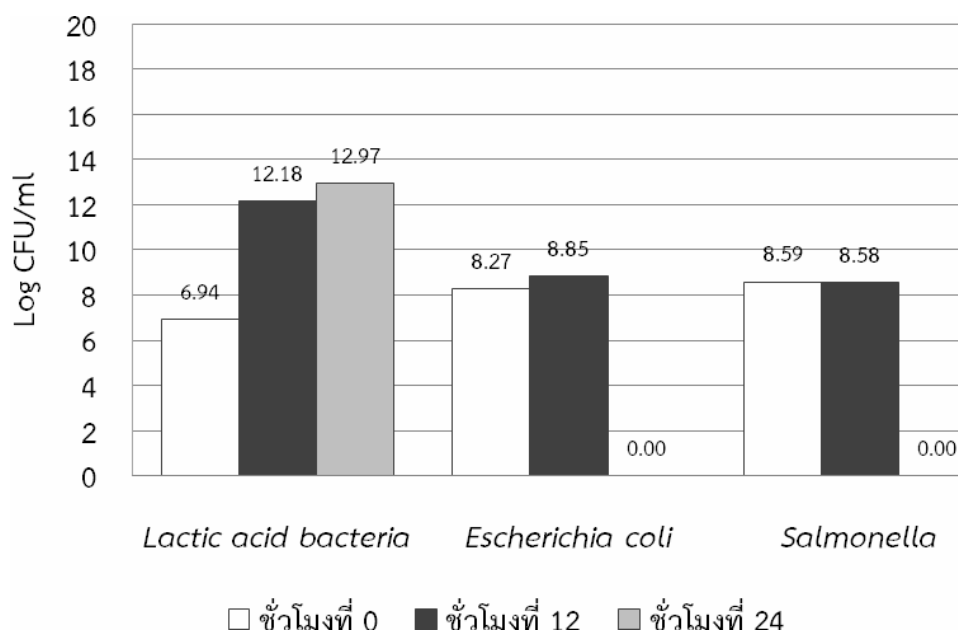
ภาพที่ 16 การเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรเชื้อทดสอบแต่ละกลุ่มเมื่อเลี้ยงร่วมกันในน้ำล้นจี่พันธุ์ องฮวย



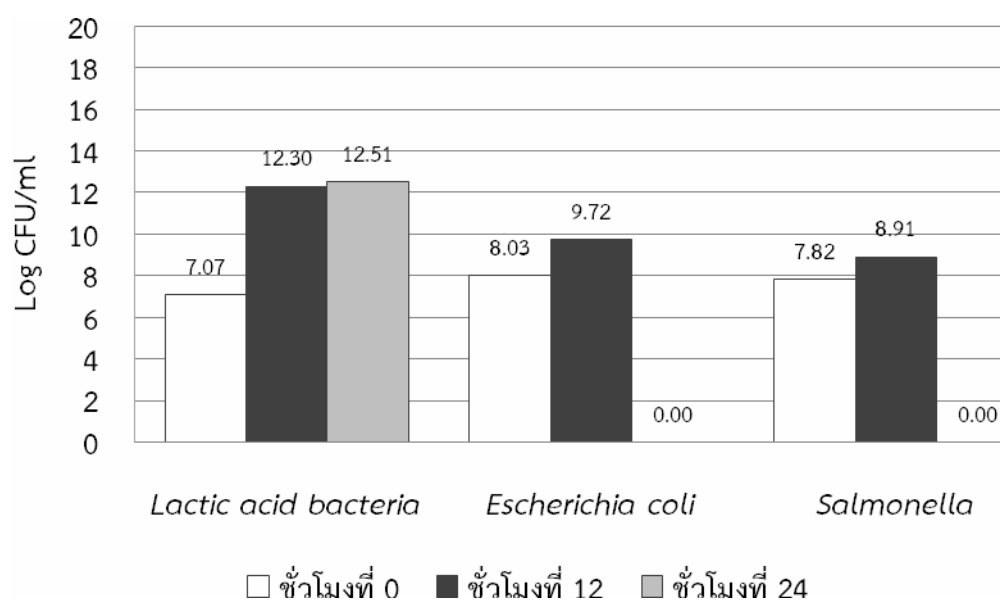
ภาพที่ 17 การเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรเชื้อทดสอบแต่ละกลุ่มเมื่อเลี้ยงร่วมกันในน้ำล้นจี่พันธุ์จักรพรรดิ



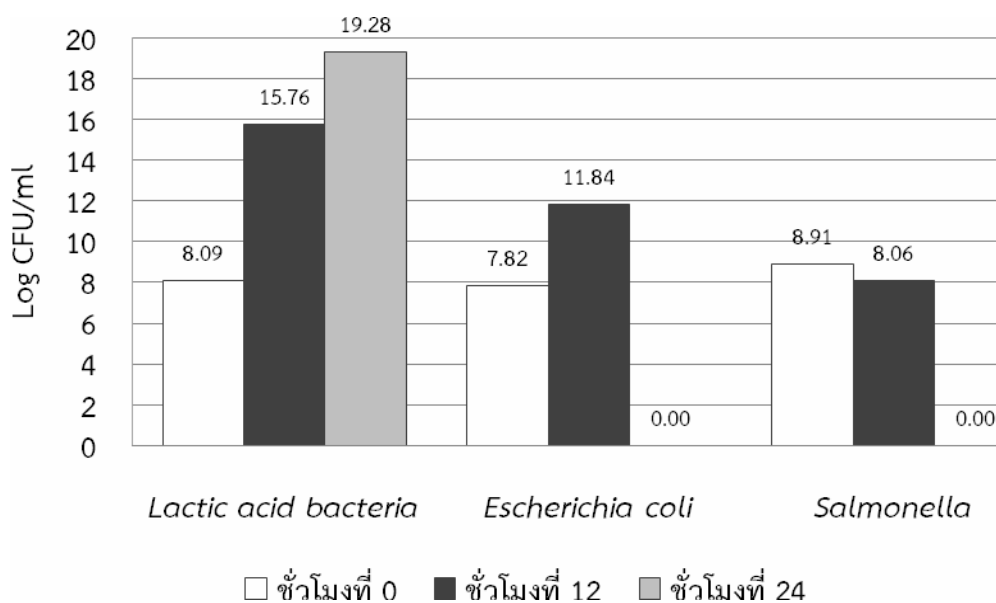
ภาพที่ 18 การเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรเชื้อทดสอบแต่ละกลุ่มเมื่อเลี้ยงร่วมกันในน้ำสับปะรดพันธุ์ภูแล



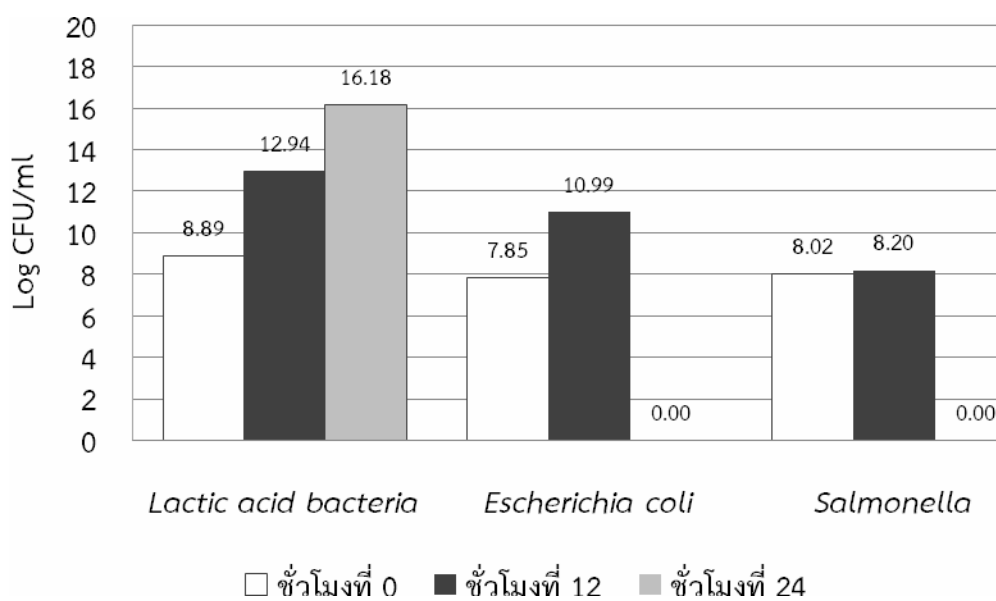
ภาพที่ 19 การเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรเชื้อทดสอบแต่ละกลุ่มเมื่อเลี้ยงร่วมกันในน้ำ สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย



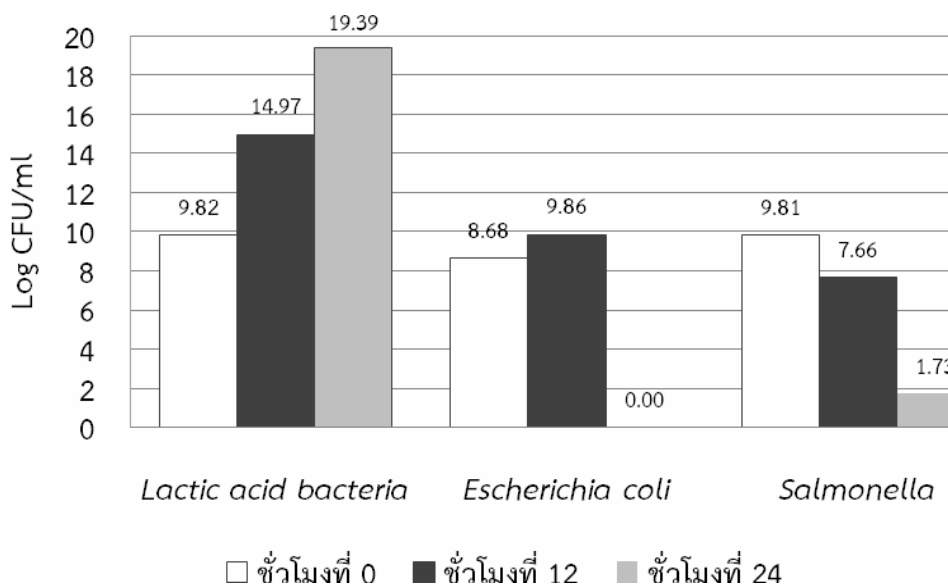
ภาพที่ 20 การเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรเชื้อทดสอบแต่ละกลุ่มเมื่อเลี้ยงร่วมกันในน้ำ สับปะรดพันธุ์นางแล



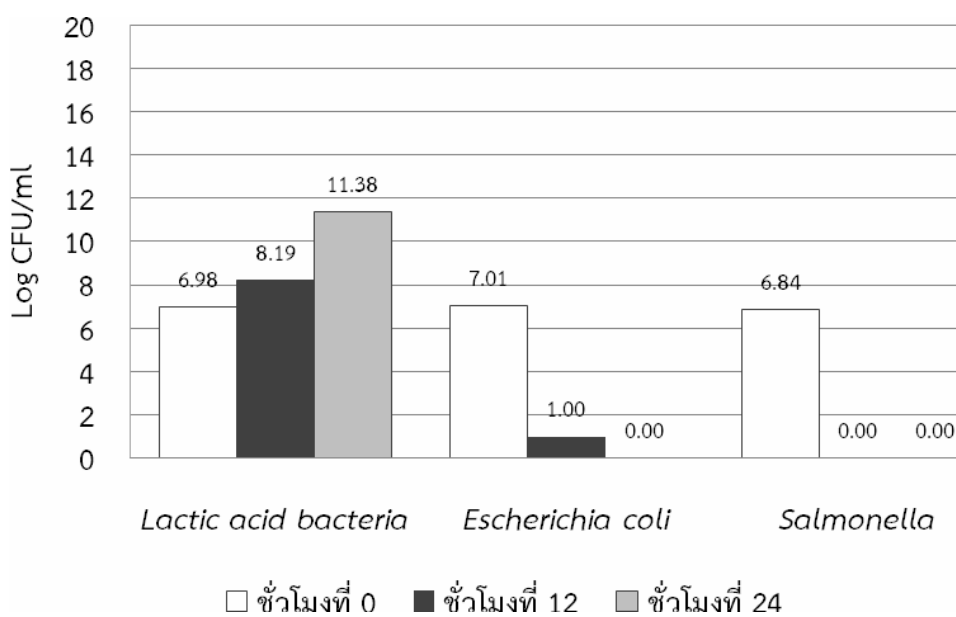
ภาพที่ 21 การเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรเชื้อทดสอบแต่ละกลุ่มเมื่อเลี้ยงร่วมกันในน้ำลำไยพันธุ์ เปี้ยวเขียว



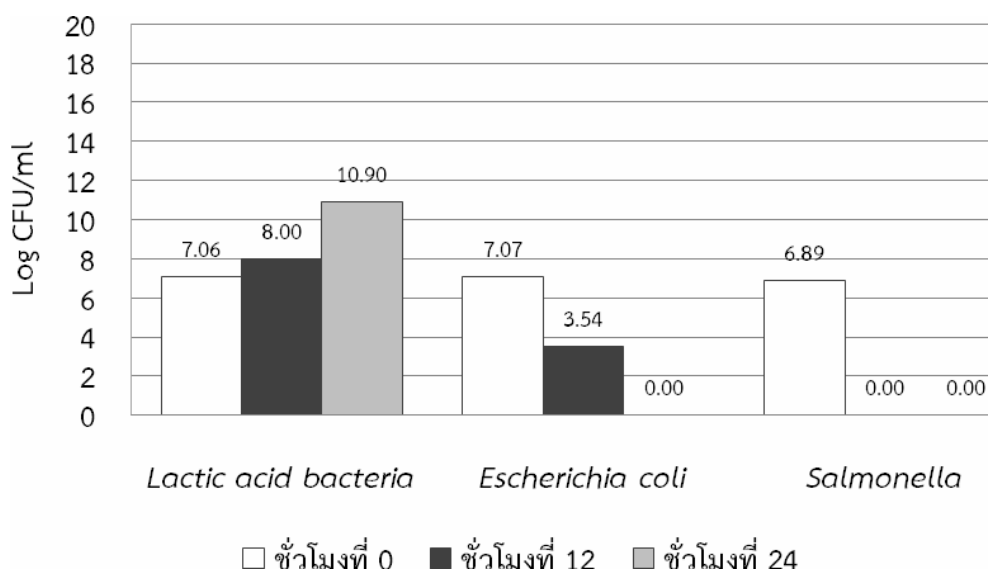
ภาพที่ 22 การเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรเชื้อทดสอบแต่ละกลุ่มเมื่อเลี้ยงร่วมกันในน้ำลำไยพันธุ์ ดอ



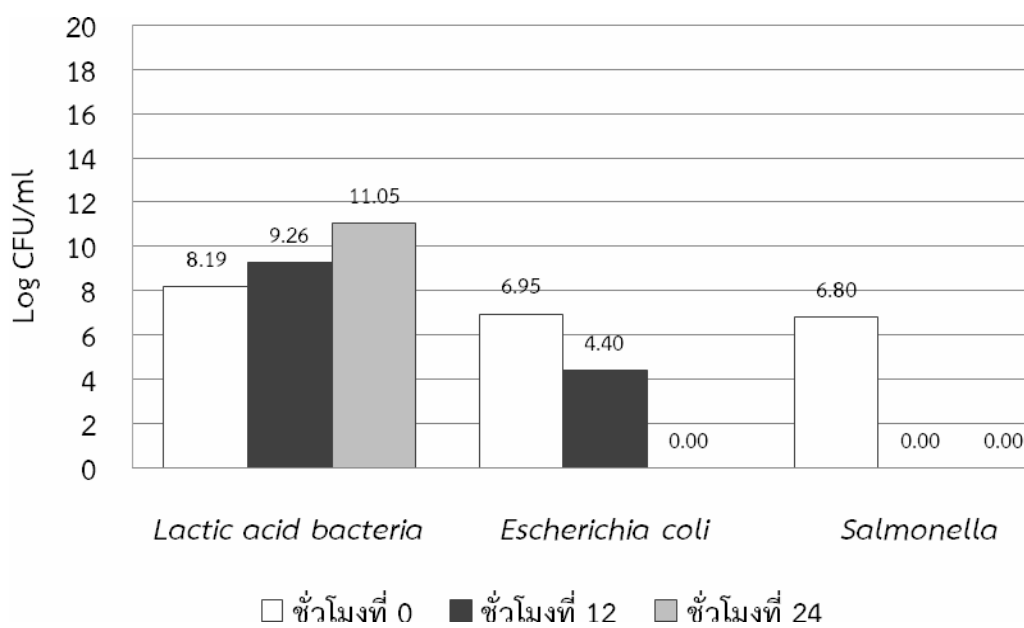
ภาพที่ 23 การเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรเชื้อทดสอบแต่ละกลุ่มเมื่อเลี้ยงร่วมกันในน้ำลำไยพันธุ์ ชมพู



ภาพที่ 24 การเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรเชื้อทดสอบแต่ละกลุ่มเมื่อเลี้ยงร่วมกันในน้ำส้มเขียวหวานพันธุ์โอเชียน



ภาพที่ 25 การเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรเชื้อทดสอบแต่ละกลุ่มเมื่อเลี้ยงร่วมกันในน้ำส้มเขียวหวานพันธุ์สายน้ำผึ้ง



ภาพที่ 26 การเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรเชื้อทดสอบแต่ละกลุ่มเมื่อเลี้ยงร่วมกันในน้ำส้มเขียวหวานพันธุ์สีทอง

3.3 การเพาะเลี้ยงโดยใช้เชื้อผสมจากทางเดินอาหาร (Fecal slurry study)

แม้จะทราบว่าโปรไบโอติกสามารถควบคุมการเจริญของเชื้อก่อโรคได้เมื่อเพาะเลี้ยงร่วมกันในน้ำผลไม้ที่นำมาศึกษานี้ (ข้อ 3.2) แต่ในความเป็นจริง จุลินทรีย์ในทางเดินอาหารของมนุษย์รวมทั้งสัตว์นั้นมีความหลากหลายเป็นอย่างมาก จำนวนเชื้อแต่ละชนิดก็ไม่เท่ากัน ดังนั้นจึงได้ทำการทดสอบการเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรจุลินทรีย์ที่พบในทางเดินอาหารจริงเมื่อนำมาเลี้ยงร่วมกันในน้ำผลไม้ โดยทำการติดตามการเปลี่ยนแปลงประชากรของจุลินทรีย์ 3 กลุ่ม ได้แก่ แบคทีเรียกรดแลกติกเชื้อ *E. coli* และ *Salmonella-Shigella* spp. ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 16 ซึ่งจะเห็นได้ว่าเมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำลิ้นจี่ สับปะรดและลำไยแล้ว จำนวนเชื้อกลุ่มแบคทีเรียแลกติกได้เพิ่มขึ้นเป็นอย่างมากหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 และลดลงเล็กน้อยเมื่อทำเพาะเลี้ยงต่อไปจนครบ 24 ชั่วโมง ยกเว้นการเพาะเลี้ยงในสับปะรดทุผลและนางแลที่ลดลงเหลือน้อยกว่าเชื้อเริ่มต้นแต่ไม่มาก แต่ในกรณีที่เพาะเลี้ยงในน้ำส้มเขียวหวานสายพันธุ์โอเชียน กลับพบว่าเชื้อกลุ่มนี้ลดลงอย่างต่อเนื่องและมีความสำคัญ ($p < 0.05$) และในสายพันธุ์สายน้ำผึ้งลดลงแต่ไม่มีความสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยแบคทีเรียแลกติกนี้ไม่ได้จำแนกว่าเป็นสายพันธุ์ใด

เมื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของเชื้อ *E. coli* ก็พบว่าในน้ำส้มเขียวหวาน เชื้อดังกล่าวไม่ได้เพิ่มจำนวนขึ้น แต่กลับลดจำนวนลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในกรณีของสายพันธุ์สายน้ำผึ้งและสีทอง ส่วนในลิ้นจี่ สับปะรดและลำไยนั้น จำนวนเชื้อดังกล่าวเพิ่มขึ้นในช่วงเวลาที่ 12 จากนั้นก็จะลดจำนวนลงในช่วงเวลาที่ 24 ของการเพาะเลี้ยง โดยต่ำกว่าช่วงเวลาที่ 0 สอดคล้องกับผลการศึกษาเชื้อผสมในหัวข้อ 3.2 ยกเว้น ผลการเพาะเลี้ยงในน้ำลิ้นจี่พันธุ์จักรพรรดิที่พบว่าจำนวนเชื้อ *E. coli* ลดจำนวนลงอย่างต่อเนื่องและลำไยพันธุ์เขียวที่ยังพบการเจริญของ *E. coli* เพิ่มขึ้นเล็กน้อย และสุดท้ายในส่วนของการเพาะเลี้ยงในน้ำส้มเขียวหวานสายพันธุ์โอเชียน พบว่าไม่สามารถอธิบายได้ว่าการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นอย่างไร เนื่องจากอุจจาระจากทารกที่นำมาศึกษารั้งนี้ ตรวจไม่พบว่ามีเชื้อกลุ่มดังกล่าวอาศัยอยู่ ด้วยวิธีการศึกษาแบบเดียวกันนี้ Wang และ Gibson (1993) ซึ่งศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเชื้อกลุ่มต่างๆ ใน fecal slurry ที่เสริมด้วยน้ำตาล FOS และอินูลิน ก็ได้รายงานว่าจำนวนของเชื้อกลุ่ม Bifidobacteria และ Lactobacilli ได้เพิ่มจำนวนขึ้น ในขณะที่จำนวน *Clostridium* spp. และ *E. coli* ไม่เปลี่ยนแปลง

อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองนี้ก็แสดงให้เห็นแล้วว่า หากเราบริโภคลิ้นจี่ หรือสับปะรดลงไปแล้ว จะสามารถช่วยกระตุ้นการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแลกติก ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นเชื้อโปรไบโอติก และควบคุมการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ หรือแม้กระทั่งเชื้อก่อโรคกลุ่มอื่นๆ ที่ยังไม่ได้สามารถศึกษาในการวิจัยครั้งนี้ แต่ในความเป็นจริงแล้วยังมีปัจจัยอื่นๆ อีกมากมายที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อแต่ละกลุ่ม เนื่องจากน้ำตาลในผลไม้ส่วนใหญ่ ได้แก่ กลูโคส ฟรุคโตส และซูโครสนั้น มนุษย์ก็สามารถดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้เช่นกัน ทำให้หลงเหลือน้ำตาลไปยังจุลินทรีย์ในลำไส้เพียงบางส่วนเท่านั้น และน้ำตาลที่คาดว่าจะหลงเหลือไปลำไส้คือน้ำตาลกลุ่ม FOS ซึ่งถ้าเป็นไปตามข้อสมมุติฐานนี้จริง ก็คาดว่าจะการเจริญของเชื้อก่อโรคและเชื้อเจ้าบ้านก็น่าจะน้อยลงกว่านี้ และการทำงานควบคุมเชื้อเหล่านี้โดยเชื้อโปรไบโอติกก็จะมีประสิทธิภาพมากขึ้น

ตารางที่ 16 แสดงการเปลี่ยนแปลงจำนวนประชากรจุลินทรีย์จากทางเดินอาหารมนุษย์เมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำผลไม้

น้ำผลไม้	จำนวนเชื้อ (log[cfu/g feces])		
	0 hr	12 hr	24 hr
Lactic acid bacteria			
โอเฮียะ	7.31±0.04 ^c	9.28±0.01 ^a	9.11±0.07 ^b
ฮงฮวย	7.74±0.02 ^b	9.82±0.11 ^a	9.58±0.09 ^a
จักรพรรดิ	7.28±0.07 ^a	8.12±0.03 ^a	8.11±0.16 ^a
กุแล	7.52±0.06 ^b	8.86±0.00 ^a	7.45±0.02 ^b
ปัตตาเวีย	7.62±0.08 ^c	8.80±0.02 ^a	8.17±0.00 ^b
นางแล	7.76±0.02 ^a	-	7.61±0.05 ^b
เปี้ยวเขียว	7.75±0.07 ^c	9.70±0.03 ^a	9.39±0.02 ^b
ดอ	7.78±0.01 ^c	10.16±0.01 ^a	9.89±0.04 ^b
ชมพู	7.55±0.03 ^c	9.70±0.06 ^b	9.94±0.05 ^a
โอเชียน	7.93±0.11 ^a	7.64±0.03 ^b	7.37±0.01 ^c
สายน้าผึ้ง	8.03±0.01 ^a	7.88±0.14 ^a	7.92±0.04 ^a
สีทอง	7.02±0.06 ^b	7.94±0.06 ^a	7.85±0.27 ^a
<i>E. coli</i>			
โอเฮียะ	7.96±0.02 ^a	8.05±0.09 ^a	7.19±0.04 ^b
ฮงฮวย	ND*	7.51±0.09 ^b	7.72±0.06 ^a
จักรพรรดิ	7.98±0.06 ^a	6.85±0.09 ^a	6.86±0.10 ^a
กุแล	7.34±0.14 ^a	7.44±0.04 ^a	6.08±0.12 ^b
ปัตตาเวีย	5.27±0.04 ^b	7.67±0.16 ^a	5.30±0.00 ^b
นางแล	7.35±0.10 ^b	7.66±0.00 ^a	7.54±0.05 ^{ab}
เปี้ยวเขียว	ND	5.81±0.00 ^b	6.18±0.03 ^a
ดอ	ND	7.23±0.08 ^a	6.16±0.04 ^b
ชมพู	ND	6.95±0.00 ^a	6.15±0.04 ^b
โอเชียน	5.67±0.02 ^a	5.40±0.24 ^a	5.82±0.03 ^a
สายน้าผึ้ง	5.80±0.01 ^a	5.78±0.03 ^a	5.10±0.25 ^b
สีทอง	5.83±0.01 ^a	5.77±0.01 ^b	5.30±0.01 ^c

หมายเหตุ: *ND = not detected (ไม่สามารถตรวจพบได้)

ตัวอักษรท้ายค่าตัวเลขหมายถึงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ โดยเป็นการเปรียบเทียบจำนวนเชื้อของแต่ละเวลาการบ่มเชื้อของน้ำผลไม้แต่ละชนิด

ตารางที่ 16 แสดงการเปลี่ยนแปลงจำนวนประชากรจุลินทรีย์จากทางเดินอาหารมนุษย์เมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำผลไม้ (ต่อ)

น้ำผลไม้	จำนวนเชื้อ (log[cfu/g feces])		
	0 hr	12 hr	24 hr
<i>Salmonella-Shigella</i>			
โอเฮียะ	ND	ND	ND
ฮงฮวย	ND	ND	ND
จักรพรรดิ	ND	ND	ND
กุแล	ND	ND	ND
ปัดดาเวีย	ND	ND	ND
นางแล	ND	ND	ND
เปี้ยวเขียว	ND	ND	ND
ดอ	ND	ND	ND
ชมพู	ND	ND	ND
โอเชียน	ND	ND	ND
สายน้าผึ้ง	ND	ND	ND
สีทอง	ND	ND	ND
Total plate count (aerobic)			
โอเฮียะ	8.44±0.08 ^c	10.49±0.01 ^a	9.28±0.15 ^b
ฮงฮวย	8.66±0.06 ^c	10.76±0.06 ^a	9.15±0.21 ^b
จักรพรรดิ	8.55±0.15 ^b	9.65±0.10 ^a	8.19±0.28 ^b
กุแล	8.17±0.06 ^b	8.81±0.03 ^a	8.77±0.04 ^a
ปัดดาเวีย	7.40±0.05 ^b	8.66±0.11 ^a	8.65±0.00 ^a
นางแล	8.28±0.06 ^b	8.76±0.13 ^a	8.79±0.11 ^a
เปี้ยวเขียว	7.28±0.04 ^c	9.73±0.13 ^a	9.29±0.03 ^b
ดอ	8.16±0.02 ^c	10.98±0.02 ^a	10.69±0.07 ^b
ชมพู	7.39±0.16 ^c	9.62±0.00 ^b	10.07±0.01 ^a
โอเชียน	6.97±0.04 ^c	7.24±0.10 ^b	7.46±0.02 ^a
สายน้าผึ้ง	7.66±0.05 ^b	7.92±0.03 ^a	7.72±0.09 ^b
สีทอง	7.65±0.06 ^a	7.85±0.06 ^a	7.67±0.10 ^a

หมายเหตุ: *ND = not detected (ไม่สามารถตรวจพบได้)

ตัวอักษรท้ายค่าตัวเลขหมายถึงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยเป็นการเปรียบเทียบจำนวนเชื้อของแต่ละเวลาการบ่มเชื้อของน้ำผลไม้แต่ละชนิด

การวิจัยครั้งนี้ มีจุดมุ่งหมายทั้งสิ้น 2 ประเด็นใหญ่ โดยประเด็นแรกคือเป็นการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลุ่ม FOS ในผลไม้ทั้ง 4 ชนิด (12 สายพันธุ์) ซึ่งเป็นผลไม้เศรษฐกิจในเขตภาคเหนือของไทย หากเมื่อพบว่าน้ำตาลเหล่านี้เป็นองค์ประกอบอยู่แล้วก็จะได้มีการเผยแพร่ข้อมูลเพื่อส่งเสริมการบริโภคต่อไป และอีกประเด็นคือผลไม้เหล่านี้สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อโปรไบโอติกในร่างกายผู้บริโภคได้หรือไม่ ซึ่งผลการวิจัยโดยรวมก็พบว่า มีเพียงลิ้นจี่เท่านั้นที่ตรวจไม่พบน้ำตาล FOS แต่พบน้ำตาลเหล่านี้ในสับปะรด ลำไย และส้ม และผลการทดลองยังพบอีกว่าน้ำตาลหลายชนิดสามารถกระตุ้นการเจริญของเชื้อโปรไบโอติกบางสายพันธุ์ที่นำมาทดสอบและกลุ่มแบคทีเรียแลคติกโดยรวมในทางเดินอาหารได้ ซึ่งก็คาดว่าจะรวมไปถึงเชื้อโปรไบโอติกด้วย แต่การเจริญดังกล่าวคาดว่าจะจะเป็นผลมาจากน้ำตาลชนิดอื่นๆ ร่วมด้วย ดังที่ได้กล่าวถึงไว้แล้วก่อนหน้านี้

แต่คำถามที่ตามมาอีกประการคือ น้ำตาล FOS ที่มีอยู่นั้นมีปริมาณเพียงพอที่จะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพผู้บริโภคได้หรือไม่ ประเด็นนี้ ผู้วิจัยวิเคราะห์ว่าผลไม้เหล่านี้ยังมีน้ำตาล FOS ในปริมาณที่น้อยเกินกว่าระดับที่จะก่อให้เกิดผลดีต่อสมดุลจุลินทรีย์ในลำไส้ หรือที่เรียกกันว่า “Bifidogenic effect” จากผลการวิเคราะห์น้ำตาลครั้งนี้ หากประมาณการว่ามีน้ำตาล FOS ในปริมาณ 1.5 กรัม/กก.เนื้อผลไม้ และโดยเฉลี่ยคนเรารับประทานผลไม้เหล่านี้วันละ 300 กรัม (เนื้อผลไม้) ดังนั้นร่างกายจะได้รับน้ำตาล FOS วันละเพียง 0.45 กรัม ซึ่งยังต่ำกว่าระดับที่มีการศึกษาไว้จากนักวิจัยอื่นๆ เช่น จากการศึกษาของ Bouhnik et al. (1998) ที่พบว่าหากให้อาสาสมัครบริโภคน้ำตาล FOS ปริมาณ 10-20 กรัมต่อวันแล้ว จะช่วยให้ประชากร Bifidobacteria ในทางเดินอาหารเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างชัดเจน แต่ถ้าให้ในปริมาณ เพียง 5 กรัมต่อวันแล้ว มีเพียง 75 เปอร์เซ็นต์ของอาสาสมัครที่มีการเพิ่มขึ้นของประชากร Bifidobacteria ซึ่งปริมาณน้ำตาล FOS ในผลไม้ 4 ชนิดนี้ยังน้อยกว่าระดับดังกล่าวมาก ดังนั้นในการผลิตน้ำผลไม้พร้อมดื่มก็อาจมีการเสริมน้ำตาล FOS ลงไปเพิ่มเติมได้ ดังเช่นในปี 2009 Renuka และคณะ ก็ได้รายงานถึงการผลิตน้ำสับปะรด มะม่วงและน้ำส้มคั้นที่มีการเสริมน้ำตาล FOS จากแหล่งภายนอกลงไป ซึ่งก็จะทำให้มีน้ำตาล FOS อยู่ในระดับ 3.45-3.8 กรัม/ น้ำผลไม้ 100 มิลลิลิตร อย่างไรก็ตาม ในแต่ละวันผู้บริโภคก็อาจได้รับน้ำตาล FOS จากอาหารปกติที่รับประทานในแต่ละวันอยู่แล้ว ดังนั้นการรับประทานผลไม้ที่ศึกษาเหล่านี้ก็จะช่วยเสริมให้ได้รับน้ำตาล FOS ในปริมาณที่เพียงพอที่จะก่อให้เกิด Bifidogenic effect แก่ผู้บริโภคได้ ซึ่ง Gibson และ Wang (1994) ก็ได้รายงานโดยอ้างจาก Roberfroid และคณะ (1993) ว่าอาหารมาตรฐานของชาวตะวันตกในแต่ละวันนั้นจะมีน้ำตาล FOS เป็นองค์ประกอบอยู่ประมาณ 2-4 กรัม ดังนั้นการเผยแพร่ข้อมูลปริมาณน้ำตาล FOS และการส่งเสริมการบริโภคผลไม้ทั้ง 4 ชนิดจึงยังคงมีความสำคัญ แต่การบริโภคผลไม้บางชนิด เช่น ลำไย อาจมีข้อจำกัดในกลุ่มผู้บริโภคบางกลุ่มที่มีปัญหาเรื่องสุขภาพ เนื่องจากมีน้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส และซูโครส เป็นองค์ประกอบในปริมาณที่สูงมาก

สรุปผลการวิจัย

ผลไม้ทั้ง 4 ชนิดที่นำมาศึกษาครั้งนี้ ได้แก่ ลิ้นจี่ สับปะรด ลำไย และส้มเขียวหวาน พบว่า ลำไยมีน้ำตาลในปริมาณสูงที่สุด คือ 16-28 เปอร์เซ็นต์ ตามมาด้วย ลิ้นจี่ สับปะรด และส้มเขียวหวาน ตามลำดับ ในขณะที่สามารถตรวจพบน้ำตาลกลุ่มฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์เพียงชนิดเดียว คือน้ำตาล คีสโตส ซึ่งพบได้ใน สับปะรด ลำไย และส้มเขียวหวานเท่านั้น และพบในปริมาณใกล้เคียงกันคือ ประมาณ 0.1-0.16 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักเนื้อผลไม้สด นอกจากนี้ยังพบว่า มีน้ำผลไม้หลายชนิดที่สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อโปรไบโอติกได้ แต่กระตุ้นได้ในระดับที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับ ชนิดของน้ำผลไม้และสายพันธุ์ของเชื้อโปรไบโอติก การเจริญของเชื้อโปรไบโอติกในน้ำผลไม้ จะช่วย ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* และ *Sal. Typhimurium* ที่นำมาทดสอบครั้งนี้ได้

อย่างไรก็ตาม แม้ว่าปริมาณน้ำตาลฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ซึ่งเป็นสารพรีไบโอติกที่มีคุณภาพ ดีนี้ จะพบในผลไม้ทั้ง 3 ชนิดในปริมาณที่ไม่สูงมาก แต่หากมีการส่งเสริมให้มีการบริโภคควบคู่กับ อาหาร ผัก ผลไม้ทั่วไปในชีวิตประจำวันแล้ว ผู้วิจัยคาดว่าจะช่วยเสริมให้ร่างกายได้รับสารพรีไบโอติก ที่เพียงพอ อันก่อให้เกิดคุณประโยชน์แก่ร่างกายได้

เอกสารอ้างอิง

- กรณีกาญจน์ ภมรประวัติชนะ. 2552.บทความพิเศษ: ลิ่นจีต๋านมะเร็ง.นิตยสารหมอชาวบ้าน.
เล่ม : 363.
- ชีษณุสรุ สวัสดิวัฒน์ และคณะ. รายงานการวิจัยเรื่อง การพัฒนาและประยุกต์ใช้ไกลโคซิเดส
จากพืชในประเทศไทยเพื่อประโยชน์ในการสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรต, สำนักงาน
คณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ 2539, หน้า 1-20.
- พาวิณ มะโนชัย, ยุทธนา เขาสุเมรุ, ชิติ ศรีตันทิพย์ และ สันติ ช่างเจรจา. *เทคโนโลยีการผลิตลำไย*.
กรุงเทพ: หจก.สำนักพิมพ์พิสิทส์เซ็นเตอร์, 2547.
- นพดล จรัสสัมฤทธิ์, พาวิณ มะโนชัย, นพมณี โทบุญญานนท์, อีรนุช จันทระจิต, วินัย วิริยะ
อลงกรณ์ และ พิชัย สมบูรณ์วงศ์. *การผลิตลำไย*. เชียงใหม่: สิรินาฏการพิมพ์. 2543.
- สุรภา จีระสันติกุล. ผลการวิเคราะห์ทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ของเนื้อลำไยอบแห้งที่ผลิตใน
จังหวัดเชียงใหม่และลำพูน. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่,
2548.
- อนันต์ ดำรงค์สุข. *ลำไย*. กรุงเทพฯ: อักษรสยามการพิมพ์. 2547.
- Agopian, R.G.D., Purgatto, E., Cordenunsi, R. and Lajolo, F.M. 2009. Synthesis of
fructooligosaccharides in banana “Prata” and its relation to invertase activity
and sucrose accumulation. *J. Agri. Food Chem.* 57: 10765-10771.
- Amann, M. M., Kullen, M. J., Martini, M. C., Busta, F. F., and Brady, L. J. (1998).
consumption of exogenous bifidobacteria dose not alter fecal bifidobacteria
and breath hydrogen excretion in humans. *J. Nutr.* 128 : 996.
- Antosova, M., Polakovic, M. and Bales, V. 1999. Separation of fructooligosaccharides on
cation-exchange HPLC column in silver form with refractometric detection.
Biotechnology Techniques 13: 889-892.
- Ayoola, G.A., Johnson, O.O., Adelowotan, T., Aibinu, I.E., Adenipekun, E., Adepoju-
Bello, A.A., Coker, H.A.B. and Odugbemi, T.O. 2008. Evaluation of the chemical
constituents and the antimicrobial activity of the volatile oil of *Citrus*
reticulate fruit (Tangerine fruit peel) from South West Nigeria. *African Journal*
of Biotechnology 7: 2227-2231.
- Barefoot, S.F. and Klaenhammer, T.R. 1983. Detection and activity of lactacin B, a
bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl Environ Microbiol* 45:
1808-1815.
- Barrangou, R., Altermann, E., Hutkins, R., Cano, R. and Klaenhammer, T.R. 2003.
Functional and comparative genomic analyses of an operon involved in
fructooligosaccharide utilization by *Lactobacillus acidophilus*. *PNAS* 100:
8957-8962.
- Bhui, K., Tyagi, S., Prakash, B. and Shukla, Y. 2010. Pineapple bromelain induces
autophagy, facilitating apoptotic response in mammary carcinoma cells.

- Biofactors* 36: 474-482.
- Bourhnik, Y., Vahedi, K., Achour, L., Attar, A., Salfati, J., Pochart, P., Marteau, P., Bornet, F., and Rambaud, J. 1999. Short-chain Fructo-oligosaccharide administration dose dependently increases fecal *Bifidobacteria* in healthy human. *J Nutrition* 129: 113-116.
- Campbell, J.M., Bauer, L.L., Fahey, G.C., Hogarth, A.J.C.L., Wolf, B.W. and Hunter, D.E. 1997. Selected Fructooligosaccharide (1-kestose, Nystose, and 1^F- β -Fructofuranosylnystose) composition of foods and feeds. *J. Agric. Food Chem.* 45: 3076-3082.
- Campbell, J. M., Fahey, G. C., and Wolf, B. W. 1997. Selected indigestible oligosaccharides affect large bowel mass, cecal and fecal short-chain fatty acids, pH and microflora in rats. *J. Nutr.* 127: 130-136.
- Causey, J. L., Feirtag, J. M., Gallaher, D. D., Tungland, B. C., and Slavin, J. L. 2000. Effects of dietary inulin on serum lipids, blood glucose and the gastrointestinal environment in hypercholesterolemic men. *Nutr. Res.* 20: 191-201.
- Cohen, S.S. and Roth, L. 1953. The phosphogluconate pathway of carbohydrate metabolism in the multiplication of bacterial viruses. *J. Bacteriol.* 65: 490-495.
- Cruz, R., Gruz, V., Belote, J. G., Khenayfes, M. O., Dorta, C., Oliveira, L. H. S., and Ardiles, E. 1999. Production of transgalactosylated oligosaccharides (TOS) by galactosyltransferase activity from *Penicillium simplicissimum*. *Biores. Technol.* 70 : 165-171.
- Cummings, J.H., Macfarlane, G. T., and Englyst, H. N. 2001. Prebiotic digestion and fermentation. *Am. J. Clin. Nutr.* 73 : 361s-364s.
- Der Agopian, R.G., Soares, C.A., Purgatto, E., Cordenunsi, B.R. and Lajolo, F.M. 2008. Identification of fructooligosaccharides in different banana cultivars. *J Agric Food Chem* 56: 3305-3310.
- Der Agopian, R.G., Purgatto, E., Cordenunsi, B.R. and Lajolo, F.M. 2009. Synthesis of fructooligosaccharides in banana ‘prata’ and its relation to invertase activity and sucrose accumulation. *J Agric Food Chem* 57: 10765-10771.
- Fernandez, R.C., Ottoni, C.A., Silva, E.S.D, Matsubara, R.M.S., Carter, J.M., Magossi, L.R., Wada, M.A.A., Rodrigues, M.F.D.A, Marresma, B.G. and Maiorano, A.E. 2007. Screening of β -Fructofuranosidase producing microorganisms and effect of pH and temperature on enzymatic rate. *App Microbiol Biotechnol* 75: 87-93.
- Ferenci, T. and Kornberg, H.L. 1973. The utilization of fructose by *Escherichia coli*. *Biochem. J.* 132: 341-347.
- Geerse, R.H., Izzo, F. and Postma, P.W. 1989. The PEP: fructose phosphotransferase system in *Salmonella typhimurium*: FPr combines enzyme III^{Fru} and pseudo-

- HPr activities. *Mol Gen Genet* 216: 517-525.
- Gibson, G. R., Beaty, E. R., Wang, X., and Cummings, J. H. 1995. Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology* 108 : 975-972.
- Gibson, G. R., and Roberfroid, M.B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.* 125: 1401-1412.
- Gibson, G.R. and Wang, X. 1994. Bifidogenic properties of different types of fructooligosaccharides. *Food Microbiol.* 11: 491-498.
- Henderson, R. W., Morton, R. K., Rawlinson, W. A. 1959. Oligosaccharide synthesis in banana and its relationship to the transferase activity of invertase. *Biochem. J.* 72: 340-344.
- Holzapfel, W. H., Haberer, P., Geisen, R., Bjorkroth, J., and Schillinger, U. 2001. Taxonomy and important features of probiotic microorganisms in food and nutrition. *Am. J. Clin. Nutr* 73: 365s-373s.
- Javed, S., Javaid, A., Mahmood, Z., Javaid, A. and Nasim, F. 2011. Biocidal activity of citrus peel essential oils against some food spoilage bacteria. *Journal of Medicinal Plants Research* 5: 3697-3701.
- Kaplan, H. and Hutkins, R. W. 2000. Fermentation of Fructooligosaccharides by LAB and Bifidobacteria. *Appl Environ Microbiol* 66 : 2682-2684.
- Kaplan, H. and Hutkins, R. W. 2003. Metabolism of fructooligosaccharides by *Lactobacillus paracasei* 1195. *Appl Environ Microbiol* 69: 2217-2222.
- Kim, B.W., Choi, J.W., and Yun, J.W. 1998. Selective production of GF4-fructooligosaccharide from sucrose by a new transfructosylating enzyme. *Biotechnology Letters* 20: 1031-1034.
- Kullen, M. J., Khil, J., Busta, F. F., Gallaher, D. D., and Brady, L. 1998. Carbohydrate source and bifidobacteria influence the growth of *Clostridium perfringens* *in vivo* and *in vitro*. *Nutr. Res.* 18: 1889-1897.
- Le Blay, G., Michel, C., Blottiere, H. M., and Cherbut, C. 1999. Prolong intake of fructooligosaccharides induces a short term elevation of lactic acid-producing bacteria and a persistent increase in cecal butyrate in rats. *J. Nutr.* 129: 2231-35.
- Maiorano, A.E., Piccoli, R.M., Silva, E.S., Rodrigues, M.F.D.A. 2008. Microbial production of fructosyltransferases for synthesis of prebiotics. *Biotechnology Letters* 30:1867-77.
- Marteau, P. R., Vrese, M. D., Cellier, C. J., and Schrezenmeir, J. 2001. Protection from gastrointestinal diseases with the use of probiotics. *Am. J. Clin. Nutr* 73: 430s-436s.

- Mazza, G. 1998. Vegetables Rich in Nondigestible Oligosaccharide. In *Functional Foods: Biochemical & Processing Aspects* (pp.215-220), Pennsylvania: Technomic Publishing Company, Inc.
- Ohta, A., Ohtsuki, M., Hosono, A., Adachi, T., Hara, H., and Sakata, T. 1997. Dietary Fructooligosaccharides Prevent Osteopenia After Gastrectomy in Rats. *J Nutrition* 128 : 106.
- Oyazabal, O.A. and Conner, D.E. 1995. In vitro fructooligosaccharide utilization and inhibition of *Salmonella* spp. by selected bacteria. *Poult Sci.* 74: 1418-1425.
- Parada, J.L., Caron, C.R., Medeiros, A.B.P. and Soccol, C.R. 2007. Bacteriocins from Lactic acid bacteria: Purification, properties and use as biopreservatives. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 50: 521-542.
- Rastall, R. A., Fuller, R., Gaskins, H. R., and Gibson, G. R. 2000. In Gibson, G. R., and Williams, C. M., (Ed.), *Functional Foods: Concept to product* (pp.71-95), Cambridge: Woodhead Publishing Limited.
- Reiffova, K. and Nemcova, R. 2006. Thin-layer chromatography analysis of fructooligosaccharides in biological samples. *Journal of Chromatography A* 1110: 214-221.
- Renuka, B., Kulkarni, S.G., Vijayanand, P., and Prapulla, S.G. 2009. Fructooligosaccharide fortification of selected fruit juice beverages: Effect on the quality characteristics. *LWT-Food Science and Technology* 42: 1031-1033.
- Roberfroid, M. B. 1999. Dietary fiber properties and health benefits of non-Digestible oligosaccharide. In Cho, S. S., Prosky, L., and Dreher, M., (Ed.), *Complex carbohydrates in foods* (pp.25-33), New York: Marcel Dekker.
- Scherzenmeir, J., and Vrese, M. 2001. Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics-approaching a definition. *Am. J. Clin. Nutr.* 73: 361s-364s.
- Saminathan, M., Sieo, C.C., Kalavathy, R., Abdullah, N. and Ho, Y.W. 2011. Effect of prebiotic oligosaccharides on growth of *Lactobacillus* strain used as a probiotic for chickens. *African Journal of Microbiology Research* 5: 57-64.
- Schmid, K., Schupfner, M. and Schmitt, R. 1982. Plasmid-mediated uptake and metabolism of sucrose by *Escherichia coli* K-12. *Journal of Bacteriology* 151: 68-76.
- Swanson, K. S., Grieshop, C. M., Flickinger, E. A., Bauer, L. L., Healy, H., Dawson, K. A., Merchen, N. R., and Fahey, G. C. 2002. Supplemental FOS and MOS influence immune function, ileal and total tract nutrient digestibilities, microbial populations and concentrations of protein catabolites in the large bowel of dogs. *J Nutrition* 132 : 980-989.
- Takahara, S., Morohashi, T., Sano, T., Ohta, A., Yamada, S., and Sasa, R. 2000. *J Nutrition* 130 : 1792- 1795.

- Wongputtisin, P. Selection of oligosaccharides from some local plant utilizing as prebiotics. Master's Thesis, Chiang Mai University, Chiang Mai, 2003.
- Yi, H., Zhang, L., Hua, C., Sun, Kai and Zhang, L. 2010. Extraction and enzymatic hydrolysis of inulin from Jerusalem artichoke and their effects on textural and sensorial characteristics of yogurt. *Food Bioprocess Technol* 3: 315-319.
- Yun, J. W. 1996. Fructooligosaccharides-Occurrence, preparation, and application. *Enzyme and Microbial Technology* 19: 107-117.

ภาคผนวก ก

ลักษณะน้ำผลไม้ที่ใช้ในการศึกษา และเครื่องคั้นน้ำผลไม้



(A)



(B)



(C)



(D)



(E)

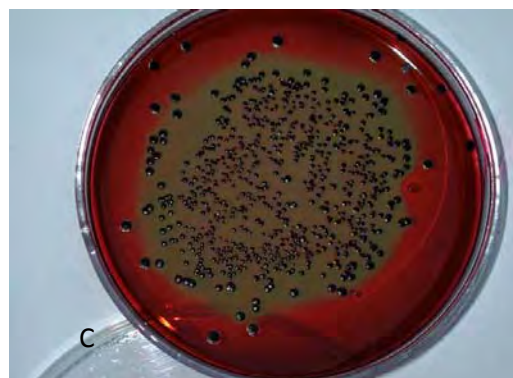
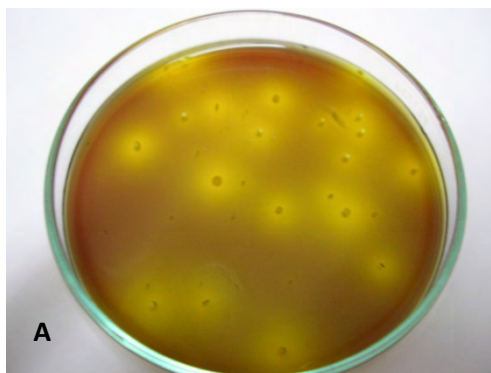


(F)

ภาพที่ 27 (A) น้ำสับปะรด (B) น้ำลิ้นจี่ (C) น้ำลำไย (D) น้ำส้มเขียวหวาน (E) เครื่องคั้นน้ำผลไม้ Sakaya และ (F) การเตรียมน้ำผลไม้ปลอดเชื้อด้วยหัวกรวยหยด Minisart™

ภาคผนวก ข

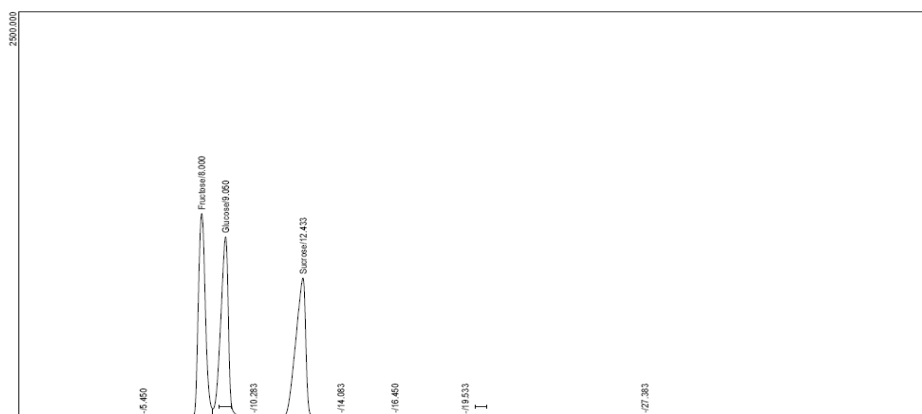
ลักษณะโคโลนีของเชื้อที่ศึกษาบนอาหารแข็งสำเร็จรูป



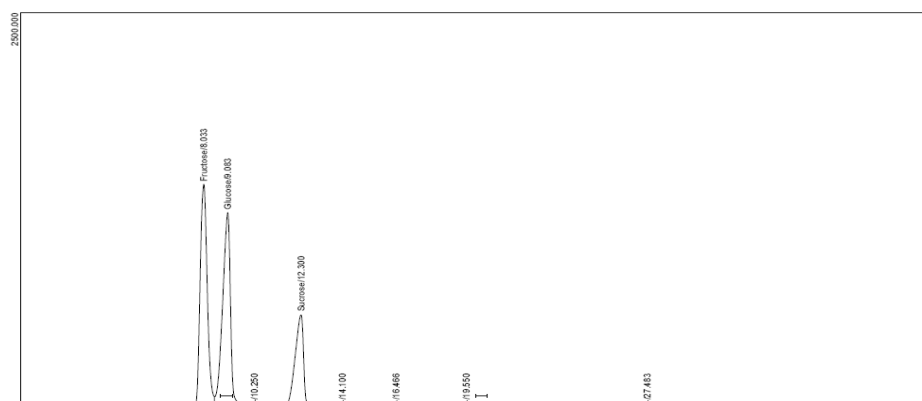
ภาพที่ 28 ลักษณะโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกบนอาหารแข็ง MRS (A) เชื้อ *Salmonella-Shigella* spp. บนอาหารแข็ง SS (B) และ เชื้อ *E. coli* บนอาหารแข็ง EMB (C)

ภาคผนวก ค

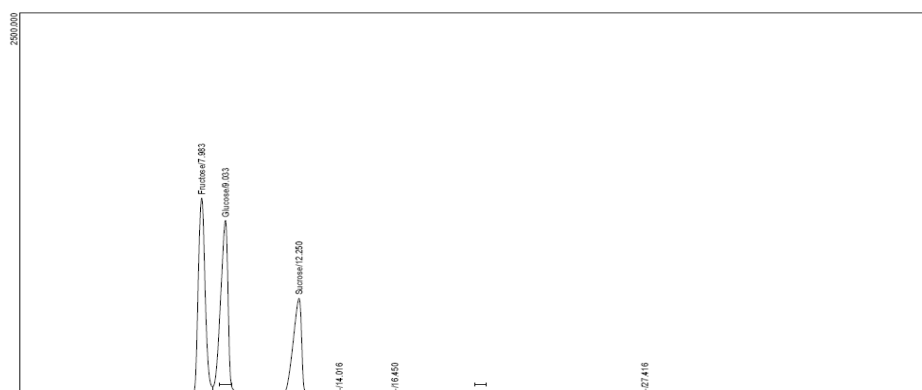
โครมาโทแกรมจากการวิเคราะห์น้ำตาลในน้ำผลไม้



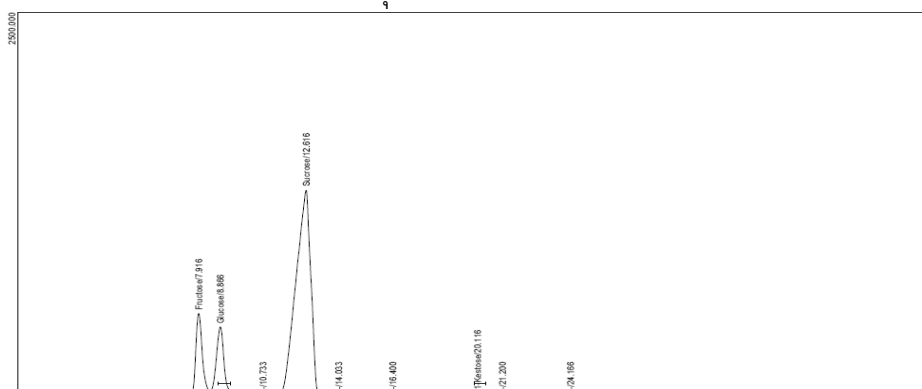
ภาพที่ 29 โคโรมาโทแกรมของน้ำตาลในจี พันธ์ฮวงฮวย



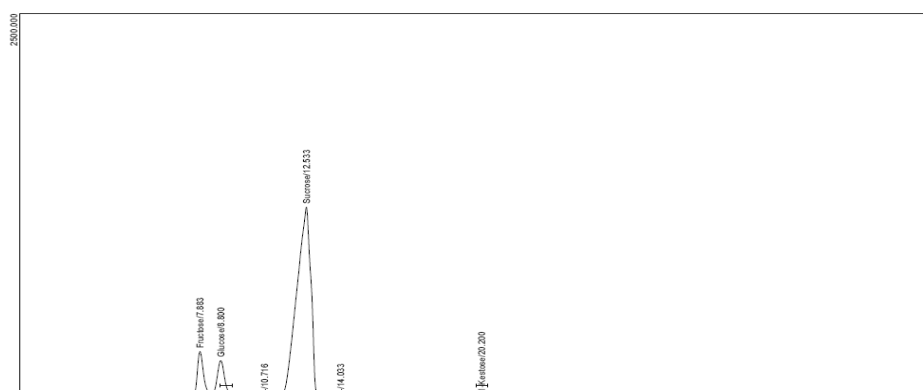
ภาพที่ 30 โคโรมาโทแกรมของน้ำตาลในจี พันธ์โอเอชีเยะ



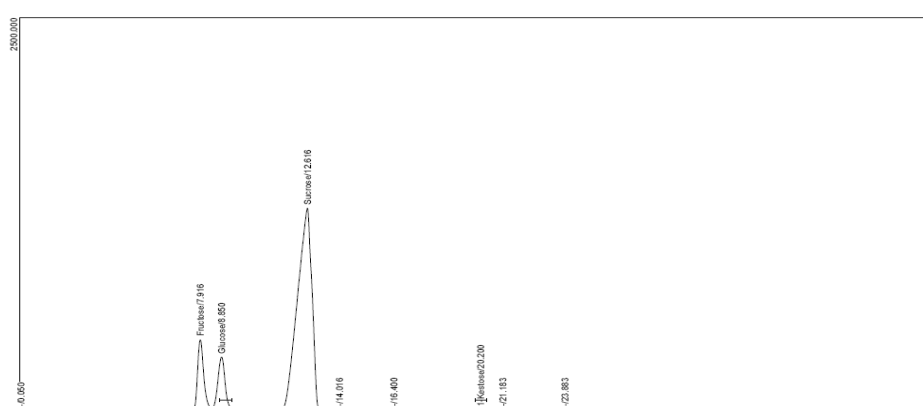
ภาพที่ 31 โคโรมาโทแกรมของน้ำตาลในจี พันธ์จักรพรรดิ



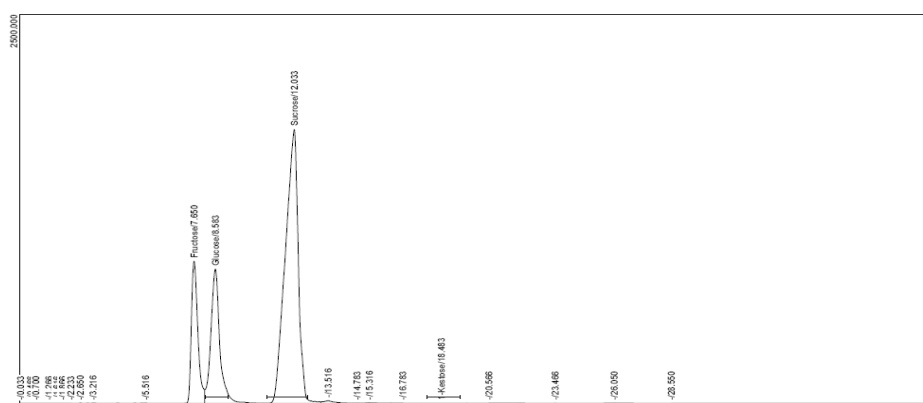
ภาพที่ 32 โคโรมาโทแกรมของน้ำตาลในจี สับปะรด พันธุ์นางแล เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC



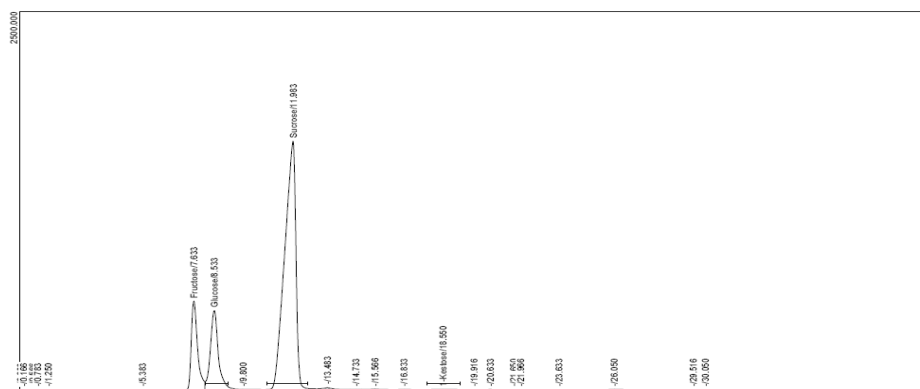
ภาพที่ 33 โครมาโทแกรมของน้ำสับปะรด พันธุ์ภูแล เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC



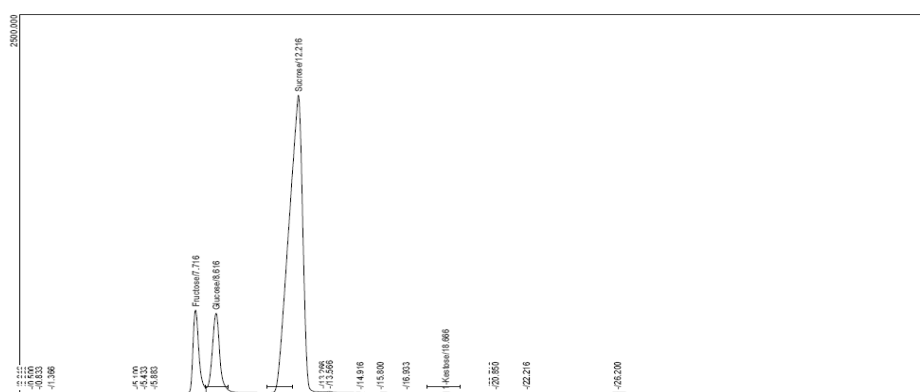
ภาพที่ 34 โครมาโทแกรมของน้ำสับปะรด พันธุ์ปัตตาเวีย เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC



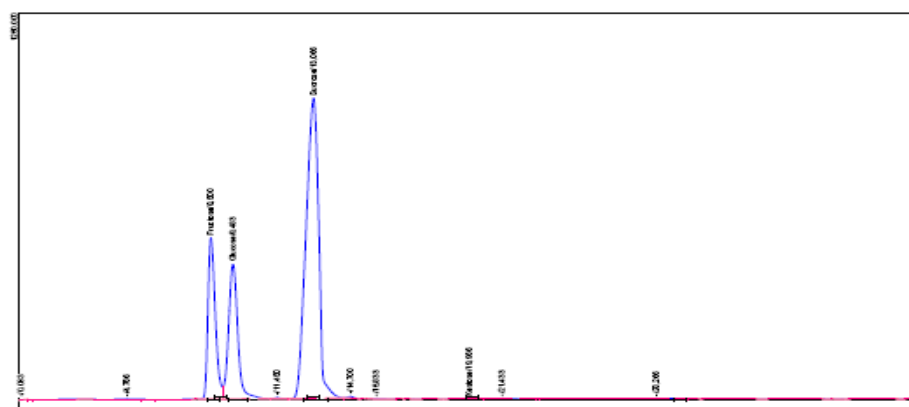
ภาพที่ 35 โครมาโทแกรมของน้ำลำไย พันธุ์เปี้ยวเขียว เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC



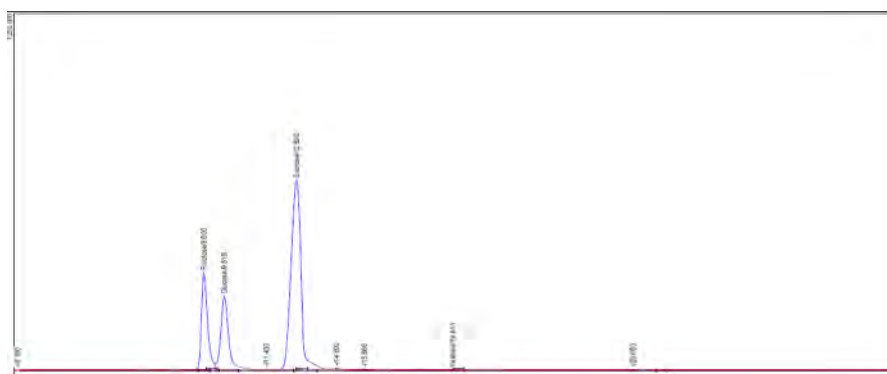
ภาพที่ 36 โครมาโทแกรมของน้ำลำไย พันธุ์ตอ เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC



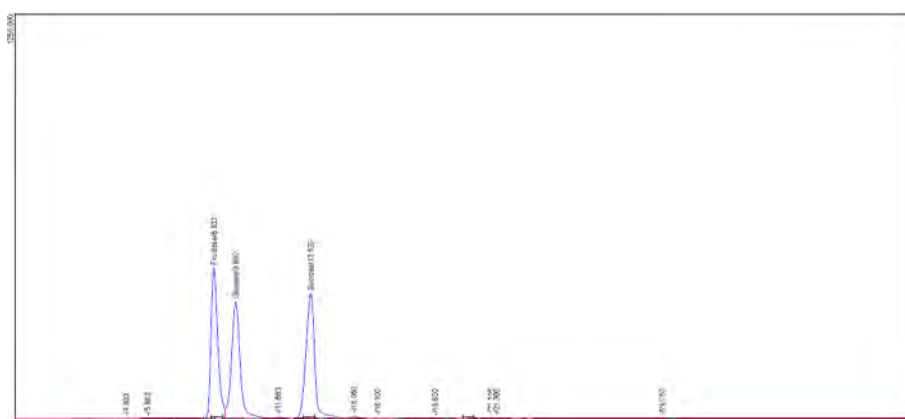
ภาพที่ 37 โครมาโทแกรมของน้ำลำไย พันธุ์ชมพู เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC



ภาพที่ 38 โครมาโทแกรมของน้ำส้ม พันธุ์ไอเซี่ยน เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC



ภาพที่ 39 โครมาโทแกรมของน้ำส้ม พันธ์ุสายน้ำผึ้ง เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC



ภาพที่ 40 โครมาโทแกรมของน้ำส้ม พันธ์ุสีทอง เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

ภาคผนวก ง

ตารางที่ 17 เปรียบเทียบวัตถุประสงค์ กิจกรรมที่วางแผนไว้ กิจกรรมที่ได้ดำเนินไปแล้ว และผลที่ได้รับ

วัตถุประสงค์	กิจกรรมที่วางแผนไว้	กิจกรรมที่ได้ดำเนินไปแล้ว	ผลที่ได้รับ
(1) เพื่อวิเคราะห์ปริมาณฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ในลีนจี สับปะรดลำไย และส้มเขียวหวาน	เก็บตัวอย่างผลไม้ และเตรียมน้ำผลไม้ผง	รวบรวมผลไม้ ชนิดละ 30 กิโลกรัม และเตรียมน้ำผลไม้แช่แข็งเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C	ได้ตัวอย่างน้ำผลไม้ สำหรับใช้เป็นตัวอย่างในการศึกษาตลอดทั้งโครงการ
	วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลด้วยวิธี DNS, Phenol-sulfuric acid, TLC และ HPLC	วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลด้วยวิธี DNS, Phenol-sulfuric acid, TLC และ HPLC	ทราบปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ชนิดของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบในน้ำผลไม้ รวมทั้งทราบปริมาณน้ำตาลกลุ่ม FOS ในน้ำผลไม้ทั้งหมด
(2) เพื่อศึกษาคุณสมบัติการกระตุ้นการเจริญของโปรไบโอติกของลีนจี สับปะรด ลำไย และ ส้มเขียวหวาน	ศึกษาการกระตุ้นการเจริญของเชื้อโปรไบโอติกในรูปแบบ single culture study	ศึกษาการกระตุ้นการเจริญของเชื้อโปรไบโอติกเชื้อแบคทีเรียเจ้าบ้าน และเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในรูปแบบ single culture study	ทราบว่าน้ำผลไม้ชนิดใดที่สามารถกระตุ้นการเจริญของเชื้อโปรไบโอติก แบคทีเรียเจ้าบ้าน และเชื้อแบคทีเรียก่อโรควางชนิดได้
	ศึกษาการกระตุ้นการเจริญของเชื้อโปรไบโอติกในรูปแบบ mixed culture study	ศึกษาการกระตุ้นการเจริญของเชื้อโปรไบโอติกเชื้อ <i>E. coli</i> และ <i>Sal. Typhimurium</i> ในรูปแบบ mixed culture study	ทราบว่าน้ำผลไม้แต่ละชนิดยังสามารถกระตุ้นการเจริญของโปรไบโอติกที่เพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ <i>E. coli</i> และ <i>Sal. Typhimurium</i> อีกทั้งโปรไบโอติกที่เจริญนี้ยังช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียทั้งสองด้วย
	ศึกษาการกระตุ้นการเจริญของเชื้อโปรไบโอติกที่อาศัยในทางเดินทาง ในรูปของ faecal slurry study	ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของประชากรผสมจากทางเดินอาหาร โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงจำนวนของเชื้อ 3 กลุ่ม ได้แก่ แบคทีเรียกรดแลกติก <i>E. coli</i> และ <i>Salmonella-Shigella</i> sp. เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงในน้ำผลไม้	ทราบว่าน้ำผลไม้ยังคงสามารถทำให้ประชากรแบคทีเรียแลกติกโดยรวมในทางเดินอาหารมีจำนวนเพิ่มขึ้น ในขณะที่ <i>E. coli</i> มีแนวโน้มลดลง แต่ <i>Salmonella-Shigella</i> sp. ไม่สามารถระบุได้

ปริมาณฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์และคุณสมบัติพรีไบโอติกในลิ้นจี่ สับปะรด ลำไย และส้มเขียวหวาน

ไพโรจน์ วงศ์พุทธิสิน¹, นีร โฉมศรี², รุ่งทิพย์ กาวาริ¹ และ นงคราญ พงษ์ตระกูล¹

¹สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ อ.สันทราย จ.เชียงใหม่ 50290

²สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีล้านนา อ.เมือง จ.ลำปาง 52000

บทคัดย่อ

น้ำตาลกลุ่มฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS) เป็นสารพรีไบโอติกที่มีประสิทธิภาพสูงในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์โปรไบโอติกในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์ ก่อให้เกิดสภาวะสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ น้ำตาลกลุ่ม FOS นี้สามารถพบได้ในผักและผลไม้หลายชนิด ดังนั้นงานวิจัยชิ้นนี้จึงได้ทำการศึกษารายการน้ำตาลกลุ่ม FOS ในผลไม้เศรษฐกิจในเขตภาคเหนือของไทยจำนวน 4 ชนิด ได้แก่ ลิ้นจี่ สับปะรด ลำไย และส้มเขียวหวาน ชนิดละ 3 สายพันธุ์ พร้อมทั้งศึกษาคูสมบัติการกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อโปรไบโอติกโดยนำผลไม้เหล่านี้ด้วยในระดับ *in vitro* ทั้งนี้เพื่อให้ได้ข้อมูลเชิงวิทยาศาสตร์สำหรับการส่งเสริมการบริโภคผลไม้ไทยเหล่านี้ต่อไป หลังการวิเคราะห์น้ำตาลในผลไม้ด้วยเครื่อง HPLC พบว่ามีน้ำตาลกลุ่ม FOS หนึ่งชนิด คือน้ำตาลคีสโตส ซึ่งพบในสับปะรด ลำไย และส้มเขียวหวานเท่านั้น และพบในปริมาณใกล้เคียงกันคือประมาณ 0.1-0.16 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักเนื้อผลไม้สด นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำผลไม้หลายตัวอย่างที่สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อโปรไบโอติกได้ แต่กระตุ้นได้ในระดับที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำผลไม้และสายพันธุ์ของเชื้อโปรไบโอติก การเจริญของเชื้อโปรไบโอติกในน้ำผลไม้จะช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Salmonella enterica* Typhimurium ที่นำมาทดสอบครั้งนี้ได้ แม้ว่าปริมาณน้ำตาลกลุ่ม FOS จะพบในผลไม้เหล่านี้ในปริมาณที่ไม่สูงมาก แต่หากมีการส่งเสริมให้มีการบริโภคควบคู่กับอาหาร ผัก ผลไม้ทั่วไปในชีวิตประจำวันแล้ว ก็จะช่วยเสริมให้ร่างกายได้รับสารพรีไบโอติกที่เพียงพอได้

คำสำคัญ: ลิ้นจี่ สับปะรด ลำไย ส้มเขียวหวาน น้ำตาลกลุ่มฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สารพรีไบโอติก

ABSTRACT

Fructooligosaccharides (FOS) is a high efficiency prebiotic substance for promoting of probiotic growth in human and animal colon, subsequently microbial balance in a colon is obtained. FOS can be found in many fruits and vegetables. Thus the content of FOS in the important fruits of Northern Thailand; i.e. lychee, pineapple, longan and tangerine (3 cultivars per each) was then investigated. Furthermore, probiotic growth stimulation by these fruit juices was also studied *in vitro*. The consumption of these fruits can be promoted to consumer after receiving of this scientific information. The results showed that kestose was only one FOS that was detected in all cultivars of pineapple, longan and tangerine using HPLC apparatus. The content of kestose in these fruits was in the range of 0.1-1.6 % by wt. of fresh fruit. Moreover, it was found that growth of probiotic could be stimulated by many fruit juice samples; however stimulation level was different depending on cultivar of fruit and bacterial strain. Growth suppression of *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* Typhimurium was observed when probiotic growth was promoted. Although low quantity of FOS was found in the fruits, but to promote consumption these fruit simultaneously with daily meals will serve adequate prebiotic for health benefit.

Keywords: Lychee, pineapple, Longan, tangerine, fructooligosaccharides, prebiotic

1. บทนำ

สารพรีไบโอติก (Prebiotic) คือส่วนประกอบของอาหารที่ไม่สามารถถูกย่อยได้โดยทางเดินอาหารของมนุษย์ และสัตว์ แต่ให้คุณประโยชน์แก่คนและสัตว์โดยการกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์โปรไบโอติกในทางเดินอาหารอย่างเฉพาะเจาะจง (Gibson and Roberfroid, 1995) โดยนิยามที่กล่าวมานี้ พบว่ากลุ่มน้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์ที่ย่อยไม่ได้ (Non-digestible oligosaccharides; NDOs) สามารถถูกจัดเป็น

สารพรีไบโอติกได้ ซึ่งน้ำตาลกลุ่มฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Fructooligosaccharides; FOS) เป็นตัวอย่างของ NDOs ที่ได้รับการยอมรับว่าเป็นสารพรีไบโอติกที่มีประสิทธิภาพสูงในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์โปรไบโอติกในลำไส้ของมนุษย์และสัตว์ ก่อให้เกิดสภาวะสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ น้ำตาลกลุ่ม FOS นี้สามารถพบได้ในผักและผลไม้หลายชนิด เช่น หัวชิโครี (Chicory) อาติโชค (Artichoke) ลีค (Leek) หัวหอม กระเทียม และหน่อไม้ฝรั่ง เป็นต้น ในขณะที่กล้วย พลัม แอปเปิ้ล และลูกแพร์ เป็นผลไม้ที่มีรายงานว่าพบน้ำตาล FOS

(L'homme et al., 2003) น้ำตาล FOS สามารถกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์โปรไบโอติกได้หลายชนิด เช่น *Bifidobacterium* sp. และ *Lactobacillus* sp. (Kaplan และ Hutkins, 2000) ผลงานของ Gibson และคณะในปี 1995 ที่ได้ศึกษาผลของการบริโภค FOS ที่มีต่อจำนวนจุลินทรีย์ภายในลำไส้ โดยทำการทดลองในอาสาสมัครผู้ใหญ่ และให้บริโภค FOS หรืออินูลิน 15 กรัม/วัน เป็นเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์หลักๆ ที่พบในอุจจาระ ผลปรากฏว่า FOS และ อินูลินสามารถช่วยเพิ่มจำนวนของเชื้อไบโอดีแบคทีเรียได้อย่างมีนัยสำคัญ และยังช่วยลดจำนวนของเชื้อ *Clostridium* ลงได้

ประเทศไทยเป็นผู้ผลิตผลไม้รายใหญ่ของโลก ทั้งเพื่อการบริโภคในประเทศและส่งออก ก่อให้เกิดมูลค่าทางเศรษฐกิจอย่างมหาศาลในแต่ละปี ในเขตจังหวัดภาคเหนือตอนบนนั้น ก็มีการผลิตผลไม้เป็นสินค้าสร้างรายได้ให้แก่ท้องถิ่น นั่นคือ ลิ้นจี่ สับปะรด ลำไย และส้มเขียวหวาน โดยแต่ละชนิดก็มีแหล่งเพาะปลูกหลักแตกต่างกันไปและมีหลากหลายสายพันธุ์ ข้อมูลจากกรมส่งเสริมการเกษตรรายงานว่า ในปี 2553 ปริมาณผลผลิตลำไยจาก 8 จังหวัดภาคเหนือสูงถึง 341,560 ตัน ผลไม้เหล่านี้มีปริมาณน้ำตาลที่ค่อนข้างสูง โดยน้ำตาลที่พบมากคือ กลูโคส ฟรุคโตส และซูโครส (Paull and Chen, 2003; Vaughan and Geissler, 2009) เช่นในกรณีของผลลำไยนั้น พบว่ามีปริมาณมากถึง 17-22 มก./กรัม 23-28 มก./กรัม และ 29-72 มก./กรัม ตามลำดับ (Paull and Chen, 1987) ซึ่งสามารถเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์น้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์กลุ่ม FOS ในพืชได้โดยอาศัยเอนไซม์ sucrose-sucrose fructosyltransferase (EC.2.4.1.99) เร่งปฏิกิริยา ซึ่ง FOS ที่สังเคราะห์ได้นี้ ได้แก่ น้ำตาล 1-kestose (Glu-fru-fru; GF2) น้ำตาล nystose (Glu-fru-fru-fru; GF3) และน้ำตาล fructosynystose (Glu-fru-fru-fru-fru; GF4) ดังนั้นคาดว่าอาจพบน้ำตาล FOS อยู่ในผลไม้ทั้งสี่ชนิด อันจะเป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์เบื้องต้นในการสนับสนุนให้จัดผลไม้เหล่านี้เป็นอาหารฟังก์ชัน จึงเป็นที่มาของงานวิจัยชิ้นนี้ที่ได้นำมาศึกษาถึงปริมาณของ FOS ในผลไม้ทั้งสี่และแต่ละสายพันธุ์ พร้อมทั้งศึกษาถึงคุณสมบัติโปรไบโอติกของผลไม้ดังกล่าวด้วย เพื่อให้ได้ข้อมูลหลักฐานทางวิทยาศาสตร์สนับสนุนให้เกิดความมั่นใจในการส่งเสริมการบริโภคลิ้นจี่ สับปะรด ลำไยและส้มเขียวหวานเป็นอาหารฟังก์ชันต่อไป

2. วัสดุและวิธีการวิจัย

2.1 ผลไม้

ลิ้นจี่ (สายพันธุ์ฮงฮวย โอเอียะ และจักรพรรดิ) และ ส้มเขียวหวาน (สายพันธุ์โอเอียน สายน้ำผึ้งและสีทอง) รวบรวมมาจากพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ ลำไย (สายพันธุ์เปี้ยวเขียว ดอ และชมพู) รวบรวมมาจากพื้นที่จังหวัดลำพูน สับปะรดสายพันธุ์ภูแลและนางแล รวบรวมมาจากพื้นที่จังหวัดเชียงใหม่ และสับปะรดสายพันธุ์ปัตตาเวีย รวบรวมมาจากพื้นที่จังหวัดลำปาง

2.2 เชื้อแบคทีเรีย

เชื้อโปรไบโอติก 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Lactobacillus acidophilus* TISTR1338, *L. lactisi* TISTR1464, *L. bulgaricus* TISTR451 และ *L. plantarum* TISTR541 และแบคทีเรียก่อโรค 1 สาย

พันธุ์ ได้แก่ *Salmonella enterica* Typhimurium TISTR292 จัดซื้อมาจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย และเชื้อแบคทีเรียเจ้าบ้าน 1 สายพันธุ์ ได้แก่ *Escherichia coli* ได้รับมาจากห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ในขณะที่อุจจาระเด็กทารกที่ใช้เป็นแหล่งของเชื้อผสมจากทางเดินอาหารมนุษย์ได้รับความอนุเคราะห์มาจากโรงพยาบาลศูนย์ลำปาง

เชื้อบริสุทธิ์โปรไบโอติกได้ทำการเก็บรักษาโดยเฉพาะเลี้ยงบนอาหารรูนีเยียง de Mann, Rogosa and Sharpe agar (MRS) ส่วนเชื้อ *E. coli* และ *Sal. Typhimurium* เพาะเลี้ยงบนอาหารรูนีเยียง Nutrient agar (NA) และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส

2.3 การเตรียมน้ำผลไม้

กรณีของลิ้นจี่และลำไย จะทำการล้างผลให้สะอาดด้วยน้ำเปล่า จากนั้นปอกเปลือก คว้านเมล็ด แล้วคั้นน้ำด้วยเครื่องคั้นน้ำผลไม้ Sakaya™ ในขณะที่สับปะรดนั้น หลังล้างด้วยน้ำเปล่า จะทำการปอกเปลือกและตากออก หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ ก่อนทำการคั้นน้ำ และสุดท้ายการเตรียมน้ำส้มเขียวหวาน เริ่มต้นจากการล้างให้สะอาด ปอกเปลือก แล้วคั้นน้ำด้วยเครื่องคั้นน้ำส้ม น้ำผลไม้ทั้งหมดที่เตรียมได้จะผ่านการกรองด้วยผ้าขาวบาง แบ่งบรรจุในขวดพลาสติกขนาด 120 มิลลิลิตร และเก็บรักษาไว้ในตู้แช่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ทดลองงานวิจัยครั้งนี้

2.4 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลในน้ำผลไม้

น้ำผลไม้ทุกชนิดจะถูกทำให้ใส โดยการปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 10,000 rpm 10 นาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จากนั้นจะนำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar) และปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total sugar) ด้วยวิธี DNS method และ Phenol sulfuric method ตามลำดับ จากนั้นคำนวณค่าจำนวนโมเลกุลเฉลี่ยของน้ำตาลในค่า Degree of polymerization (DP) จากสัดส่วนของปริมาณน้ำตาลทั้งหมดกับน้ำตาลรีดิวซ์

2.5 การวิเคราะห์น้ำตาลกลุ่มฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในน้ำผลไม้

2.5.1 วิเคราะห์องค์ประกอบน้ำตาลแต่ละชนิดในน้ำผลไม้ด้วยเทคนิค Thin layer chromatography (TLC) โดยใช้แผ่นอลูมิเนียมที่เคลือบด้วยซิลิกาเจล (Merck®) เป็น stationary phase สารละลายผสมระหว่าง Butanol: ethanol: น้ำ อัตราส่วน 5: 3: 2 เป็น Mobile phase ตัวอย่างน้ำผลไม้ที่หยดบนแผ่น silica gel ชนิดละ 0.25 ไมโครลิตร น้ำตาลมาตรฐาน ได้แก่ กลูโคส ฟรุคโตส ซูโครส คีโตส และนิสโตส ส่วนวิธีการทำให้จุดน้ำตาลปรากฏนั้นจะใช้การจุ่มแผ่นซิลิกาเจลลงในสารละลายกรดซัลฟริกความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ในเมทานอล จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียสจนกระทั่งจุดน้ำตาลปรากฏขึ้น

2.5.2 วิเคราะห์องค์ประกอบและปริมาณน้ำตาลแต่ละชนิดในน้ำผลไม้ด้วยเทคนิค High performance liquid chromatography (HPLC) โดยตัวอย่างน้ำผลไม้จะผ่านการปั่นเหวี่ยงกำจัดตะกอนที่ความเร็วรอบ 12,000 rpm 10 นาที จากนั้นกรองสารละลายส่วนใสผ่านแผ่นกรอง Nylon membrane ขนาด pore size 0.45 ไมครอน ฉีดตัวอย่างปริมาณ 20 ไมโครลิตร ผ่านคอลัมน์ Previal

amino 5 micron (Alltech[®]) สารละลาย mobile phase ที่ใช้คือ สารละลายผสมระหว่าง acetonitrile: water อัตราส่วน 75: 25 ที่ อัตราเร็ว 1 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส อุปกรณ์ ตรวจวัดคือ ELSD2000 (Alltech[®]) น้ำตาลมาตรฐานมาตรฐานที่ใช้ได้แก่ กลูโคส ฟรุคโตส ซูโครส คีส์โตส และนิสโตส ความบริสุทธิ์ระดับ HPLC grade

2.6 การศึกษาการกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียทดสอบโดยน้ำผลไม้

2.6.1 ทดสอบการเจริญของเชื้อแต่ละชนิดในน้ำผลไม้ (Single culture study) โดยการปั่นเหวี่ยงน้ำผลไม้ที่ความเร็วรอบ 12,000 rpm 10 นาที นำสารละลายส่วนใสมาทำให้ปลอดเชื้อโดยน้ำล้นจี สับปะรด และลำไยทำการกรองโดยใช้ชุดกรอง NalgeneTM (Reusable bottle top filter unit) ผ่านแผ่นกรอง Nylon membrane filter ขนาด 0.2 ไมครอน บรรจุน้ำผลไม้ 50 มิลลิลิตร ลงในขวดชมพูปลอดเชื้อ ขนาด 250 มิลลิลิตร ในขณะที่น้ำส้มเขียวหวานทำการฆ่าเชื้อโดยใช้ความร้อนที่ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นถ่ายหัวเชื้อลงไป ประมาณ 10^5 cfu นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยไม่ต้องเขย่า ให้อากาศ ทำการเก็บตัวอย่างช่วงเวลาที่ 0 และ 24 เพื่อนำมาวัดค่า pH และนับจำนวนเซลล์ เชื้อไปโรไบโอติกจะทำการนับบนอาหาร MRS agar ในขณะที่เชื้อ *E. coli* และ *Sal. Typhimurium* จะทำการนับบนอาหาร EMB agar และ SS agar ตามลำดับ

2.6.2 การเจริญของเชื้อผสม (Defined-Mixed culture) ในน้ำผลไม้ โดยเตรียมน้ำผลไม้ปลอดเชื้อ จากนั้นทำการถ่ายเชื้อ แบคทีเรียแยกติกทั้ง 4 สายพันธุ์ปริมาณรวมประมาณ 10^8 cfu เชื้อ *E. coli* ปริมาณ 10^8 cfu และ *Sal. Typhimurium* ปริมาณ 10^8 cfu ลงไป ในน้ำผลไม้ขวดเดียวกัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยไม่ เขย่า เก็บตัวอย่างช่วงเวลาที่ 0, 12 และ 24 เพื่อวิเคราะห์จำนวนเชื้อแต่ละ ชนิดและค่า pH

2.6.3 การเจริญของเชื้อผสมจากทางเดินอาหาร (Fecal slurry study) โดยเตรียม fecal slurry จากอุจจาระทารกซึ่งผสมลงไป ในน้ำผลไม้ปลอดเชื้อในอัตราส่วน 5 เปอร์เซ็นต์ (w/v) บ่มที่อุณหภูมิ 37°C และเก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 12, 24 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์การ เปลี่ยนแปลงจำนวนเชื้อในกลุ่มจุลินทรีย์แลคติก, *E. coli* และ *Salmonella-Shigella* sp.

3. ผลการทดลองและวิจารณ์

3.1 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลในน้ำผลไม้

จากการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลด้วยวิธีการทางชีวเคมี ได้ผล การทดลองดังแสดงในตารางที่ 1 โดยพบว่าลำไยมีปริมาณน้ำตาลที่สูงมาก เมื่อเทียบกับผลไม้อีกสามชนิด โดยมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดอยู่ในช่วง ประมาณ 160-280 g/ kg เนื้อผลไม้ ในขณะที่ลิ้นจี่และสับปะรดมีน้ำตาล ทั้งหมดอยู่ในช่วงประมาณ 109-116 และ 80-120 g/ kg เนื้อผลไม้ ตามลำดับ และส้มเขียวหวานมีน้ำตาลในปริมาณน้อยที่สุด และเมื่อ คำนวณขนาดเฉลี่ยของโมเลกุลน้ำตาลในรูปของค่าจำนวนหน่วย (monomer) ก็พบว่าน้ำตาลในลิ้นจี่และส้มเขียวหวานมีขนาดเล็กที่สุด คือ มีจำนวนหน่วยของน้ำตาลอยู่ในช่วง 1-2 เท่านั้น กล่าวคือส่วนใหญ่เป็น

น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ในขณะที่น้ำตาลในสับปะรดและลำไยนั้น มีจำนวน หน่วยน้ำตาลเฉลี่ยอยู่ในช่วงประมาณ 3-4 และ 3-5 ตามลำดับ ซึ่งแสดง ให้เห็นว่ามีโอกาสพบโอลิโกแซคคาไรด์ในสับปะรดและลำไยมากกว่าใน ลิ้นจี่และส้มเขียวหวาน

3.2 การวิเคราะห์น้ำตาลกลุ่มฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในน้ำผลไม้

3.2.1 การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค TLC

เมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบของน้ำตาลในผลไม้ทั้ง 4 ชนิด ด้วย เทคนิค TLC แล้ว ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 1 จากผลการวิเคราะห์ พบว่าไม่สามารถตรวจพบน้ำตาล FOS ชนิด 1-คีส์โตส และนิสโตส ในน้ำ ลิ้นจี่ สับปะรดและส้มเขียวหวาน พบเพียงองค์ประกอบที่คาดว่าจะ เป็น น้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส และซูโครส ในปริมาณค่อนข้างสูง อย่างไรก็ตาม ก็สามารถตรวจพบน้ำตาล 1-คีส์โตส ในน้ำลำไยทั้ง 3 สายพันธุ์ แต่ไม่พบ น้ำตาลนิสโตสในน้ำผลไม้ชนิดใด นอกจากนี้ยังพบว่าในน้ำลำไยยังมี น้ำตาลที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่กว่าน้ำตาลนิสโตสอยู่อีกด้วย ดังจะเห็นได้ จากแถบน้ำตาลบริเวณจุดเริ่มต้นหยดสาร ซึ่งอาจเป็นน้ำตาล GF4 (1^F - β -fructofuranosylsynstose) หรืออาจเป็นโพลิเมอร์กลุ่มอินูลินก็ได้ เป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่ง เทคนิคการวิเคราะห์ด้วย TLC นี้แม้จะง่ายและ ประหยัด แต่ก็มีความไว (sensitivity) ในการวิเคราะห์ที่น้อย ดังนั้น อาจจะยังไม่สามารถสรุปได้ทันทีว่าน้ำลิ้นจี่และสับปะรดไม่มีน้ำตาล FOS เป็นองค์ประกอบ จึงต้องทำการศึกษาต่อไปด้วยเทคนิคที่มีความไวของ การตรวจวัดที่สูงกว่า นั่นคือ HPLC

3.2.2 วิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC

ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบและปริมาณน้ำตาลด้วยเทคนิค HPLC แสดงดังตารางที่ 2 ซึ่งพบผลสอดคล้องกับการศึกษาด้วยเทคนิค TLC ในกรณีของน้ำลิ้นจี่ที่ไม่สามารถตรวจพบน้ำตาล FOS ชนิด 1- คีส์โตส และนิสโตส และน้ำลำไยที่ตรวจพบน้ำตาล 1-คีส์โตส แต่ไม่ พบนิสโตส แต่ในกรณีของน้ำสับปะรดและส้มเขียวหวานทั้งสามสายพันธุ์ นั้น กลับให้ผลไม่สอดคล้องกัน กล่าวคือ สามารถตรวจน้ำตาล 1-คีส์โตส ในน้ำผลไม้เหล่านี้ด้วย โดยพบว่าปริมาณใกล้เคียงกับลำไยเมื่อคำนวณใน หน่วยกรัมน้ำตาลต่อกลีกรัมน้ำผลไม้ ในส่วนของน้ำตาลนิสโตสนั้นก็ ยังคงไม่สามารถตรวจพบได้ อย่างไรก็ตาม ผลการวิเคราะห์น้ำตาล ก็ แสดงให้เห็นว่าน้ำผลไม้ทั้ง 4 ชนิด (12 สายพันธุ์) มีองค์ประกอบหลักเป็น น้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส และซูโครส ซึ่งล้วนสามารถกระตุ้นการ เจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทุกสายพันธุ์ ทั้งไปโรไบโอติก จุลินทรีย์เจ้าถิ่น และเชื้อก่อโรคได้ แต่น้ำตาล FOS ที่ตรวจพบในน้ำผลไม้บางชนิดนี้ อาจ ส่งผลดีให้จุลินทรีย์ไปโรไบโอติก สามารถเจริญเติบโตได้ดีขึ้น อันจะส่งผล ให้เกิดสมดุลของประชากรจุลินทรีย์ในลำไส้ได้เร็วขึ้นก็เป็นได้ อย่างไรก็ตาม ตามเมื่อน้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส และซูโครสในผลไม้สามารถกระตุ้นการ เจริญของเชื้อก่อโรคได้ แต่ก็ไม่น่าเป็นห่วงนัก เนื่องจากมนุษย์เรายังเป็น ผู้บริโภค ก็สามารถดูดซึมน้ำตาลเหล่านี้ไปใช้ประโยชน์ในร่างกายก่อนที่ น้ำตาลเหล่านี้จะหลงเหลือไปยังแหล่งอาศัยของเชื้อก่อโรคในลำไส้ใหญ่ คงเหลือเพียงน้ำตาล FOS เท่านั้น

3.3 การศึกษาการกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียทดสอบโดยน้ำผลไม้

3.3.1 ทดสอบการเจริญของเชื้อแต่ละชนิดในน้ำผลไม้ (Single culture study)

หลังจากทำการเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดลงในน้ำผลไม้แต่ละสายพันธุ์ ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 2 โดยพบว่าน้ำลำไส้ทั้ง 3 สายพันธุ์ไม่กระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อ *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *E. coli* และ *S. Typhimurium* และยังพบว่าน้ำลำไส้สายพันธุ์จักรพรรดิก็ไม่กระตุ้นการเจริญของเชื้อ *L. plantarum* ด้วย ในขณะที่น้ำลำไส้ทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถกระตุ้นการเจริญของเชื้อ *L. lactis* ได้ดีมาก ส่วนการศึกษาในน้ำสับปะรดนั้น ก็พบว่าทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถกระตุ้นการเจริญของเชื้อ *L. lactis*, *E. coli* และ *S. Typhimurium* ได้ดีมาก ส่วนน้ำสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียและนางแลสามารถกระตุ้นการเจริญของเชื้อ *L. acidophilus* ได้ดีมากเช่นกัน ส่วนเชื้อ *L. plantarum* และ *L. bulgaricus* นั้นพบว่าถูกกระตุ้นการเจริญได้น้อยกว่า แต่เมื่อพิจารณาการใช้ลำไส้มือเพาะเลี้ยงเชื้อก็พบว่าลำไส้มือสามารถกระตุ้นการเจริญของเชื้อได้ทุกชนิด ซึ่งสามารถกระตุ้นการเจริญของโปรไบโอติกได้ดีกว่าเชื้อก่อโรคเล็กน้อย และสุดท้ายเมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยน้ำส้มเขียวหวาน ผลการทดลองพบว่าสายพันธุ์โอเซียนสามารถกระตุ้นได้เพียงการเจริญของ *L. lactis* และ *L. plantarum* เท่านั้น และยังเป็นที่น่าสนใจว่าน้ำส้มโอเซียน สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* และ *Sal. Typhimurium* ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *Sal. Typhimurium* ที่ไม่สามารถตรวจพบได้เลยเมื่อเลี้ยงในน้ำผลไม้ชนิดนี้ ส้มสายน้ำผึ้งก็เช่นเดียวกันที่พบว่าสามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* และ *Sal. Typhimurium* ได้ แต่น้ำส้มเขียวหวานสีทองกลับพบว่ายังได้เพียงการเจริญของ *E. coli* และเป็นการยับยั้งเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับส้มเขียวหวานสายพันธุ์อื่น แต่น้ำพันธุ์สีทองสามารถกระตุ้นการเจริญของเชื้อชนิดอื่นๆ ได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *L. lactis*

ปัจจัยที่ส่งผลให้การเจริญของเชื้อแต่ละสายพันธุ์เจริญในน้ำผลไม้แต่ละชนิดแตกต่างกันอาจเนื่องมาจากหลายปัจจัย เช่น ค่าความเป็นกรดต่าง และสารอาหาร เป็นต้น โดยพบว่าน้ำลำไส้และน้ำส้มเขียวหวานมีค่า pH ที่เป็นกรดสูงมาก อยู่ในช่วง 3.7-4.8 ดังนั้นจึงอาจเป็นปัจจัยที่ทำให้เชื้อเจริญได้น้อยกว่า ในขณะที่ลำไยมีค่า pH ที่อยู่ในช่วงกลาง ประมาณ 6.1-7.3 ประกอบกับมีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบสูงมาก จึงอาจเป็นสาเหตุทำให้มีเชื้อเจริญได้ทุกชนิด หรือแม้กระทั่งสารเมตาบอไลต์ต่างๆ ในน้ำผลไม้ก็มีส่วนช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ โดยมีรายงานว่าน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคได้หลายชนิด ได้แก่ *Streptococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli* และ *Salmonella Typhi* โดยในน้ำมันหอมระเหยที่สกัดได้นี้มีสาร D-limonene เป็นสารหลัก (Ayoola et al., 2008; Javed et al., 2011)

แม้ว่าเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่นำมาศึกษานี้ ก็สามารถเจริญในน้ำผลไม้หลายๆ ชนิดได้เช่นเดียวกับเชื้อโปรไบโอติก แต่ก็เป็นสิ่งที่ไม่เหนือการคาดการณ์ เพราะในน้ำผลไม้เหล่านี้มีสารอาหารโดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำตาลโมเลกุลเล็กอยู่ในปริมาณสูงที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของเชื้อชนิดนี้ แต่จากการที่ตรวจพบน้ำตาล FOS ในน้ำผลไม้บางชนิด ก็ทำให้คาดได้ว่าน้ำตาล FOS นี้จะช่วยกระตุ้นให้เชื้อโปรไบโอติกเจริญได้เร็วขึ้น แล้ว

ควบคุมการเจริญของเชื้อก่อโรคต่อไป น้ำตาลกลูโคสและฟรุคโตสเป็นน้ำตาลพื้นฐานที่จุลินทรีย์ทั้งโปรไบโอติกและเชื้อก่อโรคสามารถนำไปใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึมได้ ดังเช่นในงานชิ้นนี้ที่ใช้ *E. coli* และ *Sal. Typhimurium* ซึ่งก็มีรายงานว่าสามารถใช้ประโยชน์จากกลูโคส ฟรุคโตส รวมทั้งซูโครสได้ (Cohen and Roth, 1953; Ferenci and Kornberg, 1973; Schmid et al., 1982; Geerse et al., 1989) เนื่องจากมีเอ็นที่เกี่ยวกับการสังเคราะห์เอนไซม์ในกระบวนการเมแทบอลิซึมที่น้ำตาลเหล่านี้ ในขณะที่ยังไม่พบรายงานที่ระบุว่าทั้ง *E. coli* และ *Salmonella* spp. สามารถเมแทบอลิซึมน้ำตาลกลุ่ม FOS ได้ ดังเช่นรายงานของ Oyarzabal และ Conner (1995) ที่ศึกษาใน *Salmonella* spp. จำนวน 6 serotype (*Sal. California*, *Sal. enteritidis*, *Sal. Heidelberg*, *Sal. Mission*, *Sal. Senftenberg* และ *Sal. Typhimurium*) เกี่ยวกับการใช้น้ำตาล FOS ซึ่งก็พบว่าไม่สายพันธุ์ใดเลยที่สามารถใช้น้ำตาล FOS ได้

3.3.2 การเจริญของเชื้อผสม (Defined-Mixed culture) ในน้ำผลไม้

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงจำนวนประชากรของเชื้อแต่ละกลุ่มทั้งโปรไบโอติก แบคทีเรียเจ้าบ้าน และแบคทีเรียก่อโรค เมื่อเลี้ยงร่วมกันในน้ำผลไม้แต่ละชนิดแสดงในตารางที่ 3 การทดลองให้ผลไปในทิศทางเดียวกันในน้ำผลไม้ทั้ง 12 ชนิด คือการเจริญของเชื้อ *Sal. Typhimurium* ถูกยับยั้งจนไม่สามารถถูกตรวจวัดได้ในชั่วโมงที่ 24 ของการเพาะเลี้ยง แม้ไม่ได้เจือจางตัวอย่างในการนับเชื้อก็ตาม ยกเว้น *Sal. Typhimurium* ที่เลี้ยงในน้ำลำไยพันธุ์ชมพู ที่ยังสามารถตรวจพบได้บ้างเล็กน้อย สิ่งที่น่าสนใจอีกประการคือการเพาะเลี้ยงเชื้อผสมในน้ำส้มเขียวหวานทั้งสามสายพันธุ์ไม่สามารถตรวจพบ *Sal. Typhimurium* ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 12 ของการเพาะเลี้ยง ส่วน *E. coli* ที่เลี้ยงร่วมกันในน้ำลำไย สับปะรด และลำไย ก็พบว่าช่วง 12 ชั่วโมงแรกนั้นจะเพิ่มการเจริญเพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่หลังจากนั้นชั่วโมงที่ 24 ก็ไม่สามารถตรวจพบได้อีกเลย ยกเว้นการเพาะเลี้ยงในน้ำส้มเขียวหวานที่พบว่า การเจริญจะลดลงอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งไม่สามารถตรวจพบได้เลยในชั่วโมงที่ 24 สอดคล้องกับผลการทดลองจากการเพาะเลี้ยงเชื้อเดี่ยว ในขณะที่เชื้อแบคทีเรียแลคติกยังคงสามารถเจริญเติบโตได้ เมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำผลไม้ทุกชนิด แต่เจริญได้น้อยกว่าเมื่อเลี้ยงในน้ำส้มเขียวหวานเช่นเดียวกับที่พบจากผลการทดลองเลี้ยงเชื้อเดี่ยว ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเชื้อโปรไบโอติกทั้งสี่สายพันธุ์สามารถเจริญได้ดีกว่าเชื้อ *E. coli* และ *Sal. Typhimurium* และมีกลไกในการยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้งสอง โดยกลไกการยับยั้งอาจไม่ได้มาจากกรดที่โปรไบโอติกสร้างขึ้นอย่างเดียวเท่านั้น เพราะจากผลการทดลองการเพาะเลี้ยงเชื้อเดี่ยวที่ผ่านมา พบว่าทั้ง *E. coli* และ *Sal. Typhimurium* ยังคงเจริญได้แม้ pH จะลดต่ำลงโดยกลไกอื่นๆ ที่เป็นไปได้ นั่น ยกตัวอย่างเช่น Hydrogenperoxide และการผลิตสารกลุ่มแบคทีริโอซินโดยเชื้อ *Lactobacillus* spp. เช่น Lactacin B, Lactacin F และ Acidocin CH5 จากเชื้อ *L. acidophilus*, Nisin จากเชื้อ *L. lactis* และ Lactocin S จาก *L. sake* เป็นต้น (Barefoot and Klaenhammer, 1983; Parada et al., 2007) รวมไปถึงสารยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคที่พบในน้ำส้มเขียวหวานดังที่ได้เคยกล่าวไว้แล้วก็เป็นไป อย่างไรก็ตามผลการทดลองนี้ก็แสดงให้เห็นแล้วว่าหากบริโภคน้ำผลไม้เหล่านี้แล้ว แม้เชื้อก่อโรคบางสายพันธุ์จะสามารถ

เจริญได้ในน้ำผลไม้ได้ แต่ในที่สุดแบคทีเรียโปรไบโอติกก็จะสามารถเจริญ และควบคุมการเจริญของเชื้อก่อโรคได้

3.3.3 การเพาะเลี้ยงโดยใช้เชื้อผสมจากทางเดินอาหาร (Fecal slurry study)

แม้จะทราบว่าโปรไบโอติกสามารถควบคุมการเจริญของเชื้อก่อโรคได้เมื่อเพาะเลี้ยงร่วมกันในน้ำผลไม้ที่นำมาศึกษานี้ แต่ในความเป็นจริง จุลินทรีย์ในทางเดินอาหารของมนุษย์รวมทั้งสัตว์นั้นมีความหลากหลายเป็นอย่างมาก จำนวนเชื้อแต่ละชนิดก็ไม่เท่ากัน ดังนั้นจึงได้ทำการทดสอบการเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรจุลินทรีย์ที่พบในทางเดินอาหารจริงเมื่อนำมาเลี้ยงร่วมกันในน้ำผลไม้ โดยทำการติดตามการเปลี่ยนแปลงประชากรของจุลินทรีย์ 3 กลุ่ม ได้แก่ แบคทีเรียกรดแลคติก เชื้อ *E. coli* และ *Salmonella-Shigella* spp. ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4 ซึ่งจะเห็นได้ว่าเมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำลำไส้ สับปรดและลำไยแล้ว จำนวนเชื้อกลุ่มแบคทีเรียแลคติกได้เพิ่มขึ้นเป็นอย่างมากหลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 12 และลดลงเล็กน้อยเมื่อทำเพาะเลี้ยงต่อไปจนครบ 24 ชั่วโมง ยกเว้นการเพาะเลี้ยงในสับปรดทุกลและนางแลที่ลดลงเหลือน้อยกว่าเชื้อเริ่มต้นแต่ไม่มาก แต่ในกรณีที่ทำเพาะเลี้ยงในน้ำส้มเขียวหวานสายพันธุ์โอเซียน กลับพบว่าเชื้อกลุ่มนี้ลดลงอย่างต่อเนื่องและมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และในสายพันธุ์สุยน้ำผึ้งลดลงแต่ไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยแบคทีเรียแลคติกนี้ไม่ได้จำแนกว่าเป็นสายพันธุ์ใด

เมื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของเชื้อ *E. coli* ก็พบว่าในน้ำส้มเขียวหวาน เชื้อดังกล่าวไม่ได้เพิ่มจำนวนขึ้น แต่กลับลดจำนวนลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ในกรณีของสายพันธุ์สุยน้ำผึ้งและสีทอง ส่วนในลำไส้ สับปรดและลำไยนั้น จำนวนเชื้อดังกล่าวเพิ่มขึ้นในช่วงเวลาที่ 12 จากนั้นก็จะลดจำนวนลงในชั่วโมงที่ 24 ของการเพาะเลี้ยง โดยต่ำกว่าชั่วโมงที่ 0 สอดคล้องกับผลการศึกษาเชื้อผสมในหัวข้อ 3.2 ยกเว้น ผลการเพาะเลี้ยงในน้ำลำไส้พันธุ์จักรพรรดิที่พบว่าจำนวนเชื้อ *E. coli* ลดจำนวนลงอย่างต่อเนื่องและลำไยพันธุ์เขียวที่ยังพบการเจริญของ *E. coli* เพิ่มขึ้นเล็กน้อย และสุดท้ายในส่วนของการเชื้อกลุ่ม *Salmonella-Shigella* spp. นั้น พบว่าไม่สามารถอธิบายได้ว่ามีการเปลี่ยนแปลงเกิดขึ้นอย่างไร เนื่องจากอุจจาระจากทารกที่นำมาศึกษารุ่นนี้ ตรวจไม่พบว่ามีเชื้อกลุ่มดังกล่าวอาศัยอยู่ ด้วยวิธีการศึกษาแบบเดียวกันนี้ Wang และ Gibson (1993) ซึ่งศึกษาการเปลี่ยนแปลงของเชื้อกลุ่มต่างๆ ใน fecal slurry ที่เสริมด้วยน้ำตาล FOS และอินูลิน ก็ได้รายงานจำนวนของเชื้อกลุ่ม Bifidobacteria และ Lactobacilli ได้เพิ่มจำนวนขึ้นในขณะที่จำนวน *Clostridium* spp. และ *E. coli* ไม่เปลี่ยนแปลง

อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองนี้ก็แสดงให้เห็นแล้วว่า หากเราบริโภคลำไส้ หรือสับปรดลงไปแล้ว จะสามารถช่วยกระตุ้นการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแลคติก ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นเชื้อโปรไบโอติก และควบคุมการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ หรือแม้กระทั่งเชื้อก่อโรคกลุ่มอื่นๆ ที่ยังไม่ได้สามารถศึกษาในการวิจัยครั้งนี้ แต่ในความเป็นจริงแล้วยังมีปัจจัยอื่นๆ อีกมากมายที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อแต่ละกลุ่ม เนื่องจากน้ำตาลในผลไม้ส่วนใหญ่ ได้แก่ กลูโคส ฟรุคโตส และซูโครสนั้น มนุษย์ก็สามารถดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้เช่นกัน ทำให้หลงเหลือน้ำตาลไปยังจุลินทรีย์ในลำไส้เพียงบางส่วนเท่านั้น และน้ำตาลที่คาดว่าจะหลงเหลือไปลำไส้ก็คือน้ำตาลกลุ่ม FOS ซึ่งถ้าเป็นไปตามข้อสมมุติฐานนี้จริง ก็คาดว่าจะการเจริญของเชื้อก่อ

โรคและเชื้อเข้าบ้านก็น่าจะน้อยลงกว่านี้ และการทำงานควบคุมเชื้อเหล่านี้โดยเชื้อโปรไบโอติกก็จะมีประสิทธิภาพมากขึ้น

การวิจัยครั้งนี้ มีจุดมุ่งหมายทั้งสิ้น 2 ประเด็นใหญ่ โดยประเด็นแรกคือการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลุ่ม FOS ในผลไม้ทั้ง 4 ชนิด (12 สายพันธุ์) ซึ่งเป็นผลไม้เศรษฐกิจในเขตภาคเหนือของไทย หากเมื่อพบว่ามีน้ำตาลเหล่านี้เป็นองค์ประกอบอยู่แล้วก็จะได้มีการเผยแพร่ข้อมูลเพื่อส่งเสริมการบริโภคต่อไป และอีกประเด็นคือผลไม้เหล่านี้สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อโปรไบโอติกในร่างกายผู้บริโภคได้หรือไม่ ซึ่งผลการวิจัยโดยรวมก็พบว่า มีเพียงลำไยเท่านั้นที่ตรวจไม่พบน้ำตาล FOS และผลการทดลองยังพบอีกว่าน้ำผลไม้หลายชนิดสามารถกระตุ้นการเจริญของเชื้อโปรไบโอติกบางสายพันธุ์ที่นำมาทดสอบและกลุ่มแบคทีเรียแลคติกโดยรวมในทางเดินอาหารได้ ซึ่งก็คาดว่าจะรวมไปถึงเชื้อโปรไบโอติกด้วย แต่การเจริญดังกล่าวคาดว่าจะจะเป็นผลมาจากน้ำตาลชนิดอื่นๆ ร่วมด้วย ดังที่ได้กล่าวถึงไว้แล้วก่อนหน้านี้

แต่คำถามที่ตามมาอีกประการคือ น้ำตาล FOS ที่มีอยู่นั้นมีปริมาณเพียงพอที่จะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพผู้บริโภคได้หรือไม่ ประเด็นนี้ ผู้วิจัยวิเคราะห์ว่าผลไม้เหล่านี้ยังมีน้ำตาล FOS ในปริมาณที่น้อยเกินกว่าระดับที่จะก่อให้เกิดผลดีต่อสมดุลจุลินทรีย์ในลำไส้ หรือที่เรียกกันว่า “Bifidogenic effect” จากผลการวิเคราะห์น้ำตาลครั้งนี้ หากประมาณการว่ามีน้ำตาล FOS ในปริมาณ 1.5 กรัม/กก.เนื้อผลไม้ และโดยเฉลี่ยคนเรารับประทานผลไม้เหล่านี้วันละ 300 กรัม (เนื้อผลไม้) ดังนั้นร่างกายจะได้รับน้ำตาล FOS วันละเพียง 0.45 กรัม ซึ่งยังต่ำกว่าระดับที่มีการศึกษาไว้จากนักวิจัยอื่นๆ เช่น จากการศึกษาของ Bouhnik et al. (1998) ที่พบว่าหากให้อาสาสมัครบริโภคน้ำตาล FOS ปริมาณ 10-20 กรัมต่อวันแล้ว จะช่วยให้ประชากร Bifidobacteria ในทางเดินอาหารเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างชัดเจน แต่ถ้าให้ในปริมาณ เพียง 5 กรัมต่อวันแล้ว มีเพียง 75 เปอร์เซ็นต์ของอาสาสมัครที่มีการเพิ่มขึ้นของประชากร Bifidobacteria ซึ่งปริมาณน้ำตาล FOS ในผลไม้ 4 ชนิดนี้ยังน้อยกว่าระดับดังกล่าวมาก ดังนั้นในการผลิตน้ำผลไม้พร้อมดื่มก็อาจมีการเสริมน้ำตาล FOS ลงไปเพิ่มเติมได้ ดังเช่นในปี 2009 Renuka และคณะ ก็ได้รายงานถึงการผลิตน้ำสับปรด มะม่วงและน้ำส้มคั้นที่มีการเสริมน้ำตาล FOS จากแหล่งภายนอกลงไป ซึ่งก็จะทำให้มีน้ำตาล FOS อยู่ในระดับ 3.45-3.8 กรัม/ น้ำผลไม้ 100 มิลลิลิตร อย่างไรก็ตาม ในแต่ละวันผู้บริโภคก็อาจได้รับน้ำตาล FOS จากอาหารปกติที่รับประทานในแต่ละวันอยู่แล้ว ดังนั้นการรับประทานผลไม้ที่ศึกษาเหล่านี้ก็จะช่วยเสริมให้ได้รับน้ำตาล FOS ในปริมาณที่เพียงพอที่จะก่อให้เกิด Bifidogenic effect แก่ผู้บริโภคได้ ซึ่ง Gibson และ Wang (1994) ก็ได้รายงานโดยอ้างจาก Roberfroid และคณะ (1993) ว่าอาหารมาตรฐานของชาวตะวันตกในแต่ละวันนั้นจะมีน้ำตาล FOS เป็นองค์ประกอบอยู่ประมาณ 2-4 กรัม ดังนั้นการเผยแพร่ข้อมูลปริมาณน้ำตาล FOS และการส่งเสริมการบริโภคผลไม้ทั้ง 4 ชนิดจึงยังคงมีความสำคัญ แต่การบริโภคผลไม้บางชนิด เช่น ลำไย อาจมีข้อจำกัดในกลุ่มผู้บริโภคบางกลุ่มที่มีปัญหาเรื่องสุขภาพ เนื่องจากมีน้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส และซูโครส เป็นองค์ประกอบในปริมาณที่สูงมาก

4. สรุปผลการวิจัย

ผลไม้ทั้ง 4 ชนิดที่นำมาศึกษาครั้งนี้ ได้แก่ ลิ้นจี่ สับปะรด ลำไย และส้มเขียวหวาน พบว่าลำไยมีน้ำตาลในปริมาณสูงสุด คือ 16-28 เปอร์เซ็นต์ ตามมาด้วย ลิ้นจี่ สับปะรด และส้มเขียวหวาน ตามลำดับ ในขณะที่สามารถตรวจพบน้ำตาลกลุ่มฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์เพียงชนิดเดียว คือน้ำตาลคีลโตส ซึ่งพบได้ใน สับปะรด ลำไย และส้มเขียวหวาน เท่านั้น และพบในปริมาณใกล้เคียงกันคือประมาณ 0.1-0.16 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักเนื้อผลไม้สด นอกจากนี้ยังพบว่า มีน้ำผลไม้หลายชนิดที่สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อโปรไบโอติกได้ แต่กระตุ้นได้ในระดับที่แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำผลไม้และสายพันธุ์ของเชื้อโปรไบโอติก การเจริญของเชื้อโปรไบโอติกในน้ำผลไม้ จะช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* และ *Sal. Typhimurium* ที่นำมาทดสอบครั้งนี้ได้

อย่างไรก็ตาม แม้ว่าปริมาณน้ำตาลฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ซึ่งเป็นสารพรีไบโอติกที่มีคุณภาพดีนี้ จะพบในผลไม้ทั้ง 3 ชนิดในปริมาณที่ไม่สูงมาก แต่หากมีการส่งเสริมให้มีการบริโภคควบคู่กับอาหาร ผัก ผลไม้ทั่วไปในชีวิตประจำวันแล้ว ผู้วิจัยคาดว่าจะช่วยเสริมให้ร่างกายได้รับสารพรีไบโอติกที่เพียงพอ อันก่อให้เกิดคุณประโยชน์แก่ร่างกายได้

เอกสารอ้างอิง

Ayoola, G.A., Johnson, O.O., Adelowotan, T., Aibinu, I.E., Adenipekun, E., Adepoju-Bello, A.A., Coker, H.A.B. and Odugbemi, T.O. 2008. Evaluation of the chemical constituents and the antimicrobial activity of the volatile oil of *Citrus reticulata* fruit (Tangerine fruit peel) from South West Nigeria. *African Journal of Biotechnology* 7: 2227-2231.

Barefoot, S.F. and Klaenhammer, T.R. 1983. Detection and activity of lactacin B, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl Environ Microbiol* 45: 1808-1815.

Bourhnik, Y., Vahedi, K., Achour, L., Attar, A., Salfati, J., Pochart, P., Marteau, P., Bornet, F., and Rambaud, J. 1999. Short-chain Fructo-oligosaccharide administration dose-dependently increases fecal *Bifidobacteria* in healthy human. *J Nutrition* 129: 113-116.

Cohen, S.S. and Roth, L. 1953. The phosphogluconate pathway of carbohydrate metabolism in the multiplication of bacterial viruses. *J. Bacteriol.* 65: 490-495.

Ferenci, T. and Kornberg, H.L. 1973. The utilization of fructose by *Escherichia coli*. *Biochem. J.* 132: 341-347.

Geerse, R.H., Izzo, F. and Postma, P.W. 1989. The PEP: fructose phosphotransferase system in *Salmonella*

typhimurium: FPr combines enzyme III^{Fru} and pseudo-HPPr activities. *Mol Gen Genet* 216: 517-525.

Gibson, G. R., Beaty, E. R., Wang, X., and Cummings, J. H. 1995. Selective stimulation of bifidobacteria in the human colon by oligofructose and inulin. *Gastroenterology* 108 : 975-972.

Gibson, G. R., and Roberfroid, M.B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.* 125: 1401-1412.

Gibson, G.R. and Wang, X. 1994. Bifidogenic properties of different types of fructo-oligosaccharides. *Food Microbiol.* 11: 491-498.

Javed, S., Javaid, A., Mahmood, Z., Javaid, A. and Nasim, F. 2011. Biocidal activity of citrus peel essential oils against some food spoilage bacteria. *Journal of Medicinal Plants Research* 5: 3697-3701.

Kaplan, H. and Hutkins, R. W. 2003. Metabolism of fructooligosaccharides by *Lactobacillus paracasei* 1195. *Appl Environ Microbiol* 69: 2217-2222.

L'homme, C., Puigserver, A. and Biagini, A. 2003. Effect of food-processing on the degradation of fructooligosaccharides in fruit. *Food Chemistry* 82: 533-537.

Oyazabal, O.A. and Conner, D.E. 1995. *In vitro* fructooligosaccharide utilization and inhibition of *Salmonella* spp. by selected bacteria. *Poult Sci.* 74: 1418-1425.

Parada, J.L., Caron, C.R., Medeiros, A.B.P. and Soccol, C.R. 2007. Bacteriocins from lactic acid bacteria: Purification, properties and use as biopreservatives. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 50: 521-542.

Paull, R.E. and Chen, C. 2003. Post harvest Physiology, Handling and storage of pineapple. In "The pineapple, botany, production and uses". Bartholomew, D.P., Paull, R.E. and Rohrbach, K.G. (Eds). CABI Publishing, UK.

Renuka, B., Kulkarni, S.G., Vijayanand, P., and Prapulla, S.G. 2009. Fructooligosaccharide fortification of selected fruit juice beverages: Effect on the quality characteristics. *LWT-Food Science and Technology* 42: 1031-1033.

Schmid, K., Schupfner, M. and Schmitt, R. 1982. Plasmid-mediated uptake and metabolism of sucrose by *Escherichia coli* K-12. *Journal of Bacteriology* 151: 68-76.

Vaughan, J.G. and Geissler, C.A. 2009. The new oxford book of food plants. Oxford University Press Inc. U.S.A.

Wang, X., and Gibson, G. R. 1994. Effects of the *in vitro* fermentation of oligofructose and inulin by

bacteria growing in the human large intestine. *J Appl Bacteriol* 75: 373-380.

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณน้ำตาลในผลไม้แต่ละชนิด

ชนิดผลไม้	สายพันธุ์ผลไม้	%น้ำตาล	ปริมาณน้ำตาล* (g/kg เนื้อผลไม้) $\pm$ SD		
			Total sugar	Reducing sugar	DP**
ลิ้นจี่	โอวเฮียะ	10.9	109.53 $\pm$ 2.77	87.99 $\pm$ 0.00	1.24
	ฮงฮวย	11.3	112.96 $\pm$ 2.86	71.21 $\pm$ 1.76	1.59
	จักรพรรดิ	11.6	116.48 $\pm$ 2.34	84.13 $\pm$ 2.39	1.38
สับปะรด	ภูแล	8.0	80.22 $\pm$ 3.36	18.99 $\pm$ 0.82	4.22
	ปัตตาเวีย	10.9	108.94 $\pm$ 8.42	27.78 $\pm$ 3.81	3.92
	นางแล	11.9	119.57 $\pm$ 10.14	34.07 $\pm$ 3.86	3.51
ลำไย	เปี้ยวเขียว	24.2	242.07 $\pm$ 34.48	70.22 $\pm$ 1.37	3.45
	ชมพู	28.4	284.00 $\pm$ 33.23	57.34 $\pm$ 0.57	4.95
	ดอ	16.2	162.31 $\pm$ 25.00	51.20 $\pm$ 0.49	3.17
ส้ม	โอเชียน	5.6	56.38 $\pm$ 0.46	48.70 $\pm$ 0.20	1.15
	สายน้ำผึ้ง	4.7	46.61 $\pm$ 5.78	37.36 $\pm$ 0.04	1.25
	สีทอง	5.3	53.15 $\pm$ 0.23	40.70 $\pm$ 0.05	1.30

*วิเคราะห์ 3 ซ้ำ

**DP = Degree of polymerization

ตารางที่ 2 แสดงปริมาณน้ำตาลฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์และชนิดอื่นๆ ในเนื้อผลไม้แต่ละชนิดจากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

ชนิดผลไม้	สายพันธุ์ผลไม้	ปริมาณน้ำตาล (g/ kg เนื้อผลไม้)				
		ฟรุกโตส	กลูโคส	ซูโครส	1-คีสโตส	นิสโตส
ลิ้นจี่	โอวเฮียะ	72.98	82.01	37.99	ND*	ND
	ฮงฮวย	58.91	66.95	61.07	ND	ND
	จักรพรรดิ	64.46	73.82	41.62	ND	ND
สับปะรด	ภูแล	10.12	11.34	99.19	1.01	ND
	ปัตตาเวีย	18.06	19.08	124.20	1.17	ND
	นางแล	21.33	24.18	129.35	1.20	ND
ลำไย	เปี้ยวเขียว	39.52	60.37	159.22	1.63	ND
	ชมพู	18.69	27.10	159.17	1.18	ND
	ดอ	18.12	24.10	93.47	1.10	ND
ส้มเขียวหวาน	โอเชียน	26.99	33.11	90.19	1.26	ND
	สายน้ำผึ้ง	12.89	14.41	40.94	1.04	ND
	สีทอง	21.07	24.10	23.74	1.15	ND

*Not detected: มีปริมาณน้อยจนไม่สามารถตรวจวัดได้

ตารางที่ 3 การเปลี่ยนแปลงของจำนวนประชากรเชื้อทดสอบแต่ละกลุ่มเมื่อเลี้ยงร่วมกันในน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ

น้ำผลไม้	จำนวนเชื้อ (log[cfu/g feces])		
	0 hr	12 hr	24 hr
Lactic acid bacteria			
โอเฮียะ	6.51±0.60	12.23±1.90	12.08±0.52
ฮงฮวย	6.66±0.69	12.05±1.65	12.82±0.93
จักรพรรดิ	6.63±0.21	9.14±0.03	10.74±0.83
กุแล	6.94±0.11	10.77±1.12	11.45±1.25
ปัดดาเวีย	6.94±0.11	12.18±0.98	12.97±1.01
นางแล	7.07±0.07	12.30±1.02	12.51±0.64
เปี้ยวเขียว	8.09±0.16	15.76±0.09	19.28±0.04
ดอ	8.89±0.16	12.94±0.02	16.18±0.14
ชมพู	9.82±0.03	14.97±0.25	19.39±0.10
โอเชียน	6.98±0.03	8.19±0.03	11.38±0.03
สายน้ำผึ้ง	7.06±0.11	8.00±0.03	10.90±0.03
สีทอง	8.19±0.07	9.26±0.01	11.05±0.05
<i>E. coli</i>			
โอเฮียะ	7.37±0.48	7.61±0.79	NA
ฮงฮวย	7.26±0.64	7.33±0.62	NA
จักรพรรดิ	8.58±1.70	6.43±0.75	NA
กุแล	7.74±0.37	8.33±0.74	NA
ปัดดาเวีย	8.27±1.04	8.85±0.03	NA
นางแล	8.03±1.19	9.72±0.09	NA
เปี้ยวเขียว	7.82±0.21	11.84±0.01	NA
ดอ	7.85±0.07	10.99±0.07	NA
ชมพู	8.68±0.08	9.86±0.39	NA
โอเชียน	7.01±0.13	1.00±1.73	NA
สายน้ำผึ้ง	7.07±0.06	3.54±0.28	NA
สีทอง	6.95±0.05	4.40±0.24	NA
<i>Salmonella-Shigella</i>			
โอเฮียะ	7.92±0.91	6.40±1.01	NA
ฮงฮวย	7.40±1.74	6.71±0.16	NA
จักรพรรดิ	8.23±1.54	5.13±0.94	NA
กุแล	8.66±0.45	6.40±0.09	NA
ปัดดาเวีย	8.59±1.11	8.58±0.17	NA
นางแล	7.82±0.79	8.91±0.00	NA
เปี้ยวเขียว	8.91±0.25	8.06±0.09	NA
ดอ	8.02±0.03	8.20±0.07	NA
ชมพู	9.81±0.04	7.66±0.05	1.73±1.00
โอเชียน	6.84±0.06	NA	NA
สายน้ำผึ้ง	6.89±0.06	NA	NA
สีทอง	6.80±0.01	NA	NA

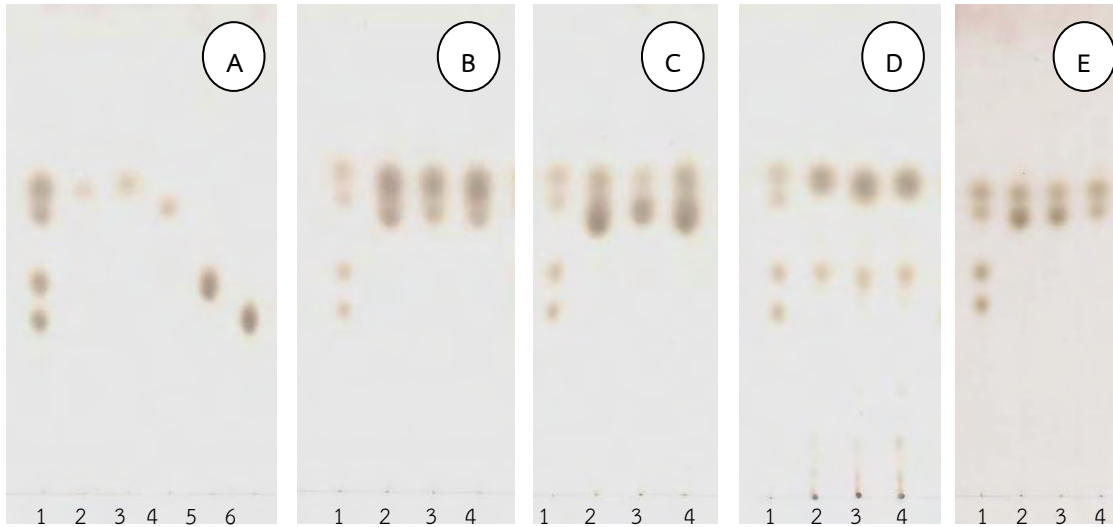
หมายเหตุ: *ND = not detected (ไม่สามารถตรวจพบได้)

ตารางที่ 4 แสดงการเปลี่ยนแปลงจำนวนประชากรจุลินทรีย์จากทางเดินอาหารมนุษย์เมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ

น้ำผลไม้	จำนวนเชื้อ (log[cfu/g feces])		
	0 hr	12 hr	24 hr
Lactic acid bacteria			
โอเฮียะ	7.31±0.04 ^c	9.28±0.01 ^a	9.11±0.07 ^b
ฮงฮวย	7.74±0.02 ^b	9.82±0.11 ^a	9.58±0.09 ^a
จักรพรรดิ	7.28±0.07 ^a	8.12±0.03 ^a	8.11±0.16 ^a
กุแล	7.52±0.06 ^b	8.86±0.00 ^a	7.45±0.02 ^b
ปัดดาเวีย	7.62±0.08 ^c	8.80±0.02 ^a	8.17±0.00 ^b
นางแล	7.76±0.02 ^a	-	7.61±0.05 ^b
เปี้ยวเขียว	7.75±0.07 ^c	9.70±0.03 ^a	9.39±0.02 ^b
ดอ	7.78±0.01 ^c	10.16±0.01 ^a	9.89±0.04 ^b
ชมพู	7.55±0.03 ^c	9.70±0.06 ^b	9.94±0.05 ^a
โอเชียน	7.93±0.11 ^a	7.64±0.03 ^b	7.37±0.01 ^c
สายน้ำผึ้ง	8.03±0.01 ^a	7.88±0.14 ^a	7.92±0.04 ^a
สีทอง	7.02±0.06 ^b	7.94±0.06 ^a	7.85±0.27 ^a
<i>E. coli</i>			
โอเฮียะ	7.96±0.02 ^a	8.05±0.09 ^a	7.19±0.04 ^b
ฮงฮวย	ND*	7.51±0.09 ^b	7.72±0.06 ^a
จักรพรรดิ	7.98±0.06 ^a	6.85±0.09 ^a	6.86±0.10 ^a
กุแล	7.34±0.14 ^a	7.44±0.04 ^a	6.08±0.12 ^b
ปัดดาเวีย	5.27±0.04 ^b	7.67±0.16 ^a	5.30±0.00 ^b
นางแล	7.35±0.10 ^b	7.66±0.00 ^a	7.54±0.05 ^{ab}
เปี้ยวเขียว	ND	5.81±0.00 ^b	6.18±0.03 ^a
ดอ	ND	7.23±0.08 ^a	6.16±0.04 ^b
ชมพู	ND	6.95±0.00 ^a	6.15±0.04 ^b
โอเชียน	5.67±0.02 ^a	5.40±0.24 ^a	5.82±0.03 ^a
สายน้ำผึ้ง	5.80±0.01 ^a	5.78±0.03 ^a	5.10±0.25 ^b
สีทอง	5.83±0.01 ^a	5.77±0.01 ^b	5.30±0.01 ^c
<i>Salmonella-Shigella</i>			
โอเฮียะ	ND	ND	ND
ฮงฮวย	ND	ND	ND
จักรพรรดิ	ND	ND	ND
กุแล	ND	ND	ND
ปัดดาเวีย	ND	ND	ND
นางแล	ND	ND	ND
เปี้ยวเขียว	ND	ND	ND
ดอ	ND	ND	ND
ชมพู	ND	ND	ND
โอเชียน	ND	ND	ND
สายน้ำผึ้ง	ND	ND	ND
สีทอง	ND	ND	ND

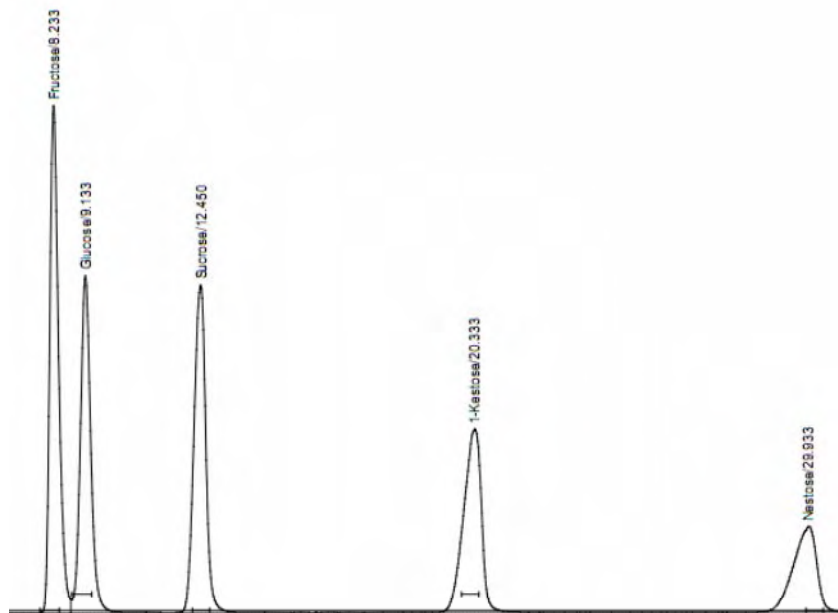
หมายเหตุ: *ND = not detected (ไม่สามารถตรวจพบได้)

ตัวอักษรท้ายค่าตัวเลขหมายถึงความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยเป็นการเปรียบเทียบจำนวนเชื้อของแต่ละเวลาการบ่มเชื้อของน้ำผลไม้แต่ละชนิด

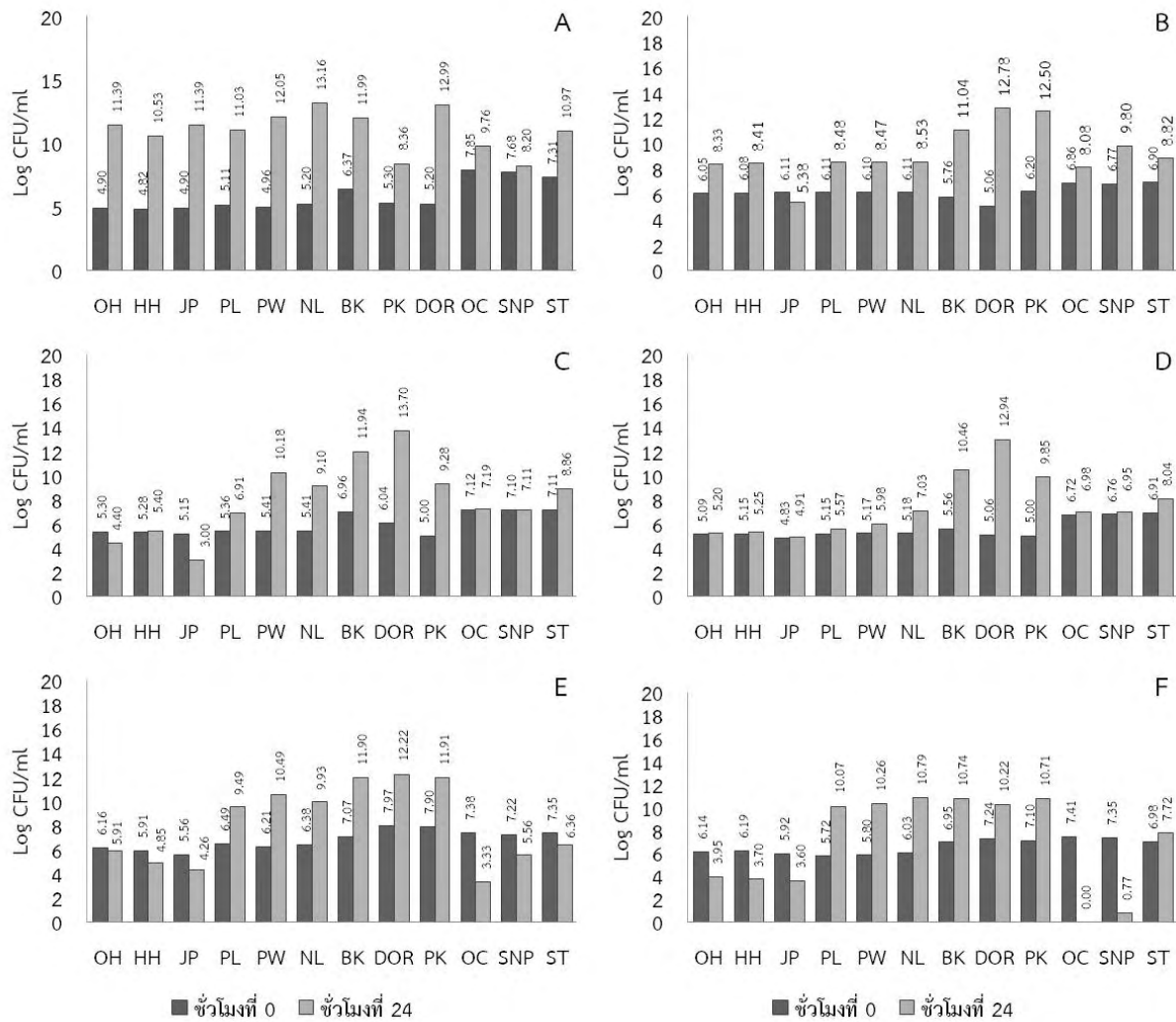


ภาพที่ 1 แสดงองค์ประกอบของน้ำตาลชนิดต่างๆ ในผลไม้จากการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค TLC

หมายเหตุ: A = น้ำตาลมาตรฐาน โดย lane 1 : น้ำตาลผสม 5 ชนิด, lane 2 : กลูโคส, lane 3 : ฟรุคโตส, lane 4 : ซูโครส, lane 5 : 1- คีส์โตส, lane 6 : นีสโตส
 B = ลีนจี โดย lane 1 : น้ำตาลมาตรฐาน, lane 2 : พันธุ์ฮวย, lane 3 : พันธุ์จักรพรรดิ, lane 4 : พันธุ์เอเซียะ
 C = สับปะรด โดย lane 1 : น้ำตาลมาตรฐาน, lane 2 : พันธุ์นางแล, lane 3 : พันธุ์ภูแล, lane 4 : พันธุ์ปัตตาเวีย
 D = ลำไย โดย lane 1 : น้ำตาลมาตรฐาน, lane 2 : พันธุ์ดอ, lane 3 : พันธุ์เปี้ยวเขียว, lane 4 : พันธุ์ชมพู
 E = ส้มเขียวหวาน โดย lane 1 : น้ำตาลมาตรฐาน, lane 2 : พันธุ์โอเชียน, lane 3 : พันธุ์สายน้ำผึ้ง, lane 4 : พันธุ์สีทอง



ภาพที่ 2 แสดงโครมาโตแกรมของน้ำตาลมาตรฐาน 5 ชนิด เมื่อวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC



ภาพที่ 3 การเจริญของเชื้อทดสอบ (A = *L. lactis*; B = *L. plantarum*, C = *L. acidophilus*, D = *L. bulgaricus*, E = *E. coli*, F = *Sal. Typhimurium*) เมื่อเลี้ยงในน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ

หมายเหตุ: OH = โอเฮียะ, HH = ฮงฮวย, JP = จักรพรรดิ, PL = ภูแล, PW = ปัตตาเวีย, NL = นางแล, BK = เปี้ยวเขียว, DOR = ดอ, PK = ชมพู, OC = โอเซียน, SNP = สายน้ำผึ้ง, ST = สีสทอง