ผลของพรีไบโอติกต่อความเสถียรของ

Lactobacillus plantarum TISTR 862 ในเยลลี่คาร์ราจีแนน

EFFECT OF PREBIOTIC ON STABILITY OF

Lactobacillus plantarum TISTR 862 IN CARRAGEENAN JELLY

ธัญสิตา วงศ์ทอง

นพดล เลิศกุลทิพย์

ฐิติภา สาดโพล้ง

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

ผลของพรีไบโอติกต่อความเสถียรของ

Lactobacillus plantarum TISTR 862 ในเยลลี่คาร์ราจีแนน

EFFECT OF PREBIOTIC ON STABILITY OF

Lactobacillus plantarum TISTR 862 IN CARRAGEENAN JELLY

จัดทำโดย

ธัญสิตา วงศ์ทอง รหัสนักศึกษา 58080102

นภดล เลิศกุลทิพย์ รหัสนักศึกษา 58080103

ฐิติภา สาดโพล้ง รหัสนักศึกษา 58080226

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก ...../...../.....

วิรามศรี ศรีพจนารถ

(ดร.วิรามศรี ศรีพจนารถ)

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อปัญหาพิเศษ	ผลของพรีไบโอติกต่อความเสถียรของ *Lactobacillus plantarum* TISTR 862 ในเยลลี่คาร์ราจีแนน
ชื่อนักศึกษา	ธัญสิตา วงศ์ทอง 58080102
	นพดล เลิศกุลทิพย์ 58080103
	ฐิติภา สาดโพล้ง 58080226
หลักสูตร	วิทยาศาสตรบัณฑิต เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม
พ.ศ.	2561
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.วิรามศรี ศรีพจนารถ

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ต้องการเตรียมเยลลี่คาร์ราจีแนนเพื่อสุขภาพด้วยการเสริมโพรไบโอติกและพรีไบโอติก มีวัตถุประสงค์เพื่อการศึกษาผลของพรีไบโอติกที่ผสมในเยลลี่คาร์ราจีแนน ต่อการรอดชีวิตของ *L. plantarum* TISTR 862 ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน และในสภาวะระบบย่อยอาหารจำลอง และเพื่อศึกษาผลของพรีไบโอติกต่อลักษณะทางกายภาพของเยลลี่คาร์ราจีแนน โดยใช้พรีไบโอติก 2 ชนิด คือ กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (GOS) และ ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS) พบว่าเยลลี่คาร์ราจีแนนที่ผสมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ มีปริมาณ *L. Plantarum* TISTR 862 มากที่สุดเท่ากับ 6.7 log CFU/g เมื่อเก็บรักษาไว้เป็นเวลา 28 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในขณะที่เยลลี่คาร์ราจีแนน ที่ผสมกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ มีปริมาณ *L. Plantarum* TISTR 862 น้อยที่สุดเพียง 3.6 log CFU/g ผลการศึกษาการรอดชีวิตในสภาวะจำลองการย่อยอาหารพบว่า *L. Plantarum* TISTR 862 ในเยลลี่คาร์ราจีแนนที่ผสมและไม่ผสมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สามารถรอดชีวิตในสภาวะจำลองการย่อยอาหารได้จนถึงลำไส้เล็ก แต่ *L. plantarum* TISTR 862 ในเยลลี่คาร์ราจีแนนที่ผสมกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ไม่สามารถทนต่อสภาวะจำลองการย่อยอาหารได้ นอกจากนี้ การศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพของเยลลี่คาร์ราจีแนนแสดงให้เห็นว่า เนื้อสัมผัสของเยลลี่คาร์ราจีแนนที่ผสมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ มีค่าความแข็ง ค่าความยืดหยุ่น และค่าการทนต่อการเคี้ยว มากกว่าเยลลี่คาร์ราจีแนนที่ผสมกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ จากผลการทดลองสรุปได้ว่าฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์สามารถเพิ่มโอกาสรอดชีวิตของเชื้อ *L. Plantarum* TISTR 862 ในเยลลี่คาร์ราจีแนน ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 28 วัน และในสภาวะระบบย่อยอาหารจำลอง ได้ดีกว่ากาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์

คำสำคัญ : โพรไบโอติก พรีไบโอติก เยลลี่ คาร์ราจีแนน *Lactobacillus plantarum* กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special problem little	Effect of prebiotic on stability of *Lactobacillus plantarum* TISTR 862 in carrageenan jelly
Student name	Thansita wongtong 58080102
	Nopadon Loetkuntip 58080103
	Thitipa Sadplong 58080226
Program	Bachelor of Science in Industrial Fermentation Technology
Year	2019
Advisor	Dr. Wiramsri Sriphochanart

ABSTRACT

This research prepared carrageenan jelly for health by adding probiotic and prebiotic. The objectives were to study an effect of prebiotics on the survival of *L. plantarum* TISTR 862 in carrageenan jelly during the storage at 4 °C for 28 days and in simulated digestive system and to study effect of prebiotic on the physical characteristics of carrageenan jelly. Two types of prebiotic including galacto-oligosaccharide (GOS) and fructo-oligosaccharides (FOS) were used. It was found that the carrageenan jelly mixed with FOS had the highest amount of *L. plantarum* TISTR 862 at the level of 6.7 log CFU/g when stored for 28 days at 4 °C. On the other hand, the carrageenan jelly containing GOS the lowest amount of *L. plantarum* TISTR 862, which was 3.6 log CFU/g. The result of simulated digestive system revealed that *L. plantarum* TISTR 862 in carrageenan jelly mixed with FOS could pass though the simulated digestive system and survive in the small intestine, while *L. plantarum* TISTR 862 in carrageenan jelly mixed with GOS could not tolerate the simulated digestive system. In addition, physical properties of carrageenan jelly samples showed that texture characteristics of carrageenan jelly mixed with FOS had higher values of hardness, springiness, gumminess and chewiness than that of carrageenan jelly mixed with GOS. The results concluded that with FOS could improve viable cell of *L. plantarum* TISTR 862 in carrageenan jelly during storage at 4 °C for 28 days and simulated digestive system when compared with GOS.

Keywords: Probiotic, Prebiotic, Jelly, Carrageen, *Lactobacillus plantarum*, Galacto-oligosaccharides, Fructo-oligosaccharides

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้อย่างสมบูรณ์ด้วยความความกรุณาจาก ดร.วิรามศรี ศรีพจนารถ อาจารย์ที่ปรึกษางานวิจัย ที่ได้ให้คำแนะนำและข้อคิดเห็นต่าง ๆ อันเป็นประโยชน์ต่อการทำงานวิจัย พร้อมทั้งช่วยตรวจทานและแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ด้วยความเอาใจใส่อย่างดียิ่ง ขอขอบพระคุณอาจารย์และนักวิทยาศาสตร์ทุกท่านในคณะอุตสาหกรรมเกษตรที่มีส่วนในการช่วยเหลือและให้คำแนะนำต่าง ๆ ตลอดการทำงานวิจัย ขอบคุณคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่สนับสนุนทุนวิจัยสำหรับโครงการนี้ และสุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา ครอบครัว เพื่อน และพี่น้องทุกท่านที่ให้กำลังใจและให้การสนับสนุนในทุก ๆ ด้านตลอดจนงานวิจัยนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ธัญสิตา วงศ์ทอง
นพดล เลิศกุลทิพย์
ฐิติภา สาดโพล้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....II

กิตติกรรมประกาศ.....III

สารบัญ.....IV

สารบัญตาราง.....VII

สารบัญภาพ.....VIII

บทที่ 1 บทนำ.....1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....1

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา.....2

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....2

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....3

2.1 โพรไบโอติก (Probiotic).....3

2.2 พรีไบโอติก (Prebiotic).....5

2.3 ซินไบโอติก (Synbiotic).....9

2.4 เอนแคปซูเลชั่น(Encapsulation).....9

2.5 คาร์ราจีแนน (Carrageenan).....10

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง....14

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี....14

3.2 อุปกรณ์....15

3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง....16

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์....22

4.1 ผลการรอดชีวิตของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในเยลลี่ ที่สภาวะเก็บรักษา 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลาทั้งหมด 28 วัน....22

4.2 ผลการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในเยลลี่ ที่สภาวะเก็บรักษา 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลาทั้งหมด 28 วัน....25

4.3 การเปลี่ยนแปลงค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ระหว่างการเก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน....27

4.4 การเปลี่ยนแปลงความชื้นระหว่างการเก็บรักษาที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน....29

4.5 ผลการรอดชีวิตของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในเยลลี่ที่สภาวะระบบย่อยอาหารจำลอง....30

4.6 การวิเคราะห์เนื้อสัมผัส....32

บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ....35

บรรณานุกรม....36

ภาคผนวก....41

ภาคผนวก ก....42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

ภาคผนวก ข.....43

ภาคผนวก ค.....45

ประวัติผู้เขียน.....55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

3.1 อัตราส่วนของเยลลี่แต่ละสูตรในสัดส่วนเยลลี่ 100 กรัม....17

3.2 Texture analysis setting....21

4.1 ตัวอย่างเยลลี่ที่ใช้สำหรับการทดทอง....22

4.2 ความเข้มข้นของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในเยลลี่....
ที่สภาวะเก็บรักษา 4 องศาเซลเซียลเป็นเวลาทั้งหมด 28 วัน....23

4.3 ค่าพีเอชของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในเยลลี่....
ที่สภาวะเก็บรักษา 4 องศาเซลเซียล เป็นเวลาทั้งหมด 28 วัน....26

4.4 การรอดชีวิตของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในตัวอย่าง....
เยลลี่ที่สภาวะระบบย่อยอาหารจำลอง....31

4.5 ลักษณะทางเนื้อสัมผัสของตัวอย่างเยลลี่....33

ก.1 ส่วนผสมในเยลลี่....42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

2.1 โพรไบโอติก....3

2.2 กลไกลการทำงานของเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลส....5

2.3 ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์....6

2.4 แลคตูโลส....7

2.5 กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์....7

2.6 เอนแคปซูเลชั่น....10

2.7 โครงสร้างคาร์ราจีแนน....10

4.1 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในเยลลี่....23
ที่สภาวะเก็บรักษา 4 องศาเซลเซียล เป็นเวลาทั้งหมด 28 วัน....

4.2 ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ของเยลลี่คาร์ราจีแนน ที่สภาวะเก็บรักษา....28
4 องศาเซลเซียล เป็นเวลาทั้งหมด 28 วัน....

4.3 ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ของเยลลี่คาร์ราจีแนน ที่สภาวะเก็บรักษา....29
4 องศาเซลเซียลเป็นเวลาทั้งหมด 28 วัน....

4.4 การรอดชีวิตของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในตัวอย่างเยลลี่....
ที่สภาวะระบบย่อยอาหารจำลอง....30

ค.1 ผลของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในตัวอย่างที่เก็บรักษาไว้ที่.....
อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 28 วัน ในตัวอย่าง Free cell 45

ค.2 ผลของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในตัวอย่างที่เก็บรักษาไว้ที่.....
อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 28 วัน ในตัวอย่าง No prebiotic 46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.3 ผลของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในตัวอย่างที่เก็บรักษาไว้ที่.....
อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 28 วัน ในตัวอย่าง FOS 48

ค.4 ผลของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในตัวอย่างที่เก็บรักษาไว้ที่.....
อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 28 วัน ในตัวอย่าง GOS.....49

ค.5 ผลการรอดชีวิตของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 .....
สภาวะระบบย่อยอาหารจำลองในตัวอย่าง Free cell.....50

ค.6 ผลการรอดชีวิตของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 .....
สภาวะระบบย่อยอาหารจำลองในตัวอย่าง No prebiotic.....50

ค.7 ผลการรอดชีวิตของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 .....
สภาวะระบบย่อยอาหารจำลองในตัวอย่าง FOS.....52

ค.8 ผลการรอดชีวิตของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 .....
สภาวะระบบย่อยอาหารจำลองในตัวอย่าง GOS.....53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ในระบบการย่อยอาหารในร่างกายของมนุษย์นั้น ประกอบด้วยเชื้อจุลินทรีย์เป็นจำนวนมาก ตัวอย่างเช่น ในลำไส้ที่มีเชื้อจุลินทรีย์มากกว่า 500 สายพันธุ์ ซึ่งมีทั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ดีและเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค ดังนั้นเพื่อที่จะสร้างสภาวะสมดุลในระบบย่อยอาหารของร่างกาย มนุษย์จึงจำเป็นต้องมีเชื้อจุลินทรีย์ที่ดีในระบบย่อยอาหารมากกว่าเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่ดีจะช่วยในการปรับสมดุลของแบคทีเรียในลำไส้ ช่วยในเรื่องระบบการย่อยอาหาร และยังสามารถช่วยเพิ่มระบบคุ้มกันให้กับระบบทางเดินอาหารอีกด้วย ซึ่งถ้าหากในระบบทางเดินอาหารนั้นมีเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคมากกว่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ดี ก็จะส่งผลให้ระบบการย่อยอาหารของร่างกายเกิดการสูญเสียสมดุล และทำให้เกิดปัญหาต่าง ๆ ตามมาเช่น ปัญหาระบบทางเดินอาหารผิดปกติหรือติดเชื้อได้ง่ายมากขึ้น (ศัลยา, 2557)

นอกจากนี้ยังมีอีกหลายปัจจัยที่ทำให้แบคทีเรียในลำไส้เสียสมดุล เช่น การทานยาปฏิชีวนะที่บ่อยหรือใช้ติดต่อกันเป็นเวลานาน อาจทำลายสมดุลของแบคทีเรียในลำไส้ เพราะยาปฏิชีวนะนั้นสามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่ดีในลำไส้ได้ หรือการที่มีอายุเพิ่มมากขึ้นโดยงานวิจัยของ Bedani และคณะ (2016) ได้กล่าวว่ากระบวนการชราภาพมีผลทำให้จุลินทรีย์ในลำไส้ เปลี่ยนแปลงโดยเฉพาะอย่างยิ่งในผู้สูงอายุจะมีความหลากหลายของจุลินทรีย์ลดลง จำนวนจุลินทรีย์ที่ดีมีจำนวนลดลงและจุลินทรีย์ก่อโรคมีจำนวนเพิ่มขึ้น ทำให้เกิดโรคเพิ่มขึ้น เช่น โรคความดันโลหิตสูง โรคมะเร็งลำไส้ เป็นต้น อีกทั้งการเปลี่ยนแปลงทางร่างกายและระบบการย่อยอาหาร สามารถทำงานน้อยลงและไม่เป็นปกติ เช่น การบีบตัวของลำไส้น้อยลง การย่อยและดูดซึมในลำไส้ไม่สมบูรณ์ทำให้มีของเสียตกค้างมาก ส่งผลให้ขับถ่ายได้น้อยลง เมื่อของเสียยิ่งค้างในลำไส้นานน้ำจึงถูกดูดกลับไป มีผลให้ขับถ่ายได้ยากขึ้น จึงเป็นผลให้สภาวะในลำไส้มีการเปลี่ยนแปลงไป

ซึ่งการที่จะทำให้ระบบย่อยของร่างกายมีความสมดุล ร่างกายจึงจำเป็นต้องเพิ่มจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ดีเข้าสู่ระบบการย่อยอาหาร ทำได้โดยการรับประทานเชื้อจุลินทรีย์ที่ดีเสริมเข้าไป เช่นการรับประทานโพรไบโอติก (Probiotic) ซึ่งโพรไบโอติก คือ จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย มีผลต่อสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ มีสมบัติในการทนต่อสภาวะที่เป็นกรดในกระเพาะอาหารและทนต่อเกลือน้ำดีในลำไส้ โดยส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียในกลุ่ม Lactobacilli และ Bifidobacteria เช่น *Lactobacillus plantarum, L. acidophilus, L. casei, L. bulgaricu, Bifidobacteriam lactis, B. bifidum,* เป็นต้น ซึ่งโพรไบโอติกที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์ที่รับประทานต้องมีจำนวนโพรไบโอติกที่มีชีวิตอย่างน้อย 10^6 CFU ต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้การ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รับประทานสารในกลุ่มพรีไบโอติก ซึ่งเป็นอาหารของโพรไบโอติก จะช่วยส่งเสริมโพรไบโอติกให้เพิ่มจำนวนและมีประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้น

ฉะนั้นงานวิจัยนี้ต้องการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารฟังก์ชัน (Functional food) ที่มีลักษณะเป็นเยลลี่ส่งเสริมโพรไบโอติก และพรีไบโอติก เพื่อเป็นอาหารทางเลือกสำหรับผู้มีปัญหาด้านการเคี้ยว เช่น ผู้ป่วย และคนชรา

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาผลของพรีไบโอติกต่อการรอดชีวิตของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในผลิตภัณฑ์เยลลี่คาร์ราจีแนน

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของพรีไบโอติกต่อลักษณะทางกายภาพของเยลลี่คาร์ราจีแนน

1.2.3 เพื่อศึกษาผลของพรีไบโอติก ที่ผสมในเยลลี่คาร์ราจีแนนต่อการรอดชีวิตของ *L. plantarum* TISTR 862 ในสภาวะระบบย่อยอาหารจำลอง

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 สามารถผลิตผลิตภัณฑ์เสริมโพรไบโอติก เพื่อเป็นทางเลือกใหม่ให้แก่ผู้ป่วย หรือผู้สูงอายุได้

1.3.2 สามารถนำความรู้ หรือข้อมูลจากการทดลองเพื่อใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์เสริมโพรไบโอติกให้มีประสิทธิภาพที่ดีมากยิ่งขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 โพรไบโอติก (Probiotic)

โพรไบโอติก หมายถึง จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารที่มีประโยชน์ต่อผู้บริโภค มีผลต่อความสมดุลของจุลินทรีย์ภายในลำไส้ มีสมบัติในการทนต่อสภาวะที่เป็นกรดในกระเพาะอาหาร และทนต่อเกลือน้ำดีในลำไส้ สามารถผลิตกรดแลคติก และสร้างสารยับยั้งแบคทีเรียชนิดอื่นได้ อีกทั้งยังทำให้เกิดสมดุลในระบบการย่อยอาหาร การขับถ่าย ช่วยในการพัฒนาสุขภาพของมนุษย์และสัตว์ให้ดีขึ้น ซึ่งประโยชน์ของโพรไบโอติกที่มีผลต่อสุขภาพ (นวลจันทร์, 2533) เช่น โพรไบโอติกสามารถช่วยต่อต้านจุลินทรีย์ก่อโรค ต้านการอักเสบ ลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด ยับยั้งโรคอ้วน โรคมะเร็ง และโรคภูมิแพ้ โดยตัวอย่างของเชื้อโพรไบโอติก ได้แก่ *Bifidobacteriam lactis, B. bifidum, B. adolescentis, B. animalis, B. breve, B. pseudolongum, Lactobacillus plantarum, L. acidophilus, L. casei, L. Bulgaricu, Streptococcus thermophilu* เป็นต้น ซึ่งเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกนั้นสามารถคัดแยกได้จากแหล่งต่างๆ เช่น โยเกิร์ต น้ำผลไม้ ชีสจากการบ่ม (Aged cheese) คีเฟอร์ (Kefir หรือ บัวหิมะธิเบต) กะหล่ำปลีดอง มิโซะ (Miso-เต้าเจี้ยวญี่ปุ่น) เทมเป้ (Tempeh หรือ ถั่วเหลืองหมัก) กิมจิ (Kimchi) เครื่องดื่มจากถั่วเหลือง ผักดอง

(ก) (ข)

ภาพที่ 2.1 โพรไบโอติก

(ก) *Bifidobacteriam lactis*

(ข) *Lactobacillus plantarum*

ที่มา Fengchen (2002)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.1 คุณสมบัติของโพรไบโอติก

โพรไบโอติกที่ดีจะต้องมีคุณสมบัติดังต่อไปนี้ (จุฬาลักษณ์, 2553)

2.1.1.1 สามารถสร้างกรดแลกติก และปรับสภาพของระบบทางเดินอาหารให้อยู่ในสภาพที่คลอโรฟอร์มเจริญได้ยาก

2.1.1.2 มีคุณสมบัติในการทนต่อกรดในกระเพาะอาหารและน้ำดีในลำไส้เล็กได้ดี โพรไบโอติกสามารถดำรงชีวิตอยู่ในระบบทางเดินอาหารได้ โดยโพรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ที่ต้องเดินทางผ่านและอาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหารของสิ่งมีชีวิตที่บริโภคโพรไบโอติก สภาวะแวดล้อมแรกที่ส่งผลกระทบต่อการรอดชีวิตของโพรไบโอติก คือสภาวะแวดล้อมในกระเพาะอาหารที่มีความเป็นกรดสูง และการหลั่งน้ำดีในลำไส้เล็กสามารถทำลายผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ซึ่งมีส่วนประกอบส่วนใหญ่เป็นสารประเภทลิปิดและกรดไขมัน ดังนั้นโพรไบโอติกจึงต้องสามารถทนต่อน้ำดีและความเป็นกรดในทางเดินอาหารของสิ่งมีชีวิตนั้นได้ (Reuter, 2001)

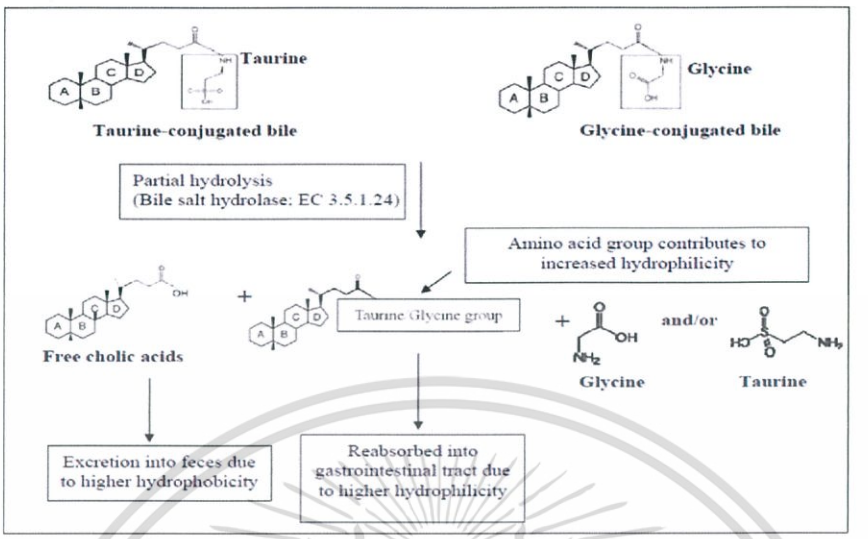
2.1.1.3 สามารถแข่งขันกับจุลินทรีย์ก่อโรคในการยึดเกาะกับผนังลำไส้ ซึ่งจะช่วยป้องกันไม่ให้แบคทีเรียก่อโรคเข้าเกาะและต่อต้านการเคลื่อนที่ของลำไส้ที่มีการบีบตัวให้เคลื่อนที่ในลักษณะลูกคลื่น (Peristalsis) การที่โพรไบโอติกเกาะเคลือบที่ผนังทางเดินอาหารจะช่วยในการเพิ่มจำนวนของโพรไบโอติกได้ดีขึ้น นอกจากนี้ยังช่วยในการย่อยอาหาร และการดูดซึมให้เป็นไปอย่างปกติอีกด้วย

2.1.1.4 กระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ ลดความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งลำไส้ใหญ่ ลดการสังเคราะห์เอมีนที่เป็นพิษในระบบทางเดินอาหาร

2.1.1.5 สามารถลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือดได้

2.1.1.6 การผลิตเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลส (Bile salt hydrolase) คือเอนไซม์ที่เชื้อแบคทีเรียสร้างขึ้นมา ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ส่วนใหญ่จะถูกสร้างโดยเชื้อจุลินทรีย์ โดยเฉพาะพวกกลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติกที่อาศัยอยู่ในลำไส้ มีคุณสมบัติช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลได้ โดยอาศัยกลไกที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายเกลือน้ำดี ส่งผลต่อเกลือน้ำดีที่อยู่ในรูปของเกลือน้ำดีชนิดคอนจูเกต ที่มีกรดอะมิโนไกลซีนหรือทอรีนเป็นองค์ประกอบ เอนไซม์ชนิดนี้จะไปไฮโดรไลซ์ที่ส่วนกรดอะมิโนที่พันธะเอไมด์เปลี่ยนรูปเกลือน้ำดีชนิดคอนจูเกตเป็นเกลือน้ำดีชนิดดีคอนจูเกต ได้กรดอะมิโนไกลซีน หรือ ทอรีน รวมไปถึงเกลือน้ำดีอิสระแยกออกมา มีคุณสมบัติละลายน้ำได้น้อย ทำให้เกลือน้ำดีบางส่วนตกตะกอนและถูกขับออกทางอุจจาระ ร่างกายจึงต้องสร้างเกลือน้ำดีขึ้นมาทดแทน ทำให้มีการนำคอเลสเตอรอลในเลือดมาใช้มากขึ้น ส่งผลให้ระดับคอเลสเตอรอลในเลือดลดลงด้วย (ณัฐชา, 2558)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.2 กลไกลการทำงานของเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลส

ที่มา Lye และคณะ (2009)

2.2 พรีไบโอติก (Prebiotic)

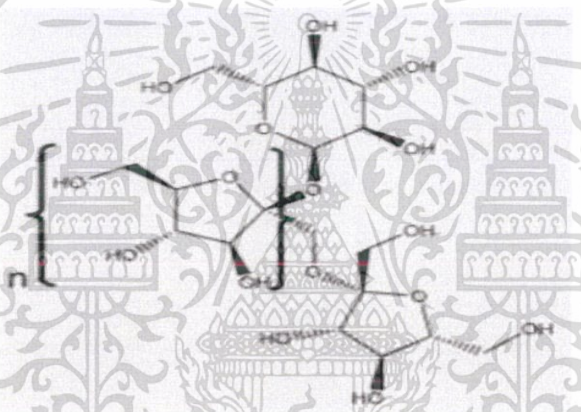
Gibson และRoberfroid (1995) ให้คำนิยาม พรีไบโอติก คือ น้ำตาลสายสั้น (Oligosaccharides) ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาล 3-10 โมลเลกุลต่อกัน มีกลูโคส (Glucose) กาแลคโตส (Galactose) และ ฟรุคโตส (Fructose) รวมทั้ง เอ็น-อะเซทิล กลูโคซามีน (N-Acetyl Glucosamine) เป็นองค์ประกอบ โครงสร้างที่ซับซ้อนทำให้เอนไซม์ในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กไม่สามารถย่อยสลายน้ำตาลสายสั้นเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ได้ แต่แบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ โดยเฉพาะกลุ่มที่ผลิตกรดนม หรือกลุ่มที่ผลิตกรดแลคติก ได้แก่ Bifidobacteria และ Lactobacilli สามารถใช้เป็นแหล่งอาหารได้ดีกว่าแบคทีเรียชนิดอื่น และเมื่อรับประทานพรีไบโอติกไประยะหนึ่ง แบคทีเรียในลำไส้ก็จะมีการเปลี่ยนแปลงไปในทางที่ส่งเสริมสุขภาพ นอกจากการช่วยส่งเสริมแบคทีเรียที่ดีแล้ว พรีไบโอติกจะต้องต่อต้านหรือยับยั้งแบคทีเรียก่อโทษได้ด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1 สารอาหารที่จัดเป็นพรีไบโอติก

โอลิโกแซคคาไรด์ (Oligosaccharide) เป็นคาร์โบไฮเดรตสายสั้น ประกอบด้วยน้ำตาลตั้งแต่ 3 ถึง 10 โมเลกุล ได้แก่

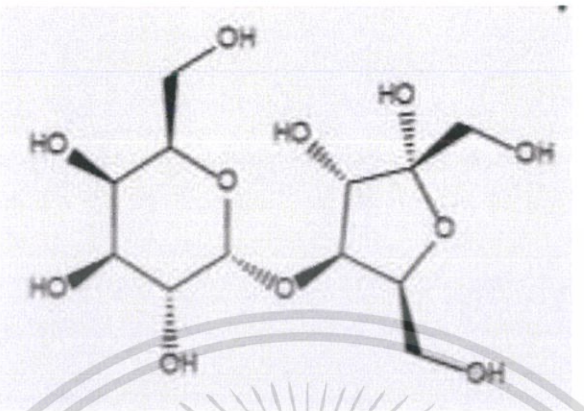
ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Fructo-oligosaccharide, FOS) มักพบได้ตามธรรมชาติ เช่น หอมหัวใหญ่ กระเทียม หน่อไม้ฝรั่ง กล้วย เชื่อมกันด้วยพันธะแอลฟา (α1,2) ไกลโคซิดิก ย่อยโดยเอนไซม์ฟรุคโตสิเดส ผลลัพธ์การใช้ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ขึ้นอยู่กับปริมาณ ซึ่งมีผลเกี่ยวกับการลดลงของค่า pH ในอุจจาระของสัตว์บางชนิด และอาจทำให้กรดแลคติกเพิ่มได้ (Bouhnik และคณะ 1999) นอกจากนี้ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ยังช่วยส่งเสริมการเจริญของเชื้อ Bifidobacterium และ Lactobacillus ให้เพิ่มจำนวนมากขึ้น



ภาพที่ 2.3 ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์
ที่มา Bruno และ Azcarate (2015)

แลคตูโลส (Lactulose) ช่วยส่งเสริมการเจริญของเชื้อ Bifidobacterium เชื่อมกันด้วยพันธะ เบต้า 1-4 (β1-4) ไกลโคซิดิก ย่อยโดยเอนไซม์เบต้ากาแลคโตสิเดส ปัจจุบันใช้เป็นยาระบายแก้ท้องผูก (Bruno และ Azcarate 2015)

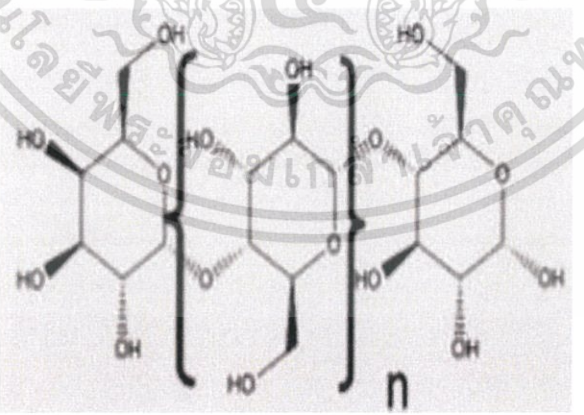
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.4 แลคตูโลส

ที่มา ที่มา Bruno และ Azcarate (2015)

กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Galacto-oligosaccharide, GOS) มักพบในน้ำนมแม่ เชื่อมกันด้วยพันธะเบต้า (β1-4) ไกลโคซิดิก ย่อยโดยเอนไซม์เบต้ากาแลคโตสิเดส (เอนไซม์แลคเตส) หรือเบต้ากลูโคสิเดส กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สามารถต้านทานการย่อยโดยเอนไซม์ย่อยอาหารทางน้ำลายและลำไส้ แต่มีความไวต่อการย่อยโดยเอนไซม์แบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ (Priebe, 2002) นอกจากนี้กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ยังช่วยส่งเสริมการเจริญของเชื้อ Bifidobacterium



ภาพที่ 2.5 กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์

ที่มา ที่มา Bruno และ Azcarate (2015

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2 ประโยชน์ของพรีไบโอติก

1. Hylemon และ Harder (1998) อธิบายว่า กรดน้ำดีทุติยภูมิมีความเข้มข้นลดลง และกรดน้ำดีปฐมภูมิมีความเข้มข้นเพิ่มขึ้น กรดน้ำดีปฐมภูมิ (primary bile acid) และกรดน้ำดีทุติยภูมิ (Secondary bile acid) สำหรับกรดน้ำดีปฐมภูมิ หมายถึง กรดน้ำดีที่เกาะอยู่กับกรดแอมิโนไกลซีนหรือทอรีน (Taurine) เป็นกรดไกลโคคอ-ลิก (glycocholic acid) กรดไกลโคดีโนดีออกซีคอลิก (Glycochenodeoxycholic acid) กรดทอโรคอลิก (Taurocholic acid) และกรดทอโรดีโนดีออกซีคอลิก (Taurochenodeoxycholic acid) น้ำดีของคนจะมีอัตราส่วนของกรดน้ำดีที่เกาะกับไกลซีนเป็น 3 เท่าของที่เกาะกับทอรีน และเมื่ออยู่ในลำไส้ แบคทีเรียจะเปลี่ยนกรดน้ำดีปฐมภูมิให้เป็นกรดน้ำดีทุติยภูมิ คือ กรดดีออกซีคอลิก

2. ค่าความเป็นกรดในอุจจาระลดลง Newmark และLupton (1990) อธิบายว่าเกิดจากการที่กรดไขมันสายสั้นมีการหมักคาร์โบไฮเดรตของอาหารที่ย่อยไม่ได้ในลำไส้ใหญ่โดยเชื้อจุลินทรีย์

3. กรดไขมันสายสั้นที่เพิ่มมากขึ้น โดยการศึกษามากที่สุดของการบริโภคพรีไบโอติก คือการเพิ่มขึ้นของผลิตภัณฑ์ขั้นสุดท้ายของการหมักคาร์โบไฮเดรตในลำไส้ใหญ่ ซึ่งบิวทาเรตได้รับการศึกษาอย่างกว้างขวางสำหรับบทบาทในการป้องกันและการลุกลามของโรคมะเร็ง Hofmanova และคณะ (2014) ความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของกรดไขมันสายสั้น ส่งผลให้ค่า pH ลดลง การละลายที่ลดลงของกรดน้ำดี ลดการดูดซึมของแร่ธาตุที่เพิ่มขึ้น ความสัมพันธ์ทั่วไปกับคุณสมบัติต้านมะเร็งของกรดไขมันสายสั้น โดยเฉพาะจากบิวทาเรต โดยความเข้มข้นของบิวทาเรตที่สูงในลำไส้ใหญ่ส่วนปลายอาจป้องกันมะเร็ง นอกจากนี้ยังชี้ให้เห็นถึงความสัมพันธ์ระหว่างการผลิตบิวทาเรตในร่างกายและการยับยั้งการเกิดเนื้องอก (McIntyre และคณะ, 1993)

4. การเพิ่มขึ้นของกรดแลคเตท การบริโภคพรีไบโอติกทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นชั่วคราวของแลคเตท และบิวทาเลทในลำไส้ใหญ่ และได้รับการพิจารณาว่ามีความสำคัญสำหรับการป้องกันโรคมะเร็ง (Gibson และคณะ, 2004)

5. ความถี่ในการถ่ายและน้ำหนักอุจจาระเพิ่มขึ้น Wijnands และคณะ (2001) ระบุว่า ในสัตว์ที่ได้รับอาหารที่มีระดับ GOS สูง อุจจาระจะมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญและค่า pH ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ความถี่ต่ำในการทำงานของลำไส้ (เช่น การเพิ่มเวลาการเก็บอุจจาระ) และน้ำหนักอุจจาระที่ลดลงมีความสัมพันธ์กับความเสี่ยงโรคมะเร็งที่สูงขึ้น การขนส่งลำไส้ใหญ่ที่ช้า คือการเผาผลาญกรดน้ำดีโดยเพิ่ม DCA และเพิ่มความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อิ่มตัว (Lewis และ Heaton, 1999) โดยการเพิ่มขึ้นของอุจจาระจะเร่งการขนส่งและลดเวลาการสัมผัสกับสารระคายเคืองและสารก่อมะเร็ง (Cummings และคณะ, 1992)

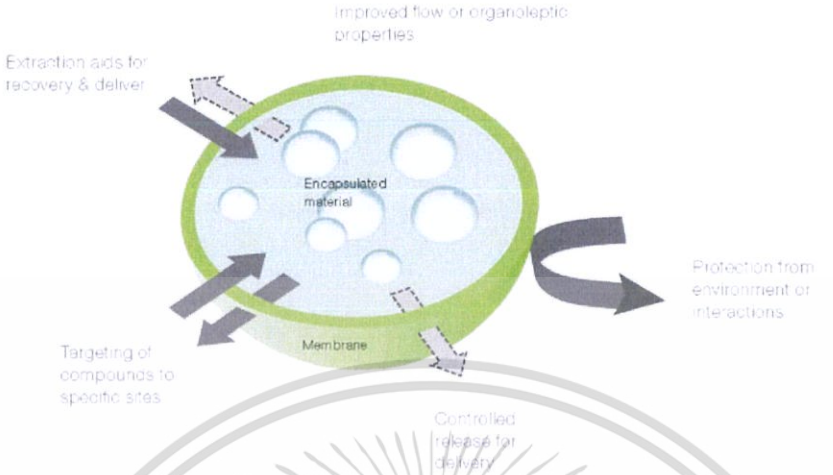
2.3 ซินไบโอติก (Synbiotic)

Kerry (2018)ให้คำนิยาม ซินไบโอติก คือ การรวมกันของโพรไบโอติกและพรีไบโอติก เพื่อรักษาความสามารถในการอยู่รอดของโพรไบโอติกได้ดี ทนต่อค่า pH ต่ำหรือของเหลวในกระเพาะอาหาร น้ำดี ตับอ่อน ลำไส้ และน้ำมูกในระบบทางเดินอาหารหรือระบบทางเดินหายใจ สามารถฝังตัวในลำไส้ ไม่ก่อให้เกิดโรคและไม่เป็นพิษ เป็นอาหารชนิดที่มีทั้งโพรไบโอติก และพรีไบโอติกรวมอยู่ด้วยกัน ถ้าเลือกชนิดของโพรไบโอติกได้เหมาะสมกับชนิดของพรีไบโอติก ซินไบโอติกนั้นจะให้ประสิทธิภาพได้สูงเป็นทวีคูณในการเพิ่มประโยชน์ต่าง ๆ ให้กับร่างกายมากกว่าที่เราบริโภคโพรไบโอติก และ พรีไบโอติก แยกจากกัน เช่น ประสิทธิภาพในการสร้างภูมิคุ้มกันต้านทานโรคในร่างกาย ช่วยส่งเสริมการขับถ่ายได้ง่ายขึ้น ในปัจจุบันมีการพัฒนาซินไบโอติกให้อยู่ในรูปของแคปซูล เพื่อการบริโภคสะดวกขึ้น

2.4 เอนแคปซูเลชั่น (Encapsulation)

เอนแคปซูเลชั่น คือ กระบวนการตรึงสารสำคัญที่ใช้ให้อยู่ในรูปของแคปซูลที่ห่อหุ้ม เมทริกซ์หรือแกนกลาง ซึ่งมีขนาดตั้งแต่ 1-1000 μm เมทริกซ์ หรือเปลือกหุ้มจะใช้เป็นส่วนเชื่อมประสานเพื่อรักษาการคงตัวและห่อหุ้มเพื่อป้องกันสารสำคัญภายใน ตลอดจนเป็นตัวขัดขวางเพื่อให้มีเฉพาะสารประกอบบางอย่างเท่านั้นที่แพร่เข้ามายังส่วนประกอบได้ ประโยชน์สำคัญหลายประการจากการห่อหุ้มสารในรูปแคปซูล ได้แก่ การป้องกันสารจากสภาวะต่าง ๆ เช่น ความร้อน ความชื้น และออกซิเจน รวมทั้งช่วยยืดอายุการเก็บรักษา คุณสมบัติการปลดปล่อยสารในอัตราคงที่หรือตามที่กำหนดช่วยในการพัฒนากลไกใหม่ๆ สำหรับการส่งมอบผลิตภัณฑ์ การใช้งานที่เป้าหมายเฉพาะเจาะจงเพื่อส่งสารสำคัญไปยังเป้าหมายโดยตรง เพื่อให้สามารถใช้สารในรูปแคปซูลเป็นตัวช่วยในการคัดแยกสำหรับการกำจัดผลิตภัณฑ์ คุณสมบัติการไหลเวียนที่ดียิ่งขึ้นด้วยการแปลงของเหลวเป็นอนุภาคของแข็ง ซึ่งช่วยปรับปรุงการควบคุม การใช้งาน และการจัดเก็บสาร คุณสมบัติทางประสาทสัมผัสที่ดียิ่งขึ้นเพื่อป้องกันรสหรือกลิ่นอันไม่พึงประสงค์ และปรับปรุงลักษณะภายนอกที่มองเห็นได้รวมทั้งเนื้อสัมผัส (He และ คณะ, 2013)

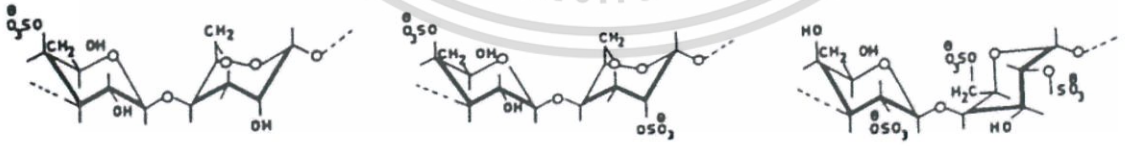
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.6 เอนแคปซูเลชั่น
ที่มา Buchi และคณะ (2017)

2.5 คาร์ราจีแนน (Carrageenan)

Mangione และคณะ (2005) อธิบายว่า คาร์ราจีแนนเป็นกัมชนิดหนึ่ง มีคุณสมบัติไฮโดรคอลลอยด์ เนื่องจากโมเลกุลของคาร์ราจีแนนเป็นแบบพอลิแซคคาไรด์ โดยมีโครงสร้างระดับปฐมภูมิของไดแซคคาไรด์แบบสลับหน่วยของ α-(1-3)-D-galactose-4-sulphate และ β-(1-4)-3,6-anydro-D-galactose โครงสร้างของคารร์จีแนนที่ใหญ่กว่าโมเลกุลน้ำและมีหมู่ hydroxyl (-OH) ทำให้คาร์ราจีแนนแขวนลอย กระจายในน้ำ และจับตัวกับโมเลกุลน้ำ ทำให้โมเลกุลน้ำถูกกักเก็บเอาไว้เกิดเป็นเจล



(ก) (ข) (ค)

ภาพที่ 2.7 โครงสร้างคาร์ราจีแนน
(ก) แคปป้า คาร์ราจีแนน (ข) ไอโอตา คาร์ราจีแนน (ค) แลมด้า คาร์ราจีแนน
ที่มา Mangione และคณะ (2005)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.1 หน้าที่ของคาร์ราจีแนนในอาหาร

2.5.1 สารให้เกิดความหนืด (thickening agent) ทำให้เกิดความหนืด (viscosity)

2.5.2 อิมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) ช่วยให้น้ำมันและไขมันกับน้ำผสมเป็นเนื้อเดียวกันได้ดี

2.5.3 สารก่อเจล (gelling agent) ทำให้เกิดเจล (gel) จากคาร์ราจีแนน

2.5.4 เป็นเจล (thermoreversible gel) คือ เจลที่สามารถเปลี่ยนเป็นของเหลวได้เมื่อได้รับความร้อน

2.5.5 ใช้ในผลิตภัณฑ์ของหวานที่เป็นเจล (desset gel) เช่น อาหารสัตว์บรรจุกระป๋อง ผลิตภัณฑ์นม (dairy product) น้ำนมถั่วเหลือง (soy milk) เป็นต้น

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยของ Valentini และคณะ (2015) ได้ทำการประเมินผลกระทบของการรับประทานอาหารส่วนบุคคลร่วมกับการที่ไม่ได้รับยาและได้รับยาเป็นจำนวนสองแคปซูลต่อวันของผลิตภัณฑ์โพรไบโอติก ในเชิงพาณิชย์ VSL#3 ที่ทำการบรรจุเชื้อผสมของ *Streptococcus thermophilus, B. longum, B. infantis, L. acidophilus, L. plantarum, L. casei* และ *L. bulgaricus* การศึกษาวิจัยได้ทำการทดลองกับผู้สูงอายุที่มีสุขภาพดีจำนวน 62 คน โดยมีอายุ 65 ถึง 85 เป็นเวลา 56 วัน ผู้เขียนได้ข้อสังเกตว่าการรับประทานอาหารรวมกับ VSL#3 มีความสัมพันธ์กับการลดระดับ homocysteine ที่เกี่ยวข้องกับการแพทย์ในด้านที่มีความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดสมอง และการเพิ่มขึ้นของเชื้อในกลุ่มบิฟิโดแบคทีเรีย นอกจากนี้ยังสามารถเพิ่มความเข้มข้นของโฟเลตและวิตามินบี 12

Rampelli และคณะ (2013) ได้ทำการประเมินผลกระทบของผลิตภัณฑ์บิสกิตที่มีการผสมโพรไบโอติก 2 ชนิดคือ *B. longum* Bar33 และ *Lactobacillus helveticus* Bar13 ต่อจุลินทรีย์ในลำไส้ของผู้สูงอายุชาวอิตาลี ที่มีอายุระหว่าง 71 ถึง 88 โดยนักวิจัยได้ข้อสังเกตว่าการบริโภคบิสกิตที่มีการผสมโพรไบโอติกเป็นเวลา 1 เดือนนั้น มีประสิทธิภาพในการฟื้นฟูจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับสภาวะความสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารที่รวมถึงลำไส้ นอกจากนี้โพรไบโอติกยังสามารถลดการเพิ่มขึ้นของเชื้อก่อโรค เช่น *Clostridium* cluster XI, *C. difficile, Enterococcus faecium* รวมถึงเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่อยู่ในสกุล *Campylobacter*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kojima และคณะ (2016) ได้ศึกษาผลการทำงานร่วมกันของโพรไบโอติกกับพรีไบโอติก ประโยชน์ของซินไบโอติกที่มีส่วนช่วยในการส่งเสริมสุขภาพภายในลำไส้ของมนุษย์ และการต่อต้านเชื้อโรคในช่องปาก การคัดเลือกพรีไบโอติกทำโดยการทดสอบการดูดซึมน้ำตาลแซคคาไรด์ และใช้ Lactobacilli เพื่อคัดเลือกโพรไบโอติก โดยใช้ชุดควบคุมการทดลองเชื้อโรคในช่องปาก เช่น *Candida albicans, Streptococcus mutans* และ *Porphyromonas gingivalis* ดูการเจริญเติบโต การยับยั้งและการสร้างแผ่นฟิล์ม จากนั้นทำการทดสอบการแพร่กระจายของแผ่นดิสก์เพื่อทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *P. gingivalis* และหาปริมาณของกลูแคนที่ไม่ละลายน้ำที่ผลิตโดย *S. mutans* โดยการย้อมสีฟีนอลซัลเฟต ผลการวิจัยพบว่าอะราบิโนสไซโลสและไซลิทอลเป็นแซคคาไรด์ที่มีศักยภาพสูง ที่จะใช้เป็นพรีไบโอติก และ Lactobacilli ที่แยกได้จากช่องปากมีศักยภาพที่จะใช้เป็นโพรไบโอติก ยับยั้งการเจริญเติบโตของ *C. albicans* และ *P. gingivalis* และมีการยับยั้งผลกระทบต่อการผลิตกลูแคนที่ไม่ละลายน้ำโดย *S. mutans*

เนื่องจากเชื้อโพรไบโอติกที่อยู่ในรูปเซลล์อิสระในผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ จะมีโอกาสรอดชีวิตที่ต่ำ ดังนั้นงานวิจัยของ Prasanna และCharalampopoulos (2018) จึงศึกษาการห่อหุ้มเชื้อโพรไบโอติก เพื่อเพิ่มโอกาสรอดชีวิตให้กับเชื้อโพรไบโอติกจากสภาวะทางเดินอาหาร และในระหว่างขั้นตอนการผลิตที่สามารถฆ่าเชื้อโพรไบโอติก โดยทำการศึกษาเชื้อ *Bifidobacterium longum* โดยใช้ Alginate ผสมกับผลิตภัณฑ์นม ได้แก่ นมวัว นมแพะ พบว่า ในสภาวะทางเดินอาหารจำลอง ช่วงในระบบกระเพาะอาหารจำลองนั้น เซลล์อิสระจะลดลงอย่างต่อเนื่องจนหมด ในช่วง 90 – 120 นาที ส่วนเชื้อที่ทำการเอนแคปซูเลชั่นด้วยนมวัวจะมีโอกาสรอดชีวิตของเชื้อโพรไบโอติกมากที่สุด และในช่วงที่ทำการทดสอบระบบลำไส้เล็กจำลอง เซลล์อิสระจะลดลงต่ำกว่า 6 log CFU/g และเชื้อที่ทำการเอนแคปซูเลชั่นด้วยนมวัวจะมีโอกาสรอดชีวิตมากที่สุดเช่นกัน ส่วนการทดลองการรอดชีวิตในระหว่างการเก็บรักษา พบว่าเชื้อโพรไบโอติกที่ทำการเอนแคปซูเลชั่นด้วยนมแพะจะมีโอกาสรอดชีวิตที่สูงกว่า 8 log CFU/g หลังสิ้นสุดการเก็บรักษา ส่วนเซลล์อิสระจะมีโอกาสรอดชีวิตที่ต่ำกว่า 6 log CFU/g สอดคล้องกับงานวิจัยของ El Kadri และคณะ (2018) ที่ศึกษาการเอนแคปซูเลชั่นด้วยวิธี Double emulsion encapsulation โดยใช้เชื้อ *Lactobacillus paracasei* ในโยเกิร์ต พบว่าในช่วงการเก็บรักษาปริมาณของเชื้อโพรไบโอติกที่ทำการเอนแคปซูเลชั่นนั้นมากกว่าเซลล์อิสระตลอดสิ้นสุดการเก็บรักษาในระดับนัยสำคัญ และเมื่อนำมาทำการทดลองสภาวะทางเดินอาหาร พบเซลล์อิสระมีโอกาสรอดชีวิต 72-92% จากปริมาณเชื้อโพรไบโอติกในช่วงการเก็บรักษาแต่ละวัน และเชื้อโพรไบโอติกที่ทำการเอนแคปซูเลชั่นมีโอกาสรอดชีวิตมากกว่าถึง 86-105% จากปริมาณเชื้อโพรไบโอติกในช่วงการเก็บรักษาแต่ละวัน

แต่การเอนแคปซูเลชั่นเพียงอย่างเดียว ยังไม่สามารถเพิ่มโอกาสรอดชีวิตของเชื้อโพรไบโอติกได้ดีพอ ผู้วิจัยจึงต้องการเพิ่มโอกาสรอดชีวิตของเชื้อโพรไบโอติกให้มากที่สุดเพื่อให้เชื้อเหลือรอดไปถึงลำไส้ใหญ่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นในงานวิจัย Peredo และคณะ (2016) ที่ทำการทดลองเอนแคปซูเลชั่นร่วมกับพรีไบโอติก ได้แก่ แป้งมัน (Potato starch), Plantago psyllium และ อินนูลิน (Inulin) โดยใช้เชื้อ *Lactobacillus casei* Shirota และ *Lactobacillus plantarum* (Lp33 และ Lp17) พบว่าในการทดลองสภาวะทางเดินอาหารพบว่าเชื้ออิสระ 3 สายพันธุ์จะมีโอกาสรอดชีวิต 2.34-4.25 log CFU/g ซึ่งมีปริมาณการรอดชีวิตต่ำกว่าที่กำหนดไว้ที่ 6 log CFU/g โดยเชื้อโพรไบโอติกที่ทำการเอนแคปซูเลชั่นร่วมกับพรีโอติกจะมีโอกาสรอดชีวิตมากกว่าเซลล์อิสระทั้งหมด โดยพรีไบโอติก Platago psyllium จะมีปริมาณการรอดชีวิตที่มากที่สุด ซึ่งมีโอกาสรอดชีวิต 6.66-7.12 log CFU/g สอดคล้องกับงานวิจัย Etchepare และคณะ (2016) ที่ทำการทดลองเอนแคปซูเลชั่นร่วมกับพรีไบโอติก Resistant starch (Hi maize) และ chitosan โดยใช้เชื้อโพรไบโอติก *Lactobacillus acidophilus* พบว่าในสภาวะทางเดินอาหารจำลองในช่วง 360 นาที เชื้อโพรไบโอติกที่ทำการเอนแคปซูเลชั่นด้วย Sodium alginate เพียงอย่างเดียวนั้นมีโอกาสรอดชีวิต 6.11 log CFU/g ส่วนเชื้อโพรไบโอติกที่ทำการเอนแคปซูเลชั่นด้วย Sodium alginate ร่วมกับ Hi maize และ chitosan จะมีโอกาสรอดชีวิตที่มากกว่าโดยมีค่า 6.35 log CFU/g และในการทดลองในช่วงการเก็บรักษาเป็นเวลา 30 วันที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส พบว่า เชื้อโพรไบโอติกที่ทำการเอนแคปซูเลชั่นด้วย Sodium alginate เพียงอย่างเดียวนั้นมีโอกาสรอดชีวิต 6.48 log CFU/g ส่วนเชื้อโพรไบโอติกที่ทำการเอนแคปซูเลชั่นด้วย Sodium alginate ร่วมกับ Hi maize และ ไคโตซาน จะมีโอกาสรอดชีวิตที่มากกว่าโดยมีค่า 7.45 log CFU/g และในงานวิจัย Liao และคณะ (2019) ที่ทำการทดลองเอนแคปซูเลชั่นด้วย Alginate ร่วมกับพรีไบโอติก กลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์ ได้แก่ กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (GOS), ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS), ไอโซมอลโทโอลิโกแซคคาไรด์ (IMO) และ ไซโลโอลิโกแซ็คคาไรด์(XLO) โดยใช้เชื้อ *Lactobacillus fermentum* L7 พบว่าเมื่อทำการเอนแคปซูเลชั่นร่วมกับพรีไบโอติกเหล่านี้และนำไปหาเปอร์เซ็นการรอดชีวิตของเชื้อที่อยู่ในตัวอย่างเอนแคปซูเลชั่น จะพบว่าเชื้อที่ทำการเอนแคปซูเลชั่นร่วมกับพรีไบโอติกจะมีโอกาสรอดชีวิตระหว่าง 79.52-89.75% ซึ่งสูงกว่าการเอนแคปซูเลชั่นที่ไม่ใส่พรีไบโอติก ในส่วนการทดลอง เรื่องความคงตัวของเอนแคปซูเลชั่นในช่วงกระเพาะอาหาร การทดลองการปลดปล่อยเชื้อในช่วงลำไส้เล็ก และการทดสอบการเก็บรักษาในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 วัน ตัวอย่างที่ทำการเอนแคปซูเลชั่นด้วยพรีไบโอติกจะมีประสิทธิภาพที่ดีกว่าทั้งเซลล์อิสระ และการเอนแคปซูเลชั่นที่ไม่ใส่พรีไบโอติก โดยพรีไบโอติกที่ได้ประสิทธิภาพดีที่สุดคือฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

วัตถุดิบ

3.1.1 *Lactobacillus platarum* TISTR 862 สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

3.1.2 แคปป้าคาร์ราจีแนน บริษัท เคมีภัณฑ์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด (สำนักงานใหญ่)

3.1.3 Fructo Oligosaccharide (FOS) บริษัท ไทยฟูด แอนด์ เคมิคอล จำกัด

3.1.4 Galacto Oligosaccharide (GOS) บริษัท เพียวเคมีกัลส์ จำกัด (สำนักงานใหญ่)

สารเคมี

3.1.5 อาหารเลี้ยงเชื้อ DE Man Rogosa and Sharpe broth (MRS), TM MEDIA, India

3.1.6 Ammonium nitrate, Carlo Erba Reagents, France

3.1.7 Bile extract porcine, Sigma-Alorich, U.S.A

3.1.8 Calcium carbonate, Scharlau, European Union

3.1.9 Hydrochloric Acid 37%, RCI Labscan, Thailand

3.1.10 Lactic acid sodium salt, Sigma-Alorich, Switzerland

3.1.11 Mucin, Sigma-Alorich, U.S.A

3.1.12 Pancreatin, Sigma-Alorich, U.S.A

3.1.13 Pepsin, Sigma-Alorich, U.S.A

3.1.14 Peptone water, HIMEDIA, India

3.1.15 Potassium citrate, Univar, Australia

3.1.16 Potassium chloride, Carlo Erba Reagent, France

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.17 Potassium phosphate, Carlo Erba Reagent, France

3.1.18 Sodium chloride, Carlo Erba Reagent, France

3.1.19 Sodium Dihydrogen Orthophosphate, Univar, Australia

3.1.20 Sodium hydroxid, EMSURE, Germany

3.1.21 Urea, Carlo Erba Reagent, France

3.1.22 Uric acid sodium salt, Sigma-Alorich, Switzerland

3.2 อุปกรณ์

3.2.1 Autoclave high pressure steam sterilizer รุ่น SS-325, Japan

3.2.2 Centrifuge 5804 R, eppendorf, Germany

3.2.3 Hot air oven, Heraeus, Germany

3.2.4 Laminar flow: Astec Microflow limited 30-31 Lynx Crescent, Canada

3.2.5 Microwave, Sumsung, Malaysia

3.2.6 Micropipette, Witeg, France

3.2.7 pH meter, Mettler Toledo

3.2.8 Shaker Incubator, NB-205VL, Garmany

3.2.9 Stomacher, Oskon, Thailand

3.2.10 Vortex mixer Model NO. G560E, U.S.A

3.2.11 Water activity meter, Aqualab 4TE, U.S.A

3.2.12 Texture profile analyzer stable micro system, TA-XT plus, United Kingdom

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

3.3.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ De Man Rogasa and Sharpe Broth (MRS Broth) สำหรับบ่มเชื้อโดยชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ 5.515 g เติมน้ำกรอง 100 มิลลิลิตร คนละลายให้เข้ากัน จากนั้นก็ทำการแบ่งใส่ฟลาสก์ ฟลาสก์ละ 30 มิลลิลิตร ปิดฝาด้วยสำลีจากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที ส่วนกรณีการเตรียม MRS agar ให้ใช้อัตราส่วนเดียวกับ MRS broth โดยใส่แคลเซียมคาร์บอเนต 0.5% และ Agar 1.1 % ให้ความร้อนจน Agar ละลาย เทใส่ขวดเอ็ม ขวดละ 150-200 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3.3.2 การเตรียมเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862

นำ *L. plantarum* TISTR 862 ที่เก็บไว้ในกลีเซอรอล มาทำการ Cross streak ในเพลทที่ใส่ MRS agar เอาไว้ จากนั้นนำโคโลนีที่แยกเดี่ยวออกมาทำการย้อมแกรมและส่องกล้องเพื่อหาเชื้อเป้าหมาย นำโคโลนีเดี่ยวที่ลักษณะคล้ายกับเชื้อเป้าหมาย ทำการStreak ใส่อาหาร MRS agar ในหลอดอาหารเอียง (MRS slant) บ่มไว้ที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพื่อเตรียมนำไปใช้ต่อไป และนำมา Sub Culture ทุก ๆ สัปดาห์

3.3.3 การแยกเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 สำหรับการทดลอง

เตรียมสารละลาย Phosphate buffer saline (PBS) สำหรับการล้างเซลล์ โดยชั่งโซเดียมคลอไรด์ 2.307 กรัม ไดโซเดียมฟอสเฟต 0.216 กรัม และโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.21 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนเป็น 300 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

เขี่ยเชื้อที่บ่มใน MRS slant ด้วยลูปที่ลนไฟฆ่าเชื้อและปล่อยให้เย็น ลงใน MRS broth 30 มิลลิลิตร บ่มเป็นเวลา 18 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะไร้อากาศ หลังจากนั้นนำไปแยกเซลล์โดยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6,000 rpm เป็นเวลา 30 นาที เทส่วนใสออกให้เหลือตะกอนเซลล์ของเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

L. plantarum TISTR 862 ล้างเซลล์ด้วยสารละลาย PBS ปริมาตร 30 มิลลิลิตร 2 ครั้ง ใส่น้ำกลั่นที่ทำการฆ่าเชื้อ ปรับปริมาตรเป็น 3 มิลลิลิตร

3.3.4 การเตรียมเยลลี่

ชั่งน้ำหนักตัวอย่างทั้ง 7 ตัวอย่างตามส่วนประกอบและอัตราส่วนดังตารางที่ 3.1 ลงในขวดเอ็ม และนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

ตารางที่ 3.1 อัตราส่วนของเยลลี่แต่ละสูตรในสัดส่วนเยลลี่ 100 กรัม

ตัวอย่าง	คาร์ราจีแนน (กรัม)	FOS (กรัม)	GOS (กรัม)	น้ำ (มิลลิลิตร)	สารละลาย Peptone 0.1 % (มวล/มิลลิลิตร)
Free cell	-	-	-	-	100
No pre	1	-	-	100	-
FOS	1	10	-	90	-
GOS	1	-	10	90	-

หลังจากนั้นรอให้เยลลี่อุณหภูมิประมาณ 37-40 องศาเซลเซียส ใส่เชื้อลงในเยลลี่ปริมาตร 1 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันและเทลงในภาชนะที่ทำการฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้ว รอให้ตัวอย่างแข็งตัวจากนั้นก็นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

3.3.5 การนับเซลล์เริ่มต้น

การนับเชื้อเริ่มต้นจะใช้ตัวอย่าง Free cell วันที่ 0 เป็นตัวกำหนดปริมาณเชื้อเริ่มต้น โดยจะเลือกระดับความเข้มข้นที่ 10^{-6} ถึง 10^{-9} ใช้ไมโครปิเปต ปิเปต 1 มิลลิลิตร ลงในเพลทจากนั้นเทเพลทโดยใช้ MRS agar บ่มในสภาวะไร้อากาศ 48 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นับโคโลนีและบันทึกผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.6 การศึกษาการรอดชีวิตของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน

นำตัวอย่างเซลล์อิสระ 1 มิลลิลิตร ใส่ในสารละลายเปปโตนความเข้มข้น 0.1% จะได้ตัวอย่างที่มีระดับเจือจาง 1:9 หรือ 10^{-1} แล้วเจือจางตัวอย่างที่เป็นของเหลว สำหรับตัวอย่างเยลลี่ ชั่งน้ำหนัก 20 กรัม ใส่สารละลายเปปโตนความเข้มข้น 0.1% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ในถุงสำหรับเครื่องตีบดปริมาตร 180 มิลลิลิตรเข้าเครื่องตีบดเป็นเวลา 1 นาที หลังจากนั้นทำการเจือจางตัวอย่างโดยใช้ไมโครปิเปต ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดฝาเกลียวที่มีสารละลายเปปโตน 9 มิลลิลิตร ทำการเจือจางไปจนถึงความเจือจางที่ต้องการ ใช้ไมโครปิเปตนำตัวอย่างที่ผ่านการเจือจางทำการเทเพลทโดยใช้ MRS agar ทิ้งให้แข็งตัวและบ่มเอาไว้ในสภาวะไร้อากาศที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และทำการนับจำนวนเชื้อ ในตัวอย่างเยลลี่ทุก ๆ วัน จนครบ 28 วัน

ในการรายงานผล จะทำการรายงานผลเป็นเปอร์เซ็นการรอดชีวิตของเชื้อหา และปริมาณเชื้อเหลือรอดที่ทำการหาค่า log ตามสมการที่ 3.1

$$\text{เปอร์เซ็นการรอดชีวิตของเชื้อ} = \left(\log\left(\frac{N_t}{N_0}\right)\right) \times 100 \quad \text{(Liao และคณะ, 2019)} \quad \text{สมการ 3.1}$$

เมื่อ N_t คือ จำนวนเชื้อโพรไบโอติกวันที่ 0 ,7 ,14 ,21 หรือ 28

N_0 คือ จำนวนเชื้อโพรไบโอติกวันที่ 0

3.3.7 การเตรียมสารเคมีเพื่อสร้างสภาวะระบบย่อยอาหารจำลอง

3.3.7.1 การเตรียมสภาวะจำลองย่อยอาหารในปาก

สภาวะจำลองในปากมีการเตรียมสารเคมีดังนี้ โซเดียมคลอไรด์ 0.1594 กรัม แอมโมเนียมไนเตรท 0.0328 กรัม โพแทสเซียมฟอสเฟต 0.0636 กรัม โพแทสเซียมคลอไรด์ 0.0202 กรัม โซเดียมซิเตรท 0.0308 กรัม เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร คนละลายให้เข้ากัน จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว น้ำสารละลายที่เตรียมไว้เติม Uric acid sodium salt 0.002 กรัม Urea 0.0198 กรัม Lactic acid sodium salt 0.0146 กรัม และ Mucin 0.5 กรัม คนให้ละลาย (Moumita และคณะ, 2017)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.7.2 การเตรียมสภาวะจำลองการย่อยอาหารในกระเพาะอาหาร

ชั่งเปปซิน 1.2 กรัม ละลายลงในกรดไฮโดรคลอริก 0.1 นอร์มอล ปริมาตร 300 มิลลิลิตรที่ฆ่าเชื้อด้วยอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (Moumita และคณะ, 2017)

3.3.7.3 การเตรียมสภาวะจำลองการย่อยอาหารในลำไส้เล็ก

การเตรียมสารละลาย Phosphate buffer 0.02 โมลาร์ โดยการชั่งโซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.0593 กรัม โซเดียมฟอสเฟต ไดเบซิค แอนไฮดรัส 0.23 กรัม ลงในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อด้วยอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาทีภายใต้ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว จากนั้นชั่ง Bile salt 0.85 กรัม และ Pancreatin 0.5 กรัม และใส่ลงสารละลาย Phosphate buffer 0.02 โมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และ 50 มิลลิลิตร ตามลำดับ (Moumita และคณะ, 2017)

3.3.8 ศึกษาสภาวะระบบย่อยอาหารจำลอง

ในการทดลอง 1 ตัวอย่างจะทำการทดลองในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร จำนวน 3 ฟลาสก์ โดยจะทำการทดลอง 2 ฟลาส์ ซึ่ง 1 ฟลาสก์จะทำการทดลอง 2 ซ้ำ รวมทั้งสิ้น 4 ซ้ำ โดยฟลาสก์ที่ 3 จะเป็นฟลาสก์ที่ใช้เปรียบเทียบค่า pH โดยการใช้ pH meter ตรวจเพื่อป้องการปนเปื้อนเชื้อในฟลาสก์ทดลอง โดย 1 ฟลาสก์จะทำการตัดตัวอย่างให้ได้ขนาดเท่ากันจำนวน 8 ชิ้น ขนาด 1.5×1.5×1.5 ลูกบาศก์เซนติเมตร โดยมีน้ำหนักรวมทั้งหมด 15 กรัม เติมสารละลายน้ำลายปริมาตร 15 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เป็น 6.8 ด้วย โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 โมลาร์ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 80 rpm เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นเติมน้ำย่อยเปปซินปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เป็น 2.0 ด้วย โซเดียมไฮดรอกไซด์ 6 โมลาร์ บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็ว 80 rpm เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เติม Bile salt ปริมาตร 3 มิลลิลิตร และเติม Pancreatin ปริมาตร 15 มิลลิลิตร ปรับ pH 7.5 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 6 โมลาร์ บ่มเป็นเวลา 6 ชั่วโมง เขย่าด้วยความเร็ว 80 rpm เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เก็บตัวอย่าง 8 ช่วง ได้แก่ เวลาเริ่มต้น (ก่อนบ่ม) หลังจากการย่อยน้ำลายเป็นเวลา 5 นาที หลังจากการย่อยเปปซิน 1 ชั่วโมง และ 2 ชั่วโมง หลังจากการบ่ม Bile salt และ Pancreatin 1 ชั่วโมง 2 ชั่วโมง 3 ชั่วโมง และ 6 ชั่วโมง แล้วเก็บตัวอย่างโดยปิเปตตัวอย่างมา 1 มิลลิลิตร ทำการเจือจางในระดับความเข้มข้นด้วย สารละลายเปปโทน 0.1% โดยมวล/ปริมาตร จากนั้นเลือกระดับความเจือจาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่เหมาะสม ปิเปตปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อพร้อมเทอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar ควั่จานเพาะเชื้อบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมงในสภาวะไร้อากาศ และนับจำนวนโคโลนี (Buriti, 2010)

3.3.9 ศึกษาลักษณะทางกายภาพของเยลลี่

ในการทดลองลักษณะทางกายภาพจะทำการทดลองโดยใช้ตัวอย่างที่เป็นเยลลี่ทั้งหมด

3.3.9.1 ปริมาตรความชื้อในเยลลี่ (Moisture content)

นำถ้วยอะลูมิเนียมไปอบไล่ความชื้นที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นใส่ในโถดูดความชื้นทิ้งไว้ให้เย็น ชั่งถ้วยอะลูมิเนียม (W) จนได้น้ำหนักคงที่ ใส่ตัวอย่างลงในถ้วยอะลูมิเนียมปริมาณ 3-5 กรัม และบันทึกน้ำหนักของถ้วยอะลูมิเนียมพร้อมกับตัวอย่าง (W_1) เมื่อชั่งน้ำหนักเสร็จนำเข้าไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น นำมาชั่งน้ำหนัก (W_2) สุดท้ายนำค่าที่ได้มาคำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้น

$$\text{สูตรคำนวณหาเปอร์เซ็นความชื้น} = 100 \times \left(\frac{(W_1-W_2)}{(W_1-W)}\right)$$

เมื่อ W คือ น้ำหนักถ้วยอะลูมิเนียมหลังทำการอบไล่ความชื้น

W_1 คือ น้ำหนักถ้วยอะลูมิเนียมกับตัวอย่างก่อนอบ

W_2 คือ น้ำหนักถ้วยอะลูมิเนียมกับตัวอย่างหลังอบ

3.3.9.2 วอเตอร์แอคติวิตี้ (Water activity, Aw)

ในการใช้งานเครื่องจะต้องทำการคาลิเบรทโดยใช้น้ำปราศจากไอออนทุกครั้งก่อนใช้งาน โดยค่าที่จากคาริเบรทจะต้องอยู่ประมาณ 0.9997-1.000 เมื่อทำการคาริเบรทเรียบร้อยแล้ว ให้ทำการใส่ตัวอย่างลงในตลับ 2 ใน3ของพื้นที่ตลับ นำตลับที่ใส่ตัวอย่างใส่ลงในเครื่อง จากนั้นหมุนปุ่มของลิ้นชักจากตำแหน่ง OPEN/LOAD ไปยังตำแหน่ง READ เครื่องจะเริ่มทำการวัดค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ และเมื่อเครื่องวัดค่าวอเตอร์แอคติวิตี้เสร็จ ที่หน้าจอ LCD ของเครื่องจะแสดงค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ที่อ่านได้ค่าสุดท้ายพร้อมอุณหภูมิ โดยตัวอย่าง 1 อย่าง จะต้องทำการทดลองอย่างน้อย 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.9.3 วิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture analysis)

นำตัวอย่างที่เตรียมไว้ทั้ง 6 ตัวอย่างไปวิเคราะห์เนื้อสัมผัส โดยใช้เครื่อง Stable Micro Systems เปิดเครื่อง Texture profile analyzer stable micro system รุ่น TA-XT plus เข้าโปรแกรม Texture Exponent 32 ทำการ Calibrate Force และ Calibrate Height จากนั้นเปิดโปรเจค TPA และตั้งค่า T.A. Setting ดังตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 Texture analysis setting

T.A. Setting	
Pre-test speed	1.0 mm/s
Test speed	1.0 mm/s
Post- test speed	1.0 mm/s
Strain	30%
Time	5.0 s
Trigger force	5.0 g
distance	20.0 mm

3.3.10 การวิเคราะห์ทางสถิติ (Statistical analysis)

วิเคราะห์ค่าความแปรปรวนทางเดียวด้วย One-Way ANOVA ทำการทดลองอย่างน้อย 3 ซ้ำ โดยนำค่าที่ได้จากการวิเคราะห์หาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าเฉลี่ยและวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Dunacan's Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาการทำเยลลี่เสริมเชื้อโพรไบโอติกโดยเชื้อที่ใช้คือ *Lactobacillus plantarum* TISTR 862 และเติมส่วนผสมอื่นๆอีกเช่น แคทไอออน ซึ่งแคทไอออที่ใช้คือโซเดียมคลอไรด์ และพรีไบโอติกสองชนิดคือ ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ และกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ โดยจะทำการศึกษาการรอดชีวิต และการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในเยลลี่ ที่สภาวะเก็บรักษา 4 องศาเซลเซียล เป็นเวลาทั้งหมด 28 วัน การรอดชีวิตของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในสภาวะระบบย่อยอาหารจำลอง และลักษณะทางกายภาพของเยลลี่ โดยตัวอย่างเยลลี่ที่นำมาทดลองมี 4 ตัวอย่างดังที่ได้แสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ตัวอย่างเยลลี่ที่ใช้สำหรับการทดทอง

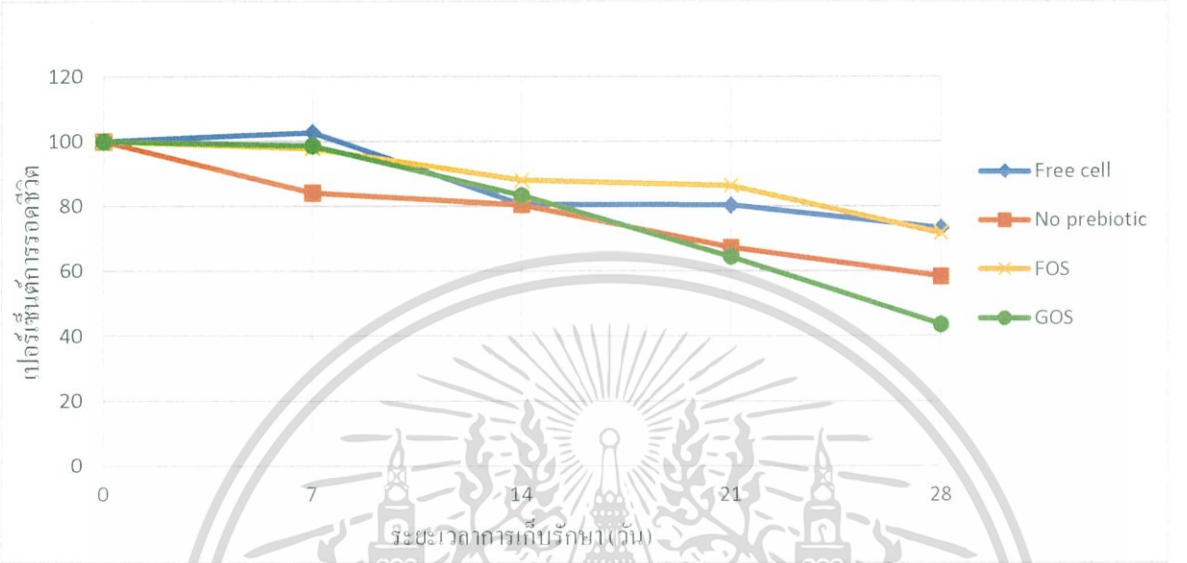
ตัวอย่าง	สัญลักษณ์	คำอธิบาย
1	Free cell	เชื้อ *L. Plantarum* TISTR 862 อิสระ ใน Peptone water 0.1% โดยมวลต่อปริมาตร
2	No prebiotic	เยลลี่แคปป้าคาร์ราจีแนนที่ไม่ผสมพรีไบโอติก
3	FOS	เยลลี่แคปป้าคาร์ราจีแนน ผสมกับฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์
4	GOS	เยลลี่แคปป้าคาร์ราจีแนน ผสมกับกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์

4.1 ผลการรอดชีวิตของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในเยลลี่ ที่สภาวะเก็บรักษา 4 องศาเซลเซียล เป็นเวลาทั้งหมด 28 วัน

จากการทดลองหาผลการรอดชีวิตของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในเยลลี่ที่สภาวะเก็บรักษา 4 องศาเซลเซียล เป็นเวลาทั้งหมด 28 วัน และเก็บผลการรอดชีวิตโดยการนับเชื้อในทุก 7 วัน แล้วนำมาหาค่าเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต พบว่า ตัวอย่าง เชื้อ *L. Plantarum* TISTR 862 อิสระ ใน Peptone water 0.1% โดยมวลต่อปริมาตรมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตถึง 73.33 % ดังภาพที่ 4.1 และมีปริมาณจำนวนเซลล์สูงสุดเท่ากับ 7.52 log CFU/mL และ รองลงมาคือตัวอย่าง เชื้อ *L. Plantarum* TISTR 862 ในเยลลี่คาร์ราจีแนนผสมกับฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ตัวอย่างเชื้อ *L. Plantarum* TISTR 862 ในเยลลี่คาร์ราจีแนนที่ไม่ผสมพรีไบโอติก และตัวอย่างเชื้อ *L. Plantarum* TISTR 862 ในเยลลี่คาร์ราจีแนนผสมกับกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ มีปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำนวนเซลล์เท่ากับ 6.72, 5.69 และ 3.62 log CFU/mL ตามลำดับดังตารางที่ 4.2 ซึ่งจากผลการทดลองในทุกตัวอย่างจะมีปริมาณจำนวนเซลล์ลดลงตลอดการเก็บรักษา



ภาพที่ 4.1 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในเยลลี่ ที่สภาวะเก็บรักษา 4 องศาเซลเซียล เป็นเวลาทั้งหมด 28 วัน

ตารางที่ 4.2 ความเข้มข้นของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในเยลลี่ ที่สภาวะเก็บรักษา 4 องศาเซลเซียล เป็นเวลาทั้งหมด 28 วัน

ตัวอย่าง	จำนวนเซลล์ (logCFU/mL)				
	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 28
Free cell	9.74 ± 0.02^{dC}	10.57 ± 0.05^{cD}	8.27 ± 0.01^{bB}	8.25 ± 0.1^{cB}	7.52 ± 0.13^{dA}
No pre	10.27 ± 0.03^{cE}	8.19 ± 0.1^{aD}	7.83 ± 0.08^{aC}	6.55 ± 0.05^{bB}	5.69 ± 0.02^{bA}
FOS	9.4 ± 0.02^{bD}	9.4 ± 0.02^{bD}	9.2 ± 0.02^{cC}	8.2 ± 0.1^{cB}	6.72 ± 0.2^{cA}
GOS	8.34 ± 0.08^{aC}	8.24 ± 0.06^{aC}	8.27 ± 0.94^{bC}	5.38 ± 0.04^{aB}	3.63 ± 2.09^{aA}

หมายเหตุ : อักษรตัวพิมพ์เล็กแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างตัวอย่างในคอลัมน์เดียวกัน
อักษรตัวพิมพ์ใหญ่แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างตัวอย่างในแถวเดียวกัน
ค่าที่แสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานได้มาจากการทดลอง 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การรอดชีวิตของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในเยลลี่ ที่สภาวะเก็บรักษา 4 องศาเซลเซียล เป็นเวลาทั้งหมด 28 วัน ตัวอย่าง เชื้อ *L. Plantarum* TISTR 862 อิสระ ใน Peptone water มีปริมาณจำนวนเซลล์สูงที่สุด เนื่องจากเชื้อ *L. Plantarum* TISTR 862 ไม่ได้ถูกห่อหุ้มด้วยพรีไบโอติก จึงทำให้เชื้อสามารถใช้ออกซิเจนที่มีอยู่ใน Peptone water ในการเจริญเติบโตได้ การเติมอากาศและการกวนถูกนำมาใช้ในกระบวนการหมักส่วนใหญ่ คำว่า aerobe หมายถึงชนิดของจุลินทรีย์ที่ต้องการโมเลกุลของออกซิเจนสำหรับการเจริญเติบโตและการเผาผลาญ แอโรบิกแบคทีเรียต้องการออกซิเจนเพื่อการเจริญเติบโต และสามารถถูกบ่มให้เติบโตในอากาศ ออกซิเจนเป็นสารออกซิไดซ์ที่แรง จึงมีความสามารถในการรับอิเล็กตรอนเพื่อให้ได้พลังงาน ซึ่งเป็นกระบวนการที่เรียกว่าการหายใจ ซึ่งออกซิเจนจะถูกละลายในเฟสของเหลว และจุลินทรีย์จะใช้ออกซิเจนที่ละลายอยู่ในของเหลวนั้น กระบวนการแบบแอโรบิกจะต้องจัดหาอากาศเพื่อเพิ่มการเติบโตของเซลล์ มิฉะนั้นออกซิเจนจะถูกใช้จนหมด ซึ่งการมีออกซิเจนที่จำกัดอาจทำให้อัตราการเจริญเติบโตของเชื้อลดลง (Najafpour, 2015) ซึ่งเชื้อในกลุ่ม Lactobacilli เป็น แบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างท่อนเดี่ยวหรือต่อกันเป็นสายสั้น ไม่สร้างสปอร์ และสามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (Facultative anaerobe) โดยในสภาวะที่มีออกซิเจนจะใช้กระบวนการหายใจ ส่วนสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนจะใช้กระบวนการหมัก Lanniello (2016) ได้ทำการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตแบบแอโรบิกและระบบทางเดินหายใจใน *Lactobacillus casei* N87 ได้กล่าวว่าเมแทบอลิซึมแบบหมักเป็นวิถีที่พบได้บ่อยที่สุดสำหรับการผลิตพลังงานของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก โดยข้อมูลจีโนมหลายชนิดที่แสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์จำนวนมากมีส่วนประกอบทางพันธุกรรมสำหรับการเจริญเติบโตของแอโรบิกและระบบทางเดินหายใจ วิถีแอโรบิกสำหรับการผลิตพลังงานเกี่ยวข้องกับไพรูเวทออกไซด์ (POX) และกิจกรรมอะซิเตตไคเนส ซึ่งจะส่งเสริมการเกิดออกซิเดชันของไพรูเวตเป็นอะซิเตตโดยมีการผลิต คาร์บอนไดออกไซด์, ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และ ATP เพิ่มเติม โดยพลังงานที่เพิ่มขึ้นและค่าพีเอชในสภาพแอโรบิกอาจทำให้เซลล์มีชีวิตและมีความแข็งแรงได้

จากตัวอย่างเชื้อ *L. Plantarum* TISTR 862 ในเยลลี่แคปป้าคาร์ราจีแนน ผสมกับกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์มีปริมาณจำนวนเซลล์ต่ำที่สุด จึงแสดงให้เห็นว่าพรีไบโอติกชนิดกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ส่งผลต่อการเจริญของเชื้อสายพันธุ์ Lactobacilli ได้ต่ำกว่าเมื่อเทียบกับการใช้กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์กับเชื้อสายพันธุ์อื่น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Bruno (2015) ที่ได้ศึกษาในเรื่องของ กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์และมะเร็งลำไส้ใหญ่ โดยการเสริมพรีไบโอติกในลำไส้ ได้กล่าวว่าทารกที่บริโภคพรีไบโอติกประเภท กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์แสดงให้เห็นถึงการเพิ่มขึ้นของเชื้อสายพันธุ์ Bifidobacterium ในอุจจาระของทารก และนอกจากนี้ยังทำการทดลองกับอาสาสมัครผู้ใหญ่ที่มีสุขภาพดีจำนวน 18 คน ให้ได้รับกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ เป็นเวลา 16 สัปดาห์ แสดงให้เห็นว่า เชื้อสายพันธุ์ Bifidobacterium สามารถเจริญเพิ่มขึ้นได้ดีมากกว่าเชื้อชนิดอื่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างเชื้อ *L. Plantarum* TISTR 862 ในเยลลี่คาร์ราจีแนนทุกๆ ตัวอย่างจะมีปริมาณจำนวนเซลล์ลดลงตลอดการเก็บรักษา ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kopp-Hoolihan (2001) พบว่าผลิตภัณฑ์ที่มีเชื้อโพรไบโอติกเป็นส่วนประกอบ และทำการเก็บรักษาโดยการแช่เย็น ส่วนมากจะมีอายุการเก็บรักษาอยู่ในช่วง 3 - 6 สัปดาห์ ซึ่งหากผลิตภัณฑ์ที่ไม่ได้ทำการเก็บรักษาโดยการแช่เย็นจะทำให้มีความคงตัวของเชื้อโพรไบโอติกน้อยกว่า ผลิตภัณฑ์ที่ทำการเก็บรักษาโดยการแช่เย็น และเชื้อโพรไบโอติกจะมีจำนวนลดลงได้ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

4.2 ผลการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในเยลลี่ ที่สภาวะเก็บรักษา 4 องศาเซลเซียล เป็นเวลาทั้งหมด 28 วัน

จากการทดลองหาผลการเปลี่ยนแปลงค่า pH ของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในเยลลี่ ที่สภาวะเก็บรักษา 4 องศาเซลเซียล เป็นเวลาทั้งหมด 28 วัน และเก็บผลค่า pH ของแต่ละตัวอย่างในทุก ๆ 7 วัน จะได้ค่าดังที่ได้แสดงในตารางที่ 4.3 พบว่า ตัวอย่างเชื้อ *L. Plantarum* TISTR 862 อิสระ ใน Peptone water 0.1% โดยมวลต่อปริมาตร มีค่า pH สูงที่สุด เท่ากับ 5.96 รองลงมาคือตัวอย่างเชื้อ *L. Plantarum* TISTR 862 ในเยลลี่คาร์ราจีแนน ผสมกับกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ตัวอย่างเชื้อ *L. Plantarum* TISTR 862 ในเยลลี่คาร์ราจีแนนที่ไม่ผสมพรีไบโอติกและตัวอย่างเชื้อ *L. Plantarum* TISTR 862 ในเยลลี่คาร์ราจีแนน ผสมกับฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ที่มีค่า pH เท่ากับ 4.99, 4.61 และ 4.02 ตามลำดับ ซึ่งเยลลี่ของแต่ละตัวอย่างจะมีค่า pH ที่ลดลงตลอดการเก็บรักษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ค่าพีเอชของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในเยลลี่ ที่สภาวะเก็บรักษา 4 องศาเซลเซียล เป็นเวลาทั้งหมด 28 วัน

ตัวอย่าง	ค่าพีเอช				
	วันที่ 0	วันที่ 7	วันที่ 14	วันที่ 21	วันที่ 28
Free cell	5.83 ± 0.12^{bAB}	6.10 ± 0.28^{cAB}	5.77 ± 0.29^{cA}	6.20 ± 0.17^{cB}	5.96 ± 0.12^{dAB}
No pre	5.28 ± 0.01^{aB}	4.67 ± 0.06^{abA}	4.74 ± 0.11^{bA}	4.74 ± 0.21^{bA}	4.61 ± 0.17^{bA}
FOS	5.36 ± 0.3^{aB}	4.16 ± 0.06^{aA}	4.26 ± 0.12^{aA}	4.08 ± 0.02^{aA}	4.02 ± 0.05^{aA}
GOS	5.82 ± 0.08^{bB}	4.8 ± 0.53^{bA}	4.6 ± 0.18^{abA}	4.52 ± 0.09^{bA}	4.99 ± 0.1^{cA}

หมายเหตุ : อักษรตัวพิมพ์เล็กแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างตัวอย่างในคอลัมน์เดียวกัน
อักษรตัวพิมพ์ใหญ่แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญระหว่างตัวอย่างในแถวเดียวกัน
ค่าที่แสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานได้มาจากการทดลอง 3 ซ้ำ

ตัวอย่างเชื้อ *L. Plantarum* TISTR 862 อิสระ ในสารละลาย Peptone water 0.1% โดยมวลต่อปริมาตร มีค่า pH สูงที่สุด เนื่องจากในสารละลายมีออกซิเจนเป็นส่วนประกอบ จึงทำให้เชื้ออยู่ในสภาวะที่มีอากาศ มีการแบ่งเซลล์เพื่อการเจริญเติบโต แต่ไม่เกิดกระบวนการหมัก ส่งผลให้ค่า pH ลดลงไม่มาก เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างเชื้ออื่นที่อยู่ในเยลลี่ที่มีส่วนผสมของคาร์ราจีแนน จึงทำให้เชื้ออยู่ในสภาวะไร้อากาศ และทำให้เกิดกระบวนการหมักและเกิดการผลิตกรดอินทรีย์ เช่นกรดแลคติก ส่งผลให้ค่า pH ของตัวอย่างลดลง และยังสอดคล้องกับผลค่าความเข้มข้นของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในเยลลี่คาร์ราจีแนน ที่มีปริมาณจำนวนเซลล์ลดลงเมื่อค่า pH เพิ่มลดลง

จากผลการลดลงของค่า pH ของเยลลี่แต่ละตัวอย่างจากวันที่ 0 จนถึงวันที่ 28 ที่สภาวะเก็บรักษา 4 องศาเซลเซียส ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Behera และคณะ (2018) ที่ได้ทำการศึกษาคุณสมบัติเชิงหน้าที่ของเชื้อ *Lactobacillus plantarum* ของแนวทางในการเพิ่มความปลอดภัยและอายุการเก็บรักษาอาหารหมักดอง ได้กล่าวว่า กรดแลคติกเป็นกรดอินทรีย์ที่สำคัญที่ผลิตโดยเชื้อ *Lactobacillus plantarum* ส่วนกรดอนินทรีย์อื่น ๆ จะผลิตกรดอะซิติก, โพรพิโอนิซิซิด, กรดฟีนอลแลคติก, กรดฟอร์มิกและกรดซัคซินิก จึงส่งผลให้ค่า pH นั้นลดลง และอาจทำให้เกิดการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆอีกหลายชนิด ที่เป็นเช่นนี้เพราะเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่ม Lactobacilli จะสามารถใช้น้ำตาลกลูโคสเปลี่ยนไปเป็นกรดแลคติกได้ โดยผ่านวิถีไกลโคไลซิส ซึ่งกลูโคสจะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ถูกเปลี่ยนเป็นฟรุคโตส 1,6 ฟอสเฟต จึงทำให้ได้กรดแลคติกสองโมลจากน้ำตาลกลูโคสหนึ่งโมล สิรินดา ยุ่นฉลาด (2552)

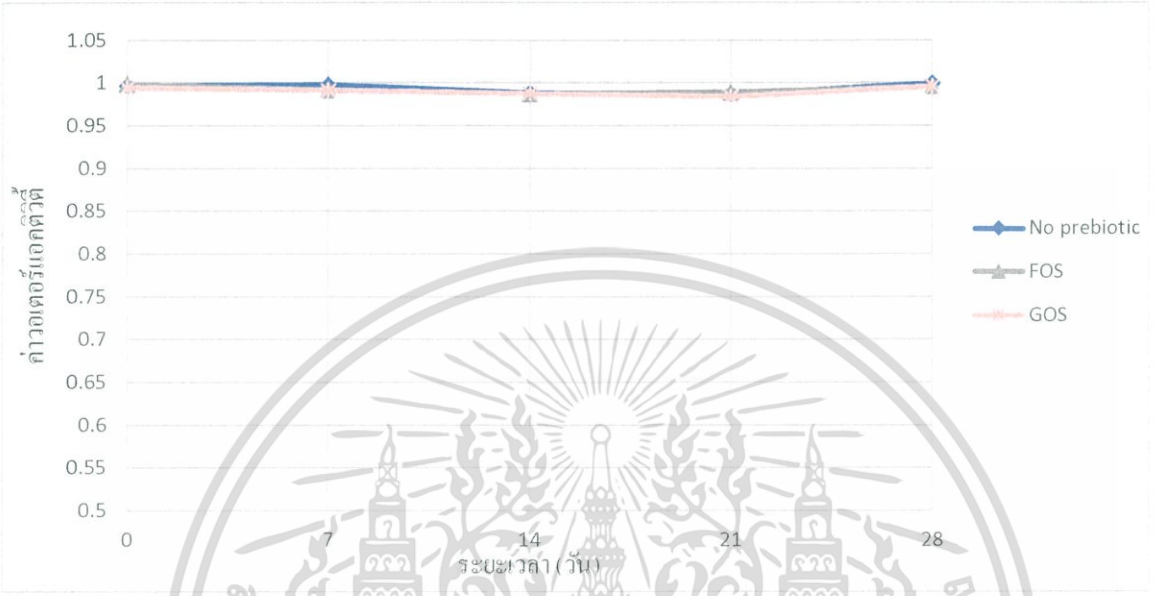
และจากผลการทดลองจะเห็นว่าตัวอย่างเยลลี่ที่เติมพรีไบโอติกชนิดฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ จะมีค่า pH ที่ต่ำกว่าตัวอย่างอื่นซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mishra และคณะ (2013) ที่ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบผลของซินไบโอติกของอินนูลินและฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์กับโพรไบโอติกโดยคำนึงถึงคุณสมบัติต่าง ๆ ของนมถั่วเหลืองหมัก ได้กล่าวว่า การเติมพรีไบโอติกในนมถั่วเหลือง จะช่วยเพิ่มอัตราการเป็นกรด และนมถั่วเหลืองหมักที่ทำการเสริมด้วยฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ พบว่ามีกรดสูงมากขึ้นเทียบกับอินนูลิน โดยงานวิจัยของ Cao และคณะ (2019) ศึกษาพบว่า ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ส่งผลให้อัตราการเจริญในช่วงแรกสูงกว่า และทำให้ค่า pH ลดลงเร็วกว่า การใช้กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ นอกจากนี้งานวิจัยของ Ignatova และคณะ (2009) ที่ศึกษาการใช้อาหารพรีไบโอติกกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์กับเชื้อ *Lactobacillus delbruexkii* Subsp. *bulgaricus* ในการทดลองช่วงการหมักกรดอินทรีย์จะพบว่า เชื้อ เชื้อ *Lactobacillus delbruexkii* Subsp. *bulgaricus* B8 จะใช้ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในการผลิตกรดแลคติกมากกว่ากาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ จึงแสดงให้เห็นว่าเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 สามารถใช้พรีไบโอติกชนิดฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ในการหมักและการผลิตกรดอินทรีย์ได้ดีกว่าการใช้พรีไบโอติกชนิดกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ซึ่งสอดคล้องกับผลของจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตในตัวอย่างของเชื้อที่ใช้พรีไบโอติกชนิดฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ มีปริมาณจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตสูงกว่าตัวอย่างของเชื้อที่ใช้พรีไบโอติกชนิดฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ จึงส่งผลให้เชื้อเกิดการหมักและสามารถสร้างกรดอินทรีย์ได้มากกว่าจึงทำให้ค่า pH ต่ำกว่า

4.3 การเปลี่ยนแปลงค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน

ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ (Water activity) หรือ Aw เป็นตัวกำหนดคุณภาพของผลิตภัณฑ์ อายุการเก็บรักษา รูปแบบการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ และความปลอดภัยด้านอาหาร เนื่องจากการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์อาหารส่วนใหญ่นั้นมาจากจุลินทรีย์ต่างๆไม่ว่าจะเป็น แบคทีเรีย ยีสต์ และ รา โดยค่าวอเตอร์แอคติวิตี้จะเป็นตัวบ่งบอกปริมาณน้ำที่ต่ำที่สุดที่จุลินทรีย์แต่ละประเภทสามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตและเกิดปฏิกิริยาในอาหาร ซึ่งเป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียอาหารได้นั้นเอง (นุชนารถ, 2545) โดยผลการทดลองตัวอย่างเยลลี่คาร์ราจีแนนที่ทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 28 วัน ได้ผลตามภาพที่ 4.4 โดยในภาพจะแสดงให้เห็นทั้ง 6 ตัวอย่างเยลลี่คาร์ราจีแนนจะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีค่าวอเตอร์แอคติวิตี้อยู่ระหว่าง 0.9819 ถึง 0.9994 ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้มีค่าที่สูงเนื่องจากตัวอย่างทั้งหมดมีส่วนประกอบของน้ำสูงถึง 90% ถึง 99%



ภาพที่ 4.2 ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ของเยลลี่คาร์ราจีแนน ที่สภาวะเก็บรักษา 4 องศาเซลเซียล เป็นเวลาทั้งหมด 28 วัน

ตัวอย่างเยลลี่คาร์ราจีแนนนั้นมีโอกาสเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์ได้ง่าย เนื่องจากค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ของเยลลี่ที่มีค่าสูงกว่า 0.9 เหมาะต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์กลุ่มก่อโรคและการเสื่อมเสียของตัวอย่าง เช่น *Escherichia coli* ที่สามารถเจริญเติบโตในค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ 0.935, *Salmonella* กับ *Clostridium botulinum* ที่สามารถเจริญเติบโตในค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ 0.94 และ *Staphylococcus aureus* ที่เจริญเติบโตในค่าวอเตอร์-แอคติวิตี้ 0.86 (Ross, 2003)

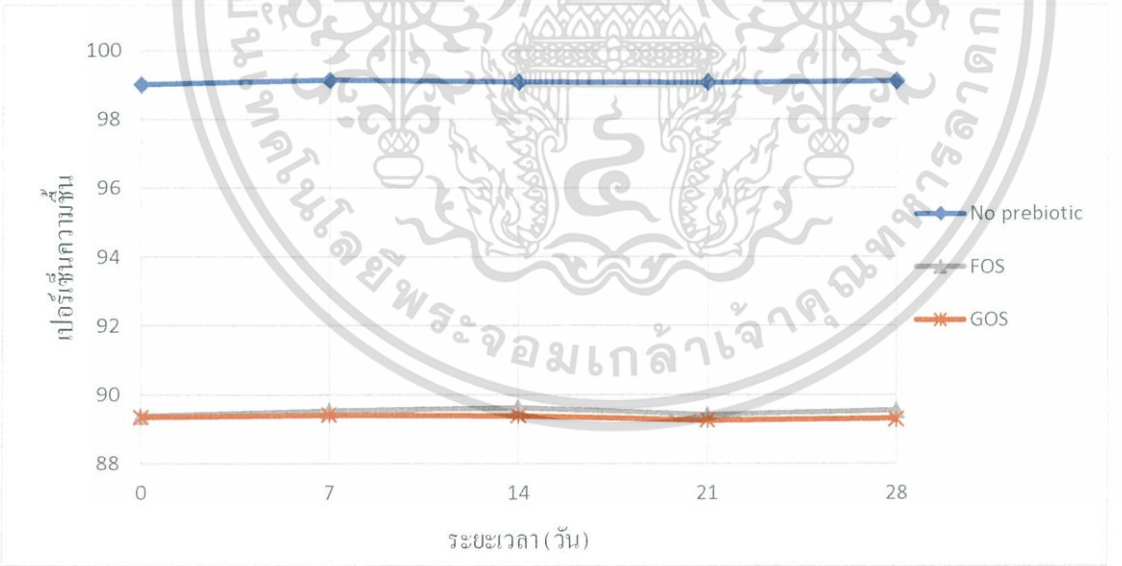
ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ที่มีค่าสูงจะทำให้ตัวอย่างเยลลี่คาร์ราจีแนนเสื่อมเสียง่าย แต่ก็มีปัจจัยด้านอื่นที่ช่วยในการลดเวลาการเสื่อมเสียของเยลลี่คาร์ราจีแนน เช่น ค่าความเป็นกรด โดยในงานวิจัยของ Ross และคณะ (2003) พบว่า เชื้อ *Escherichia coli* เลี้ยงในอาหาร Nutrient broth ที่อุณหภูมิ22.06 และค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ 0.994 จะพบว่า ที่ค่า pH 6.14 และ 4.27 จะมีค่า Generation time 1.4 ชั่วโมง และ 2.4 ชั่วโมง ตามลำดับ กล่าวโดยสรุปคือ ยิ่งค่า pH ต่ำลงจนอยู่ในระดับหนึ่ง เชื้อจุลินทรีย์บางตัวที่ก่อให้เกิดโรคและก่อให้เกิดการเสื่อมเสียจะถูกยับยั้งและชะลอการเจริญเติบโตได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แต่ถึงจะมีปัจจัยส่วนอื่นในการยับยั้งการเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์ ยังไงก็ตามค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ที่สูงกว่า 0.9 ก็ยังเป็นส่วนช่วยในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและการเสื่อมเสีย ทำให้ตัวอย่างเยลลี่คาร์ราจีแนนมีอายุการเก็บรักษาที่สั้น ดังนั้นควรที่จะมีการเก็บเอาไว้ในอุณหภูมิที่ต่ำเพื่อเพิ่มระยะเวลาการเก็บรักษาเอาไว้ให้นานยิ่งขึ้น ซึ่ง Ross และคณะ (2003) ได้ทำการทดลองดูค่า Generation time ของเชื้อ *Escherichia coli* ที่อุณหภูมิ 7.63 ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ 0.997 พบว่าถ้าเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำจะทำให้เชื้อ *Escherichia coli* เกิดการแบ่งตัวที่ช้า มีค่า Generation time อยู่ที่ 60.5 ชั่วโมง

4.4 การเปลี่ยนแปลงความชื้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน

เปอร์เซ็นต์ความชื้นของตัวอย่างเยลลี่คาร์ราจีแนนทั้ง 3 ตัวอย่างจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณน้ำที่เติมลงไปในตัวอย่างเช่นเดียวกับค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ เมื่อทำการคำนวนเปอร์เซ็นต์น้ำในตัวอย่างเยลลี่คาร์ราจีแนน เยลลี่ที่ไม่ทำการใส่พรีไบโอติก จะมีส่วนประกอบของน้ำอยู่ที่ 98.723 % และตัวอย่างที่ทำการเติมพรีไบโอติกจะมีปริมาณน้ำอยู่ 89.109 % ซึ่งเมื่อนำค่าเปอร์เซ็นต์มาเปรียบเทียบกับผลที่ได้ตามภาพที่4.5 จะพบว่า เปอร์เซ็นต์น้ำในตัวอย่างเยลลี่คาร์ราจีแนนจะอยู่ในช่วงเปอร์เซ็นความชื้นของตัวอย่างเยลลี่คาร์ราจีแนน



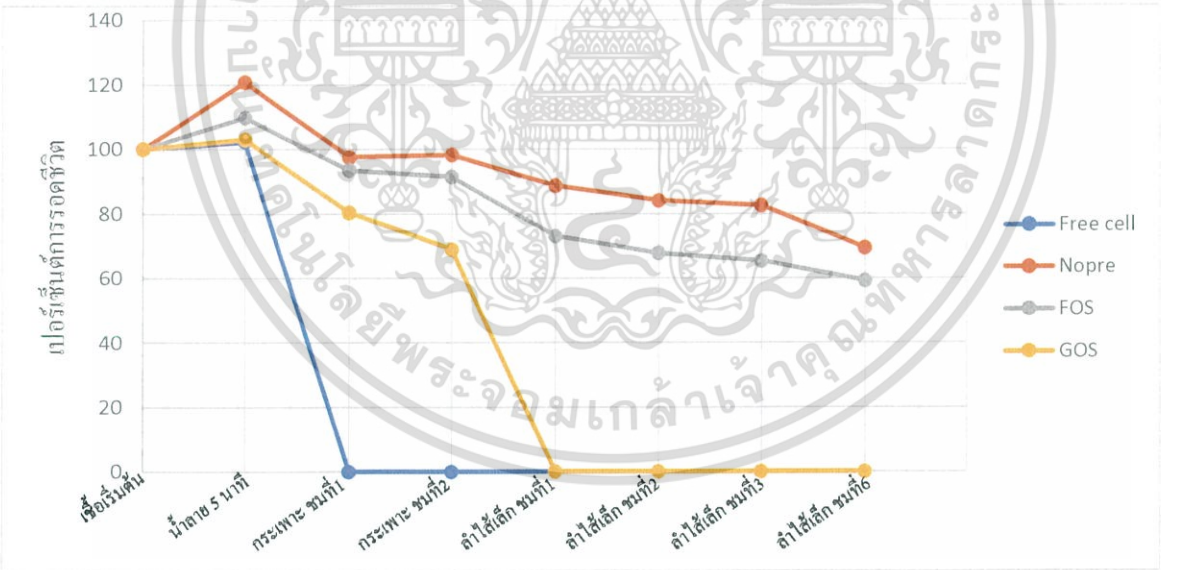
ภาพที่ 4.3 ค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ของเยลลี่คาร์ราจีแนน ที่สภาวะเก็บรักษา 4 องศาเซลเซียล เป็นเวลาทั้งหมด 28 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยในภาพที่4.5 จะแบ่งตัวอย่างตามเส้นกราฟออกเป็น 2 แบบ คือ แบบที่1 คือตัวอย่างที่อยู่ในช่วง 98.78 % ถึง 99.11 % ได้แก่ เยลลี่คาร์ราจีแนนไม่มีพรีไบโอติก ส่วนแบบที่ 2 คือตัวอย่างที่อยู่ในช่วง 89.09 % ถึง 89.63 % นั้นคือเยลลี่คาร์ราจีแนนที่ใส่พรีไบโอติก โดยความแตกต่างที่เกิดขึ้นในภาพที่ 4.5 เกิดจากการที่ตัวอย่างที่ทำการเติมพรีไบโอติกนั้นจะมีการเติมพรีไบโอติกเข้าไป 10 กรัม โดยลดปริมาณน้ำ 10 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้สัดส่วนของตัวอย่างใกล้เคียงกันนั้นเอง

4.5 ผลการรอดชีวิตของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในเยลลี่ที่สภาวะระบบย่อยอาหารจำลอง

ศึกษาการอดชีวิตของเชื้อ *L.plantarum* TISTR 862 ในสภาวะทางเดินอาหารจำลอง ในตัวอย่างเยลลี่คาร์ราจีแนน 3 ตัวอย่าง เปรียบเทียบกับเชื้อ *L.plantarum* TISTR 862 ในรูปเซลล์อิสระ โดยการทดลองนี้จะมีการช่วงการทดสอบแบ่งออกเป็น 3 ช่วง ทำการเก็บตัวอย่าง 8 ชุด คือ ช่วงปาก ทำการเก็บตัวอย่างที่นาทีที่ 0 และ 5, ช่วงกระเพาะอาหาร ทำการเก็บตัวอย่างที่ชั่วโมงที่ 1 และ 2 และช่วงลำไส้เล็ก ทำการเก็บตัวอย่างที่ชั่วโมงที่ 1, 2, 3 และ 6



ภาพที่ 4.4 การรอดชีวิตของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในตัวอย่างเยลลี่ที่สภาวะระบบย่อยอาหารจำลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองการรอดชีวิตของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ได้ผลตามภาพที่ 4.6 โดยเซลล์อิสระจะไม่สามารถรอดชีวิตได้ตั้งแต่กระเพาะอาหารชั่วโมงที่1 ส่วนเยลลี่คาร์ราจีแนนที่ใส่กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ เชื้อจะมีโอกาสรอดชีวิตถึงแค่ช่วงกระเพาะอาหารชั่วโมงที่ 2 เท่านั้น มีเพียงตัวอย่างที่เป็นเยลลี่คาร์ราจีแนนผสมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ และเยลลี่คาร์ราจีแนนที่ไม่ผสมพรีไบโอติก ที่เชื้อสามารถรอดชีวิตจนถึงช่วงลำไส้เล็กชั่วโมงที่ 6 ได้ เมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของเชื้อโพรไบโอติกแล้ว ในช่วงลำไส้เล็กชั่วโมงที่ 6 จะได้ค่าอยู่ที่ 69.3 % และ 59.17 % ตามลำดับ

ตารางที่ 4.4 การรอดชีวิตของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในตัวอย่างเยลลี่ที่สภาวะระบบย่อยอาหารจำลอง

ตัวอย่าง	จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต (log CFU/mL)							
	เชื้อเริ่มต้น	น้ำลาย 5 นาที	กระเพาะ ชม.ที่1	กระเพาะ ชม.ที่2	ลำไส้เล็ก ชม.ที่1	ลำไส้เล็ก ชม.ที่2	ลำไส้เล็ก ชม.ที่3	ลำไส้เล็ก ชม.ที่6
Free cell	9.96 ±0.3	10.2 ±0.02	ND	ND	ND	ND	ND	ND
No pre	8.62 ±0.02	10.41 ±0.01	8.41 ±0.01	8.47 ±0.01	7.64 ±0.02	7.24 ±0.06	7.11 ±0.05	5.97 ±0.04
FOS	8.26 ±0.09	9.07 ±0.03	7.72 ±0.21	7.55 ±0.1	6.03 ±0.18	5.6 ±0.12	5.4 ±0.04	4.89 ±0.09
GOS	8.86 ±0.09	9.13 ±0.07	7.11 ±0.00	6.1 ±0.25	ND	ND	ND	ND

หมายเหตุ : ND หมายถึง ตรวจเชื้อไม่พบ (Not detected)

จากตารางที่ แสดงให้เห็นว่า เชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในเยลลี่คาร์ราจีแนนไม่ใส่พรีไบโอติก และใส่ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ มีโอกาสรอดชีวิตอยู่ที่ 5.97 log CFU/mL และ 4.89 log CFU/mL ตามลำดับ

ในส่วนตัวอย่างเซลล์อิสระจะไม่สามารถอยู่รอดชีวิตได้ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 1 เนื่องจากเซลล์อิสระไม่ได้ทำการห่อหุ้มตัวเซลล์จึงทำให้เชื้อไม่ได้รับการป้องกันจากสารละลายเปปซินและค่า pH ที่ต่ำถึง 2 สอดคล้องกับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

งานวิจัย Prasanna และCharalampopoulos (2019) ที่ทำการทดลองกับเชื้อโพรไบโอติก ในสภาวะทางเดินอาหารจำลอง ค่า pH เท่ากับ 2 เชื้อที่อยู่ในรูปเซลล์อิสระ จะลดลงเรื่อยๆจนไม่สามารถตรวจเชื้อพบได้ในนาทีที่ 90 และเชื้อโพรไบโอติกที่ทำการห่อหุ้มและผสมอินนูลินจะมีโอกาสรอดชีวิตที่สูงกว่าเซลล์อิสระ

ส่วนสาเหตุที่เยลลี่คาร์ราจีแนนใส่ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ทำให้เชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 มีโอกาสรอดชีวิตมากกว่ากาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์นั้น คาดว่าเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 จะใช้ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ได้ดีกว่า กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์โดยอ้างอิงจากค่าpH ในตารางที่ 4.7 ที่บ่งบอกถึงปริมาณกรดอินทรีย์ที่เชื้อผลิตจากการหมัก โดยค่า pH ของกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ จะลดน้อยกว่าฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ บ่งบอกว่า เชื้อใช้ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ได้ดีกว่านั้นเอง และในการทดลองการวิเคราะห์เนื้อสัมผัสค่า Hardness, Gumminess, Chewiness ของเยลลี่คาร์ราจีแนนใส่ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์มีค่าที่สูงกว่าเยลลี่คาร์ราจีแนนใส่กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ซึ่งมีผลต่อการทนต่อสภาวะความเป็นกรดในช่วงกระเพาะอาหารของตัวเยลลี่คาร์ราจีแนนทำให้เชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในเยลลี่คาร์ราจีแนนในฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ถูกปลดปล่อยออกมาช้ากว่าเยลลี่คาร์ราจีแนนในกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์

4.6 การวิเคราะห์เนื้อสัมผัส

ตัวอย่างเยลลี่คาร์ราจีแนน เยลลี่ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ เยลลี่กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ ถูกนำไปวิเคราะห์เนื้อสัมผัส 5 ด้าน ได้แก่ Hardness (ความแข็ง) Springiness (ความยืดหยุ่นหรือการคืนรูป) Cohesiveness (ความแข็งของพันธะหรือค่าการเกาะตัวกัน) Gumminess (ความเหนียวจนเป็นยาง) และ Chewiness (การทนต่อการเคี้ยว) ได้ผลดังตารางที่ 4.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ลักษณะทางเนื้อสัมผัสของตัวอย่างเยลลี่คาร์ราจีแนน

Sample	Hardness	Springiness	Cohesiveness	Gumminess	Chewiness
No prebiotic	320.3617 ± 5.5352[b]	0.8813 ± 0.017[ab]	0.7823 ± 0.0085[a]	250.6437 ± 7.0035[b]	213.4507 ± 3.4444[b]
FOS	326.3427 ± 7.2478[b]	0.9173 ± 0.0045[b]	0.751 ± 0.0036[a]	237.804 ± 4.6724[b]	222.7237 ± 5.16857[b]
GOS	252.0037 ± 16.3374[a]	0.855 ± 0.0348[a]	0.757 ± 0.0246[a]	128.9617 ± 8.7592[a]	113.8143 ± 13.2542[a]

หมายเหตุ : อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์เล็กแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างตัวอย่างในคอลัมน์เดียวกัน ค่าที่แสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานได้มาจากการทดลองซ้ำ 5 ซ้ำ

Hardness (ความแข็ง) คือ แรงที่ทำให้ตัวอย่างเสียรูป หรือแรงที่ใช้กดตัวอย่างเปรียบเสมือนฟันกรามเพื่อเปลี่ยนรูปร่างตัวอย่าง จากการวิเคราะห์ความแข็งจากตัวอย่างเยลลี่ดังตารางที่ พบว่าเยลลี่ที่มีความแข็งที่สุด คือ เยลลี่ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 308.9378 นิวตัน รองลงมาคือ เยลลี่กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ และเยลลี่ที่มีความแข็งน้อยที่สุด คือ เยลลี่คาร์ราจีแนน

Springiness (ความยืดหยุ่น) อัตราของการคืนรูปของตัวอย่างหลังจากถูกกด หรือความสามารถในการคืนตัว กลับมาเหมือนเดิมเมื่อมีการถอนแรงกดออกจากตัวอย่าง จากผลการทดสอบเยลลี่ที่มีความยืดหยุ่นมากที่สุด คือ เยลลี่ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ มีค่าเฉลี่ย 0.8988 รองลงมา คือ เยลลี่คาร์ราจีแนน และเยลลี่กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์

Cohesiveness (ความสามารถเกาะรวมตัวกัน) คือ ขอบเขตของตัวอย่างที่สามารถเสียรูปก่อนที่จะเกิดการแตกหัก หรือความแข็งแรงของพันธะภายในชิ้นตัวอย่างที่ทำให้ตัวอย่างทนต่อแรงที่มากระทำก่อนที่ตัวอย่างจะแตกขาดหรือแยกออกจากกัน จากผลการทดสอบเยลลี่ที่มีความสมารถเกาะรวมตัวกันมากที่สุด คือ เยลลี่ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ มีค่าเฉลี่ย 0.6954 รองลงมา คือ เยลลี่คาร์ราจีแนน เยลลี่กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Gumminess (ความเหนียวจนเป็นยาง) คือ แรงที่ต้องใช้ในการแยกตัวอย่างที่เป็นกึ่งของแข็งจนกระทั่งเสียรูป โดยเป็นตัวอย่างที่มีความแข็งน้อย และมีความเกาะกันมาก หรือใช้พลังงานในการเคี้ยวตัวอย่างที่เป็นกึ่งของแข็งในอัตราการเคี้ยวคงที่จนกระทั่งสามารถที่จะกลืนได้ จากการวิเคราะห์ความเหนียวจากตัวอย่างเยลลี่ดังตารางที่ พบว่าเยลลี่ที่มีความเหนียวที่สุด คือ เยลลี่คาร์ราจีแนน มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 246.3458 รองลงมาคือ เยลลี่ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ และเยลลี่ที่มีความเหนียวน้อยที่สุด คือ เยลลี่กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์

Chewiness (การทนต่อการเคี้ยว) คือ แรงที่ใช้ในการเคี้ยวหรือบดตัวอย่าง จนกระทั่งตัวอย่างเสียรูป โดยเป็นตัวอย่างที่มีลักษณะผสมของความแข็ง เกาะกันและยืดหยุ่น หรือระยะเวลานานที่ใช้ในการบดเคี้ยว ตัวอย่างที่เป็นของแข็งในอัตราการเคี้ยวคงที่จนกระทั่งสามารถกลืนได้ จากการวิเคราะห์การทนต่อการเคี้ยวจากตัวอย่างเยลลี่ดังตารางที่ พบว่าเยลลี่ที่มีค่าการทนต่อการเคี้ยวมากที่สุด คือ เยลลี่ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 220.3793 รองลงมาคือ เยลลี่คาร์ราจีแนน และเยลลี่ที่มีค่าการทนต่อการเคี้ยวน้อยที่สุด คือ เยลลี่กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

สรุปผล

1. เชื้อ L. plantarum TISTR 862 ที่อยู่ในเยลลี่คาร์ราจีแนนผสมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ จะมีจำนวนเหลือรอดมากที่สุดในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในช่วง 28 วัน

2. ตัวอย่างเยลลี่คาร์ราจีแนนมีปริมาณความชื้นสูงกว่า 95 และมีค่าวอเตอร์แอคติวิตี้สูงกว่า 0.95 เปอร์เซ็นต์ มีความเสี่ยงต่อการเน่าเสียของอาหารจำพวกจุลินทรีย์ เช่น *Escherichia coli, Salmonella, Clostridiun botulinum* และ *Staphylococcus aureus* ดังนั้นเยลลี่คาร์ราจีแนนควรเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3. ประเภทของพรีไบโอติกมีผลต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของตัวอย่างเยลลี่ โดยเฉพาะเยลลี่คาราจีแนนที่ผสมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ทนต่อค่าความแข็ง ความยืดหยุ่น และค่าทนต่อการเคี้ยวมากที่สุด และทำให้เยลลี่คาราจีแนนผสมฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ สามารถป้องกัน *L. plantarum* TISTR 862 จากระบบย่อยอาหารได้ดีกว่าเยลลี่คาร์ราจีแนนผสมกับกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์

ข้อเสนอแนะ

1. ศึกษาเปรียบเทียบการใช้โพรไบโอติกมากกว่า 2 ชนิด เช่น *Bifidobacterium longum, Streptococcus thermophilus* เป็นต้นในเยลลี่คาร์ราจีแนนเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของอาหารฟังก์ชั่น

2. ศึกษาการรอดชีวิตของเชื้อโพรไบโอติกในเยลลี่คาร์ราจีแนน ช่วงกระเพาะอาหารที่ pH 2 ค่า ได้แก่ 2 และ 5 เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการรอดชีวิตของเชื้อโพรไบโอติก ทำให้สามารถช่วยกำหนดเวลารับประทานเยลลี่ให้ได้ประโยชน์สูงสุดสำหรับผู้บริโภค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

จุฬาลักษณ์ ชูพรหม. 2553. การห่อหุ้มเซลล์โปรไบโอติกร่วมกับพรีไบโอติกและศึกษาการรอดชีวิตในสภาวะที่เป็นกรดและเกลือน้ำดีในหลอดทดลอง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ณัฐชา ศิริโชตินันท์. 2558. ความสามารถในการสร้างเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลสของแบคทีเรียกรดแลคติก. สาขาวิชาชีวภาพการแพทย์. คณะแพทย์ศาสตร์. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. 5: 2-7.

นวลจันทร์ พารักษา. 2533. สาระน่ารู้เกี่ยวกับโพรไบโอติก.สุกรสาส์น. 15(59): 5-8.

นุชนารถ ทรัพย์พาณิชย์. 2545. Water activity กับการควบคุมอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหาร. วารสารจาร์พา. 9(68): 48-51.

สิรินดา ยุ่นฉลาด. 2552. การผลิตD-lactic acid โดยแบคทีเรียกรดแลคติคเพื่อผลิตพลาสติกย่อยสลายได้ทางชีวภาพ.วารสารศูนย์บริการวิชาการ. 1(4): 16-22.

ศัลยา คงสมบูรณ์เวช. 2557. โพรไบโอติกเพื่อสุขภาพ. ไทยเนอร์สซิงไทม์. 74: 1-9.

Adebola, O.O., Corcoran, O. and Morgan, W.A. 2014. Synbiotics: the impact of potential prebiotics inulin, lactulose and lactobionic acid on the survival and growth of lactobacilli probiotics. Journal of functional foods. 10: 75-84.

Bedani, R., Saad, S.M.I. and Sivieri, K. 2016. Potential benefits of probiotics, prebiotics, and synbiotics on the intestinal microbiota of the elderly. Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics. Academic Press, Arizona, USA. 525-538.

Behera, S.S., Ray, R.C. and Zdolec, N. 2018. *Lactobacillus plantarum* with functional properties: an approach to increase safety and shelf-life of fermented foods. BioMed research international. 31: 1-18.

Bouhnik, Y., Vahedi, K., Achour, L., Attar, A., Salfati, J., Pochart, P., Marteau, P., Flourie, B., Bornet, F. and Rambaud, J.C. 1999. Short-chain fructo-oligosaccharide administration dosedependently increases fecal bifidobacteria in healthy humans. The Journal of Nutrition. 129(1): 113–116.

Buchi. 2017. การห่อหุ้มในรูปแคปซูล. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก : https://www.buchi.com/th-th/products-solutions/spray-drying-encapsulation/microencapsulation. 4 ตุลาคม 2560.

Bruno-Barcena, J.M. and Azcarate-Peril, M.A. 2015. Galacto-oligosaccharides and colorectal cancer: Feeding our intestinal probiome. Journal of functional foods. 12: 92-108.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Buriti, F.C., Castro, I.A. and Saad, S. 2010. Viability of *Lactobacillus acidophilus* in synbiotic guava mousses and its survival under in vitro simulated gastrointestinal conditions. International Journal of Food Microbiology. 137(2-3): 121-129.

Cao, P., Wu, L., Wu, Z., Pan, D., Zeng, X., Guo, Y. and Lian, L. 2019. Effects of oligosaccharides on the fermentation properties of *Lactobacillus plantarum*. Journal of dairy science. 102(4): 2863-2872.

Cummings, J.H., Bingham, S.A., Heaton, K.W. and Eastwood, M.A. 1992. Fecal weight, colon cancer risk, and dietary intake of nonstarch polysaccharides (dietary fiber). Gastroenterology. 103(6): 1783–1789.

El Kadri, H., Lalou, S., Mantzouridou, F. and Gkatzionis, K. 2018. Utilisation of water-in-oil-water (W1/O/W2) double emulsion in a set-type yogurt model for the delivery of probiotic *Lactobacillus paracasei*. Food Research International. 107: 325-336.

Etchepare, M.D.A., Raddatz, G.C., Cichoski, A.J., Flores, T.M.M., Barin, J.S., Queiroz Zepka, L., Jacob-Lopes, E., Grosso, C.R.F. and de Menezes, C.R. 2016. Effect of resistant starch (Hi-maize) on the survival of *Lactobacillus acidophilus* microencapsulated with sodium alginate. Journal of Functional Foods. 21: 321-329.

Fengchen group co., LTD. 2002. *Lactobacillus plantarum* [Online]. Available: http://th.fengchengroup.net/enzymes-and-bio-products/probiotics/lactobacillus-plantarum-l-plantarum.html. 9 July 2019.

Gibson, G.R., Probert, H.M., Loo, J.V., Rastall, R.A. and Roberfroid, M.B. 2004. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Updating the concept of prebiotics. Nutrition Research Reviews. 17(2): 259–275.

Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B. 1995. Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. Journal of Nutrition. 125: 1401–1412.

He, Y., Wu, Z., Tu, L., Han, Y., Zhang, G. and Li, C. 2013. Review of encapsulation methods suitable for microbial biological control agents. Biological Control. 67: 380-389.

Hofmanova, J., Strakova, N., Vaculova, A.H., Tylichova, Z., Safarikova, B., Skender, B. and Kozubik, A. 2014. Interaction of dietary fatty acids with tumour necrosis factor family cytokines during colon inflammation and cancer. Mediators of Inflammation. 848-632.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hylemon, P.B. and Harder, J. 1998. Biotransformation of monoterpenes, bile acids, and other isoprenoids in anaerobic ecosystems. FEMS Microbiology Reviews. 22(5): 475–488.

Ignatova, T., Iliev, I., Kirilov, N., Vassileva, T., Dalgalarrondo, M., Haertlé, T., Chobert, J.M. and Ivanova, I. 2009. Effect of Oligosaccharides on the Growth of *Lactobacillus delbrueckii* Subsp. bulgaricus Strains Isolated from Dairy Products. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 57: 9496-9502.

Kocher, G.S., Kalra, K.L. and Phutela, R.P. 2006. Comparative production of sugarcane vinegar by different immobilization techniques. Journal of the Institute of Brewing. 112(3): 264-266.

Kojima, Y., Ohshima, T., Seneviratne, C.J. and Maeda, N. 2016. Combining prebiotics and probiotics to develop novel synbiotics that suppress oral pathogens. Journal of Oral Biosciences. 58: 27-32.

Kopp-Hoolihan, L. 2001. Prophylactic and therapeutic uses of probiotics: a review. Journal of the American Dietetic Association. 101: 229-241.

Kerry, R.G., Patra, J.K., Gouda, S., Park, Y., Shin, H.S. and Das, G. 2018. Benefaction of probiotics for human health: A review. Journal of food and drug analysis. 26(3): 927-939.

Lanniello, R.G., Zotta, T., Matera, A., Genovese, F., Parente, E. and Ricciardi, A. 2016. Investigation of factors affecting aerobic and respiratory growth in the oxygen-tolerant strain *Lactobacillus casei* N87. PLOS ONE. 11(11): 1-19.

Liao, N., Luo, B., Gao, J., Li, X., Zhao, Z., Zhang, Y., Ni, Y. and Tian, F. 2019. Oligosaccharides as co encapsulating agents: effect on oral *Lactobacillus fermentum* survival in a simulated gastrointestinal tract. Biotechnology Letters. 41: 263-272.

Lewis, S.J. and Heaton, K.W. 1999. The metabolic consequences of slow colonic transit. The American Journal of Gastroenterology. 94(8): 2010–2016.

Lye, H.S., Kuan, C.Y., Ewe, J.A., Fung, W.Y. and Liong, M.T. 2009. The improvement of hypertension by probiotics: effects on cholesterol, diabetes, renin, and phytoestrogens. International journal of molecular sciences. 10(9): 3755-3775.

Mangione, M.R., Giacomazza, D., Bulone, D., Martorana, V., Cavallaro, G. and San Biagio, P.L. 2005. K+ and Na+ effects on the gelation properties of κ-carrageenan. Biophysical Chemistry. 113(2): 129-135.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

McIntyre, A., Gibson, P.R. and Young, G.P. 1993. Butyrate production from dietary fibre and protection against large bowel cancer in a rat model. Gut: The Inside Story of Our Body's Most Underrated Organ. 34(3): 386–391.

Moumita, S., Kamila, G., Eldin, M.J., Bhaskar, D., Indira, D., Rina, Y., Savitri, K. and Rasu, J. 2017. Evaluation of the viability of free and encapsulated lactic acid bacteria using in-vitro gastro intestinal model and survivability studies of symbiotic microcapsules in dry food matrix during storage. LWT-Food Science and Technology. 77: 460-467.

Mishra, S. and Mishra, H.N. 2013. Effect of synbiotic interaction of fructooligosaccharide and probiotics on the acidification profile, textural and rheological characteristics of fermented soy milk. Food and Bioprocess Technology. 6(11): 3166-3176.

Najafpour, G. 2015. Gas and Liquid System (Aeration and Agitation). 22-68. Biochemical engineering and biotechnology. Netherlands: Elsevier.

Newmark, H.L. and Lupton, J.R. 1990. Determinants and consequences of colonic luminal pH: Implications for colon cancer. Nutrition and Cancer. 14(3–4): 161–173.

Peredo, A.G., Beristain, C.I., Pascual, L.A., Azuara, E. and Jimenez, M. 2016. The effect of prebiotics on the viability of encapsulated probiotic bacteria. LWT - Food Science and Technology. 73: 191-196.

Prasanna, P.H.P. and Charalampopoulos, D. 2018. Encapsulation of *Bifidobacterium longum* in alginate-dairy matrices and survival in simulated gastrointestinal conditions, refrigeration, cow milk and goat milk. Food Bioscience. 21: 72-79.

Prasanna, P.H.P. and Charalampopoulos, D. 2019. Encapsulation in an alginate–goats' milk–inulin matrix improves survival of probiotic Bifidobacterium in simulated gastrointestinal conditions and goats' milk yoghurt. International Journal of Dairy Technology. 72(1): 132-141.

Priebe, M.G., Vonk, R.J., Sun, X., He, T., Harmsen, H.J. and Welling, G.W. 2002. The physiology of colonic metabolism. Possibilities for interventions with pre- and probiotics. European Journal of Nutrition. 41(1): 2–10.

Rampelli, S., Candela, M., Severgnini, M., Biagi, E., Turroni, S., Roselli, M. and Brigidi, P. 2013. A probiotics-containing biscuit modulates the intestinal microbiota in the elderly. The journal of nutrition. health & aging. 17(2): 166-172.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Reuter, G. 2001. The Lactobacillus and Bifidobacterium microflora of the human intestine: composition and succession. Current issues in intestinal microbiology. 2(2): 43-53.

Ross, T., Ratkowsky, D.A., Mellefont, L.A. and McMeekin, T.A. 2003. Modelling the effects of temperature, water activity, pH and lactic acid concentration on the growth rate of *Escherichia coli*. International Journal of Food Microbiology. 82: 33-43.

Valentini, L., Pinto, A., Bourdel-Marchasson, I., Ostan, R., Brigidi, P., Turroni. and Leoncini, E. 2015. Impact of personalized diet and probiotic supplementation on inflammation, nutritional parameters and intestinal microbiota–the "RISTOMED project": randomized controlled trial in healthy older people. Clinical nutrition. 34(4): 593-602.

Wijnands, M.V., Schoterman, H.C., Bruijntjes, J.B., Hollanders, V.M. and Woutersen, R.A. 2001. Effect of dietary galactooligosaccharides on azoxymethane-induced aberrant crypt foci and colorectal cancer in Fischer 344 rats. Carcinogenesis. 22(1): 127–132.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อและตัวอย่างเยลลี่

ก.1 MRS Agar (De Man, Rogosa และ Sharpe)

Proteose peptone 10.0 กรัม

Beef extract 10.0 กรัม

Yeast extract 5.0 กรัม

Dextrose 20.0 กรัม

Polysorbate 80 1.0 กรัม

Citrate 2.0 กรัม

Sodium acetate 5.0 กรัม

Calcium carbonate 5.0 กรัม

ผสมส่วนประกอบทั้งหมดให้ได้ 1000 มิลลิลิตร และนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ก.2 ตัวอย่างเยลลี่

ตารางที่ ก.1 ส่วนผสมในเยลลี่

ตัวอย่าง	คาร์ราจีแนน (กรัม)	FOS (กรัม)	GOS (กรัม)	น้ำ (มิลลิลิตร)	สารละลาย Peptone 0.1 % (มวล/มิลลิลิตร)
Free cell	-	-	-	-	100
No pre	1	-	-	100	-
FOS	1	10	-	90	-
GOS	1	-	10	90	-

1. ชั่งส่วนผสมตามตารางที่ ก.1

2. เติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรครบ 100 มิลลิลิตร

3.นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

วิธีเตรียมสารเคมี

ข.1 Peptone water 0.1 %

1. ชั่งเปปโตน 1 กรัม
2. เติมน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร
3. นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ข.2 Phosphate-buffered saline (PBS)

1. Sodium chloride 2.307 กรัม
2. Disodium phosphate 0.216
3. Potassium dihydrogen phosphate 0.21
4. เติมน้ำกลั่นจนครบ 300 มิลลิลิตร
5. นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ข.3 Artificial saliva

1. เตรียมสภาวะจำลองของน้ำลาย โดยใช้สารเคมีดังต่อไปนี้

Sodium chloride 0.1594 กรัม

Ammonium nitrate 0.0328 กรัม

Potassium phosphate 0.0636 กรัม

Potassium chloride 0.0202 กรัม

Potssium citrate 0.0308 กรัม

2. เติมน้ำกลั่นจนครบ 100 มิลลิลิตร
3. นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที
4. หลังจากฆ่าเชื้อเสร็จสิ้นให้นำไปใส่สารดังต่อไปนี้

Uric acid sodium salt 0.002 กรัม

Urea 0.0198 กรัม

Lactic acid sodium salt 0.0146 กรัม

Mucin 0.5 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.4 Simulated gastric fluid (SGF)

1. เตรียมกรดไฮโดรคลอริก 0.1 นอร์มอล โดยปิเปตกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 37% 2.49 มิลลิลิตร
2. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 300 มิลลิลตร
3. นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที
4. ชั่งเปปซิน 1.2 กรัม
5. นำไปละลายกับกรดไฮโดรคลอริก 0.1 นอร์มอลที่ฆ่าเชื้อเตรียมเอาไว้

ข.5 Phosphate buffer (PB) 0.2 โมลาร์

1. ชั่ง Sodium Dihydrogen phosphate 0.0593 กรัม
2. ชั่ง Sodium phosphate dibasic anhydrous 0.23 กรัม
3. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร
4. นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ข.6 Simulated intestinal fluid (SIF)

1. ชั่ง bile salt 0.85 กรัม ละลายใน phosphate buffer 0.02 โมลาร์ ที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 10 มิลลิลิตร
2. ชั่ง pancreatin 0.5 กรัม ละลายใน phosphate buffer 0.02 โมลาร์ 50 มิลลิลิตร

ข.7 NaOH 6 นอร์มอล (ปรับพีเอช)

1. ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 24 กรัม
2. เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร
3. นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

ข.8 NaOH 0.5 นอร์มอล (ปรับพีเอช)

1. ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 กรัม
2. เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร
3. นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

รูปผลการทดลอง

ค.1 ผลของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในตัวอย่างที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน ในตัวอย่าง Free cell

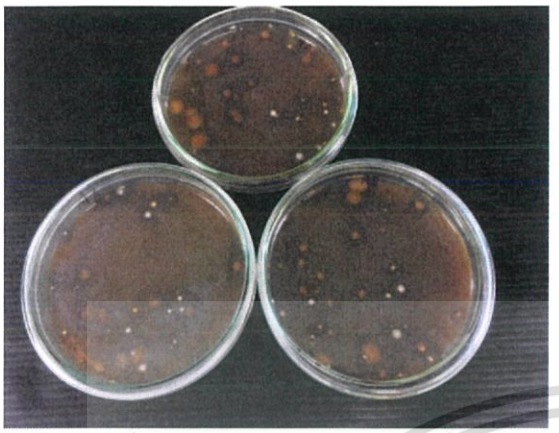
ภาพที่ ค.1.1 ตัวอย่าง Free cell (วันที่ 0)

ภาพที่ ค.1.2 ตัวอย่าง Free cell (วันที่ 7)

ภาพที่ ค.1.3 ตัวอย่าง Free cell (วันที่ 14)

ภาพที่ ค.1.4 ตัวอย่าง Free cell (วันที่ 21)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ค.1.5 ตัวอย่าง Free cell (วันที่ 28)

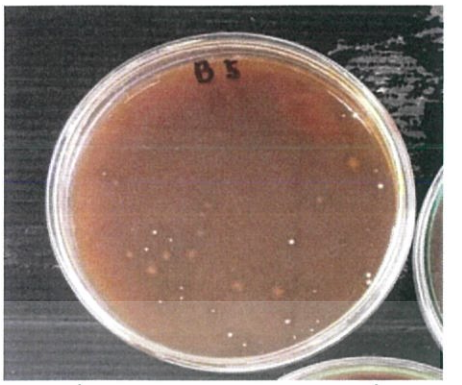
ค.2 ผลของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในตัวอย่างที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน ในตัวอย่าง No prebiotic

ภาพที่ ค.2.1 ตัวอย่าง No pre (วันที่ 0)

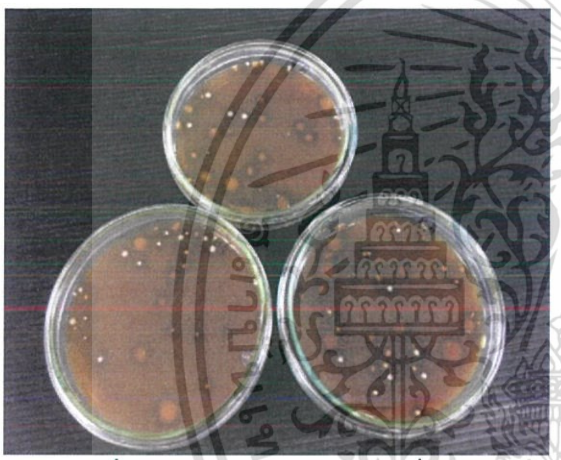
ภาพที่ ค.2.2 ตัวอย่าง No pre (วันที่7)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ ค.2.3 ตัวอย่าง No pre (วันที่ 14)



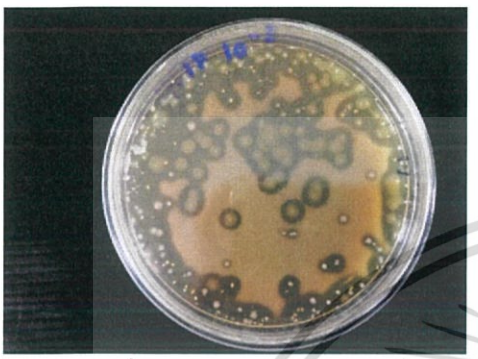
ภาพที่ ค.2.4 ตัวอย่าง No pre (วันที่21)



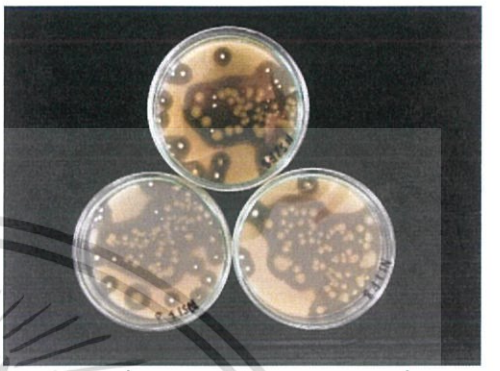
ภาพที่ ค.2.5 ตัวอย่าง No pre (วันที่ 28)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.3 ผลของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในตัวอย่างที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน ในตัวอย่าง FOS

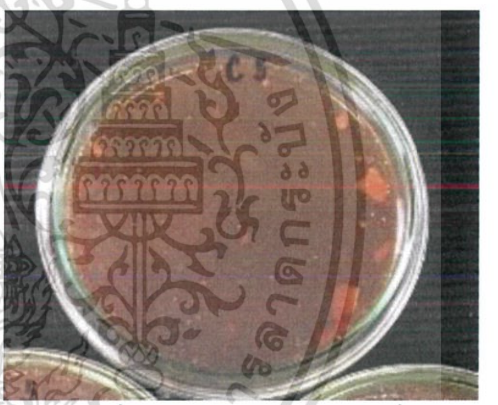


ภาพที่ ค.3.1 ตัวอย่าง FOS (วันที่ 0)

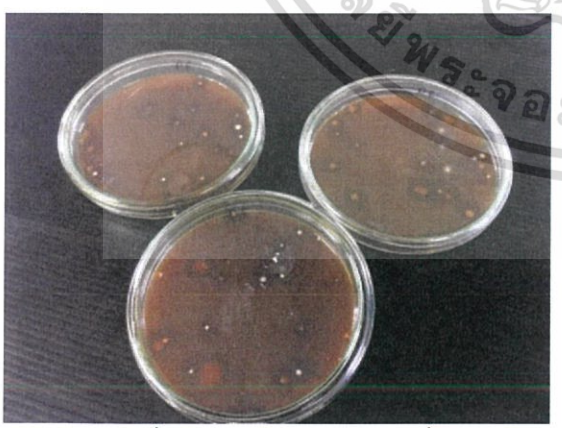


ภาพที่ ค.3.2 ตัวอย่าง FOS (วันที่ 7)

ภาพที่ ค.3.3 ตัวอย่าง FOS (วันที่ 14)



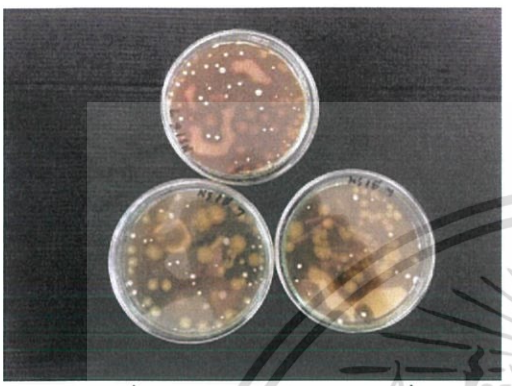
ภาพที่ ค.3.4 ตัวอย่าง FOS (วันที่ 21)



ภาพที่ ค.3.5 ตัวอย่าง FOS (วันที่ 28)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.4 ผลของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 ในตัวอย่างที่เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน ในตัวอย่าง GOS



ภาพที่ ค.4.1 ตัวอย่าง GOS (วันที่ 0)

ภาพที่ ค.4.2 ตัวอย่าง GOS (วันที่ 7)

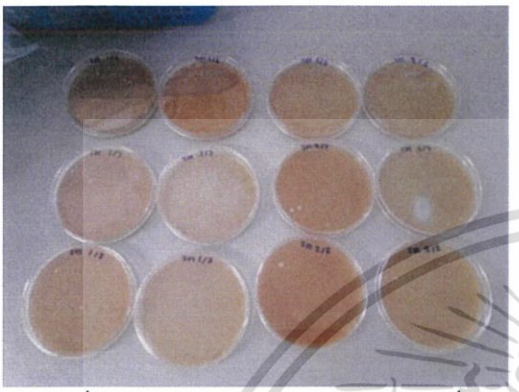
ภาพที่ ค.4.3 ตัวอย่าง GOS (วันที่ 14)

ภาพที่ ค.4.4 ตัวอย่าง GOS (วันที่21)

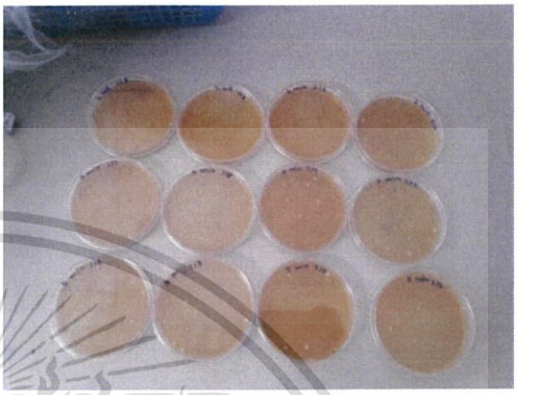
ภาพที่ ค.4.5 ตัวอย่าง GOS (วันที่ 28)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.5 ผลการรอดชีวิตของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 สภาวะระบบย่อยอาหารจำลองในตัวอย่าง Free cell

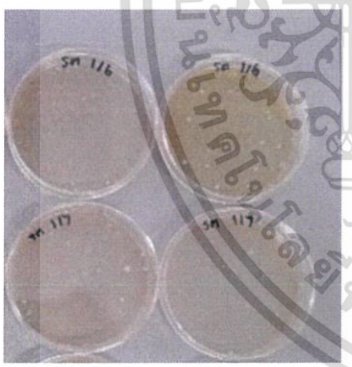


ภาพที่ ค.5.1 ตัวอย่าง Free cell ช่วงนาทีที่ 0

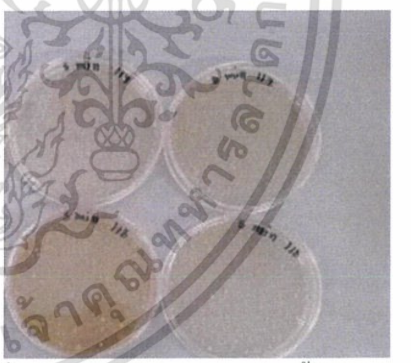


ภาพที่ ค.5.2 ตัวอย่าง Free cell น้ำลาย ช่วงนาทีที่ 5

ค.6 ผลการรอดชีวิตของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 สภาวะระบบย่อยอาหารจำลองในตัวอย่าง No prebiotic

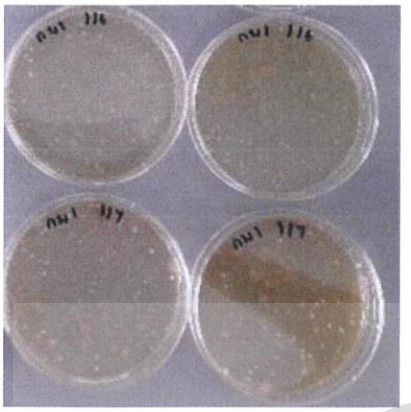


ภาพที่ ค.6.1 ตัวอย่าง No pre ช่วงนาทีที่ 0

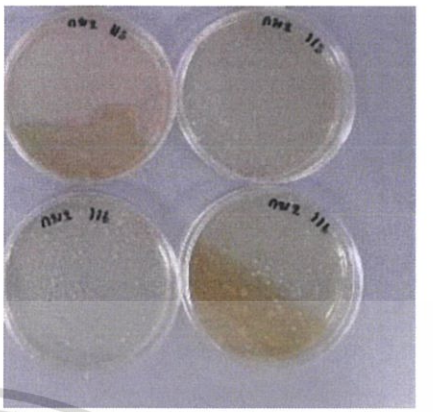


ภาพที่ ค.6.2 ตัวอย่าง No pre ช่วงน้ำลาย นาทีที่ 5

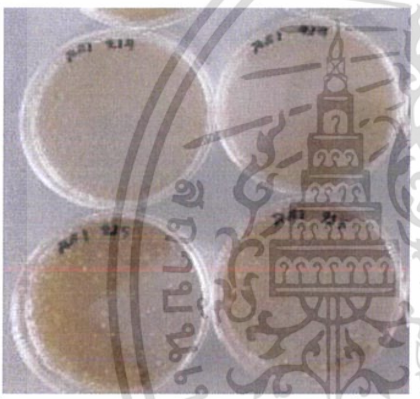
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ค.6.3 ตัวอย่าง No pre กระเพาะ ชั่วโมงที่ 1

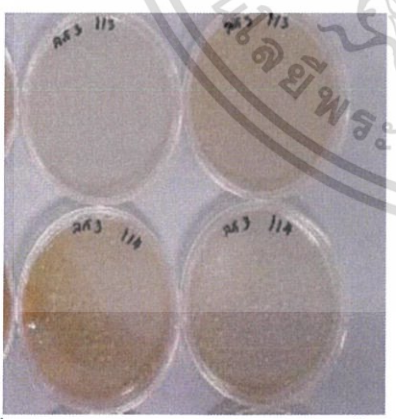


ภาพที่ ค.6.4 ตัวอย่าง No pre กระเพาะ ชั่วโมงที่ 2

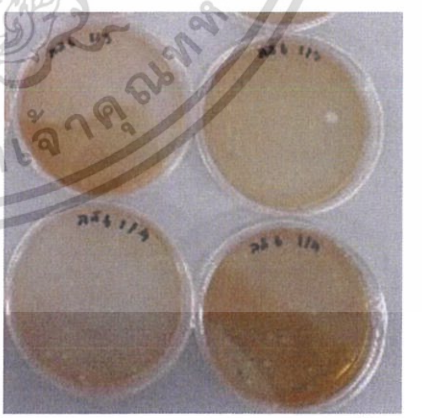


ภาพที่ ค.6.5 ตัวอย่าง No pre ลำไส้เล็ก ชั่วโมงที่ 1

ภาพที่ ค.6.6 ตัวอย่าง No pre ลำไส้เล็ก ชั่วโมงที่ 2



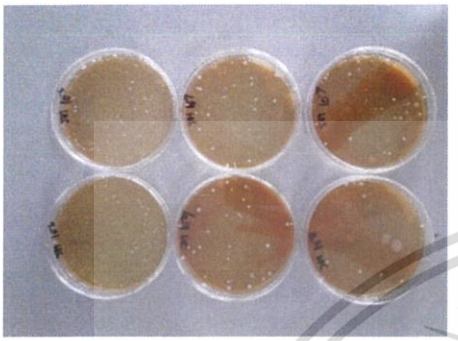
ภาพที่ ค.6.7 ตัวอย่าง No pre ลำไส้เล็ก ชั่วโมงที่ 3



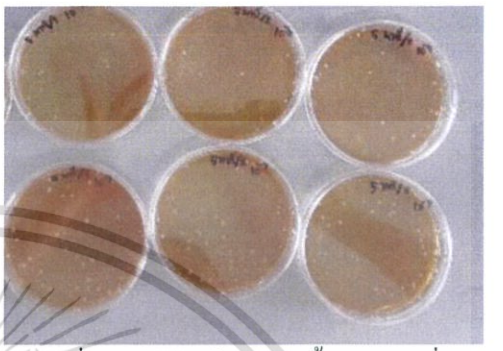
ภาพที่ ค.6.8 ตัวอย่าง No pre ลำไส้เล็ก ชั่วโมงที่ 6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

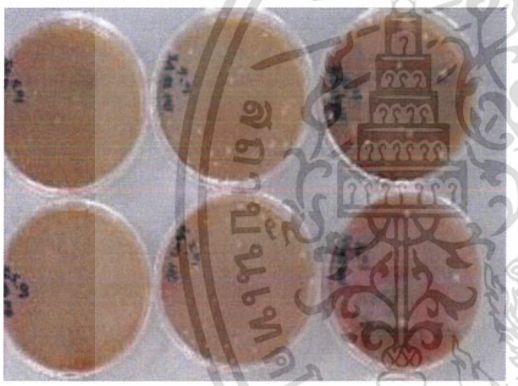
ค.7 ผลการรอดชีวิตของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 สภาวะระบบย่อยอาหารจำลองในตัวอย่าง FOS



ภาพที่ ค.7.1 ตัวอย่าง FOS ช่วงนาทีที่ 0

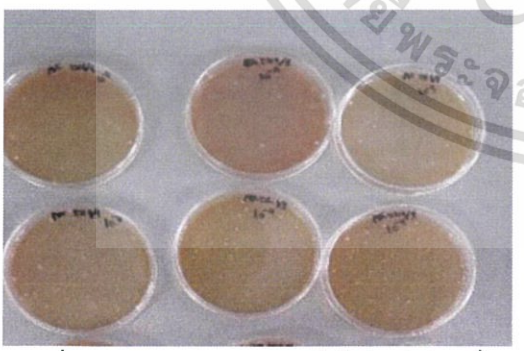


ภาพที่ ค.7.2 ตัวอย่าง FOS น้ำลายนาทีที่ 5

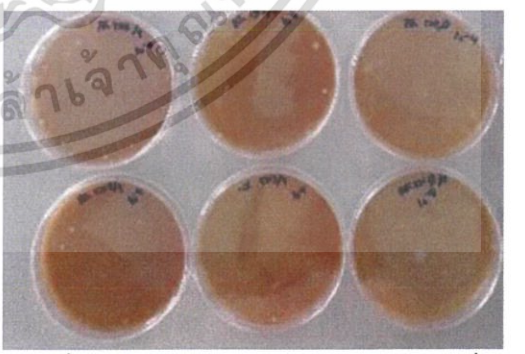


ภาพที่ ค.7.3 ตัวอย่าง FOS กระเพาะ ชั่วโมงที่ 1

ภาพที่ ค.7.4 ตัวอย่าง FOS กระเพาะ ชั่วโมงที่ 2

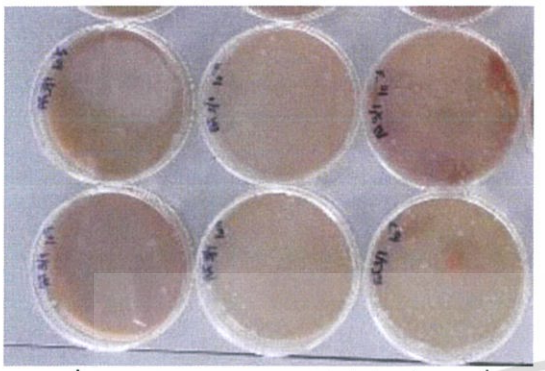


ภาพที่ ค.7.5 ตัวอย่าง FOS ลำไส้เล็ก ชั่วโมงที่ 1

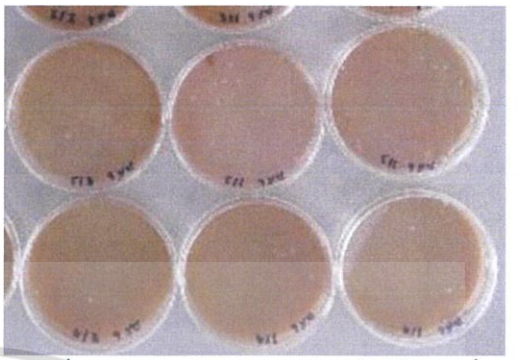


ภาพที่ ค.7.6 ตัวอย่าง FOS ลำไส้เล็ก ชั่วโมงที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



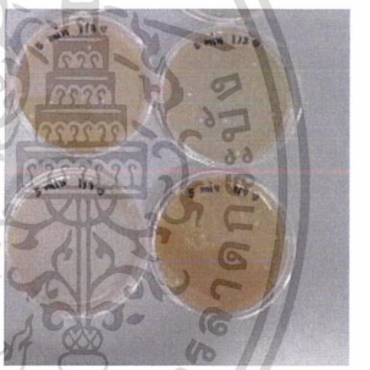
ภาพที่ ค.7.7 ตัวอย่าง FOS ลำไส้เล็ก ชั่วโมงที่ 3



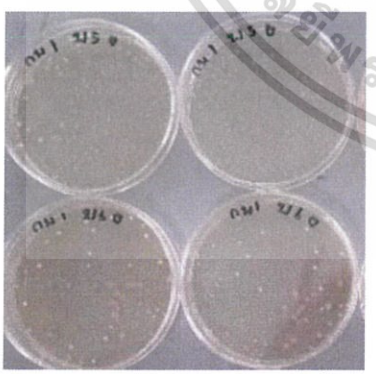
ภาพที่ ค.7.8 ตัวอย่าง FOS ลำไส้เล็ก ชั่วโมงที่ 6

ค.8 ผลการรอดชีวิตของเชื้อ *L. plantarum* TISTR 862 สภาวะระบบย่อยอาหารจำลองในตัวอย่าง GOS

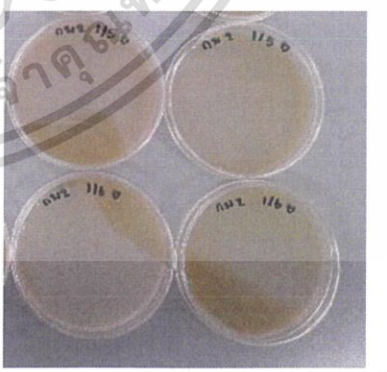
ภาพที่ ค.8.1 ตัวอย่าง GOS ช่วงนาทีที่ 0



ภาพที่ ค.8.2 ตัวอย่าง GOS ช่วงน้ำลาย นาทีที่ 5

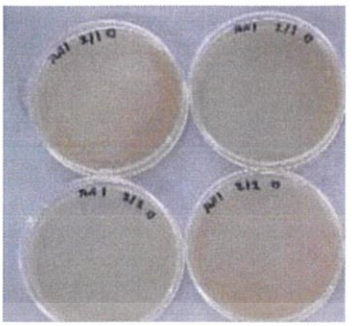


ภาพที่ ค.8.3 ตัวอย่างGOS กระเพาะ ชั่วโมงที่ 1

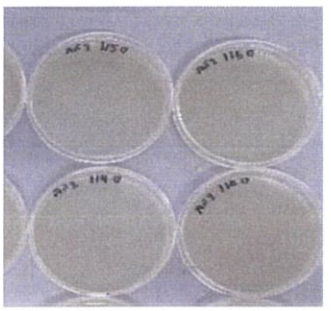


ภาพที่ ค.8.4 ตัวอย่าง GOS กระเพาะ ชั่วโมงที่ 2

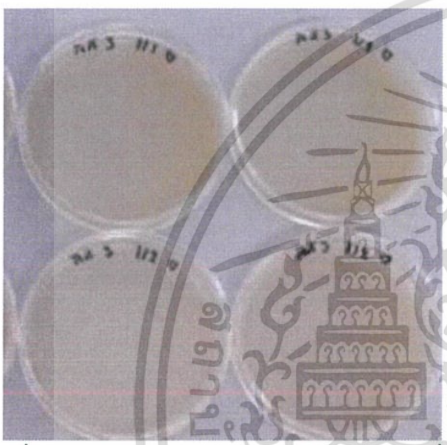
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



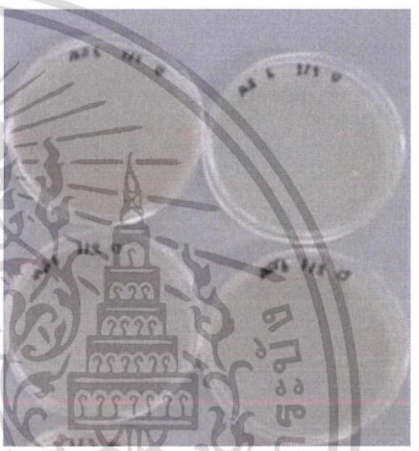
ภาพที่ ค.8.5 ตัวอย่าง GOS ลำไส้เล็ก ชั่วโมงที่ 1



ภาพที่ ค.8.6 ตัวอย่าง GOS ลำไส้เล็ก ชั่วโมงที่ 2



ภาพที่ ค.8.7 ตัวอย่าง GOS ลำไส้เล็ก ชั่วโมงที่ 3



ภาพที่ ค.8.7 ตัวอย่าง GOS ลำไส้เล็ก ชั่วโมงที่ 6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาว ธัญสิตา วงศ์ทอง
วัน เดือน ปี เกิด	3 สิงหาคม 2539
ประวัติการศึกษา	ปีการศึกษา 2561 ระดับปริญาตรี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาลาดกระบัง
	ปีการศึกษา 2557 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนเทพศิรินทร์ร่มเกล้า
	ปีการศึกษา 2554 มัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนเทพศิรินทร์ร่มเกล้า
ประสบการณ์ทำงาน	พฤษภาคม 2561-มิถุนายน 2561 ห้างหุ้นส่วนจำกัด คิดโคเดน
และงานวิจัย	ตำแหน่ง แผนกการควบคุมคุณภาพการผลิต (นักศึกษาฝึกงาน)
ชื่อ-นามสกุล	นาย นพดล เลิศกุลทิพย์
วัน เดือน ปี เกิด	14 กุมภาพันธ์ 2539
ประวัติการศึกษา	ปีการศึกษา 2561 ระดับปริญญาตรี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
	ปีการศึกษา 2557 ระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนเบญจมราชูทิศ
	ปีการศึกษา 2554 ระดับมัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนเบญจมราชูทิศ
ประสบการณ์ทำงาน	มิถุนายน 2561-กรกฎราคม 2561 บริษัท อาหารยอดคุณ จำกัด
และงานวิจัย	ตำแหน่ง แผนก Production ส่วนดูแลเตาการผลิต (นักศึกษาฝึกงาน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาว ฐิติภา สาดโพล้ง
วัน เดือน ปี เกิด	12 พฤศจิกายน 2539
ประวัติการศึกษา	ปีการศึกษา 2561 ระดับปริญญาตรี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
	ปีการศึกษา 2557 ระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนราชดำริ
	ปีการศึกษา 2554 ระดับมัธยมศึกษาตอนต้น โรงเรียนราชดำริ
ประสบการณ์ทำงานและงานวิจัย	มิถุนายน 2561-กรกฎาคม 2561 ห้างหุ้นส่วนจำกัด คิดโคเคน แผนกการควบคุมคุณภาพการผลิต (นักศึกษาฝึกงาน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้