# ผลของเบต้ากลูแคนต่อการรแดชีวิตระหว่างเก็บรักษา *Lactobacillus plantarum*SM154 ที่ถูกห่อหุ้ม

# Effect of β- Glucan on survivalduring preservation of encapsulated *Lactobacillus plantarum*SM154

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม
คณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ.2559

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

# ผลของเบต้ากลูแคนต่อการรอดชีวิตระหว่างเก็บรักษา *Lactobacillus plantarum*SM154 ที่ถูกห่อหุ้ม

# Effect of β – Glucan on survivalduring preservation of encapsulated *Lactobacillus plantarum*SM154

ชัยวัฒน์ ซาซากิ

สังหมู่.....
เลขทะเบียน 148844
วัน.เดือน.ปี 30 พ.ค. 2560

b.12876379
l.....

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ใบรับรองปัญหาพิเศษ

## ผลของเบต้ากลูแคนต่อการรอดชีวิตระหว่างเก็บรักษาของ *Lactobacillus plantarum* SM154 ที่ถูกห่อหุ้ม

## Effect of β – Glucan on survival during preservation of encapsulated *Lactobacillus plantarum* SM154


จัดทำโดย

ชัยวัฒน์ ซาซากิ รหัสนักศึกษา 55080089


ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

วิรามศรี ศรีพจนารถ ...../...../.....

(ดร.วิรามศรี ศรีพจนารถ)

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|---|---|
| หัวข้อปัญหาพิเศษ | ผลของเบต้ากลูแคนต่อการรอดชีวิตระหว่างเก็บรักษาของ *Lactobacillus plantarum* SM154 ที่ถูกห่อหุ้ม |
| ชื่อนักศึกษา | ชัยวัฒน์ ซาซากิ รหัสนักศึกษา 55080089 |
| หลักสูตร | วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเทคโลโนยีการหมักในอุตสากรรม |
| พ.ศ. | 2559 |
| อาจารย์ที่ปรึกษา | ดร.วิรามศรี ศรีพจนารถ |

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาประสิทธิภาพของเบต้ากลูแคน ซึ่งเป็นพรีไบโอติก ต่อการรอดชีวิตระหว่างเก็บรักษาของ *Lactobacillus plantarum* SM154 ที่ถูกห่อหุ้ม โดยทดลอง ใช้โซเดียมอัลจิเนตผสมกับเบต้ากลูแคนที่ความเข้มข้น 0.5% 1% 2% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เปรียบเทียบการเก็บรักษาในสภาวะอุณหภูมิ 19 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 วัน ผลการทดลองพบว่าที่เบต้ากลูแคนความเข้มข้น 0.5% สามารถเพิ่มการรอดชีวิตของ *L. plantarum* SM154 ได้ดีที่สุด โดยมีจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต อยู่ที่จำนวน $2.85 \times 10^7$ โคโลนีต่อมิลลิลิตรเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 10 วันและสำหรับวันที่ 15 ของการเก็บรักษา พบว่าการรอดชีวิตของ *L. plantarum* SM154 ทุกการทดลองให้ผลต่ำกว่า $1.00 \times 10^7$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร

คำสำคัญ: โปรไบโอติก เบต้ากลูแคน พรีไบโอติก เอนแคปซูเลชั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|---|---|
| Special problem title | Effect of β – Glucan on survival of encapsulated *Lactobacillus plantarum* SM154 during preservation |
| Student name | Chaiwat sasaki Student ID 55080089 |
| Program | Bachelor of Science in Industry Fermentation Technology |
| Year | 2016 |
| Advisor | Dr.Wiramsri Sriphochanart |

## ABSTRACT

The objective of study was to determine an effective of β-Glucan which is prebiotic on survival of encapsulated *Lactobacillus plantarum* SM154 The experiments consisted of sodium alginate with β-Glucan at concentration of 0%, 0.5%, 1%, 2% (w/v). The preservation at 19°c for 15 days was determined. The results found that β-Glucan at the concentration of the 0.5% could increase the highest survival of *L. plantarum* SM154 which was $2.85 \times 10^7$ CFU/ml when they were kept for 10 days. For 15 days of preservation, all the experiments had survival of *L. plantarum* SM154 less than $1.00 \times 10^7$ CFU/ ml.

Keywords: Probiotic, β–Glucan, Prebiotic, Encapsulation

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# กิตติกรรมประกาศ

รายงานการศึกษาวิจัยผลของเบต้ากลูแคนต่ออัตราการรอดชีวิตระหว่างเก็บรักษาของเชื้อจุลินทรีย์ *L. plantarum* SM154 ที่ถูกห่อหุ้ม สำเร็จได้ด้วยความช่วยเหลือของบุคคลหลายท่าน ซึ่งไม่อาจจะนำมากล่าวได้ทั้งหมด ผู้มีพระคุณท่านแรกที่คอยช่วยเหลือให้คำปรึกษามาตลอดและต้องขอกราบพระคุณคือท่าน อาจารย์วิรามศรี ศรีพจนารถ อาจารย์ที่ปรึกษาที่ได้ให้ความรู้ คำแนะนำ ตรวจทาน และแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ รวมทั้งได้ให้คำสอน สำหรับการนำไปประยุกต์ใช้กับชีวิตการทำงานเพื่อปรับปรุงข้อผิดพลาดของตัวผู้ทำวิจัยให้นำไปปรับปรุงเพื่อการทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพมากขึ้น ด้วยความเอาใจใส่ในทุกขั้นตอนของการทำปัญหาพิเศษ เพื่อให้รายงานการค้นคว้าวิจัยนี้ออกมาสมบูรณ์ที่สุด ท่านที่สอง คือ อาจารย์สุรชัย ใหญ่เย็น ที่ให้คำแนะนำตรวจทาน และแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ให้คำปรึกษาและเทคนิคเกี่ยวกับวิธีการทำวิจัย ผู้วิจัยใคร่ขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาส นี้ และให้กำลังใจในการศึกษาค้นคว้าตลอดมา

ขอขอบคุณคณาจารย์คณะอุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรมที่ได้ทำการสอนถ่ายทอดความรู้อันมีประโยชน์สำหรับประยุกต์ใช้ทำงานในวันข้างหน้าและมอบข้อคิดการดำเนินชีวิตการทำงานเพื่อให้นักศึกษาได้ใช้ยึดถือเตือนใจ

**ชัยวัฒน์ ซาซากิ**

**17 มิถุนายน 2559**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... II

กิตติกรรมประกาศ..... III

สารบัญ..... IV

สารบัญตาราง..... VI

สารบัญภาพ..... VII

บทที่ 1 บทนำ..... 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา..... 2

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 2

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 3

2.1 โปรไบโอติก..... 3

2.2 พรีไบโอติค..... 4

2.3 การห่อหุมเซลล์..... 5

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง..... 7

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี..... 7

3.2 อุปกรณ์..... 8

3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง..... 9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ ..... 11

4.1 การศึกษาการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus plantarum* SM154 ..... 11

4.2 ขนาดและรูปร่างของแคปซูล ..... 12

4.3 อัตราการรอดชีวิตของเซลล์ *L. plantarum* SM154 ..... 14

บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ ..... 16

5.1 สรุปผลการทดลอง ..... 16

5.2 วิจารณ์ผลการทดลอง ..... 16

5.3 ข้อเสนอแนะ ..... 16

บรรณานุกรม ..... 18

ภาคผนวก ..... 21

ภาคผนวก ก ..... 22

ประวัติผู้เขียน ..... 23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 แสดงจุลชีพที่ใช้เป็นสารโปรไบโอติก..... 1

4.2 แสดงขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและพื้นที่ผิวแคปซูลในวันที่ 5 และ 10..... 13

4.3 เปอร์เซ็นจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตในตัวอย่างที่ผสมเบต้ากลูแคน 0% 0.5% 1% และ 2%..... 15
ที่ทำการเก็บรักษา 15 วัน.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

2.1 วิธีการห่อหุ้ม..... 6

4.1 กราฟค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์จุลินทรีย์..... 11

4.2 ลักษณะเม็ดแคปซูลวันที่ 0..... 12

4.3 ลักษณะเม็ดแคปซูลวันที่ 10..... 13

4.4 กราฟจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตในวันที่ 5 10 และ 15..... 14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1

# บทนำ

## 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

จุลินทรีย์โปรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มที่มีอยู่ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ มีหน้าที่ช่วยปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบย่อยอาหารและช่วยในกระบวนการขับถ่าย ทำให้สุขภาพของสัตว์และมนุษย์ที่ได้รับจุลินทรีย์โปรไบโอติกเป็นประจำมีสุขภาพที่ดีขึ้น เพราะจุลินทรีย์โปรไบโอติกช่วยให้กระเพาะอาหารมีความเป็นกรดมากขึ้น จึงเกิดการย่อยอาหารและดูดซึมได้มากขึ้น และยังมีประโยชน์ด้านอื่นได้แก่ ช่วยควบคุมระดับโคเลสเตอรอลในกระแสเลือด และ ช่วยป้องกันโรคภูมิแพ้ ตัวอย่างของจุลินทรีย์โปรไบโอติกที่เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ประจำถิ่นในระบบทางเดินอาหารของสัตว์และมนุษย์ เช่น กลุ่ม *Lactobacillus* และ กลุ่ม *Bifidobacteriums* เป็นต้น

จากประโยชน์ของจุลินทรีย์โปรไบโอติก จึงทำให้ในปัจจุบัน ได้เกิดผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีส่วนผสมของโปรไบโอติกออกวางจำหน่ายอย่างแพร่หลาย โดยได้มีการกำหนดให้ผลิตภัณฑ์เสริมโปรไบโอติกจะต้องมีแบคทีเรียที่มีชีวิตอย่างน้อยที่สุด $1 \times 10^7$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร จนกระทั่งถึงวันที่บริโภคผลิตภัณฑ์นั้น ๆ ซึ่งกำหนดโดย The International Dairy Federation (IDF) สาเหตุก็เพราะจุลินทรีย์โปรไบโอติกจะสามารถให้ประโยชน์แก่ร่างกายผู้บริโภค ก็ต่อเมื่อได้รับในขณะที่ยังมีชีวิตอยู่ ซึ่งจุลินทรีย์โปรไบโอติกจะสามารถแสดงประสิทธิภาพได้มากที่สุด แต่เนื่องจากภายในกระเพาะอาหารมีสภาพความเป็นกรดสูงและประกอบไปด้วยเกลือน้ำดีความเข้มข้นสูง ซึ่งเป็นสภาวะที่ทำให้เซลล์จุลินทรีย์โปรไบโอติก ได้รับความเสียหายจนเกิดการเสียชีวิต ส่งผลต่อสมดุลของจุลินทรีย์ในกระเพาะอาหารทำให้ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์โปรไบโอติกลดลง

การเพิ่มอัตราการอยู่รอดของจุลินทรีย์โปรไบโอติก จึงสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของสารอาหารได้มากขึ้น และยังเป็นไปตามข้อกำหนดของ The International Dairy Federation (IDF) โดยเซลล์จุลินทรีย์โปรไบโอติกที่มีอัตรารอดชีวิตเพิ่มขึ้น จะทำให้มีประสิทธิภาพการรักษาสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบย่อยอาหาร จึงช่วยป้องกันร่างกายจากจุลินทรีย์อื่น ๆ ในระบบย่อยอาหารที่ทำให้เกิดอันตรายแก่ร่างกาย

การเอนแคปซูเลชั่น (Encapsulation) เป็นการใช้สารตัวกลางที่มีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมภายนอกมาห่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์โปรไบโอติก ได้มีการศึกษาถึงประสิทธิภาพในการรักษาเซลล์จุลินทรีย์โปรไบโอติกและพบว่าสามารถเพิ่มอัตราการอยู่รอดของจุลินทรีย์โปรไบโอติกได้มากขึ้น และยังสามารถใช้สารอาหารพรีไบโอติกซึ่งเป็นสารอาหารที่จุลินทรีย์โปรไบโอติก สามารถใช้เป็นแหล่งอาหารจึงช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์โปรไบโอติกได้มากขึ้น ตัวอย่างของพรีไบโอติกได้แก่ เบต้ากลูแคนซึ่งช่วยต่อต้านเซลล์มะเร็งและสามารถเพิ่มประสิทธิภาพของภูมิคุ้มกันในร่างกายได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

เพื่อศึกษาผลของเบต้ากลูแคนต่อการรอดชีวิตของ *Lactobacillus plantarum* SM154ที่ถูกห่อหุ้ม

## 1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 สามารถใช้เบต้ากลูแคนในการเป็นสารพรีไบโอติกช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์โปรไบโอติก

1.3.2 ช่วยเพิ่มคุณค่าในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

## 2.1 โปรไบโอติก (Probiotic)

โปรไบโอติก คือ จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารที่มีประโยชน์ต่อผู้บริโภคช่วยทำให้เกิดสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ ทำให้เกิดสมดุลในระบบการย่อยอาหารและการขับถ่าย ช่วยพัฒนาปรับปรุงสุขภาพของมนุษย์และสัตว์ที่ได้รับจุลินทรีย์โปรไบโอติกให้ดีขึ้น (อัจฉรา, 2550) โดยตัวอย่างของจุลินทรีย์โปรไบโอติกได้แก่ จุลินทรีย์ประจำถิ่น ในระบบทางเดินอาหาร ของสัตว์และมนุษย์ เช่น *L. acidophilus* *L. salivarius* เป็นต้น (Slover, 2008) และอีกหลายชนิดดังแสดงในตารางที่ 2.1

**ตารางที่ 2.1** แสดงจุลชีพที่ใช้เป็นสารโปรไบโอติก

| *Lactobacillus* species | *Bifidobacterium* species | Others |
|---|---|---|
| *L. acidophilus* | *B. bifidum* | *Bacillus cereus* |
| *L. casei (rhamnosus) – LGG* | *B. longum* | *Escherichia coli* |
| *L. bulgaricus* | *B. breve* | *Saccharomyces cerevisiae* |
| *L. plantarum* | *B. infantis* | *Enterococcus faecalis* |
| *L. lactis* | *B. lactis* | *Streptococcus thermophiles* |

ที่มา: อุทัย เก้าเอี้ยน (2549)

คุณสมบัติของโปรไบโอติกที่ดีควรเป็นแบคทีเรีย ที่ไม่ทำให้เกิดโรคต่อผู้บริโภคและควรเป็นกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวก เนื่องจากมีความสามารถทนต่อการย่อยของน้ำย่อยในระบบทางเดินอาหารได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมลบ และสามารถทนต่อเกลือน้ำดีรวมไปถึงกรดในกระเพาะอาหารได้ดี (Kontula และคณะ, 1998)

เพื่อให้จุลินทรีย์โปรไบโอติกสามารถเดินทางผ่านกระเพาะอาหาร ซึ่งมีสภาวะกรดสูงได้ จุลินทรีย์จึงควรมีความสามารถในการสร้างกรดได้ดี เพื่อช่วยปรับสภาวะทางเดินอาหารให้อยู่ในสภาพที่จุลินทรีย์ ที่ส่งผลเสียต่อร่างกาย เช่น จุลินทรีย์กลุ่มโคลิฟอร์มเจริญได้ยาก แต่จุลินทรีย์ที่ดีต่อร่างกายสามารถเพิ่มจำนวนได้เร็วและมีชีวิตอยู่ในลำไส้ได้นานประมาน 24 ชั่วโมงมีอัตราการรอดชีวิตสูง (นวลจันทร์ พารักษา, 2533)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติกต้องสามารถเจริญแข่งขันกับเชื้อโรคในผนังลำไส้ เพราะโดยปกติเชื้อโรคจะเข้าเกาะผนังลำไส้และต่อต้านการเคลื่อนที่ของลำไส้ระหว่างการบีบตัวให้อาหารเคลื่อนที่ในลักษณะลูกคลื่นโดยการเกาะเคลือบของโปรไบโอติกที่ผนังทางเดินอาหารจะช่วยให้การเคลื่อนที่ของอาหารเป็นไปได้ดี เกิดการย่อยอาหารและการดูดซึมเป็นไปอย่างปกติ และยังมีคุณสมบัติกระตุ้นภูมิคุ้มกันของสัตว์ โดยส่วนมากจะพบได้ในกลุ่ม *Lactobcillus* ที่มีความสามารถกระตุ้นการสร้าง แกมม่าโกบลูลิน แกมม่าอินเตอเฟรอน และส่งเสริมกิจกรรมของมาโครฟาจ ซึ่งจะช่วยในการกำจัดเชื้อโรคออกจากร่างกายและแย่งอาหารของแบคทีเรียก่อโรค (Fuller, 1993)

นอกจากนี้เชื้อจุลินทร์โปรไบโอติกสามารถสร้างเอนไซม์ แพคติเนส (Pectinase) เบต้ากาแลคโตซิเดส (β -Galactosidase) อะมัยเลส (Amylase) โปรตีเอส (Protease) แลคเตส (Lactase) และเซลลูเลส(Cellulose) มีผลช่วยในการย่อยอาหาร เกิดการใช้ประโยชน์ของอาหารต่าง ๆ ดีขึ้น (อุทัย คันโธ, 2535)

## 2.2 พรีไบโอติก (Prebiotic)

พรีไบโอติกหมายถึงสารอาหารที่ไม่ถูกย่อยในกระเพาะอาหารเมื่อรับประทานเข้าไป แต่จะไปช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตและการทำหน้าที่ของแบคทีเรียชนิดที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายในลำไส้ใหญ่ ได้แก่แบคที่เรีย กลุ่ม *Lactobcillus* และ *Bifidobacterium* ตัวอย่างสารอาหารในกลุ่มนี้ ได้แก่โอลิโกฟรุคโตส(Oligofructose) ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Fructo oligosaccharides) อินนูลิน (Inulin) โพลีฟรุคโตส(Polyfructose) (อุทัย เก้าเอี้ยน, 2549) และ เบต้ากลูแคน (β-Glucan) ซึ่งเป็นโพลีแซคคาไรด์ที่เจอได้ในธรรมชาติ เป็นพอลีเมอร์กลูโคสในส่วนประกอบผนังเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคบางชนิดและพวกฟังไจ ซึ่งประกอบไปด้วยพอลีแซคคาไรด์ที่มีประสิทธิภาพในการใช้งานทางชีวภาพ โดยส่วนใหญ่จะเป็นกลุ่มเบต้ากลูแคนที่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพระบบภูมิคุ้มกันแก่ให้ผู้รับ และช่วยเพิ่มขนาดของเซลล์มาโครฟาจในร่างกาย (Akramiene และคณะ, 2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.3 การห่อหุ้มเซลล์ (Encapsulation)

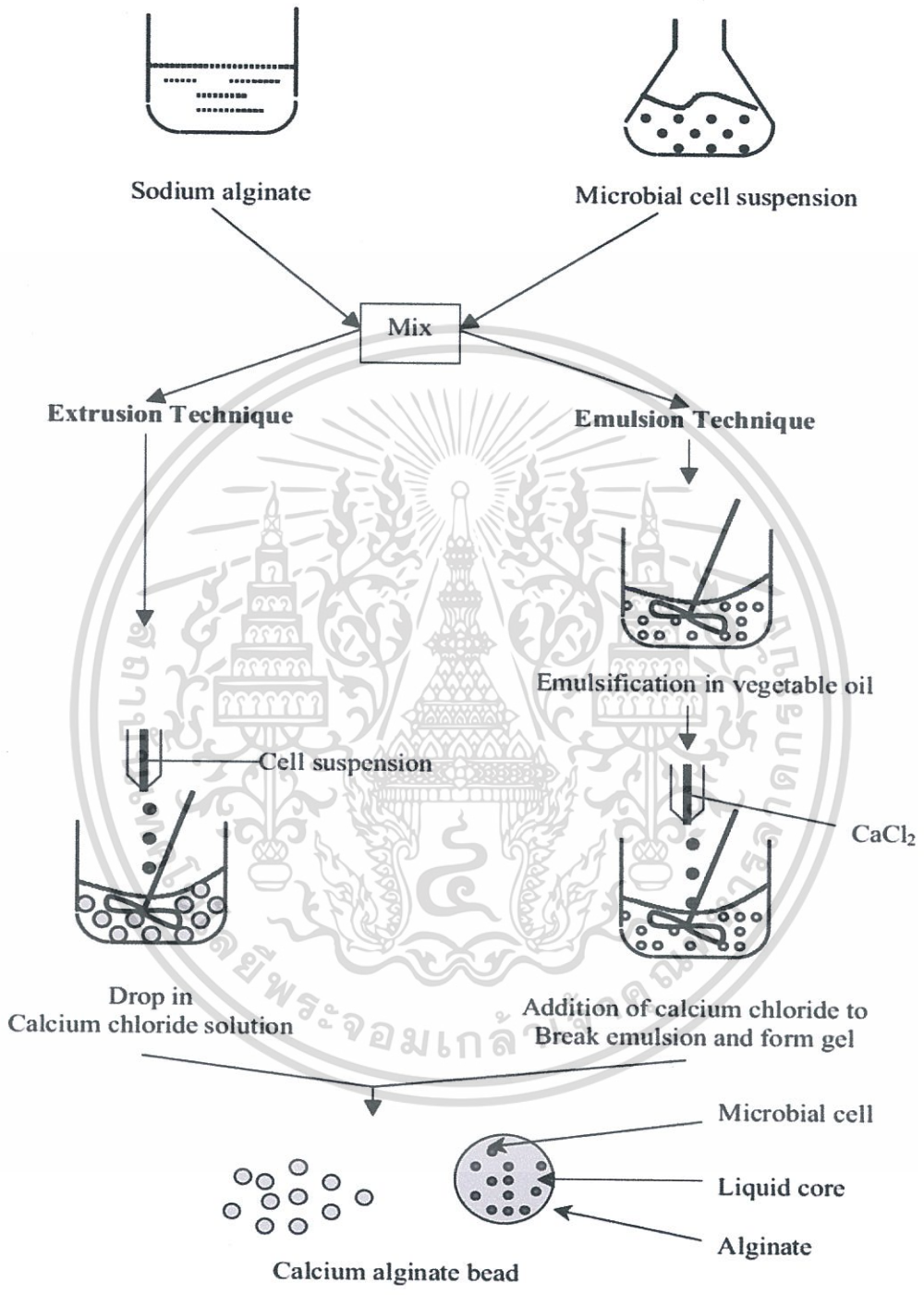
การห่อหุ้มเซลล์เป็นวิธีการที่ใช้ในการปกป้องเซลล์โปรไบโอติก จากสภาวะที่เป็นอันตรายต่อเซลล์ของแบคทีเรียและเป็นวิธีการที่ได้รับความนิยมแพร่หลายอย่างมากในปัจจุบัน โดยมีหลักการคือทำการห่อหุ้มหรือตรึงเซลล์แบคทีเรียที่ต้องการรักษาอัตราการรอดชีวิตไว้ในวัสดุห่อหุ้ม สารที่ใช้ในการห่อหุ้มเซลล์แบคทีเรีย เช่น แคลเซียมอัลจิเนต โซเดียมอัลจิเนต คาราจีแนน และ เจลาติน เป็นต้น เทคนิคที่นิยมใช้ในการห่อหุ้มเซลล์โปรไบโอติกแบบไมโครเอนแคปซูเลชั่น ได้แก่ เทคนิคเอ็กทรูชั่นและเทคนิคอิมัลชั่น (สิรสา สุมงคล, 2556) การห่อหุ้มเซลล์แบบไมโครเอนแคปซูเลชั่น นอกจากจะช่วยเพิ่มการรอดชีวิตของเซลล์แบคทีเรียโปรไบโอติกในทางเดินอาหารแล้ว ยังช่วยป้องกันเซลล์แบคทีเรียจากแบคเทริโอฟาจจากการทดลองของ Steenson และคณะ (1987) ศึกษาผลของการห่อหุ้มเซลล์ *S. lactis* C2 และ *S. cremoris* HP โดยใช้สารห่อหุ้มเป็นแคลเซียมอัลจิเนต จากนั้นเติมเซลล์ดังกล่าวที่ถูกห่อหุ้มในนมหมัก พร้อมกับการเติม ไลติกฟาจพบว่า *S.lactis* C2 และ *S.cremoris* HP ยังสามารถเจริญได้ในนมหมัก นอกจากนี้การห่อหุ้มเซลล์ยังช่วยเพิ่มการรอดชีวิตระหว่างการทำแห้งแบบเยือกแข็งและการแช่แข็ง (Krasaekoopt และคณะ, 2003)

2.3.1 เทคนิคเอ็กทรูชั่น (Extrusion) เป็นวิธีการดั้งเดิมและใช้โดยทั่วไปในการทำเม็ดเจลด้วยไฮโดรคอลลอยด์ โดยทำการเตรียมสารละลายไฮโดรคอลลอยด์ เช่น สารละลายแคลเซียมคลอไรด์ สารละลายโซเดียมคลอไรด์ แล้วจึงเติมเซลล์แบคทีเรียที่ต้องการเก็บรักษาลงไปผสมกัน จากนั้นปล่อยสารแขวนลอยของเซลล์ผ่านหัวเข็มฉีดยาหยดลงไปในสารละลายสำหรับทำให้เจลแข็งตัวเซลลูโลสอะซิเตท ไคโตซาน เจลาติน และอัลจิเนต (Rao และคณะ, 1989) ซึ่งขนาดและรูปร่างของเม็ดเจลสามารถกำหนดได้โดยการควบคุมเส้นผ่านศูนย์กลางของเข็มฉีดยาที่ใช้และความสูงของการหยดสารแขวนลอยของเซลล์ลงในสารละลาย สำหรับทำให้เจลแข็งตัว วิธีการนี้ได้รับความนิยมเป็นอย่างมากเนื่องจากเป็นวิธีที่ง่าย ไม่ซับซ้อน มีต้นทุนในการผลิตต่ำ และส่วนผสมที่ใช้มีสภาวะที่ไม่ส่งผลเสียต่อเซลล์ เซลล์แบคทีเรียจึงมีอัตราการรอดชีวิตได้สูง (Krasaekoopt และคณะ, 2003)

2.3.2 เทคนิคอิมัลชั่น (Emulsion) เทคนิคนี้ใช้การเติมสารแขวนลอยของเชื้อในน้ำเกลือที่ผ่านการฆ่าเชื้อจนปลอดเชื้อที่ความเข้มข้น 0.85 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรเล็กน้อยลงในน้ำมันพืชได้แก่ น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันทานตะวัน น้ำมันคาโนล่าหรือน้ำมันข้าวโพด เป็นต้น โดยส่วนผสมจะถูกตีปั่นจนอยู่ในรูป water-in-oil emulsion จากนั้นจึงเติมสารละลายสำหรับทำให้เจลแข็งตัวลงไป ซึ่งโดยส่วนใหญ่จะเป็นสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ขนาดของเม็ดเจลที่เกิดขึ้นสามารถกำหนดได้โดยควบคุมความเร็วในการตีปั่น โดยแคปซูลที่ได้จะมีขนาดตั้งแต่ 25 ไมโครเมตร ถึง 2 มิลลิเมตร (Krasaekoopt และคณะ, 2003)

โดยสามารถเปรียบเทียบความแตกต่างของวิธีห่อหุ้มแบบเอ็กทรูชั่นกับอิมัลชั่นได้ในภาพที่ 2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**ภาพที่ 2.1** วิธีการห่อหุ้ม วิธีเอ็กทรูชั่นและอิมัลชั่น

ที่มา: Krasaekoopt และคณะ (2003)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

## 3.1 เชื้อที่ใช้และสารเคมี

### 3.1.1 เชื้อที่ใช้

*Lactobacillus plantarum* SM154

### 3.1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

#### 3.1.2.1 สำหรับอาหารเลี้ยงเชื้อ

MRS broth, Difco, U.S.A.

Agar, Difco, U.S.A.

#### 3.1.2.2 สารเคมี

Sodium alginate, Spectrum, U.S.A.

Calcium chloride, The science company, U.S.A.

Potassium chloride, The science company, U.S.A.

Potassium phosphate, Spectrum, U.S.A.

Sodium phosphate dibasic anhydrous, Spectrum, U.S.A.

Sodium chloride, Carlo Erba, Italy

β – Glucan

Sodium chloride, Carlo Erba, Italy

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 3.2 อุปกรณ์

| | |
|---|---|
| ตู้บ่มเชื้อ (Incobater) อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส | (Heraeus, Germany) |
| ตู้แช่แข็ง (Freezer) อุณหภูม -20 องศาเซลเซียส | (Sanyo, Japan) |
| ตู้แช่เย็น (Refrigerator) อุณหภูมิ 19 องศาเซลเซียส | (Sanyo, Japan) |
| หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอ (Autoclave) | (Tommy, Japan) |
| เครื่องชั่ง (Balance) | (Mattler Toledo, Germany) |
| ตู้ปลอดเชื้อ (Laminar air flow) | (BossTech, Thailand) |
| เครื่องเขย่าสาร (Vortex mixer) | (Scientific Industries, U.S.A.) |
| เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH Meter) | (Inolab, Germany) |
| เครื่องปั่นเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภมิ (Centrifuge) | |
| ออโต้ปิเปต (Auto pipette) ขนาด 20-200 | |
| และ 100-1000 ไมโครลิตร | (Brand, Germany) |
| หลอดเซนตริฟิวจ์ (Centrifuge tube) ขนาด 15,50 มิลลิลิตร | |
| กระบอกฉีดยา (Syringe) ขนาด 10 มิลลิลิตร | (Nipro, Japan) |
| เข็มฉีดยา (Needle) ขนาด 21G | (Nipro, Japan) |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

3.3.1 เชื้อจุลินทรีย์สำหรับทำการทดลอง

นำเชื้อจุลินทรีย์ *L. plantarum* SM154 จากตู้เก็บเชื้อจุลินทรีย์ที่ควบคุมอุณหภูมิที่ -20 องศาเซลเซียส ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ทำการละลายแล้วเทลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS 200 มิลลิลิตร ในอุณหภูมิห้อง ที่สภาวะมีอากาศเล็กน้อย เขย่าที่ความเร็ว 160 รอบต่อนาที เป็นเวลา 16 ชั่วโมง ทำการปั่นเหวี่ยงเพื่อเก็บเซลล์ที่อุณหภูมิ 4°c ความเร็วการปั่นเหวี่ยงที่ 2600 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเทสารละลายอาหาร MRS ออก ทำการล้างเซลล์จุลินทรีย์ด้วยสารละลายน้ำเกลือ 0.85% 2 รอบ แล้วทำการปั่นเหวี่ยงเซลล์อีกครั้ง อุณหภูมิ 4°c ความเร็วการปั่นเหวี่ยงที่ 2600 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 15 นาที เทสารละลายน้ำเกลือที่ใช้ล้างจุลินทรีย์ออก เติมสารละลายน้ำเกลือ 0.85% จนมีปริมาตร 50 มิลลิลิตร

3.3.2 การห่อหุ้มเซลล์

ปิเปตเซลล์ *L. plantarum* SM154 มา 1 มิลลิลิตรนำไปผสมกับสารละลายโซเดียมอัลจิเนตความเข้มข้น 3% โดยน้ำหนักต่อปริมาตรที่ผสมเบต้ากลูแคนความเข้มข้น 0% 0.5% 1% 2% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วนำหลอดฉีดยาที่ใช้หัวเข็มขนาด 0.8 มิลลิเมตร ดูดสารละลายโซเดียมอัลจิเนตที่ผสมเซลล์ *L. plantarum* SM154 10 มิลลิลิตร หยดลงในหลอดเซนทิฟิว ที่บรรจุสารละลายแคลเซียมคาร์บอเนต 0.05 M 9 มิลลิลิตร ควรเขย่าเล็กน้อยเพื่อป้องกันไม่ให้โซเดียมอัลจิเนตจับตัวกันเป็นก้อน ทำการพักเม็ดแคปซูลในสารละลายแคลเซียมคาร์บอเนต 30 นาที เพื่อเม็ดแคปซูลแข็งตัว เสร็จแล้วเทสารละลายแคลเซียมคาร์บอเนตผ่านที่กรองให้เหลือแต่เม็ดแคปซูล ล้างเม็ดแคปซูลด้วยสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 1 M pH 7.4 2 ครั้ง แล้วเทสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ออก เม็ดแคปซูลถูกเก็บรักษาในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 1 M pH 7.4 1 มิลลิลิตรบรรจุในหลอดเซนทิฟิว นำไปเก็บรักษาในตู้เย็นอุณหภูมิ 19°c

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.3 การนับจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตและวิเคราะห์ลักษณะ

ทำการตรวจวิเคราะห์จำนวนเซลล์ทุก 5 วัน โดยนำหลอดเซนทิฟิวตัวอย่างที่ผสมเบต้ากลูแคนในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ มาเข้าเครื่อง หมุนเขย่า เพื่อให้แคปซูลแตก แล้วทำการเจือจางตัวอย่างให้มีระดับการเจือจางที่ $10^{-5}$ $10^{-6}$ $10^{-7}$ ด้วยสารละลายน้ำเกลือ 0.85% เสร็จแล้วปิเปตตัวอย่างที่ระดับการเจือจาง $10^{-5}$ $10^{-6}$ $10^{-7}$ มาตัวอย่างละ 0.1 มิลลิลิตร หยดลงบนเพลทอาหารวุ้น MRS ที่เตรียมไว้ ทำการ สเปรดเพลท (Spread plate) นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน ทำการเก็บบันทึกผล โดยนับจำนวนโคโลนีที่แยกออกเห็นเป็นโคโลนีเดี่ยวชัดเจน จดบันทึกผลแล้วเปรียบเทียบอัตราการรอดชีวิตของเซลล์จุลินทรีย์ในแต่ละตัวอย่าง พร้อมกับถ่ายรูปเม็ดแคปซูลด้วยกล้องจุลทรรศน์เพื่อเปรียบเทียบลักษณะของเม็ดแคปซูลในแต่ละตัวอย่าง ที่เวลาเท่ากัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

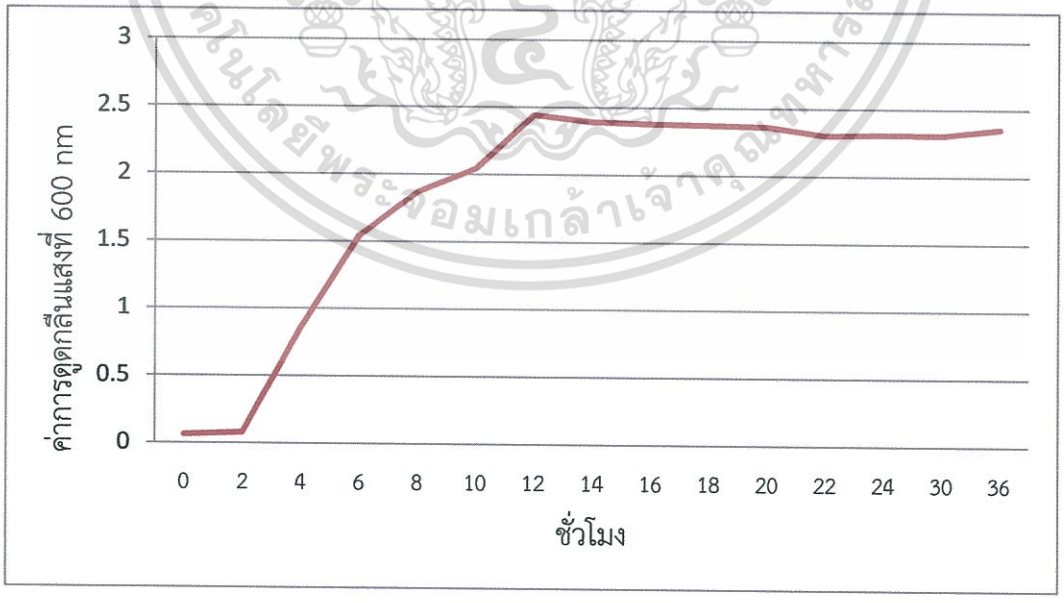
# บทที่ 4

# ผลการทดลองและวิจารณ์

งานศึกษาวิจัยนี้ได้ทำการทดลอง เพื่อศึกษาผลของเบต้ากลูแคนต่อการรอดชีวิตระหว่างเก็บรักษาของ *Lactobacillus plantarum* SM154 ที่ถูกห่อหุ้ม ในการใช้ร่วมกับการห่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์โปรไบโอติกโดยวิธีเอ็กทรูชั่น โดยขั้นตอนแรกทำการหากราฟการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* SM154 เพื่อหาช่วงระยะเวลาที่เซลล์จุลินทรีย์มีการเจริญของเซลล์มากที่สุด เพื่อนำมาทำการห่อหุ้มด้วยโซเดียมอัลจิเนตความเข้มข้น 3% ที่ผสมเบต้ากลูแคนความเข้มข้น 0% 0.5% 1% และ 2% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และทำการเปรียบเทียบการรอดชีวิตของ *L. plantarum SM154*

## 4.1 การศึกษาการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus plantarum* SM154

การศึกษาเจริญของเซลล์จุลินทรีย์ *Lactobacillus plantarum* SM154 ที่เลี้ยงในอาหารเหลว MRS เป็นเวลา 36 แสดงดังภาพที่ 4.1 พบว่าใน 2 ชั่วโมงแรก เชื้ออยู่ในช่วง Lag phase ซึ่งยังไม่มีการเจริญของเชื้อ เมื่อจากผ่านชั่วโมงที่ 2 จะพบว่าเชื้อมีการเข้าสู่ช่วง Log phase นั่นคือมีการเจริญของเชื้อเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว จนถึงชั่วโมงที่ 12 การเจริญของเชื้อเริ่มคงที่ เชื้อเริ่มเข้าสู่ Stationary phase จากการเจริญของเชื้อ *Lactobacillus plantarum* SM154 จึงได้เลือกเชื้อในช่วงอายุการเจริญที่ 16 ชั่วโมง มาทำการห่อหุ้ม เนื่องจากเป็นช่วงที่เชื้อมีการเจริญคงที่

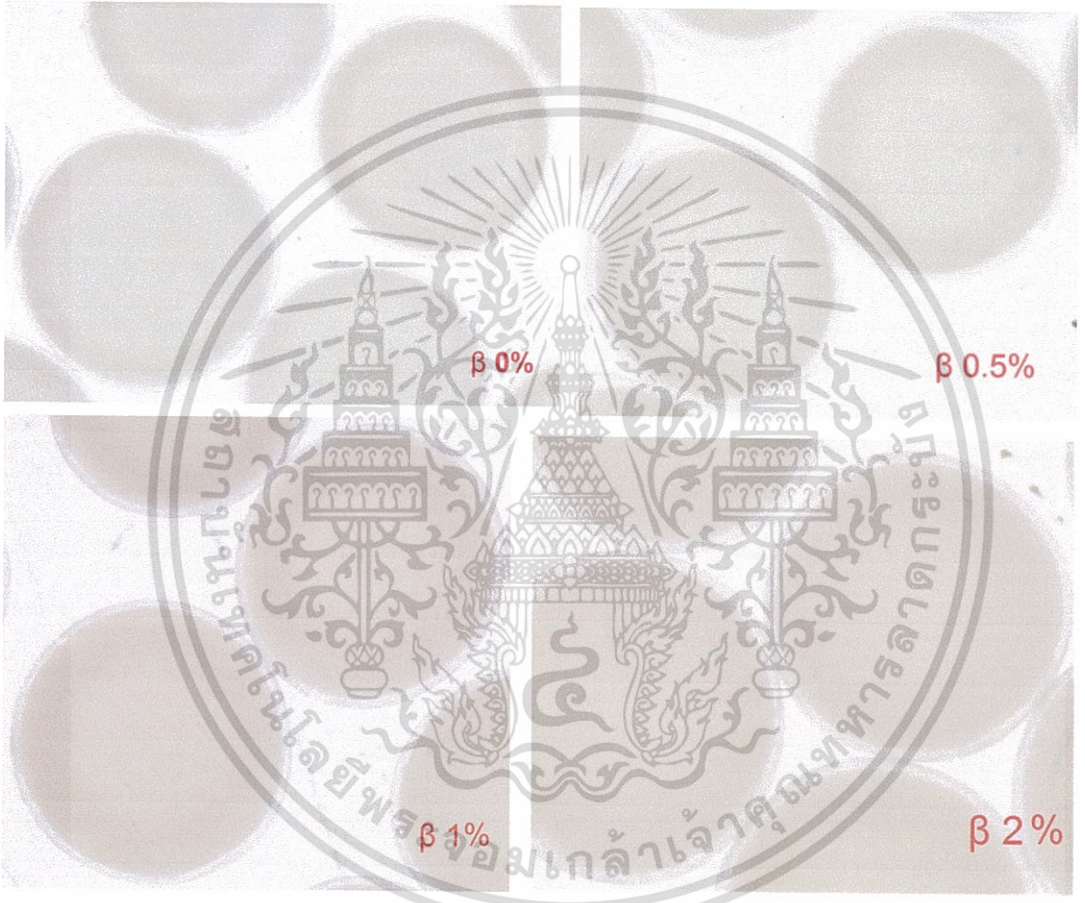



**ภาพที่ 4.1** กราฟค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์จุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 4.2 การศึกษารูปร่างและขนาดของแคปซูล

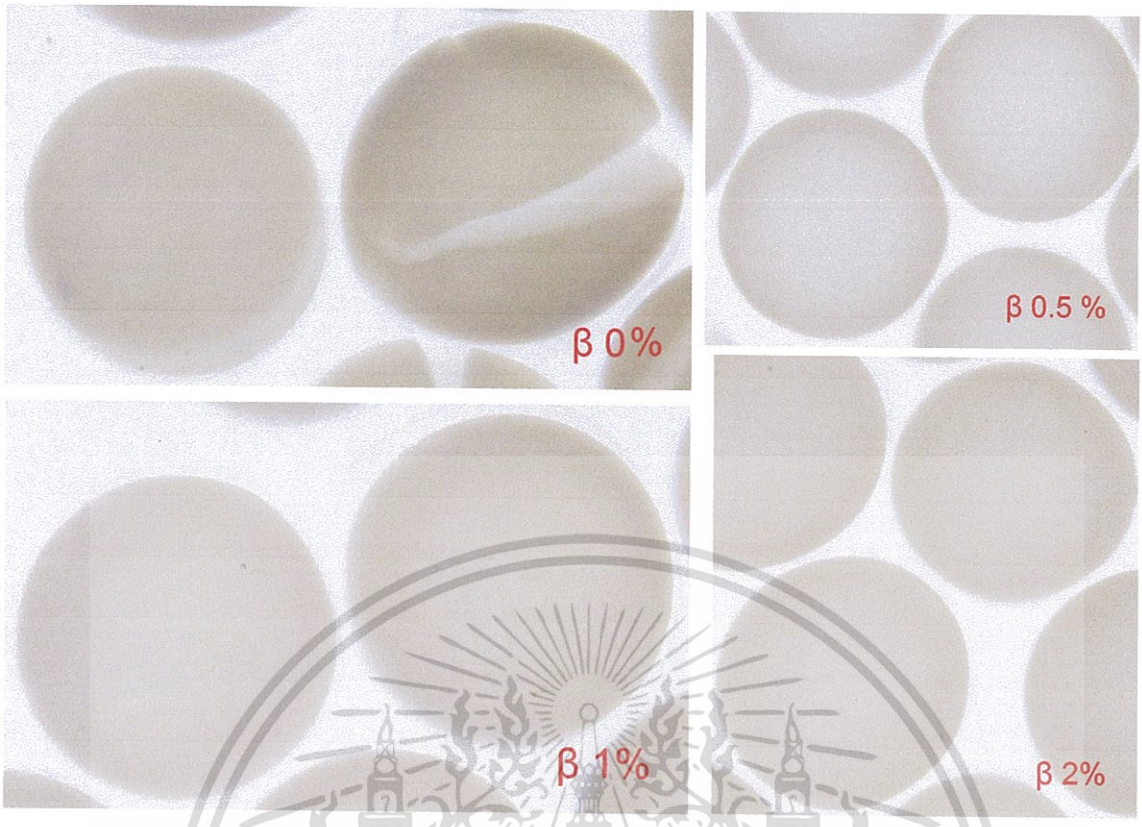
รูปร่างและของเม็ดแคปซูลที่ทำการห่อหุ้มเซลล์ *L. plantarum* SM154 ร่วมกับเบต้ากลูแคนที่ความเข้มข้น 0%, 0.5%, 1%, และ 2% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร แสดงดังภาพที่ 4.2 และภาพที่ 4.3 และตารางที่ 4.2 และมีลักษณะเป็นทรงกลมผิวเรียบ สีขาวขุ่น มีขนาดเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ย 0.003 µm




**ภาพที่ 4.2** ลักษณะเม็ดแคปซูลวันที่ 0

เมื่อนำเม็ดแคปซูลของทุกตัวอย่างที่เก็บรักษาไว้เป็นเวลา 0 วัน และ 10 วัน มาเปรียบเทียบกัน พบว่า เม็ดแคปซูลของทุกตัวอย่างในวันที่ 10 มีลักษณะปริแตกเป็นบางส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**ภาพที่ 4.3** ลักษณะเม็ดแคปซูลวันที่ 10

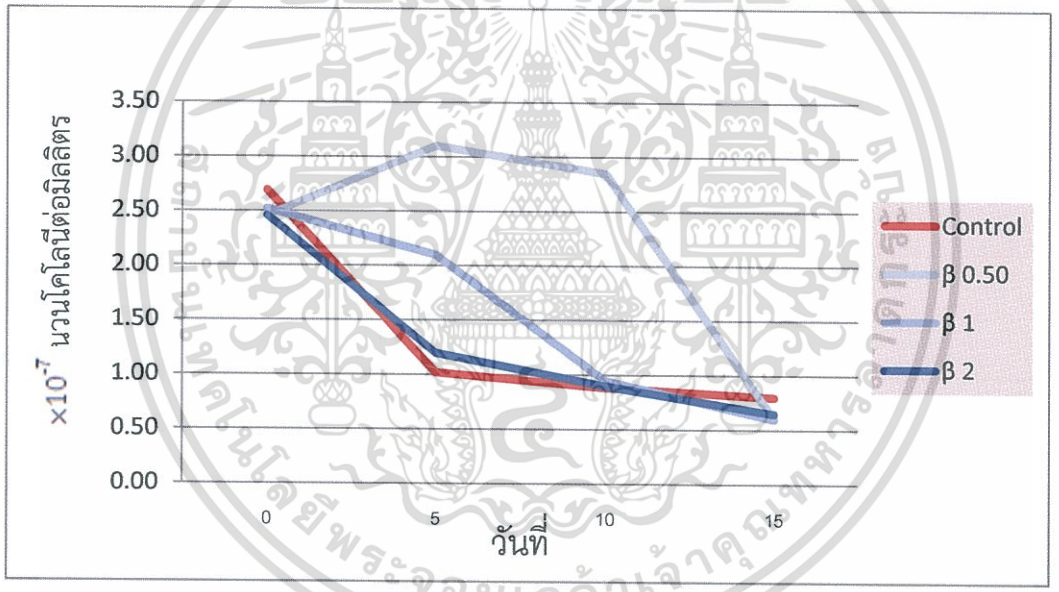
**ตารางที่ 4.2** ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางและพื้นที่ผิวแคปซูลในวันที่ 5 และ 10

| ปริมาณเบต้ากลูแคน(%) | วันที่ 5 | | วันที่ 10 | |
|---|---|---|---|---|
| | เส้นผ่านศูนย์กลาง (μm) | พื้นที่ผิว ($\mu m^2$) | เส้นผ่านศูนย์กลาง (μm) | พื้นที่ผิว ($\mu m^2$) |
| 0 | 0.003 | 0.0376 | 0.00259 | 0.0325 |
| 0.5 | 0.0025 | 10.0315 | 0.00249 | 0.0312 |
| 1 | 0.00281 | 0.0352 | 0.00255 | 0.0320 |
| 2 | 0.00251 | 0.0315 | 0.00247 | 0.0310 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 4.3 การศึกษาการรอดชีวิตของเซลล์ *L. plantarum* SM154 ที่ถูกห่อหุ้ม

จากผลการทดลอง การห่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ร่วมกับเบต้ากลูแคนที่ความเข้มข้น 0%, 0.5%, 1% และ 2% โดยวิธีการเอนแคปซูเลชั่นสามารถเพิ่มอัตรารอดชีวิตของเซลล์จุลินทรีย์ได้มากกว่าการใช้วิธีเอนแคปซูเลชั่นห่อหุ้มเซลล์เพียงอย่างเดียว จากภาพที่ 4.4 แสดงผลการนับจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิตรอดในแต่ละตัวอย่างพบว่าวันที่ 5 ตัวอย่างที่ผสมเบต้ากลูแคน 0.5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ให้ผลการนับจำนวนจุลินทรีย์รอดชีวิตมากสุด โดยมีจำนวนอยู่ที่ $3.10 \times 10^7$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ซึ่งมากกว่าตัวอย่างที่ไม่ได้ผสมเบต้ากลูแคนซึ่งมีจำนวนจุลินทรีย์รอดชีวิตอยู่ที่ $1.02 \times 10^7$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร และการเก็บผลจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตจนถึงวันที่ 10 ให้ผลตัวอย่างที่ผสมเบต้ากลูแคน 0.5% มีอัตราการรอดชีวิตของเซลล์จุลินทรีย์มากที่สุด โดยมีจำนวนอยู่ที่ $2.85 \times 10^7$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ในขณะที่ตัวอย่างที่ไม่ได้ผสมเบต้ากลูแคน เหลือจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตอยู่ $8.80 \times 10^6$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร




**ภาพที่ 4.4** กราฟจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตในวันที่ 5, 10 และ 15

และเมื่อทำการเก็บผลการทดลองในวันที่ 15 พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้ง 4 ตัวอย่างลดลงต่ำกว่า $1.00 \times 10^7$ โคโลนีต่อมิลลิลิตรทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.3** เปอร์เซ็นจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตในตัวอย่างที่ผสมเบต้ากลูแคน 0%, 0.5%, 1% และ 2% ที่ทำการเก็บรักษา 15 วัน

| วันที่ | % เซลล์จุลินทรีย์ที่รอดชีวิต | | | |
|---|---|---|---|---|
| | เบต้ากลูแคน 0 % % | เบต้ากลูแคน 0.5 % | เบต้ากลูแคน 1 % | เบต้ากลูแคน 2 |
| 0 | 100 | 91.45 | 93.68 | 91.45 |
| 5 | 37.92 | 115.24 | 78.07 | 44.61 |
| 10 | 32.90 | 105.95 | 35.32 | 33.46 |
| 15 | 29.74 | 22.49 | 22.30 | 24.16 |

จากตารางที่ 4.3 เปรียบเทียบเปอร์เซ็นของเซลล์จุลินทรีย์ที่รอดชีวิตในตัวอย่างที่ทำการห่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ *L. plantarum* SM154 ร่วมกับเบต้ากลูแคนที่ความเข้มข้น 0% 0.5% 1% และ 2% ตัวอย่างที่มีเปอร์เซ็นของเซลล์จุลินทรีย์รอดชีวิตมากที่สุดหลังจากเก็บรักษา 5 วัน คือ ตัวอย่างที่ผสมเบต้ากลูแคน 0.5% โดยมีเปอร์เซ็นเซลล์จุลินทรีย์ที่รอดชีวิตเพิ่มขึ้นเป็น 115.24% ในขณะที่ตัวอย่างที่มีเบต้ากลูแคน 0% 1% และ 2% มีเปอร์เซ็นเซลล์จุลินทรีย์ที่รอดชีวิตเป็น 37.92% 78.07% และ 44.61% ตามลำดับ เมื่อทำการเก็บรักษาจนถึงวันที่ 10 ตัวอย่างที่มีเปอร์เซ็นเซลล์จุลินทรีย์ที่รอดชีวิตมากที่สุดยังคงเป็นตัวอย่างที่ผสมเบต้ากลูแคน 0.5% โดยมีเปอร์เซ็นเซลล์จุลินทรีย์ที่รอดชีวิตเป็น 105.95% ในขณะที่ตัวอย่างที่มีเบต้ากลูแคน 0% 1% และ 2% มีเปอร์เซ็นเซลล์จุลินทรีย์ที่รอดชีวิตเป็น 32.90%, 35.32% และ 33.46% ตามลำดับ และเมื่อทำการเก็บรักษาจนถึงวันที่ 15 ตัวอย่างที่ผสมเบต้ากลูแคน 0% 0.5% 1% และ 2% มีเปอร์เซ็นเซลล์จุลินทรีย์ที่รอดชีวิตเหลือ 29.74% 22.49% 22.30% และ 24.16% ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 5

# สรุปผลและข้อเสนอแนะ

## 5.1 สรุปผล

ตัวอย่างที่ผสมเบต้ากลูแคน 0.5% โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ให้ผลการรักษาอัตรารอดชีวิตของเชื้อจุลินทรีย์ *L. plantarum* SM154 ได้มากที่สุดในระยะการเก็บรักษาที่ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 19°C

## 5.2 วิจารย์ผลการทดลอง

เบต้ากลูแคนที่ใช้ร่วมกับการห่อหุ้มเซลล์จุลินทรีย์ *Lactobacillus* สามารถช่วยป้องกันสภาวะภายนอกที่ไม่เหมาะสมต่อเซลล์ได้ (Asima และคณะ, 2015) ในวันที่ 15 ของการเก็บรักษา ผลการนับจำนวนโคโลนีของเชื้อ *L. plantarum* SM154 ที่รอดชีวิตในตัวอย่าง มีจำนวนลดลงเหลือต่ำกว่า 1.00 โคโลนี ในทุกตัวอย่าง โดยเฉพาะตัวอย่างที่ผสมเบต้ากลูแคน 0.5% มีอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรีย์ลดลงอย่างรวดเร็วจากวันที่ 10 ถึงวันที่ 15 ของการเก็บรักษา พบว่าจุลินทรีย์ *L. plantarum* SM154 ลดลงไป 83.46% เนื่องมาจากอุณหภูมิที่ใช้เก็บรักษาไม่เหมาะสมต่อการรอดชีวิตของเชื้อจุลินทรีย์ จึงทำให้เชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญขึ้นมาในระดับหนึ่งไม่สามารถทนอุณหภูมิที่ไม่เหมาะสม จึงเกิดการเสียชีวิตลงพร้อมกันในทุกตัวอย่าง

## 5.3 ข้อเสนอแนะ

### 5.3.1 การปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ระหว่างห่อหุ้ม

เนื่องจากการทดลองวิเคราะห์ประสิทธิภาพของเบต้ากลูแคน ในการรักษาอัตรารอดชีวิตของเซลล์จุลินทรีย์ *L. plantarum* ร่วมกับการห่อหุ้มแบบเอ็กทรูชั่น ต้องการสภาพแวดล้อมที่ปลอดเชื้อในระหว่างทำการห่อหุ้ม จึงควรทำการห่อหุ้มในตู้ปลอดเชื้อที่ทำการเช็ดฆ่าเชื้อและเปิดให้แสง UV เพื่อกำจัดเชื้อแบคทีเรีย (Manuela และคณะ, 2015) ที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนในระหว่างทำการห่อหุ้ม ซึ่งหากเกิดการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ไม่ต้องการ ก็จะส่งผลให้การเก็บผลจำนวนจุลินทรีย์ที่รอดชีวิตในตัวอย่างไม่สามารถเก็บได้ เนื่องจากเกิดโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์ตัวอื่นที่ไม่ใช่ *L. plantarum* SM154 ทำให้ไม่สามารถนับจำนวนโคโลนีของ *L. plantarum* SM154 ที่รอดชีวิตอยู่ในตัวอย่างได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง


### 5.3.2 อุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาตัวอย่าง

ระหว่างการเก็บรักษาตัวอย่างหากอุณหภูมิที่ใช้เก็บรักษา ไม่เหมาะสมต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่ศึกษาก็จะทำให้การเจริญของเชื้อมีระยะสั้นลง เชื้อที่รอดชีวิตในตัวอย่างจะมีจำนวนลดลงเนื่องจากสภาวะที่ไม่เหมาะสม จึงควรเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobcillus* ในอุณหภูมิต่ำช่วง 2-8 องศาเซลเซียส (ATCC, 2015)

### 5.3.3 งานวิจัยที่จะศึกษาต่อไป

ศึกษาประสิทธิภาพในการรักษาอัตรารอดชีวิตของจุลินทรีย์โปรไบโอติกโดยการห่อหุ้มร่วมกับเบต้ากลูแคนที่เก็บรักษาในสภาวะที่มีความเป็นกรดสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
148844

# บรรณานุกรม

นวลจันทร์ พารักษา. 2533. สาระน่ารู้เกี่ยวกับโปรไบโอติก. วารสารสุกรสาส์น. 16: 6-13.

สิรสา สุมงคล. 2556. การเพิ่มการรอดชีวิตของแบคทีเรียโปรไบโอติกโดยวธีห่อหุ้มร่วมกับเส้นใยจากพืชหัว. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ. คณะวิทยาศาสตร์.มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

อุทัย คันโธ. 2535. หลักการโปรไบโอติกในอาหารสัตว์. วารสารสุกรสาส์น. 18: 11-16.

อุทัย เก้าเอี้ยน. 2549. Probiotic. สงขลานครินทร์เวชสาร. 24: 316.

อัจฉรา เพิ่ม. 2550. แบคทีเรียแลคติก. สงขลา: มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา.

Akramiene, D., Kondrotas, A. et al. 2007 Effects of beta-glucans on the immune system. Journal of Lithuanian Medical Asociation. 43: 597-606.

Asima Shah, Adil Gani, Mudasir Ahmad, Bilal Ahmad Ashwar, F.A. Masoodi. 2015. β –Glucan as an encapsulating agent: Effect on probiotic survival in simulated gastrointestinal tract. International journal of Biological Macromolecules. 82: 217-222.

ATCC, *Lactoacillus plantarum* Product sheet. ATCC 8014.

Ding and Shah. 2008. Survival of free and microencapsulated probiotic bacteria in orange and apple juices International. Food Research Journal . 15: 219–232.

Ding and Shah. 2007. Acid, bile and heat tolerance of free and microencapsulated probiotic bacteria. Journal of Food Science 72: 46–50.

Estefanía, V., Cases, and María, J., Frutos. 2015. Effect of different types of encapsulation on the survival of *Lactobacillus plantarum* during storage with inulin and in vitro digestion. Food Science and Technology. 64: 824-828.

Fernández, M. F., Boris, S. and C., Barbés. 2003. Probiotic properties of human lactobacilli strains to be used in the gastrointestinal tract. Microbiol. 94: 449-445.

Fuller, R. 1993. Probiotic food current use and future developmented. International Food Ingredient. 3: 23-26.

Gionchetti, P., Rizzello, F., Venturi, A., Palmonari, V., Morseli, C. 2002. Probiotic role in inflammatory bowel disease. Digestive and Liver Disease 34: 58-62.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Homayouni, A., Ehsani, M. R., Azizi, A., Razavi, S. H. and Yarmand, M. S. 2007. An introduction to functional dairy foods. In Proceedings of the First National Functional Food Congress . 60.

Homayouni, A. Azizi, M. R. Ehsani, M. S. Yarmand, S. H. Razavi. 2008. Effect of microencapsulation and resistant starch on the probiotic survival and sensory properties of synbiotic ice cream. Food Chemistry. 111: 50–55.

Kajander, K., Hatakka, K., Poussa. T., Rkkil, M., and Korpela, R. 2005. A probiotic mixture alleviates symptoms in irritable bowel syndrome patients: a controlled 6 month intervention. Alimentary Pharmacology and Therapeutics. 22: 387–394.

Krasaekoopt, B. Bhandari. and H. Deeth. 2003. Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt International. Dairy Journal. 13: 3–13.

Kontula, P., Jaskari, J., Nollet, L. De, Smet, I., Von, Wright, A. Poutanen K. and Mattila, S. T. 2004. The colonization of a simulator of the human intestinal microbial ecosystem by a probiotic strain fed on a fermented oat bran product: effects on the gastrointestinal microbiota. Applied Microbiology and Biotechnology. 50: 246-52.

Michael, T. Cooka. and George, T. Dimitrischaralampopoulos. 2012. Microencapsulation of probiotics for gastrointestinal delivery. Journal of Controlled Release. 162: 56–67.

Manuela, B., M. Stanislauskas, B. Ponnaiya, A. W. Bigelow, G. Randers Pehrson. 2015. 207nm UV Light A Promising Tool for Safe Low Cost Reduction of Surgical Site Infection. II: Invivo Safety Studies. Journal Public Library of Science. 8: 1-7.

Rao, D., Prasad, J., Krishnamacharlu, E., Krishna, N. 1989 Effect of replacing maize grain with groundnut haulms on the performance, nutrient utilization and carcass traits in native pigs. Indian journal of animal nutrition. 6: 234-239.

Saggioro, A. 2004. Probiotics in the treatment of irritable bowel syndrome. Journal of Clinical Gastroenterology. 38: 104-106.

Sheehan, P. Ross. and G.F. Fitzgerald. 2007. Assessing the acid tolerance and the technological robustness of probiotic cultures for fortification in fruit juices. Innovative Food Science and Emerging Technologies. 8: 279–284.

Slover, C.M. 2008. *Lactobacillus* : a review. Clinical Microbiol Newsletter. 30: 23-27.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Steenson, L., Klaenhammer, T. and Swaisgood, H. 1987. Calcium alginate-immobilized cultures of lactic streptococci are protected from bacteriophages. Journal of Dairy Science. 70: 1121-1127.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ก

## การเตรียมสาร

**เตรียมสารละลายโซเดียมอัลจิเนตผสมเบต้ากลูแคน**

ชั่งโซเดียมอัลจิเนต 1.2 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร บรรจุใส่ภานะ 100 มิลลิลิตร จำนวน 4 ขวด ชั่งเบต้ากลูแคนที่ทำการบดละเอียดแล้ว 0.2กรัม 0.4กรัม และ 0.8กรัม เพื่อนำไปผสมกับสารละลายโซเดียมอัลจิเนตเป็น สารละลายโซเดียมอัลจิเนตผสมเบต้ากลูแคน 0.5% 1% และ 2% โดยปริมาตร ตามลำดับ และสารละลายโซเดียมอัลจิเนตที่ไม่ผสมเบต้ากลูแคนนับเป็น 0% นำสารละลายโซเดียมอัลจิเนตผสมเบต้ากลูแคนเข้าตู้อบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที นำไปจัดเก็บในอุณหภูมิห้อง

**การเตรียมอาหาร**

นำเพลทแก้วไปอบฆ่าเชื้อที่ตู้อบฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เตรียมอาหารสำหรับเทใส่เพลทแก้ว โดยเตรียมขวดสำหรับเทอาหารขนาด 200 มิลลิลิตร ชั่ง Agar 4 กรัม, อาหาร MRS 11 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่น 200 มิลลิลิตร บรรจุใส่ขวดสำหรับเทอาหาร นำเข้าตู้อบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ121องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที นำอาหารที่ฆ่าเชื้อแล้วมาเทลงในเพลทแก้วที่ฆ่าเชื้อแล้ว จัดเก็บให้ปลอดภัยจากแมลง

**การเตรียมสารละลายน้ำเกลือ 0.85%**

เตรียมภาชนะสำหรับบรรจุสารละลายน้ำเกลือ 0.85% 1 ลิตร ชั่ง Nacl 8.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตรใส่ภาชนะ แบ่งบรรจุใส่หลอดทดลองโดยใช้ปิเปต หลอดละ 9 มิลลิลิตร ปิดฝาให้มิดชิด นำเข้าตู้อบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที เสร็จแล้วนำไปเก็บ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ประวัติผู้เขียน

| | |
|---|---|
| ชื่อ-นามสกุล | ชัยวัฒน์ ซาซากิ |
| วัน เดือน ปีเกิด | 7 กันยายน 2536 |
| ประวัติการศึกษา | ระดับมัธยมต้น โรงเรียนอุดมศึกษาปี 2551 |
| | ระดับมัธยมปลาย โรงเรียนสายปัญญารังสิตปี 2554 |
| | ระดับปริญญาตรี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ปี 2558 |
| ประสบการณ์ทำงานและผลงานวิจัย | - |
| รางวัลที่เคยได้รับ | - |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้