

การศึกษาคุณสมบัติของกลูโคแมนแนนจากพืชบุกที่มีขนาดต่างกัน
ด้วยวิธีทางเคมีคอมพิวเตอร์

COMPUTATIONAL INVESTIGATION OF THE PROPERTIES OF
GLUCOMANNANS FROM KONJAC WITH DIFFERENT SIZES



นภัสสร เจนศุภการ
NAPASSORN JENSUPAKARN

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมวัสดุ
วิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COMPUTATIONAL INVESTIGATION OF THE PROPERTIES OF
GLUCOMANNANS FROM KONJAC WITH DIFFERENT SIZES



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE
REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
BACHELOR OF ENGINEERING
IN NANOMATERIAL ENGINEERING
COLLEGE OF NANOTECHNOLOGY
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2015

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2015

COLLEGE OF NANOTECHNOLOGY

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

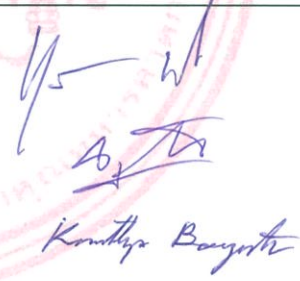
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาควิชานาโนวิทยาและนาโนเทคโนโลยี
วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
โครงการพิเศษ

หัวข้อโครงการพิเศษ การศึกษาคุณสมบัติของกลูโคแมนแนนจากพืชบุกที่มีขนาดต่างกัน
ด้วยวิธีทางเคมีคอมพิวเตอร์

Special Project Title Computational Investigations of the properties of
glucomannans from konjac with different sizes

นักศึกษา นางสาวนภัสสร เจนศุภการ
รหัสประจำตัว 55110025
ปริญญา วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต
ภาควิชา นาโนวิทยาและนาโนเทคโนโลยี
สาขาวิชา วิศวกรรมวัสดุนาโน
ปีการศึกษา 2558
อาจารย์ที่ปรึกษา ดร. กนกทิพย์ บุญยรัตกลิน

คณะกรรมการสอบโครงการพิเศษ		ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.ทุติยภรณ์ ทิววงศ์		 Kornthya Bangsath
ดร.นงลักษณ์ หวงกำแหง		
ดร. กนกทิพย์ บุญยรัตกลิน		

ภาควิชานาโนวิทยาและนาโนเทคโนโลยี วิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบังอนุมัติให้
โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา หลักสูตรวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิศวกรรมวัสดุนาโน
KING MONKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG



(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุธี ชูติไพจิตร)

หัวหน้าภาควิชานาโนวิทยาและนาโนเทคโนโลยี
วันที่ 17 เดือน สิงหาคม พ.ศ. 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษเรื่อง

นักศึกษา

รหัสประจำตัว

ปริญญา

สาขาวิชา

พ.ศ.

อาจารย์ที่ปรึกษา

การศึกษาคุณสมบัติของกลูโคแมนแนนจากพืชบุกที่มี
ขนาดต่างกันด้วยวิธีทางเคมีคอมพิวเตอร์

นางสาวนภัสสร เจนศุภการ

55110025

วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต

วิศวกรรมวัสดุนาโน

2558

ดร. กนกทิพย์ บุญยรัตกลิน

บทคัดย่อ

พรีไบโอติกจัดเป็นสารอาหารประเภทหนึ่งที่ร่างกายมนุษย์ไม่สามารถย่อยและดูดซึมได้ใน
กระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก เนื่องจากมนุษย์ไม่มีเอนไซม์สำหรับย่อยพอลิแซคคาไรด์ชนิดนี้ จึง
กลายเป็นอาหารของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ใหญ่เพื่อใช้ในการเจริญเติบโต และส่งเสริม
สุขภาพของมนุษย์ให้ดี ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเลือกศึกษาคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติกของคอนยัคกลูโค
แมนแนนที่มีอันดับพอลิเมอร์ไรเซชัน 5 8 และ 13 กับเอนไซม์ของไบโไฟโตแบคทีเรีย ลองกัมที่อุณหภูมิ
310 เคลวินในสารละลายที่มีความเข้มข้นโซเดียมคลอไรด์ 0.15 โมลาร์ ด้วยวิธีการจำลองแบบพลวัต
เชิงโมเลกุล ผลจากการวิจัยพบว่าสภาวะแวดล้อมที่เป็นสารละลายจะมีอิทธิพลต่อโครงสร้าง
คอนยัคกลูโคแมนแนนมากกว่าสภาวะก๊าซ ดังนั้นสำหรับการคำนวณทางเคมีคอมพิวเตอร์จึงมีความ
จำเป็นที่จะต้องจำลองกลูโคแมนแนนให้อยู่ในระบบที่บรรจุสารละลาย และกลูโคแมนแนนทั้ง 3
ขนาดจะเกิดพันธะไฮโดรเจนกับกรดแอสพาร์ติกลำดับที่ 154 อาร์จีนีน 49 แอสพาราจีนลำดับที่ 206
และ 401 ได้ซึ่งกล่าวได้ว่าเป็นบริเวณเร่งของเอนไซม์ที่มีความจำเพาะคอนยัคกลูโคแมนแนน โดย
งานวิจัยนี้พบว่าโมเลกุลที่มีอันดับพอลิเมอร์ไรเซชันต่ำนั้นคือ GM5 จะมีความเหมาะสมที่สุดในการ
เป็นพรีไบโอติก เนื่องจากเป็นโครงสร้างที่มีสายสั้นทำให้ถูกรบกวนจากสารละลายที่อยู่ล้อมรอบ
โครงสร้างเชิงซ้อนระหว่างกลูโคแมนแนนกับเอนไซม์น้อยที่สุด ส่งผลให้โครงสร้างมีพลังงานจลน์น้อย
ที่สุด ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความเสถียรของโครงสร้าง นอกจากนี้งานวิจัยนี้สามารถนำไปเป็นแนวทางใน
การเตรียมคอนยัคกลูโคแมนแนนให้มีประสิทธิภาพในการเป็นพรีไบโอติกต่อไป

Special Project Title	Computational Investigations of the properties of glucomannans from konjac with different sizes
Student	Miss Napassorn Jensupakarn
Student ID	55110025
Degree	Bachelor of Engineering
Program	Nanomaterial Engineering
Year	2015
Special Project Advisor	Dr. Kanokthip Boonyarattanakalin

Abstract

Prebiotics are carbohydrates that cannot be digested and absorbed in human stomachs and small intestines. Therefore, they become food for the beneficial bacteria or probiotics in human colons. This research has studied the prebiotic properties of konjac glucomannans with different degrees of polymerization which are 5, 8, and 13 units by investigation of the interactions between these konjac glucomannans and an enzyme of *Bifidobacterium longum* in 0.15 M sodium chloride solution at 310 K by using molecular dynamics simulations. The results have shown that solvent molecules dramatically affect the structure of konjac glucomannans. The active site of *Bifidobacterium longum* enzyme determined by the calculations are composed of ASP154, ARG49, ASN206, and ASN401. The lowest flexibility of GM5 structure shows the strong interactions with *Bifidobacterium* enzyme. The most suitable size of konjac glucomannan molecule for being a good prebiotic is GM5. This research can be used as a guide in the preparation of a prebiotic from konjac glucomannan to obtain the most suitable size of glucomannan.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณา และความอนุเคราะห์จาก ดร. กนกทิพย์ บุญยรัตกลิน อาจารย์ที่ปรึกษา ที่ได้ช่วยเหลือ ให้คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่อการศึกษาค้นคว้า และช่วยตรวจสอบ แก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ งานวิจัย และวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ และขอขอบคุณ คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ทุกท่านที่ได้ให้คำแนะนำ ตรวจสอบวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ พร้อมทั้งให้ คำแนะนำเพื่อเป็นแนวทางในการปรับปรุง และพัฒนาที่ดีขึ้น

ขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ และครอบครัว รวมทั้งเพื่อนๆวิทยาลัยนาโนเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบังทุกคนที่ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือ สนับสนุน และให้กำลังใจเสมอมาจนงานวิจัยนี้สำเร็จ ลุล่วงได้ด้วยดี

นภัสสร เจนศุภการ



สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VI
สารบัญภาพ.....	VII
คำย่อและคำอธิบายสัญลักษณ์.....	IX
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	2
1.3 สมมติฐานงานวิจัย.....	2
1.4 แผนการดำเนินงานวิจัย.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ.....	4
2.1 พรีไบโอติก (Prebiotic).....	4
2.1.1 หลักเกณฑ์ในการพิจารณาการเป็นพรีไบโอติก.....	4
2.1.2 การทดสอบความเป็นพรีไบโอติก.....	5
2.1.3 เทคนิคการวิเคราะห์องค์ประกอบที่เปลี่ยนแปลงไปของแบคทีเรีย.....	7
2.1.4 ตัวอย่างพรีไบโอติก.....	8
2.1.5 ประโยชน์ของพรีไบโอติก.....	10
2.2 คอนยัคกลูโคแมนแนน (Konjac glucomannan).....	11
2.2.1 องค์ประกอบทางเคมีของคอนยัค.....	11
2.2.2 การผลิตแป้งบุก และการสกัดคอนยัคกลูโคแมนแนน.....	13
2.2.3 คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของคอนยัคกลูโคแมนแนน.....	13
2.2.4 คุณภาพและความปลอดภัยของคอนยัคกลูโคแมนแนน.....	14
2.2.5 การประยุกต์ใช้คอนยัคกลูโคแมนแนน.....	14
2.3 โพรไบโอติก (Probiotics)	17
2.3.1 หลักเกณฑ์ในการพิจารณาการเป็นโพรไบโอติก.....	17
2.3.2 ประเภทของโพรไบโอติก.....	18
2.4 เอนไซม์ (enzyme)	19
2.4.1 โครงสร้างของเอนไซม์.....	21
2.4.2 กลไกการทำงานของเอนไซม์.....	23

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.5 เคมีคำนวณ หรือ เคมีคอมพิวเตอร์ (Computational chemistry).....	24
2.5.1 การหาโครงสร้างโมเลกุลที่มีความเสถียร (Structural optimization).....	24
2.5.2 การจำลองแบบทางพลวัตเชิงโมเลกุล (Molecular Dynamics ; MD).....	24
2.6 ทบทวนวรรณกรรม.....	29
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย.....	31
3.1 เครื่องมือ.....	31
3.2 ขั้นตอนการดำเนินงาน.....	31
3.2.1 การเตรียมระบบ.....	31
3.2.2 การเตรียมโครงสร้างโปรตีน.....	33
3.2.3 การเตรียมโครงสร้างสารประกอบเชิงซ้อนของโปรตีน-ลิแกนด์.....	36
3.3 การศึกษาอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลของคอนยัคกลูโคแมนแนกับเอนไซม์ใน สารละลาย.....	37
3.3.1 Force Field Parameters.....	37
3.3.2 Solvation.....	37
3.3.3 MD simulations.....	39
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล.....	40
4.1 การเปรียบเทียบโครงสร้างคอนยัคกลูโคแมนแนในสภาวะก๊าซและสภาวะสารละลาย...40	40
4.2 การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล.....	41
4.2.1 พลังงานของระบบจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล.....	41
4.2.2 อันตรกิริยาระหว่างคอนยัคกลูโคแมนแนกับเอนไซม์.....	43
4.2.3 ค่าเบี่ยงเบนเฉลี่ยกำลังสองของโครงสร้างของลิแกนด์.....	52
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย.....	53
5.1 สรุปการวิจัย.....	53
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	53
บรรณานุกรม.....	55
ประวัติผู้เขียน.....	59

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 แบคทีเรียประจำถิ่นที่พบในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์.....	6
2.2 การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบหลัก (ร้อยละของน้ำหนักแห้ง) ของหัวบุกตามระยะเวลา เพาะปลูก.....	12
2.3 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (ร้อยละของน้ำหนักแห้ง) ของหัวบุกในแต่ละแหล่งเพาะปลูก.....	12
3.1 ตารางแสดงลำดับของโมโนเมอร์ของคอนยัคกลูโคแมนแนนทั้ง 3 ชนิดที่ใช้.....	33
3.2 ตารางชนิดแบคทีเรียที่มีกลูโคส หรือแมนโนสเป็นองค์ประกอบในลิแกนด.....	35
3.3 ตารางแสดงจำนวนโมเลกุลของน้ำและไอออนที่ใช้ในการคำนวณ.....	37
4.1 แสดงค่าเฉลี่ยของพลังงานรวม (TE) พลังงานจลน์ (KE) และพลังงานศักย์ (PE) ของ GM5 GM8 และGM13.....	43
4.2 อันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่าง GM5 กับกรดอะมิโนที่บริเวณเร่งของเอนไซม์.....	49
4.3 อันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่าง GM8 กับกรดอะมิโนที่บริเวณเร่งของเอนไซม์.....	50
4.4 อันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่าง GM13 กับกรดอะมิโนที่บริเวณเร่งของเอนไซม์.....	51

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 โครงสร้างทางเคมีของ (ก) อินนูลิน (n=9-60) (ข) แลคทูโลส และ (ค) กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (n=2-5).....	10
2.2 ต้นบุกสายพันธุ์ Amorphophallus konjac (A) หัวบุกอายุ 2 ปี (B) ต้นบุก และ (C) ดอกของต้นบุก.....	11
2.3 โครงสร้างทางเคมีของคอนยัคกลูโคแมนแนน.....	13
2.4 การกระจายตัวของแบคทีเรียภายในลำไส้.....	18
2.5 กรดอะมิโนเชื่อมกันด้วยพันธะเพปไทด์.....	19
2.6 โครงสร้างกรดอะมิโน 20 ชนิด.....	21
2.7 โครงสร้างของเอนไซม์.....	22
2.8 แบบจำลองการเกิดอันตรกิริยาของเอนไซม์กับซับสเตรต ของทฤษฎีแม่กุญแจและลูกกุญแจ.....	23
2.9 แบบจำลองการเกิดอันตรกิริยาของเอนไซม์กับซับสเตรต ของทฤษฎีเหนี่ยวนำให้เหมาะสม.....	24
2.10 พลังงานศักย์ยึดหยุ่นของพันธะ.....	27
2.11 พลังงานศักย์โค้งงอ.....	27
2.12 พลังงานศักย์ของระนาบ.....	28
2.13 โครงสร้างของกลูโคแมนแนนในบุก.....	29
3.1 แผนภาพแสดงขั้นตอนทั้งหมดในการศึกษาอันตรกิริยาระหว่างลิแกนด์และเอนไซม์.....	32
3.2 (ก) โครงสร้างแบบผลึก (Crystal Structure) ของคอนยัคกลูโคแมนแนน ; UNK1 และ (ข) โครงสร้างเริ่มต้นของคอนยัคกลูโคแมนแนน GM5.....	32
3.3 โครงสร้างของ (ก) กลูโคส และ (ข) แมนโนส.....	33
3.4 โครงสร้างของ (ก) GM5 (ข) GM8 และ (ค) GM13.....	34
3.5 โครงสร้าง 3 มิติของ 2Z8F (ก) โครงสร้างเริ่มต้น และ (ข) โครงสร้างที่ผ่านการแก้ไขแล้ว.....	36
3.6 รูปแบบการแตกตัวของ (ก) Glutamic acid (Glu) และ (ข) Arginine (Arg).....	36
3.7 แผนภาพแสดงขั้นตอนการคำนวณด้วยวิธี Molecular dynamics simulations โดยใช้โปรแกรม Gromacs.....	38
3.8 การเอาโครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโปรตีนและลิแกนด์ ใส่ลงในกล่องของสารละลาย.....	39
4.1 โครงสร้างที่เสถียร (ก) ในสภาวะก๊าซ และ (ข) จากแบบจำลองทางพลวัตเชิงโมเลกุล เมื่ออยู่ในน้ำของคอนยัคกลูโคแมนแนน GM5.....	40
4.2 โครงสร้างคอนยัคกลูโคแมนแนนที่อยู่ในสภาวะก๊าซ (แห้งสีน้ำเงิน) และในสภาวะสารละลาย (แห้งสีแดง) ของ (ก) GM5 (ข) GM8 และ (ค) GM13.....	41

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
4.3 กราฟแสดงค่าพลังงานรวม (TE) พลังงานจลน์ (KE) และพลังงานศักย์ (PE) ของ GM5 เทียบกับเวลาที่ใช้ในการคำนวณ MD simulations.....	42
4.4 กราฟแสดงค่าพลังงานรวม (TE) พลังงานจลน์ (KE) และพลังงานศักย์ (PE) ของ GM8 เทียบกับเวลาที่ใช้ในการคำนวณ MD simulations.....	42
4.5 กราฟแสดงค่าพลังงานรวม (TE) พลังงานจลน์ (KE) และพลังงานศักย์ (PE) ของ GM13 เทียบกับเวลาที่ใช้ในการคำนวณ MD simulations.....	43
4.6 โครงสร้าง 3 มิติของสารประกอบเชิงซ้อนของเอนไซม์-ลิแกนด์ และภาพขยายของ บริเวณเร่งปฏิกิริยาเอนไซม์.....	44
4.7 โครงสร้างแสดงตำแหน่งของอะตอมใน residue ต่างๆ ที่เกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่าง.....	45
4.8 อันตรกิริยาที่เกิดขึ้นที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ (ก) GM5 (ข) GM8 และ (ค) GM13 ด้วยพันธะไฮโดรเจน.....	46
4.9 โครงสร้างของ GM5 ที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ ตั้งแต่เวลา 1 ns ถึง 10 ns.....	47
4.10 โครงสร้างของ GM8 ที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ ตั้งแต่เวลา 1 ns ถึง 10 ns.....	47
4.11 โครงสร้างของ GM13 ที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ ตั้งแต่เวลา 1 ns ถึง 10 ns.....	48
4.12 กราฟแสดงค่าความเบี่ยงเบนเฉลี่ยกำลังสองของโครงสร้างคอนยัคกลูโคแมนแนน ขนาดต่างๆ ในช่วงเวลาการคำนวณที่นำมาวิเคราะห์ผล.....	52

คำย่อและคำอธิบายสัญลักษณ์

4GB	=	β -Glucopyranose
ARG	=	Arginine
ASN	=	Asparagine
ASP	=	Aspartic acid
CFU	=	Colony forming unit
DP	=	Degree of polymerization
FF	=	Force field
GLU	=	Glutamic acid
HMG-CoA	=	Hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A
KE	=	Kinetic energy
KGM	=	Konjac glucomannan
LAB	=	Lactic acid bacteria
LYS	=	Lysine
MAN	=	Mannose
MD	=	Molecular Dynamics
MM	=	Molecular Mechanics
PE	=	Potential energy
QM	=	Quantum Mechanics
SCFA	=	Short chain fatty acid
TE	=	Total energy

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

ปัจจุบันคนส่วนใหญ่ให้ความสำคัญในเรื่องสุขภาพมากขึ้น โดยเฉพาะเรื่องอาหาร ซึ่งเป็นปัจจัยที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิต โดยทั่วไปอาหารที่ถูกบริโภคจะให้สารอาหารที่มีประโยชน์ คือ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน วิตามิน และเกลือแร่ ซึ่งจำเป็นต่อการเจริญเติบโต ช่วยซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอของร่างกาย และให้พลังงานในการทำกิจกรรมต่างๆ อย่างไรก็ตาม นอกเหนือจากอาหารหลักที่เป็นพื้นฐานทางโภชนาการแล้ว ยังมีอาหารเพื่อสุขภาพหรือที่เรียกว่า อาหารฟังก์ชัน (Functional food) ซึ่งให้ประโยชน์ และส่งเสริมสุขภาพในทางที่ดี นอกเหนือจากคุณค่าทางโภชนาการพื้นฐาน เช่น ควบคุมสมดุลของร่างกาย เพิ่มระบบภูมิคุ้มกัน และป้องกันโรคต่างๆ ให้แก่ผู้บริโภค

ตัวอย่างของสารที่จัดเป็นอาหารฟังก์ชัน ได้แก่ โพรไบโอติก (Probiotics) ซึ่งเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่มีประโยชน์ผสมอยู่ในอาหาร และพรีไบโอติก (Prebiotics) ซึ่งจัดเป็นอาหารสำคัญในการเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของโพรไบโอติก [1] องค์การอาหารและยาแห่งประเทศสหรัฐอเมริกา (U.S. Food and Drugs Administration ; FDA) รายงานว่าโพรไบโอติก และพรีไบโอติกเป็นอาหารที่ไม่เป็นอันตราย อย่างไรก็ตาม ก่อนการบริโภค ต้องคำนึงถึงปัจจัยด้านอายุและปัจจัยอื่นๆด้วย เช่น หากบริโภคโพรไบโอติกในสภาวะที่ร่างกายมีภูมิคุ้มกันต่ำ หรือมีภูมิคุ้มกันบกพร่อง ก็มีความเสี่ยงต่อการติดเชื้อมากขึ้น หญิงตั้งครรภ์ หรือ ผู้ป่วยที่มีภาวะติดเชื้อราในกระแสเลือด หากบริโภค อาจส่งผลร้ายแรงถึงขั้นเสียชีวิตได้ เนื่องจากร่างกายไม่สามารถต้านทานเชื้อที่มีมากเกินไปได้ ดังนั้นการจะบริโภคเพื่อก่อให้เกิดประโยชน์แก่ร่างกายจะต้องคำนึงถึงสภาพร่างกายของผู้บริโภค ปริมาณที่นำมาใช้ และควรปรึกษาแพทย์ก่อน

พรีไบโอติก เป็นอาหารจำพวกหนึ่ง ที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต และกระตุ้นการทำงานของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ เนื่องจากพรีไบโอติกมีคุณสมบัติที่ทนต่อการย่อยโดยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารส่วนบนของมนุษย์ ทำให้เหลือไปยังลำไส้ใหญ่ และกลายเป็นอาหารของแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ที่ลำไส้ใหญ่ โดยแบคทีเรียจะนำพรีไบโอติกไปใช้โดยผ่านกระบวนการหมัก (Fermentation) ทำให้ได้พลังงาน และสารต่างๆ ที่ให้ประโยชน์แก่ร่างกาย เช่น กรดไขมันชนิดสายสั้น (Short-chain fatty acids ; SCFA) ที่ประกอบด้วยสารสำคัญ เช่น กรดอะซิติก (Acetic acid) กรดโพรไพโอนิก (Propionic acid) และกรดบิวทีริก (Butyric acid) ซึ่งเป็นสารที่ช่วยให้เซลล์ที่ชั้นผิวของผนังลำไส้แข็งแรง ทำให้ลำไส้ใหญ่ทำหน้าที่ย่อย และดูดซึมน้ำและเกลือแร่ได้อย่างเต็มที่ นอกจากนี้ ยังช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค ช่วยลดคลอเลสเทอรอลในร่างกาย ลดอาการท้องผูก และช่วยการขับถ่ายให้ง่ายขึ้น เป็นต้น อาหารที่พบในธรรมชาติที่เป็นแหล่งของพรีไบโอติก เช่น รากชิโครี หอมหัวใหญ่ กระเทียม กล้วย บุก และธัญพืช เป็นต้น

บุก (Konjac) เป็นได้ทั้งพืชสมุนไพร และอาหารเพื่อสุขภาพที่ใช้กันมานาน ปัจจุบันนิยมนำมาทำเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสำหรับควบคุมน้ำหนัก หรือเป็นอาหารแปรรูป เช่น เส้นบุก และแป้งบุก ในหัวบุกมีสารสกัดสำคัญ คือ กลูโคแมนแนน (Konjac glucomannan) ซึ่งเป็นสารเฮเทอโรพอลิแซคคาไรด์ (Heteropolysaccharide) ที่ประกอบด้วยน้ำตาลแมนโนส (Mannose) และน้ำตาลกลูโคส เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Glucose) ซึ่งจัดเป็นใยอาหารอย่างหนึ่งที่ร่างกายไม่สามารถย่อยได้ ทำให้ไม่ได้รับพลังงาน แต่ละลายน้ำได้ทำให้พองตัวจึงช่วยให้อิ่มเร็ว และสามารถช่วยเพิ่มจำนวนแบคทีเรียที่ดีต่อสุขภาพได้ จึงจัดเป็นสารพรีไบโอติก พืชบุกจึงถูกให้ความสนใจอย่างยิ่ง สำหรับผู้ที่รักสุขภาพ และต้องการควบคุมน้ำหนัก

มีการศึกษาและการทดลองในห้องปฏิบัติการรายงานยืนยันผลว่า พืชบุกจัดเป็นอาหารประเภทพรีไบโอติกอย่างหนึ่ง [2] อย่างไรก็ตาม ยังไม่สามารถอธิบายกลไกการทำงานที่เกิดขึ้นได้ เนื่องจากมีความซับซ้อน ดังนั้นการศึกษาโดยใช้แบบจำลองทางเคมีเชิงคอมพิวเตอร์จึงจัดเป็นทางเลือกหนึ่ง ที่มีบทบาทในการศึกษาและเป็นประโยชน์แก่งานวิจัยต่างๆ เนื่องจากทำให้สามารถประหยัดงบประมาณ ประหยัดเวลา และลดการทดลองในสิ่งมีชีวิตได้

งานวิจัยนี้ ได้ทำการศึกษากิจกรรมอันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่างสารกลูโคแมนแนนจากพืชบุกกับเบต้า-กลูโคซิเดส (β -glucosidases) ซึ่งเป็นเอนไซม์ของแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหาร ที่สามารถใช้งานได้ในสภาวะความเป็นกรดต่าง และช่วงอุณหภูมิที่กว้าง โดยในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาผลของขนาดโมเลกุลของสารกลูโคแมนแนนที่มีผลต่อสมบัติการเป็นพรีไบโอติก โดยอาศัยระเบียบวิธีทางเคมีคอมพิวเตอร์ เพื่อหาขนาดของสารกลูโคแมนแนนที่เหมาะสมต่อการเป็นสารพรีไบโอติก ซึ่งผลที่ได้จะสามารถทำให้เกิดความเข้าใจเกี่ยวกับกลไกการย่อยสลายสารกลูโคแมนแนนโดยแบคทีเรียได้ ซึ่งอาจใช้เป็นแนวทางเบื้องต้นในการพัฒนาทางด้านการแพทย์ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

เพื่อศึกษาอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลของสารกลูโคแมนแนนจากพืชบุกกับเอนไซม์ของแบคทีเรียในลำไส้ และเพื่อศึกษาผลของขนาดของกลูโคแมนแนนต่ออันตรกิริยาที่เกิดขึ้น

1.3 สมมติฐานงานวิจัย

สารกลูโคแมนแนนขนาดต่างกัน จะเกิดอันตรกิริยากับเอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดสของแบคทีเรียตรงบริเวณเร่ง (Active site) ของเอนไซม์ต่างกัน ขนาดกลูโคแมนแนนที่เหมาะสมต่อการเป็นพรีไบโอติก ควรมีขนาดเล็กหรือมีอันดับการพอลิเมอร์ไรเซชัน (Degree of polymerization ; DP) ต่ำ เพราะแบคทีเรียจะสามารถย่อยได้ง่าย แต่ไม่ควรต่ำมาก เพราะถ้าเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ร่างกายก็จะสามารถนำน้ำตาลไปใช้ได้ทำให้ไม่เหลือไปถึงแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ได้ ขนาดกลูโคแมนแนนที่ต่างกัน น่าจะส่งผลต่ออันตรกิริยาที่เกิดขึ้น

1.4 แผนการดำเนินงานวิจัย

1.4.1 ศึกษาและหาโครงสร้างของเอนไซม์จากแบคทีเรียในลำไส้ที่เหมาะสมจากฐานข้อมูล

1.4.2 ศึกษาและหาโครงสร้างของสารกลูโคแมนแนนจากพืชบุกที่เสถียรในสภาวะก๊าซโดยใช้ระเบียบวิธีคำนวณทางเคมีควอนตัม (Quantum chemistry calculations)

1.4.3 ศึกษาพฤติกรรมของกลูโคแมนแนนที่มีขนาดต่างๆกันในสารละลายโดยใช้ระเบียบวิธีการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล (Molecular dynamics simulations)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4.4 ศึกษาอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลของกลูโคแมนแนนกับเฮนไซม์ในสารละลาย โดยใช้ระเบียบวิธีการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล

1.4.5 ศึกษาผลของขนาดของกลูโคแมนแนนต่ออันตรกิริยาที่เกิดขึ้น โดยใช้ระเบียบวิธีการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ

2.1 프리ไบโอติก (Prebiotic)

프리ไบโอติก คือองค์ประกอบของอาหารที่ไม่สามารถย่อยได้ (Non-digestible) ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ แต่จะไปกระตุ้นการทำงานหรือการเจริญเติบโตอย่างจำเพาะกับแบคทีเรียที่ดี หรือ โพรไบโอติก (Probiotic) ในลำไส้ใหญ่ โดยผ่านกระบวนการหมัก (Fermentation) ซึ่งมีผลดีต่อสุขภาพของผู้บริโภค [3] เช่น ผลิตกรดไขมันชนิดสายสั้น (Short-chain fatty acid ; SCFA) ช่วยเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย และปรับสมดุลของแบคทีเรียในลำไส้ เป็นต้น สารอาหารที่จัดเป็น 프리ไบโอติกต้องทนต่อการย่อยสลายและไม่ถูกดูดซึมในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก ซึ่งมีบทบาทในการส่งเสริมกิจกรรม และการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ โดยเฉพาะแบคทีเรียกลุ่มไบฟิโดแบคทีเรีย (*Bifidobacterium spp.*) และแลคโตบาซิลลัส (*Lactobacillus spp.*) [4] ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย และสามารถยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค (pathogen) เช่น แบคทีเรียกลุ่มคลอสทริเดียม (*Clostridium spp.*) ในลำไส้

프리ไบโอติก หรือ สารที่เป็นสารตั้งต้นในกระบวนการหมักโดยแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ ได้แก่ สารประเภทแป้ง (Resistant starch) และสารที่ไม่ใช่แป้ง (Non-starch polysaccharides) รวมไปถึง สารประกอบพอลิแซคคาไรด์ (Polysaccharides) ที่ได้จากพืช เช่น เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส เพคติน ไซแลน เป็นต้น ซึ่งต่างมีความต้านทานต่อการถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ นอกจากนี้มีสารพอลิโอลิโกแซคคาไรด์ (Oligosaccharides) ที่ได้จากธรรมชาติหรือจากการสังเคราะห์ เช่น แลกโทส (Lactose) แลกทูโลส (Lactulose) ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Fructo-oligosaccharide ; FOS) เป็นต้น สารเหล่านี้ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (Monosaccharide) ที่เชื่อมกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (Glycosidic bond) โดยโพรไบโอติกแต่ละชนิดจะสร้างเอนไซม์ที่แตกต่างกันทำให้ตัดพันธะได้แตกต่างกันด้วย ทั้งนี้แบคทีเรียเกิดเมตาบอลิซึมกับ프리ไบโอติกที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำได้มากกว่าโพรไบโอติกที่มีน้ำหนักโมเลกุลใหญ่หรือมีขนาดใหญ่ กล่าวได้ว่าโพรไบโอติกที่ดีควรมีอันดับการพอลิเมอไรเซชันต่ำหรือมีขนาดเล็ก

สารโพรไบโอติกอาจได้จากการสังเคราะห์หรือได้จากการย่อยพอลิแซคคาไรด์โดยใช้เอนไซม์ และสามารถพบได้ในพืชผัก และผลไม้ เช่น หัวหอม กระเทียม หน่อไม้ฝรั่ง แก่นตะวัน (Jerusalem artichoke) ชิโครี (Chicory) และ กล้วย เป็นต้น [5]

2.1.1 หลักเกณฑ์ในการพิจารณาการเป็นโพรไบโอติก

สารอาหารที่จัดเป็นโพรไบโอติกต้องมีคุณสมบัติอย่างน้อย 3 หลักเกณฑ์ดังต่อไปนี้ [3]

2.1.1.1 ความทนทานต่อการย่อยของเอนไซม์ ไม่ถูกดูดซึมในระบบทางเดินอาหาร

(Gastrointestinal tract ; GI tract) ก่อนถึงลำไส้ใหญ่

2.1.1.2 ความสามารถในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในลำไส้โดยเฉพาะเจาะจง และก่อให้เกิดประโยชน์ต่อร่างกาย แต่จะไม่ส่งเสริมการเจริญเติบโตในแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค

2.1.1.3 กระบวนการหมักโดยแบคทีเรียในลำไส้ ทำให้จำนวนแบคทีเรียเกิดการเปลี่ยนแปลง

ในทางที่ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.2 การทดสอบความเป็นพร็ไปโอติก

การคัดเลือกพร็ไปโอติกต้องมีการทดสอบคุณสมบัติของสารอาหารแต่ละชนิดว่าสอดคล้องกับหลักเกณฑ์ข้างต้นหรือไม่ อย่างไรก็ตามการพิสูจน์ว่า พร็ไปโอติกสามารถส่งเสริมการเจริญ และกิจกรรมต่างๆของแบคทีเรียในลำไส้ได้อย่างจำเพาะโดยผ่านกระบวนการหมักนั้นมีความซับซ้อน เนื่องจากต้องจำลองเหตุการณ์ที่เกิดขึ้นจริงในร่างกายของสิ่งมีชีวิต ซึ่งการวิเคราะห์เชิงปริมาณทางจุลชีววิทยาของแบคทีเรียนั้นทำได้ยาก เนื่องจากมีแบคทีเรียหลากหลายชนิด เช่น สกุลแบคทีเรีย *Bacteroides spp.* สกุลไบฟีโดแบคทีเรีย *Eubacterium spp.* สกุลแลคโตบาซิลลัส เป็นต้น สำหรับการหมักของแบคทีเรียสายพันธุ์เดี่ยวในเชื้อบริสุทธิ์ (pure cultures) หรือในเชื้อผสม (Mixture cultures) มีทั้งการทดลองในสิ่งมีชีวิต (in vivo) และนอกสิ่งมีชีวิต (in vitro) อาจจะไม่สามารถยืนยันผลที่แน่นอนที่เกิดจากพร็ไปโอติกได้ เนื่องจากอาจมีผลจากปฏิกิริยาโต้ตอบระหว่างแบคทีเรียด้วยกันเองเข้ามาเกี่ยวข้อง

การหมักของแบคทีเรียจะผลิตกรดอินทรีย์ ก๊าซ และเอนไซม์ ไม่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ความจำเพาะสกุลของแบคทีเรียนั้น ๆ ได้ จึงมีการพิสูจน์ทางวิทยาศาสตร์เพื่อดูผลที่เกิดจากการใช้พร็ไปโอติก และประเมินการเป็นพร็ไปโอติกจากส่วนประกอบที่พบในธรรมชาติ การทดสอบคุณสมบัติพร็ไปโอติกมี 3 ส่วนหลัก [3] ดังนี้

2.1.2.1 ความต้านทานการย่อยโดยกรดและเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหาร และไม่ถูกดูดซึมใน ทางเดินอาหารของมนุษย์

เมื่อบริโภคอาหารเข้าสู่ร่างกาย ระบบทางเดินอาหารจะเปลี่ยนรูปอาหารให้อยู่ในรูปสารอาหารที่ร่างกายสามารถนำไปใช้ได้ เริ่มจากอาหารเข้าสู่ปาก ต่อมาน้ำลายจะผลิตน้ำลายซึ่งมีเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (α -amylase) ที่สามารถทำลายพันธะแอลฟา-1,4-ไกลโคซิดิกของโมเลกุลสายยาวของคาร์โบไฮเดรตให้ได้โมเลกุลที่มีขนาดเล็กลง แต่การย่อยในปากเกิดขึ้นน้อยมากเพราะอาหารอยู่ในปากเพียงช่วงเวลาสั้น

จากนั้นอาหารจะผ่านหลอดอาหารไปยังกระเพาะอาหารซึ่งมีน้ำย่อยที่สำคัญ ดังนี้

(1) กรดเกลือ (Hydrochloric acid ; HCL) เมื่อกรดเกลือหลั่งเข้าสู่กระเพาะอาหารทำให้กระเพาะอาหารมีค่ากรด-ด่าง (pH) ประมาณ 1-3 ซึ่งมีฤทธิ์ทำลายแบคทีเรียที่ปะปนในอาหาร ดังนั้นแบคทีเรียที่จัดเป็นพร็ไปโอติก และสารอาหารที่จัดเป็นพร็ไปโอติกต้องมีคุณสมบัติที่ทนต่อสภาวะกรดภายในกระเพาะอาหาร เพื่อให้คงสภาพไปถึงลำไส้ใหญ่

(2) สารเมือก (Mucosa) เป็นสารที่เคลือบเยื่อบุกระเพาะอาหาร เพื่อไม่ให้เซลล์เยื่อบุถูกย่อยโดยเอนไซม์

(3) เพปซิน (Pepsin) เป็นเอนไซม์ที่ย่อยโปรตีนให้มีขนาดโมเลกุลเล็กลงให้กลายเป็นสารประเภทเพปตอน (Peptone) และโปรตีโอส (Proteose)

(4) อินทรินซิก แฟคเตอร์ (Intrinsic factor) เป็นสารไกลโคโปรตีนที่หลั่งเข้าไปในกระเพาะอาหาร และจับกับวิตามิน เพื่อไม่ให้วิตามินถูกทำลายโดยเอนไซม์จากกระเพาะอาหาร ทำให้ถูกดูดซึมได้ที่ลำไส้เล็ก

เมื่ออาหารมาถึงลำไส้เล็กจะถูกย่อยโดยเอนไซม์ที่มาจากตับอ่อน และลำไส้เล็ก ตับอ่อนจะหลั่งโซเดียมโบคาร์บอเนตที่มีสภาพเป็นเบส เพื่อลดความเป็นกรดของอาหารที่มาจากกระเพาะอาหาร และเกิดสภาวะเป็นกลางซึ่งเหมาะกับการทำงานของเอนไซม์เบต้าอะไมเลส (β -amylase) ทำให้เอนไซม์นี้เป็นเอนไซม์ที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โมเลกุลมีขนาดเล็กลงจนสามารถถูกดูดซึมผ่านผนังลำไส้เล็กได้ อาหารที่เหลือจะผ่านเข้าสู่ลำไส้ใหญ่ จะมีการดูดน้ำ และแร่ธาตุกลายเป็นกากอาหาร แล้วไปสะสมที่ไส้ตรง (rectum) เพื่อรอการขับถ่าย ออกทางทวารหนัก

ระบบทางเดินอาหารของมนุษย์มีทั้งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค เช่น แบคทีเรียกลุ่มครอสติเดียม และแบคทีเรียที่ให้ประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น กลุ่มไบฟีโดแบคทีเรีย และแลคโตบาซิลัส ซึ่งมีจำนวนแตกต่างกันในแต่ละบริเวณ เมื่ออาหารที่ไม่ถูกย่อยเดินทางมาถึงลำไส้ใหญ่จะมีผลต่อการกระตุ้นการเจริญ และเพิ่มจำนวนของโพรไบโอติก ซึ่งจะช่วยรักษาสมดุลของแบคทีเรีย และยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค

ตารางที่ 2.1 แบคทีเรียประจำถิ่นที่พบในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ [6]

Microorganisms	Number of microorganisms (cfu/ml or cfu/g)				
	Oropharynx	Stomach	----Small Intestine----		Colon
			Jejunum	Ileum	
Total Count	$10^8 - 10^{10}$	$0 - 10^4$	$0 - 10^5$	$10^4 - 10^8$	$10^{10} - 10^{12}$
Aerobic microorganisms					
<i>Streptococcus</i>	$10^6 - 10^8$	$0 - 10^3$	$0 - 10^4$	$10^2 - 10^4$	$10^3 - 10^5$
<i>Enterococcus</i>	rare	rare	$0 - 10^2$	$10^2 - 10^4$	$10^5 - 10^{10}$
<i>Staphylococcus</i>	$0 - 10^2$	$0 - 10^2$	$0 - 10^3$	$10^2 - 10^5$	$10^4 - 10^6$
<i>Enterobacteria</i>	rare	$0 - 10^2$	$0 - 10^3$	$10^2 - 10^7$	$10^4 - 10^{10}$
<i>Yeasts</i>	$0 - 10^3$	$0 - 10^2$	$0 - 10^2$	$10^2 - 10^4$	$10^2 - 10^5$
Anaerobic microorganisms					
<i>Peptostreptococcus</i>	$10^4 - 10^6$	$0 - 10^3$	$0 - 10^3$	$10^2 - 10^6$	$10^{10} - 10^{12}$
<i>Bifidobacterium</i>	$0 - 10^2$	$0 - 10^2$	$0 - 10^4$	$10^3 - 10^9$	$10^8 - 10^{11}$
<i>Lactobacillus</i>	$0 - 10^3$	$0 - 10^3$	$0 - 10^4$	$10^2 - 10^5$	$10^6 - 10^8$
<i>Clostridium</i>	rare	rare	rare	$10^2 - 10^4$	$10^6 - 10^9$
<i>Eubacterium</i>	$10^2 - 10^3$	rare	rare	rare	$10^9 - 10^{12}$
<i>Veillonella</i>	$10^3 - 10^8$	$0 - 10^2$	$0 - 10^3$	$10^2 - 10^4$	$10^3 - 10^6$
<i>Fusobacterium</i>	$10^4 - 10^8$	$0 - 10^2$	$0 - 10^3$	$10^3 - 10^4$	$10^6 - 10^8$
<i>Bacteroides fragilis</i>	rare	rare	$0 - 10^3$	$10^3 - 10^7$	$10^{10} - 10^{12}$
<i>Prevotella</i>	$10^6 - 10^8$	$0 - 10^2$	$10^2 - 10^4$	$10^3 - 10^4$	$10^4 - 10^5$

2.1.2.2 กระบวนการหมักโดยแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่

อาหารที่เหลือจากการย่อยจากปาก กระเพาะอาหาร และลำไส้เล็กจะถูกหมักโดยแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้ใหญ่ กระบวนการหมักสำคัญที่เกิดขึ้นภายในลำไส้ใหญ่มีดังนี้

(1) การหมักแบบแซคคาโรไลติก (Saccharolytic fermentation)

การหมักอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต เช่น โอลิโกแซคคาไรด์ โดยแบคทีเรียกลุ่มไบฟีโดแบคทีเรีย และแลคโตบาซิลัส จะให้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นกรดไขมันชนิดสายสั้น เช่น กรดอะซิติก กรดโพรไพโอนิก และกรดบิวทีริก ซึ่งถูกนำไปใช้หลากหลายรูปแบบ และให้ประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น กรดอะซิติกช่วยเพิ่มการดูดซึมแคลเซียม ลดความเสี่ยงของโรคกระดูกพรุน กรดโพรไพโอนิกถูกส่งไปที่ตับเพื่อใช้ในการสังเคราะห์พลังงานในรูปของอะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (Adenosine triphosphate ; ATP) กรดบิวทีริกใช้ในการซ่อมแซมผนังลำไส้ใหญ่ และเป็นสารสำคัญในการต้านมะเร็งลำไส้ใหญ่ นอกจากนี้การหมักคาร์โบไฮเดรตจะเป็นการเพิ่มจำนวนแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ และเพิ่มความชื้นให้แก่อุจจาระ ทำให้ขับถ่ายง่ายขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(2) การหมักแบบโปรติโอไลติก (Proteolytic fermentation)

การหมักอาหารประเภทโปรตีนโดยแบคทีเรียกลุ่มครอสติเดียม จะให้ผลิตภัณฑ์ที่มีความเป็นพิษ เช่น สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compound) สารประกอบกำมะถัน (Sulfur-containing compound) เอมีน (Amine) และแอมโมเนีย (Ammonia) ซึ่งเป็นมีคุณสมบัติเป็นสารก่อมะเร็งลำไส้ใหญ่ และทำให้ลำไส้อักเสบเรื้อรัง (Inflammatory bowel disease ; IBD)

2.1.2.3 การกระตุ้นการเจริญเติบโต และกิจกรรมของแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่อย่างจำเพาะ

การศึกษาการตอบสนองต่อพรีไบโอติกของแบคทีเรียแต่ละชนิดโดยผ่านกระบวนการหมัก ซึ่งสามารถแบ่งวิธีทดสอบออกเป็น 5 วิธีดังนี้ [7]

(1) การใช้เชื้อบริสุทธิ์ (Pure culture) เป็นวิธีที่ง่ายต่อการศึกษาคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติกของสารอาหารโดยใช้แบคทีเรียบริสุทธิ์ที่ต้องการศึกษา มาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อมาตรฐานที่เติมสารอาหารที่สนใจแล้ววัดการเจริญในแต่ละช่วงเวลาของการบ่มเชื้อ จากนั้นนำมาเปรียบเทียบกับการเจริญของเชื้อที่บ่มในอาหารที่ไม่ได้เติมสารอาหารที่ทดสอบ

วิธีนี้ทำให้ทราบความสามารถในการย่อยของแบคทีเรียเพียงชนิดเดียวที่มีต่อสารอาหาร แต่ไม่สามารถแสดงให้เห็นสภาวะการแข่งขันของแบคทีเรียหลากหลายชนิดที่มีอยู่จริงในลำไส้ได้ ดังนั้นการทดสอบนี้ไม่สามารถระบุความจำเพาะ (Selectivity) ในการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียได้

(2) การใช้เชื้อผสม (Mixture cultures) เป็นวิธีที่ใช้แบคทีเรียที่สกัดจากอุจจาระมนุษย์มาเลี้ยงในระบบปิดที่มีสารอาหารจำกัด จึงเหมาะกับการทดสอบในระยะเวลายาว ซึ่งแตกต่างจากระบบจริงของลำไส้ใหญ่ที่มีสารอาหารใหม่ไหลผ่านอยู่ตลอดเวลา วิธีนี้แสดงแนวโน้มสภาวะการแข่งขันของแบคทีเรียได้ แต่ยังไม่เพียงพอที่จะแสดงถึงอันตรกิริยาเชิงซ้อนของแบคทีเรียที่เกิดขึ้นจริงในลำไส้ได้

(3) การทดลองในลำไส้ใหญ่จำลอง (in vitro gut model) ลำไส้ใหญ่ของมนุษย์ประกอบด้วยแต่ละส่วนที่มีลักษณะทางกายภาพแตกต่างกัน ได้แก่ กระเพาะลำไส้ใหญ่ (Caecum) โคลอน (Colon) และไส้ตรง (Rectum) อาหารที่ไหลจากลำไส้เล็กจะถูกใช้ทันทีโดยแบคทีเรียที่อยู่บริเวณลำไส้ใหญ่ส่วนต้นทำให้แบคทีเรียเจริญอย่างรวดเร็ว และมีสภาวะเป็นกรด เศษอาหารที่มาถึงลำไส้ใหญ่ส่วนกลางจะน้อยลงทำให้ค่าสภาวะเป็นกลาง ดังนั้นต้องจำลองแต่ละส่วนของลำไส้ใหญ่ให้คล้ายกับลำไส้ใหญ่ของมนุษย์ที่สุด โดยให้หลอดทดลองที่ 1 มีสารอาหารสำหรับแบคทีเรียสูง และมีค่าพีเอชต่ำ เพื่อแทนลำไส้ใหญ่ส่วนต้น หลอดทดลองที่ 2 และ 3 มีสารอาหารลดลง และมีค่าพีเอชกลาง เพื่อแทนลำไส้ใหญ่ส่วนกลาง และส่วนปลาย โดยควบคุมตัวแปรจากผลการทดลองที่ได้จากผู้ที่ไม่พึงเสียชีวิตแล้วเติมสารที่ได้จากอุจจาระของอาสาสมัครที่ได้รับสารอาหารที่ต้องการทดสอบการเป็นพรีไบโอติก วิธีนี้สามารถประเมินความเป็นพรีไบโอติกได้อย่างมีประสิทธิภาพ

(4) การใช้สัตว์ทดลอง มักใช้หนูทดสอบกับสารอาหารที่ต้องการศึกษาคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติก อย่างไรก็ตามสัตว์ทดลองจะมีลักษณะทางสรีรวิทยาของทางเดินอาหารแตกต่างไปจากมนุษย์

(5) การทดลองในมนุษย์ เป็นการให้อาสาสมัครบริโภคสารอาหารที่ต้องการทดสอบ จากนั้นนำอุจจาระมาตรวจสอบทางจุลชีววิทยาโดยต้องวิเคราะห์อุจจาระในทันที เนื่องจากการเก็บอุจจาระจะทำให้แบคทีเรียมีการเปลี่ยนแปลง

2.1.3 เทคนิคการวิเคราะห์องค์ประกอบที่เปลี่ยนแปลงไปของแบคทีเรีย

2.1.3.1 เทคนิคตรวจวัดด้วยสารเรืองแสง (Fluorescence in situ hybridization ; FISH)

เป็นเทคนิคที่สามารถระบุจำนวนชนิดสายพันธุ์ และการกระจายตัวของแบคทีเรีย (Bacterial enumeration) โดยใช้ตัวตรวจจับ (Probe) ซึ่งจำเพาะกับสายพันธุ์ที่ต้องการศึกษา ติดกับสารเรืองแสง

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แสงฟลูออเรสเซนซ์ไปจับกับตำแหน่ง rRNA ที่ความเฉพาะเจาะจงสูง บนแบคทีเรียที่อยู่ในเชื้อผสม ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีความแม่นยำ และรวดเร็ว

2.1.3.2 เทคนิค Denaturing and temperature-gradient gel electrophoresis (DGGE/TGGE)

เป็นเทคนิคการแยกสารโดยอาศัยเคลื่อนที่ของดีเอ็นเอ (DNA) ผ่านเจลชนิดพอลิอะคริลาไมด์ (Polyacrylamide gel) ภายใต้สนามไฟฟ้า (Electrophoresis) ซึ่งมีทั้งการใช้อุณหภูมิสูงที่สามารถทำลายพันธะคู่เบส หรือใช้สารเคมีที่สามารถทำลายสภาพดีเอ็นเอได้ โครงสร้างดีเอ็นเอประกอบด้วยสารนิวคลีโอไทด์มาเรียงต่อกันเป็นสายยาว และมีเบสเรียงซ้ำๆกัน เมื่อใช้สารเคมีที่มีคุณสมบัติในการแยกสายจากดีเอ็นเอสายคู่กลายเป็นดีเอ็นเอสายเดี่ยว ดีเอ็นเอของแบคทีเรียต่างชนิดกันจะมีลำดับของนิวคลีโอไทด์ต่างกัน ซึ่งมีผลต่อความแข็งแรงของพันธะต่างกัน ดังนั้นความเข้มข้นของสาร gradient ที่ต่างกันก็สามารถส่งผลต่อการแยกดีเอ็นเอที่ต่างกันด้วย เมื่อให้กระแสไฟฟ้า สารดีเอ็นเอบนเจลจะเคลื่อนที่ปรากฏเป็นแถบดีเอ็นเอที่มีลักษณะเฉพาะ ขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรีย ดีเอ็นเอของแบคทีเรียต่างชนิดกันจะแยกตัวได้ระยะทางต่างกันบนเจล เช่น ถ้าแบคทีเรียมีจำนวนของเบส G-C น้อย (พันธะสาม แรงยึดเหนี่ยวน้อย) จะเกิดการแยกตัวได้ง่าย ถึงแม้ความเข้มข้นของ gradient ต่ำนั่นเอง และจากการศึกษาพบว่าความยาวของลำดับนิวคลีโอไทด์มีผลต่อการวิเคราะห์การเคลื่อนที่ของดีเอ็นเอบนเจล ดังนั้นจึงต้องใช้เทคนิค Polymerase Chain Reaction (PCR) เพื่อเพิ่มปริมาณดีเอ็นเอ ให้มีประสิทธิภาพและขนาดที่ใกล้เคียงกันที่สุด เป็นเทคนิคที่ง่าย รวดเร็ว และเหมาะสมกับการวิเคราะห์ความหลากหลายของแบคทีเรียในลำไส้ [8]

2.1.3.3 เทคนิค Flow cytometry

เป็นเทคนิคที่วัดลักษณะ และการกระจายของแบคทีเรีย โดยเซลล์แบคทีเรียจะไหลตามท่อขนาดเล็ก แล้วฉายแสงเลเซอร์ ทำให้เกิดการทะลุผ่าน หรือหักเหของแสง ซึ่งมีตัวรับแสงเลเซอร์ (Detector) และวิเคราะห์ผล เทคนิคนี้สามารถวัดเซลล์ที่มีจำนวนมากได้รวดเร็ว และมีความสามารถในการแยกความเข้มแสงได้ดี

2.1.4 ตัวอย่างพรีไบโอติก

2.1.4.1 อินนูลิน (Inulin) และฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructo-oligosaccharide ; FOS)

อินนูลิน และฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ประกอบด้วยฟรุคโตสที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะเบต้า-2,1-ไกลโคซิดิก (β -2,1 glycosidic bond) และที่ปลายด้านหนึ่งของสายโซ่มีกลูโคสเชื่อมต่อกับฟรุคโตส ในลักษณะการเชื่อมเหมือนซูโครส (Sucrose) โดยฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ และอินนูลินมีอันดับของการพอลิเมอไรเซชัน 2-4 หน่วย และ 9-60 หน่วยตามลำดับ [9] พบได้ในกล้วย หัวหอม ต้นหอม กระเทียม หน่อไม้ฝรั่ง หัวแก่นตะวัน และรากชิโครี [3]

เอนไซม์สำหรับย่อยอาหารส่วนใหญ่ของมนุษย์มีความเฉพาะเจาะจงกับพันธะแอลฟา-ไกลโคซิดิก แต่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 ของฟรุคโตสมีการจัดเรียงตัวแบบเบต้า (β -configuration) ดังนั้นสารอินนูลิน และฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ จึงไม่ถูกย่อยโดยเอนไซม์ และไม่ถูกดูดซึมที่ทางเดินอาหารส่วนบน จึงกลายเป็นอาหารของแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ และจัดว่ามีคุณสมบัติพรีไบโอติก อาสาสมัครที่ได้รับอินนูลิน และฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 7.5 กรัมต่อวัน ติดต่อกันเป็นเวลา 14 วัน พบว่ามีปริมาณไบโอดีแบคทีเรีย และแลคโตบาซิลัสเพิ่มขึ้น 10 เท่า และช่วยในการดูดซึมแคลเซียม ซึ่งจะเพิ่มความหนาแน่นมวลกระดูกทำให้กระดูกแข็งแรง [10] นอกจากนี้ขนาดโมเลกุลมีผลต่อคุณสมบัติการพรีไบโอติก พบว่าฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์แตกตัวง่ายกว่า จึงถูกใช้ในกระบวนการหมักโดย

เอกลสารเป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สงวนไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่ไปยังระบบออนไลน์ การค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียได้ดีกว่าอินนูลิน [9] แต่มีบางงานวิจัยที่กล่าวว่าอินนูลินแสดงคุณสมบัติพรีไบโอติกได้ชัดเจนกว่าโอลิโกฟรุคโตส (Oligofructose ; OF) ซึ่งมีอันดับพอลิเมอร์ไรเซชัน 2-8 ดังนั้นการมีโครงสร้างที่ต่างกัน ย่อมมีผลต่อการเกิดสภาวะกรดภายในลำไส้ที่ต่างกัน การศึกษาในปัจจุบันจึงมุ่งเน้นการใช้ประโยชน์ร่วมกันของสายสั้นและสายยาวของอินนูลิน (Oligofructose enriched inulin) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการดูดซึมแคลเซียม [11]

2.1.4.2 แลคทูโลส (Lactulose)

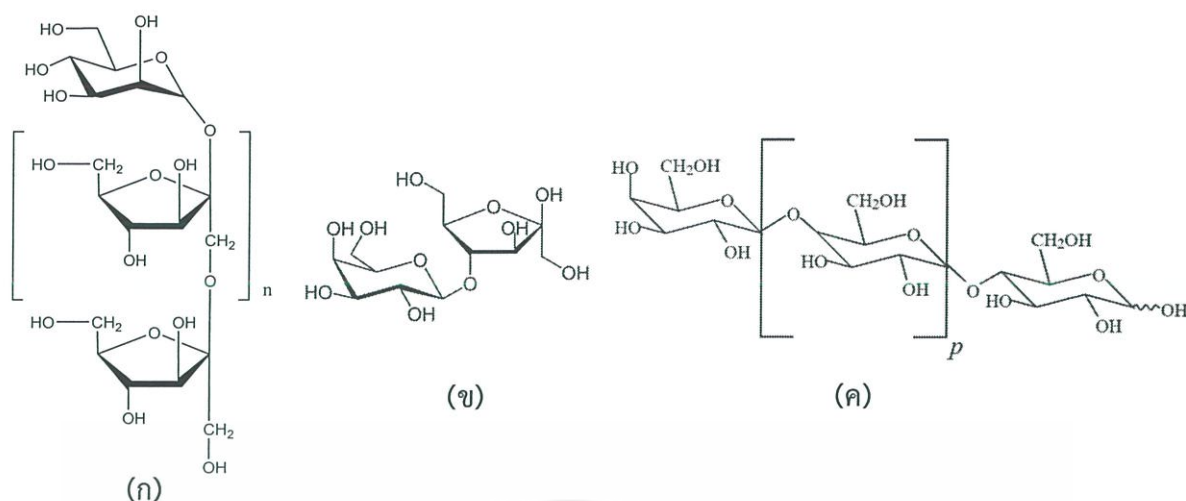
แลคทูโลส เป็นอนุพันธ์ของแลคโตส (Lactose) ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาไอโซเมอไรเซชัน (isomerization) โครงสร้างประกอบด้วยสารฟรุคโตสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเบต้า-1,4-ไกลโคซิดิกกับสารกาแลคโตส (Galactose) พบในน้ำนม ไม่ถูกย่อยหรือถูกดูดซึมในทางเดินอาหาร แต่จะถูกย่อยโดยแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ จากการศึกษาสมบัติพรีไบโอติก อาสาสมัครที่ได้รับแลคทูโลส 3 กรัมต่อวัน ติดต่อกันเป็นเวลา 14 วัน พบว่ามีปริมาณไบโไฟโดแบคทีเรียเพิ่มขึ้น และแบคทีเรียกลุ่มครอสติเดีย (Clostridia) แบคทีเรีย (Bacteroides) สเตรปโทคอคคัส (Streptococcus) และเอนเทอโรแบคทีเรีย เอซีอี (enterobacteriaceae) มีปริมาณลดลง และช่วยลดเอนไซม์ ได้แก่ ไนโตรรีดักเตส (Nitroreductase) เบต้า-กลูคูโรนิเดส (β -glucuronidase) และเอโซรีดักเตส (Azoreductase) [7] ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่จะกระตุ้นสารก่อมะเร็งทุดิยภูมิ (Procarcinogen) จัดเป็นสารก่อมะเร็งปฐมภูมิ หรือสารก่อมะเร็งที่ออกฤทธิ์โดยตรง (Carcinogen) แลคทูโลสถูกนำมาใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์ยาระบายอย่างกว้างขวาง เพื่อรักษาอาการท้องผูก

2.1.4.3 กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Galacto-oligosaccharide ; GOS)

กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ประกอบด้วยสารกาแลคโตส 2-5 หน่วย และกลูโคสต่อที่ปลายสายโซ่ด้วย พันธะเบต้า-1,6-ไกลโคซิดิก (β -1,6 glycosidic bond) พบในน้ำนมมนุษย์ นมวัว โยเกิร์ต และสามารถสังเคราะห์ได้จากแลคโตสไซรัปโดยใช้เอนไซม์เบต้า-กาแลคโตไซด์ (β -galactoside) เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่ไม่สามารถย่อยได้ จึงเคลื่อนที่ไปถึงลำไส้ใหญ่โดยไม่ถูกทำลาย และถูกดูดซึมในทางเดินอาหารส่วนบน แต่จะถูกนำไปใช้เพื่อการเจริญของแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ จากการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียในอุจจาระของอาสาสมัครที่ได้รับกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 10 กรัมต่อวันเป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าไบโไฟโดแบคทีเรีย และแลคโตบาซิลลัสมีปริมาณเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองในอาสาสมัครที่ได้รับแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ 15 กรัมเป็นเวลา 6 วัน แสดงให้เห็นคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติกของกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ และกระตุ้นการเจริญอย่างจำเพาะกับแบคทีเรียกลุ่มไบโไฟโดแบคทีเรีย และแลคโตบาซิลลัส [7]

โครงสร้างทางเคมีของสารอินนูลิน แลคทูโลส และกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์แสดงในภาพที่

2.1



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างทางเคมีของ (ก) อินนูลิน (n=9-60) (ข) แลคทูโลส และ (ค) กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (n=2-5); n=อันดับพอลิเมอร์เชซัน

2.1.5 ประโยชน์ของพรีไบโอติก

2.1.5.1 ป้องกันมะเร็งในลำไส้ใหญ่

โรคมะเร็งลำไส้ เป็นมะเร็งชนิดหนึ่งที่พบได้บ่อยมากในลำไส้ใหญ่เมื่อเทียบกับลำไส้เล็ก และแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหารมักเป็นแบคทีเรียชนิดโปรติโอไลติก (Proteolytic bacteria) ซึ่งเป็นแบคทีเรียย่อยโปรตีนเพื่อใช้ในการเจริญ และได้ผลผลิตเป็นสารพิษ เช่น สารกลุ่มฟีนอล (Phenol) สารกลุ่มอินโดล (Indole) สารกลุ่มแอมโมเนีย (Ammonia) และสารก่อมะเร็ง เป็นต้น อย่างไรก็ตามมีการพิสูจน์ว่า พรีไบโอติกมีบทบาทในการป้องกันมะเร็งลำไส้ใหญ่ผ่านกระบวนการหมักโดยแบคทีเรียกรดแลคติก และให้ผลผลิตเป็นกรดบิวทริกซึ่งมีฤทธิ์ต้านมะเร็ง ช่วยลดการเจริญและการแพร่ของเซลล์มะเร็ง นอกจากนี้พรีไบโอติกสามารถยับยั้งแบคทีเรียที่ผลิตสารก่อมะเร็ง หรือไปเปลี่ยนแปลงกระบวนการผลิตสารก่อมะเร็งของแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ได้ [12]

2.1.5.2 ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค

พรีไบโอติกจะไปเพิ่มความสามารถของไบฟิโดแบคทีเรีย และแลคโตบาซิลัส ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ต้านทานแบคทีเรียที่ก่อโรค เมื่อพรีไบโอติกเกิดเมตาบอลิซึมจะสร้างกรดที่ทำให้ค่าพีเอชในลำไส้ใหญ่ลดลง ส่งผลให้เกิดสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ก่อโรค

2.1.5.3 เพิ่มการดูดซึมแคลเซียม

พรีไบโอติกสามารถเพิ่มการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิดโดยเฉพาะแคลเซียม ในกระบวนการหมักของพรีไบโอติกจะเกิดกรดไขมันชนิดสายสั้นทำให้ค่าพีเอชในลำไส้ใหญ่ลดลง ส่งผลให้มีการดูดซึมของแคลเซียมได้มากขึ้น นอกจากนี้หากร่างกายได้รับสารไฟเตต (phytate) ซึ่งเป็นองค์ประกอบในพืชที่มีความเสถียร เมื่อสารไฟเตตเดินทางไปถึงลำไส้ใหญ่จะไปจับกับไอออนที่มีประจุ +2 (divalent cations) เช่น แคลเซียมไอออน เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ไม่ละลายน้ำทำให้ร่างกายไม่สามารถดูดซึมแร่ธาตุได้โดยแบคทีเรียจะหมักสารไฟเตต ส่งผลให้แคลเซียมถูกปลดปล่อยเป็นอิสระ และถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.5.4 ลดระดับคอเลสเตอรอล

คอเลสเตอรอลเป็นปัจจัยเสี่ยงของโรคหลอดเลือดหัวใจตีบโดยพบว่าแบคทีเรียกรดแลคติกสามารถลดระดับไขมันในเลือดได้

2.2 คอนยัคกลูโคแมนแนน (Konjac glucomannan)

พืชบุก เป็นไม้เนื้ออ่อนที่อยู่ในวงศ์บอน (Araceae family) สกุลบุก (Amorphophallus genus) บุกเจริญเติบโตได้ดีในเขตร้อน และเขตอบอุ่น พบได้ทั่วไปในประเทศแถบเอเชีย เช่น ไทย พม่า ลาว จีน อินเดีย ญี่ปุ่น เป็นต้น ปัจจุบันพบพืชสกุลบุกอยู่ 200 ชนิด [13] และพบกระจายอยู่ในทุกภาคของประเทศไทยประมาณ 46 ชนิด [14] โดยงานวิจัยนี้สนใจศึกษาคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติกของบุกชนิด *Amorphophallus konjac* หรือคอนยัค ซึ่งถูกใช้กันอย่างแพร่หลายในด้านอาหารและยา

คอนยัค เป็นพืชล้มลุกที่อายุยืน (Perennial plants) มีหัวอยู่ใต้ดินลักษณะเป็นทรงกลม ขนาดเล็กหรือใหญ่ขึ้นอยู่กับอายุ เมื่อโตเต็มที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 30 เซนติเมตร ลำต้นกลมอวบ น้ำสีเขียวมีลายจุดสีขาว มีกิ่งก้านแตกออกที่ปลายยอด แต่ละกิ่งประกอบด้วยใบย่อยรูปวงรียาว 3-10 เซนติเมตร กว้าง 2-6 เซนติเมตร ช่อดอกแทงออกมาจากหัวใต้ดิน ถูกห่อหุ้มด้วยกาบหุ้มสีชมพูขาว ลักษณะเป็นทรงกรวยที่มีขอบหยักเป็นคลื่น ดังภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 ต้นบุกสายพันธุ์ AMORPHOPHALLUS KONJAC (A) หัวบุกอายุ 2 ปี (B) ต้นบุก และ (C) ดอกของต้นบุก [15]

2.2.1 องค์ประกอบทางเคมีของคอนยัค

หัวใต้ดินของคอนยัคเป็นแหล่งสะสมอาหารที่สำคัญ ซึ่งประกอบด้วยสารอาหารหลายชนิด ได้แก่ กลูโคแมนแนน แป้ง โปรตีน และน้ำตาลละลายน้ำได้ องค์ประกอบทางเคมีในหัวบุกจะเปลี่ยนแปลงตามระยะเวลาที่ใช้ในการเจริญเติบโต แสดงดังตารางที่ 2.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบหลัก (ร้อยละของน้ำหนักแห้ง) ของหัวบุกตามระยะเวลาเพาะปลูก [16]

Time (date/month)		10/05	30/05	30/06	10/07	30/07	10/08	30/08	10/09	30/09	10/10	30/10
Days after planting		0	20	50	60	80	90	110	130	140	150	170
Fresh weight (g)	MC	65.0	58.5	10.7								
	DC			6.7	17.5	50.0	81.0	152.0	234.0	365.0	408.0	382.0
Glucomannan (%)	MC	51.5	41.9	7.2								
	DC			24.3	36.7	50.9	51.8	56.0	55.3	54.3	54.5	53.2
Starch (%)	MC	10.5	7.5	1.0								
	DC			1.3	8.3	10.9	10.7	10.6	10.8	10.5	10.9	10.7
Soluble sugar (%)	MC	4.8	5.6	6.8								
	DC			6.9	8.7	6.4	6.2	5.8	5.4	4.9	5.2	4.8
Protein (%)	MC	8.9	11.8	6.5								
	DC			13.4	7.1	6.0	5.6	5.0	5.8	7.0	7.5	8.0

N.B. MC = "mother" corm, DC = "daughter" corm.

จากตารางจะเห็นได้ว่า สารอาหารส่วนใหญ่ที่พบในคอนยัค คือ กลูโคแมนแนน ซึ่งมีปริมาณร้อยละ 49-60 ของน้ำหนักแห้ง เรียกสารสำคัญนี้ว่า คอนยัคกลูโคแมนแนน อย่างไรก็ตามการเปลี่ยนแปลงสัดส่วนของสารอาหารในคอนยัคขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง ได้แก่ ชนิดพืชบุก แหล่งเพาะปลูก และเงื่อนไขที่ใช้ในการเจริญเติบโต แสดงดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (ร้อยละของน้ำหนักแห้ง) ของหัวบุกในแต่ละแหล่งเพาะปลูก [16]

Species	Origin	Water *	Glucomannan	Starch	Soluble sugar
<i>A. konjac</i>	Sichuan	78.9	58.8	12.3	2.9
	Chongqing	79.3	59	12.9	2.7
	Guizhou	80.3	58.3	12.7	2.7
	Yunnan	78.5	54.4	16.2	3.8
	Hubei	78.2	54.6	17.3	3.2
	Guangxi	78.7	55.1	14.1	3.4
	Jiangxi	81.8	52.2	19.8	2.9
	Fujian	81	52.1	20.1	3.5

* Percentage fresh weight.

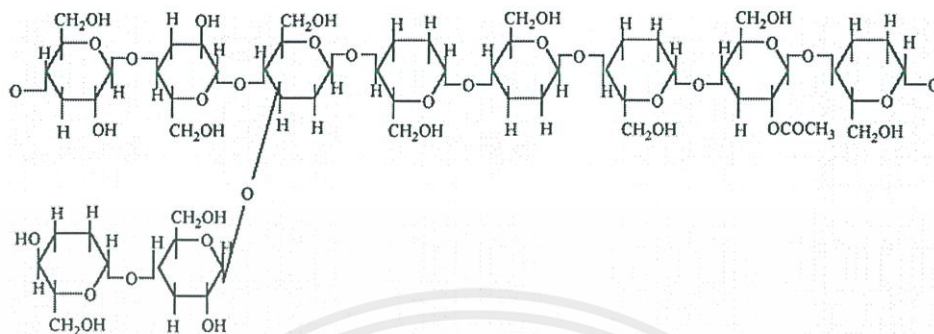
- Data not available.

คอนยัคกลูโคแมนแนน เป็นสารที่ได้จากธรรมชาติ จึงมีความเป็นพิษต่ำ ย่อยสลายทางชีวภาพ (Biodegradability) และราคาไม่แพง จึงถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหารและยา เช่น ใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหาร (Food additives) สารที่ทำให้เกิดเจล (Gelling agent) ผลิตภัณฑ์ลดความอ้วน เป็นต้น นอกจากนี้มีรายงานว่ากลูโคแมนแนนมีคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติก ซึ่งเป็นที่มาของการศึกษาความเป็นพรีไบโอติกของคอนยัคกลูโคแมนแนนในงานวิจัยนี้

2.2.1.2 โครงสร้างทางเคมีของคอนยัคกลูโคแมนแนน

คอนยัคกลูโคแมนแนน เป็นสารเฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) ประเภทพอลิแซคคาไรด์ ที่ประกอบด้วยแมนโนส (D-mannose) และกลูโคส (D-glucose) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะเบต้า-1,4-ไกลโคซิดิกในอัตราส่วนโมล 1.6 : 1 มีกลูโคสต่อกิ่งกับแกนหลัก ด้วยพันธะเบต้า-1,6-ไกลโคซิดิก เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ประมาณ 3 กิ่งต่อน้ำตาลแมนโนสหรือกลูโคส 32 หน่วย) และมีหมู่อะซิทิล (Acetyl group) กระจายอย่างไม่มีแบบแผนบนสายโซ่หลักทุกๆ 9-19 หน่วยที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 6 ซึ่งมีผลต่อการเพิ่มความสามารถในการละลายน้ำ ดังแสดงในภาพที่ 2.3



ภาพที่ 2.3 โครงสร้างทางเคมีของคอนยัคกลูโคแมนแนน [15]

2.2.2 การผลิตแป้งบุก และการสกัดคอนยัคกลูโคแมนแนน

หัวบุกสดทั่วไปมีน้ำประมาณร้อยละ 80-90 และส่วนที่เป็นของแข็งร้อยละ 10-20 ของน้ำหนักทั้งหมด โดยส่วนที่เป็นของแข็งมีสารกลูโคแมนแนนร้อยละ 60-80 และสารเจือปนที่ต้องกำจัดออก เช่น แป้ง โปรตีน เป็นต้น การสกัดคอนยัคกลูโคแมนแนนแบ่งออกเป็น 2 วิธีใหญ่ๆ ได้แก่

2.2.2.1 การเตรียมแบบแห้ง (Dry method) ซึ่งเป็นวิธีดั้งเดิมโดยหั่นหัวบุกสดเป็นแผ่นบางๆ จากนั้นนำไปตากแดด หรืออบด้วยความร้อนให้เป็นแผ่นบุกแห้ง แล้วบด การบดทำให้เม็ดแป้ง ฝักรวม และสารประกอบของไนโตรเจนมีขนาดเล็กลง แต่เม็ดกลูโคแมนแนนที่มีขนาดใหญ่ และแข็งแรงกว่าจะไม่แตกหัก นำส่วนที่บดมาร้อนด้วยลม (Wind sifting) เพื่อแยกเม็ดกลูโคแมนแนนออกจากสิ่งเจือปน แป้งบุกที่ได้จากวิธีนี้จะมีความบริสุทธิ์ต่ำ ซึ่งประกอบด้วยกลูโคแมนแนนร้อยละ 60-70 เนื่องจากแผ่นบุกแห้งมีความแข็งทำให้ยากต่อการแยกอนุภาค และเกิดการสูญเสียกลูโคแมนแนนไปบางส่วนในกระบวนการร้อนด้วยลม แป้งบุกที่ได้จากวิธีนี้เรียกว่า common konjac flour มีสีน้ำตาล กลิ่นคล้ายปลา มีรสชาติที่รุนแรง

2.2.2.2 การเตรียมแบบเปียก (Wet method) วิธีนี้ถูกนำมาใช้เพื่อทำให้แป้งบุกให้มีความบริสุทธิ์มากขึ้นโดยใช้แอลกอฮอล์ เช่น เอทานอล (Ethanol) เป็นตัวทำละลาย ทำให้เกิดการตกตะกอน และสามารถแยกกลูโคแมนแนนออกจากสิ่งเจือปนได้ ทำให้แป้งบุกมีความบริสุทธิ์ขึ้น

2.2.3 คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของคอนยัคกลูโคแมนแนน

2.2.3.1 การละลายน้ำ

คอนยัคกลูโคแมนแนนเป็นโมเลกุลที่ละลายในน้ำได้ (Hydrophilic molecule) กลูโคแมนแนนที่มีหมู่อะซิทิลมากจะละลายน้ำได้ดี เนื่องจากหมู่อะซิทิล สามารถขัดขวางการสร้างพันธะไฮโดรเจน แต่การทำให้บริสุทธิ์สามารถเพิ่มความแข็งแรงให้พันธะไฮโดรเจน ทำให้ความสามารถในการละลายน้ำของกลูโคแมนแนนลดลง

2.2.3.2 การเกิดเจล

เมื่อผสมคอนยัคกลูโคแมนแนกับสารละลายต่างแล้วให้ความร้อน จะทำให้เกิดอันตรกิริยาระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลของกลูโคแมนแนกับต่างโดยจะไปส่งเสริมการสร้างพันธะไฮโดรเจน และแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำ (Hydrophobic interaction) ระหว่างสายโซ่กลูโคแมนแน เกิดเป็นโครงสร้างตาข่ายที่แข็งแรง และทนความร้อน ตัวแปรสำคัญที่มีผลต่อการเกิดเจล ได้แก่ จำนวนหมู่ไฮดรอกซิล น้ำหนักโมเลกุลของกลูโคแมนแน อุณหภูมิ และความเข้มข้นของกลูโคแมนแนและสารละลายต่าง

2.2.4 คุณภาพและความปลอดภัยของคอนยัคกลูโคแมนแน

การขาดประสิทธิภาพ และความปลอดภัยเป็นอุปสรรคสำคัญในการนำยาสมุนไพรมาใช้กับการแพทย์แผนปัจจุบัน ปัจจัยทั่วไปที่มีผลต่อคุณภาพสมุนไพร เช่น ชนิดและสายพันธุ์ที่ปลูก การเปลี่ยนแปลงระหว่างวัน และฤดูกาล รวมไปถึงวิธีการเพาะปลูก เก็บเกี่ยว การดูแลหลังเก็บเกี่ยว และกระบวนการผลิตซึ่งล้วนมีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ และผลิตภัณฑ์ที่ออกมา

คณะกรรมการยุโรป (European Commission) อธิบายความโดดเด่นระหว่าง คอนยัคกัม (Konjac gum) กับคอนยัคกลูโคแมนแนว่า คอนยัคกัมเป็นพอลิเมอร์ที่ได้จากการสกัดแป้งบุก (Konjac flour) โดยใช้ น้ำ (Aqueous extraction) ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่ยังไม่บริสุทธิ์ จะให้สารกลูโคแมนแนถึงร้อยละ 75 ของวัตถุดิบ คิดเป็นน้ำหนักมวลโมเลกุลกลูโคแมนแน 200,000-2,000,000 กรัมต่อโมล ในขณะที่คอนยัคกลูโคแมนแนมีกลูโคแมนแนอยู่มากกว่าร้อยละ 95 ของวัตถุดิบ และมีน้ำหนักมวลโมเลกุลเฉลี่ย 500,000-2,000,000 กรัมต่อโมล ซึ่งได้จากการสกัดโดยใช้เอทานอล

2.2.5 การประยุกต์ใช้คอนยัคกลูโคแมนแน

2.2.5.1 การประยุกต์ใช้ทางการแพทย์

(1) ป้องกันโรคอ้วน

ความสามารถในการดูดซับน้ำถึง 200 เท่า และเป็นเส้นใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำทำให้คอนยัคกลูโคแมนแนสามารถพองตัว และเกิดการสะสมของเส้นใยอาหารทำให้รู้สึกอิ่มนานขึ้น กระเพาะอาหารจะบีบตัว และดันอาหารเข้าสู่ลำไส้เล็กเพื่อให้ลำไส้เล็กดูดซึมสารอาหาร นอกจากนี้ การสะสมของเส้นใยทำให้ความหนืดเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ความสามารถในการดูดซึมสารอาหารน้อยลง ช่วยลดระดับกลูโคส และอินซูลินในร่างกาย จากผลการทดลองของ Bin Li และคณะ [17] พบว่าหนูทดลองที่ได้รับแป้งบุกที่ผ่านการบดเป็นเวลา 4 ชั่วโมงจนมีขนาด 23.7 ไมโครเมตร สามารถลดน้ำหนักได้มากกว่าหนูทดลองที่ได้รับแป้งบุกธรรมชาติขนาด 657.3 ไมโครเมตร เนื่องจากกลูโคแมนแนที่มีขนาดเล็กจะดูดซับน้ำ และขยายตัวได้เร็วกว่ากลูโคแมนแนที่มีขนาดใหญ่ นอกจากนี้กลูโคแมนแนขนาดเล็กสามารถลดปริมาณไตรกลีเซอไรด์ (Triglycerides) กลูโคส คอลเลสเตอรอล และไลโปโปรตีนชนิดความหนาแน่นสูง (High-density lipoprotein ; HDL) ซึ่งมีผลต่อภาวะไขมันและน้ำตาลในเลือดได้ดีกว่ากลูโคแมนแนขนาดใหญ่

(2) ลดไขมันในเส้นเลือด

ภาวะไขมันในเลือดสูง (Hypercholesterolemia) เกิดจากร่างกายได้รับปริมาณคอเลสเตอรอลมากเกินไป ไขมันเหล่านี้จะไปเกาะตามผนังหลอดเลือดทำให้เส้นเลือดแข็งตัว และเกิดการอุดตัน ซึ่งเป็นปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดโรคหลอดเลือดแข็งตัว และนำไปสู่โรคหัวใจขาดเลือดได้ การบริโภคกลูโคแมนแนส่งผลให้ร่างกายมีอินซูลินอยู่ในระดับต่ำ ทำให้ไปเพิ่มไซคลิกอะดีโนซีนโมโนฟอสเฟต เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Cyclic adenosine monophosphate ; cAMP) ซึ่งให้ผลผลิตเป็นเอนไซม์ HMG-CoA reductase ในปริมาณน้อย ซึ่งในการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล เอนไซม์นี้จะเกิดปฏิกิริยากับ HMG-CoA ทำให้ได้คอเลสเตอรอลในปริมาณต่ำ [18]

(3) ป้องกันโรคเบาหวาน

เส้นใยอาหารเป็นปัจจัยสำคัญในการลดการดูดซึมกลูโคส และอินซูลินเข้าสู่กระแสเลือดหลังจากการรับประทานอาหาร โดยกลูโคแมนแนนจะทำให้อาหารเคลื่อนผ่านกระเพาะอาหารไปยังลำไส้เล็กได้ช้า จึงถูกดูดซึมได้ช้า ทำให้น้ำตาลในเลือดอยู่ในระดับปานกลาง นอกจากนี้กลูโคแมนแนนจะดักจับอาหาร และของเสียตามทางเดินอาหาร ทำให้ร่างกายดูดซึมสารอาหารได้มากขึ้น

(4) ลดอาการท้องผูก

การบริโภคเส้นใยอาหารเฉลี่ยวันละ 18-23 กรัมต่อวัน มีบทบาทสำคัญในการรักษาอาการท้องผูก [15] เส้นใยอาหารชนิดไม่ละลายน้ำถูกสะสมในกระเพาะอาหารจนมีปริมาณมากพอที่จะเกิดแรงขับเคลื่อน และกระตุ้นการบีบตัวของลำไส้ทำให้ขับถ่ายอุจจาระง่ายขึ้น นอกจากนี้กลูโคแมนแนนมีคุณสมบัติในการดูดซับน้ำจึงไปเพิ่มความชื้น และน้ำหนักให้อุจจาระ ช่วยลดอาการท้องผูก และระบบขับถ่ายทำงานปกติ

(5) ฤทธิ์ต้านอักเสบ

คอนยัคกลูโคแมนแนนมีสรรพคุณในการบำบัดโรคภูมิแพ้ เช่น โรคผื่นภูมิแพ้ผิวหนัง (Atopic dermatitis) โรคหอบหืด (Asthma) โรคจมูกอักเสบจากภูมิแพ้ (Allergic rhinitis) เป็นต้น Onishi และคณะ ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านการอักเสบโรคภูมิแพ้ผิวหนังกับหนูทดลองชนิด NC/Nga ซึ่งเป็นโรคผิวหนัง โดยให้อาหารที่ผสมกลูโคแมนแนนร้อยละ 5 เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ จากผลการทดลองพบว่าบริเวณผิวหนังที่อักเสบหยุดการพัฒนา และลดการผลิตอิมมูโนโกลบินชนิดอี (Hyper-E) ซึ่งเป็นภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองในลักษณะผื่นผิวหนังเมื่อมีการติดเชื้อ

2.2.5.2 การประยุกต์ใช้ทางเภสัชกรรม

(1) ระบบนำส่งยา (Drug delivery)

กลูโคแมนแนนมีคุณสมบัติในการย่อยสลายทางชีวภาพ และเกิดเป็นเจลได้ จึงมีการนำมาใช้เพิ่มความสามารถในการขนส่งยา ในปี 2001 Wu และ Shen [19] ได้นำกลูโคแมนแนนมาทำเป็นแคปซูลที่ใช้บรรจุยา เพื่อใช้ในการรักษาผู้ป่วยโรคกระเพาะอาหารเรื้อรัง ต่อมาในปี 2002 Wang และ He [20] ได้ทำการพัฒนานำกลูโคแมนแนนมาทำเป็นเม็ดซึ่งประกอบด้วยแอลจินेट และกลูโคแมนแนนเพื่อใช้ควบคุมการปลดปล่อยยา และในปี 2003 Hermelin และ Grimshaw [21] ได้นำกลูโคแมนแนนมาผสมกับธาตุเหล็ก เพื่อใช้ในการรักษาผู้ที่มีภาวะขาดธาตุเหล็ก พบว่ากลูโคแมนแนนสามารถควบคุมอัตราการปลดปล่อยธาตุเหล็กได้นานถึง 24 ชั่วโมง

(2) สารยึดเกาะ (Bio-adhesive)

กลูโคแมนแนนถูกผสมในยารักษาโรคที่เกี่ยวข้องกับทางเดินอาหาร ซึ่งมีส่วนประกอบของสารแอลจินेट (Alginate) แซนแทนกัม (Xanthan gum) คาร์ราจีแนน (Carrageenan) และกาแลคโตแมนแนน (galactomannan) เพื่อเพิ่มคุณสมบัติการยึดเกาะให้ยาจับกับอวัยวะเป้าหมายได้ดี และป้องกันการสูญเสียยาจากการยึดเกาะผิวเยื่อเมือกของอวัยวะ

(3) เซลล์บำบัด (Cellular therapy)

วัสดุที่ใช้ทำเนื้อเยื่อหรืออวัยวะเทียม เช่น หลอดเลือด จำเป็นต้องมีคุณสมบัติความเข้ากันได้กับเนื้อเยื่อในร่างกาย ได้มีการทดสอบวัสดุที่ทำจากกลูโคแมนแนน พบว่ามีความสามารถในการยึดเกาะกับพื้นผิวเนื้อเยื่อได้ดี ซึ่งช่วยเพิ่มการซึมผ่านของสาร

(4) การปลูกถ่ายอวัยวะ (Prosthetic implants)

การปลูกฝังอวัยวะเทียมในร่างกายมนุษย์ วัสดุที่ใช้ต้องไม่ถูกละลายโดยของเหลวในร่างกาย เข้ากันได้กับเนื้อเยื่อและมีความยืดหยุ่นสูง ในปี 2003 Ita และ Clarke [22] ได้ทำเจลจากคอนยัคกลูโคแมนแนน และสารประกอบไฮโดรคอลลอยด์ (Hydrocolloid) ชนิดอื่น เพื่อทำอวัยวะเทียมในการเสริมทรวงอก

2.2.5.3 การประยุกต์ใช้ทางเคมี

(1) ฟิล์มและเยื่อหุ้มบาง (Membrane)

กลูโคแมนแนน หรือสารอนุพันธ์ของกลูโคแมนแนนผสมกับพอลิเมอร์ชนิดอื่น ทำเป็นฟิล์มเพื่อใช้ในระบบนำส่งยา เช่น ฟิล์มกลูโคแมนแนน-เมทิลเซลลูโลส ฟิล์มกลูโคแมนแนน-พอลิอะคริลิกแอซิด โดยกลูโคแมนแนนจะทำหน้าที่ปรับปรุงคุณสมบัติการทนความร้อน ทนต่อแรงกล และการพองตัว ซึ่งใช้ในการควบคุมการปลดปล่อยยา

(2) สารเคลือบ

คอนยัคกลูโคแมนแนนถูกนำมาทำเป็นวัสดุเคลือบ เพื่อใช้ในการถนอมอาหารสด ผลไม้ต่างๆ เช่น แอปเปิ้ล แคนตาลูป เป็นต้น โดยวัสดุเคลือบจะควบคุมการแลกเปลี่ยนของออกซิเจน คาร์บอนไดออกไซด์ เอทิลีน และไอน้ำออกจากอาหาร

(3) เครื่องสำอาง

กลูโคแมนแนนถูกนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของเครื่องสำอาง ซึ่งทำให้อยู่ในรูปอิมัลชัน (emulsion) อนุภาคเจล หรือสารละลายจากธรรมชาติ เช่น ผลิตภัณฑ์สำหรับผลิตภัณฑ์เปลี่ยนเซลล์ผิวน้ำยาล้างเครื่องสำอาง เป็นต้น ซึ่งไม่ทำเซลล์ผิวเกิดความเสียหาย

(4) การขนส่งโปรตีน

กลูโคแมนแนนผสมกับพอลิเมอร์ เพื่อใช้ในการขนส่งโปรตีน เช่น เมื่อผสมกลูโคแมนแนนกับแอลจิเนต (Alginate) การเชื่อมโยงภายใน และพื้นผิวจะเปลี่ยนแปลงไป ทำให้ช่วยปรับปรุงความสามารถในการขนส่งโปรตีน และสมบัติการพองตัวเปลี่ยนแปลงตามค่าความเป็นกรด-ด่าง

(5) ไฮโดรเจล

แบคทีเรียสามารถปล่อยเอนไซม์ย่อยกลูโคแมนแนนได้ จึงนำกลูโคแมนแนนมาทำเป็นไฮโดรเจล โดยนำมาผสมกับกรดอะคริลิก หรือโซเดียมไตรพอลิฟอสเฟต (Sodium tripolyphosphate ; STPP) จะเกิดการเชื่อมพันธะเคมี ไฮโดรเจลจะถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์บริเวณที่มีแบคทีเรีย จากนั้นจะปลดปล่อยสารได้

2.2.5.4 การย่อยสลายกลูโคแมนแนนภายในสิ่งมีชีวิต

คอนยัคกลูโคแมนแนน เป็นพอลิเมอร์ที่ย่อยสลายได้ยากในร่างกายมนุษย์ เนื่องจากแบคทีเรียบางชนิดที่อาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ เช่น แอโรแบคเตอร์ แมนนาโนไลติคัส (*Aerobacter mannanolyticus*) แบคทีเรียในลำไส้เหล่านี้จะผลิตเอนไซม์เอนโด-เบต้าแมนนาเนส (endo- β -mannanase) ทำหน้าที่เป็นตัวเร่งให้พันธะเบต้า-1,4-ไกลโคซิดิกของกลูโคแมนแนนแยกออกจากกัน ได้ผลิตภัณฑ์ที่ออกมาเป็นโมเลกุลคู่ของแมนโนส (β -1,4-D-mannobiose) เซลโลไบโอส เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Cellobiose) และ 4-O-β-D-glucopyranosyl-D-mannopyranose สุดท้ายเกิดผลิตภัณฑ์เป็น กลูโคส และแมนโนส ซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนที่จะผ่านกระบวนการหมักโดยแบคทีเรีย (Bacterial fermentation) แล้วให้ผลผลิตเป็นกรดไขมันสายสั้น ได้แก่ กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรด บิวทริก จากนั้นถูกดูดซึมที่ผนังลำไส้ของมนุษย์ แล้วถูกนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป

2.2.5.5 ความเป็นพิษของกลูโคแมนแนน

กลูโคแมนแนนใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหาร (Food additive) ที่รู้จักในจีน และญี่ปุ่นเป็นที่ทราบ กันดีว่าความเป็นเส้นใยของกลูโคแมนแนนจะช่วยส่งเสริมสุขภาพ ขณะที่การศึกษาความเป็นพิษของ กลูโคแมนแนนยังอยู่ในระดับที่แคบ ในปี 1995 งานวิจัยของ M.Y. Zhang และคณะ ได้ทำการ ทดสอบให้อาหารที่ผสมกลูโคแมนแนนแก่หนูทดลองวันละ 500 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหนักหนู ในระยะยาว พบว่ากลูโคแมนแนนไม่มีพิษต่อหนูทดลอง นอกจากนี้ ในหลายงานวิจัย ได้ศึกษากลูโค แมนแนนที่ออกฤทธิ์เป็นพิษต่อผิวหนัง การเสื่อมของเซลล์ (Cell-aging) ระบบพันธุกรรม เป็นต้น แต่ งานวิจัยเหล่านี้ยังไม่พบว่ากลูโคแมนแนนจะส่งผลเสียต่อร่างกาย หลังจากรับประทานปริมาณกลูโค แมนแนนมากกว่า 5 กรัมต่อวัน ไม่ว่าจะเป็นการท้องร่วง ท้องอืด ปวดท้อง เนื่องจากการศึกษา เกี่ยวกับพิษของกลูโคแมนแนนยังมีไม่มากนัก ดังนั้นในปี 1996 คณะกรรมาธิการยุโรป (European Commission) ได้พิจารณาปริมาณกลูโคแมนแนนที่ยอมรับได้ (Acceptable Daily Intake ; ADI) ว่า ไม่ควรรับประทานมากกว่า 3 กรัมต่อวัน

2.3 โพรไบโอติก (Probiotics)

โพรไบโอติก หมายถึงแบคทีเรียมีชีวิตที่มีประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์ และยังรวมถึงแบคทีเรียที่มี ในอาหาร โพรไบโอติกจะขัดขวางการเจริญเติบโตแบคทีเรียที่ไม่ดี แต่จะช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต ของแบคทีเรียที่ดี เป็นการปรับสมดุลแบคทีเรียที่อยู่ในลำไส้ในทางที่ดี และผลิตสารต่างๆที่มีประโยชน์ เช่น กรดแลคติก และกรดอะซิติก เป็นต้น โพรไบโอติกต่างจากยาปฏิชีวนะ (Antibiotic) ซึ่งจะยับยั้ง และทำลายทั้งแบคทีเรียที่ดี และแบคทีเรียที่ก่อโรค นอกจากนี้โพรไบโอติกยังสร้างเอนไซม์ที่ร่างกาย ไม่สามารถสร้างได้ มาช่วยในการย่อยสลายอาหาร [23], [24]

2.3.1 หลักเกณฑ์ในการพิจารณาการเป็นโพรไบโอติก

มีการกำหนดหลักเกณฑ์ในการพิจารณาการเป็นโพรไบโอติก [25], [26] ดังนี้

2.3.1.1 แบคทีเรียสามารถทนต่อสภาวะกรดในกระเพาะอาหาร และลำไส้ได้ดี ซึ่งกระเพาะ อาหารมีค่าพีเอชในช่วง 1-3 เนื่องจากร่างกายมีการหลั่งกรดไฮโดรคลอริกเพื่อใช้ในการย่อยอาหาร แต่ลำไส้เล็ก และลำไส้ใหญ่มีค่าพีเอชในช่วง 4-7 ซึ่งโพรไบโอติกแต่ละชนิดจะทนสภาวะกรด ได้ต่างกัน

2.3.1.2 แบคทีเรียสามารถทนต่อน้ำดีซึ่งหลังจากตับอ่อนเพื่อใช้ในการย่อยไขมันได้ดี

2.3.1.3 ไม่เป็นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรค

2.3.1.4 แบคทีเรียสามารถผลิตสารต้านจุลชีพได้ (Antimicrobial substances) ซึ่งมีฤทธิ์ ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ก่อโรคได้

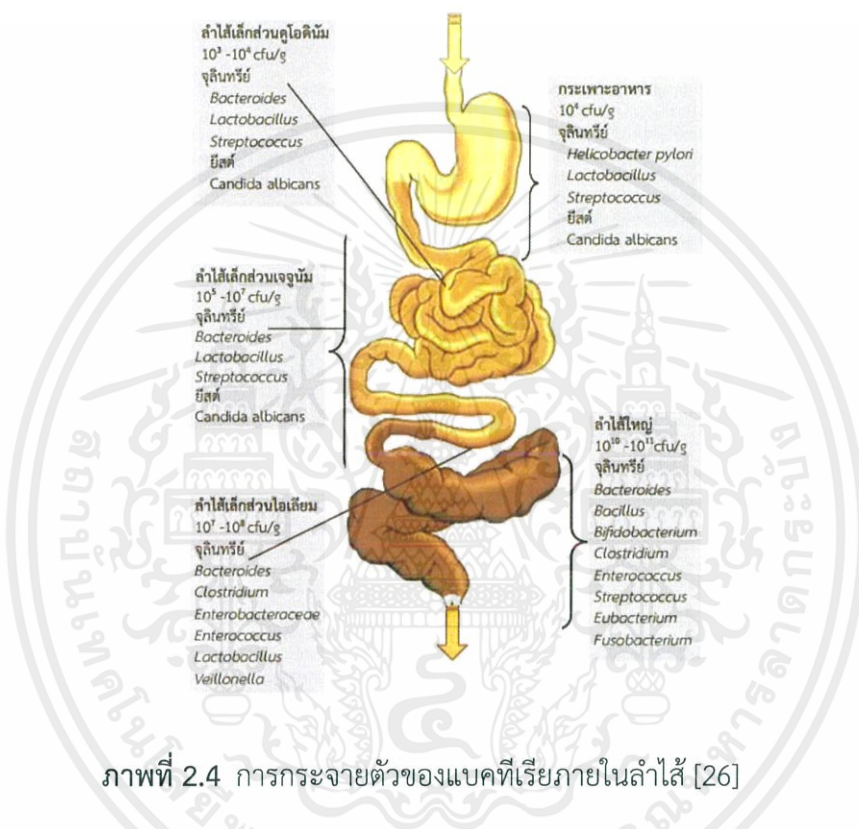
2.3.1.5 แบคทีเรียสามารถเกาะติดที่ตำแหน่งต่างๆของผนังลำไส้ได้ดี คงทน ทำให้กระบวนการ ยึดเกาะ และขัดขวางการได้รับอาหารของแบคทีเรียที่ไม่ดี ทำให้แบคทีเรียไม่เจริญเติบโต และจะถูก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขับออกจากร่างกายในที่สุด นอกจากนี้เมื่อแบคทีเรียที่ตีมาเกาะ ระบบภูมิคุ้มกันจะทำหน้าที่จดจำ และ ยอมให้อาศัยอยู่ได้ เป็นเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันให้ดีขึ้น

2.3.1.6 แบคทีเรียมีประมาณ 10^7 - 10^9 โคโลนีต่อมิลลิลิตร (cfu/mL) ของผลิตภัณฑ์ ซึ่งเป็น ปริมาณที่มากพอในการส่งเสริมสุขภาพ [24] ดังแสดงในภาพที่ 2.4

2.3.1.7 แบคทีเรียได้ผ่านการศึกษา และทดลองทางวิทยาศาสตร์ หรือได้รับการรับรองจาก องค์การอนามัยโลก (WHO) หรือองค์การอาหารและยา (FDA) แล้วว่าเป็นแบคทีเรียที่มีความ ปลอดภัย (Generally recognized as safe ; GRAS)



ภาพที่ 2.4 การกระจายตัวของแบคทีเรียภายในลำไส้ [26]

2.3.2 ประเภทของโพรไบโอติก

แบคทีเรียที่จัดเป็นโพรไบโอติก ได้แก่ ยีสต์ รา และแบคทีเรียบางชนิด โพรไบโอติกส่วนใหญ่เป็น แบคทีเรียกรดแลคติก (Lactic acid bacteria ; LAB) ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สามารถเปลี่ยนน้ำตาลให้ เป็นกรด และสร้างพลังงานได้โดยผ่านกระบวนการหมัก (Fermentation) โดยในรายงานฉบับนี้จะ กล่าวถึงกลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติกที่สำคัญ ดังนี้

2.3.2.1 แบคทีเรียสกุลแลคโตบาซิลลัส (*Lactobacillus* genus) [26]

แลคโตบาซิลลัสเป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างเป็นท่อนเดี่ยว หรือต่อกันเป็นสายสั้น ไม่สามารถ เคลื่อนที่ได้ เติบโตได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน (Facultative anaerobic) ตัวอย่างแบคทีเรียกลุ่มนี้ที่จัดเป็นโพรไบโอติก เช่น แลคโตบาซิลลัส อะซิโดฟิลัส (*Lactobacillus acidophilus*) แลคโตบาซิลลัส คาเซอี (*Lactobacillus casei*) และ แลคโตบาซิลลัส แกสเซอร์ (*Lactobacillus gasserii*) เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2.2 แบคทีเรียสกุลไบฟิโดแบคทีเรียม (*Bifidobacterium* genus)

ไบฟิโดแบคทีเรียมเป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างส่วนใหญ่ลักษณะคล้ายตัวอักษรวาย (Y-shape) และบางชนิดคล้ายตัวอักษรเอ็กซ์ (X-shape) ไม่สามารถเคลื่อนที่ได้ เติบโตได้โดยไม่ใช่ ออกซิเจน (Anaerobic bacterias) ไบฟิโดแบคทีเรียมจะเริ่มพบได้ในเด็กทารกที่ดื่มนมแม่ เพราะในน้ำนมแม่มีสารเอ็น-แอสีติลกลูโคซามีน (n-acetylglucosamine) ซึ่งส่งผลต่อการเติบโตของแบคทีเรีย หลังจากหย่านมแม่จะมีปริมาณลดลง แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถย่อยสลายน้ำตาลในลำไส้ใหญ่ให้ผลผลิตเป็นวิตามินบี และกรด เช่น อะซิเตต (Acetate) แลคเตท (Lactate) เป็นต้น ส่งผลให้สภาวะแวดล้อมเป็นกรด ไม่เหมาะสมแก่การเจริญของแบคทีเรียที่ก่อโรค นอกจากนี้ภายในลำไส้ใหญ่มีปริมาณแบคทีเรียกลุ่มไบฟิโดแบคทีเรียมมากกว่าแบคทีเรียกลุ่มแลคโตบาซิลัสด้วย ตัวอย่างกลุ่มไบฟิโดแบคทีเรียมที่จัดเป็นโพรไบโอติก เช่น ไบฟิโดแบคทีเรียม ไบฟิโดม (*B. bifidum*) ไบฟิโดแบคทีเรียม แอนิมาลิส (*B. Animalis*) ไบฟิโดแบคทีเรียม บรีฟ (*B. breve*) เป็นต้น

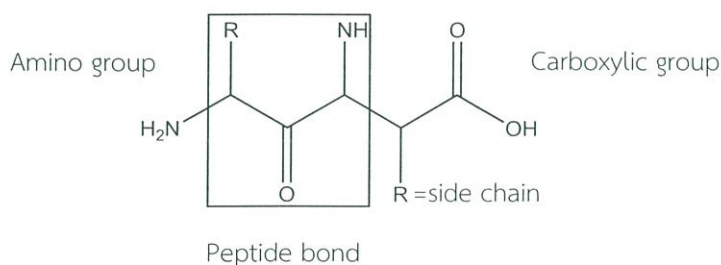
2.3.2.3 ไบฟิโดแบคทีเรียม ลองกัม (*Bifidobacterium longum*)

แบคทีเรียกลุ่มไบฟิโดแบคทีเรียม เป็นแบคทีเรียประจำถิ่นที่อาศัยในลำไส้ใหญ่ ซึ่งพบได้ในเด็กทารกตั้งแต่วัยแรกเกิดจนถึงวัยผู้ใหญ่ ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีความหลากหลายหลายสายพันธุ์ และปริมาณที่ปรากฏในแต่ละคน และช่วงอายุ จึงมีการศึกษาปริมาณของไบฟิโดแบคทีเรียม พบว่าในวัยทารกมีปริมาณไบฟิโดแบคทีเรียม สายพันธุ์อินฟานทิส (*B. infantis*) มากที่สุด รองลงมาเป็นไบฟิโดแบคทีเรียม และสายพันธุ์ลองกัม

เมื่อเข้าสู่วัยเด็ก และวัยผู้ใหญ่จะพบไบฟิโดแบคทีเรียม ลองกัมมากที่สุด และรองลงมาเป็นไบฟิโดแบคทีเรียม ไบฟิโดม [28] และจัดเป็นโพรไบโอติกชนิดหนึ่งที่นิยมใช้ในการทดสอบคุณสมบัติการเป็น โพรไบโอติกของสารอาหาร ซึ่งจากการศึกษาความเป็นโพรไบโอติก

2.4 เอนไซม์ (enzyme)

เอนไซม์ เป็นโปรตีนที่ประกอบด้วยกรดอะมิโน (Amino acids) เหมือนโปรตีนชนิดอื่น แต่มีหน้าที่ต่างกัน โดยเอนไซม์จะกระตุ้นการทำงานของกระบวนการเคมี ทำให้ปฏิกิริยาชีวเคมีเกิดได้เร็วขึ้น และมีประสิทธิภาพ เมื่อมีสารตั้งต้นที่มีความจำเพาะเจาะจงในการจับกับเอนไซม์เฉพาะจะเกิดปฏิกิริยาเคมี และให้ผลิตภัณฑ์ที่มีโครงสร้างโมเลกุลแตกต่างไปจากเดิม โดยที่เอนไซม์ไม่มีการเปลี่ยนแปลง หรือเสียหาย เอนไซม์แต่ละชนิดมีโครงสร้างต่างกัน เนื่องจากลำดับการเรียงตัวของกรดอะมิโน ดังแสดงในภาพที่ 2.5 ส่งผลให้มีความสามารถในการกระตุ้นปฏิกิริยาเคมีต่างกัน



ภาพที่ 2.5 กรดอะมิโนเชื่อมกันด้วยพันธะเพปไทด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงสร้างพื้นฐานของโปรตีนเกิดจากการเรียงตัวของกรดอะมิโน เชื่อมต่อกันด้วยพันธะเพปไทด์ (Peptide bond) เป็นสายพอลิเพปไทด์ กรดอะมิโนส่วนใหญ่ที่พบมี 20 ชนิด ดังแสดงในภาพที่ 2.5 ซึ่งมีโครงสร้างหลักที่ประกอบด้วยหมู่อะมิโน (Amino group) หมู่คาร์บอกซิลิก (Carboxylic group) อะตอมไฮโดรเจน และหมู่ฟังก์ชัน (Side chain) ติดอยู่กับอะตอมคาร์บอน คุณสมบัติและรูปแบบการจัดของกรดอะมิโนจะขึ้นอยู่กับคุณสมบัติทางเคมีของหมู่ฟังก์ชัน เช่น ความมีขั้ว ความไม่มีขั้ว ความเป็นกรด-เบส เป็นต้น โดยสามารถแบ่งกรดอะมิโนได้ดังนี้

(1) กลุ่มที่หมู่ฟังก์ชันไม่มีขั้ว และไม่มีประจุ (Neutral nonpolar amino acids)

กรดอะมิโนในกลุ่มนี้มีหมู่ฟังก์ชันเป็นไฮโดรคาร์บอน (Hydrocarbon) จึงไม่มีประจุ และไม่ชอบน้ำ ทำให้ละลายน้ำได้ยาก มักรวมตัวเข้ากับบริเวณที่ไม่ชอบน้ำของโปรตีน และเกิดอันตรกิริยาแบบไฮโดรโฟบิก (Hydrophobic interaction) กรดอะมิโนในกลุ่มนี้ได้แก่ ไกลซีน (Glycine ; Gly) อะลานีน (Alanine ; Ala) วาลีน (Valine ; Val) ลิวซีน (Leucine ; Leu) ไอโซลิวซีน (Isoleucine ; Ile) เมทไธโอนีน (Methionine ; Met) ฟีนิลอะลานีน (Phenylalanine ; Phe) ทริปโตเฟน (Tryptophan ; Trp) และ โพรลีน (Proline ; Pro)

(2) กลุ่มที่หมู่ฟังก์ชันมีขั้ว และไม่มีประจุ (Neutral polar amino acids)

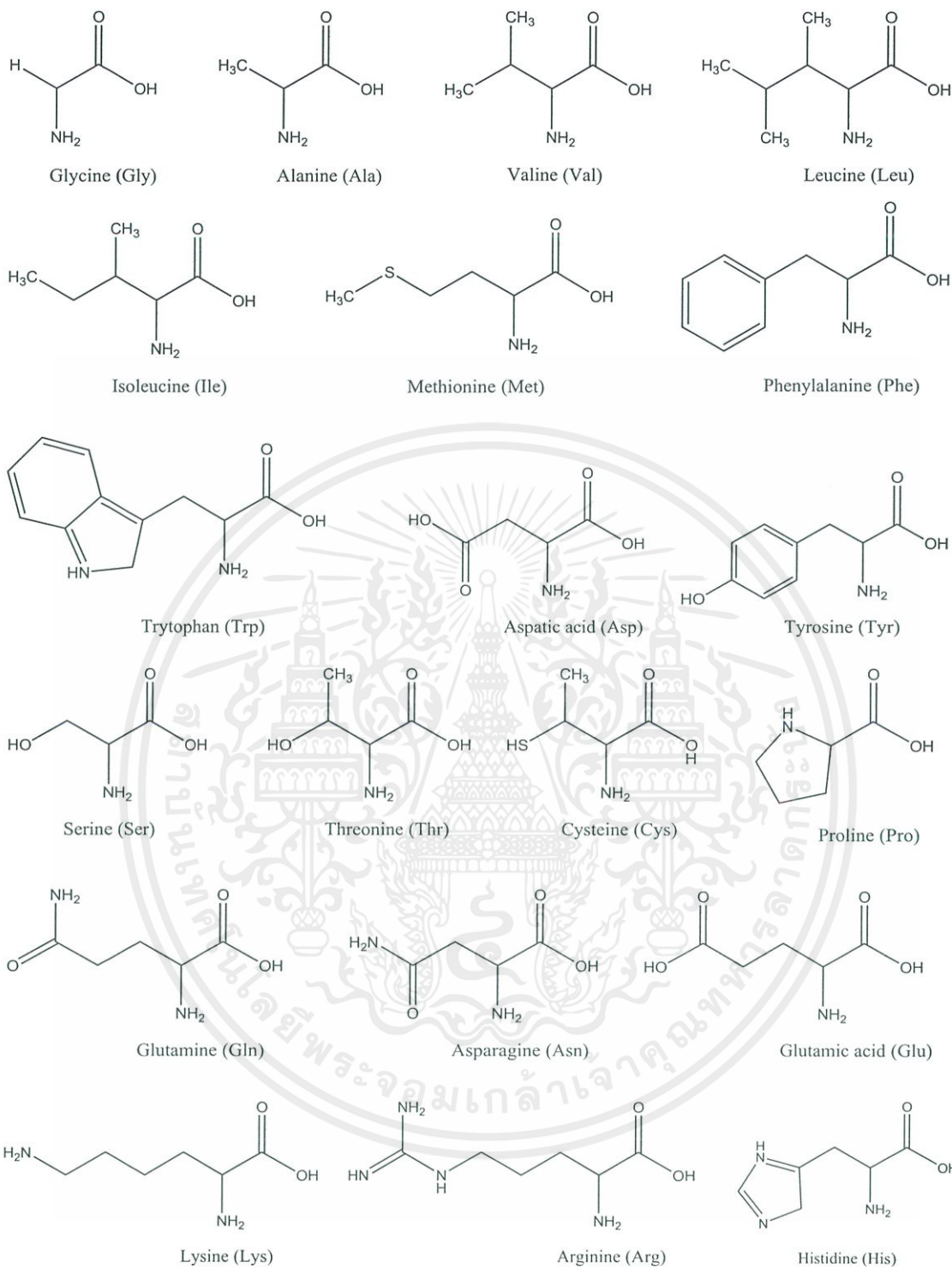
หมู่ฟังก์ชันของกรดอะมิโนในกลุ่มนี้ละลายน้ำได้ดี ซึ่งเกิดจากสร้างพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลน้ำ โดยหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl group) ของกรดอะมิโนซีรีน (Serine ; Ser) ทรีโอนีน (Threonine ; Thr) และไทโรซีน (Tyrosine ; Tyr) หมู่ซัลไฟด์ไรล (Sulfhydryl group) ของซิสเทอีน (Cysteine ; Cys) และหมู่เอไมด์ (Amide group) ของแอสพาราจีน (Asparagine ; Asn) และกลูตามีน (Glutamine ; Gln)

(3) กลุ่มที่หมู่ฟังก์ชันมีประจุลบ (Acidic amino acids)

หมู่ฟังก์ชันของกรดอะมิโนในกลุ่มนี้เป็นหมู่คาร์บอกซิลิกที่มีประจุลบ และมีคุณสมบัติเป็นกรด กรดอะมิโนในกลุ่มนี้ได้แก่ กรดแอสพาร์ติก (Aspartic Acid ; Asp) และ กรดกลูตามิก (Glutamic acid ; Glu)

(4) กลุ่มที่หมู่ฟังก์ชันมีประจุบวก (Basic amino acids)

หมู่ฟังก์ชันของกรดอะมิโนในกลุ่มนี้เป็นหมู่เอไมด์ที่สามารถรับโปรตอนได้ทำให้มีประจุบวก และมีคุณสมบัติเป็นเบส กรดอะมิโนในกลุ่มนี้ได้แก่ ไลซีน (Lysine ; Lys) อาร์จินีน (Arginine ; Arg) และ ฮิสทีดีน (Histidine ; His)



ภาพที่ 2.6 โครงสร้างกรดอะมิโน 20 ชนิด

2.4.1 โครงสร้างของเอนไซม์

เอนไซม์ประกอบด้วยสายพอลิเพปไทด์ซึ่งเกิดจากกรดอะมิโนจัดเรียงตัวอย่างมีระเบียบ และมีลำดับแน่นอนสำหรับเอนไซม์แต่ละชนิด พอลิเพปไทด์แต่ละเส้นจะมีการขดตัวในรูปแบบต่างๆ และรวมกันเกิดเป็นโครงสร้างที่ซับซ้อน ซึ่งจำแนกโครงสร้างของเอนไซม์ได้ 4 ระดับ ดังนี้

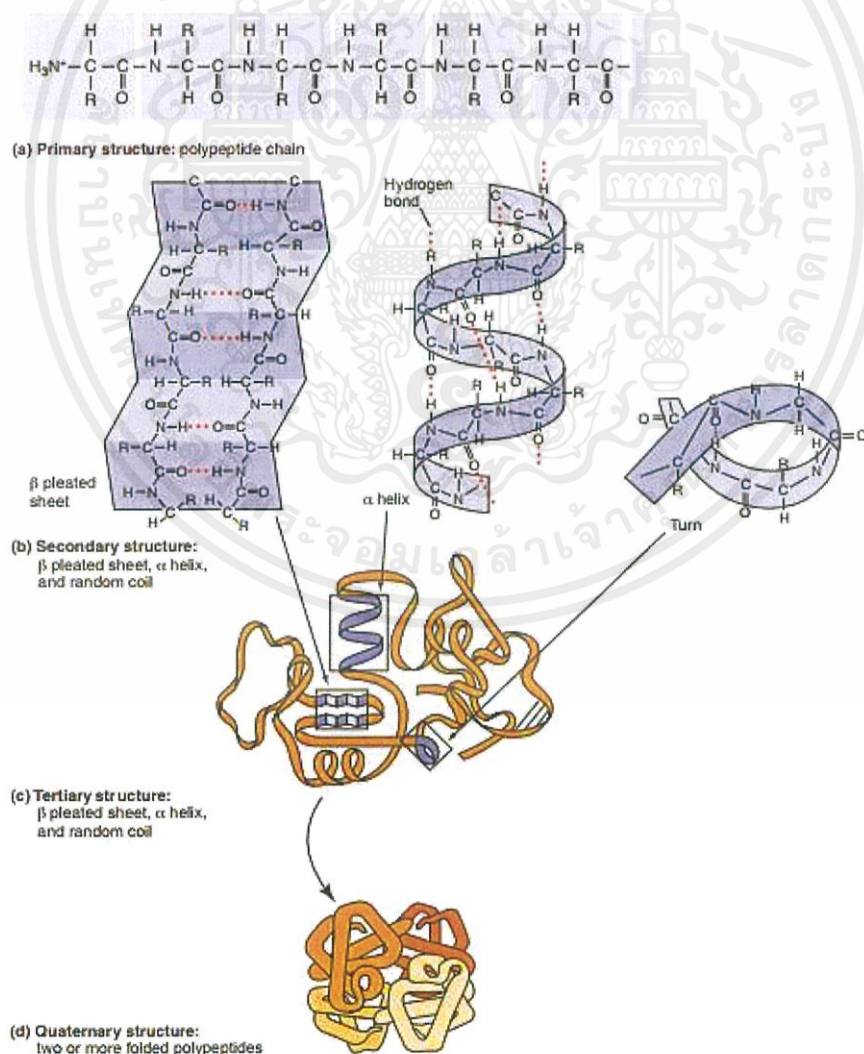
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.1.1 โครงสร้างปฐมภูมิ (Primary structure) เกิดจากการเรียงตัวของกรดอะมิโนอย่างเป็นลำดับเป็นสายพอลิเปปไทด์ ที่มีโครงสร้างแบบเส้นตรง

2.4.1.2 โครงสร้างทุติยภูมิ (Secondary structure) สายพอลิเปปไทด์มีการสร้างพันธะในสายพอลิเปปไทด์เดียวกัน หรือระหว่างสาย เช่น พันธะไฮโดรเจน แรงแวนเดอร์วาล (van der waal) และแรงไฮโดรโฟบิก เป็นต้น ทำให้เกิดการม้วนตัวในลักษณะเป็นเกลียว (helix) หรือพับเป็นแผ่น (plated sheet)

2.4.1.3 โครงสร้างตติยภูมิ (Tertiary structure) โครงสร้างระดับนี้เกิดจากสายพอลิเปปไทด์ที่เป็นเกลียว หรือเป็นแผ่นจับมีการม้วนตัว และขดไปมามากขึ้นเพื่อให้โครงสร้างมีความเสถียร ซึ่งส่วนใหญ่เกิดจากแรงไฮโดรโฟบิก และพันธะอื่นๆ เช่น พันธะไดซัลไฟด์ (disulfide bond) พันธะไอออนิก (Ionic interaction) และ แรงแวนเดอร์วาล ทำให้เกิดการขดตัวเป็นโครงสร้าง 3 มิติ

2.4.1.4 โครงสร้างจตุรภูมิ (Quaternary structure) เป็นโครงสร้างที่เกิดจากการจับกันของสายพอลิเปปไทด์มากกว่า 1 สาย ด้วยแรงยึดเหนี่ยวอย่างอ่อน เช่น แรงแวนเดอร์วาล และ แรงไฮโดรโฟบิก เป็นต้น ทำให้โครงสร้างโปรตีนเสถียรขึ้น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับภาพที่ 2.7 โครงสร้างของเอนไซม์ [29] นุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 กลไกการทำงานของเอนไซม์

เอนไซม์มีบริเวณเร่ง (Active site) ที่สามารถจะจับกับซับสเตรตเกิดเป็นปฏิกิริยาเคมี แล้วได้ผลิตภัณฑ์ โดยที่เอนไซม์อยู่ในสภาพเดิม เอนไซม์สามารถเลือกเกิดปฏิกิริยากับสารได้เนื่องจากความจำเพาะของบริเวณเร่ง ความจำเพาะในการทำงานของเอนไซม์สามารถอธิบายได้ 2 ทฤษฎี

2.4.2.1 ทฤษฎีแม่กุญแจและลูกกุญแจ (Lock and Key Theory)

ในปี 1884 อิมิล ฟิชเชอร์ (Emil Fischer) ได้อธิบายว่าโครงสร้างของเอนไซม์ (Enzyme ; E) เปรียบเสมือนแม่กุญแจ และซับสเตรต (Substrate ; S) ที่เปรียบเสมือนลูกกุญแจ ซึ่งก่อนเข้าจับกัน โครงสร้างทั้งสองจะไม่มี การเปลี่ยนแปลงบริเวณเร่ง ไม่มีความยืดหยุ่นจึงมีความจำเพาะต่อซับสเตรต ดังนั้นลูกกุญแจที่มีขนาดรูปร่าง และร่องฟันที่ถูกต้องกับแม่กุญแจจะสวมเข้าพอดีกับแม่กุญแจ เหมือนกับซับสเตรตสวมเข้าพอดีกับบริเวณเร่งของเอนไซม์ ปฏิกิริยาเคมีก็จะเกิดขึ้น แต่ถ้าลูกกุญแจไม่ถูกต้องกับซับสเตรต ก็จะไม่เกิดปฏิกิริยาเคมี โดยทฤษฎีนี้อธิบายการผันกลับได้ เนื่องจากผลิตภัณฑ์จะไม่สามารถรวมกับเอนไซม์ได้ ดังสมการที่ (2.1) ซึ่งแสดงปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์ และภาพที่ 2.8 แสดงกลไกง่าย ๆ ที่เกิดขึ้น

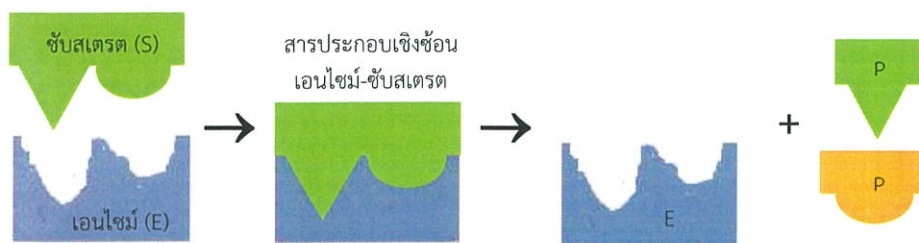


ภาพที่ 2.8 แบบจำลองการเกิดอันตรกิริยาของเอนไซม์กับซับสเตรต ของทฤษฎีแม่กุญแจและลูกกุญแจ

2.4.2.2 ทฤษฎีเหนี่ยวนำให้เหมาะสม (Induced-fit theory)

ในปี 1973 คอชแลนด์ (D. F. Koshland) อธิบายว่า เมื่อซับสเตรตมาจับตรงบริเวณเร่งของเอนไซม์ จะเหนี่ยวนำให้เอนไซม์เปลี่ยนรูปร่าง ทำให้เกิดการรวมตัวกันอย่างเหมาะสมขึ้น เกิดปฏิกิริยาง่ายขึ้น แต่ถ้าซับสเตรตไม่สามารถเหนี่ยวนำให้เอนไซม์เปลี่ยนรูปร่างให้เหมาะสมได้ ก็จะไม่เกิดปฏิกิริยาเคมี ทำให้ไม่เกิดผลิตภัณฑ์ ดังนั้นทฤษฎีนี้จึงอธิบายการผันกลับได้ ดังสมการที่ (2.2) และภาพที่ 2.9





ภาพที่ 2.9 แบบจำลองการเกิดอันตรกิริยาของเอนไซม์กับซับสเตรต ของทฤษฎีเหนียวนำให้เหมาะสม

2.5 เคมีคำนวณ หรือ เคมีคอมพิวเตอร์ (Computational chemistry)

เคมีคอมพิวเตอร์ หรือ เคมีคำนวณ เป็นการนำเอาคอมพิวเตอร์สมรรถนะสูงมาใช้ในการศึกษาคุณสมบัติต่าง ๆ ของระบบ มุ่งไปยังผลลัพธ์ของปัญหาเคมี ซึ่งเป็นการรวมทฤษฎีทางเคมีเชิงฟิสิกส์ และคอมพิวเตอร์เข้าด้วยกัน เกิดการพัฒนาเป็นทฤษฎีการจำลองแบบใหม่ซึ่งมีความเป็นไปได้ในการศึกษาปัญหาต่างๆ ซึ่งการคำนวณโครงสร้างและสมบัติต่าง ๆ ของอะตอมหรือโมเลกุล จะมีความสัมพันธ์กับโครงสร้าง 3 มิติของโมเลกุลที่ศึกษา การศึกษานี้จึงเรียกอีกอย่างหนึ่งว่า แบบจำลองเชิงโมเลกุล (Molecular Modelling) ผลลัพธ์จากการคำนวณ จะถูกนำไปใช้อธิบายผลการทดลองในห้องปฏิบัติการ หรือใช้ในการทำนายผลการทดลองที่ไม่สามารถทำได้หรือทำได้ยากในห้องปฏิบัติการ สิ่งสำคัญอย่างหนึ่งของเคมีคอมพิวเตอร์ คือการเลือกวิธีที่เหมาะสมกับระบบที่ทำการศึกษา เพื่อการประมาณค่าผลลัพธ์ให้ออกมาได้อย่างมีประสิทธิภาพหรือใกล้เคียงกับระบบจริงมากที่สุด

2.5.1 การหาโครงสร้างโมเลกุลที่มีความเสถียร (Structural optimization)

เป็นการหาโครงสร้างของโมเลกุลที่มีพลังงานต่ำที่สุด (โครงสร้างที่มีความเสถียรที่สุด) โดยการคำนวณพลังงานของแต่ละโครงสร้าง โดยจะใช้วิธีทางกลศาสตร์ควอนตัม (Quantum mechanics, QM) ซึ่งเป็นวิธีการคำนวณที่มีความถูกต้องสูง แต่จะใช้ทรัพยากรและเวลาในการคำนวณเป็นอย่างมาก ดังนั้น การคำนวณโดยใช้วิธีทางกลศาสตร์ควอนตัม จึงเหมาะกับระบบ หรือโครงสร้างของโมเลกุลที่ ประกอบด้วยจำนวนอะตอมไม่มากจนเกินไป

2.5.2 การจำลองแบบทางพลวัตเชิงโมเลกุล (Molecular Dynamics ; MD)

ในระบบจริงประกอบด้วยอะตอมหรือโมเลกุลจำนวนมาก ดังนั้นการคำนวณด้วยกลศาสตร์ควอนตัม (Quantum mechanics ; QM) จึงไม่เหมาะสมที่จะใช้ศึกษาสมบัติของระบบที่มีขนาดใหญ่ การจำลองแบบทางพลวัตเชิงโมเลกุล (MD simulation) เป็นวิธีจำลองระบบจริงที่มีขนาดใหญ่ เพื่อศึกษาสมบัติจุลภาค (Microscopic property) ซึ่งเป็นสมบัติของระบบเมื่อพิจารณาในระดับโมเลกุล เช่น ขนาดของโมเลกุล ความเร็วของอนุภาค การจัดเรียงตัว และแรงดึงดูดระหว่างอนุภาค เป็นต้น จากนั้นนำไปหาสมบัติมหัพภาค (Macroscopic property) ของระบบ ซึ่งเป็นสมบัติของระบบเมื่อพิจารณาระบบนั้นในระดับที่ใหญ่ขึ้น คือ การมองระบบเป็นชิ้นหรือก้อน ตัวอย่างของสมบัติมหัพภาค เช่น มวล ความดัน สี ปริมาตร ความหนาแน่น เป็นต้น ซึ่งมักจะวัดได้โดยตรง นอกจากนี้การจำลองแบบทางพลวัตเชิงโมเลกุลยังสามารถใช้ทำนายสมบัติของระบบที่มีอุณหภูมิหรือความดันสูง ซึ่งไม่สามารถทำได้หรือทำได้ยากในห้องปฏิบัติการ ซึ่งอาจต้องใช้ต้นทุนสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับบริการเชิงงานเพื่อการศึกษาเท่านั้น มิอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การจำลองแบบทางพลวัตเชิงโมเลกุล เป็นการศึกษาาระบบที่มีการเคลื่อนที่หรือเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา โดยการแก้สมการการเคลื่อนที่ของนิวตัน (Newton's equation of motion)

$$F_i(t) = m_i a_i = m_i \frac{\partial v_i}{\partial t} = m_i \frac{\partial^2 r_i(t)}{\partial t^2} \quad (2.3)$$

เมื่อ	$F_i(t)$	คือ	แรงที่กระทำกับอะตอม i ที่เวลา t
	m_i	คือ	มวลของอะตอม i
	v_i	คือ	ความเร็วของอะตอม i
	a_i	คือ	ความเร่งของอะตอม i
	$r_i(t)$	คือ	ตำแหน่งของอะตอม i ที่เวลา t

แรงที่กระทำกับอะตอม i ที่เวลา t ใดๆ สามารถหาได้จากสมการ

$$F_i(t) = -\nabla V = -\frac{\partial}{\partial r_i} V. \quad (2.4)$$

เมื่อ V คือ พลังงานศักย์ (Potential energy)
เมื่อรวมสมการ (2.3) และ (2.4) ดังนั้น แรงที่กระทำกับอะตอม i จะคำนวณได้จากสมการ

$$-\frac{\partial}{\partial r_i} V = m_i \frac{\partial^2 r_i(t)}{\partial t^2} \quad (2.5)$$

จากสมการที่ (2.5) เมื่อทราบแรงที่กระทำกับอะตอม i ในรูปของพลังงานศักย์ และกำหนดตำแหน่งเริ่มต้นของอะตอม i แล้วทำการอินทิเกรตสมการการเคลื่อนที่ของนิวตัน จะทำให้ได้ตำแหน่งอะตอม i ที่เวลา t ใดๆ จากนั้นก็สามารถหาค่าความเร็วของอะตอม i ที่เวลา t ใดๆ ได้ นั่นคือ ถ้าทราบแรง ตำแหน่งเริ่มต้น และความเร็ว ก็จะสามารถหาตำแหน่งและความเร็วที่เวลา t ใดๆ ได้ ในการแก้สมการการเคลื่อนที่ของนิวตันนี้ จะอาศัยวิธีทาง numerical analysis ซึ่งก็เป็นวิธีการอินทิเกรตนั่นเอง โดยการเลือกใช้ขั้นตอนในการแก้ปัญหา (Algorithm) แบบไหนนั้น ขึ้นอยู่กับผู้ทำการศึกษา โดยแต่ละ algorithm แตกต่างกันในจำนวนเทอมที่ใช้ในการคำนวณ และการเริ่มการคำนวณที่ตรงไหนก่อนเท่านั้น

พลังงานศักย์ที่ใช้เป็นตัวบอกถึงความละเอียด และความน่าเชื่อถือของแบบจำลองที่ใช้แทนระบบที่ทำการศึกษา ถ้าพลังงานศักย์ที่ใช้แทนระบบมาจากวิธีทางเคมีควอนตัม (Quantum chemistry ; QC) การจำลองแบบทางพลวัตเชิงโมเลกุลนี้เรียกว่า Quantum chemistry-Molecular Dynamics; QC-MD) แต่วิธีการคำนวณแบบ QC-MD นี้มีข้อจำกัดเรื่องขนาดของระบบที่ทำการศึกษา และเวลาที่ใช้ในการคำนวณ ในขณะที่การจำลองแบบทางพลวัตเชิงโมเลกุลแบบดั้งเดิม (Classical MD) ซึ่งหาพลังงานศักย์จาก Empirical force field ; EFF ในกลศาสตร์แบบดั้งเดิม (Classical mechanics) โดยการมองว่าพันธะที่เชื่อมต่อกับอะตอมเข้าด้วยกันเป็นโมเลกุลนั้น เป็นเหมือนสปริงที่เชื่อมลูกบอลเข้าไว้ด้วยกัน ซึ่งพลังงานศักย์ทั้งหมดของระบบจะมาจากผลรวมทั้งหมดของ interaction ระหว่างลูกบอลที่เชื่อมกันผ่านสปริง (bonded) และระหว่างสปริงด้วยกัน (non-
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

bonded) โดยทั่วไปการจำลองแบบทางพลวัตเชิงโมเลกุลแบบดั้งเดิมนี้ จะถูกใช้กันอย่างกว้างขวาง เนื่องจากสามารถใช้กับระบบที่ใหญ่ และใช้เวลาในการคำนวณน้อยกว่าวิธีแรกมาก ในการศึกษานี้ได้เลือกใช้วิธีการจำลองแบบทางพลวัตเชิงโมเลกุลแบบดั้งเดิมเช่นกัน

2.5.2.1 ฟังก์ชันที่ใช้แทนพลังงานศักย์

รูปแบบของฟังก์ชันและค่าคงที่ต่างๆที่ใช้แทนพลังงานศักย์แตกต่างกันออกไปขึ้นอยู่กับทางเลือกใช้ของผู้ทำการศึกษาโดยฟังก์ชันที่ใช้แทนพลังงานศักย์นี้ ถูกเรียกว่า Force field ; FF

Force field เป็นฟังก์ชันที่ใช้อธิบายระบบ โดยยังใช้แบบจำลองหรือการประมาณค่าที่ใกล้เคียงกับระบบจริงมากเท่าไร จะใช้เวลาในการคำนวณมากขึ้นเท่านั้น อย่างไรก็ตามวิธีการจำลองแบบทางพลวัตเชิงโมเลกุล (MD) นี้ ก็ยังถือว่าใช้เวลาเร็วกว่าการคำนวณแบบกลศาสตร์ควอนตัม (QM) มาก

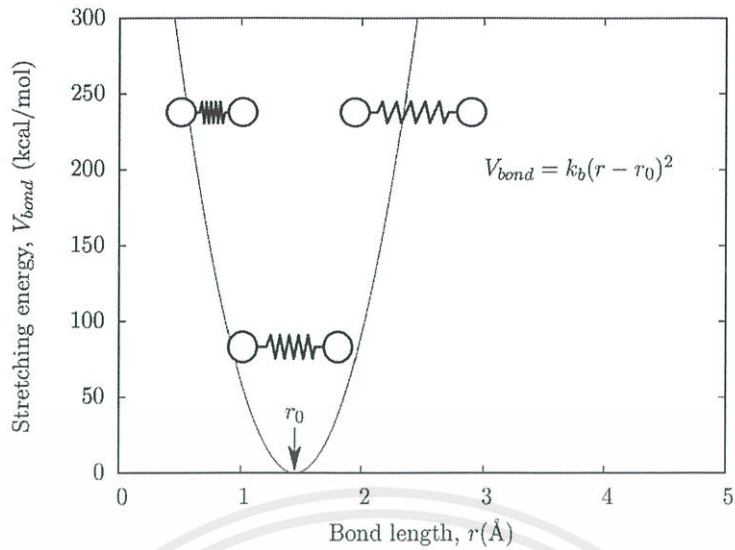
Molecular Mechanics (MM) force field เป็นการจำลองแบบของระบบที่สนใจโดยใช้กลศาสตร์แบบดั้งเดิม โดยการมองว่าระบบประกอบด้วยอะตอมหลายๆ อะตอม ประกอบกันเป็นโมเลกุลต่างๆ โดยมองแต่ละอะตอมเป็นเหมือนลูกบอล ที่เชื่อมต่อเข้าด้วยกันเป็นโมเลกุลด้วยพันธะที่เป็นเหมือนสปริงเชื่อมลูกบอลเข้าไว้ด้วยกัน (Ball and spring model) พลังงานศักย์ทั้งหมดของระบบจะมาจากผลรวมทั้งหมดของ interaction ระหว่างลูกบอลที่เชื่อมกันผ่านสปริง (Bonded หรือ covalent) และระหว่างสปริงด้วยกัน (non-bonded หรือ non-covalent) ดังแสดงในสมการที่ (2.6)

$$V = \text{covalent terms} + \text{non-covalent terms} \quad (2.6)$$

เทอมโควาเลนซ์ เป็นการรวมพลังงานของพันธะ (Bond stretching energy) พลังงานการโค้งงอของมุมพันธะ (Bending energy) และพลังงานของมุมไดฮีดรัล (Dihedral energy) โดยพลังงานการยึดหดระหว่าง 2 อะตอมที่ถูกเชื่อมกันด้วยสปริง พลังงานการโค้งงอของมุมพันธะ และพลังงานของมุมไดฮีดรัล สามารถคำนวณได้จากสมการที่ (2.7) (2.8) และ (2.9) ตามลำดับ ภาพที่ 2.9 และ 2.10 เป็นกราฟแสดงพลังงานของการยึดหดของพันธะ และ พลังงานของการโค้งงอของมุมพันธะตามลำดับ

$$V_{\text{bond}} = \sum_{\text{bonds}} k_b (r - r_0)^2 \quad (2.7)$$

เมื่อ	V_{bond}	คือ	พลังงานการยึดหดของพันธะ
	k_b	คือ	ค่าคงตัวการยึดหดของสปริง (หน่วย $\text{kcal}/\{\text{mol}(\text{\AA})^2\}$)
	r_0	คือ	ระยะทางระหว่าง 2 อะตอมที่อยู่ในสมดุล (หน่วย \AA)



ภาพที่ 2.10 พลังงานศักย์ยืดหยุ่นของพันธะ

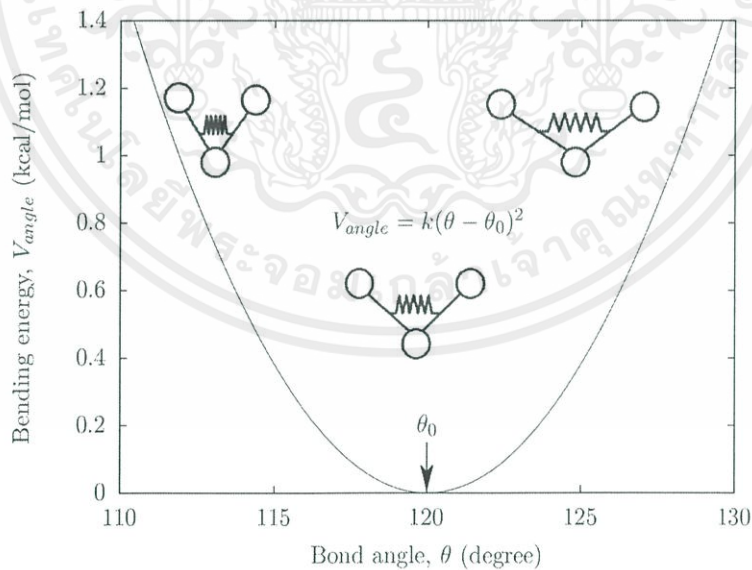
$$V_{\text{angle}} = \sum_{\text{bend angles}} k_{\theta} (\theta - \theta_0)^2 \tag{2.8}$$

เมื่อ

V_{angle} คือ พลังงานการโค้งงอ

k_{θ} คือ ค่าคงตัวการโค้งงอของสปริง (หน่วย kcal/{mol(degrees)²})

θ_0 คือ มุมระหว่าง 3 อะตอมที่อยู่ในสมดุล (หน่วย degree)



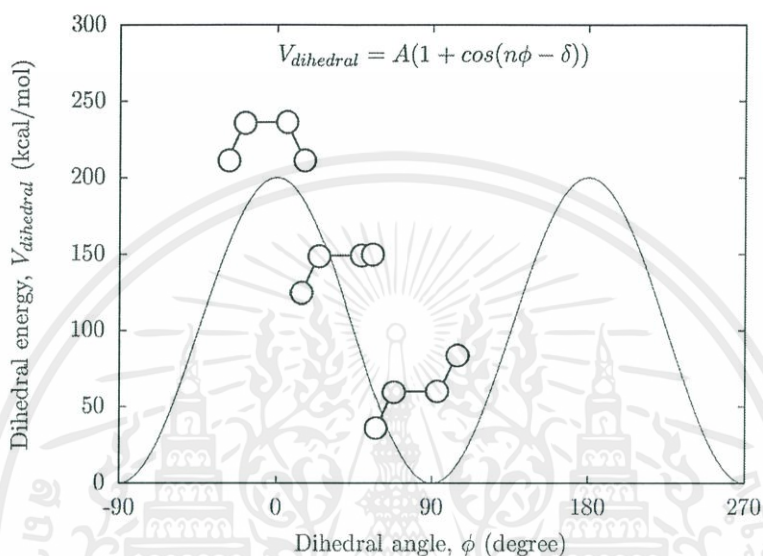
ภาพที่ 2.11 พลังงานศักย์โค้งงอ

$$V_{\text{dihedral}} = \sum_{\text{dihedrals}} A (1 + \cos[n\phi - \delta]) \tag{2.9}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อ A คือ แอมพลิจูด (หน่วย kcal/mol)
n คือ คาบของเส้นโค้ง

เมื่อ δ เป็นเส้นโค้งที่เปลี่ยนตามแกนการหมุนของมุม ϕ โดยแอมพลิจูดสามารถคำนวณจากการปรับเส้นโค้ง (curve fitting method) เมื่อมีการเปลี่ยนระนาบการหมุนของอะตอมทั้ง 4 พลังงานศักย์ของระนาบก็จะเปลี่ยนแปลง ดังภาพที่ 2.11



ภาพที่ 2.12 พลังงานศักย์ของระนาบ

ส่วนเทอมที่ไม่ใช่โควาเลนต์ เป็นการอธิบายอันตรกิริยาที่ไม่ได้เชื่อมพันธะกันของคู่อะตอม i และ j ที่เป็นไปได้ทั้งหมด โดยใช้พลังงานศักย์แบบเลนาร์ต-โจนส์ (Lennard-Jones potential) และพลังงานศักย์คูลอมบ์ (Coulombic potential) หรือพลังงานศักย์ไฟฟ้า (Electrostatic potential) ซึ่งเป็นพลังงานจากประจุไฟฟ้า แสดงในสมการที่ (2.10)

$$V_{\text{nonbonds}} = \sum_{\text{nonbond } ij} \left[\left(\frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} \right) - \left(\frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} \right) \right] + \left(\frac{q_i q_j}{r_{ij}} \right) \quad (2.10)$$

เทอมของเลนาร์ต-โจนส์
เทอมของคูลอมบ์

เมื่อ V_{nonbonds} คือ พลังงานศักย์ระหว่าง 2 อะตอมที่ไม่มีพันธะระหว่างกัน

พลังงานศักย์ของเลนาร์ต-โจนส์ (V_{LJ}) ประกอบด้วย 2 ส่วน ส่วนแรกเป็นแรงผลักรังของเพาลี (Pauli repulsion) อยู่ในรูป $1/r_{ij}^{12}$ ซึ่งเมื่อ 2 อะตอมเข้าใกล้กันจะเกิดการผลักรังเนื่องจากการซ้อนทับกันของออร์บิทัลของอิเล็กตรอน (electron orbitals) และส่วนที่สองอยู่ในรูป $1/r_{ij}^6$ ซึ่งแสดงถึงแรงดึงดูดระหว่าง 2 อะตอมที่มีขั้ว ส่วนเทอมสุดท้ายในสมการที่ (2.10) นั้น เป็นเทอมของคูลอมบ์ ซึ่งเกี่ยวกับอันตรกิริยาของประจุไฟฟ้า เมื่อ q_i และ q_j คือประจุของอะตอม i และ j ซึ่งมีระยะห่าง

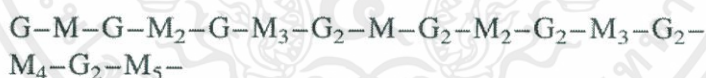
กัน r_{ij} เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นพลังงานศักย์รวมทั้งหมด (V) เขียนได้ดังแสดงในสมการที่ (2.11)

$$\begin{aligned}
 V &= V_{\text{bonds}} + V_{\text{angles}} + V_{\text{dihedrals}} + V_{\text{nonbonds}} \\
 V &= \sum_{\text{bonds}} k_b (r - r_0)^2 + \sum_{\text{angles}} k_\theta (\theta - \theta_0)^2 + \sum_{\text{dihedrals}} A (1 + \cos[n\phi - \delta]) \\
 &+ \sum_{\text{nonbond } ij} \left\{ \left[\frac{A_{ij}}{r_{ij}^{12}} \right] - \left[\frac{B_{ij}}{r_{ij}^6} \right] + \left(\frac{q_i q_j}{r_{ij}} \right) \right\} \quad (2.11)
 \end{aligned}$$

2.6 ทบทวนวรรณกรรม

ในปี 2003 Katsuraya และคณะ [32] ได้ทำการศึกษาโครงสร้างของกลูโคแมนแนน โดยทำการสกัดกลูโคแมนแนนออกจากแป้งบุกแล้วนำมาทดสอบด้วยวิธีสเปกโตรสโคปีด้วยคาร์บอน (^{13}C Nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy) เมื่อนำผลสเปกตรัมที่ได้มาเทียบกับสารอ้างอิง พบว่าโครงสร้างพื้นฐานของกลูโคแมนแนนในบุกประกอบด้วยน้ำตาลแมนโนส (D-mannose) และน้ำตาลกลูโคส (D-glucose) ในอัตราส่วน 1.6 : 1 ตามลำดับ โดยในสายโซ่หลัก (Main chain) น้ำตาลจะเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเบต้า-1,4 ไกลโคซิดิก และมีกิ่งสาขาที่เชื่อมกันด้วยพันธะเบต้า-1,6 ไกลโคซิดิก โดยมีค่า degree of branching ; DB ประมาณ 8% จากผลการทดลองดังกล่าว คณะผู้ทำการทดลองได้เสนอโครงสร้างของกลูโคแมนแนนไว้ ซึ่งประกอบด้วยกลูโคสทั้งหมด 13 หน่วยซึ่งจัดเป็นบล็อก 8 บล็อก และแมนโนสทั้งหมด 21 หน่วยซึ่งจัดเป็นบล็อก 8 บล็อก โดยมีอัตราส่วนแมนโนสต่อกลูโคส 1.6 : 1 และมีพันธะของ G-G, M-M, M-G หรือ G-M เป็นจำนวน 5 13 และ 8 พันธะตามลำดับ ดังภาพที่ 2.12



ภาพที่ 2.13 โครงสร้างของกลูโคแมนแนนในบุก

ในปี 2005 Hsiao-Ling Chen และคณะ [33] ได้ศึกษาขนาดของกลูโคแมนแนนที่มีผลต่อประสิทธิภาพในการเป็นพรีไบโอติก โดยให้หนูทดลองรับประทานกลูโคแมนแนนที่ผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิสด้วยกรด (อันดับพอลิเมอร์ไรเซชันเฉลี่ย 12) และไม่ผ่านการไฮโดรไลซิสร้อยละ 5 ของน้ำหนักอาหารเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และวิเคราะห์ผลจากอุจจาระของหนูทดลอง พบว่ากลูโคแมนแนนที่ถูกลดขนาดโมเลกุลด้วยวิธีการไฮโดรไลซิสจะส่งเสริมการเจริญของไบโอฟิล์มแบคทีเรียได้ร้อยละ 2.5 และลดปริมาณของโครอสติเดียม เพอเฟริงเจน (C.perfringens) ได้ดีกว่ากลูโคแมนแนนที่มีขนาดโมเลกุลใหญ่

ในปี 2010 Yeh Shu-Lan และคณะ [34] ได้ทำการศึกษาความสามารถของกลูโคแมนแนนในการป้องกันการทำลายดีเอ็นเอในร่างกายโดยเซลล์มะเร็งลำไส้ และเปรียบเทียบประสิทธิภาพระหว่างเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลูโคแมนแนนธรรมชาติ (KGM) และกลูโคแมนแนนที่ผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิสบางส่วน (Partial hydrolysis) ด้วยกรด ซึ่งให้ผลิตภัณฑ์เป็นกลูโคแมนแนนที่มีอันดับพอลิเมอร์ไรเซชัน เท่ากับ 8 หรือ F1 และ 4 หรือ F2 ตามลำดับ โดยทีมของผู้ทำการทดลองได้นำกลูโคแมนแนนไปผสมในอาหารของหนูทดลอง จากนั้นนำอุจจาระมาวิเคราะห์ผล และตรวจสอบความเสียหายของดีเอ็นเอด้วยวิธี Comet assay พบว่าในอุจจาระของหนูที่กิน KGM F1 และ F2 มีจำนวนเซลล์ที่ยังมีชีวิตมากกว่าหนูที่กินอาหารทดลองทั่วไป และเซลล์มีชีวิตของหนูที่กิน F2 (DP=4) มีปริมาณมากกว่า หนูที่กิน F1 (DP=8) นอกจากนี้หนูที่กิน F1 และ F2 (โดยเฉพาะ F2) มีจำนวนไบฟิโดแบคทีเรียเพิ่มขึ้นกว่าแลคโตบาซิลัส ดังนั้นจึงได้ข้อสรุปว่าการไฮโดรไลซิสกลูโคแมนแนนจะเพิ่มศักยภาพการเป็นพรีไบโอติกได้ และเพิ่มการเจริญเติบโตของไบฟิโดแบคทีเรียได้ดีกว่าแลคโตบาซิลัส และกลูโคแมนแนนที่มีอันดับพอลิเมอร์ไรเซชัน ต่ำกว่าจะมีประสิทธิภาพการทำงานที่ดีกว่า



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 เครื่องมือ

3.1.1 คอมพิวเตอร์ Intel (R) Core (TM) i3-3240 CPU @ 3.40 GHz 1 เครื่อง

3.1.2 ซอร์ฟแวร์ (software)

GaussView 5.0

Gaussian09

Discovery studio 4.5

PROPKA

Gromacs

3.2 ขั้นตอนการดำเนินงาน

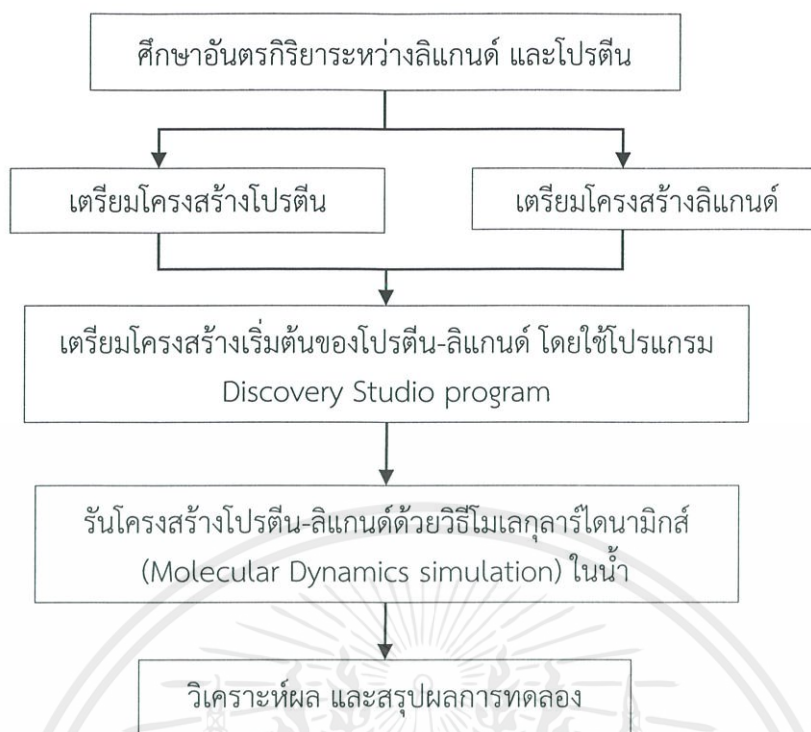
ขั้นตอนในการศึกษาทั้งหมดอย่างคร่าวๆ เป็นไปตามแผนภาพที่แสดงในภาพที่ 3.1 โดยก่อนที่จะทำการศึกษาศึกษาอันตรกิริยาระหว่างคอนยัคกลูโคแมนแนนหรือลิแกนด์ (Ligand) และเอนไซม์ของแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ ต้องทำการเตรียมโครงสร้างของลิแกนด์และเอนไซม์ก่อน จากนั้นจึงเตรียมโครงสร้างของโปรตีน-ลิแกนด์ เพื่อใช้เป็นโครงสร้างเริ่มต้นในการศึกษาอันตรกิริยาระหว่างลิแกนด์แต่ละชนิดและเอนไซม์โดยใช้การจำลองแบบทางพลวัตเชิงโมเลกุล (Molecular Dynamics, MD) จากนั้นจึงทำการวิเคราะห์และเปรียบเทียบผลที่ได้

3.2.1 การเตรียมระบบ

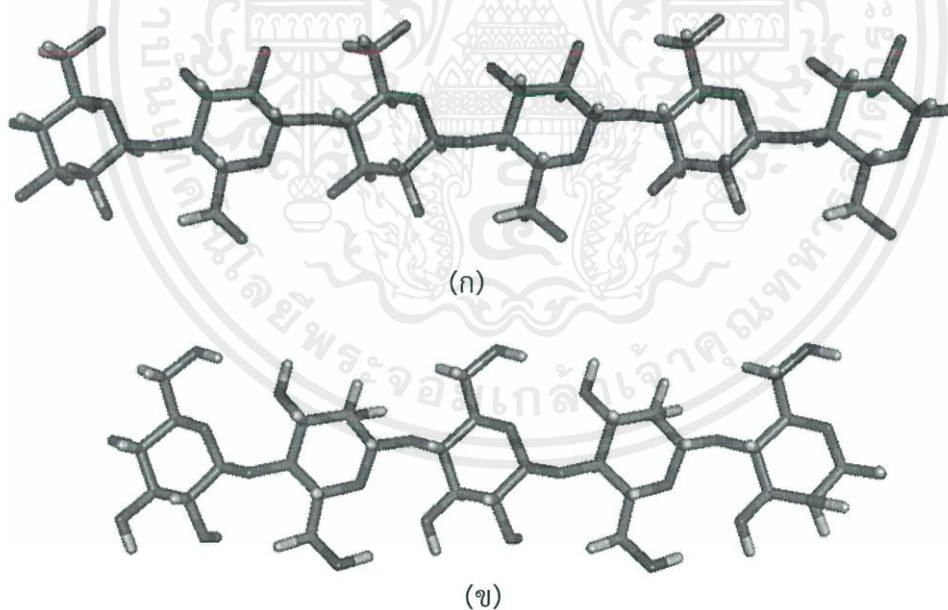
3.2.1.1 การเตรียมโครงสร้างลิแกนด์

โครงสร้างเริ่มต้นของคอนยัคกลูโคแมนแนน ได้มาจากฐานข้อมูลพอลิแซคคาไรด์ (Polysac3DB ; <http://polysac3db.cermav.cnrs.fr/search.php>) โดยในการศึกษานี้ได้เลือกโครงสร้าง UNK1 [33] ดังแสดงในภาพที่ 3.2 (ก) มาเป็นต้นแบบของโครงสร้างเริ่มต้นของคอนยัคกลูโคแมนแนนทั้ง 3 ชนิด คือ GM5 GM8 และ GM13 โดยตัวเลขแสดงจำนวนของโมโนเมอร์ คือคอนยัคกลูโคแมนแนนที่ประกอบไปด้วยโมโนเมอร์ จำนวน 5 8 และ 13 ยูนิต ตามลำดับ จากนั้นทำการปรับเปลี่ยนโครงสร้างให้มีลำดับของโมโนเมอร์ตาม Katsuraya และคณะ [30] โดยโครงสร้างของกลูโคส และแมนโนสจะแตกต่างกันที่หมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 2 แสดงในภาพที่ 3.3 แล้วทำการเติมอะตอมไฮโดรเจน โดยใช้โปรแกรม Discovery studio 4.5 จากนั้นทำการหาโครงสร้างโมเลกุลที่มีความเสถียร (Structural optimization) ในสภาวะก๊าซ ด้วยวิธี Semi-empirical ; PM6 โดยใช้โปรแกรม GAUSSIAN09 ภาพที่ 3.2 (ข) แสดงโครงสร้างเริ่มต้นของ GM5 ก่อนทำการ optimization โครงสร้างทางเคมีและของลำดับของโมโนเมอร์ (monomer) ของ GM5 GM8 และ GM13 แสดงในตารางที่ 3.1 และ ภาพที่ 3.4 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

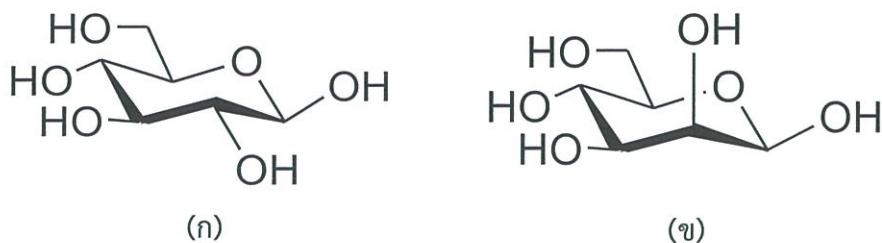


ภาพที่ 3.1 แผนภาพแสดงขั้นตอนทั้งหมดในการศึกษาอันตรกิริยาระหว่างลิแกนด์และเอนไซม์



ภาพที่ 3.2 (ก) โครงสร้างแบบผลึก (Crystal Structure) ของคอนยัคกลูโคแมนแนน ; UNK1 [33] และ (ข) โครงสร้างเริ่มต้นของคอนยัคกลูโคแมนแนน GM5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.3 โครงสร้างของ (ก) กลูโคส และ (ข) แมนโนส

ตารางที่ 3.1 ตารางแสดงลำดับของโมโนเมอร์ของคอนยัคกลูโคแมนแนนทั้ง 3 ชนิดที่ใช้

โครงสร้าง	จำนวนโมโนเมอร์	ลำดับของโมโนเมอร์
GM5	5	G-M-G-M-M หรือ GM-GM2
GM8	8	G-M-G-M-M-G-M-M หรือ GM-GM2-GM2
GM13	13	G-M-G-M-M-G-M-M-M-G-G-M-M หรือ GM-GM2-GM3-GM2-G2M2

3.2.2 การเตรียมโครงสร้างโปรตีน

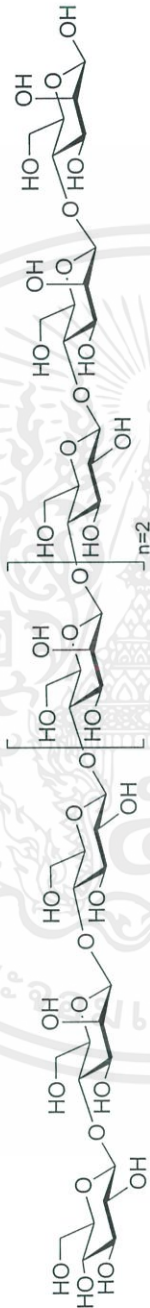
คอนยัคกลูโคแมนแนนจะถูกย่อยโดยแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ เช่น แลคโตบาซิลัส และไบฟิโดแบคทีเรีย ดังนั้นผู้ทำการศึกษาจึงทำการค้นหาเอนไซม์ของแบคทีเรียทั้ง 2 สกุลนี้ จากฐานข้อมูลโปรตีน (RCSB protein data bank ; <http://www.rcsb.org/pdb/home/home.do>) ตารางที่ 3.1 ข้างต้น แสดงรายชื่อเอนไซม์ของแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ ที่มีกลูโคส หรือแมนโนสเป็นองค์ประกอบในลิแกนด์ ผู้ทำการศึกษาได้เลือกโครงสร้าง 2Z8F [34] เป็นตัวแทนของเอนไซม์ที่จะนำมาศึกษาในงานวิจัยนี้ ซึ่งเป็นเอนไซม์ของไบฟิโดแบคทีเรีย ลองกัม (*B. longum*) เนื่องจากเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นที่มีปริมาณมากที่สุดในลำไส้ใหญ่เมื่อเข้าสู่วัยผู้ใหญ่ และจัดเป็นโพรไบโอติกชนิดหนึ่งที่น่าิยมใช้ในการทดสอบคุณสมบัติการเป็นโพรไบโอติกของสารอาหาร จากนั้นทำการลบโมเลกุลของลิแกนด์และน้ำออก ดังภาพที่ 3.5 อย่างไรก็ตามระยะพิกัด (coordinate) ของลิแกนด์ จะถูกใช้เป็นตำแหน่งอ้างอิงของโมเลกุลของกลูโคแมนแนนในการเตรียมโครงสร้างเชิงซ้อนระหว่างลิแกนด์กับเอนไซม์ ขั้นตอนที่สำคัญอีกขั้นตอนหนึ่งในการเตรียมโครงสร้างของเอนไซม์ คือ ต้องทำการตรวจสอบความถูกต้องของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบของเอนไซม์ ถ้ามีอะตอมที่ขาดหายไป จะต้องทำการแก้ไข และเติมให้สมบูรณ์ โดยใช้โปรแกรม Discovery Studio 4.5 ขั้นตอนสุดท้ายคือต้องทำการตรวจสอบรูปแบบการแตกตัว (protonation/deprotonation form) ของกรดอะมิโนที่เป็นองค์ประกอบ โดยเทียบกับค่า pKa ของกรดอะมิโนแต่ละตัวที่พีเอชเท่ากับ 7.4 ด้วยโปรแกรม PROPKA ในการศึกษานี้หมู่ Glutamic acid (Glu) ถูกกำหนดให้อยู่ในรูป GLU และหมู่ Arginine (Arg) ถูกกำหนดให้อยู่ในรูป ARG โดยรูปแบบการแตกตัวของกรดอะมิโนทั้ง 2 ชนิดนี้ แสดงในภาพที่ 3.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ก)



(ข)



(ค)



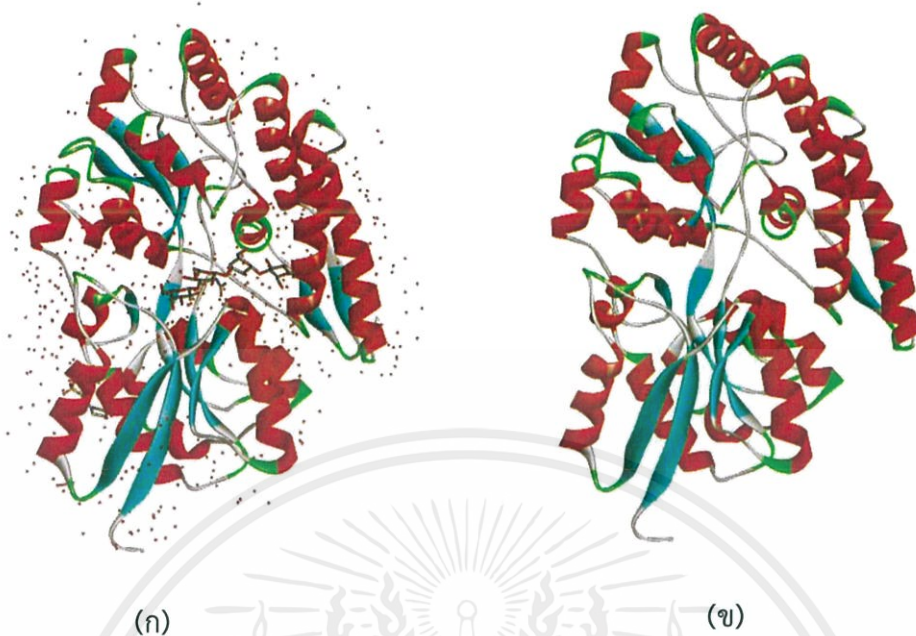
ภาพที่ 3.4 โครงสร้างของ (ก) GM5 (ข) GM8 และ (ค) GM13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

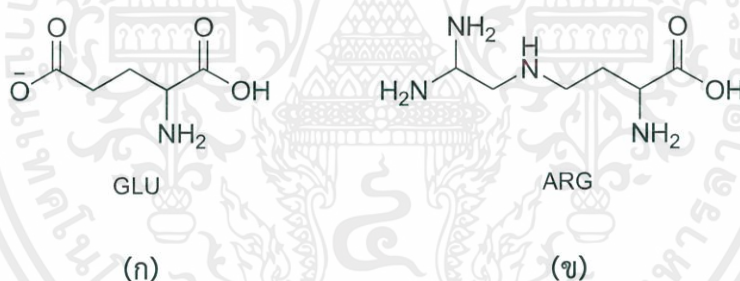
ตารางที่ 3.2 ตารางชนิดแบคทีเรียที่มีกลูโคส หรือแมนโนสเป็นองค์ประกอบในลิแกนด์

Organism	Structure	Classification	Resolution (Å)	Ligands	Literature Year
B.adolescentis	2GDV	Structural genomics unknown function	2.00	β -D-glucose	O. Mirza et al. (2006) [35]
B.bifidum	2EAD	Hydrolase	1.89	β -D-glucose, Calcium ion, α -L-fucose, β -D -galactose, 2-(n-morpholino)- ethanesulfonic acid	M. Nagae et al. (2007) [36]
B.longum	2Z8F	Sugar binding protein	1.65	β -D-glucose, β -D-galactose 2-(n-morpholino)- ethanesulfonic acid Sodium ion N-acetyl-d-glucosamine Zinc ion	R. Suzuki et al. (2008) [34]
L.plantarum	3QOM	Hydrolase	1.50	Acetate ion β -D-glucose Phosphate ion	K. Michalska et al. (2011) [37]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.5 โครงสร้าง 3 มิติของ 2Z8F (ก) โครงสร้างเริ่มต้น และ (ข) โครงสร้างที่ผ่านการแก้ไขแล้ว



ภาพที่ 3.6 รูปแบบการแตกตัวของ (ก) Glutamic acid (Glu) และ (ข) Arginine (Arg)

3.2.3 การเตรียมโครงสร้างสารประกอบเชิงซ้อนของโปรตีน-ลิแกนด์

หลังจากดาวน์โหลดโครงสร้าง 3 มิติของเอนไซม์จากฐานข้อมูล RCSB และทำการ optimization โครงสร้างของลิแกนด์แล้ว ผู้ศึกษาได้ทำการเตรียมโครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโปรตีนและลิแกนด์เพื่อใช้เป็นโครงสร้างเริ่มต้นในการศึกษาอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลของกลูโคแมนแนนกับเอนไซม์ในสารละลาย โดยนำโครงสร้างของกลูโคแมนแนนที่เตรียมไว้แล้ว ใส่เข้าไปที่ตำแหน่ง active site ของเอนไซม์ ซึ่งสามารถทำได้โดยนำโครงสร้างของกลูโคแมนแนนมาทำการซ้อนทับ (Superimposition) กับลิแกนด์ที่มีอยู่แล้วของเอนไซม์ โดยใช้โปรแกรม Discovery studio 4.5

3.3 การศึกษาอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลของคอนยัคกลูโคแมนแนกกับเอนไซม์ในสารละลาย

การศึกษาอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุลของกลูโคแมนแนกกับเอนไซม์ในสารละลาย ด้วยระเบียบวิธี Molecular dynamics simulations (MD simulations) โดยใช้โปรแกรม Gromacs โดยขั้นตอนแบบคร่าวๆ ทั้งหมด แสดงดังภาพที่ 3.7

3.3.1 Force Field Parameters

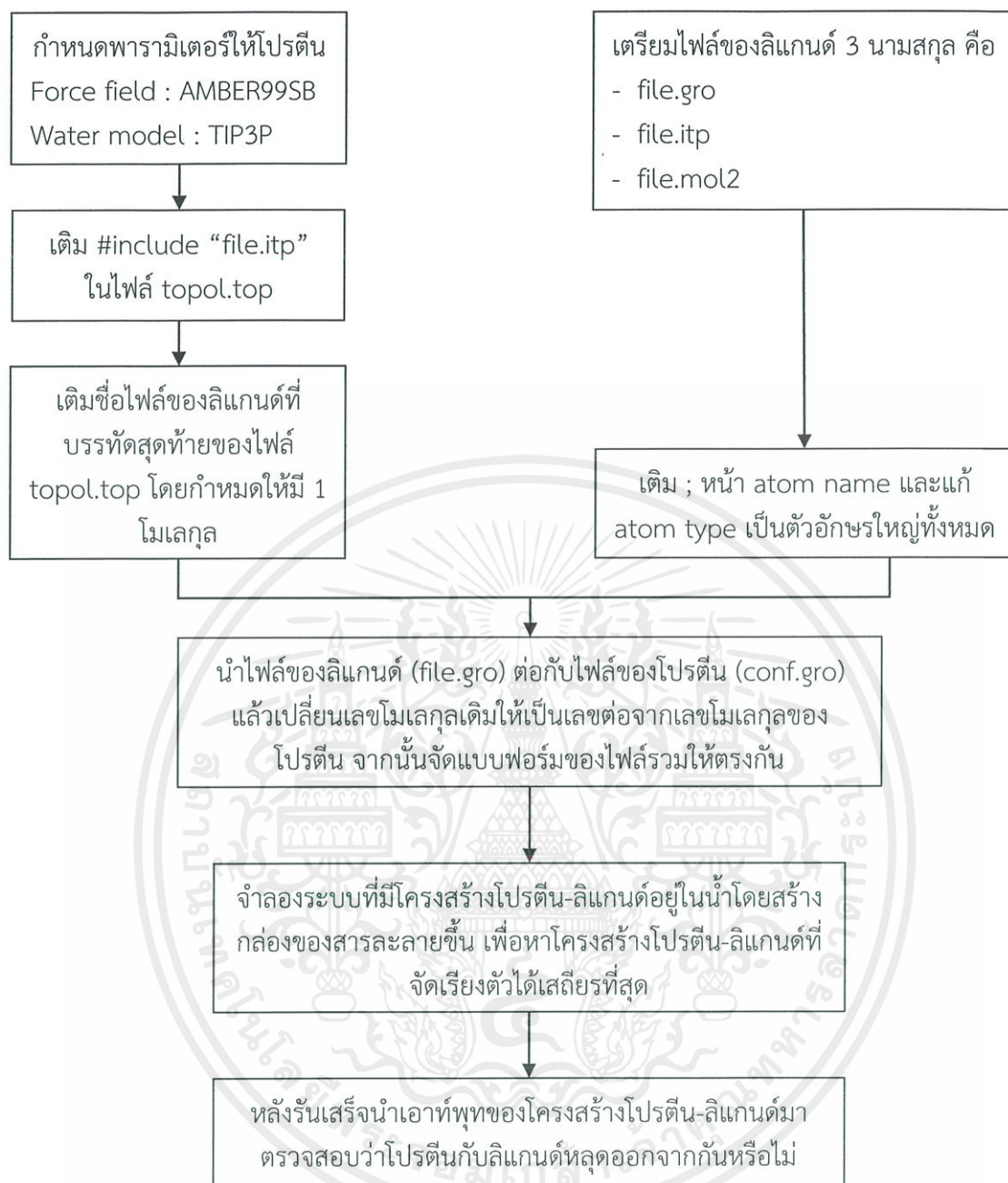
ค่าประจุไฟฟ้า (Partial atomic charge) ของอะตอมต่างๆ ของโมเลกุลคอนยัคกลูโคแมนแนกหาจาก charge-fitting procedure ในการศึกษาที่ใช้วิธี Restrained electrostatic potential (RESP) โดยคำนวณค่าประจุไฟฟ้าจากการรัน single point calculation (HF/6-31G* level of theory) ด้วยโปรแกรม GAUSSIAN09 ส่วนการเตรียมไฟล์ topology ของทั้งโปรตีนและลิแกนด์ใช้ ACPYPE script ในโปรแกรม Gromacs และ AMBER99SB forcefield และ GAFF forcefield ตามลำดับ

3.3.2 Solvation

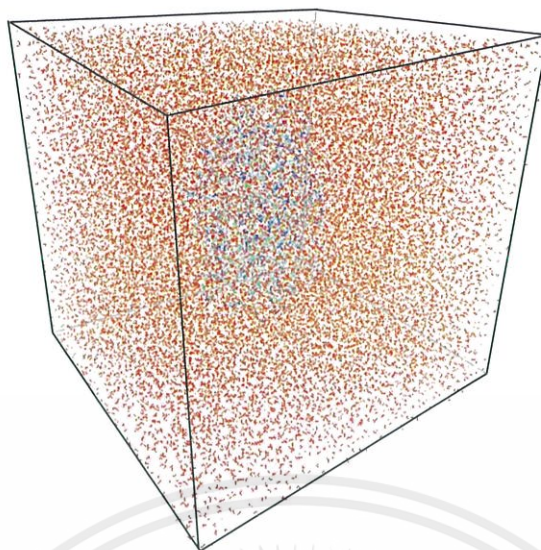
นำระบบที่ต้องการศึกษาใส่ลงในกล่องของสารละลาย ขนาด 1.2 Å จากอะตอมนอกสุด (boundary atoms) ของโครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโปรตีนและลิแกนด์ โดยใช้ TIP3P เป็นแบบจำลองของน้ำ ดังภาพที่ 3.8 จากนั้นทำให้สารละลายมีค่าพีเอชเป็นกลางโดยใช้ NaCl เข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์ ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นเดียวกันกับสภาวะในร่างกาย โดยจำนวนโมเลกุลของน้ำและไอออนที่ใช้ในการคำนวณทั้งหมดในแต่ละระบบแสดงในตารางที่ 3.3

ตารางที่ 3.3 ตารางแสดงจำนวนโมเลกุลของน้ำและไอออนที่ใช้ในการคำนวณ

ลิแกนด์	จำนวนโมเลกุลของน้ำ (H ₂ O)	จำนวนไอออนของโซเดียม (Na ⁺)	จำนวนไอออนของคลอไรด์ (Cl ⁻)
GM5	4,837	96	75
GM8	4,821	96	75
GM13	6,558	126	104



ภาพที่ 3.7 แผนภาพแสดงขั้นตอนการคำนวณด้วยวิธี Molecular dynamics simulations โดยใช้โปรแกรม Gromacs



ภาพที่ 3.8 การเอาโครงสร้างของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโปรตีนและลิแกนด์ใส่ลงในกล่องของสารละลาย

3.3.3 MD simulations

สำหรับการทำ MD simulations มีขั้นตอนหลักๆ 3 ขั้นตอน ดังนี้

(1) ทำการคำนวณ energy minimization โดยใช้ระเบียบวิธี conjugate gradient และ steepest descent functions

(2) ทำการคำนวณเพื่อให้ระบบเข้าสู่สภาวะสมดุล (equilibration) ที่อุณหภูมิ 310 เคลวิน (อุณหภูมิในร่างกาย) และความดัน 1 บรรยากาศ โดยใช้เวลาในการคำนวณ 200 พิโควินาที

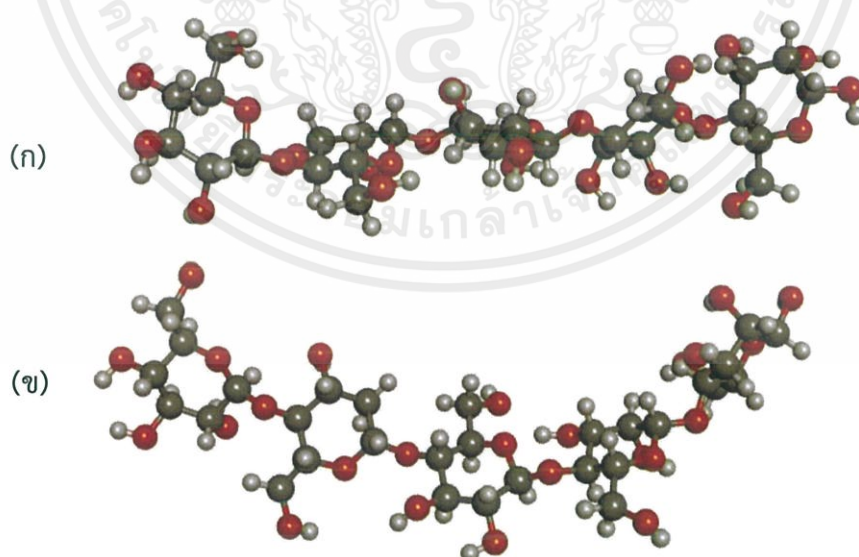
(3) เมื่อระบบเข้าสู่สภาวะสมดุลแล้ว ทำการคำนวณต่อในขั้น production run เป็นเวลา 10 นาโนวินาที จากนั้นเก็บข้อมูล และทำการวิเคราะห์ผล

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

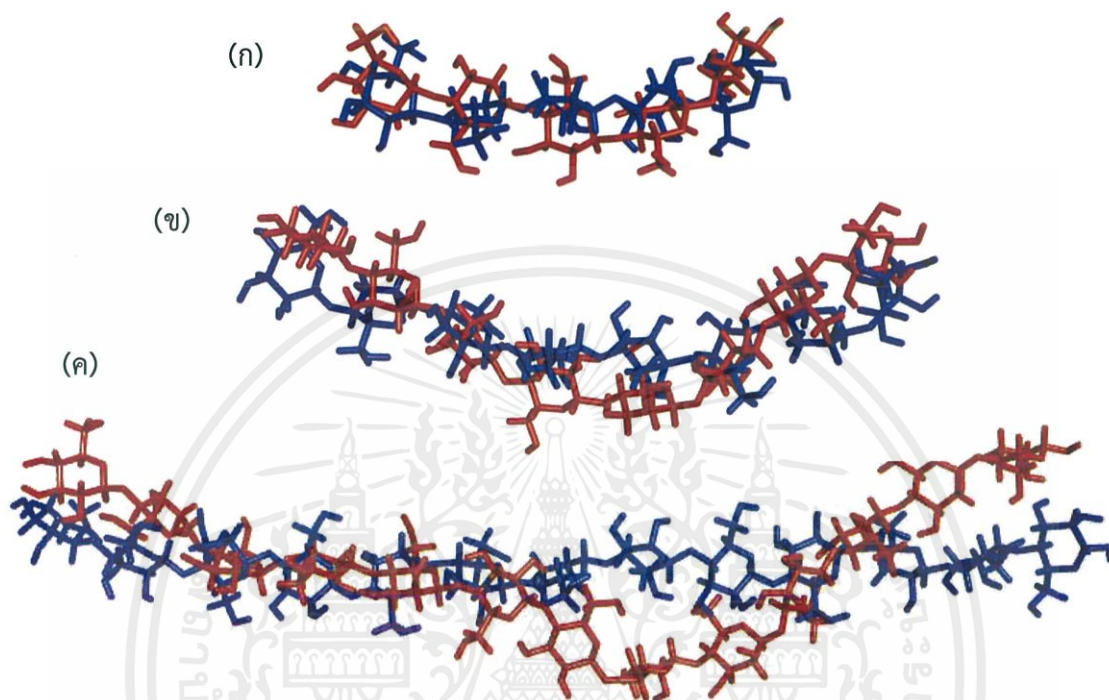
4.1 การเปรียบเทียบโครงสร้างคอนยัคกลูโคแมนแนนในสถานะก๊าซและสถานะสารละลาย

ผู้ศึกษาได้ทำการเปรียบเทียบโครงสร้างของคอนยัคกลูโคแมนแนนในสถานะก๊าซและในสารละลาย เพื่อดูผลของสารละลายที่มีต่อโครงสร้างของคอนยัคกลูโคแมนแนน โดยนำโครงสร้างของคอนยัคกลูโคแมนแนนที่เสถียรในสถานะก๊าซ และโครงสร้างที่ได้หลังจากการคำนวณ MD simulations มาซ้อนทับกัน (Superimpose) ที่ตำแหน่ง C1, C4, O_{ring}, และ O_{glycosidic bond} ด้วยโปรแกรม Discovery Studio 4.5 จากภาพที่ 4.1 และ 4.2 แสดงให้เห็นว่าโครงสร้างของกลูโคแมนแนนที่ได้ในสถานะก๊าซมีการจัดเรียงตัวค่อนข้างเป็นระเบียบมากกว่ากลูโคแมนแนนที่อยู่ในสารละลาย ซึ่งมีลักษณะงอตัว และบิดเบี้ยว และเมื่อวัดค่าเบี่ยงเบนเฉลี่ยกำลังสอง (Root mean square deviation ; RMSD) ของ GM5 GM8 และ GM13 เท่ากับ 2.96 3.93 และ 5.01 อังสตรอมตามลำดับ ซึ่งมีค่าค่อนข้างมาก เนื่องจากอันตรกิริยาระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลของโมเลกุลกลูโคแมนแนนกับน้ำ ทำให้โครงสร้างเกิดความแปรปรวนมาก เมื่อพิจารณาโครงสร้างของกลูโคแมนแนน จะเห็นว่าพันธะที่เชื่อมต่อระหว่างอะตอมเป็นพันธะเดี่ยว (Single bond) ทั้งหมด ดังนั้นโครงสร้างจึงมีความ flexible สูง เมื่อเกิดพันธะไฮโดรเจนกับน้ำ โครงสร้างจึงมีการขยับตลอดเวลา เนื่องจากน้ำมีขนาดเล็กเคลื่อนที่เร็ว เมื่อน้ำที่เกิดพันธะไฮโดรเจน หรือที่อยู่ใกล้ๆกับโมเลกุลกลูโคแมนแนนเคลื่อนที่ จะทำให้โครงสร้างของกลูโคแมนแนนเคลื่อนที่ตามไปด้วย



ภาพที่ 4.1 โครงสร้างที่เสถียร (ก) ในสถานะก๊าซ และ (ข) จากแบบจำลองทางพลวัตเชิงโมเลกุลเมื่ออยู่ในน้ำของคอนยัคกลูโคแมนแนน GM5

จากการเปรียบเทียบโครงสร้างจะเห็นว่าสภาวะแวดล้อมที่ใช้ มีผลต่อการประพฤติตัวของกลูโคแมนแนน ซึ่งเป็นการยืนยันว่าการเลือกใช้แบบจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลโดยให้กลูโคแมนแนนอยู่ในสารละลาย มีความจำเป็นอย่างยิ่ง เพื่อให้คล้ายกับระบบที่เกิดขึ้นจริงภายในร่างกาย และสามารถใช้นำมาทำนายสิ่งที่เกิดขึ้นในระบบจริงได้ต่อไป



ภาพที่ 4.2 โครงสร้างคอนยัคกลูโคแมนแนนที่อยู่ในสภาวะก๊าซ (แท่งสีน้ำเงิน) และในสภาวะสารละลาย (แท่งสีแดง) ของ (ก) GM5 (ข) GM8 และ (ค) GM13

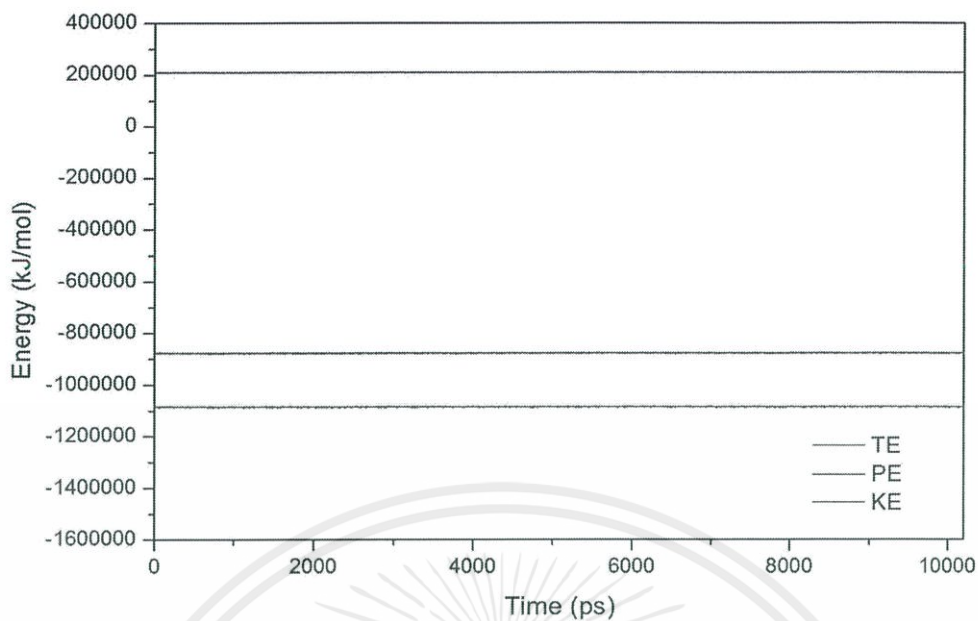
4.2 การจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล

4.2.1 พลังงานของระบบจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล

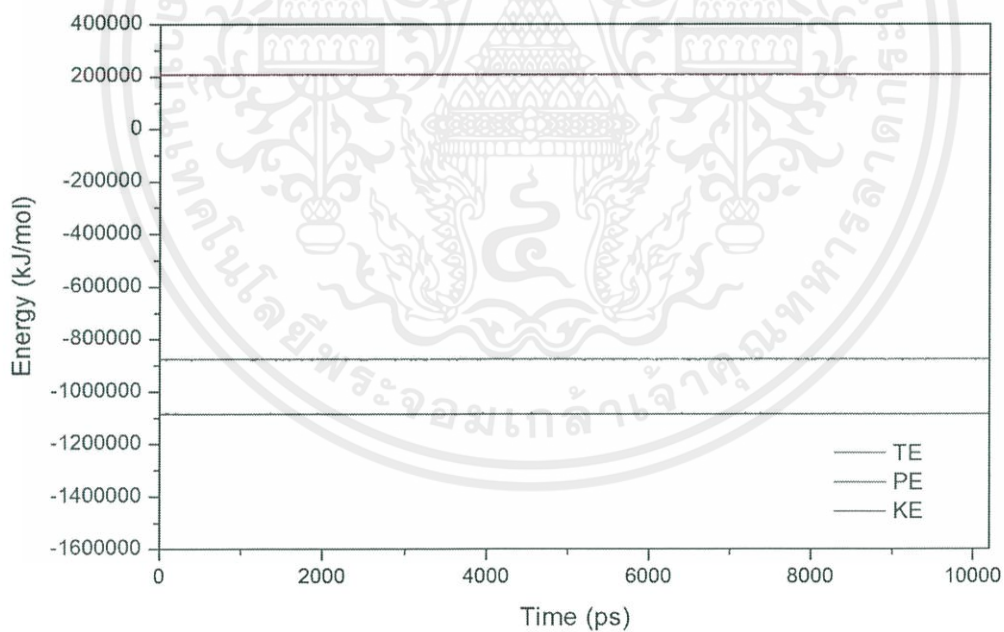
โดยทั่วไปในการคำนวณโดยใช้แบบจำลองพลวัตเชิงโมเลกุลนั้น จำเป็นต้องทำให้ระบบอยู่ในสภาวะสมดุล ก่อนนำผลหลังจากนั้นมาทำการวิเคราะห์ ดังนั้นผู้ศึกษาได้วัดค่าพลังงานของระบบ เพื่อพิจารณาสมดุลของระบบ ตัวแปรสำคัญที่นำมาใช้ในการพิจารณาสมดุลของระบบที่เปลี่ยนแปลงไปตามเวลา ได้แก่ ค่าพลังงานรวม (total energy) พลังงานจลน์ (kinetic energy) และพลังงานศักย์ (potential energy)

กราฟในภาพที่ 4.3-4.5 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าพลังงานรวม พลังงานจลน์ และพลังงานศักย์ของคอนยัคกลูโคแมนแนนกับเวลาที่ใช้ในการคำนวณ ซึ่งจากกราฟแสดงให้เห็นว่าพลังงานของระบบเข้าสู่สมดุลแล้ว เนื่องจากกราฟที่ได้เป็นเส้นตรงโดยค่าเฉลี่ยของพลังงานรวม พลังงานจลน์ และพลังงานศักย์ของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างกลูโคแมนแนนกับเอนไซม์ แสดงในตารางที่ 4.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

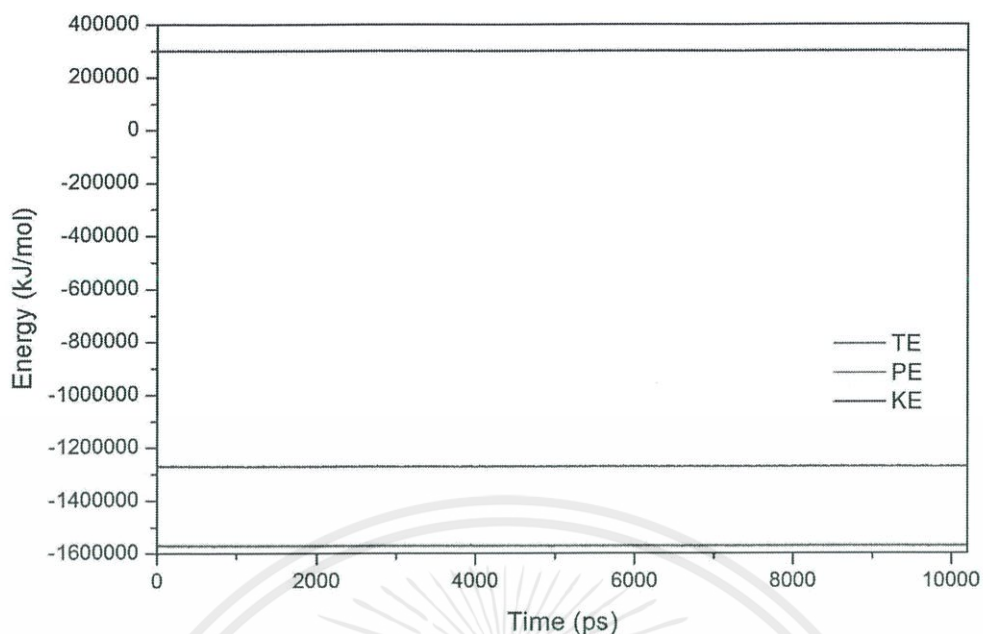


ภาพที่ 4.3 กราฟแสดงค่าพลังงานรวม (TE) พลังงานจลน์ (KE) และพลังงานศักย์ (PE) ของ GM5 เทียบกับเวลาที่ใช้ในการคำนวณ MD simulations



ภาพที่ 4.4 กราฟแสดงค่าพลังงานรวม (TE) พลังงานจลน์ (KE) และพลังงานศักย์ (PE) ของ GM8 เทียบกับเวลาที่ใช้ในการคำนวณ MD simulations

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.5 กราฟแสดงค่าพลังงานรวม (TE) พลังงานจลน์ (KE) และพลังงานศักย์ (PE) ของ GM13 เทียบกับเวลาที่ใช้ในการคำนวณ MD simulations

ตารางที่ 4.1 แสดงค่าเฉลี่ยของพลังงานรวม (TE) พลังงานจลน์ (KE) และพลังงานศักย์ (PE) ของ GM5 GM8 และ GM13

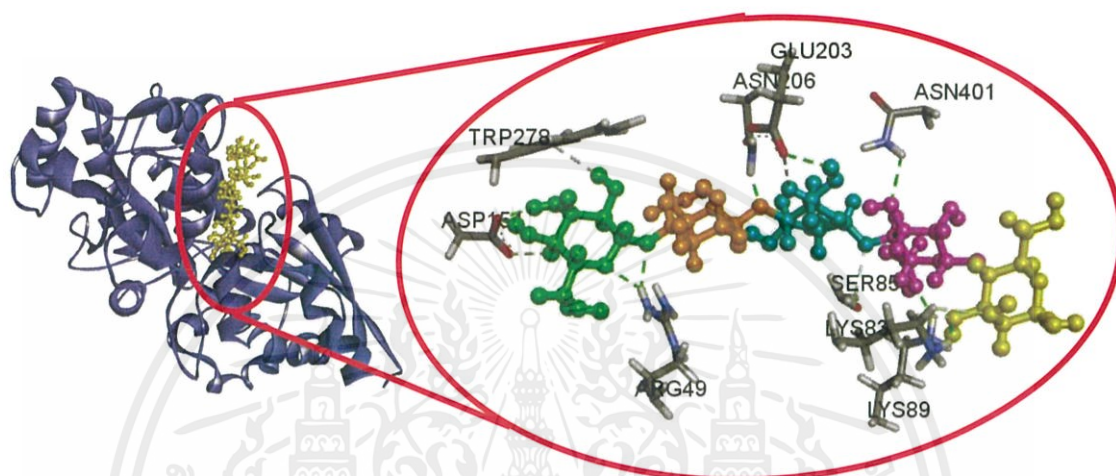
ลิแกนด์	พลังงานรวม (กิโลจูล/โมล)	พลังงานจลน์ (กิโลจูล/โมล)	พลังงานศักย์ (กิโลจูล/โมล)
GM5	-8.779×10^5	2.081×10^5	-1.086×10^6
GM8	-8.769×10^5	2.082×10^5	-1.085×10^6
GM13	-1.271×10^6	2.994×10^5	-1.570×10^6

4.2.2 อันตรกิริยาระหว่างคอนยัคกลูโคแมนแนกกับเอนไซม์

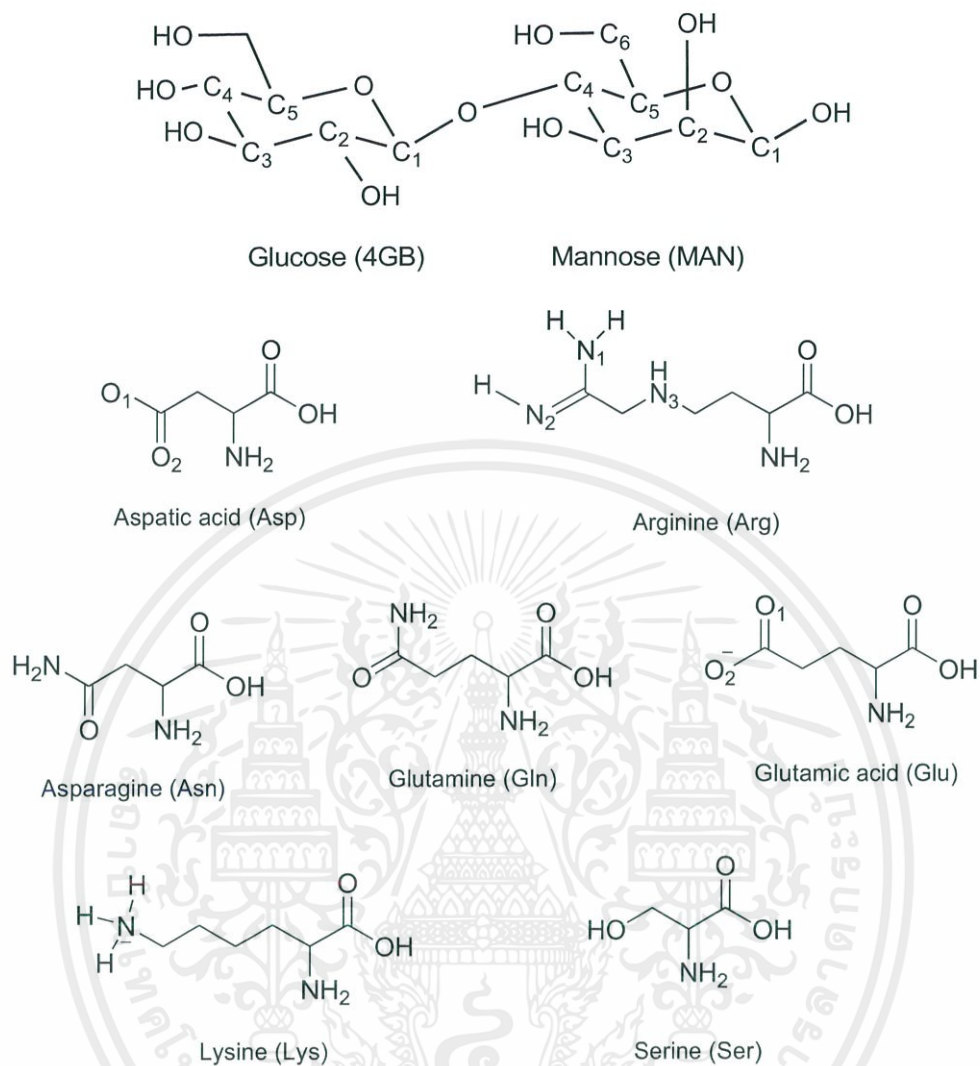
ในการพิจารณาอันตรกิริยาระหว่างคอนยัคกลูโคแมนแนกกับเอนไซม์ เพื่อหาตำแหน่งบริเวณแรงของเอนไซม์ และหาว่าขนาดของคอนยัคกลูโคแมนแนกที่ต่างกัน จะมีผลต่ออันตรกิริยาที่เกิดขึ้นหรือไม่ ภาพที่ 4.6 แสดงโครงสร้าง 3 มิติของสารประกอบเชิงซ้อนของเอนไซม์-ลิแกนด์ และภาพขยายของบริเวณแรงปฏิกริยาของเอนไซม์ ตำแหน่งของอะตอมใน residue ต่างๆ ที่เกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างเอนไซม์และลิแกนด์ แสดงในภาพที่ 4.7 จากผลการคำนวณจะเห็นว่ากลูโคแมนแนกทั้ง 3 ขนาด เกิดพันธะไฮโดรเจนกับเอนไซม์ที่บริเวณเดียวกัน ซึ่งถือว่าเป็นบริเวณแรงของเอนไซม์ที่มีความจำเพาะกับลิแกนด์ที่เป็นสารประเภทกลูโคแมนแนก อย่างไรก็ตาม GM8 และ GM13 มีขนาดใหญ่กว่าบริเวณแรงของเอนไซม์ ทำให้มีส่วนที่อยู่นอกบริเวณแรงซึ่งเกิดอันตรกิริยากับน้ำที่อยู่รอบๆ โมเลกุลของเอนไซม์ ดังแสดงในภาพที่ 4.8-4.11 สำหรับโมเลกุลของ GM8 แม้ว่าจะมีขนาดใหญ่กว่าบริเวณแรงของเอนไซม์ แต่ขนาดไม่ใหญ่จนเกินไป โมเลกุลพยายามเกิดอันตรกิริยากับเอนไซม์ โดยดูจากภาพที่ 4.8 (ข) จะเห็นว่า residue ที่ 8 งอเข้าหาโปรตีนเพื่อเกิดพันธะไฮโดรเจน และจากภาพที่ 4.10 แสดงโครงสร้างสารประกอบเชิงซ้อนของเอนไซม์ และ GM8 ตั้งแต่เวลา 1-10 นาโน เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วินาที เมื่อเริ่มพิจารณาผลจากการคำนวณที่เวลาผ่านไป 1 นาโนวินาทีจะเห็นว่าโครงสร้างของ GM8 ที่อยู่นอกบริเวณเร่งของเอนไซม์จะเกิดอันตรกิริยากับโมเลกุลของน้ำ ทำให้อยู่ห่างจากโปรตีน แต่เมื่อเวลาผ่านไปตั้งแต่ 2-10 นาโนวินาที พบว่า GM8 จะเข้าไปทำพันธะไฮโดรเจนกับเอนไซม์

เมื่อพิจารณาที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ พบว่า residue ที่เกิดพันธะไฮโดรเจนกับกลูโคแมนแนน ได้แก่ ASP154 ARG49 ASN206 และ ASN401 โดยพันธะไฮโดรเจนพร้อมทั้งระยะทางที่เกิดขึ้นที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ที่ตรวจวัดได้ แสดงในตารางที่ 4.2-4.5

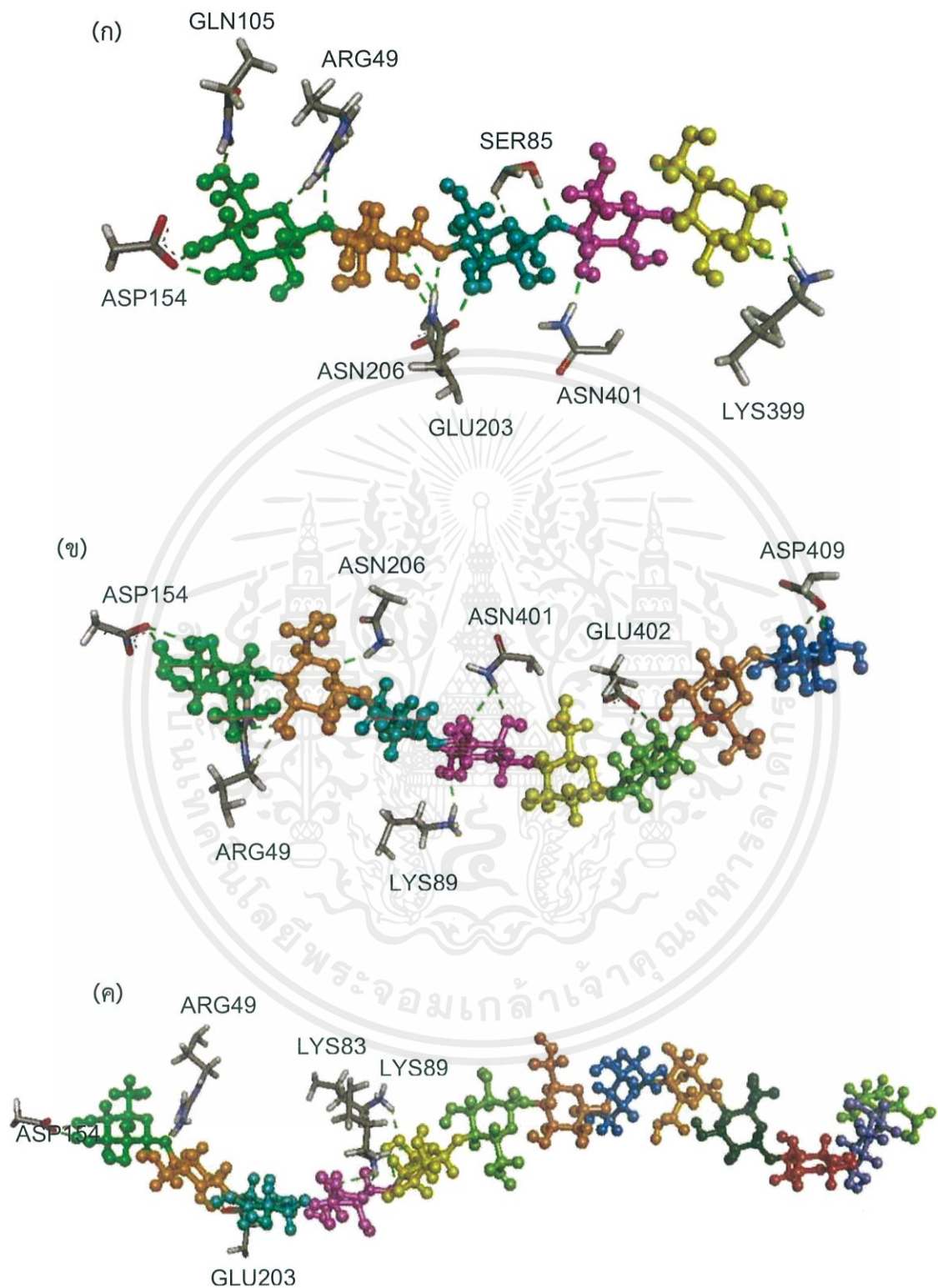


ภาพที่ 4.6 โครงสร้าง 3 มิติของสารประกอบเชิงซ้อนของเอนไซม์-ลิแกนด์ และภาพขยายของบริเวณเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์



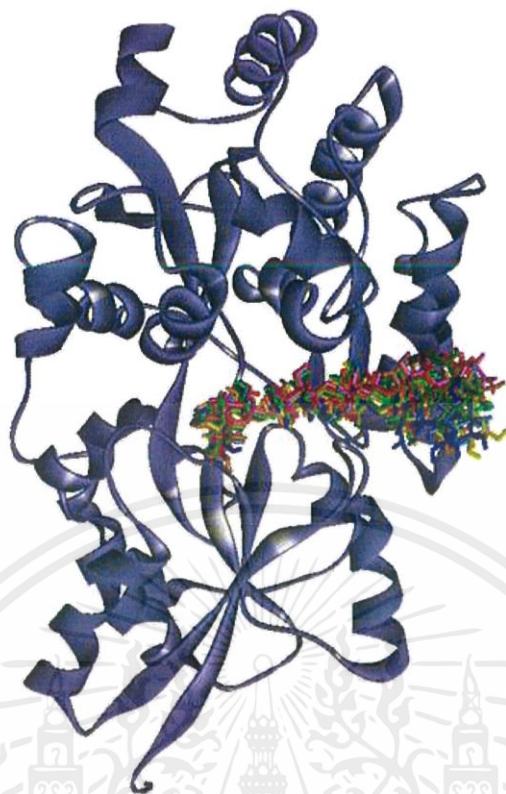
ภาพที่ 4.7 โครงสร้างแสดงตำแหน่งของอะตอมใน residue ต่างๆ ที่เกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างเอนไซม์และลิแกนด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

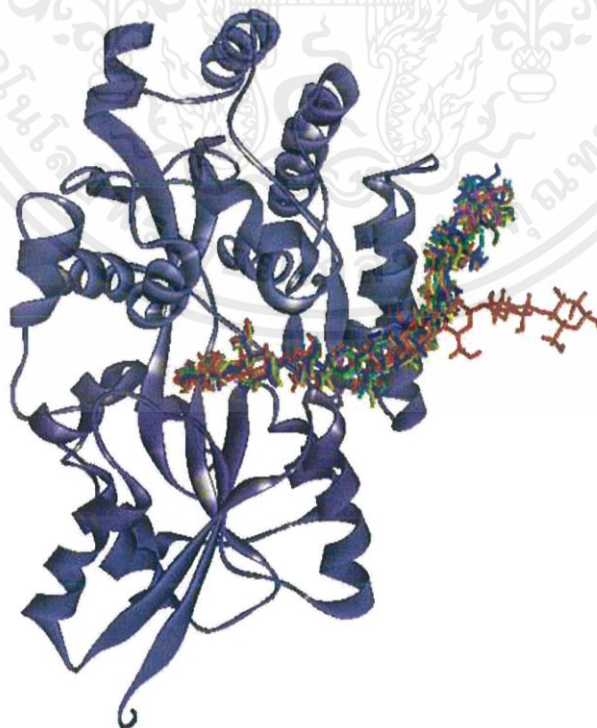


ภาพที่ 4.8 อันตรกิริยาที่เกิดขึ้นที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ (ก) GM5 (ข) GM8 และ (ค) GM13 ด้วยพันธะไฮโดรเจน

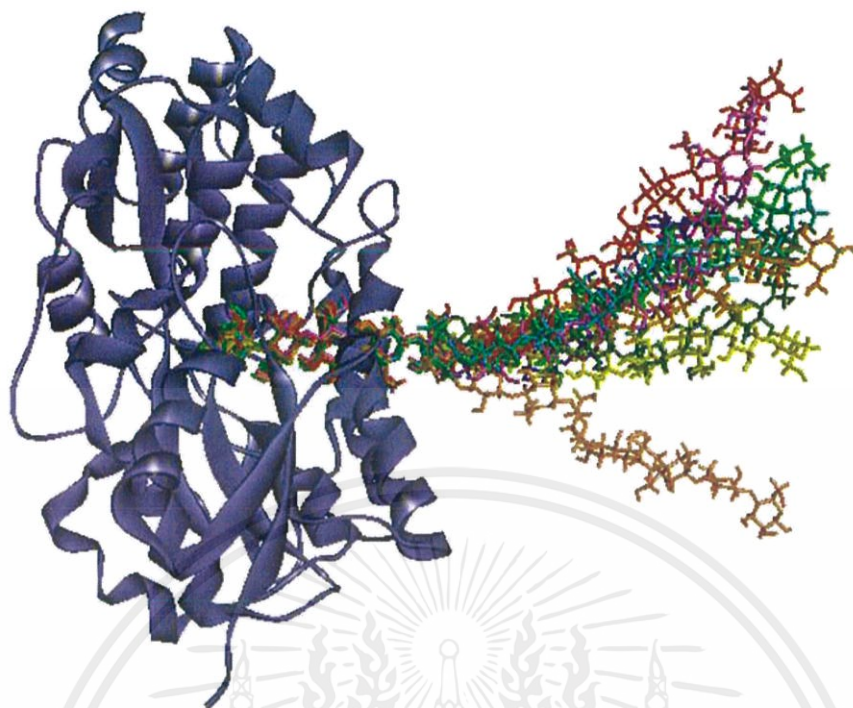
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.9 โครงสร้างของ GM5 ที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ ตั้งแต่เวลา 1 ns ถึง 10 ns



ภาพที่ 4.10 โครงสร้างของ GM8 ที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ ตั้งแต่เวลา 1 ns ถึง 10 ns
 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่ขึ้นด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.11 โครงสร้างของ GM13 ที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ ตั้งแต่เวลา 1 ns ถึง 10 ns

ตารางที่ 4.2 อันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่าง GM5 กับกรดอะมิโนที่บริเวณเร่งของเอนไซม์

Ligand	H-donor			H-acceptor			Distance (Å)	
	Atom	Residue name	Residue no.	Atom	Residue name	Residue no.	X...H	X...H-Y
GM5	O3	4GB	1	O2	ASP	154	1.745	2.617
	O4	4GB	1	O2	ASP	154	1.922	2.856
	N1	ARG	49	O5	4GB	1	3.112	3.475
	N1	ARG	49	O1	4GB	1	2.566	2.907
	N	GLN	105	O6	4GB	1	1.929	2.822
	N	ASN	206	O5	MAN	2	2.664	3.486
	N	ASN	206	O1	MAN	2	2.464	3.313
	O2	MAN	2	O1	GLU	203	2.036	2.852
	O	SER	85	O1	4GB	3	1.948	2.905
	N	ASN	401	O4	4GB	4	1.789	2.782
	N	LYS	339	O1	4GB	5	2.725	3.685
	N	LYS	339	O2	4GB	5	2.204	2.958

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 อันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่าง GM8 กับกรดอะมิโนที่บริเวณเร่งของเอนไซม์

Ligand	H-donor			H-acceptor			Distance (Å)	
	Atom	Residue name	Residue no.	Atom	Residue name	Residue no.	X...H	X...H_Y
GM8	O2	4GB	1	O2	ASP	154	1.727	2.673
	O3	4GB	1	O2	ASP	154	2.374	3.250
	N1	ARG	49	O1	4GB	1	2.814	3.325
	N1	ARG	49	O3	MAN	2	2.628	2.957
	N	ASN	206	O5	MAN	2	1.842	2.776
	N	ASN	401	O3	MAN	4	2.806	3.167
	N	ASN	401	O2	MAN	4	2.368	3.346
	N	LYS	89	O6	MAN	4	2.01	2.933
	O6	4GB	6	O2	GLU	402	1.772	2.714
	O6	MAN	8	O1	ASP	409	1.655	2.571

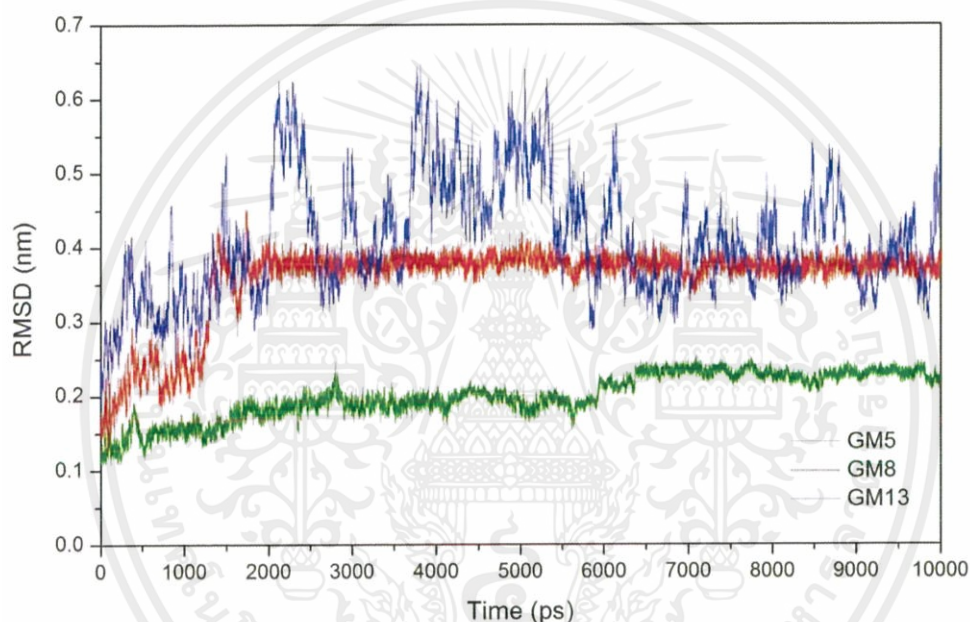
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 อันตรกิริยาที่เกิดขึ้นระหว่าง GM13 กับกรดอะมิโนที่บริเวณเร่งของเอนไซม์

Ligand	H-donor			H-acceptor			Distance (Å)	
	Atom	Residue name	Residue no.	Atom	Residue name	Residue no.	X...H	X...H_Y
GM13	O3	4GB	1	O2	ASP	154	1.636	2.569
	O4	4GB	1	O2	ASP	154	1.818	2.793
	N1	ARG	49	O1	4GB	1	1.939	2.901
	N2	ARG	49	O6	MAN	2	1.889	2.888
	O2	MAN	2	O1	GLU	203	1.889	2.712
	N	LYS	89	O5	MAN	4	2.770	3.427
	N	LYS	89	O6	MAN	4	2.450	2.690
	N	LYS	89	O2	MAN	5	1.998	3.010
	N	LYS	89	O3	MAN	5	2.483	2.737
	N	LYS	89	O6	MAN	5	2.186	3.005

4.2.3 ค่าเบี่ยงเบนเฉลี่ยกำลังสองของโครงสร้างของลิแกนด์

เพื่อเปรียบเทียบความ flexible ของกลูโคแมนแนนที่มีขนาดต่างกัน ผู้ศึกษาได้ทำการวัดค่าความเบี่ยงเบนเฉลี่ยกำลังสอง (Root mean square deviation ; RMSD) ของโครงสร้างของกลูโคแมนแนนทั้ง 3 ชนิด โดยเทียบกับโครงสร้างที่อยู่ในสมดุล จากกราฟในภาพที่ 4.12 ของ GM5 GM8 และ GM13 ค่า RMSD มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในช่วง 2,000 พิโควินาทีอย่างชัดเจนแสดงให้เห็นว่าขณะทำการคำนวณ โครงสร้างมีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา แล้วเริ่มคงที่ในช่วงหลังซึ่งบ่งบอกถึงการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างที่น้อยมาก โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.2 0.36 และ 0.41 นาโนเมตร ตามลำดับ อย่างไรก็ตามค่าความเบี่ยงเบนเฉลี่ยกำลังสองของ GM13 มีความแปรปรวนมาก เนื่องจากมีขนาดใหญ่ และมี flexibility สูงเมื่ออยู่ในสารละลายที่เป็นน้ำ



ภาพที่ 4.12 กราฟแสดงค่าความเบี่ยงเบนเฉลี่ยกำลังสองของโครงสร้างคอนยัคกลูโคแมนแนนขนาดต่างๆ ในช่วงเวลาการคำนวณที่นำมาวิเคราะห์ผล

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย

5.1 สรุปผลการวิจัย

คอนยัคกลูโคแมนแนน เป็นสารอาหารสำคัญที่พบในพืชบุก ถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมด้านยา การแพทย์ และอาหาร เช่น ผลิตภัณฑ์ลดน้ำหนัก นำไปใช้ในระบบนำส่งยา สารเติมแต่งในอาหาร เป็นต้น เนื่องจากเป็นอาหารให้พลังงานต่ำ แต่อิ่มเร็วเหมาะแก่การลดน้ำหนัก หรือควบคุมน้ำหนัก และมีคุณสมบัติพรีไบโอติก โดยกลูโคแมนแนนเป็นเส้นใยอาหารที่ไม่ถูกย่อยโดยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารส่วนบนของมนุษย์จึงเหลือไปยังลำไส้ใหญ่ และกลายเป็นอาหารเพื่อใช้ในการเจริญของจุลินทรีย์ที่ดีในลำไส้ใหญ่ โดยเฉพาะไบโอดีแบคทีเรีย ลองกัมซึ่งมีปริมาณมากในวัยผู้ใหญ่ ดังนั้นขนาดโมเลกุลของกลูโคแมนแนนจึงมีผลต่อประสิทธิภาพในการถูกย่อยโดยแบคทีเรีย งานวิจัยนี้เป็นการนำเสนอการจำลองพลวัตเชิงโมเลกุล เพื่อศึกษาผลของขนาดกลูโคแมนแนนที่มีอันดับพอลิเมอร์ไรเซชัน 5 8 และ 13 โดยกำหนดให้ระบบมีอุณหภูมิ 310 เคลวิน ความดัน 1 บรรยากาศ และความเข้มข้นของสารละลายเป็น 0.15 โมลาร์

จากการผลการทดลองคอนยัคกลูโคแมนแนนที่อาศัยในสภาวะแวดล้อมต่างกัน คือ สภาวะก๊าซและสารละลาย จะส่งผลต่อการประพุดิตัว และจัดเรียงตัวของโครงสร้างในสภาวะนั้นๆ ได้ต่างกัน ดังนั้นจึงจำเป็นที่จะต้องนำโมเลกุลของกลูโคแมนแนนไปใส่ในระบบจำลองที่มีสารละลายเพื่อให้คล้ายกับระบบที่เกิดขึ้นจริงภายในร่างกาย เมื่อกลูโคแมนแนนอยู่ในสารละลายจะเกิดพันธะไฮโดรเจนกับกรดอะมิโนต่างๆที่อยู่บนเอนไซม์ โดยกลูโคแมนแนนที่มีอันดับพอลิเมอร์ไรเซชันสูงจะมีสายโซ่ที่ยาวเกินออกมานอกบริเวณเร่งของเอนไซม์ ทำให้ส่วนเกินนี้สามารถเกิดอันตรกิริยากับน้ำภายในระบบได้ ส่งผลให้โมเลกุลที่มีขนาดใหญ่จะมีความเสถียรของโครงสร้างต่ำ จากการคำนวณทั้งหมด สามารถสรุปได้ว่า ขนาดของกลูโคแมนแนนมีผลต่ออันตรกิริยาที่เกิดขึ้น โดยขนาดของกลูโคแมนแนนจากพืชบุกที่เหมาะสมต่อการเกิดอันตรกิริยากับกับเอนไซม์ของแบคทีเรียในลำไส้ หรือเหมาะแก่การเป็นสารพรีไบโอติก คือ GM5 และขนาดไม่ควรใหญ่กว่า GM8

นอกจากนี้กลูโคแมนแนนขนาด GM5 GM8 และ GM13 จะสร้างพันธะไฮโดรเจนกับอะตอมในตำแหน่งเดียวกันหมด ได้แก่ ASP154 ARG49 ASN206 และ ASN401 แสดงให้เห็นบริเวณเร่งของเอนไซม์ที่มีความจำเพาะกับกลูโคแมนแนน และเอนไซม์ของไบโอดีแบคทีเรีย ลองกัมซึ่งเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้ใหญ่ที่ก่อประโยชน์ให้ร่างกายมนุษย์ สามารถทำปฏิกิริยากับคอนยัคกลูโคแมนแนนได้จริง ซึ่งถือเป็นหลักเกณฑ์สำคัญอย่างหนึ่งในการแสดงคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติกอีกด้วย

5.2 ข้อเสนอแนะ

งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นความสามารถในการเกิดอันตรกิริยาระหว่างกลูโคแมนแนนกับตำแหน่งอะตอมของกรดอะมิโนที่บริเวณเร่งจำเพาะของเอนไซม์ไบโอดีแบคทีเรีย ลองกัมได้ และแสดงให้เห็นภาพการเคลื่อนไหวของโครงสร้างคอนยัคกลูโคแมนแนนในช่วงเวลา 10 นาโนวินาทีของกลูโคแมนแนน เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แนบทั้ง 3 ขนาด เพื่อป้องกันแนวโน้มขนาดของกลุ่โคแมนแนบที่เหมาะสมจะนำไปใช้งานได้ต่างกัน อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาค้นคว้าร่วมกับการทดลองในห้องปฏิบัติการเพื่อให้ได้ความถูกต้องแม่นยำของข้อมูลสำหรับการนำมาใช้กับมนุษย์ เพื่อให้เกิดความปลอดภัย และก่อให้เกิดประสิทธิภาพอย่างสูงสุด



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

- [1] R. A. Rastall, "Functional Oligosaccharides: Application and Manufacture," *Annu. Rev. Food Sci. Technol.*, vol. 1, no. 1, pp. 305–339, 2010.
- [2] W. Science, "Degradation of Konjac Glucomannan by Enzymes in Human Feces and Formation of Short-Chain Fatty Acids by Intestinal Anaerobic Bacteria Department of Nutritional Science , Faculty of Health and Welfare Science , subjects and suggested that bacteria taking part with such degradation occur in mannanolyticus (12) and Clostridium butyricum or beijerinckii (13) in human feces . The present paper deals with the degradation of KGM into disaccharides by soluble enzymes in human feces , their further conversion to monosaccharides by the use of a cell-associated enzyme (s) of microflora , and the production of," vol. 436, no. 4, pp. 423–436, 1998.
- [3] G. R. Gibson, H. M. Probert, J. Van Loo, R. A. Rastall, and M. B. Roberfroid, "Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics," *Nutr. Res. Rev.*, vol. 17, no. 02, p. 259, 2004.
- [4] J. E. Teitelbaum and W. A. Walker, "N UTRITIONAL I MPACT OF P RE- AND P ROBIOTICS," 2002.
- [5] T. S. Manning and G. R. Gibson, "Prebiotics," vol. 18, no. 2, pp. 287–298, 2004.
- [6] K. ORRHAGE and C. E. NORD, "Bifidobacteria and lactobacilli in human health," *Drugs Exp. Clin. Res.*, vol. 26, no. 3, pp. 95–111.
- [7] G. R. Gibson, K. P. Scott, R. A. Rastall, K. M. Tuohy, A. Hotchkiss, A. Dubert-ferrandon, M. Gareau, E. F. Murphy, D. Saulnier, G. Loh, S. Macfarlane, N. Delzenne, Y. Ringel, G. Kozianowski, and R. Dickmann, "Dietary prebiotics : current status and new definition," vol. 7, no. January, pp. 1–19, 2010.
- [8] G. Muyzer and K. Smalla, "Application of denaturing gradient gel electrophoresis (DGGE) and temperature gradient gel electrophoresis (TGGE) in microbial ecology," *Antonie Van Leeuwenhoek*, vol. 73, no. 1, pp. 127–141, 1998.
- [9] E. Biedrzycka and M. Bielecka, "Prebiotic effectiveness of fructans of different degrees of polymerization," vol. 15, pp. 170–175, 2004.
- [10] S. Macfarlane, G. T. Macfarlane, and J. H. Cummings, "Review article : prebiotics in the gastrointestinal tract," no. June, pp. 701–714, 2006.
- [11] B. Structure, K. E. Scholz-ahrens, P. Ade, B. Marten, P. Weber, W. Timm, A. Yahya, and C. Glu, "Prebiotics , Probiotics , and Synbiotics Affect Mineral

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Absorption , Bone Mineral Content ,” no. 4, 2007.

- [12] M. Liong, “Roles of Probiotics and Prebiotics in Colon Cancer Prevention : Postulated Mechanisms and In-vivo Evidence,” pp. 854–863, 2008.
- [13] A. Sedayu, M. C. M. Eurlings, B. Gravendeel, and W. L. A. Hetterscheid, “Morphological character evolution of *Amorphophallus* (Araceae) based on a combined phylogenetic analysis of *trnL*, *rbcl* and *LEAFY* second intron sequences,” *Bot Stud*, vol. 51, no. 4, pp. 473–490, 2010.
- [14] M. L. T. Cossio, L. F. Giesen, G. Araya, M. L. S. Pérez-Cotapos, R. L. VERGARA, M. Manca, R. A. Tohme, S. D. Holmberg, T. Bressmann, D. R. Lirio, J. S. Román, R. G. Solís, S. Thakur, S. N. Rao, E. L. Modelado, A. D. E. La, C. Durante, U. N. A. Tradición, M. En, E. L. Espejo, D. E. L. A. S. Fuentes, U. A. De Yucatán, C. M. Lenin, L. F. Cian, M. J. Douglas, L. Plata, and F. Héritier, *No Title No Title*, vol. XXXIII, no. 2. 2012.
- [15] M. Chua, T. C. Baldwin, T. J. Hocking, and K. Chan, “Traditional uses and potential health benefits of *Amorphophallus konjac* K . Koch ex N . E . Br .,” *J. Ethnopharmacol.*, vol. 128, no. 2, pp. 268–278, 2010.
- [16] P. September, “AN INVESTIGATION OF THE BIOLOGY AND CHEMISTRY OF THE CHINESE MEDICINAL PLANT , *Amorphophallus konjac* MELINDA CHUA FUI YEE BSc (Hons),” 2011.
- [17] B. Li, J. Xia, Y. Wang, and B. Xie, “Grain-size effect on the structure and antiobesity activity of konjac flour,” *J. Agric. Food Chem.*, vol. 53, no. 19, pp. 7404–7407, 2005.
- [18] M. Yoshida, C. A. Vanstone, W. D. Parsons, J. Zawistowski, and P. J. H. Jones, “Effect of plant sterols and glucomannan on lipids in individuals with and without type II diabetes,” pp. 529–537, 2006.
- [19] Y. Zhang, B. Xie, and X. Gan, “Advance in the applications of konjac glucomannan and its derivatives . *Carbohydr Polym*,” no. April 2005, 2016.
- [20] K. Wang and Z. He, “Alginate Á konjac glucomannan Á chitosan beads as controlled release matrix,” vol. 244, pp. 117–126, 2002.
- [21] M. Grimshaw, “Patent Application Publication ,” vol. 1, no. 19, 2003.
- [22] S. River, “United States Patent,” vol. 1, no. 12, pp. 96–98, 2003.
- [23] R. Fuller, “Probiotics in man and animals.,” *J. Appl. Bacteriol.*, vol. 66, no. 5, pp. 365–378, 1989.
- [24] V. Rusch, “Probiotics and definitions: a short overview,” *Herborn Litt.*, vol. 4,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- pp. 1–4, 2002.
- [25] M. Saarela, G. Mogensen, R. Fondén, J. Mättö, and T. Mattila-Sandholm, “Probiotic bacteria: Safety, functional and technological properties,” *J. Biotechnol.*, vol. 84, no. 3, pp. 197–215, 2000.
- [26] A. Microorganisms, *จุลินทรีย์ทางเลือกเพื่อสุขภาพ probiotics*. .
- [27] T. Vasiljevic and N. P. Shah, “Probiotics—From Metchnikoff to bioactives,” *Int. Dairy J.*, vol. 18, no. 7, pp. 714–728, 2008.
- [28] T. MITSUOKA, “Significance of Dietary Modulation of Intestinal Flora and Intestinal Environment,” *Biosci. Microflora*, vol. 19, no. 1, pp. 15–25, 2000.
- [29] B. Learning, “Protein Structure and Function,” pp. 27–74.
- [30] K. Katsuraya, K. Okuyama, K. Hatanaka, R. Oshima, T. Sato, and K. Matsuzaki, “Constitution of konjac glucomannan: chemical analysis and ¹³C NMR spectroscopy,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 53, no. 2, pp. 183–189, 2003.
- [31] H. L. Chen, Y. H. Fan, M. E. Chen, and Y. Chan, “Unhydrolyzed and hydrolyzed konjac glucomannans modulated cecal and fecal microflora in Balb/c mice,” *Nutrition*, vol. 21, no. 10, pp. 1059–1064, 2005.
- [32] S. L. Yeh, M. S. Lin, and H. L. Chen, “Partial hydrolysis enhances the inhibitory effects of konjac glucomannan from *Amorphophallus konjac* C. Koch on DNA damage induced by fecal water in Caco-2 cells,” *Food Chem.*, vol. 119, no. 2, pp. 614–618, 2010.
- [33] T. Yui, K. Ogawa, and A. Sarko, “Molecular and crystal structure of konjac glucomannan in the mannan II polymorphic form,” *Carbohydr. Res.*, vol. 229, no. 1, pp. 41–55, May 1992.
- [34] R. Suzuki, J. Wada, T. Katayama, S. Fushinobu, T. Wakagi, H. Shoun, H. Sugimoto, A. Tanaka, H. Kumagai, H. Ashida, M. Kitaoka, and K. Yamamoto, “Structural and thermodynamic analyses of solute-binding protein from
- [35] O. Mirza, L. K. Skov, D. Sprogøe, L. A. M. Van Den Broek, G. Beldman, J. S. Kastrup, and M. Gajhede, “Structural rearrangements of sucrose phosphorylase from *Bifidobacterium adolescentis* during sucrose conversion,” *J. Biol. Chem.*, vol. 281, no. 46, pp. 35576–35584, 2006.
- [36] M. Nagae, A. Tsuchiya, T. Katayama, K. Yamamoto, S. Wakatsuki, and R. Kato, “Structural basis of the catalytic reaction mechanism of novel 1,2-??-L-fucosidase from *Bifidobacterium bifidum*,” *J. Biol. Chem.*, vol. 282, no. 25, pp. 18497–18509, 2007.

Chem., vol. 283, no. 19, pp. 13165–13173, 2008.

- [37] K. Michalska, K. Tan, H. Li, C. Hatzos-Skintges, J. Bearden, G. Babnigg, and A. Joachimiak, “GH1-family 6-P-??-glucosidases from human microbiome lactic acid bacteria,” *Acta Crystallogr. Sect. D Biol. Crystallogr.*, vol. 69, no. 3, pp. 451–463, 2013.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล นภัสสร เจนศุภการ
วัน-เดือน-ปีเกิด 21 กุมภาพันธ์ 2537
ที่อยู่ปัจจุบัน เลขที่ 24 หมู่ 10 แขวงลาดพร้าว เขตลาดพร้าว จังหวัดกรุงเทพฯ 10230
ประวัติการศึกษา ปีการศึกษา 2554 สำเร็จการศึกษาในระดับมัธยมศึกษาปีที่ 6 โรงเรียนสตรี
วิทยา 2 ในพระราชูปถัมภ์สมเด็จพระศรีนครินทราบรมราชชนนี
ปีการศึกษา 2555 เข้าศึกษาในหลักสูตรวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขา
วิศวกรรมวัสดุนาโน คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้