



การผลิตผลิตภัณฑ์ไบโอติกซีเนอร์จีและการประยุกต์ใช้แพลตฟอร์มการนำเสนอ

นางสาวชลธร บัวโรย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ

ปีการศึกษา 2568

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ

การผลิตผลิตภัณฑ์ไบโอติกซีเนอร์จีและการประยุกต์ใช้แพลตฟอร์มการนำเสนอ

นางสาวชลธร บัวโรย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาลัทธิ

วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ

ปีการศึกษา 2568

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ



ใบรับรองโครงงานวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ

เรื่อง การผลิตผลิตภัณฑ์ไบโอติกซีเนออร์จีและการประยุกต์ใช้แพลตฟอร์มการนำส่ง

โดย นางสาวชลธร บัวโรย

ได้รับอนุมัติให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชา
เทคโนโลยีชีวภาพ

..... คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย / หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพจน์ จันทรวีวัฒน์)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(รองศาสตราจารย์ ดร.ศศิธร คงเรือง)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ดร.ณิชารีย์ วิสุทธิแพทย์)

ชื่อ : นางสาวชลธร บัวโรย
 ชื่อวิทยานิพนธ์ : การผลิตผลิตภัณฑ์ไบโอติกชีเนอร์จีและการประยุกต์ใช้
 แพลตฟอร์มการนำส่ง
 สาขาวิชา : เทคโนโลยีชีวภาพ
 มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ
 อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก : รองศาสตราจารย์ ดร.ศศิธร คงเรือง
 อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม : ดร.ณิชากรีย์ วิสุทธิแพทย์
 ปีการศึกษา : 2568

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตมวลเซลล์โพรไบโอติกและประเมินประสิทธิภาพแพลตฟอร์มการนำส่งโพรไบโอติก โดยใช้ *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129 และ *Lactobacillus sporogenes* BC 208 การศึกษาจลนพลศาสตร์การผลิตมวลเซลล์ พบว่า *B. bifidum* TISTR 2129 ให้ผลผลิตมวลชีวภาพ ($Y_{x/s}$) สูงกว่า น้ำหมักจากทั้งสองสายพันธุ์มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระประมาณร้อยละ 40 การผลิตกรดไขมันสายสั้นที่เป็นประโยชน์ และการผลิตเม็ดปิดห่อหุ้มโพรไบโอติก 4 สูตร ด้วยอัลจิเนต อินนูลิน และเคลือบไคโตซาน พบว่าสูตร AIC (อัลจิเนตผสมอินนูลินเคลือบไคโตซาน) มีประสิทธิภาพการห่อหุ้มสูงสุด เท่ากับ 92.56 ± 0.09 เปอร์เซ็นต์ การทดสอบการจำลองการย่อยอาหารด้วยระบบ INFOGEST แสดงให้เห็นว่าสูตร AIC สามารถปกป้องโพรไบโอติกในสภาวะกรดในกระเพาะอาหารและปลดปล่อยอย่างต่อเนื่องในลำไส้ โดยมีการปลดปล่อยโพรไบโอติกที่ $7.32 \pm 0.03 \log \text{CFU/mL}$ และสอดคล้องกับแบบจำลองคอร์สไมเยอร์-เพปปาส (Korsmeyer–Peppas) ($R^2 = 0.99667$) นอกจากนี้ สูตร AIC มีความปลอดภัยต่อเซลล์เยื่อบุลำไส้ Caco-2 ความมีชีวิตรอดของเซลล์ 100 เปอร์เซ็นต์ และมีความสามารถในการจับไขมันอิ่มตัวสูง (1.35 กรัมไขมัน/กรัมเม็ดปิด) โดยมีอายุการเก็บรักษาที่คาดการณ์ ณ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เท่ากับ 1 ปี 3 เดือน 8 วัน ผลการวิจัยชี้ว่าแพลตฟอร์มนี้มีศักยภาพสูงในการเพิ่มความมีชีวิตรอดและการทำงานของโพรไบโอติก สามารถต่อยอดสู่การพัฒนาผลิตภัณฑ์ไบโอติกชีเนอร์จีเชิงพาณิชย์

คำสำคัญ : โพรไบโอติกชีเนอร์จี, โพรไบโอติก, ชินไบโอติก, การห่อหุ้ม, อัลจิเนต, อินนูลิน, ไคโตซาน

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

Name : Miss Chonlatorn Buaroy
Thesis Title : Production of Biotic Synergy Product and Application
of Carrier Platform
Major Field : Biotechnology
King Mongkut's University of Technology North
Bangkok
Thesis Advisor : Associate Professor Dr. Sasithorn Kongruang, Ph.D.
Co-Advisor : Dr. Nicharee Wisuthiphaet, Ph.D.
Academic Year : 2025

ABSTRACT

This study aimed to produce and evaluate a synbiotic-based probiotic delivery platform using *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129 and *Lactobacillus sporogenes* BC 208. Cell growth kinetics revealed that *B. bifidum* TISTR 2129 had a higher biomass yield, while fermentation broths of both strains exhibited ~40% antioxidant activity and produced beneficial short-chain fatty acids such as lactic acid, acetic acid and formic acid. Four encapsulation formulations were developed using alginate, inulin, and chitosan coating. The AIC (alginate-inulin with chitosan coating) showed the highest encapsulation efficiency ($92.56 \pm 0.09\%$) and enhanced structural integrity as confirmed by FTIR analysis. Simulated gastrointestinal digestion (INFOGEST) indicated that AIC beads effectively protected probiotics under gastric conditions and achieved sustained release in the intestinal phase with the viable cell count of 7.32 ± 0.03 log CFU/mL, fitting the Korsmeyer–Peppas model ($R^2 = 0.99667$). AIC beads were non-toxic to Caco-2 cells (cell viability 100%) and exhibited high saturated fat-binding capacity (1.35 g lipid /g beads). Freeze-dried AIC beads demonstrated the highest storage stability, with a predicted shelf life of 1 year, 3 months, and 8 days at 4 °C. These results suggest that the developed synbiotic platform can enhance probiotic survival and functional activity, supporting its potential application in high-quality, safe biotic synergy product development.

Keywords: Biotic synergy, Probiotic, Synbiotic, Encapsulation, Alginate, Inulin, Chitosan

Advisor

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยความรู้และการสนับสนุนอย่างดียิ่งจาก รองศาสตราจารย์ ดร.ศศิธร คงเรือง อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ซึ่งได้กรุณาให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็น และคำปรึกษาอย่างใกล้ชิดตลอดระยะเวลาการทำวิจัย รวมทั้ง ดร.ณิชารีย์ วิสุทธิแพทย์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ที่ได้ให้คำแนะนำและชี้แนะแนวทางการวิจัยอย่างต่อเนื่อง ผู้วิจัย ขอกราบขอบพระคุณ ดร.กิตติวุฒิ เกษมวงศ์ ประธานกรรมการสอบป้องกัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อานนท์ ขำแก้ว กรรมการ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระ นครเหนือ ที่ให้คำแนะนำและสนับสนุนด้านวิชาการตลอดโครงการวิจัยนี้ นอกจากนี้ ผู้วิจัยขอ กราบขอบพระคุณบริษัท เอ็นเซอร์ฟ โพลติ้ง จำกัด ที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยอันเป็นปัจจัยสำคัญให้ การศึกษาวิจัยครั้งนี้สำเร็จสมบูรณ์

ท้ายที่สุด ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา และพี่น้อง ที่ให้การสนับสนุนทั้งด้าน กำลังใจและด้านการเงินอย่างไม่ขาดสาย จนผู้วิจัยสามารถดำเนินการศึกษาและสำเร็จการศึกษาได้ ตามความมุ่งหมาย

ชลธร บัวโรย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง (ถ้ามี).....	ช
สารบัญรูปภาพ (ถ้ามี).....	ซ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2. วัตถุประสงค์.....	2
1.3. ขอบเขตการวิจัย.....	3
1.4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	4
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1. ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเชิงโภชนบำบัด (Nutraceuticals).....	5
2.2. ผลิตภัณฑ์ไบโอติกซินเนอร์จี (Biotic synergy products).....	15
2.3. การห่อหุ้มโพรไบโอติก (Probiotic encapsulation).....	36
2.4. จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร (Gut microbiome).....	40
2.5. การจำลองการย่อยอาหาร (Partial simulated gut model).....	44
2.6. จลพลศาสตร์การปลดปล่อยของโพรไบโอติก.....	45
2.7. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	46
2.8. สิทธิบัตรและอนุสิทธิบัตรที่เกี่ยวข้อง.....	55

บทที่ 3 วิธีการทดลอง.....	60
3.1. โพรไบโอติก อาหารเลี้ยงเชื้อ และสารเคมี.....	38
3.2. อุปกรณ์และเครื่องมือการวิเคราะห์.....	61
3.3. วิธีการทดลอง.....	63
บทที่ 4 ผลการทดลอง.....	71
4.1. ผลการศึกษาการเจริญเติบโตของ <i>Bifidobacterium bifidum</i> TISTR 2129 และ <i>Lactobacillus sporogenes</i> BC 208.....	56
4.2. จลนพลศาสตร์ผลผลิตของ <i>Bifidobacterium bifidum</i> TISTR 2129 และ <i>Lactobacillus sporogenes</i> BC 208.....	72
4.3. การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันสายสั้นในน้ำหมักจากการเพาะเลี้ยงโพรไบโอติกสองสายพันธุ์.....	76
4.4.ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำหมักจากการเพาะเลี้ยงโพรไบโอติกสองสายพันธุ์.....	78
4.5. ลักษณะทางกายภาพและเคมีของเม้ดบิต.....	79
4.6. ประสิทธิภาพการห่อหุ้มของเม้ดบิตโพรไบโอติก.....	85
4.7. พฤติกรรมการบวมของเม้ดบิต.....	86
4.8. การศึกษาการปลดปล่อยโพรไบโอติกภายใต้การย่อยอาหารในระบบทางเดินอาหารในหลอดทดลองโดย INFOGEST โปรโตคอล.....	88
4.9. จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเม้ดบิตห่อหุ้มโพรไบโอติก.....	89
4.10. ความเป็นพิษต่อเซลล์ของเม้ดบิตโพรไบโอติกหลังการย่อยแบบจำลองในหลอดทดลองโดยใช้เซลล์เยื่อลำไส้ Caco-2.....	90
4.11. ความสามารถในการจับไขมันของเม้ดบิตภายใต้การย่อยในระบบทางเดินอาหาร.....	91
4.12. ความมีชีวิตรอดในการเก็บรักษาของเม้ดบิตโพรไบโอติกภายใต้อุณหภูมิต่าง ๆ.....	92
4.13. การประมาณอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ด้วยการทดสอบอายุการเก็บแบบเร่ง.....	95
บทที่ 5 สรุปการทดลอง.....	97
5.1. การศึกษาจลนพลศาสตร์ การผลิต และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของโพรไบโอติก.....	97
5.2. ลักษณะทางกายภาพและเคมีของเม้ดบิต.....	98

5.3. ประสิทธิภาพการห่อหุ้มของเม็ดบีดโพรไบโอติก.....	98
5.4. พฤติกรรมการบวมและการปลดปล่อยเม็ดบีดโพรไบโอติก.....	99
5.5. ความเป็นพิษต่อเซลล์ของเม็ดบีดโพรไบโอติกหลังการย่อยแบบจำลองในหลอดทดลองโดยใช้เซลล์เยื่อบุลำไส้ Caco-2.....	99
5.6. ความสามารถในการจับไขมันของเม็ดบีดภายใต้การย่อยในระบบทางเดินอาหาร.....	100
5.7. คงตัวและอายุการเก็บรักษาในสภาวะเร่ง (Storage Stability and ASLT).....	100
5.8. ข้อเสนอแนะ.....	100
บรรณานุกรม.....	102
ภาคผนวก.....	140
ภาคผนวก ก.....	140
ภาคผนวก ข.....	151
ภาคผนวก ค.....	170
ประวัติผู้เขียน.....	176

สารบัญตาราง (ถ้ามี)

หน้า

ตารางที่ 1 จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นโพรไบโอติกในปัจจุบัน	17
ตารางที่ 2 สายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ในสกุล <i>Lactobacillus</i> ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ	18
ตารางที่ 3 สายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ในสกุล <i>Bifidobacterium</i> ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ	22
ตารางที่ 4 แบคทีเรียโอซินที่ผลิตโดยแบคทีเรียกรดแลคติก.....	34
ตารางที่ 5 บทบาทการทำงานของกรดไขมันสายสั้น	43
ตารางที่ 6 แบบจำลองจลนศาสตร์ของเมดปิดโพรไบโอติก.....	52
ตารางที่ 7 แบบจำลองจลนศาสตร์ของเมดปิดโพรไบโอติก.....	53
ตารางที่ 8 แบบจำลองจลนศาสตร์ของเมดปิดไฮโดรเจลโซเดียมอัลจิเนต/คาร์บอกซีเมทิลไคโตซาน (SA/CMCS). 54	
ตารางที่ 9 ค่าพารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์ของการเจริญเติบโตของ <i>Bifidobacterium bifidum</i> TISTR 2129 และ <i>Lactobacillus sporogenes</i> BC 208.....	75
ตารางที่ 10 การผลิตกรดไขมันสายสั้นในน้ำหมักจากการเพาะเลี้ยงโพรไบโอติกสองสายพันธุ์.....	77
ตารางที่ 11 การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของอัลจิเนต	82
ตารางที่ 12 การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของอินนูลิน.....	82
ตารางที่ 13 การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของไคโตซาน.....	83
ตารางที่ 14 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเมดปิดห่อหุ้มโพรไบโอติก	90
ตารางที่ 15 ความสามารถในการจับไขมันของเมดปิดโพรไบโอติก	92
ตารางที่ 16 อายุการเก็บรักษาของเมดปิดโพรไบโอติกที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dry).....	96

สารบัญรูปภาพ (ถ้ามี)

หน้า

ภาพที่ 1 การจัดประเภทของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพ	6
ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของอินูลิน	27
ภาพที่ 3 ไมโครแคปซูลรูปแบบซินไบโอติก	32
ภาพที่ 4 กลไกการออกฤทธิ์ของแบคทีเรียโพรไบโอติก	34
ภาพที่ 5 การห่อหุ้มโพรไบโอติกด้วยเทคนิคเอ็กซทรูชัน (Extrusion)	37
ภาพที่ 6 โครงสร้างทางเคมีของอัลจิเนต	38
ภาพที่ 7 โครงสร้างทางเคมีของโคโคซาน	39
ภาพที่ 8 จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารในมนุษย์	41
ภาพที่ 9 ปริมาณเชื้อโพรไบโอติกที่สามารถดำรงชีวิตได้ของโพรไบโอติก	48
ภาพที่ 10 อัตราการรอดชีวิตของเซลล์อิสระและเซลล์ที่ห่อหุ้มของ <i>Lactobacillus plantarum</i> ATCC 8014 และ <i>Bifidobacterium bifidum</i> ATCC 1903 ในน้ำย่อยในกระเพาะอาหารจำลอง (SGF)	50
ภาพที่ 11 อัตราการรอดชีวิตของเซลล์ที่เป็นอิสระและถูกห่อหุ้มของ <i>Lactobacillus plantarum</i> ATCC 8014 และ <i>Bifidobacterium bifidum</i> ATCC 1903 ในของเหลวในลำไส้จำลอง (SIF)	50
ภาพที่ 12 เส้นโค้งที่เหมาะสมของแบบจำลอง Ritger-Peppas สำหรับจลนพลศาสตร์การปลดปล่อยในหลอดทดลองของเม็บบิดอัลจิเนต/แคปปา-คาร์ราจีแนน ที่บรรจุ IgY (1.5%/0.3%)	55
ภาพที่ 13 ระยะเวลาเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Bifidobacterium bifidum</i> TISTR 2129 โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (OD_{600}) เทียบกับเวลา (ชั่วโมง)	56
ภาพที่ 14 ระยะเวลาเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Lactobacillus sporogenes</i> BC 208 โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (OD_{600}) เทียบกับเวลา (ชั่วโมง)	72
ภาพที่ 15 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ (กำลังขยาย 100x) แสดงลักษณะของโพรไบโอติก (ก) <i>Bifidobacterium bifidum</i> TISTR 2129 และ (ข) <i>Lactobacillus sporogenes</i> BC 208	73
ภาพที่ 16 ลักษณะของน้ำหมักในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (ก) <i>Bifidobacterium bifidum</i> TISTR 2129 และ (ข) <i>Lactobacillus sporogenes</i> BC 208 ตลอดระยะเวลา 168 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส	74
ภาพที่ 17 การเปลี่ยนแปลงของมวลเซลล์ การใช้กลูโคส และการผลิตกรดแลกติกระหว่างการหมักของ (ก) <i>Bifidobacterium bifidum</i> TISTR 2129 และ (ข) <i>Lactobacillus sporogenes</i> BC 208 ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 168 ชั่วโมง	76
ภาพที่ 18 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำหมักจากการเพาะเลี้ยงโพรไบโอติกของสายพันธุ์	79

ภาพที่ 19 ลักษณะของเมดปิดห่อหุ้มโพรไบโอติก.....	80
ภาพที่ 20 ขนาดของเมดปิดห่อหุ้มโพรไบโอติก.....	80
ภาพที่ 21 สเปกตรัม FTIR ของโพรไบโอติกเมมเบรนทั้ง 3 ชนิด ที่ใช้ในการห่อหุ้ม ได้แก่ อัลจิเนต อินนูลิน และไคโตซาน.....	83
ภาพที่ 22 สเปกตรัม FTIR ของเมดปิดโพรไบโอติกสูตร A, AC, AI และ AIC หลังการห่อหุ้ม.....	84
ภาพที่ 23 ประสิทธิภาพการห่อหุ้มของเมดปิดห่อหุ้มโพรไบโอติก.....	86
ภาพที่ 24 พฤติกรรมการบวมของเมดปิดห่อหุ้มโพรไบโอติก.....	87
ภาพที่ 25 การศึกษาการปลดปล่อยโพรไบโอติกภายใต้การย่อยอาหารในระบบทางเดินอาหารในหลอดทดลองโดย INFOGEST โปรโตคอล.....	89
ภาพที่ 26 ความเป็นพิษต่อเซลล์ของเมดปิดหลังการย่อยแบบจำลองในหลอดทดลองโดยใช้เซลล์เยื่อบุลำไส้ Caco-2.....	91
ภาพที่ 27 ความมีชีวิตรอดในการเก็บรักษาของเมดปิดโพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มภายใต้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 28 วัน.....	94
ภาพที่ 28 ความมีชีวิตรอดในการเก็บรักษาของเมดปิดโพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มภายใต้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 28 วัน.....	94
ภาพที่ 29 ความมีชีวิตรอดในการเก็บรักษาของเมดปิดโพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มภายใต้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 28 วัน.....	95
ภาพที่ 30 ระยะการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Bifidobacterium bifidum</i> TISTR 2129 โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (OD_{600}) เทียบกับเวลา (ชั่วโมง) โดยใช้สมการ Logistic.....	140
ภาพที่ 31 ระยะการเจริญเติบโตของเชื้อ <i>Lactobacillus sporogenes</i> BC 208 โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (OD_{600}) เทียบกับเวลา (ชั่วโมง) โดยใช้สมการ Logistic.....	140
ภาพที่ 32 โคโรมาโตแกรมของกรดอินทรีย์ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วย HPLC ของเชื้อ <i>Bifidobacterium bifidum</i> TISTR 2129.....	141
ภาพที่ 33 โคโรมาโตแกรมของกรดอินทรีย์ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วย HPLC ของเชื้อ <i>Lactobacillus sporogenes</i> BC 208.....	142
ภาพที่ 34 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเมดปิด A ด้วยสมการ Zero-order.....	142
ภาพที่ 35 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเมดปิด AC ด้วยสมการ Zero-order.....	143
ภาพที่ 36 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเมดปิด AI ด้วยสมการ Zero-order.....	143
ภาพที่ 37 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเมดปิด AIC ด้วยสมการ Zero-order.....	144

ภาพที่ 38 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเม็ดปิด A ด้วยสมการ First-order	144
ภาพที่ 39 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเม็ดปิด AC ด้วยสมการ First-order.....	145
ภาพที่ 40 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเม็ดปิด AI ด้วยสมการ First-order	145
ภาพที่ 41 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเม็ดปิด AIC ด้วยสมการ First-order.....	146
ภาพที่ 42 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเม็ดปิด A ด้วยสมการ Higuchi.....	146
ภาพที่ 43 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเม็ดปิด AC ด้วยสมการ Higuchi	147
ภาพที่ 44 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเม็ดปิด AI ด้วยสมการ Higuchi.....	147
ภาพที่ 45 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเม็ดปิด AIC ด้วยสมการ Higuchi	148
ภาพที่ 46 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเม็ดปิด A ด้วยสมการ Korsmeyer–Peppas.....	148
ภาพที่ 47 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเม็ดปิด AC ด้วยสมการ Korsmeyer–Peppas	149
ภาพที่ 48 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเม็ดปิด AI ด้วยสมการ Korsmeyer–Peppas.....	149
ภาพที่ 49 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเม็ดปิด AIC ด้วยสมการ Korsmeyer–Peppas	150
ภาพที่ 50 การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ของเม็ดปิดโพรไบโอติกหลังการย่อยแบบจำลองในหลอดทดลอง โดยใช้เซลล์เยื่อลำไส้ Caco-2 ที่กำลังขยาย 40 เท่า	150
ภาพที่ 51 สมการการเก็บรักษาของเม็ดปิด A ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ Zero order	152
ภาพที่ 52 สมการการเก็บรักษาของเม็ดปิด A ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ First order	152
ภาพที่ 53 สมการการเก็บรักษาของเม็ดปิด AC ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ Zero order	153
ภาพที่ 54 สมการการเก็บรักษาของเม็ดปิด AC ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ First order	154
ภาพที่ 55 สมการการเก็บรักษาของเม็ดปิด AI ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ Zero order	155
ภาพที่ 56 สมการการเก็บรักษาของเม็ดปิด AI ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ First order	155
ภาพที่ 57 สมการการเก็บรักษาของเม็ดปิด AIC ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ Zero order	156

[illegible]

ภาพที่ 72 สมการการเก็บรักษาของเม็ดปัด AI ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ First order	167
ภาพที่ 73 สมการการเก็บรักษาของเม็ดปัด AIC ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ Zero order	168
ภาพที่ 74 สมการการเก็บรักษาของเม็ดปัด AIC ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ First order	169



บทที่ 1

บทนำ

1.1. ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันผู้บริโภคมีความต้องการผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเชิงโภชนบำบัด (Nutraceuticals) เพิ่มขึ้น เนื่องจากผลิตภัณฑ์เหล่านี้สามารถช่วยส่งเสริมสุขภาพและลดความเสี่ยงในการเกิดโรคได้ด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์ (Egbuna & Dable-Tupas, 2020) โดยเฉพาะโพรไบโอติก (Probiotic) สกุล *Bifidobacterium* spp. และ *Lactobacillus* spp. ที่นิยมนำมาใช้มากที่สุด ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการส่งเสริมสุขภาพของระบบทางเดินอาหาร ปรับสมดุลจุลินทรีย์ในลำไส้ และเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน (Petrariu et al., 2024) โดยการเติบโตของผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกเพิ่มขึ้น และคาดว่าจะสูงถึง 90,570 ล้านดอลลาร์สหรัฐในปี 2571 จาก 53,720 ล้านดอลลาร์สหรัฐในปี 2563 (Subramanian & Anandharamakrishnan, 2023) องค์การอนามัยโลก (WHO) ระบุว่าเพื่อให้โพรไบโอติกมีประสิทธิภาพ ควรมีปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตอย่างน้อย 10^6 CFU/g จนสิ้นสุดอายุการเก็บรักษา (Zommiti et al., 2020) มีการศึกษาแสดงให้เห็นว่า *Bifidobacterium* spp. และ *Lactobacillus* spp. มีอัตราการรอดชีวิตต่ำในระบบทางเดินอาหาร เนื่องจากสภาวะที่เป็นกรดและความเข้มข้นของน้ำดีที่สูง ซึ่งส่งผลกระทบต่อความสามารถในการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์ (Krumbeck et al., 2018) อย่างไรก็ตาม ในการผลิตโพรไบโอติกเหล่านี้ให้มีความคงตัวและมีชีวิตรอดจนถึงระบบทางเดินอาหารนั้นยังคงเป็นอุปสรรคที่ต้องการแก้ไข

การใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (Bioreactor) เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงในการผลิตโพรไบโอติกในปริมาณมาก โดยสามารถควบคุมคุณภาพและสภาวะแวดล้อมได้อย่างดี ช่วยให้โพรไบโอติกมีชีวิตและคงคุณสมบัติที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ ซึ่งสำคัญต่อความปลอดภัยและคุณภาพของผลิตภัณฑ์อาหารและโภชนบำบัด (Brinques et al., 2010) โดยหลังจากการหมัก โพรไบโอติกที่ได้จะถูกนำไปผ่านเทคโนโลยีห่อหุ้ม (Encapsulation) เป็นหนึ่งในวิธีที่มีประสิทธิภาพสูงในการปกป้องโพรไบโอติกให้สามารถมีชีวิตรอดในระบบทางเดินอาหาร มีความคงตัวในผลิตภัณฑ์อาหาร ควบคุมโพรไบโอติกที่ปล่อยออกมาไปยังเป้าหมายเฉพาะและการเก็บรักษา (Niamah et al., 2021) เทคนิคเอ็กสทรูชัน (Extrusion) เป็นหนึ่งในวิธีห่อหุ้มดั้งเดิมและนิยมในการผลิตแคปซูลด้วยไฮโดรคอลลอยด์ โดยเป็นการเตรียมสารละลายไฮโดรคอลลอยด์เติมจุลินทรีย์ลงวนลอยของเซลล์ผ่านเข็มฉีดยาในรูปหยดเพื่อให้ตกลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ วิธีนี้ทำได้ง่ายและสะดวกมีต้นทุนต่ำ และเซลล์มีชีวิตรอดสูง โดยวัสดุที่นิยมใช้ในการห่อหุ้มคืออัลจิเนต ซึ่งเป็นเฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์เชิงเส้นของกรด D-

mannuronic และ L-guluronic ที่สกัดได้จากสาหร่าย (Krasaekoopt et al., 2003) เม็ดบีดของอัลจินตมีความพรุนที่พื้นผิวสูง ทำให้สามารถสัมผัสกับออกซิเจน และความชื้นได้ เพื่อลดความพรุนพอลิเมอร์ชีวภาพอื่น ๆ จึงถูกรวมเข้ากับอัลจินต เช่น อินนูลิน (Inulin) ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่มีฟรุกโตสเป็นองค์ประกอบหลัก โดยอินนูลินประกอบด้วยหน่วยย่อยของ β -D-fructosyl ที่เชื่อมโยงกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก ($2 \rightarrow 1$) และมีปลายโมเลกุลเป็นหน่วย α -D-glucosyl ที่เชื่อมโยงด้วยพันธะ ($1 \leftrightarrow 2$) (Beneke et al., 2009) ยังทำหน้าที่เป็นพรีไบโอติก (Prebiotics) เข้าไปในลำไส้ใหญ่ได้โดยเกิดการหมักโดยจุลินทรีย์ประจำถิ่น ส่งผลให้เกิดกรดไขมันสายสั้น (Short-chain fatty acid, SCFA) ได้แก่ อะซิเตท (Acetate) โพรพิโอเนต (Propionate) และบิวทิเรต (Butyrate) ซึ่งส่งเสริมสุขภาพลำไส้และระบบทางเดินอาหาร (Roberfroid & Delzenne, 1998) และไคโตซาน (Chitosan) เป็นเฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ของอนุพันธ์พอลิแคตไธออนิก ประกอบด้วยหน่วย N-acetyl-D-glucosamine ที่เชื่อมโยงด้วยพันธะไกลโคซิดิกแบบ β -1,4 เป็นวัสดุที่ไม่เป็นพิษและย่อยสลายได้ทางชีวภาพ โมเลกุลของไคโตซานมีกลุ่มอะมิโนหลักจำนวนมาก ซึ่งเมื่ออยู่ในสภาวะที่ค่า pH ต่ำกว่า pKa 6.5 จะเกิดการแตกตัวเป็นไอออนและสร้างประจุบวก (Lim et al., 2015) ดังนั้น ไคโตซานจึงสามารถจับตัวกับพอลิเมอร์ที่มีประจุลบ เช่น โซเดียมอัลจินต ผ่านปฏิกิริยาไฟฟ้าสถิตได้อย่างมีประสิทธิภาพ คุณสมบัติเหล่านี้ทำให้ไคโตซานเหมาะสมอย่างยิ่งสำหรับการใช้เป็นวัสดุเคลือบในการห่อหุ้ม (Encapsulation) เพื่อปกป้องโพรไบโอติกจากสภาวะที่รุนแรงในทางเดินอาหาร ดังนั้นการผสมผสานกันของโพรไบโอติกและพรีไบโอติก เรียกอีกอย่างว่า ซินไบโอติก จะช่วยปกป้องโพรไบโอติกในเม็ดบีดได้ดีกว่าการใช้โพรไบโอติกเพียงอย่างเดียวในการห่อหุ้ม (Arepally & Goswami, 2019)

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นการพัฒนาผลิตภัณฑ์ไบโอติกซินเนอร์จี ซึ่งประกอบด้วยพรีไบโอติกและโพรไบโอติก การประยุกต์ใช้แพลตฟอร์มนำส่งที่สามารถเพิ่มความมีชีวิตรอดของโพรไบโอติกโดยเทคโนโลยีห่อหุ้มรวมกับการใช้พรีไบโอติก จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งในเชิงพาณิชย์และการวิจัยผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีประสิทธิภาพในการเสริมสร้างสุขภาพและช่วยเพิ่มความปลอดภัยแก่ผู้บริโภค

1.2. วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อศึกษาจลนพลศาสตร์การผลิตมวลเซลล์ *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129 และ *Lactobacillus sporogenes* BC 208 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (Bioreactor)

1.2.2 เพื่อศึกษาการผลิตกรดไขมันสายสั้นและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำหมักจากการเพาะเลี้ยง *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129 และ *Lactobacillus sporogenes* BC 208

1.2.3 เพื่อศึกษาการห่อหุ้มโพรไบโอติกด้วยเทคโนโลยีห่อหุ้มสำหรับการนำส่งโพรไบโอติกโดยใช้อัลจินต (Alginate) อินนูลิน (Inulin) และไคโตซาน (Chitosan) ห่อหุ้มโพรไบโอติก *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129 และ *Lactobacillus sporogenes* BC 208

1.2.4 เพื่อศึกษาสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของเม็ดปิดโพไรไบโอติก

1.2.5 เพื่อศึกษาการมีชีวิตรอดของโพไรไบโอติก *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129 และ *Lactobacillus sporogenes* BC 208 ที่ถูกห่อหุ้มด้วยอัลจิเนต (Alginate) อินนูลิน (Inulin) และไคโตซาน (Chitosan) ภายใต้สภาวะการจำลองการย่อยอาหาร (Simulated gut model) โดยใช้แบบจำลอง INFOGEST (Static gastrointestinal digestion)

1.2.6 เพื่อทดสอบความเป็นพิษของเม็ดปิดโพไรไบโอติกที่ผ่านการจำลองกระบวนการย่อยอาหารในหลอดทดลองแล้วต่อเยื่อบุผิวเซลล์ลำไส้ Caco-2 ด้วยวิธี MTT Assay

1.2.7 เพื่อศึกษาการจับไขมันของเม็ดปิดโพไรไบโอติก

1.2.8 เพื่อศึกษาความคงตัวและระยะเวลาการเก็บรักษาของเม็ดปิดโพไรไบโอติก

1.3. ขอบเขตการวิจัย

1.3.1 ศึกษาจลนพลศาสตร์การผลิตมวลเซลล์ *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129 และ *Lactobacillus sporogenes* BC 208 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (Bioreactor)

1.3.2 ศึกษาการผลิตกรดไขมันสายสั้นและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำหมักจากการเพาะเลี้ยง *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129 และ *Lactobacillus sporogenes* BC 208

1.3.3 ศึกษาการห่อหุ้มโพไรไบโอติกด้วยเทคโนโลยีห่อหุ้มสำหรับการนำส่งโพไรไบโอติก โดยใช้อัลจิเนต (Alginate) อินนูลิน (Inulin) และไคโตซาน (Chitosan) ห่อหุ้มโพไรไบโอติก *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129 และ *Lactobacillus sporogenes* BC 208

1.3.4 ศึกษาสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของเม็ดปิดโพไรไบโอติก

1.3.5 ศึกษาการมีชีวิตรอดของโพไรไบโอติก *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129 และ *Lactobacillus sporogenes* BC 208 ที่ถูกห่อหุ้มด้วยอัลจิเนต (Alginate) อินนูลิน (Inulin) และไคโตซาน (Chitosan) ภายใต้สภาวะการจำลองการย่อยอาหาร (Simulated gut model) โดยใช้แบบจำลอง INFOGEST (Static gastrointestinal digestion)

1.3.6 ทดสอบความเป็นพิษของเม็ดปิดโพไรไบโอติกที่ผ่านการจำลองกระบวนการย่อยอาหารในหลอดทดลองแล้วต่อเยื่อบุผิวเซลล์ลำไส้ Caco-2 ด้วยวิธี MTT Assay

1.3.7 ศึกษาการจับไขมันของเม็ดปิดโพไรไบโอติก

1.3.8 ศึกษาความคงตัวและระยะเวลาการเก็บรักษาของเม็ดปิดโพไรไบโอติก

1.4. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

การพัฒนาการผลิตและการนำส่งโพรไบโอติกสองสายพันธุ์ *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129 และ *Lactobacillus sporogenes* BC 208 ที่มีประสิทธิภาพสูง ซึ่งจะช่วยขยายขอบเขตความรู้ด้านจุลชีววิทยา เทคโนโลยีชีวภาพ และโภชนเภสัช โดยมุ่งเน้นการสร้างระบบการห่อหุ้มโพรไบโอติกด้วยไบโอพอลิเมอร์ที่สามารถปกป้องเชื้อจากสภาวะแวดล้อมที่รุนแรงในระบบทางเดินอาหาร เพิ่มความอยู่รอด และคงประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ซึ่งจะนำไปสู่การพัฒนาผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกชนิดใหม่ที่มีคุณภาพ และความปลอดภัยสูง รวมถึงสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับอุตสาหกรรมอาหารและสุขภาพในอนาคต



บทที่ 2

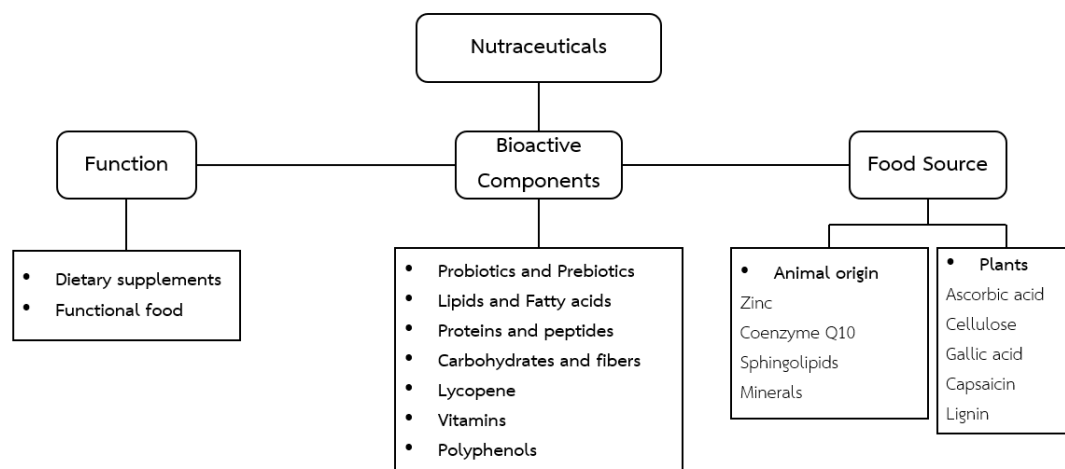
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1. ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเชิงโภชนบำบัด (Nutraceuticals)

ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเชิงโภชนบำบัด (Nutraceuticals) คือ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากแหล่งอาหารธรรมชาติ เช่น พืช ผัก ผลไม้ และสารสกัดจากสัตว์ ซึ่งมีคุณค่าทางโภชนาการที่ช่วยส่งเสริมสุขภาพ และอาจมีบทบาทในการป้องกันหรือบรรเทาอาการของโรคต่าง ๆ คำว่า “Nutraceuticals” ถูกนำมาใช้ครั้งแรกในปี ค.ศ. 1989 โดย Stephen L. DeFelice เป็นการรวมคำระหว่าง “Nutrition” (โภชนาการ) และ “Pharmaceutical” (เภสัชกรรม) เพื่อแสดงถึงผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติทั้งด้านโภชนาการ และการรักษาโรค (Wildman et al., 2016) ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเชิงโภชนบำบัดครอบคลุมผลิตภัณฑ์หลายประเภท เช่น วิตามิน แร่ธาตุ เส้นใยอาหาร สารพฤกษเคมี (Phytochemicals) และโพรไบโอติก (Probiotics) ซึ่งมีบทบาทในการเสริมสร้างสุขภาพ ลดความเสี่ยงของโรคเรื้อรัง และเพิ่มภูมิคุ้มกันของร่างกาย (Das et al., 2012) มีการศึกษามากมาย พบว่า ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเชิงโภชนบำบัดมีศักยภาพในการลดความเสี่ยงจากโรคเรื้อรัง เช่น โรคหัวใจ โรคเบาหวาน และโรคมะเร็ง ผ่านกลไกที่ช่วยลดภาวะการอักเสบ และป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระในร่างกาย (Ahern et al., 2006; Fardet & Rock, 2014) ในปัจจุบัน ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเชิงโภชนบำบัดได้รับความนิยมเพิ่มขึ้น เนื่องจากเป็นทางเลือกที่ตอบสนองต่อความต้องการของผู้บริโภคที่ต้องการรักษาสุขภาพด้วยสารอาหารธรรมชาติ และเป็นทางเลือกเสริมในด้านการรักษาโรคควบคู่กับวิธีการทางการแพทย์แบบดั้งเดิม (Sharma et al., 2016) ดังนั้นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเชิงโภชนบำบัดจึงถือเป็นนวัตกรรมสำคัญที่คาดว่าจะมีบทบาทสำคัญต่อการส่งเสริมสุขภาพ และป้องกันโรคในอนาคต

2.1.1 ประเภทของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเชิงโภชนบำบัด

สามารถจัดประเภทได้หลากหลายตามปัจจัยที่เกี่ยวข้อง เช่น แหล่งที่มา ชนิดของสารอาหาร และคุณสมบัติทางชีวภาพต่าง ๆ การจัดประเภทดังกล่าวช่วยให้สามารถเข้าใจและนำไปใช้ในการแพทย์และโภชนาการได้อย่างเหมาะสม โดยสามารถแบ่งประเภทได้ดังนี้ (Fardet & Rock, 2014) แสดงดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 การจัดประเภทของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อสุขภาพ (Sharma et al., 2016)

2.1.1.1 ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร (Dietary supplements)

ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร หมายถึง สารอาหารที่ได้จากผลิตภัณฑ์อาหารและแปรรูปให้อยู่ในรูปแบบที่เหมาะสมกับการรับประทาน เช่น แคปซูล เม็ด หรือผง เพื่อเสริมสารอาหารที่อาจขาดในอาหารทั่วไป โดยตามกฎหมาย Dietary Supplement Health and Education Act (DSHEA) ในสหรัฐอเมริกา ปี 1994 ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารถูกนิยามว่าเป็นผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วย “สารอาหาร” ที่ใช้เสริมในอาหารที่บริโภคตามปกติ นอกจากนี้ยังมียังงานวิจัยที่สนับสนุนว่าการรับประทานอาหารเสริมบางประเภท เช่น กรดอะมิโน แร่ธาตุ และวิตามิน สามารถช่วยเสริมสร้างสุขภาพ และลดความเสี่ยงจากโรคบางชนิดได้ ปัจจุบันอาหารธัญพืชและบาร์ธัญพืช (Nutrigrain food and bars) เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่ได้รับความนิยม โดยแบรนด์ขนาดใหญ่อย่าง Kellogg’s ก็ได้วางจำหน่ายผลิตภัณฑ์อาหารที่มีส่วนผสมของธัญพืชหลากหลายชนิดในตลาด อาหารที่อุดมไปด้วยสารคีโตเจนิคยังถูกพบว่า มีส่วนช่วยในการควบคุมโรคบางอย่าง เช่น อาการชัก อย่างไรก็ตาม อาหารที่มีไขมันสูงและมีโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตต่ำอาจมีข้อเสีย เนื่องจากอาจกระตุ้นให้อาการของโรคแย่ลงได้ นอกจากนี้ ผลิตภัณฑ์อาหารเสริมยังมีบทบาทในการจัดการกับปัญหาน้ำหนักเกินและช่วยต่อต้านภาวะดื้อต่ออินซูลิน อาหารที่มีเส้นใยสูง เช่น ธัญพืชเต็มเมล็ด ช่วยลดความเสี่ยงต่อโรคหลอดเลือดหัวใจ (Causes of coronary heart disease, CHD) และยังสามารถควบคุมโรคเบาหวานประเภทที่ 2 ได้ นอกจากนี้ ผลจากการทดลองด้านเมตาบอลิซึมยังเน้นย้ำว่า การบริโภคธัญพืชเต็มเมล็ดช่วยปรับปรุงโปรไฟล์ไขมัน และควบคุมโรคเบาหวานประเภทที่ 2 ได้ดีกว่าการบริโภคธัญพืชที่ผ่านการขัดสี (Liu, 2002) ขนมปังถั่วเหลืองได้กลายมาเป็นตัวเลือกที่นิยมสำหรับอาหารที่อุดมด้วยสารอาหาร เนื่องจากมีไฟโตเอสโตรเจน ซึ่งเป็นองค์ประกอบทางชีวภาพที่มีโครงสร้างคล้ายคลึงกับฮอร์โมนเอสโตรเจน ทำหน้าที่เสริมความต้องการของร่างกายที่มีต่อเอสโตรเจนเพื่อช่วยเพิ่มระดับ

เอสโตรเจนในร่างกาย ดังนั้น จึงเป็นวิธีการตามธรรมชาติในการฟื้นฟูสมดุลฮอร์โมน ช่วยป้องกันอาการที่เกี่ยวข้องกับวัยหมดประจำเดือน และยังมีคุณสมบัติในการป้องกันมะเร็งเต้านม นอกจากนี้ เหน็ดที่รับประทานได้ยังอุดมไปด้วยพอลิฟีนอล ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยลดระดับไขมันในเลือด ปรับสมดุลระบบภูมิคุ้มกัน และมีฤทธิ์ต้านมะเร็ง (Das et al., 2012) นอกจากนี้คอนดรอยตินซัลเฟต (Chondroitin sulfate) และ กลูโคซามีนซัลเฟต (Glucosamine sulfate) ยังมีประสิทธิภาพในการบรรเทาอาการที่เกี่ยวข้องกับโรคข้อเข่าเสื่อม (Deal & Moskowitz, 1999) อีกทั้งโปรตีนจากบัควีท (Buckwheat protein) ก็เป็นอาหารฟังก์ชันที่ได้รับความนิยม เนื่องจากมีผลที่ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอล บรรเทาความดันโลหิตสูง และส่งเสริมการขับถ่ายด้วยปริมาณเส้นใยที่อุดมสมบูรณ์ (Aluko, 2012; Mine & Shahidi, 2005) ผลิตภัณฑ์นมก็ได้รับการพัฒนาให้เป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเชิงโภชนบำบัดที่มีศักยภาพในการส่งเสริมสุขภาพ โดยผลิตภัณฑ์ที่ได้รับความนิยมในกลุ่มนี้ประกอบด้วยโยเกิร์ต ซึ่งช่วยเสริมสุขภาพของระบบทางเดินอาหาร (Saraf et al., 2010) หนึ่งในผลิตภัณฑ์เหล่านี้คือ โยโยเกิร์ต (Bio-yoghurt) ถูกพัฒนาขึ้นในประเทศญี่ปุ่นและมีส่วนประกอบของ *Bifidobacteria* spp. และ *Lactobacillus acidophilus* ในขณะที่ โยเกิร์ต Yakult ที่มี *Lactobacillus casei* Shirota และผลิตภัณฑ์หมักอื่น ๆ เช่น Culturelle ที่มี *Lactobacillus GG* รวมถึง Nestlé's LC1 ที่มี *Lactobacillus johnsonii* ต่างก็เป็นผลิตภัณฑ์สำคัญในกลุ่มนี้ นอกจากนี้ เครื่องดื่มเพื่อสุขภาพก็ได้รับความนิยมเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเป็นหนึ่งในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเชิงโภชนบำบัด (Kaushik et al., 2009; Saulnier et al., 2007; Wang et al., 2012)

2.1.1.2 อาหารฟังก์ชัน (Functional food)

อาหารฟังก์ชัน หมายถึง อาหารที่มีแหล่งกำเนิดจากธรรมชาติ และได้รับการเสริมสารอาหารที่มีประโยชน์ในกระบวนการผลิต เช่น การเพิ่มวิตามิน หรือแร่ธาตุที่จำเป็นต่อสุขภาพเข้าไป อาหารเหล่านี้ช่วยให้ร่างกายได้รับสารอาหารที่มีความจำเป็นครบถ้วน โดยให้ประโยชน์ทั้งในแง่ของโภชนาการ และการรักษาโรค ประเทศญี่ปุ่นเป็นผู้นำในด้านการพัฒนาอาหารฟังก์ชัน โดยกำหนดมาตรฐานไว้สามข้อ ได้แก่ ต้องเป็นอาหารที่มาจากแหล่งธรรมชาติ สามารถบริโภคได้ตามปกติในชีวิตประจำวัน และให้ประโยชน์ในการป้องกันและรักษาโรค (Arai et al., 2002)

2.1.1.3 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive compounds)

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเชิงโภชนบำบัด หมายถึง สารสำคัญที่สกัดจากธรรมชาติ เช่น สารสกัดจากพืช สัตว์ หรือทะเล ซึ่งเป็นที่รู้จักว่ามีประโยชน์ต่อสุขภาพ โดยสารออกฤทธิ์เหล่านี้เป็นส่วนผสมในอาหาร ยา และผลิตภัณฑ์เพื่อความงาม

สารเหล่านี้รวมถึงโพลีฟีนอล (Polyphenols) ไฟโตเอสโตรเจน (Phytoestrogen) และฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) ซึ่งมีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยา เช่น ด้านการอักเสบ ด้านอนุมูลอิสระ และเสริมภูมิคุ้มกัน (Das et al., 2012)

โพรไบโอติกและพรีไบโอติก (Probiotics and Prebiotics) เป็นส่วนหนึ่งของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเชิงโภชนาบำบัดที่ได้รับการยอมรับอย่างกว้างขวาง โดยโพรไบโอติก คือจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ซึ่งช่วยในการเสริมสร้างสมดุลของระบบทางเดินอาหาร เช่น สายพันธุ์ *Bifidobacterium* spp. และ *Lactobacillus* spp. ขณะที่พรีไบโอติกเป็นสารอาหารที่ช่วยในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในลำไส้ การใช้โพรไบโอติกและพรีไบโอติกช่วยส่งเสริมสุขภาพลำไส้ และเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน (Sikorski, 2006) โพรไบโอติก คือจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ ซึ่งเมื่อบริโภคแล้วจะช่วยให้สุขภาพของระบบทางเดินอาหาร โดยช่วยสร้างสมดุลในลำไส้ ทำหน้าที่ปกป้องระบบทางเดินอาหารจากเชื้อโรคและยีสต์ที่อาจทำให้เกิดโรค นอกจากนี้ ยังส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันและช่วยในการสังเคราะห์วิตามินเค ปัจจัยที่ทำให้เกิดความไม่สมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ เช่น การใช้ยาปฏิชีวนะเกินขนาด ความเครียด และการรับประทานอาหารที่ไม่เหมาะสม ซึ่งอาจทำลายจุลินทรีย์ที่ดีในระบบย่อยอาหารได้ (Fuller & Perdigón, 2008; Saraf et al., 2010)

น้ำมันปลา (Fish oil) เป็นอาหารฟังก์ชันที่ได้รับความนิยม ซึ่งมีรายงานว่าช่วยลดความดันโลหิตและลดความเสี่ยงของโรคหลอดเลือดหัวใจ น้ำมันปลามีกรดไขมันโอเมก้าที่ส่งเสริมสุขภาพ โดยเฉพาะโอเมก้า-3 และโอเมก้า-6 ซึ่งเป็นกรดไขมันที่มีประโยชน์หลักในน้ำมันปลา ได้แก่ กรดโดโคซาเฮกซาอีโนอิก (Docosahexaenoic acid, DHA) และกรดไขมันอีพีเอ (Eicosatetraenoic acid, EPA) (Mišurcová et al., 2011) โดย DHA นั้นเป็นองค์ประกอบสำคัญที่มีบทบาทในการทำงานด้านความจำของสมอง ปัจจุบัน DHA ได้รับความนิยมในการนำมาใช้ในเครื่องสำอางเพื่อสุขภาพ และอาหารสำหรับเด็ก เพื่อช่วยเสริมสร้างการทำงานด้านความจำของสมอง นอกจากนี้ ในผู้สูงอายุ DHA ยังช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคอัลไซเมอร์ (Corsinovi et al., 2011)

โปรตีนและเปปไทด์ (Proteins and peptides) ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่เชื่อมต่อกันเป็นสายยาว ขณะที่เปปไทด์เป็นรูปแบบที่สั้นลงของโปรตีน โปรตีนและเปปไทด์มีบทบาทพื้นฐานในการส่งเสริมสุขภาพ โปรตีนบางชนิดไม่ถูกย่อยในลำไส้ และส่งผลให้กระตุ้นการขับสารพิษและน้ำดีออกจากร่างกาย เมื่อโปรตีนถูกย่อยจะเปลี่ยนเป็นเปปไทด์ซึ่งสามารถถูกดูดซึมเข้าสู่ระบบไหลเวียนเลือดได้ โปรตีนจากบักวีตและถั่วเหลืองเป็นโปรตีนที่ได้รับความนิยมและมีประโยชน์ในการส่งเสริมสุขภาพของระบบลำไส้ (Beecher, 1999) นอกจากนี้ เปปไทด์ออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากโปรตีนถั่วเหลืองยังมีคุณสมบัติช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด เปปไทด์เหล่านี้เป็นหน่วยที่มีคุณสมบัติหลายประการ ซึ่งก่อให้เกิดผลทางชีวภาพที่สำคัญ เช่น ด้านจุลชีพ ลดคอเลสเตอรอล ลดความดัน

โลหิต ด้านการเกิดลิ่มเลือด และฤทธิ์ปรับสมดุลภูมิคุ้มกัน รวมถึงมีผลต่อลำไส้ (Cho, 2009; Paliyath et al., 2011)

คาร์โบไฮเดรตและเส้นใยอาหาร (Carbohydrates and fibers) เป็นสารอาหารหลักที่มีบทบาทสำคัญในอาหาร โดยอยู่ในรูปของน้ำตาล โอลิโกแซ็กคาไรด์ แป้ง และเส้นใยอาหาร โดยประมาณ 55% ของพลังงานที่ได้รับในแต่ละวันมาจากคาร์โบไฮเดรต เส้นใยอาหารเป็นส่วนสำคัญของคาร์โบไฮเดรตที่ช่วยในการรักษาการเคลื่อนไหวของลำไส้ คาร์โบไฮเดรตสามารถได้รับจากแหล่งที่หลากหลาย ตั้งแต่ผลไม้ไปจนถึงธัญพืชหนึ่งในผลิตภัณฑ์คาร์โบไฮเดรตที่ได้รับความนิยมในตลาดคือ สูตรนมเสริมสารอาหารสำหรับทารก ซึ่งประกอบด้วยโอลิโกแซ็กคาไรด์ชนิดฟรุคโตสและกาแล็กโตส สารอาหารเหล่านี้มีบทบาทสำคัญในการพัฒนาระบบภูมิคุ้มกันของทารกแรกเกิด (Paliyath et al., 2011)

ไลโคปีน (Lycopene) เป็นสารสำคัญที่พบมากในมะเขือเทศ และผลไม้หรือผักสีส้มสีแดงอื่น ๆ เช่น มะละกอ แตงโม แครอท ฟรุ้งขี้ก และองุ่นดำ การปรุงมะเขือเทศให้สุกทำให้เป็นแหล่งของไลโคปีนที่ดีกว่ามะเขือเทศดิบ ดังนั้น ปัจจุบันผลิตภัณฑ์มะเขือเทศเข้มข้น เช่น ซอส เพสต์ และซอสมะเขือเทศ จึงวางจำหน่ายในตลาดในฐานะแหล่งไลโคปีนที่อุดมไปด้วยสารอาหาร ไลโคปีนแสดงคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยช่วยในการทำลายและยับยั้งสารอนุมูลอิสระ (Reactive Oxygen Species, ROS) ที่เป็นอันตรายในร่างกาย สาร ROS สามารถทำลายดีเอ็นเอของเซลล์และเป็นสาเหตุของการเกิดโรคมะเร็ง นอกจากนี้ ROS ยังทำให้เกิดการเกิดออกซิเดชันของไขมันในร่างกาย ทำลายหัวใจและหลอดเลือดซึ่งนำไปสู่ความดันโลหิตสูง มีรายงานว่าไลโคปีนช่วยลดความดันโลหิตในผู้ป่วยที่มีภาวะความดันโลหิตสูง (Waliszewski & Blasco, 2010)

วิตามิน (Vitamins) เป็นส่วนสำคัญของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและเป็นองค์ประกอบทางโภชนาการในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเชิงโภชนบำบัด โดยมีบทบาทหลากหลายทางชีวภาพ วิตามินบีและกรดโฟลิกมีความสำคัญอย่างยิ่ง เนื่องจากมีบทบาทในการป้องกันโรคหลายชนิด เช่น มะเร็ง โรคหัวใจ และความบกพร่องแต่กำเนิด การศึกษาทางระบาดวิทยา (Epidemiological study) พบว่าแร่ธาตุสำคัญ เช่น เหล็ก แคลเซียม และไอโอดีน รวมถึงวิตามินโฟเลต วิตามินอี วิตามินบี 6 และวิตามินเอ เป็นส่วนสำคัญของอาหาร วิตามินบี 12 และกรดโฟลิกช่วยป้องกันโรคหัวใจ ส่วนวิตามินดีมีบทบาทสำคัญในการป้องกันโรคกระดูกพรุนและมะเร็งบางชนิด การเสริมวิตามินอีในปริมาณ 100 IU ต่อวันเป็นระยะเวลาสองปีขึ้นไป ช่วยลดความเสี่ยงด้านสุขภาพ ในขณะที่การเสริมวิตามินซีเป็นระยะเวลาเกือบ 10 ปีช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดต่อกระจาก การขาดวิตามินซีอาจนำไปสู่โรคเลือดออกตามไรฟัน และสุขภาพฟันและเหงือกที่ไม่ดี การขาดวิตามินเอ อาจทำให้เกิดอาการตาบอดกลางคืน ดังนั้น วิตามินจึงมีบทบาทสำคัญในการป้องกันโรค และรักษาสมดุลทางโภชนาการเพื่อให้ร่างกายทำงานได้อย่างเหมาะสม (Houston, 2005)

โพลีฟีนอล (Polyphenols) เป็นสารประกอบสารพฤกษเคมี (Phytochemicals) ที่ได้จากพืชซึ่งถูกสร้างขึ้นในพืชทำหน้าที่เป็นสารทุติยภูมิ (Secondary metabolites) เพื่อลดความเครียดจากกระบวนการสังเคราะห์แสง และความเครียดออกซิเดชัน แหล่งอาหารที่เป็นของโพลีฟีนอลมีหลากหลาย เช่น ผัก ผลไม้ พืชตระกูลถั่ว ธัญพืชไม่ขัดสี กาแฟ ชา โกโก้ และไวน์ โดยมีโพลีฟีนอลมากถึง 8,000 ชนิด ซึ่งรวมถึง ฟลาโวน (Flavones) ฟลาโวนอล (Flavonols) ฟลาวาโนน (Flavanones) ฟลาวานอล (Flavanols) และแอนโทไซยานิน (Anthocyanins) ซึ่งส่วนใหญ่สังเคราะห์ผ่าน Phenylpropanoid pathway โพลีฟีนอลยังสามารถจำแนกได้ตามลักษณะของโครงสร้างฟีนอลิกและองค์ประกอบหลักที่ยึดโครงสร้างวงแหวนฟีนอลิกเข้าด้วยกัน โพลีฟีนอลที่เป็นกลุ่มหลักในอาหารที่อุดมไปด้วยกรดฟีนอลิก ซึ่งรวมถึงสารอนุพันธ์ของกรดไฮดรอกซีเบนโซอิก (Hydroxybenzoic acids) เช่น กรดแกลลิก (Gallic acid) กรดโปรโตคาเทอชอิก (Protocatechuic acid, PCA) กรดพาราไฮดรอกซีเบนโซอิก (Para-hydroxybenzoic acid: PHBA) และสารอนุพันธ์ของกรดไฮดรอกซีซินนามิก (Hydroxycinnamic acids) เช่น กรดคลอโรจีนิก (Chlorogenic acid) กรดคาเฟอิก (Caffeic acid) กรดคูมาริก (Coumaric acid) กรดซินนามิก (Sinapic acid) และกรดเฟอรูลิก (Ferulic acid) แหล่งอาหารที่พบกรดฟีนอลิกในปริมาณสูง ได้แก่ กวี ผลไม้ตระกูลเบอร์รี่ แอปเปิล เซอร์รี ลูกแพร์ กาแฟ และชิโครี (Duthie et al., 2003) นอกจากนี้ โพลีฟีนอลยังแสดงให้เห็นถึงประโยชน์ทางการรักษา เช่นฤทธิ์ต้านการอักเสบ ต้านอนุมูลอิสระ ต้านจุลชีพ ต้านเบาหวาน และปกป้องระบบหัวใจและหลอดเลือด ซึ่งช่วยป้องกันโรคเสื่อมของระบบประสาท (Scalbert et al., 2005) อย่างไรก็ตาม คุณสมบัติทางเภสัชวิทยาของโพลีฟีนอลยังมีข้อจำกัด เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการดูดซึมต่ำ (bioavailability) ซึ่งส่งผลต่อการทำงานทางชีวภาพ คุณสมบัตินี้ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น คุณสมบัติทางเคมี กระบวนการเตรียมอาหาร การย่อยในทางระบบทางเดินอาหาร การดูดซึมในลำไส้ และการเผาผลาญผ่านเอนไซม์ร่วมกับกระบวนการคอนจูเกชันในลำไส้ (Conjugation) (Yang et al., 2001) โดยโพลีฟีนอลจะถูกขับออกจากร่างกายผ่านปัสสาวะและน้ำดี หลังจากผ่านกระบวนการดูดซึม การกระจายตัว การเผาผลาญ และการขับออกจากร่างกาย โพลีฟีนอลจะสะสมในตำแหน่งเป้าหมายเพื่อแสดงฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาตามต้องการ

2.1.2 บทบาทของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเชิงโภชนาบำบัดในการรักษาโรคต่าง ๆ

ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเชิงโภชนาบำบัดมีส่วนช่วยในการเสริมสร้างสุขภาพ ความเป็นอยู่ที่ดีขึ้น และการปรับสมดุลระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งมีบทบาทในการป้องกันและรักษาโรคต่าง ๆ โดยมีโรคหลากหลายประเภทที่สามารถรักษาได้ด้วยการใช้ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเชิงโภชนาบำบัด

2.1.2.1 ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเชิงโภชนาบำบัดมีบทบาทสำคัญในการลดความเสี่ยงและป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด (Cardiovascular diseases, CVDs) ซึ่งส่งผลกระทบต่อการ

ทำงานของหลอดเลือดและหัวใจ ทั้งนี้ CVDs นับเป็นสาเหตุการเสียชีวิตอันดับต้น ๆ โดยคิดเป็น 30% ของอัตราการเสียชีวิตทั่วโลกในแต่ละปี (Gorain, 2024) หลากหลายงานวิจัยพบว่า ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเชิงโภชนาบำบัดหลายชนิดสามารถช่วยลดปัจจัยเสี่ยงของโรคหัวใจได้ สามารถจำแนกได้ เป็นกลุ่มที่ใช้ในการรักษาภาวะหัวใจเต้นผิดจังหวะ (Arrhythmias) (Porto et al., 2019) ภาวะหัวใจล้มเหลว (Congestive heart failure) (Waheed Janabi et al., 2020) โรคหลอดเลือดหัวใจตีบ (Angina) (Myung et al., 2021) ความดันโลหิตสูง (Hypertension) (Russell et al., 2021) และภาวะไขมันในเลือดสูง (Hyperlipidemias) (Ruscica et al., 2021)

สารอัลลิซิน (Allicin) และสารอัลลิอิน (Alliin) เป็นสารสำคัญที่พบในกระเทียม (*Allium sativum*) โดยมีบทบาทในการช่วยลดไขมันในเลือดและป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด ซึ่งเป็นโรคที่มีความเสี่ยงสูงและเป็นสาเหตุสำคัญของการเสียชีวิต อาการของโรคเหล่านี้เกี่ยวข้องกับระดับไตรกลีเซอไรด์และคอเลสเตอรอลในเลือดที่สูง ซึ่งส่งผลให้เกิดโรคหัวใจขาดเลือดและภาวะหลอดเลือดแดงแข็งตัว (Atherosclerosis) สารอัลลิอินจะถูกเปลี่ยนเป็นสารอัลลิซินผ่านเอนไซม์อัลลิเนส (Alliinase) เมื่อกระเทียมถูกบดหรือหั่น ซึ่งทำให้สารอัลลิซินออกฤทธิ์ช่วยลดการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลในร่างกาย และช่วยยับยั้งคอเลสเตอรอลที่มากเกินไปออกทางอุจจาระ นอกจากนี้ การวิจัยพบว่า การเสริมกระเทียมช่วยเพิ่มอัตราส่วนของ HDL ต่อ LDL ที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพหลอดเลือดและหัวใจ โดยการทดลองที่ควบคุมด้วยยาหลอกจำนวน 13 การทดลอง ซึ่งศึกษาในผู้ป่วย 781 ราย ยืนยันว่ากระเทียมมีผลลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือดและยังช่วยลดความดันโลหิตในผู้ป่วยอีกด้วย (Chan et al., 2020)

กรดไขมันโอเมกา-3 ได้จากแหล่งอาหารทางทะเลเป็นกลุ่มของกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (Polyunsaturated fatty acids, PUFAs) มีบทบาทสำคัญในการป้องกันและรักษาโรคหัวใจและหลอดเลือด โดยเฉพาะกรดโดโคซาเฮกซาอีโนอิก (Docosahexaenoic acid, DHA) และกรดไขมันอีพีเอ (Eicosatetraenoic acid, EPA) ซึ่งพบในน้ำมันปลา มีงานวิจัยที่ยืนยันว่าการรับประทานผลิตภัณฑ์เสริมอาหารน้ำมันปลาสามารถลดอัตราการเสียชีวิตได้ถึง 29% ในการทดลองระยะเวลาสองปี มีศึกษาในผู้ป่วย 2,033 ราย หลังเกิดอาการหัวใจขาดเลือด (Myocardial infarction, MI) พบว่าการรับประทานน้ำมันปลาช่วยลดความเสี่ยงการเสียชีวิตฉับพลันได้ 45% และลดความเสี่ยงจากโรคหัวใจและหลอดเลือดโดยรวมได้ถึง 30% กลไกการทำงานของโอเมกา-3 ช่วยเสริมความเสถียรทางไฟฟ้าของเซลล์กล้ามเนื้อหัวใจ โดยทำให้ระยะเวลาพักของหัวใจยืดออก ซึ่งช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดภาวะหัวใจเต้นผิดจังหวะ (Cardiac arrhythmias) นอกจากนี้ ยังมีคุณสมบัติช่วยยับยั้งการสะสมของคราบไขมันในหลอดเลือด (Atherosclerosis) ซึ่งเป็นสาเหตุหลักของโรคหลอดเลือดตีบตัน กรดไขมันโอเมกา-3 ยังช่วยลดการอักเสบและส่งเสริมสุขภาพหลอดเลือดในระดับเซลล์อีกด้วย (Barry & Dixon, 2021; Manson et al., 2019)

โปรตีน เปปไทด์ และกรดอะมิโน เป็นส่วนประกอบสำคัญของอาหารและถือเป็นสารอาหารหลัก (Macronutrient) ที่มีบทบาทในการเสริมสร้างและรักษาสุขภาพ โดยมีหน้าที่สำคัญในการสร้างและซ่อมแซมเนื้อเยื่อ รวมถึงส่งเสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ระบบย่อยอาหาร และการทำงานของระบบประสาทในร่างกาย นอกจากนี้ โปรตีนและเปปไทด์จากอาหารยังมีศักยภาพในการลดความดันโลหิตและมีผลเชิงป้องกันต่อโรคหัวใจและหลอดเลือดได้เป็นอย่างดี หนึ่งในกลไกที่มีการวิจัยคือฤทธิ์ในการยับยั้งเอนไซม์ Angiotensin-converting enzyme (ACE) ของโปรตีนที่ได้จากนม เช่น เคซีน (Casein) และ เวย์โปรตีน (Whey protein) ซึ่งพบว่า มีคุณสมบัติในการลดความดันโลหิต การศึกษาในสัตว์ทดลองและการทดลองทางคลินิกยืนยันถึงประสิทธิภาพของโปรตีนจากนมในการควบคุมความดันโลหิต ลดความเสี่ยงของโรคหัวใจ และหลอดเลือดได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยการทดลองแสดงให้เห็นว่าการบริโภคโปรตีนจากนมสามารถลดความดันโลหิตในกลุ่มผู้ทดลองได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Liao et al., 2021)

2.1.2.2 ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเชิงโภชนาบำบัดมีบทบาทสำคัญในการเคมีบำบัด (Cancer Chemo) และการฉายรังสีสำหรับโรคมะเร็ง (Radiotherapy)

ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเชิงโภชนาบำบัดในการเคมีบำบัดและการฉายรังสีมีบทบาทสำคัญในการช่วยลดผลข้างเคียงและเสริมประสิทธิภาพการรักษาโรคมะเร็ง เนื่องจากการรักษาแบบดั้งเดิมอย่างการเคมีบำบัดและการฉายรังสีมักก่อให้เกิดผลข้างเคียงที่รุนแรง เช่น ปวด เหนื่อยล้า ท้องเสีย อาเจียน คลื่นไส้ และผมร่วง เนื่องจากมีมะเร็งบางชนิดที่มีความทนทานสูงต่อการรักษาแบบเคมีบำบัดและการฉายรังสี การเสริมด้วยผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเชิงโภชนาบำบัดจึงถือเป็นอีกวิธีที่ช่วยบรรเทาผลข้างเคียง และเพิ่มประสิทธิภาพของการรักษา (Saldanha & Tollefsbol, 2012)

เคอร์คูมิน (Curcumin) เป็นสารออกฤทธิ์หลักในขมิ้นชัน (*Curcuma longa*) ซึ่งได้รับการยอมรับว่าเป็นสารเสริมสุขภาพที่มีศักยภาพสูง โดยเฉพาะในด้านการรักษาโรคมะเร็ง งานวิจัยก่อนการทดลองทางคลินิก (Pre-clinical studies) พบว่าเคอร์คูมินมีความสามารถในการยับยั้งกระบวนการเกิดมะเร็งในมะเร็งหลายชนิด เช่น มะเร็งตับอ่อน มะเร็งลำไส้ใหญ่ มะเร็งต่อมลูกหมาก มะเร็งกระเพาะอาหาร และมะเร็งตับ นอกจากนี้ยังพบว่า เคอร์คูมินสามารถยับยั้งกระบวนการต่าง ๆ ของมะเร็ง เช่น การสร้างหลอดเลือดใหม่ การแพร่กระจาย และการเพิ่มจำนวนเซลล์มะเร็ง ซึ่งเป็นกระบวนการสำคัญที่ส่งเสริมการเติบโตของเซลล์มะเร็ง (Yoshida et al., 2018)

ขิง (Ginger) เป็นสารสำคัญที่มีคุณสมบัติทางเภสัชวิทยาหลายประการและถือเป็นหนึ่งในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มีศักยภาพสูง โดยมีคุณสมบัติเป็น สารต้านการกลายพันธุ์ (Antimutagenic) สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) และ สารต้านการอักเสบ (Anti-inflammatory) ขิงช่วยลดผลข้างเคียงของการรักษาแบบเคมีบำบัดและการฉายรังสีในผู้ป่วย

โรคมะเร็งได้อย่างมีประสิทธิภาพ จึงมักใช้เพื่อลดผลข้างเคียงของการรักษาด้วยเคมีบำบัดและการฉายรังสี เนื่องจากช่วยป้องกันอาการคลื่นไส้ อาเจียน และเสริมความแข็งแรงของระบบภูมิคุ้มกัน ทำให้ผู้ป่วยทนต่อการรักษาได้ดีขึ้น นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะแทรกซ้อนที่อาจเกิดขึ้นในระบบทางเดินอาหารและระบบทางเดินหายใจ ซึ่งเป็นปัญหาที่พบได้บ่อยในผู้ป่วยโรคมะเร็ง (Wong et al., 2015)

2.1.2.3 ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเชิงโภชนาบำบัดมีบทบาทสำคัญในการบำรุงผิวหนัง

ผิวหนังเป็นอวัยวะที่ใหญ่ที่สุดของร่างกายและทำหน้าที่เป็นเกราะป้องกันต่อเชื้อก่อโรค รังสีอัลตราไวโอเลต (UV) และสารเคมีที่อาจก่อให้เกิดอาการแพ้ได้ เนื่องจากผิวหนังมีบทบาทสำคัญในการปกป้องร่างกายจากปัจจัยเหล่านี้ จึงมีแนวโน้มที่จะเกิดการเปลี่ยนแปลง เช่น ความผิดปกติของระบบภูมิคุ้มกัน ความแก่จากแสงแดด (Photo-aging) และการอักเสบ ซึ่งส่งผลกระทบต่อสุขภาพของมนุษย์ (Chung et al., 2019) ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเชิงโภชนาบำบัดมีศักยภาพในการชะลอการแก่ก่อนวัย ซึ่งผลิตภัณฑ์นี้อาจเป็นสารเปปไทด์เชิงซ้อนที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ สารพอลิแซ็กคาไรด์เชิงซ้อน สารสกัดจากพืช และแคโรทีนอยด์ ซึ่งเมื่อเสริมด้วยผลิตภัณฑ์นี้ มีงานวิจัยแสดงให้เห็นว่ามีอาการของการเสื่อมสภาพน้อยลงและยังช่วยปกป้องผิวจากการเสื่อมสภาพที่เกิดจากรังสีอัลตราไวโอเลต (Pérez-Sánchez et al., 2018)

เปปไทด์ที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bio-active peptides) เปปไทด์ที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ หรือที่เรียกว่า Bio-active peptides คือเปปไทด์ที่เกิดจากการรวมตัวของกรดอะมิโนสองตัวหรือมากกว่าด้วยน้ำหนัโมเลกุลที่ต่ำ (<3 kDa) ซึ่งสามารถทำหน้าที่ต่างๆ ในร่างกาย เช่น การต้านอนุมูลอิสระ ลดการอักเสบ และกระตุ้นการสร้างคอลลาเจน เปปไทด์เหล่านี้มีความสำคัญในการช่วยบำรุงและปกป้องผิวหนัง ทำให้ผิวแข็งแรงชะลอการแก่ชรา เปปไทด์ที่ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางโดยทั่วไปมักสกัดมาจากคอลลาเจน และมักใช้เป็นสูตรนิวตราซูติคอล (Nutraceutical) เนื่องจากมีความสามารถในการดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย และความสามารถในการละลายที่สูงขึ้น (Iwaniak et al., 2019) จากการศึกษาในสถานะควบคุมของ VERISOL® ซึ่งมีส่วนประกอบของไบโอแอคทีฟคอลลาเจนเปปไทด์ (Bioactive collagen peptide, BCP) พบว่า ในการทดลองนี้มีการให้ VERISOL® และยาหลอกแก่กลุ่มตัวอย่างเป็นเวลา 8 สัปดาห์ และได้ทำการวัดปริมาณริ้วรอยบริเวณรอบดวงตาก่อนเริ่มการทดลองและหลังจากผ่านไป 8 สัปดาห์ ผลการทดลองพบว่า BCP มีส่วนช่วยลดปริมาณริ้วรอยรอบดวงตาได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับยาหลอกหลังจากการรักษาเป็นเวลา 8 สัปดาห์ นอกจากนี้ การบริโภค BCP ยังแสดงให้เห็นถึงการเพิ่มขึ้นของปริมาณอีลาสติน โปรคอลลาเจนชนิดที่ 1 และไฟบริลลิน ซึ่งส่งผลให้ลดเลือนริ้วรอยและส่งเสริมการสร้างโครงสร้างผิวอย่างมีประสิทธิภาพ (Oesser et al., 2020)

Peptan F และ Peptan P ที่ได้จากหมู เป็นหนึ่งในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเชิงโภชนบำบัดที่มีต้นกำเนิดจากปลา ซึ่งประกอบด้วยคอลลาเจนเปปไทด์ที่ใช้เพื่อชะลอการเสื่อมสภาพของผิวโดยการรักษาความชุ่มชื้นภายในชั้นผิวได้อย่างมีประสิทธิภาพ เมื่อเร็ว ๆ นี้มีการศึกษาที่ระบุว่า การใช้ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเชิงโภชนบำบัด Celergen® สามารถปรับปรุงคุณสมบัติของผิวได้โดยไม่มีความเสี่ยงต่อความเสียหายจากการออกซิเดชัน ทำให้ผลิตภัณฑ์นี้ได้รับการพิสูจน์ว่าเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่ปลอดภัยและมีประสิทธิภาพ ซึ่งผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเชิงโภชนบำบัดนี้มีส่วนประกอบของคอลลาเจนเปปไทด์ที่มาจากปลาน้ำลึก สารสกัดจากผิวองุ่น โคเอนไซม์คิวเท็น (Coenzyme Q10) และลูโทนิน (Leutolin) (Ozogul et al., 2021)

พอลิแซ็กคาไรด์ที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bio-active polysaccharides) เป็นพอลิเมอร์ที่ประกอบด้วยน้ำตาล มีบทบาทสำคัญทั้งในด้านการสะสมพลังงานและการเสริมสร้างโครงสร้าง พบได้ในสิ่งมีชีวิตหลากหลายประเภท เช่น พืช เห็ดรา สัตว์ และโปรคาริโอต โดยพอลิแซ็กคาไรด์เหล่านี้มีการรวมตัวของมอนอแซ็กคาไรด์ที่หลากหลาย ทำให้เกิดสมบัติทางเคมีกายภาพและโครงสร้างที่แตกต่างกัน หนึ่งในพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีประโยชน์อย่างยิ่งในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเชิงโภชนบำบัดคือไกลโคซามิโนไกลแคน (Glycosaminoglycans) ที่สกัดได้จากแหล่งทางทะเล โดยมีหน่วยพื้นฐานเป็นไดแซ็กคาไรด์แบบไม่แตกแขนง (Un-branched disaccharide) ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลแอมิโน ได้แก่ เอ็น-อะเซทิลกลูโคซามีน (N-acetylglucosamine) หรือ เอ็น-อะเซทิลกาแลคโตซามีน (N-acetylgalactosamine) และกรดยูโรนิก (Uronic acid) เช่น กรดกลูคูโรนิก (Glucuronic acid) หรือกรดไดูโรนิก (Iduronic acid) (Senni et al., 2011) มีการทดลองทางคลินิกในมนุษย์สำหรับผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเชิงโภชนบำบัดที่มีส่วนประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์ โดยใช้ผลิตภัณฑ์ Imedeen® DermOne® ซึ่งประกอบด้วยส่วนของโปรตีนบางชนิดร่วมกับไกลโคซามิโนไกลแคน เพื่อใช้เป็นอาหารเสริมสำหรับการดูแลผิว นอกจากนี้ อาหารเสริมนี้ยังมีซิงค์กลูโคเนตและวิตามินซี ซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อสุขภาพผิว ในการทดลองดังกล่าว ผู้หญิงจำนวน 10 คน ได้รับ Imedeen® ปริมาณ 500 มิลลิกรัม เป็นระยะเวลา 90 วัน โดยมีการประเมินปัจจัยต่าง ๆ เช่น ความแห้งกร้าน ความแข็งแรงของเส้นผมและเล็บ ริ้วรอย และจุดด่างดำ ผลการทดลองพบว่า หลังจากครบ 90 วัน อาการทั้งหมดมีการปรับปรุงดีขึ้นอย่างชัดเจน รวมถึงผิวหนังมีความหนาและความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (Chung et al., 2019)

สารสกัดจากพืชที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bio-active botanical extracts) สารสกัดจากพืชที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพประกอบด้วยสารหลายชนิดที่มีโครงสร้างและแหล่งกำเนิดที่หลากหลาย โพลีฟีนอลเป็นหนึ่งในสารธรรมชาติสำคัญที่มีการประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอาง โดยมีความหลากหลายทั้งในกลุ่มสารและโครงสร้าง ซึ่งโพลีฟีนอลเป็นสารอาหารขนาดเล็กจากพืชที่สามารถพบได้ในอาหาร การใช้สารเหล่านี้สามารถช่วยเสริมการรักษาในการป้องกันโรคและช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการ

รักษาโรคได้ โพลีฟีนอลแต่ละชนิดมีความสามารถในการดูดซึมเข้าสู่ร่างกายที่แตกต่างกัน โดยโพลีฟีนอลที่พบในอาหารจะมีความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์สูงสุดในเนื้อเยื่อที่เป็นเป้าหมาย องค์ประกอบและสัดส่วนของโพลีฟีนอลจะแตกต่างกันไปตามวิธีการสกัดและกลุ่มพืชที่ใช้ (Shivangi et al., 2021) ผลิตภัณฑ์ Pycnogenol® ได้รับการพัฒนาจากสารสกัดจากพืช โดยมีส่วนประกอบสำคัญอย่างคาเทชิน (Catechins) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) และโปรไซยานิดิน (Procyanidins) นอกจากนี้ยังประกอบด้วยกรดฟีนอลิก เช่น กรดเฟอรูลิก และกรดคาเฟอิก ซึ่งมีการยืนยันว่ามีคุณสมบัติในการลดระดับคอเลสเตอรอล และเสริมสุขภาพหัวใจและหลอดเลือด เนื่องจากมีฤทธิ์ต้านเบาหวาน ด้านการอักเสบ และต้านอนุมูลอิสระ (Aydin et al., 2019; Oliviero et al., 2018; Singh et al., 2018)

2.2. ผลิตภัณฑ์ไบโอติกซินเนอร์จี (Biotic synergy products)

ผลิตภัณฑ์ไบโอติกซินเนอร์จี หมายถึง ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารหรืออาหารเชิงหน้าที่ที่รวมส่วนประกอบทางชีวภาพหลายชนิดเข้าด้วยกัน โดยมีการทำงานร่วมกันแบบเสริมซึ่งกันและกัน (synergistic interaction) เพื่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพที่มากกว่าการใช้ส่วนประกอบแต่ละชนิดแยกกัน คำว่า ไบโอติก (Biotic) ในบริบทนี้ เป็นคำศัพท์ที่ครอบคลุมถึงยาหรือผลิตภัณฑ์ที่ช่วยปรับสมดุลจุลินทรีย์ในร่างกาย รวมถึงโพรไบโอติก พรีไบโอติก ซินไบโอติก และโพลีไบโอติก ส่วนคำว่า ซิเนอร์จี (Synergy) หมายถึงการทำงานร่วมกันของส่วนประกอบต่างๆ ที่ให้ผลลัพธ์ที่ดีกว่าการทำงานแต่ละส่วนรวมกัน (Townsend et al., 2023)

2.2.1 โพรไบโอติก (Probiotics)

โพรไบโอติก คือแบคทีเรียที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์และสัตว์ ในช่วงต้นทศวรรษ 1990 เมชนิคอฟ ได้เสนอแนวคิดเรื่องโพรไบโอติกในบริบททางวิทยาศาสตร์ว่าเป็นการปรับเปลี่ยนความหลากหลายของจุลินทรีย์ในร่างกายมนุษย์ โดยการแทนที่แบคทีเรียที่เป็นอันตรายด้วยแบคทีเรียที่มีประโยชน์ (Metchnikoff, 2004) บทบาทที่มีประโยชน์ของแบคทีเรียในลำไส้ หรือที่เรียกว่า การต้านการตั้งรกราก (Colonization resistance) หรือผลของการป้องกัน (Barrier effect) หมายถึงกลไกหรือกระบวนการที่จุลินทรีย์ในลำไส้ทำหน้าที่เป็นเกราะป้องกัน โดยสร้างสภาพแวดล้อมที่ขัดขวางเชื้อโรคที่เพิ่งเข้าสู่ร่างกายไม่ให้ตั้งรกรากในลำไส้ นอกจากนี้ยังอาจสันนิษฐานได้ว่าการปรับเปลี่ยนแบคทีเรียในลำไส้เพื่อเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ มีบทบาทสำคัญอย่างยิ่งในการปรับการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน การย่อยอาหาร และการเผาผลาญ ซึ่งล้วนส่งผลต่อการสื่อสารระหว่างสมองและลำไส้ทั้งทางตรงและทางอ้อม คุณสมบัติที่แบคทีเรียกลุ่มโพรไบโอติก ซึ่งเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ใช้เป็นอาหารเสริมสำหรับผู้บริโภคและต้านทานเชื้อโรคที่ก่อให้เกิดโรคในทางเดินอาหารนั้น ได้แสดง

ให้เห็นถึงความสามารถในการแข่งขันกับจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคเพื่อยืดเกาะบริเวณลำไส้ และส่งเสริมการตั้งถิ่นฐานของแบคทีเรียที่ดีในระบบลำไส้ (Rao et al., 2016)

โพรไบโอติกมีคำจำกัดความหลายอย่าง แต่คำจำกัดความต่อไปนี้มีความน่าเชื่อถือและเข้าใจง่ายกว่า ได้แก่ ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่ประกอบด้วยจุลินทรีย์มีชีวิต ซึ่งมีผลต่อโฮสต์โดยการปรับสมดุลในลำไส้ เป็นหนึ่งในคำจำกัดความที่เรียบง่ายของโพรไบโอติกที่ฟูลเลอร์ได้ให้ไว้ในปี 1989 (Fuller, 1989) นอกจากนี้อนุภาคอาหารที่ไม่ถูกย่อยบางชนิดที่ช่วยโฮสต์ โดยเร่งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ถูกเรียกว่า พรีไบโอติก (Prebiotics) (Gibson & Roberfroid, 1995) สุดท้ายเมื่อโพรไบโอติกและพรีไบโอติกร่วมกันปรับปรุงการเสริมสารอาหารให้แก่โฮสต์ ความสัมพันธ์นี้สามารถเรียกว่า ซินไบโอติก (Synbiotics) (Hamasali, 2016) ในปัจจุบันองค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) องค์การอนามัยโลก (WHO) สถาบันวิทยาศาสตร์เพื่อชีวิตระหว่างประเทศ (ILSI) และสมาคมอาหารและวัฒนธรรมอาหารแห่งสหภาพยุโรป (EFFCA) ได้มีการรวมคำจำกัดความของโพรไบโอติกว่า เป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตซึ่งมีบทบาทเป็นประโยชน์ภายในโฮสต์โดยทั่วไปแล้ว โพรไบโอติกมักบริโภคในรูปแบบผลิตภัณฑ์ที่มีจุลินทรีย์ที่มีชีวิต และประกอบด้วยแบคทีเรีย เช่น แลคโตบาซิลลัส (*Lactobacillus*) หรือบิฟิโดแบคทีเรีย (*Bifidobacterium*) ซึ่งแยกได้จากสภาพแวดล้อมตามธรรมชาติ (Bongaerts & Severijnen, 2016; GÜLTEKİN et al., 2020)

แบคทีเรียกรดแลคติก (Lactic acid bacteria, LAB) เป็นกลุ่มของแบคทีเรียที่มีความสามารถในการใช้คาร์โบไฮเดรตและได้กรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์หลัก LAB เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มักจะไม่ผลิตเอนไซม์แคตาเลส (Catalase) ทนต่อกรด มีรูปร่างเป็นแท่งหรือทรงกลม ไม่สร้างสปอร์ ทนต่อกรดอาศัยอยู่ในแหล่งที่อยู่อาศัยที่หลากหลาย รวมถึงในร่างกายของมนุษย์ เช่น ระบบทางเดินอาหาร ช่องปาก ระบบทางเดินหายใจ ทางเดินอาหาร มีการใช้ LAB กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมต่าง ๆ ตั้งแต่ในอุตสาหกรรมนม ไปจนถึงการใช้เป็นโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร LAB อยู่ในไฟลัมสองชนิดที่แตกต่างกัน ได้แก่ *Firmicutes* และ *Actinobacteria* สกุลสำคัญของ LAB ที่อยู่ในไฟลัม *Firmicutes* ได้แก่ *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* และ *Weissella* ซึ่งทั้งหมดจัดอยู่ในอันดับ *Lactobacillales* ส่วน LAB ที่อยู่ในไฟลัม *Actinobacteria* นั้น ได้แก่ สกุล *Bifidobacterium* (Horvath et al., 2009) ตารางที่ 1 แสดงจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นโพรไบโอติกในปัจจุบัน

ตารางที่ 1 จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นโพรไบโอติกในปัจจุบัน

โพรไบโอติก	สายพันธุ์	อ้างอิง
<i>Lactobacillus</i>	<i>L. plantarum</i> , <i>L. paracasei</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. crispatus</i> , <i>L. gasseri</i> , <i>L. reuteri</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. sporogenes</i> (<i>B. coagulans</i>)	Dixit et al. (2016)
<i>Propionibacterium</i>	<i>P. jensenii</i> , <i>P. freudenreichii</i>	Dixit et al. (2016)
<i>Bacillus</i>	<i>B. coagulans</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>B. laterosporus</i>	Nguyen et al. (2016)
<i>Lactococcus</i>	<i>L. lactis</i> , <i>L. reuteri</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. salivarius</i>	Eid et al. (2016)
<i>Pediococcus</i>	<i>P. acidilactici</i> , <i>P. pentosaceus</i>	Sornplang and Piyadeatsoontorn (2016)
<i>Peptostreptococcus</i>	<i>P. productus</i>	Dixit et al. (2016)
<i>Bifidobacterium</i>	<i>B. longum</i> , <i>B. catenulatum</i> , <i>B. breve</i> , <i>B. animalis</i> , <i>B. bifidum</i>	Westermann et al. (2016)
<i>Saccharomyces</i>	<i>S. boulardii</i>	Chen et al. (2013)
<i>Streptococcus</i>	<i>S. sanguis</i> , <i>S. oralis</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. salivarius</i> , <i>S. thermophilus</i>	Arora et al. (2013)
<i>Akkermansia</i>	<i>A. muciniphila</i>	Kobyliak et al. (2016)
<i>Bacteroides</i>	<i>B. uniformis</i>	Kobyliak et al. (2016)
<i>Enterococcus</i>	<i>E. faecium</i>	LOKESH et al. (2021)

2.2.1.1 สกุล *Lactobacillus*

สกุล *Lactobacillus* เป็นกลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติกที่สำคัญและเป็นที่รู้จักในวงการสุขภาพ อุตสาหกรรมอาหาร และการวิจัยจุลชีววิทยา แบคทีเรียในสกุลนี้เป็นแกรมบวก (Gram-positive) มีรูปร่างเป็นแท่ง ไม่มีสปอร์ ไม่ต้องการออกซิเจนอย่างสมบูรณ์ (Obligate anaerobes) แต่สามารถทนต่อสภาวะที่มีออกซิเจนได้ (Aerotolerant anaerobes) สิ่งที่ทำให้สกุลนี้โดดเด่นคือความสามารถในการหมักน้ำตาลให้เป็นกรดแลคติก ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่มีประโยชน์อย่างมากทั้งในด้านการปรับสมดุลของระบบย่อยอาหารในมนุษย์และในการถนอมอาหาร (Giraffa et al., 2010) นอกจากนี้ยังมีบทบาทสำคัญในการย่อยน้ำตาลให้เป็นกรดแลคติกแล้ว ยังมีคุณสมบัติที่เป็นประโยชน์ในหลากหลายด้าน ทั้งในระบบทางเดินอาหาร สุขภาพช่องปาก และการสร้างภูมิคุ้มกัน นอกจากนี้ยังถูกนำมาใช้ในกระบวนการผลิตอาหารหลายชนิด เช่น โยเกิร์ต ชีส และกิมจิ เนื่องจากสามารถสร้างสภาวะที่เป็นกรดซึ่งยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่เป็นอันตรายได้ ช่วยเพิ่มอายุการเก็บรักษา และให้รสชาติและเนื้อสัมผัสที่เป็นเอกลักษณ์ (Corsetti & Settanni, 2007)

ตารางที่ 2 สายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ในสกุล *Lactobacillus* ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ

โพรไบโอติก	ประโยชน์	อ้างอิง
<i>L. acidophilus</i>	ช่วยบำบัดอาการลำไส้แปรปรวน บรรเทาอาการลำไส้แปรปรวน ภาวะแพ้อาหาร ระบบภูมิคุ้มกัน การติดเชื้อในช่องคลอด	Vanderpool et al. (2008), Gill and Prasad (2008), Kim and Gilliland (1983), Ouwehand et al. (2002), Reid et al. (2003)
<i>L. lactis</i>	กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน ลดการเกิดเชื้อโรคในลำไส้ ช่วยบรรเทาอาการลำไส้แปรปรวน	de LeBlanc and Perdigón (2010), Wells and Mercenier (2008), Bolotin et al. (2001)
<i>L. reuteri</i>	รักษาสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ กระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ต้านเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดปัญหาทางช่องปาก	Weizman et al. (2005), Li et al. (2024), Krasse et al. (2006)
<i>L. rhamnosus</i>	ลดอาการท้องเสียที่เกิดจากการใช้ยาปฏิชีวนะ ป้องกันการติดเชื้อในช่องคลอด ลดความรุนแรงของอาการภูมิแพ้	Szajewska and Mrukowicz (2005), Reid (2008), Kalliomäki et al. (2001)

โพรไบโอติก	ประโยชน์	อ้างอิง
<i>L. casei</i>	กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน รักษาความสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ ลดระดับคอเลสเตอรอล	Castagliuolo et al. (1996), Barajas-Nava et al. (2018), Anderson and Gilliland (1999)
<i>L. curvatus</i>	ยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อโรค ปรับสมดุลจุลินทรีย์ในลำไส้ ลดการอักเสบในร่างกาย	Parvez et al. (2006), Ghalfi et al. (2006), Ladda et al. (2023)
<i>L. plantarum</i>	อาการลำไส้แปรปรวน เสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกัน ป้องกันการติดเชื้อในช่องปากและทางเดินอาหาร ลดระดับคอเลสเตอรอล	Van Zanten et al. (2012), Shu et al. (2000), Vaughan and Mollet (1999), Ohashi and Ushida (2009)
<i>L. bulgaricus</i>	ช่วยรักษาความสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ กระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน ลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด ช่วยในการย่อยแลคโตส	Marteau et al. (1997), Kolars et al. (1984), Kabir et al. (1997), Hertzler and Clancy (2003)
<i>L. gasseri</i>	ช่วยลดไขมันในร่างกาย ลดการอักเสบในระบบย่อยอาหาร	Kadooka et al. (2013), Ohashi and Ushida (2009)
<i>L. salivarius</i>	ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในช่องปาก โรคลำไส้อักเสบเรื้อรัง	Shimauchi et al. (2008), O'Flaherty and Klaenhammer (2010)
<i>L. sporogenes</i>	ช่วยลดอาการโรคลำไส้อักเสบเรื้อรัง (IBD) กระตุ้นการทำงานของเซลล์ภูมิคุ้มกัน ปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้	Majeed et al. (2015), Senok et al. (2005), (Cao et al., 2020)

Lactobacillus acidophilus เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างเป็นแท่งสั้น (Short rod-shaped) ขนาด 2–10 ไมโครเมตร สามารถเจริญเติบโตได้ในช่วงอุณหภูมิ 37–42 องศาเซลเซียส (Altermann et al., 2005) และสามารถทนต่ออุณหภูมิสูงถึง 45 องศาเซลเซียส โดยมีการเจริญเติบโตที่ดีที่สุดในสภาวะที่มีความเป็นกรดอ่อน ๆ ที่ pH 5.5–6.0 แต่การเจริญเติบโตจะหยุดลงเมื่อ pH ลดต่ำกว่า 4.0 (Shah, 2007) *L. acidophilus* เป็นแบคทีเรียประเภทโฮโมเฟอร์เมนเตติฟ

(Homofermentative) ซึ่งผลิตกรดแลกติกเป็นผลิตภัณฑ์หลักจากการหมักคาร์โบไฮเดรต นอกจากนี้ยังเป็นหนึ่งในแบคทีเรียที่ทนต่อออกซิเจนได้น้อยที่สุด (Claesson et al., 2007) นอกจากจะผลิตกรดแลกติกแล้ว *L. acidophilus* ยังสามารถผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่น ๆ ในระหว่างกระบวนการหมัก เช่น แบคเทอริโอซิน (Bacteriocins) ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรค เช่น *Gardnerella vaginalis* *Streptococcus agalactiae* และ *Pseudomonas aeruginosa* (Gaspar et al., 2018) นอกจากนี้กรดคอนจูเกตไลโนเลอิก (Conjugated linoleic acid, CLA) ซึ่งมีคุณสมบัติต้านเนื้องอก ยังได้รับการพิสูจน์ว่าสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง HT-29 และ Caco-2 ในหลอดทดลอง (Soel et al., 2007) ในส่วนของเอ็กโซโพลิแซ็กคาไรด์ (Exopolysaccharides, EPS) ที่แยกได้จาก *L. acidophilus* สายพันธุ์ 20079 มีศักยภาพในการปรับปรุงการตอบสนองการอักเสบที่ถูกกระตุ้นโดยปัจจัยการตายของเซลล์อย่างเป็นระบบ (Apoptosis) และ Nuclear factor-kappaB (NF- κ B) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็งลำไส้ในมนุษย์ นอกจากนี้ยังสามารถควบคุมการแสดงออกของยีน IKK α P53 และ TGF (El-Deeb et al., 2018) การศึกษาของ Zhang et al. (2021) ระบุว่า *L. acidophilus* ATCC 4356 สามารถลดการตอบสนองการอักเสบและส่งเสริมความหลากหลายของจุลินทรีย์ในลำไส้ได้ นอกจากนี้ Halawa et al. (2019) ยังรายงานว่า *L. acidophilus* มีศักยภาพในการลดความไม่สมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ (Dysbiosis) ซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญที่ทำให้เกิดโรคเบาหวานชนิดที่ 2

Lactobacillus salivarius เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีรูปร่างเป็นแท่ง และมีคุณสมบัติในการหมักแบบ Facultative heterofermentative ซึ่งหมายความว่าสามารถใช้เส้นทางการเผาผลาญน้ำตาลเฮกโซส (Hexose) เป็นหลัก แต่สามารถปรับเปลี่ยนไปใช้วิถีเมแทบอลิซึมเมื่อมีการขาดน้ำตาลได้ *L. salivarius* มีความสามารถในการเจริญเติบโตในสภาพแวดล้อมที่หลากหลาย เช่น ระบบทางเดินอาหารและทางเดินปัสสาวะ โดยสามารถเติบโตได้ในช่วงอุณหภูมิ 35–45 องศาเซลเซียส และมีค่า pH ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตอยู่ที่ 5.7–6.8 โดยการเจริญเติบโตจะลดลงอย่างมากเมื่อค่า pH ต่ำกว่า 4.5 (Salih et al., 2009) แบคทีเรียชนิดนี้มีความโดดเด่นในการผลิต Salivaricin ซึ่งเป็นแบคทีเรียซินที่มีฤทธิ์ช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรค เช่น *Listeria monocytogenes* (Corr et al., 2007) ทำให้มีบทบาทสำคัญในการรักษาสสมดุลจุลินทรีย์และปกป้องโฮสต์จากการติดเชื้อ นอกจากนี้ *L. salivarius* ยังผลิตกรดไขมันสายสั้น (SCFAs) อย่างกรดอะซิติกและกรดแลกติก ซึ่งมีความสำคัญต่อสุขภาพลำไส้ รวมถึงคุณสมบัติด้านการอักเสบและการป้องกันมะเร็งลำไส้ใหญ่ (Messaoudi et al., 2013) แบคทีเรียชนิดนี้ยังมีบทบาทในการปรับระบบภูมิคุ้มกัน โดยสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของลำไส้และปรับสมดุลการผลิตไซโตไคน์ ช่วยป้องกันการอักเสบในลำไส้และเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันที่แข็งแรง (Drago et al., 2015) การวิจัยล่าสุดโดย Iyer et al. (2022) พบว่าสายพันธุ์ *L. salivarius* UCC118

มีศักยภาพเป็นโพรไบโอติกในการปรับสมดุลจุลินทรีย์ในลำไส้ เสริมความสมบูรณ์ของเยื่อบุลำไส้ และลดการอักเสบในโฮสต์ อีกทั้งยังแสดงประสิทธิภาพในการป้องกันโรคมะเร็งด้านตนเองบางชนิดและบรรเทาอาการของความผิดปกติในระบบทางเดินอาหาร เช่น โรคลำไส้แปรปรวน Rajkumar et al. (2015) รายงานว่าการบริโภคโพรไบโอติกที่มี *L. salivarius* ช่วยเพิ่มการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน ความไวต่ออินซูลิน และเพิ่มความหลากหลายของกลุ่ม *Lactobacillus* ในลำไส้ของอาสาสมัคร หลังจากการบริโภคต่อเนื่อง 6 สัปดาห์ นอกจากนี้ยังช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลชนิดไม่ดี (Low density lipoprotein, LDL) และไตรกลีเซอไรด์ในเลือด พร้อมเพิ่มระดับคอเลสเตอรอลชนิดดี (High density lipoprotein, HDL) อย่างมีนัยสำคัญ การศึกษาของ Fernández et al. (2016) พบว่า *L. salivarius* มีศักยภาพในการป้องกันการอักเสบของเต้านมจากการติดเชื้อในหญิงตั้งครรภ์ โดยการบริโภคผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่มี *L. salivarius* สามารถป้องกันภาวะติดเชื้อที่เต้านมได้อย่างมีประสิทธิภาพ

Lactobacillus sporogenes เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างแท่ง ที่มีคุณสมบัติเด่นของทั้งสกุล *Lactobacillus* และ *Bacillus* โดยก่อนหน้านี้ถูกจัดอยู่ในทั้งสองสกุล อย่างไรก็ตามมีการค้นพบว่าสายพันธุ์ *L. sporogenes* และ *Bacillus coagulans* เป็นสิ่งมีชีวิตชนิดเดียวกัน (Konuray & Erginkaya, 2018) ปัจจุบัน *B. coagulans* ถูกใช้อย่างแพร่หลายในผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกเชิงพาณิชย์ *L. sporogenes* เป็นแบคทีเรียที่สามารถสร้างสปอร์ มีลักษณะเคลื่อนที่ได้ และเจริญเติบโตได้ในช่วงอุณหภูมิ 35–50 องศาเซลเซียส โดยมีค่า pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 5.5–6.5 เป็นแบคทีเรียที่เจริญเติบโตได้ในสภาวะไร้ออกซิเจน และสร้างเอนโดสปอร์รูปไข่ ซึ่งมีความทนทานต่อความร้อนและสภาวะแวดล้อมที่รุนแรงได้เป็นอย่างดี (Bernardeau et al., 2017) *L. sporogenes* สามารถเจริญเติบโตในระบบทางเดินอาหารของโฮสต์ได้ แม้จะอยู่ในสารละลายเจือจางของกรดไฮโดรคลอริกหรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ ทำให้สามารถทนต่อกรดในกระเพาะอาหารไปถึงลำไส้เล็กได้ โดยประมาณ 85% ของสปอร์สามารถไปถึงลำไส้เล็กภายใน 4–6 ชั่วโมงหลังการบริโภคโพรไบโอติก อย่างไรก็ตามแบคทีเรียชนิดนี้ไม่สามารถตั้งรกรากในลำไส้ได้ถาวร โดยจะถูกขับออกจากร่างกายทางอุจจาระภายในประมาณ 7 วันหลังการบริโภค การศึกษาทางคลินิกพบว่า การบริโภค *B. coagulans* BC 30 ช่วยเพิ่มจำนวนของสายพันธุ์โพรไบโอติก *Faecalibacterium prausnitzii* ในลำไส้ของผู้สูงอายุ อายุ 65–80 ปี ซึ่งมีผลในการต้านการอักเสบ (Nyangale et al., 2015) นอกจากนี้เมแทบอลิต์ของแบคทีเรียชนิดนี้ยังมีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง โดยงานวิจัยของ Jensen et al. (2017) แสดงให้เห็นว่าโพรไบโอติกที่ได้จาก *B. coagulans* GBI-30 สามารถกระตุ้นเซลล์ภูมิคุ้มกันของมนุษย์และส่งเสริมการผลิตไซโตไคน์ที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ อีกทั้งยังช่วยยับยั้งสารอนุมูลอิสระ (Reactive oxygen species, ROS) และเพิ่มกระบวนการฟาโกไซโทซิส (Phagocytosis) ซึ่งเป็นกระบวนการสำคัญในระบบภูมิคุ้มกัน

2.2.1.2 สกุล *Bifidobacterium*

สกุล *Bifidobacterium* เป็นกลุ่มแบคทีเรียกรดแลกติกที่มีความสำคัญในวงการสุขภาพและโภชนาการ แบคทีเรียในสกุลนี้ถูกจัดอยู่ในกลุ่มแกรมบวก (Gram-positive) ไม่มีสปอร์ รูปทรงเป็นแท่งหรือกิ่งก้าน (Branched rod-shaped) และเจริญเติบโตได้ดีในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน (Strict anaerobes) โดยส่วนใหญ่พบในลำไส้ใหญ่ของมนุษย์ สกุลนี้มีบทบาทสำคัญในการช่วยปรับสมดุลจุลินทรีย์ในลำไส้ และมีส่วนช่วยในการเสริมสร้างภูมิคุ้มกันและสนับสนุนการย่อยอาหาร (Turrone et al., 2014) นอกจากนี้เป็นแบคทีเรียกรดแลกติกที่สามารถผลิตกรดอะซิติกและกรดแลกติกในอัตราส่วนสูง กระบวนการนี้ทำให้เกิดสภาพแวดล้อมที่เป็นกรดซึ่งช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรคในลำไส้ (Leahy et al., 2005)

ตารางที่ 3 สายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์ในสกุล *Bifidobacterium* ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ

โพรไบโอติก	ประโยชน์	อ้างอิง
<i>B. longum</i>	ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรค กระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน	O'Callaghan and Van Sinderen (2016), Turrone et al. (2014),
<i>B. catenulatum</i>	ลดอาการลำไส้แปรปรวน (IBS) ลดความเสี่ยงของโรคอ้วนและโรคเบาหวานประเภท 2 ลดการอักเสบในผู้ป่วยที่มีภาวะลำไส้อักเสบเรื้อรัง (IBD)	Rivière et al. (2016), Cani et al. (2007), Machiels et al. (2014)
<i>B. breve</i>	ลดการอักเสบในผู้ป่วยที่มีภาวะลำไส้อักเสบเรื้อรัง (IBD) ช่วยควบคุมน้ำหนักและการเผาผลาญ ช่วยบรรเทาอาการท้องเสียที่เกิดจากการใช้ยาปฏิชีวนะ	Wong et al. (2006), Kondo et al. (2010), Takehara et al. (2012)
<i>B. animalis</i>	ปรับสมดุลจุลินทรีย์ในลำไส้ ช่วยบรรเทาภาวะลำไส้แปรปรวน (IBS) ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด	Ruiz et al. (2017), Whorwell et al. (2006), Liong and Shah (2005)
<i>B. bifidum</i>	ช่วยรักษาสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ ลดการอักเสบในผู้ป่วยที่มีภาวะลำไส้อักเสบเรื้อรัง (IBD) และโรคลำไส้แปรปรวน (IBS) ป้องกันการติดเชื้อในลำไส้ ลดอาการท้องเสียที่เกิดจากการใช้ยาปฏิชีวนะ	O'Callaghan and Van Sinderen (2016), Wong et al. (2006), Saavedra et al. (2004)

Bifidobacterium longum เป็นแบคทีเรียกรัมบวกในกลุ่ม *Actinomyces* ที่มีรูปร่างแท่งไม่สมมาตร ไม่มีเอนไซม์คาตาเลส และเจริญเติบโตได้ในสภาวะไร้ออกซิเจน แบคทีเรียชนิดนี้พบได้ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ โดยเฉพาะในทารกและผู้ใหญ่ อีกทั้งยังสามารถผลิตกรดแลกติก กรดอะซิติก และกรดบิวทิริก ผ่านกระบวนการหมัก ช่วยลดค่าพีเอช (pH) ในลำไส้ ซึ่งไม่เหมาะต่อการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรค *B. longum* มีบทบาทสำคัญในการรักษาสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ โดยเพิ่มแบคทีเรียที่มีประโยชน์และลดเชื้อก่อโรค เช่น *Clostridium difficile* และ *Escherichia coli* นอกจากนี้ยังช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกันด้วยการเพิ่มอิมมูโนโกลบูลินเอ (IgA) และลดการอักเสบในลำไส้ผ่านการควบคุมสัญญาณ NF- κ B การศึกษาพบว่าแบคทีเรียชนิดนี้สามารถลดความเครียดออกซิเดชันในร่างกายด้วยการลดการผลิตอนุมูลอิสระ (Reactive oxygen species, ROS) ผ่านการกระตุ้นเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น แมงกานีสซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (Manganese superoxide dismutase, Mn-SOD) ทำให้ช่วยป้องกันความเสียหายในลำไส้ที่เกี่ยวข้องกับโรคลำไส้อักเสบเรื้อรัง อีกทั้งยังมีศักยภาพในการลดคอเลสเตอรอลชนิดไม่ดี (Low density lipoprotein, LDL) และลดการอักเสบในผู้ที่มีภาวะเมตาบอลิกซินโดรม ด้วยคุณสมบัติที่หลากหลายนี้ *B. longum* จึงเป็นโพรไบโอติกที่มีศักยภาพสูงในการส่งเสริมสุขภาพลำไส้ และสุขภาพโดยรวมของมนุษย์ (Chen et al., 2011; Guo et al., 2017; Turroni et al., 2014)

Bifidobacterium catenulatum เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่ไม่มีสปอร์ มีรูปร่างเป็นแท่ง พบได้ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ โดยเฉพาะในวัยผู้ใหญ่ มีบทบาทสำคัญในการรักษาสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้และเสริมสร้างสุขภาพในหลายหลายด้าน แบคทีเรียชนิดนี้สามารถผลิตกรดไขมันสายสั้น (Short-chain fatty acids, SCFAs) เช่น กรดแลกติก กรดอะซิติก ซึ่งช่วยลดค่า pH ในลำไส้ ทำให้สภาพแวดล้อมไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรค เช่น *Escherichia coli* และ *Clostridium difficile* (Rossi et al., 2005) นอกจากนี้ *B. catenulatum* ยังมีความสามารถในการเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกัน โดยกระตุ้นการหลั่งอิมมูโนโกลบูลินเอ (IgA) และสนับสนุนการทำงานของเซลล์ภูมิคุ้มกัน เช่น T cell ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการป้องกันการติดเชื้อและลดการอักเสบในระบบทางเดินอาหาร (Grimm et al., 2014) การศึกษาวิจัยชี้ให้เห็นว่า *B. catenulatum* สามารถลดอาการของโรคลำไส้อักเสบเรื้อรัง (Inflammatory bowel disease, IBD) และลำไส้แปรปรวน (Irritable bowel syndrome, IBS) โดยการลดการหลั่งไซโตไคน์ที่กระตุ้นการอักเสบ เช่น TNF- α และเพิ่มการผลิตไซโตไคน์ที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบ เช่น IL-10 (Machiels et al., 2014) นอกจากนี้แบคทีเรียชนิดนี้ยังแสดงศักยภาพในการลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด รวมถึงการปรับปรุงการเผาผลาญในผู้ที่มีภาวะเมตาบอลิกซินโดรม ด้วยคุณสมบัติที่ครอบคลุมในด้านสุขภาพ

ลำไส้และการสนับสนุนระบบภูมิคุ้มกัน *B. catenulatum* จึงเป็นแบคทีเรียโพรไบโอติกที่มีศักยภาพสูงในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อส่งเสริมสุขภาพและป้องกันโรค

Bifidobacterium breve เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่มีสปอร์ และมีรูปร่างแท่ง พบได้ในลำไส้ของมนุษย์ โดยเฉพาะในทารกที่เลี้ยงด้วยนมแม่ และยังพบในผู้ใหญ่ในปริมาณที่ลดลงตามอายุ *B. breve* มีบทบาทสำคัญในการสนับสนุนระบบทางเดินอาหาร การปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ และการส่งเสริมภูมิคุ้มกัน แบคทีเรียชนิดนี้สามารถผลิตกรดแลคติกและกรดอะซิติก เพื่อช่วยลดค่า pH ในลำไส้ ทำให้ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรค (Leahy et al., 2005) นอกจากนี้ยังช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน โดยเพิ่มการผลิตอิมมูโนโกลบูลินเอ (IgA) และปรับสมดุลการตอบสนองของเซลล์ภูมิคุ้มกัน ซึ่งช่วยลดการอักเสบในระบบทางเดิน (Grimm et al., 2014) *B. breve* มีศักยภาพในการลดอาการท้องเสียที่เกิดจากการใช้ยาปฏิชีวนะ โดยช่วยฟื้นฟูสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ อีกทั้งยังช่วยลดอาการของโรคลำไส้อักเสบเรื้อรัง (IBD) และอาการลำไส้แปรปรวน (IBS) เช่น อาการท้องอืดและปวดท้อง โดยการลดการหลั่งไซโตไคน์ที่กระตุ้นการอักเสบ (Whorwell et al., 2006) ในทารกแรกเกิด *B. breve* มีบทบาทสำคัญในการย่อยโอลิโกแซคคาไรด์ หรือ Human Milk Oligosaccharides (HMO) ในน้ำนมแม่ ซึ่งช่วยลดความเสี่ยงของภาวะลำไส้เน่าอักเสบ (Necrotizing enterocolitis, NEC) ในทารกคลอดก่อนกำหนด (Sela & Mills, 2010) การศึกษายังพบว่าแบคทีเรียชนิดนี้มีศักยภาพในการลดระดับคอเลสเตอรอลชนิดไม่ดี (Low density lipoprotein, LDL) และส่งเสริมการเผาผลาญในผู้ที่มีภาวะเมตาบอลิกซินโดรม โดยช่วยกระตุ้นการผลิตกรดไขมันสายสั้นที่มีบทบาทในการเสริมสุขภาพลำไส้และการป้องกันการอักเสบ (Cani et al., 2007) ด้วยคุณสมบัติเหล่านี้ *B. breve* จึงเป็นแบคทีเรียโพรไบโอติกที่มีศักยภาพสูงในการส่งเสริมสุขภาพทั้งในทารกและผู้ใหญ่

Bifidobacterium animalis เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างแท่ง และสามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะไร้ออกซิเจน พบได้ในลำไส้ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม รวมถึงมนุษย์ มีลักษณะเด่นคือกระบวนการหมักแบบเฮเทอโรเฟอเม้นเตทีฟ (Heterofermentative fermentation) ซึ่งสามารถผลิตกรดไขมันสายสั้น เช่น กรดโพรพิโอนิก กรดบิวทิริก และกรดอะซิติก นอกจากนี้ยังสามารถสร้างสาร Bifidocin A ซึ่งแสดงคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อก่อโรค เช่น *Escherichia coli* (Liu et al., 2016) *B. animalis* มีประโยชน์ต่อสุขภาพในหลายด้าน โดย Roselli et al. (2006) รายงานว่าแบคทีเรียชนิดนี้สามารถป้องกันเซลล์ลำไส้ Caco-2 จากการอักเสบ โดยการยับยั้งการเคลื่อนที่ของนิวโทรฟิลและลดการยึดเกาะของเชื้อก่อโรคบางชนิด นอกจากนี้ Roškar et al. (2017) พบว่า *B. animalis* ช่วยบรรเทาอาการในผู้ที่มีภาวะการย่อยแลคโตสผิดปกติ เช่น อาการท้องเสียและท้องอืด โดยช่วยเพิ่มความสามารถในการย่อยแลคโตสในลำไส้เล็ก ขณะเดียวกัน Meng et al. (2017) รายงานว่า *B. animalis* มีบทบาทในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันผ่านตัวรับ Toll-like

receptor 2 (TLR-2) ส่งผลให้เพิ่มจำนวนเซลล์ภูมิคุ้มกันชนิด CD14+HLA-DR+ ในกระแสเลือด รวมถึงลดการแสดงออกของ TLR-2 บนเซลล์ภูมิคุ้มกัน และลดการหลั่ง TNF- α จากเซลล์ภูมิคุ้มกันชนิด PBMCs ที่ถูกกระตุ้น ซึ่งบ่งชี้ถึงศักยภาพในการควบคุมการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันและการอักเสบ

Bifidobacterium bifidum เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่เจริญเติบโตได้ในสภาวะไร้ออกซิเจน พบได้ในโฮสต์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหลายชนิด รวมถึงมนุษย์ โดยเฉพาะในทารกแรกเกิด ซึ่งเชื่อว่าผ่านการให้นมแม่ *B. bifidum* มีลักษณะเฉพาะเป็นแบคทีเรียรูปตัววาย (Y-shape) และสามารถดำเนินกระบวนการหมักแบบเฮเทอโรเฟอร์เมนเตทีฟ (Heterofermentative) สามารถผลิตกรดแลกติกและกรดอะซิติก ซึ่งช่วยสร้างสภาพแวดล้อมที่เป็นกรดในลำไส้ ทำให้สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรค (Görgün & Ersan, 2020) แบคทีเรียชนิดนี้มีคุณสมบัติเด่นในการยึดเกาะกับเยื่อเมือกลำไส้ ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการขจัดเชื้อก่อโรค สนับสนุนการดูดซึมสารอาหาร และปรับสมดุลระบบภูมิคุ้มกัน นอกจากนี้ยังผลิตสาร Bifidocin B ซึ่งมีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น *Bacillus cereus* *Enterococcus faecalis* *Listeria monocytogenes* *Pediococcus acidolactici* และ *Streptococcus faecalis* (YILDIRIM & YILDIRIM, 2001) และมีศักยภาพในการบรรเทาความผิดปกติของระบบทางเดินอาหาร *B. bifidum* ยังแสดงความสามารถในการทำงานร่วมกับจุลินทรีย์อื่นผ่านกลไกการส่งเสริมการทำงานร่วมกัน (cross-feeding interaction) โดยสามารถย่อยคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อน เช่น ไกลโคโปรตีนในมนุษย์ หรือคาร์โบไฮเดรตจากพืช เช่น แป้งและไซแลน (Xylan) เพื่อปลดปล่อยสารอาหารที่ง่ายต่อการใช้ประโยชน์ให้กับจุลินทรีย์ชนิดอื่น (Egan et al., 2014) การศึกษายังพบว่าการเสริม *B. bifidum* ร่วมกับสายพันธุ์อื่น เช่น *B. lactis* และ *B. longum* ในผู้ป่วยเด็กที่มีภาวะไขมันในเลือดผิดปกติ สามารถลดระดับคอเลสเตอรอลชนิดไม่ดี (Low density lipoprotein, LDL) และไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride) พร้อมทั้งเพิ่มระดับคอเลสเตอรอลชนิดดี (High density lipoprotein, HDL) ได้อย่างมีนัยสำคัญ (Guardamagna et al., 2014) ในผู้ป่วยเบาหวานขณะตั้งครรภ์ (Gestational diabetes) การบริโภครีโพรไบโอติกที่มี *B. bifidum* ความเข้มข้น 2×10^9 CFU/g เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่าช่วยลดระดับไตรกลีเซอไรด์ในเลือด และส่งผลดีต่อระดับน้ำตาลในเลือดและการตอบสนองต่ออินซูลิน (Karamali et al., 2016)

2.2.2 พร็ไบโอติก (Prebiotics)

พร็ไบโอติก (Prebiotics) เป็นอาหารของจุลินทรีย์หรือเส้นใยอาหารที่ไม่สามารถย่อยได้ (Non-digestible) ซึ่งมีประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค โดยกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์บางชนิดในลำไส้ใหญ่ เช่น สกุล *Lactobacillus* และ *Bifidobacteria* พร็ไบโอติกที่ดีต้องทนต่อการทำงานของกรดในกระเพาะอาหาร เกลื่อน้ำดี และเอนไซม์ไฮโดรไลซิสในลำไส้ ไม่ถูกดูดซึมในระบบ

ทางเดินอาหารส่วนต้น และสามารถถูกหมักได้ง่ายโดยจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในลำไส้ (De Vrese & Schrezenmeir, 2008; Kuo, 2013)

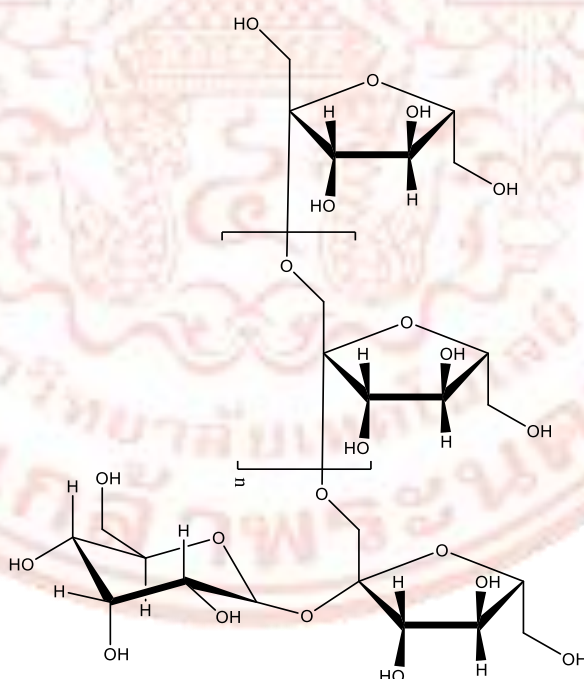
องค์การอาหารและการเกษตรแห่งสหประชาชาติ (FAO) และองค์การอนามัยโลก (WHO) ให้คำจำกัดความพรีไบโอติกว่าเป็นส่วนประกอบในอาหารที่ไม่สามารถย่อยได้ (Non-viable food component) ซึ่งมีประโยชน์ต่อสุขภาพของร่างกายโดยเกี่ยวข้องกับการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ พรีไบโอติกเป็นกลุ่มของสารคาร์โบไฮเดรตที่มีความหลากหลาย แหล่งพรีไบโอติกที่สำคัญประกอบด้วย นมแม่ ถั่วเหลือง อินูลินที่ได้จากแหล่งต่าง ๆ เช่น แคนตาลูปและรากชิโครี เป็นต้น ข้าวสาลีและข้าวบาร์เลย์ไม่ขัดสี มันแกว คาร์โบไฮเดรตที่ไม่สามารถย่อยได้ โดยเฉพาะฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Fructo-oligosaccharides, FOS) และกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Galacto-oligosaccharides, GOS) ซึ่งสารเหล่านี้ได้รับการยอมรับว่ามีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติกที่สามารถปรับสมดุลจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Pokusaeva et al., 2011)

2.2.2.1 ฟรุกแทนชนิดอินูลิน (Inulin-type fructans, ITF)

ฟรุกแทนชนิดอินูลิน (Inulin-type fructans, ITF) เป็นส่วนผสมที่ละลายน้ำได้ของโอลิโกแซคคาไรด์หรือพอลิแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยหน่วย β -D-fructosyl เชื่อมโยงกันด้วยพันธะไกลโคซิดิกแบบ (2-1) [93] โดย ITF สามารถแบ่งย่อยตามระดับพอลิเมอไรเซชัน (Degree of Polymerization, DP) ได้เป็น 2 ประเภท ได้แก่ อินูลินสายยาว DP > 10 และโอลิโกฟรุกโตสสายสั้น DP < 10 หรือที่เรียกว่า FOS (Guarner, 2007) การเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ในลำไส้ที่เกิดจาก ITF มีบทบาทสำคัญในการป้องกันการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร กลไกการป้องกันของ ITF คือ การต้านเชื้อแบคทีเรีย (Bacterial antagonism) และการแข่งขันระหว่างจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์กับเชื้อก่อโรค รวมถึงผลกระทบทางโภชนาการต่อเยื่อลำไส้ (Intestinal epithelium) (Drabińska et al., 2016) จากการศึกษาทั้งในหลอดทดลองและสัตว์ทดลอง พบว่าการบริโภค ITF แสดงให้เห็นศักยภาพในการเสริมสร้างความสมบูรณ์ของลำไส้ (Gut barrier integrity) อย่างไรก็ตาม ข้อมูลจากการศึกษาในมนุษย์ยังไม่มีข้อสรุปที่ชัดเจนในปัจจุบัน การศึกษาเพิ่มเติมจึงมีความจำเป็นเพื่อยืนยันบทบาทของ ITF ต่อสุขภาพลำไส้ในมนุษย์ และเพื่อสร้างความเข้าใจในเชิงลึกเกี่ยวกับกลไกการทำงานของ ITF ในการป้องกันและสนับสนุนระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย

อินูลิน (Inulin) เป็นพอลิแซคคาไรด์ที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ โดยทำหน้าที่เป็นคาร์โบไฮเดรตสำรองพลังงานในพืชหลายชนิด แตกต่างจากแป้งซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่สะสมพลังงานของกลูโคส อินูลินประกอบด้วยฟรุกโตสเป็นหน่วยโมโนเมอร์หลัก และมีปลายโซ่เป็นกลูโคส อินูลินพบได้ในพืชมากกว่า 30,000 ชนิด โดยแหล่งสำคัญในเชิงพาณิชย์ ได้แก่ แคนตาลูป (*Helianthus tuberosus*) ดอกกรักร่ำ (*Dahlia pinnata*) รากชิโครี (*Cichorium intybus*) และบัวหิมะ (*Polymnia sonchifolia*) (Apolinário et al., 2014; Wichienchot et al., 2011) ในพืช

อินนูลินมีอยู่ตามธรรมชาติในรูปแบบของโอลิโกแซ็กคาไรด์และพอลิแซ็กคาไรด์ของฟรุกโทส โดยจำนวนหน่วยของฟรุกโทสจะอยู่ในช่วง 2 ถึง 100 หน่วย ขึ้นอยู่กับชนิดของพืช อายุ และเทคนิคการสกัด (Barclay et al., 2010) อินนูลินจึงมีบทบาทสำคัญในด้านโภชนาการและการใช้งานในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากคุณสมบัติพรีไบโอติกและความหลากหลายในการนำไปใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์ อินนูลินจัดอยู่ในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตฟรุกแทน (Fructan carbohydrate group) ซึ่งเป็นพอลิเมอร์ที่มีฟรุกโทสเป็นองค์ประกอบหลัก โดยอินนูลินประกอบด้วยหน่วยย่อยของ β -D-fructosyl ที่เชื่อมโยงกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก ($2 \rightarrow 1$) และมีปลายโมเลกุลเป็นหน่วย α -D-glucosyl ที่เชื่อมโยงด้วยพันธะ ($1 \leftrightarrow 2$) (Beneke et al., 2009) ดังแสดงในภาพที่ 2 ความยาวของสายฟรุกโทสในอินนูลินมีความหลากหลาย โดยทั่วไปมีจำนวนหน่วยฟรุกโทสระหว่าง 2 ถึง 60 หน่วย แต่ในบางกรณีอาจยาวถึง 100 หน่วย ฟรุกแทนมักแสดงโครงสร้างโดยสูตรทั่วไป G_nF_n ซึ่ง G แทนหน่วยกลูโคส F แทนหน่วยฟรุกโทส และ n แทนจำนวนหน่วยฟรุกโทสที่เชื่อมโยงกันเพื่อสร้างสายพอลิแซ็กคาไรด์ทั้งหมด (Lopes et al., 2015) อินนูลินจึงมีความหลากหลายในโครงสร้าง ซึ่งส่งผลต่อคุณสมบัติทางชีวภาพและการประยุกต์ใช้งานในอุตสาหกรรมอาหารและสุขภาพ โดยเฉพาะเป็นพรีไบโอติกที่สนับสนุนการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในลำไส้



ภาพที่ 2 โครงสร้างทางเคมีของอินนูลิน

อินนูลินที่มีปลายโมเลกุลเป็นกลูโคสไม่มีหมู่คาร์บอนิล จึงไม่มีปลายโมเลกุลที่สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือรีดักชันได้ ทำให้อินนูลินมีความเสถียรสูง อย่างไรก็ตาม อินนูลินมักประกอบด้วยส่วนผสมของพอลิเมอร์ฟรุกโตสในรูปแบบต่าง ๆ ซึ่งหลีกเลี่ยงไม่ได้ที่อาจพบฟรุกแทนบางชนิดที่ไม่มีปลายโมเลกุลเป็นกลูโคส เช่น โมโนแซ็กคาไรด์และไดแซ็กคาไรด์ ที่สามารถมีส่วนร่วมในปฏิกิริยาต่าง ๆ รวมถึงปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) ซึ่งทำให้เกิดการเปลี่ยนสีน้ำตาลในอาหาร (Mensink et al., 2015) อินนูลินสามารถถูกไฮโดรไลซ์อย่างสมบูรณ์เป็นหน่วยโมโนเมอร์ในสภาวะที่มีค่า pH < 3 และอุณหภูมิสูง 90–100 องศาเซลเซียส ในเวลาเพียง 30–40 นาที (Matusek et al., 2009) อย่างไรก็ตาม ในช่วงค่า pH ที่เกี่ยวข้องกับการใช้งานในอุตสาหกรรมอาหาร พบว่าไม่มีการเสื่อมสลายของอินนูลินที่อุณหภูมิสูงถึง 100 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลานาน 55 นาที (Glibowski & Bukowska, 2011) สิ่งนี้บ่งชี้ว่าอินนูลินสามารถใช้เป็นส่วนประกอบในระบบอาหารต่าง ๆ และยังคงมีความเสถียรแม้ภายใต้กระบวนการแปรรูปในสภาวะที่รุนแรง ด้วยคุณสมบัติด้านความเสถียรดังกล่าว อินนูลินจึงเหมาะสมอย่างยิ่งสำหรับการประยุกต์ใช้งานในอุตสาหกรรมอาหาร โดยเฉพาะในผลิตภัณฑ์ที่ผ่านกระบวนการที่มีอุณหภูมิและความเป็นกรดสูง ซึ่งยังคงรักษาคุณสมบัติเดิมไว้ได้

สมบัติทางกายภาพ ทางเคมี และการใช้งานของอินนูลิน มีความเกี่ยวข้องกับระดับของพอลิเมอร์ไรเซชัน (Degree of Polymerization, DP) และการมีโครงสร้างแบบกิ่ง (Branching) อินนูลินสายสั้นเรียกว่า ฟรุคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ (Fructo-Oligosaccharides, FOS) ค่า DP < 10 มีความสามารถในการละลายน้ำสูงกว่าและมีรสหวานกว่าทั้งอินนูลินธรรมชาติและอินนูลินสายยาว (Long-chain inulin) คุณสมบัติด้านความหวานและความสามารถในการละลายน้ำของโอลิโกฟรุกโตสใกล้เคียงกับน้ำตาลชนิดอื่น ๆ ทำให้สามารถช่วยปรับปรุงเนื้อสัมผัส (Mouthfeel) ในผลิตภัณฑ์อาหารได้ (Apolinário et al., 2014) ระดับความหวานของอินนูลินกลุ่มที่มีค่า DP ต่ำมีความใกล้เคียงกับฟรุกโตส ซึ่งเหมาะสมสำหรับการใช้เป็นสารให้ความหวานในผลิตภัณฑ์อาหารบางประเภท ในขณะที่อินนูลินที่มีค่า DP สูงมักถูกใช้ในเป็นใยอาหารพรีไบโอติก (Fiber-type prebiotic) ซึ่งมีบทบาทในการส่งเสริมสุขภาพในหลายด้าน โดยเฉพาะการสนับสนุนการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในลำไส้ (Van Laere & Van den Ende, 2002) คุณสมบัติที่แตกต่างกันของอินนูลินทั้งสายสั้นและสายยาวทำให้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลากหลายในอุตสาหกรรมอาหาร ตั้งแต่การเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการจนถึงการปรับปรุงรสชาติและเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์อาหาร

อินนูลินมีโครงสร้างผลึกแบบเกลียวห้าชั้น (Fivefold helical structure) และสามารถเกิดในรูปทรงผลึกที่แตกต่างกันได้สองแบบ ได้แก่ รูปทรงไข่ (Obloid morphology) และรูปทรงเข็ม (Needle-like morphology) ซึ่งขึ้นอยู่กับอุณหภูมิในการทำให้สารละลายเย็นตัว (Mensink et al., 2015) ผลึกที่มีลักษณะเป็นเข็มสามารถเพิ่มความหนืด (Viscosity) ของผลิตภัณฑ์

อาหาร ในขณะที่ฟลักทิงช่วยเพิ่มความลื่น (Lubricity) และปรับปรุงเนื้อสัมผัส (Mouthfeel) ของอาหารเช่นเดียวกับพอลิเมอร์หลายชนิด ความสามารถในการละลายน้ำของอินนูลินขึ้นอยู่กับระดับของพอลิเมอไรเซชัน (Degree of polymerization, DP) โดยความสามารถในการละลายน้ำจะลดลงเมื่อค่า DP เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ ยังพบว่าความสามารถในการละลายน้ำของอินนูลินเพิ่มขึ้นตามอุณหภูมิ (Wada et al., 2005) งานวิจัยของ Wada et al. (2005) ยังชี้ให้เห็นว่าอินนูลินที่สังเคราะห์ด้วยเอนไซม์จากจุลินทรีย์และมีค่า DP สูง 16–18 หน่วย มีความสามารถในการละลายน้ำสูงกว่าอินนูลินธรรมชาติ

2.2.2.2 กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Galacto-oligosaccharides, GOS)

กาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (GOS) ประกอบด้วยหมู่กาแลคโตสที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะเบต้า โดยมีกาแลคโตสหรือกลูโคสที่ปลายรีดิวซ์ GOS ที่รู้จักประกอบด้วยหมู่กาแลคโตสที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β -(1 $\rightarrow$ 2) β -(1 $\rightarrow$ 3) β -(1 $\rightarrow$ 4) หรือ β -(1 $\rightarrow$ 6) และโดยทั่วไปมีระดับของพอลิเมอไรเซชัน (Degree of Polymerization, DP) ระหว่าง 3-8 GOS ผลิตจากแลคโตสโดยเอนไซม์เบต้า-กาแลคโตซิเดสในปฏิกิริยาควบคุมทางจุลชีวศาสตร์ระหว่างการย่อยสลายด้วยเอนไซม์และทรานสกาแลคโตซิเลชัน GOS ไม่ถูกย่อยในส่วนบนของลำไส้ และมีผลกระทบกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์ *Bifidobacteria* อย่างมาก โดยทั่วไป GOS ใช้เป็นสารทดแทนโอลิโกแซคคาไรด์จากน้ำนมมนุษย์ (Human Milk Oligosaccharides, HMO) ในนมผงสำหรับทารก งานวิจัยหลายชิ้นแสดงให้เห็นว่าการได้รับ GOS สามารถปรับปรุงสุขภาพลำไส้ ดังนั้นจึงสามารถคาดได้ว่า GOS อาจส่งผลต่อการทำงานของเยื่อบุลำไส้ได้ (Kocot et al., 2022) GOS ยังถูกระบุว่าเป็นทรานสกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (Trans-galacto-oligosaccharides, TOS) GOS ได้รับการพิสูจน์แล้วว่าช่วยกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของ *Lactobacilli* และ *Bifidobacteria* ในทารก *Bifidobacteria* จะเติบโตอย่างรวดเร็วเมื่อได้รับ GOS นอกจากนี้ *Bacteroidetes* *Enterobacteria* และ *Firmicutes* ยังแสดงการแพร่พันธุ์ในสภาพที่มี GOS แม้ว่า จะเติบโตช้ากว่า *Bifidobacteria* (Rinninella et al., 2019) แลคตูโลส (Lactulose) ยังถูกใช้ในการสร้างอนุพันธ์ของ GOS เนื่องจาก GOS ที่ได้จากแลคตูโลสถือเป็นพรีไบโอติกด้วยเช่นกัน (Marín-Manzano et al., 2013)

2.2.2.3 ไคโลโอลิโกแซคคาไรด์ (Xylooligosaccharides, XOS)

ไคโลโอลิโกแซคคาไรด์ (XOS) เกิดจากการเชื่อมโยง β -1-4 ระหว่างโมเลกุลไซโลสพบในอาหาร เช่น รำข้าว ผลไม้ น้ำผึ้ง และผัก ทั้ง *Lactobacilli* และ *Bifidobacteria* สามารถไฮโดรไลซ์วัสดุอาหารที่ย่อยในลำไส้ใหญ่ โดยทั่วไป XOS มีประโยชน์มากกว่า FOS เนื่องจากช่วยเพิ่มจำนวนบีฟิโดแบคทีเรียและลดจำนวนจุลินทรีย์ก่อโรค (Zúñiga et al., 2018) การศึกษาในหลอดทดลอง (*In vitro*) การทดลองแบบแบทช์แสดงให้เห็นว่า XOS มีความสามารถในการเลือกกระตุ้นการเจริญเติบโตของ *Bifidobacteria* ได้อย่างเฉพาะเจาะจง นอกจากนี้ Lecerf et al. (2012)

ได้ทำการศึกษาแบบคู่ขนาน แบบปกปิดสองชั้น และแบบควบคุมด้วยยาหลอกเกี่ยวกับ XOS ในมนุษย์ที่มีสุขภาพดี พบว่า XOS ช่วยเพิ่มจำนวน *Bifidobacterium* ผลิตบิวไทเรต (Butyrate) และปรับปรุงกิจกรรมของเอนไซม์ α -glucosidase และ β -glucuronidase ในขณะเดียวกันยังพบว่าความเข้มข้นของอะซิเตต (Acetate) และพี-ครีซอล (p-cresol) ลดลง นอกจากนี้มีการทดลองแบบสุ่มที่มีกลุ่มควบคุม (Randomized controlled trial) เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ โดยอาสาสมัครที่มีสุขภาพดีจำนวน 20 คน บริโภคโจ๊ก ปริมาณ 150 กรัม ซึ่งเสริมด้วย XOS ปริมาณ 1.2 กรัมต่อวัน พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของ *Bifidobacterium* และ *Lactobacilli* ในอุจจาระ ในขณะที่จำนวน *Clostridium* ลดลง (Lin et al., 2016)

2.2.2.4 ไอโซมอลโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ (Isomaltooligosaccharides, IMOs)

ไอโซมอลโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ (IMOs) เป็นเป็นพรีไบโอติกที่ได้จากการใช้เอนไซม์ α -amylase α -glucosidase และพูลูลาเนส (Pullulanase) โดยกระบวนการนี้จะสลายตัวเป็นองค์ประกอบหลัก เช่น ไอโซมอลโตไตรโอส (Isomaltotriose) ไอโซมอลโตส (Isomaltose) และพานอส (Panose) เพื่อเปลี่ยนแป้งข้าวโพดเป็นหน่วยกลูโคสย่อยในกลุ่มมอลิโกแซ็กคาไรด์ (oligosaccharide) (Meyer et al., 2015) โดยทั่วไป IMOs ประกอบด้วยโมโนเมอร์กลูโคสที่เชื่อมโยกันด้วยพันธะไกลโคซิดิกแบบ α -1,6 มีงานวิจัยรายงานว่า IMOs ส่งผลดีต่อการกระตุ้นการเจริญเติบโตของ *Bifidobacteria* และยังสามารถถูกเมตาบอไลต์โดยจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ (Gänzle & Follador, 2012) Singh et al. (2017) ได้ศึกษาการประเมินผลของการเสริมฤทธิ์กันระหว่างสารสกัดชาเขียว (Green tea extract) และ IMOs ต่อการผลิตไซโตไคน์ที่กระตุ้นการอักเสบ (Pro-inflammatory cytokines) เนื้อเยื่อไขมันช่องท้อง (Visceral adipose tissue) และการควบคุมน้ำตาลและไขมันในเลือด ผลการศึกษาชี้ให้เห็นถึงการปรับปรุงระดับฮอร์โมนกลูคาгон (Glucagon) อินซูลิน (Insulin) และเลปติน (Leptin) นอกจากนี้ การผสมสารสกัดชาเขียว และ IMOs ยังส่งผลดีต่อจุลินทรีย์ในลำไส้ เช่น *Akkermansia muciniphila* *Bifidobacterium* *Lactobacilli* และ *Roseburia* รวมถึงช่วยปรับปรุงอัตราส่วนของกลุ่มจุลินทรีย์ *Firmicutes/Bacteroidetes* และ *Prevotella/Bacteroidetes*

2.2.2.5 พอลิแซ็กคาไรด์ชนิดอื่น

แป้งทนการย่อย (Resistant starch, RS) เป็นองค์ประกอบตามธรรมชาติในอาหารที่มีแป้งและธัญพืชทุกชนิด โดยแป้งทนการย่อยถูกจัดแบ่งออกเป็น 5 ประเภทตามระดับความต้านทานต่อการย่อย ความสามารถในการทนย่อยนั้นได้รับอิทธิพลจากหลายปัจจัย เช่น สัดส่วนของอะไมโลส (Amylose) และอะไมโลเพคติน (Amylopectin) ลักษณะทางกายภาพของเม็ดแป้ง (Granule morphology) และการจับตัวกับสารประกอบอื่น ๆ ในโครงสร้าง (Zaman & Sarbini, 2016) งานวิจัยพบว่าแป้งทนการย่อยมีผลกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์กลุ่ม *Bifidobacteria* โดยช่วยเพิ่มความเข้มข้นของจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในลำไส้ เช่น *Akkermansia* *Allobactum*

Bacteroidetes และ *Bifidobacteria* อีกทั้งการศึกษาในหลอดทดลอง (*In vitro*) ในแบบจำลองของหนูทดลองยังแสดงให้เห็นว่าแป้งทนการย่อยมีผลต่อการเพิ่มความเข้มข้นของกรดไขมันสายสั้น ซึ่งมีบทบาทสำคัญต่อสุขภาพลำไส้ (Kalmokoff et al., 2013) แป้งทนย่อยสามารถแบ่งได้ 5 ประเภท ดังนี้ (Raigond et al., 2015)

แป้งทนย่อยประเภทที่ 1 (RS1) คือแป้งที่ไม่สามารถเข้าถึงได้ทางกายภาพ (Physically inaccessible starch) หรือแป้งที่ได้รับการป้องกันทางกายภาพ แป้งชนิดนี้มีความเสถียรต่อความร้อนและจะไม่แตกตัวระหว่างการปรุงอาหารตามปกติ กลไกการต้านทานโดยเอนไซม์อะไมโลไลติก (Amylolytic enzymes) ไม่สามารถเข้าถึงแป้งที่ถูกกักเก็บอยู่ในเซลล์พืชที่ผนังเซลล์ยังคงสภาพสมบูรณ์ หรืออยู่ในเมล็ดธัญพืชที่บดเพียงบางส่วน เนื่องจากระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ขาดเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายองค์ประกอบของผนังเซลล์พืชได้ เช่น เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน พบได้ในธัญพืชหรือเมล็ดพืชที่ถูกบดทั้งเมล็ดหรือบดบางส่วน พืชตระกูลถั่ว

แป้งทนย่อยประเภทที่ 2 (RS2) คือแป้งที่เป็นเม็ดตามธรรมชาติ (Native granular starch) หรือแป้งเม็ดดิบที่ไม่ได้ผ่านการเจลาติไนซ์ (Non-gelatinised granules) การต้านทานของแป้งชนิดนี้จะลดลงเมื่อนำไปแปรรูปอาหารและการปรุงสุก โดยมีกลไกการต้านทานคือแป้งชนิดนี้ได้รับการป้องกันจากการย่อยด้วยโครงสร้างหรือรูปแบบผลึกของมัน ซึ่งส่วนใหญ่มักเป็น ผลึกชนิด B (B-type crystallinity) โครงสร้างที่อัดแน่นนี้ทำให้เอนไซม์ย่อยอาหารเข้าถึงได้ยาก การย่อยสลายโดยเอนไซม์อะไมโลไลติกจะเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อยที่ผิวของเม็ดแป้งเท่านั้น พบได้ในมันฝรั่งดิบ ถั่วลิสงดิบ (ถั่วลิสงเขียว) แป้งข้าวโพดอะไมโลสสูง (High-amylose corn)

แป้งทนย่อยประเภทที่ 3 (RS3) คือแป้งที่ผ่านการคืนตัว (Retrograded starch) หรือแป้งที่ถูกปรับเปลี่ยนทางกายภาพ (Physically modified starches) กลไกการต้านทานเกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการเย็นตัวของแป้งที่ผ่านการเจลาติไนซ์แล้ว โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ส่วนของอะไมโลส (amylose) จะม้วนตัวกลับเป็นเกลียวและรวมตัวกันเป็นโครงสร้างผลึกกึ่งผลึก (semi-crystalline) ที่ละลายน้ำได้ยากและมีความคงตัวทางความร้อนสูง โครงสร้างผลึกที่เกิดขึ้นมักเป็นผลึกชนิด B (B-type crystalline structure) ซึ่งทนทานต่อการทำงานของเอนไซม์อะไมโลไลติก พบได้มันฝรั่งที่ปรุงสุกและปล่อยให้เย็นตัวลง ขนมันฝรั่ง คอรันเฟลก ผลิตภัณฑ์อาหารที่ผ่านการให้ความร้อนขึ้นซ้ำ ๆ

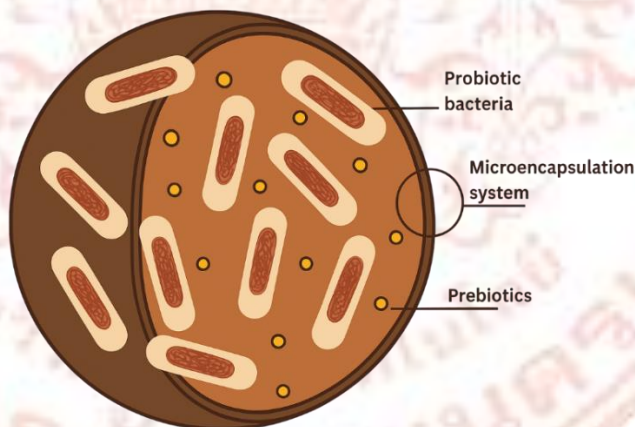
แป้งทนย่อยประเภทที่ 4 (RS4) คือแป้งที่ถูกดัดแปลงทางเคมีหรือทางกายภาพ เพื่อลดความสามารถในการย่อย กลไกการต้านทานคือการดัดแปลงทางเคมี เช่น การทำอีเทอร์ฟิเคชัน การทำเอสเทอร์ฟิเคชัน จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในองค์ประกอบและโครงสร้างของอนุภาคแป้ง การมีสารที่เข้าแทนที่ (Substituents) เหล่านี้ขัดขวางการเข้าถึงเอนไซม์ นอกจากนี้ อาจมีการสร้างพันธะเชื่อมโยงที่ไม่ปกติในแป้ง เช่น พันธะ 1→2 และ 1→3 ซึ่งเอนไซม์อะไมโลไลติกในทางเดินอาหารของมนุษย์ไม่สามารถย่อยสลายได้ พบได้อาหารที่มีการใช้แป้งดัดแปลงเป็นส่วนประกอบ เช่น ขนมันฝรั่ง เค้ก ไฮดรอกซีโพรพิลไธโอสตาร์ชฟอสเฟต อะเซทิลเลโทไธสตาร์ชฟอสเฟต เดกซ์ทรินที่ได้จากการสลายตัวด้วยความร้อนหรือเอนไซม์

แป้งทนย่อยประเภทที่ 5 (RS5) คือสารประกอบเชิงซ้อนแบบสอดแทรกชนิด V (self-assembled V-type inclusion complex) ที่เกิดขึ้นจากการจับตัวกันระหว่างอะไมโลส

(Amylose) กับโมเลกุลของสารอื่น ๆ (Guest molecules) ชนิดหนึ่งหรือสองชนิด RS5 มีความหลากหลายและการนำไปประยุกต์ใช้ได้กว้างขวางกว่าชนิดอื่น ๆ เนื่องจากมีแหล่งที่มาหลากหลาย กลไกการต้านทานคือภายใต้อิทธิพลของปัจจัยภายนอก อะไมโลสจะก่อตัวเป็นเกลียวเดี่ยวแบบสปริงซ้าย (Left-handed, spring-like single helices) โมเลกุลของสาร เช่น ไขมัน, สารประกอบโพลีฟีนอล กรดอะมิโน จะเข้าสู่โพรงเกลียวที่ขอบไขมัน (Hydrophobic helical cavity) ของอะไมโลส ทำให้เกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนแบบสอดแทรก (Inclusion complexes) โครงสร้างผลึก V-type นี้จะทำหน้าที่เป็นเกราะป้องกันทางกายภาพต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ พบได้อาหารที่มีส่วนประกอบของอะไมโลสสูงและไขมัน หรือโพลีฟีนอล

2.2.3 ซินไบโอติก (Synbiotics)

ซินไบโอติก (Synbiotics) คือผลิตภัณฑ์ที่มีทั้งโพรไบโอติกและพรีไบโอติกในสูตรเดียวกัน โดยอ้างอิงตามคำจำกัดความล่าสุดจากสมาคมวิทยาศาสตร์นานาชาติด้านโพรไบโอติกและพรีไบโอติก (ISAPP) ซินไบโอติกถูกนิยามว่าเป็น “ส่วนผสมที่ประกอบด้วยจุลินทรีย์มีชีวิตและสารตั้งต้น ซึ่งถูกจุลินทรีย์ในร่างกายใช้ประโยชน์อย่างจำเพาะเจาะจง และส่งผลให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค” (Swanson et al., 2020) ดังแสดงในภาพที่ 3 เมื่อโพรไบโอติกและพรีไบโอติกถูกนำมาใช้ร่วมกันอาจส่งผลการทำงานแบบเสริมฤทธิ์กัน (Synergistic effect) หรืออาจแสดงคุณสมบัติที่เฉพาะเจาะจงต่อสายพันธุ์ของจุลินทรีย์หรือชนิดของพรีไบโอติก



ภาพที่ 3 ไมโครแคปซูลรูปแบบซินไบโอติก

งานวิจัยโดย Chiu et al. (2015) ได้ศึกษาว่าซินไบโอติกสามารถบรรเทาโรคตับจากการดื่มแอลกอฮอล์ (Alcoholic liver disease, ALD) ได้หรือไม่ โดยการเปลี่ยนแปลงระบบนิเวศจุลินทรีย์ (Microbial ecosystem) และปรับปรุงความสมบูรณ์ของเยื่อบุลำไส้ (Gut barrier integrity) การทดลองนี้ใช้หนูวิสตาที่ได้รับอาหารเหลวที่มีแอลกอฮอล์ร่วมกับหรือไม่มีซินไบโอติกเป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าการบริโภคเอทานอลเพิ่มความสามารถในการซึมผ่านของลำไส้ (Intestinal Permeability) อย่างไรก็ตาม การเสริมซินไบโอติก (FloraGuard®) ช่วยลดระดับเอนโดทอกซิน

ในพลาสมา (Plasma endotoxin) และป้องกันภาวะการซึมผ่านของลำไส้ที่เกิดจากแอลกอฮอล์ ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าซินไบโอติกไม่เพียงช่วยปรับปรุงความสมบูรณ์ของลำไส้ แต่ยังมีคุณสมบัติปกป้องตับจากสารพิษ (Hepatoprotective function) อีกด้วย นอกจากนี้การศึกษาของ Trindade et al. (2018) ยังได้ยืนยันผลของซินไบโอติกในแบบจำลองหนูที่เกิดภาวะเยื่อลำไส้อักเสบจากการใช้ยา 5-fluorouracil (5-FU-induced mucositis) การทดลองนี้ใช้ซินไบโอติกที่ประกอบด้วย *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus*, และ *Bifidobacterium lactis* ร่วมกับฟรุคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ (Fructo-Oligosaccharides, FOS) เป็นระยะเวลา 13 วัน พบว่าหนูกลุ่มที่ได้รับซินไบโอติกมีการฟื้นตัวของเยื่อลำไส้และความสมบูรณ์ของลำไส้อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งผลลัพธ์นี้เด่นชัดกว่าดีกว่าการใช้พรีไบโอติกเพียงอย่างเดียว

2.2.4 โปสไบโอติก (Postbiotics)

โปสไบโอติก (Postbiotics) คือสารเมแทบอลิต์และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักของโพรไบโอติก สารประกอบเหล่านี้อาจรวมถึงกรดอินทรีย์ เอนไซม์ และเปปไทด์ แม้ว่าโพรไบโอติกจะไม่สามารถเจริญเติบโตได้ (Non-viable) แต่ได้รับการยอมรับว่ามีประโยชน์ต่อสุขภาพของโฮสต์อย่างมีนัยสำคัญ โดยคำว่า โปสไบโอติก ได้รับการกำหนดอย่างเป็นทางการในปี ค.ศ. 2021 (Salminen et al., 2021) งานวิจัยพบว่าโปสไบโอติกมีคุณสมบัติด้านการอักเสบ (Anti-inflammatory) ปรับสมดุลการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน และมีอิทธิพลต่อกระบวนการเผาผลาญในร่างกาย (Bourebaba et al., 2022; Zhang et al., 2022) องค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์ และฤทธิ์ทางชีวภาพของโปสไบโอติกขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของโพรไบโอติก รวมถึงสภาพแวดล้อมและอาหารที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง

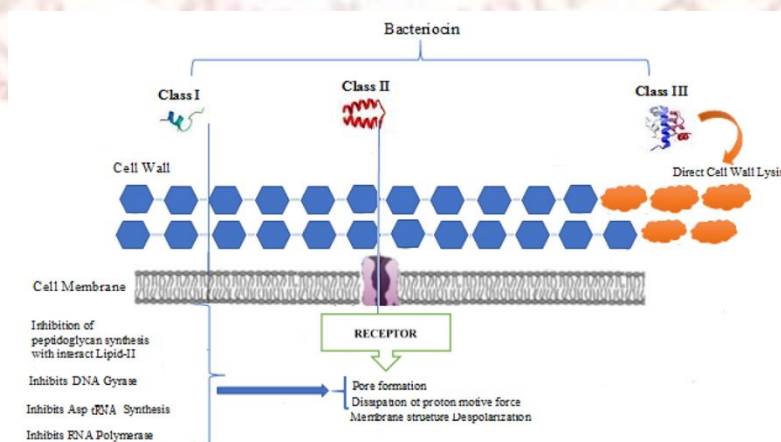
2.2.4.1 แบคเทอริโอซิน (Bacteriocin)

แบคเทอริโอซิน (Bacteriocin) ในโปสไบโอติกเป็นจัดเป็นสารเมแทบอลิต์ทุติยภูมิ (secondary metabolites) คุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคเทอริโอซินขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของแบคทีเรีย และกลไกการออกฤทธิ์ แบคเทอริโอซินสังเคราะห์โดยไรโบโซม (Ribosome-synthesized bacteriocins) มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย และสามารถจับควมเชื่อมก่อโรคในมนุษย์และสัตว์โดยไม่เป็นพิษ (Darvishi et al., 2021) จึงได้รับความสนใจอย่างกว้างขวาง แบคเทอริโอซินแตกต่างจากสารปฏิชีวนะ (Antibiotics) คือแบคเทอริโอซินมีฤทธิ์การยับยั้งแคบและเป็นพิษกับแบคทีเรียที่มีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกัน (Klaenhammer, 1988) แบคเทอริโอซินแบ่งออกเป็น 3 กลุ่มหลักตามกลไกการออกฤทธิ์ดังนี้

Class I คือกลุ่มของแบคทีริโอซินที่มีโครงสร้างเปปไทด์ โมเลกุลขนาดเล็ก โดยมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า 5 กิโลดาลตัน และถูกสังเคราะห์จากไรโบโซม (Ribosome-synthesized peptides) แบคทีริโอซิน ในกลุ่มนี้มีลักษณะเด่นคือการดัดแปลงโครงสร้างภายหลังการแปลโปรตีน (Post-translational modification) ซึ่งช่วยเพิ่มความเสถียรและประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ โดยเฉพาะการแทรกซึมและทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียเป้าหมาย (Cotter et al., 2013) Class I สามารถแทรกผ่านเยื่อหุ้มเซลล์โดยตรง ทำให้เกิดการสูญเสียความสมบูรณ์ของเยื่อหุ้มเซลล์ (Cell membrane integrity) บางชนิดสามารถยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์โดยการทำงานร่วมกับ ไขมัน เช่น นิสิน (Nisin) ซึ่งเป็นตัวอย่างที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อการถนอมอาหาร

Class II เป็นกลุ่มของแบคทีริโอซินที่มีโครงสร้างเปปไทด์ โมเลกุลขนาดเล็ก โดยทั่วไปน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า 10 กิโลดาลตัน และไม่มีการผ่านกระบวนการแปลรหัส (Non-post-translationally modified bacteriocins) แบคทีริโอซินในกลุ่มนี้มีโครงสร้างโปรตีนที่เรียบง่าย และความเสถียรสูงในสภาวะแวดล้อมหลากหลาย เช่น ความร้อนและค่า pH ต่าง ๆ ทำให้เหมาะสมสำหรับการประยุกต์ใช้งานในอุตสาหกรรมอาหารและการแพทย์ Class II ออกฤทธิ์โดยจับตัวกับตัวรับ (Receptors) บนเยื่อหุ้มเซลล์ เช่น ระบบฟอสโฟทรานสเฟอเรสของแมนโนส (Mannose phosphotransferase system) ซึ่งกระตุ้นให้เกิดการลดชั่วประจุของเยื่อหุ้มเซลล์ และนำไปสู่การทำลายเซลล์ ตัวอย่างเช่น เพดิโอซิน (Pediocin) และแพลนทาริซิน (Plantaricin) ที่สังเคราะห์โดย *Lactobacillus plantarum* spp. (Pérez-Ramos et al., 2021)

Class III เป็นกลุ่มของแบคทีริโอซินที่มีขนาดใหญ่ โดยทั่วไปน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 30 กิโลดาลตัน และไม่มีการผ่านกระบวนการแปลรหัส (Non-post-translationally modified bacteriocins) แบคทีริโอซินกลุ่มนี้มีโครงสร้างที่ซับซ้อนและมีความเสถียรต่ำเมื่อเทียบกับ Class I และ Class II แต่มีคุณสมบัติเด่นในเรื่องความสามารถในการทำลายเยื่อหุ้มเซลล์หรือผนังเซลล์แบคทีเรียเป้าหมายโดยตรง ส่งผลให้เซลล์แบคทีเรียสูญเสียความสมบูรณ์และนำไปสู่การตายของเซลล์ ยกตัวอย่าง เช่น เฮลเวติซิน (Helveticin) (Gu, 2023)



ภาพที่ 4 กลไกการออกฤทธิ์ของแบคทีริโอซิน (Darvishi et al., 2021)

ตารางที่ 4 แบคทีเรียโอซินที่ผลิตโดยแบคทีเรียกรดแลคติก

แบคทีเรียโอซิน	สายพันธุ์โปรไบโอติก	ขนาดโมเลกุล (kDa)	การยับยั้ง	อ้างอิง
Circularin A	<i>B. coagulans</i> CGMCC 9951	7.73	<i>Listeria monocytogenes</i>	Zhang et al. (2022)
Acidocin A	<i>L. acidophilus</i>	6.50	<i>Lactococcus lactis</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Bacillus licheniformis</i> , <i>Mycobacterium phlei</i> , <i>Mycobacterium luteus</i> , <i>Staphylococcus aureus</i>	Kanatani et al. (1995)
Lactocin 705	<i>L. casei</i> CRL 705	3.50	<i>Listeria monocytogenes</i>	Palacios et al. (1999)
Bactofencin A	<i>L. salivarius</i> DPC6502	2.78	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Listeria monocytogenes</i>	O'Shea et al. (2013)
Plantaricin ASM1	<i>L. plantarum</i> A-1	5.04	<i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>	Hata et al. (2010)
Bifidocin B	<i>B. bifidum</i> NCFB1454	3.30	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Pediococcus acidolactici</i> , <i>Streptococcus faecalis</i>	Yildirim et al. (1999)
Bifidin I	<i>B. infantis</i> BCRC 14602	2.88	<i>Staphylococcus</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Salmonella</i> <i>Shigella</i> , <i>E. coli</i> .	Cheikhoussef et al. (2010)
Lantibiotic	<i>B. longum</i> DJO10A	3.40	<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>E. coli</i> DH5a	Lee and Kim (2011)

2.2.4.2 โพลีไบโอดีทชนิดอื่นๆ

นอกเหนือจากแบคทีเรียโอซินแล้ว โพลีไบโอดีทยังประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลากหลายชนิดที่มีคุณสมบัติต้านจุลชีพ (Antimicrobial) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรค และส่งเสริมสุขภาพของโฮสต์ผ่านกลไกต่าง ๆ กรดอินทรีย์ (Organic acids) เช่น กรดแลกติกและกรดอะซิติก ถือเป็นองค์ประกอบสำคัญในโพลีไบโอดีท โดยทำให้เกิดสภาวะเป็นกรดที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค กรดไขมันสายสั้น เช่น บิวไทเรต โพรพิโอเนต และอะซิเตท เป็นผลพลอยได้จากกระบวนการหมัก โดยทำหน้าที่เป็นแหล่งพลังงานสำหรับเซลล์เยื่อบุลำไส้ (Colonocytes) และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (Bacteriostatic properties)

สารต้านจุลชีพอื่น ๆ เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide) ที่ผลิตโดยโพลีไบโอดีทบางชนิด มีฤทธิ์ต้านจุลชีพอย่างกว้างขวาง นอกจากนี้ โอลิโกแซ็กคาไรด์และเฮเทอโรแซ็กคาไรด์ เช่น เคฟิแรน (Kefiran) เบต้ากลูแคน (β -Glucans) และกรดยูโรนิค (Uronic acid) ที่ผลิตโดย *Lactobacilli* และจุลินทรีย์อื่น ๆ ยังมีส่วนสร้างเอ็กโซโพลิแซ็กคาไรด์ (Exopolysaccharides, EPS) ซึ่งอาจหลั่งออกมาหรือคงอยู่ในรูปแบบของชั้นเมือกที่ผิวเซลล์จุลินทรีย์ (Caggianiello et al., 2016) โมเลกุลขนาดใหญ่เหล่านี้ช่วยปกป้องจุลินทรีย์จากฟาจ (Phages) เซลล์ฟาโกไซต์ (Phagocytes) และสารพิษ อีกทั้งยังส่งผลต่อระบบภูมิคุ้มกัน การเผาผลาญไขมัน และการป้องกันการบุกรุกของเชื้อก่อโรค จากการศึกษาของ Dinić et al. (2018) พบว่า EPS ที่สกัดจาก *Lactobacillus plantarum* BGCG11 เมื่อทดสอบในสัตว์ทดลอง ทำให้การอักเสบ (Inflammatory markers) เช่น IL-1 β TNF α และ iNOS ลดลง และเพิ่มสารต้านการอักเสบ (Anti-inflammatory markers) เช่น IL-6 และ IL-10 นอกจากนี้ EPS ที่สกัดจากแบคทีเรียกรดแลกติกยังแสดงผลยับยั้งการเจริญเติบโตของเนื้องอกและการอักเสบ รวมถึงป้องกันการก่อตัวของไบโอฟิล์ม (Biofilm formation) ของ *E. coli* และ *S. aureus* (Wang et al., 2020)

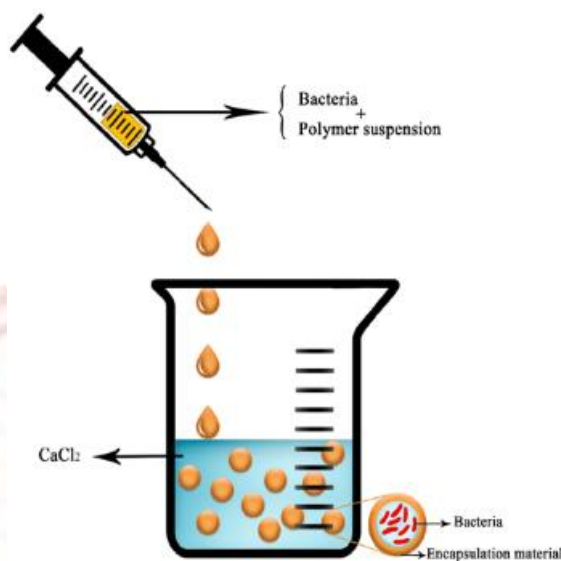
เอนไซม์ (Enzyme) เช่น ไลโซไซม์ (Lysozyme) ก็เป็นส่วนประกอบสำคัญของโพลีไบโอดีท โดยมีความสามารถในการทำลายผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวก (Gram-positive bacteria) ทำให้เซลล์เกิดการแตก (Cell lysis) การรวมตัวของสารต้านจุลชีพต่าง ๆ ภายในโพลีไบโอดีท ทำให้เกิดประโยชน์หลากหลายที่นอกเหนือจากการปรับสมดุลภูมิคุ้มกัน เช่น รักษาสมดุลของลำไส้ และลดความเสี่ยงของการติดเชื้อ ดังนั้นโพลีไบโอดีทจึงถือเป็นองค์ประกอบที่มีศักยภาพสูงสำหรับการพัฒนาอาหารฟังก์ชัน ยา และผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเชิงโภชนาบำบัด (Nutraceuticals)

2.3. การห่อหุ้มโพรไบโอติก (Probiotic encapsulation)

2.3.1 เทคนิคการห่อหุ้ม

เทคนิคการห่อหุ้มมีบทบาทสำคัญในการปกป้องโพรไบโอติกจากสภาพแวดล้อมภายนอกที่รุนแรง เช่น ออกซิเจน ค่า pH ที่สูง เอนไซม์ และสารต้านจุลินทรีย์ในอาหาร หรือระบบทางเดินอาหาร นอกจากนี้ เทคนิคห่อหุ้มยังช่วยให้โพรไบโอติกสามารถถูกปลดปล่อยในบริเวณที่เป็นเป้าหมาย (Basu et al., 2018) ในอุตสาหกรรมอาหาร เทคนิคห่อหุ้มที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย ได้แก่ เอ็กzutรชัน (Extruder) อิมัลชัน (Emulsification) การทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray drying) และการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drying) (Burgain et al., 2011) อย่างไรก็ตาม ประสิทธิภาพของการห่อหุ้มขนาดของไมโครแคปซูล และอัตราการรอดชีวิตของโพรไบโอติกอาจแตกต่างกันไปตามเทคนิคที่เลือกใช้ ส่งผลให้อุตสาหกรรมอาหารต้องพิจารณาหลายปัจจัยในการเลือกเทคนิคที่เหมาะสม ซึ่งรวมถึงลักษณะของส่วนผสมที่ใช้งานและวัสดุห่อหุ้ม (Wall materials) ขนาดของไมโครแคปซูลที่ต้องการ การใช้งานในอาหารและเครื่องดื่ม ตำแหน่งการปลดปล่อยเป้าหมาย ต้นทุน และความสามารถในการนำไปใช้ในอุตสาหกรรม (El-Kader & Abu Hashish, 2020) วัสดุที่เกี่ยวข้องกับการห่อหุ้มโพรไบโอติกสามารถแบ่งออกเป็นวัสดุห่อหุ้มและวัสดุแกนกลาง (Core materials) โดยวัสดุห่อหุ้มทำหน้าที่เป็นพอลิเมอร์ที่สร้างกำแพงกั้นระหว่างโพรไบโอติกและสภาพแวดล้อมภายนอก (Nag et al., 2011) ในขณะที่วัสดุแกนกลางคือโพรไบโอติกหรือวัสดุอื่น ๆ เช่น พรีไบโอติกที่ถูกผสมกับโพรไบโอติกเพื่อเพิ่มคุณสมบัติในการใช้งานและประสิทธิภาพของไมโครแคปซูล

เทคนิคเอ็กzutรชัน (Extrusion) วิธีการที่เก่าแก่และใช้กันอย่างแพร่หลายที่สุดในการผลิตแคปซูลจากไฮโดรคอลลอยด์ เช่น อัลจิเนต (Alginate) และคาร์ราจีแนน (Carrageenan) การเตรียมสารละลายไฮโดรคอลลอยด์ (Hydrocolloids) ผสมจุลินทรีย์เข้าไปในสารละลาย และสร้างหยดสารผ่านกระบอกฉีดยา (Syringe needle) ในระดับห้องปฏิบัติการ หรือเอ็กzutรชัน (Extruder) ในระดับนำร่อง (Pilot scale) โดยให้หยดสารตกลงในสารละลายสำหรับทำให้แข็งตัว เช่น แคลเซียมคลอไรด์ (Calcium chloride, CaCl_2) ขนาดและรูปร่างของหยดที่เกิดขึ้นจะขึ้นอยู่กับเส้นผ่านศูนย์กลางของหัวฉีด และระยะห่างระหว่างหัวฉีดกับสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ (Krasaekoopt et al., 2003) ดังแสดงในภาพที่ 5



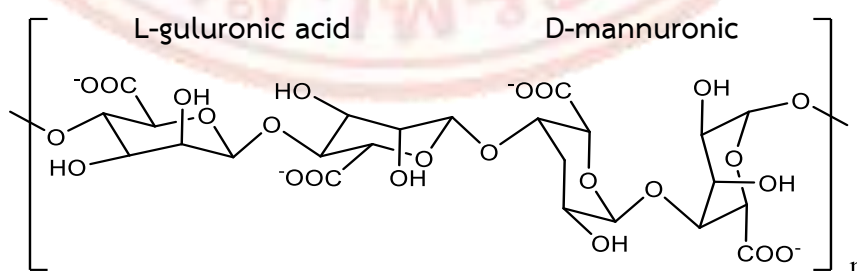
ภาพที่ 5 การห่อหุ้มโปรไบโอติกด้วยเทคนิคเอ็กซ์ทรูชัน (Extrusion) (Saber Riseh et al., 2021)

2.3.2 ไบโอฟอลิเมอร์ที่ใช้ในการห่อหุ้ม

2.3.2.1 อัลจิเนต (Alginate)

อัลจิเนตเป็นพอลิแซ็กคาไรด์เชิงเส้นที่ประกอบด้วยหน่วยของเบตา-D-แมนโนโรนิกแอซิด (β -D-mannuronic acid) และอัลฟา-แอล-กลูโรนิกแอซิด (α -L-guluronic acid) ซึ่งพบได้ในผนังเซลล์ของสาหร่ายสีน้ำตาล ดังแสดงในภาพที่ 6 (Lee & Mooney, 2012) อัลจิเนตมีความสามารถในการสร้างเจลเมื่อสัมผัสกับไอออนบวกสองประจุ (Divalent Cations) เช่น Ca^{2+} และ Ba^{2+} คุณสมบัตินี้เรียกว่า การเกิดเจล (Gelation) ซึ่งเกิดจากกระบวนการทางเคมีที่ใช้ไอออนบวก (Cations) ในการสร้างพันธะระหว่างสายโซ่พอลิเมอร์ที่มีประจุลบของสายโซ่อัลจิเนต (Ionotropic Crosslinking) (Tønnesen & Karlsen, 2002) de Vos et al. (2014) ได้ชี้ให้เห็นถึงความสำคัญของอัลจิเนตเป็นพอลิเมอร์ที่ถูกใช้อย่างแพร่หลายในงานวิจัยด้านการห่อหุ้ม (Encapsulation) โดยมีการศึกษาคุณสมบัติและลำดับโครงสร้างของอัลจิเนต คุณสมบัติอัลจิเนตจึงถือเป็นวัสดุห่อหุ้มโปรไบโอติกที่ประสบความสำเร็จสูงสุดสำหรับการประยุกต์ใช้ทางคลินิก และยังเป็นพอลิเมอร์ที่ได้รับการศึกษามากที่สุด มีการพัฒนาเทคนิคเชิงกายภาพและเคมีสำหรับใช้ในการห่อหุ้มโปรไบโอติก โดยการผสมผสานกับวัสดุอื่น เช่น ไคโตซาน (Chitosan) อินนูลิน (Inulin) ซีอีน (Zein) กัมอาราบิก (Gum Arabic) เซลลูโลส (Cellulose) แป้ง (Starch) เวย์โปรตีน (Whey Protein) เจลาติน (Gelatin) และ เพคติน (Pectin) (Razavi et al., 2021)

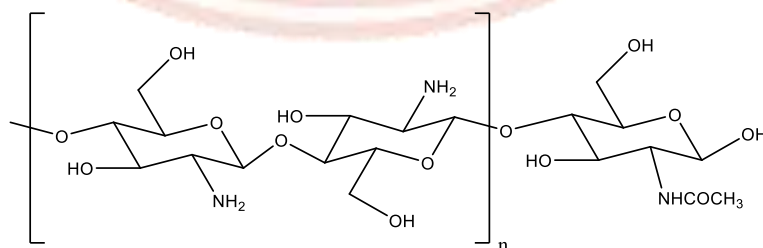
อัลจินตเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ถูกใช้อย่างแพร่หลายในการพัฒนาสารเคลือบบริโภคได้ (Edible coatings) เนื่องจากมีคุณสมบัติย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (Biodegradability) ความเข้ากันได้ทางชีวภาพ (Biocompatibility) ความเป็นพิษต่ำ (Low toxicity) และความสามารถในการสร้างฟิล์ม (Film-forming) [47] ซึ่งทำให้เหมาะสมสำหรับการใช้งานเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร งานวิจัยของ Fernandes et al. (2021) แสดงให้เห็นว่าการใส่แบคทีเรียกรดแลคติก (Lactic Acid Bacteria, LAB) ที่ได้จากผลไม้ลงในสารเคลือบอัลจินต สามารถลดการเกิดโรคแอนแทรกโนส (Anthracnose lesion) บนผลฝรั่งและมะม่วงที่ปนเปื้อนเชื้อ *Colletotrichum* สายพันธุ์ที่ทำการทดสอบระหว่างการเก็บรักษาได้อย่างมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ การเคลือบดังกล่าวยังช่วยปรับปรุงคุณภาพโดยรวมหลังการเก็บเกี่ยว และเพิ่มความทนทานต่อการเสื่อมสภาพของผลไม้ในระหว่างการเก็บรักษาได้อย่างมีนัยสำคัญ Razavi et al. (2021) พบว่าไมโครแคปซูลอัลจินตมีความพรุนสูงมีข้อจำกัด เช่น การปลดปล่อยสารที่บรรจุไว้ในไมโครแคปซูลอย่างรวดเร็ว ประสิทธิภาพในการห่อหุ้มโพรไบโอติกที่ต่ำ การเสื่อมสภาพง่ายในสภาวะกรด และความสามารถในการนำส่งโพรไบโอติกไปยังลำไส้ที่ไม่ดี เพื่อลดข้อจำกัดเหล่านี้ จำเป็นต้องมีการปรับปรุงอัลจินตในเชิงเคมีหรือกายภาพ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการห่อหุ้มและปกป้องโพรไบโอติก รวมถึงการควบคุมการปลดปล่อยสารและการเพิ่มความทนทานในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เช่น สภาพที่เป็นกรดในกระเพาะอาหาร เพื่อแก้ปัญหาด้านความพรุนของไมโครแคปซูลอัลจินตในกระบวนการห่อหุ้ม จึงได้มีการผสมอัลจินตกับไบโอพอลิเมอร์ชนิดอื่น เช่น ไคโตซาน (Chitosan) อินนูลิน (Inulin) กัมอารบิก (Gum Arabic) และมอลโตเดกซ์ตริน (Maltodextrin) ซึ่งพอลิเมอร์เหล่านี้ได้รับความนิยมเนื่องจากคุณสมบัติในการลดรูพรุนของไมโครแคปซูลอัลจินต โดยช่วยปรับปรุงความหนาแน่นของโครงสร้าง เพิ่มความแข็งแรงของไมโครแคปซูล และลดการปลดปล่อยสารที่บรรจุในไมโครแคปซูลอย่างไม่เหมาะสม นอกจากนี้ พอลิเมอร์เหล่านี้ยังมีความสามารถในการสร้างเจลระหว่างกระบวนการห่อหุ้ม (Gel-forming capacity) ซึ่งช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการปกป้องโพรไบโอติกและเสริมความเสถียรของไมโครแคปซูลในสภาวะแวดล้อมต่าง ๆ (Arepally & Goswami, 2019; Terpou et al., 2019)



ภาพที่ 6 โครงสร้างทางเคมีของอัลจินต

2.3.2.2 ไคโตซาน (Chitosan)

ไคโตซาน (Chitosan) เป็นเฮเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ของอนุพันธ์พอลิแคดไอออนิก ประกอบด้วยหน่วย N-acetyl-D-glucosamine ที่เชื่อมโยงด้วยพันธะไกลโคซิดิกแบบ β -1,4 ดังแสดงในภาพที่ 7 สามารถสร้างคอมโพสิตเจลอิเล็กโทรไลต์ (Electrolyte composite gel) เมื่อผสมกับอัลจินเต ซึ่งเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ประจุลบ (Anionic polysaccharide) คอมโพสิตของอัลจินเตและไคโตซานถูกนำไปใช้กันอย่างแพร่หลายในสาขาชีวการแพทย์ เช่น การห้ามเลือด (Hemostasis) การรักษาบาดแผล (Wound healing) และวิศวกรรมเนื้อเยื่อ (Tissue engineering) เนื่องจากคุณสมบัติความเข้ากันได้ทางชีวภาพ (Biocompatibility) การย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (Biodegradability) ความแข็งแรงทางกล (Mechanical strength) และคุณสมบัติต้านแบคทีเรีย (Antibacterial) การศึกษาพบว่าผู้ป่วยโรคลำไส้อักเสบ (Inflammatory bowel disease, IBD) มีปฏิสัมพันธ์ที่ผิดปกติระหว่างแบคทีเรียในลำไส้ เยื่อบุลำไส้ (Intestinal barrier) และระบบภูมิคุ้มกันที่เกี่ยวข้องกับลำไส้ (Gut-associated Immune System) (Yousef et al., 2012) โดยโพรไบโอติกที่รับประทานได้มีศักยภาพสูงสำหรับการรักษา IBD การเคลือบไคโตซานที่ไม่โครแคปซูลเป็นกระบวนการเพื่อสร้างชั้นป้องกันบนพื้นผิวของอนุภาค โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มความแข็งแรงทางกล ชั้นเคลือบจะช่วยเสริมโครงสร้างของไมโครแคปซูล ทำให้มีความทนทานและต้านทานต่อแรงกดดันจากภายนอกมากขึ้น และช่วยป้องกันการซึมผ่านหรือการแลกเปลี่ยนสารระหว่างภายในและภายนอกไมโครแคปซูล กระบวนการเคลือบสามารถทำได้โดยใช้เทคนิคการแช่อนุภาคไฮโดรเจลลงในสารละลายไคโตซาน ซึ่งเป็นวิธีที่ช่วยให้สามารถสร้างชั้นเคลือบที่สม่ำเสมอและยึดเกาะได้ดีกับพื้นผิวของอนุภาค (Heidebach et al., 2012) มีรายงานของ Krasaekoopt et al. (2004) การเคลือบอัลจินเตด้วยไคโตซานทำให้เกิดการเชื่อมโยงระหว่างไคโตซานกับอัลจินเต ซึ่งส่งผลให้เกิดคุณสมบัติที่สำคัญหลายประการ เช่น ไมโครแคปซูลอัลจินเตที่มีความพรุนลดลง การรั่วไหลของแบคทีเรียที่ถูกเคลือบลดลง และมีเสถียรภาพในช่วง pH ต่าง ๆ การหุ้มโพรไบโอติกด้วยไคโตซานและการเคลือบอัลจินเตช่วยปกป้องโพรไบโอติกในระบบทางเดินอาหาร และเป็นวิธีที่ดีในการนำส่งโพรไบโอติกที่มีชีวิตไปยังลำไส้ใหญ่ (Martín et al., 2015)



ภาพที่ 7 โครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน

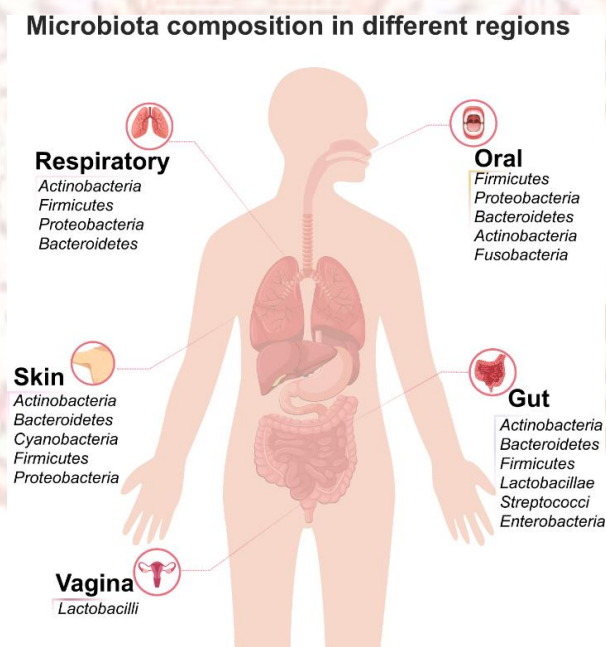
Chávarri et al. (2010) ได้ทำการห่อหุ้ม *L. gasseri* และ *B. bifidum* โดยใช้เควอซิทิน (Quercetin) เป็นพรีไบโอติกและโคโคซานเป็นวัสดุเคลือบในไมโครแคปซูลอัลจิเนต และรายงานว่ามีอัตราการรอดชีวิตที่ดีขึ้นในสภาวะทางเดินอาหารในหลอดทดลอง การศึกษาวิจัยอื่น ๆ รายงานว่า แป้งทนย่อย (Resistant starch) เป็นพรีไบโอติกและโคโคซานเป็นวัสดุเคลือบเพื่อห่อหุ้ม โพรไบโอติก พบว่าอัตราการมีชีวิตรอดเพิ่มขึ้นถึง 6 เดือนที่อุณหภูมิห้อง (And & Kailasapathy, 2005) นอกจากนี้อินนูลินเป็นพรีไบโอติกที่ใช้กันมากที่สุด จึงมีการศึกษาการทดสอบอิทธิพลของความยาวโซ่ที่แตกต่างกันในการห่อหุ้มร่วมกับ *L. casei* ในไมโครแคปซูลอัลจิเนตเคลือบโคโคซาน การผสมอินนูลินและการเคลือบโคโคซานได้รับการพิสูจน์แล้วว่าช่วยเพิ่มความสามารถในการมีชีวิตของเซลล์ในกระเพาะอาหารและเคลื่อนน้ำดี โดยอัตราการรอดชีวิตลดลง 2.7–2.9 log สำหรับ *L. casei* ซึ่งอินนูลินสายยาวแสดงอัตราการรอดชีวิตสูงสุดอัตราการรอดชีวิตลดลงแค่ 2.7 log (Darjani et al., 2016)

2.4. จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร (Gut microbiome)

ไมโครไบโอมได้รับการศึกษาต้นศตวรรษที่ 19 เมื่อมีการค้นพบการมีอยู่ของจุลินทรีย์จำนวนมากในร่างกายมนุษย์ ซึ่งรวมถึงแบคทีเรีย ยีสต์ และไวรัส ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ ผิวหนัง ปอด และช่องปาก (Grice & Segre, 2012) การศึกษาเหล่านี้นำไปสู่การขนานนามจุลินทรีย์เหล่านี้ว่าเป็น อวัยวะที่ซ่อนอยู่ (Hidden organ) เนื่องจากมีข้อมูลทางพันธุกรรมของไมโครไบโอมที่มากกว่าข้อมูลทางพันธุกรรมของมนุษย์ถึง 150 เท่า คำว่าไมโครไบโอมและไมโครไบโอมจะถูกใช้แทนกันในบางครั้ง แต่ทั้งสองคำมีความหมายที่แตกต่างกันในเชิงวิทยาศาสตร์ โดยไมโครไบโอมหมายถึงจุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่พบในสภาพแวดล้อมเฉพาะ เช่น ในช่องปากและลำไส้ ส่วนไมโครไบโอมหมายถึงการรวมสารพันธุกรรม (Genetic materials) ทั้งหมดจากจุลินทรีย์ในสภาพแวดล้อมนั้น ซึ่งครอบคลุมถึงไม่เพียงแค่ชุมชนจุลินทรีย์ (Microbial community) เท่านั้น แต่ยังรวมถึง องค์ประกอบโครงสร้างและเมตาบอไลต์ เช่น สารที่เกิดจากกระบวนการเมตาบอไลซึมของจุลินทรีย์ รวมถึงด้านสิ่งแวดล้อมที่มีผลต่อการทำงาน (Berg et al., 2020) โดยเฉพาะอย่างยิ่งคำว่าไมโครไบโอมมีความหมายที่กว้างกว่าและครอบคลุมมากกว่าไมโครไบโอม เนื่องจากมันไม่เพียงแต่รวมถึงชุมชนของจุลินทรีย์ แต่ยังรวมถึง องค์ประกอบทางพันธุกรรมและปัจจัยอื่น ๆ ที่มีผลต่อสุขภาพของร่างกายมนุษย์ ในส่วนของลำไส้ ไมโครไบโอมที่อาศัยอยู่ในลำไส้มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการรักษาสมดุลของระบบภูมิคุ้มกัน การย่อยอาหาร และการผลิตสารเมตาบอไลต์ที่มีผลต่อสุขภาพของร่างกายโดยรวม ความหลากหลายของจุลินทรีย์ในลำไส้มีผลต่อการเกิดโรคต่าง ๆ เช่น โรคอ้วน โรคเบาหวาน แต่การ

รักษาความหลากหลายของไมโครไบโอมในลำไส้สามารถช่วยเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันและลดความเสี่ยงจากโรคต่าง ๆ ได้

การศึกษาเกี่ยวกับองค์ประกอบของจุลินทรีย์ในร่างกายมนุษย์มีความซับซ้อนและความสำคัญอย่างยิ่งของระบบไมโครไบโอม โดยเฉพาะในบริเวณลำไส้ ซึ่งถือเป็นแหล่งจุลินทรีย์ที่สำคัญที่สุดของร่างกาย ตามการศึกษาของ Shreiner et al. (2015) จุลินทรีย์ในลำไส้มีบทบาทหลากหลายที่ส่งผลกระทบต่อสุขภาพ อาทิ การหมักอาหาร การป้องกันเชื้อโรค การกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน และการผลิตวิตามิน การวิเคราะห์โดย Laterza et al. (2016) พบว่าจุลินทรีย์ในลำไส้ประกอบด้วย 6 ไฟลัมหลัก ได้แก่ *Firmicutes* *Bacteroidetes* *Actinobacteria* *Proteobacteria* *Fusobacteria* และ *Verrucomicrobia* โดย *Firmicutes* และ *Bacteroidetes* ถือเป็นกลุ่มที่มีอิทธิพลและความสำคัญสูงสุด วิธีการศึกษาความหลากหลายของจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ใช้การจัดลำดับ 16S Metagenome โดยมุ่งไปที่บริเวณลำดับเบส V1-V9 ของ 16S rRNA โดยเฉพาะ V3-V4 ที่มีความหลากหลายสูง การวิเคราะห์จะใช้ Operational taxonomic units (OTUs) เพื่อจัดหมวดหมู่จุลินทรีย์ที่มีความคล้ายคลึงกันในระดับ 97% ซึ่งเป็นเครื่องมือสำคัญในการประเมินความอุดมสมบูรณ์และความสมดุลของชุมชนจุลินทรีย์



ภาพที่ 8 จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารในมนุษย์ (Hou et al., 2022)

ความหลากหลายของจุลินทรีย์ในลำไส้มีบทบาทอย่างยิ่งต่อสุขภาพมนุษย์ โดยส่งผลกระทบตั้งแต่กระบวนการเผาผลาญไปจนถึงระบบภูมิคุ้มกัน ชุมชนจุลินทรีย์ที่สมดุลประกอบด้วยจุลินทรีย์หลากหลายสายพันธุ์ ทำให้ระบบนิเวศในลำไส้มีความแข็งแกร่ง สามารถต้านทานเชื้อโรค ช่วยย่อยอาหาร และผลิตวิตามิน การศึกษาวิจัยได้ชี้ให้เห็นความสำคัญของความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยระหว่างโฮสต์และจุลินทรีย์ โดยจุลินทรีย์ช่วยย่อยคาร์โบไฮเดรตเชิงซ้อน สังเคราะห์วิตามิน และควบคุมระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งจุลินทรีย์จะได้รับสภาพแวดล้อมที่อุดมสมบูรณ์จากโฮสต์ แต่ภาวะ Dysbiosis หรือความไม่สมดุลของจุลินทรีย์ อาจนำไปสู่ปัญหาสุขภาพต่าง ๆ ซึ่งได้รับอิทธิพลจากอาหาร ยาปฏิชีวนะ และความเครียด การผลิตกรดไขมันสายสั้นเป็นกรดอินทรีย์ที่ผลิตขึ้นจากการหมักใยอาหารและแป้งที่ย่อยโดยแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ กรดไขมันสายสั้นที่ผลิตขึ้นในกระบวนการนี้ได้แก่ อะซิเตท (Acetate) โพรพิโอเนต (Propionate) และบิวทิเรต (Butyrate) และอื่น ๆ บทบาทการทำงานของกรดไขมันสายสั้นแสดงอยู่ในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 บทบาทการทำงานของกรดไขมันสายสั้น

กรดไขมันสายสั้น	บทบาทการทำงาน	อ้างอิง
กรดฟอร์มิก	- มีบทบาทในการจัดหากรดคาร์บอนหนึ่งสำหรับการสังเคราะห์พิวรีน การสังเคราะห์โฮมิดีเลต และปฏิกิริยาการมีเทเลเลชั่น - การยับยั้งการเผาผลาญเซอริน 1C สำหรับการรักษามะเร็ง	Brosnan et al. (2018) Ducker et al. (2017)
กรดอะซิติก	- การเพิ่มการแสดงออกของโปรตีนกลูคา곤 ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของ GLP-1 ฮอร์โมนที่สำคัญต่อการสร้างความอ้วน - การป้องกันการเพิ่มน้ำหนักตัวและการสะสมไขมันในร่างกายโดยการเพิ่มการใช้พลังงาน	Kasubuchi et al. (2015) Mitrou et al. (2015)
กรดบิวทิริก	- ผลการต้านการอักเสบโดยการเพิ่มการต้านอนุมูลอิสระของกลูตาไธโอน และการลดการผลิตกรดไขมันอิสระ - การยับยั้ง cAMP-dependent pathways ในขณะเดียวกันก็กระตุ้นวิถีสัญญาณอื่น ๆ เช่น วิถีที่กระตุ้นในเซลล์ของลำไส้ใหญ่หรือเซลล์ภูมิคุ้มกันตัวรับเหล่านี้ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในระดับไซโตไคน์และเส้นทางการสัญญาณต่าง ๆ ที่ส่งเสริมการตอบสนองทางการต้านการอักเสบ	Cleophas et al. (2019) Hodgkinson et al. (2023)
กรดโพรพิโอนิก	- มีฤทธิ์ต้านการสร้างไขมันและลดคอเลสเตอรอล ซึ่งยังส่งผลดีต่อการควบคุมน้ำหนัก และพฤติกรรม การรับประทานอาหารอีกด้วย - การป้องกันโรคอ้วนและโรคเบาหวานชนิดที่ 2	Delzenne and Williams (2002) Chambers et al. (2015)
กรดแลกติก	- การส่งสัญญาณ NF-κB ที่เพิ่มขึ้นช่วยควบคุมยีนที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการทางชีววิทยาต่าง ๆ เช่น ภูมิคุ้มกันโดยกำเนิดและที่ได้รับมา การอักเสบ การตอบสนองต่อความเครียด การสร้าง B cell และการสร้างอวัยวะน้ำเหลือง	Afonina et al. (2017)

2.5. การจำลองการย่อยอาหาร (Partial simulated gut model)

Partial simulated gut model เป็นการจำลองการย่อยอาหารโดยใช้สารเคมีเลียนแบบสภาวะการย่อยของมนุษย์ในระบบทางเดินอาหาร ซึ่งถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในหลายสาขาของวิทยาศาสตร์อาหารและโภชนาการ เนื่องจากการดำเนินการทดลองในมนุษย์นั้นมักมีค่าใช้จ่ายที่สูง ต้องใช้ทรัพยากรมาก และมีข้อโต้แย้งด้านจริยธรรม มีการใช้แบบจำลองการย่อยอาหารหลายแบบเพื่อนำมาใช้ในการคัดกรองและสร้างสมมติฐานใหม่ โดยทั่วไปประกอบด้วย การจำลองการย่อยทางปาก กระเพาะอาหารและลำไส้เล็กหรือบางครั้งก็มีลำไส้ใหญ่ด้วย ซึ่งพยายามเลียนแบบทางกายภาพ โดยคำนึงถึง การใช้สารอาหารและไม่ใช้สารอาหารทางชีวภาพในแบบจำลอง หรือการย่อยเอนไซม์ที่มีในระบบย่อยอาหารเพื่อให้มีความใกล้เคียงกับสภาวะจริง เช่น pepsin trypsin รวมถึงความแตกต่างของค่า pH ในสภาวะจำลอง และระยะเวลาที่ใช้ในการย่อย นอกจากนี้ยังมีพารามิเตอร์อื่น ๆ ที่เกี่ยวข้อง เช่น การมีอยู่ของ phospholipid อัตราส่วนของอาหารที่ใช้กับ simulated fluid และความเข้มข้นของเกลือน้ำดี อย่างไรก็ตาม สามารถแบ่งประเภทของการจำลองการย่อยได้ 2 ประเภทคือ Static model และ Dynamic model โดย Static model จะเป็นการจำลองแบบไม่มีการเคลื่อนย้ายของสารอาหาร จะมีการแบ่งเป็นส่วนต่างๆ แยกจากกัน ในทางกลับกัน Dynamic model จะเป็นการจำลองการย่อยโดยมีการควบคุมโดยระบบคอมพิวเตอร์ในระหว่างกระบวนการจำลองการย่อยจะมีการเคลื่อนย้ายไปยังส่วนต่าง ๆ และมีการเติมเอนไซม์เข้าไปในระบบเลียนแบบการย่อยจริงในมนุษย์ โดยทั่วไปเพื่อเพิ่มการรอดชีวิตของโพรไบโอติกในขณะที่ลำเลียงผ่านระบบย่อยอาหารเพื่อไปปลดปล่อยที่ลำไส้ใหญ่ จะมีการใช้พอลิเมอร์ทางชีวภาพในการห่อหุ้มโพรไบโอติก โดยการเลือกใช้พอลิเมอร์สำหรับการห่อหุ้มของโพรไบโอติกมีความสำคัญมาก ซึ่งสารที่ใช้ในการห่อหุ้มโพรไบโอติกควรเป็น Food grade biodegradable เกณฑ์พื้นฐานสำหรับการเลือกวัสดุในการห่อหุ้มขึ้นอยู่กับความสามารถในการเพิ่มความมีชีวิตรอดของเซลล์แบคทีเรียในระหว่างกระบวนการย่อยและยืดอายุในการเก็บรักษา (Razavi et al., 2021) และยังขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลาย น้ำหนักโมเลกุล การขึ้นรูป และคุณสมบัติการเป็น emulsifying ยิ่งไปกว่านั้น อีกปัจจัยที่นำมาใช้เป็นเกณฑ์ในการคัดเลือกพอลิเมอร์คือ วิธีการที่ใช้ในการห่อหุ้มโพรไบโอติก ตัวอย่างเช่น การห่อหุ้มด้วยวิธีการทำแห้งแบบพ่นฝอย นิยมใช้สูตรอาหารที่เป็นน้ำในการพ่นเป็นละออง ดังนั้นจึงต้องใช้พอลิเมอร์ที่มีความสามารถในการละลายน้ำได้ดี วัสดุที่นิยมนำมาใช้ในการห่อหุ้มจะเป็นไบโอพอลิเมอร์ต่าง ๆ เช่น สารสกัดจากพืช กัมอารบิก สารสกัดจากทะเล เช่น อัลจิเนต คาราจีแนน โปรตีน เช่น นม หรือเวย์

โปรตีน โปรตีนถั่วเหลือง เจลาติน โยอาหาร เช่น แป้งทenyoy แป้งข้าวโพด จากจุลินทรีย์และสัตว์ เช่น ไคโตซาน แชนแทน (Burgain et al., 2011)

2.6. จลพลศาสตร์การปลดปล่อยของโพรไบโอติก

การห่อหุ้มโพรไบโอติกด้วยวัสดุพอลิเมอร์ชีวภาพ เช่น โพลีแลคติกแอซิด ไคโตซาน หรือ อินนูลิน มีเป้าหมายหลักเพื่อปกป้องจุลินทรีย์จากสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม และควบคุมการปลดปล่อยของโพรไบโอติกในทางเดินอาหาร การศึกษาจลพลศาสตร์การปลดปล่อย (Release kinetics) จึงเป็นเครื่องมือสำคัญที่ใช้ในการอธิบายกลไกและอัตราการปลดปล่อยโพรไบโอติกจากเม็ดปิดภายใต้สภาวะจำลองของระบบทางเดินอาหาร โดยทั่วไปมีการใช้สมการเชิงคณิตศาสตร์หลายรูปแบบเพื่ออธิบายพฤติกรรมของการปลดปล่อยของโพรไบโอติก ได้แก่

แบบจำลองอันดับศูนย์ (Zero-order) แบบจำลองนี้อธิบายการปลดปล่อยสารที่มีอัตราคงที่ตลอดช่วงเวลา กล่าวคือ ปริมาณสารที่ถูกปลดปล่อยในแต่ละช่วงเวลาจะเท่ากันโดยไม่ขึ้นกับเวลา เป็นแบบจำลองที่พบได้ในระบบควบคุมการปลดปล่อยบางประเภท เช่น แผ่นแปะยา หรือระบบที่มีการควบคุมการแพร่ผ่านอย่างเข้มงวด (Möckel & Lippold, 1993) ดังแสดงในสมการที่ 1

แบบจำลองอันดับศูนย์ (Zero-order): $M_t/M_\infty = kt$ (1)

แบบจำลองอันดับหนึ่ง (First-order model) แบบจำลองนี้อธิบายการปลดปล่อยที่มีความเร็วลดลงตามเวลา ซึ่งพฤติกรรมดังกล่าวเกิดจากความแตกต่างของความเข้มข้นของสารที่ลดลงอย่างต่อเนื่อง โดยทั่วไปจะพบในระบบที่การปลดปล่อยสารเป็นผลมาจากการแพร่จากบริเวณที่มีความเข้มข้นสูงไปยังความเข้มข้นต่ำ ดังแสดงในสมการที่ 2 (Shafiei et al., 2021)

แบบจำลองอันดับหนึ่ง (First-order): $M_t/M_\infty = 1 - e^{-kt}$ (2)

แบบจำลองฮิกูจิ (Higuchi) แบบจำลองนี้พัฒนาขึ้นเพื่ออธิบายการแพร่ของสารผ่านเมทริกซ์ที่มีลักษณะเป็นของแข็ง โดยสมมติว่าเป็นการแพร่ (diffusion-controlled release) ซึ่งการปลดปล่อยจะมีความสัมพันธ์กับรากที่สองของเวลา และสามารถใช้ได้ดีในกรณีที่การปลดปล่อยเกิดจากกลไกการแพร่เพียงอย่างเดียว ดังแสดงในสมการที่ 3 (Paarakh et al., 2018; Paul, 2011)

แบบจำลองฮิกูจิ (Higuchi): $M_t/M_\infty = kt^{1/2}$ (3)

แบบจำลองคอร์สไมเยอร์-เพปปาส (Korsmeyer–Peppas) แบบจำลองคอร์สไมเยอร์-เพปปาส (Korsmeyer–Peppas model) เป็นแบบจำลองเชิงประจักษ์ที่พัฒนาโดย Korsmeyer และ Peppas เพื่อใช้วิเคราะห์กลไกการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์จากระบบเมทริกซ์พอลิเมอร์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีที่ระบบปลดปล่อยมีความซับซ้อนและไม่สามารถอธิบายได้ด้วยแบบจำลองพื้นฐาน เช่น แบบจำลองอันดับศูนย์ (Zero-order) หรืออันดับหนึ่ง (First-order) เพียงอย่างเดียว แบบจำลองนี้มีความเหมาะสมอย่างยิ่งสำหรับการศึกษาการปลดปล่อยสารที่เกิดจากกระบวนการทางกายภาพ

หลายรูปแบบ เช่น การแพร่ (diffusion), การพองตัวของเมทริกซ์ (polymer swelling), หรือการเสื่อมสลายของพอลิเมอร์ (erosion) ซึ่งมักเกิดขึ้นพร้อมกันในระบบการนำส่งสารชีวภาพ เช่น เม็ดแคปซูลพอลิเมอร์ ไมโครแคปซูล และบีดพอลิเมอร์ที่ใช้ในผลิตภัณฑ์โพรไบโอติก โดยที่วิเคราะห์เลขชี้กำลังการแพร่กระจาย (n) โดยที่ $n < 0.43$ คือการแพร่แบบแบบฟิคเคียน (Fickian diffusion) $0.43 < n < 0.85$ คือปลดปล่อยแบบผสม (Anomalous release) $n > 0.85$ คือการปลดปล่อยที่ควบคุมด้วยการสลายตัวของเมทริกซ์ ดังแสดงในสมการที่ 4 (Guerra-Ponce et al., 2016; Khalbas et al., 2024)

$$\text{แบบจำลองคอร์สไมเยอร์-เปปปาส (Korsmeyer-Peppas): } M_t/M_\infty = kt^n \quad (4)$$

2.7. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Krasaekoopt and Watcharapoka (2014) ศึกษาไมโครเอ็นแคปซูลเลชันของ *L. acidophilus* 5 และ *L. casei* 01 โดยใช้อัลจินตเคลือบโคโตซานรวมกับการเติมกาแลคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ (GOS) และอินนูลิน มีการเติมกาแลคโตโอลิโกแซ็กคาไรด์ (GOS) และอินนูลินระหว่างการไมโครเอ็นแคปซูลเลชันของ *L. acidophilus* 5 และ *L. casei* 01 ในไมโครแคปซูลอัลจินตเคลือบโคโตซานที่ความเข้มข้น 0, 0.5, 1.0 และ 1.5% การเติม โพรไบโอติกทำให้ขนาดไมโครแคปซูลเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ประมาณ 3.8% การมี GOS 0.3% ในไมโครเอ็นแคปซูลเลชันให้การป้องกันที่ดีที่สุด โดยลดปริมาณลงเพียง 3.1 และ 2.9 log สำหรับ *L. acidophilus* 5 และ *L. casei* 01 ตามลำดับ ในน้ำย่อยจำลองในกระเพาะอาหารที่ pH 1.55 ตามด้วยน้ำย่อยจำลองในลำไส้ที่มีเกลือน้ำดี 0.6% นอกจากนี้ ยังได้ทำการทดสอบความสามารถในการดำรงชีวิตของโพรไบโอติกไมโครเอ็นแคปซูลเลชันที่มี GOS 1.5% ในโยเกิร์ตเชิงพาณิชย์และน้ำส้มที่เก็บรักษาในตู้เย็นเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ในโยเกิร์ต จำนวนเซลล์ที่มี GOS สูงกว่าเซลล์ที่ไม่มี GOS ประมาณ 1.1 และ 0.4 logs สำหรับ *L. acidophilus* 5 และ *L. casei* 01 ตามลำดับ ในน้ำส้ม จำนวนเซลล์ที่มี GOS สูงกว่าเซลล์ที่ไม่มี GOS ประมาณ 0.5 และ 0.4 logs สำหรับ *L. acidophilus* 5 และ *L. casei* 01 ตามลำดับ จำนวนแบคทีเรียโพรไบโอติกได้รับการรักษาให้คงอยู่สูงกว่าค่าขั้นต่ำทางการรักษาที่แนะนำ 10^7 cfu g⁻¹ หรือ mL⁻¹ ของผลิตภัณฑ์ตลอดการจัดเก็บในผลิตภัณฑ์

Lotfipour et al. (2012) ศึกษาการเตรียมและลักษณะเฉพาะของไมโครแคปซูลอัลจินตและไซเลียมที่มีแบคทีเรียโพรไบโอติกของ *Lactobacillus acidophilus* DMSZ 20079 โดยเตรียมสูตรต่าง ๆ จำนวน 12 สูตรที่มีอัลจินต (ALG) และอัลจินต-ไซเลียม (ALG-PSL) โดยใช้เทคนิคเอ็กทราซัน ไมโครแคปซูลวิเคราะห์ขนาด สัณฐานวิทยา และคุณสมบัติของพื้นผิว ประสิทธิภาพการห่อหุ้ม ความสามารถในการดำรงชีวิตในสภาวะที่เป็นกรดที่ pH 1.8 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และน้ำดี 0.5% w/v เป็นเวลา 2 ชั่วโมง การปลดปล่อยในสภาวะจำลอง pH ของลำไส้ใหญ่ ผลการทดลอง

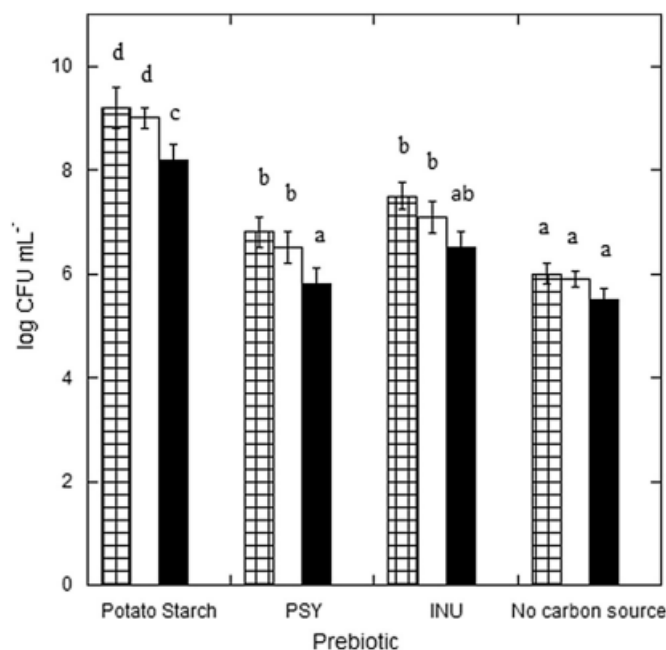
แสดงให้เห็นว่าเม็ดทรงกลมที่มีการกระจายขนาดแคบตั้งแต่ 1.59 ± 0.04 ถึง 1.67 ± 0.09 มม. สำหรับ ALG และตั้งแต่ 1.61 ± 0.06 ถึง 1.80 ± 0.07 มม. สำหรับ ALG-PSL มีประสิทธิภาพการห่อหุ้มสูงกว่า 98% นอกจากนี้ การเติม PSL ลงใน ALG ช่วยเพิ่มความสมบูรณ์ของไมโครแคปซูลที่เตรียมไว้เมื่อเปรียบเทียบกับสูตร ALG ผลลัพธ์บ่งชี้ว่าการเติม PSL ลงในไมโครแคปซูลอัลจิเนตช่วยเพิ่มความสามารถในการมีชีวิตของแบคทีเรียในสภาวะที่มีกรดและน้ำดี นอกจากนี้ ยังพบผลการกระตุ้นของ PSL ต่อแบคทีเรียโพรไบโอติกเป็นเวลา 20 ชั่วโมงในสารละลาย pH จำลองของลำไส้ใหญ่ การศึกษาในหลอดทดลองของเรา PSL อาจเป็นพอลิเมอร์ที่เหมาะสมสำหรับการทดแทนบางส่วนด้วย ALG เพื่อการเคลือบโพรไบโอติก

Huang et al. (2015) ศึกษาการประเมินประสิทธิภาพการห่อหุ้มแบคทีเรีย *Lactobacillus reuteri* เพื่อปกป้องและคงคุณสมบัติโพรไบโอติก กลุ่ม A ห่อหุ้มด้วยแคลเซียม-อัลจิเนต กลุ่ม CA ห่อหุ้มด้วยไคโตซาน-แคลเซียม-อัลจิเนต กลุ่ม F เซลล์ไม่ห่อหุ้ม การห่อหุ้มช่วยเพิ่มอัตราการอยู่รอดของ *L. reuteri* ที่ได้รับสภาวะจำลองทางเดินอาหาร โดยมีประสิทธิภาพการห่อหุ้มสูงสุดเกิดขึ้นในกลุ่ม CA ระดับของการบาดเจ็บของเยื่อหุ้มเซลล์เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของเกลือน้ำดีที่เพิ่มขึ้นที่ค่า pH คงที่ แต่ระดับของการบาดเจ็บนั้นน้อยกว่าในเซลล์ที่ห่อหุ้มเมื่อเทียบกับในเซลล์อิสระ อัตราการยืดเกาะนั้นเรียงตามลำดับจากมากไปน้อย ดังนี้ CA (0.524%) > A (0.360%) > F (0.275%) เซลล์ *Lactobacillus reuteri* ยังคงมีฤทธิ์ต่อต้าน *Listeria monocytogenes*

Krasaekoopt et al. (2006) ศึกษาการมีชีวิตรอดของจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้ม ได้แก่ *Lactobacillus acidophilus* 547 *Bifidobacterium bifidum* ATCC 1994 *Lactobacillus casei* 01 ในโยเกิร์ตที่กวนจากนมที่ผ่านการบำบัดด้วยยูเอชทีและแลนมนที่ผ่านการบำบัดแบบดั้งเดิมในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ ได้เติมเซลล์จุลินทรีย์โพรไบโอติกทั้งแบบเซลล์อิสระและเซลล์ที่ถูกห่อหุ้มไมโครแคปซูลอัลจิเนตเคลือบไคโตซาน ลงในโยเกิร์ตที่กวนจากนมที่ผ่านการบำบัดด้วยยูเอชที 20 กรัม ต่อ 100 กรัม และโยเกิร์ตที่ผสมจากนมที่ผ่านการบำบัดด้วยยูเอชที 16 กรัม/100 กรัม หลังจากหมักเป็นเวลา 3.5 ชั่วโมง ผลิตภัณฑ์เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 สัปดาห์ การอยู่รอดของแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ห่อหุ้มไมโครแคปซูลสูงกว่าเซลล์อิสระประมาณ 1 log cycle จำนวนแบคทีเรียโพรไบโอติกได้รับการรักษาให้คงอยู่มากกว่าค่าต่ำสุดในการรักษาที่แนะนำ 10^7 cfu g⁻¹ ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ยกเว้น *B. bifidum* ความสามารถในการดำรงอยู่ของแบคทีเรียโพรไบโอติกในโยเกิร์ตจากนมที่ผ่านการบำบัดทั้งแบบยูเอชที และแบบดั้งเดิมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$)

Peredo et al. (2016) ศึกษาการประเมินผลของพรีไบโอติกจากธรรมชาติสามชนิด ได้แก่ แป้งมันฝรั่ง (PS) ไฮเลียมฮัสค์ (PSY) และอินนูลิน (INU) ที่ห่อหุ้มร่วมกับอัลจิเนต ความสามารถมีชีวิตรอดของ *Lactobacillus casei* Shirota (Lc) และสองสายพันธุ์ของ *Lactobacillus plantarum*

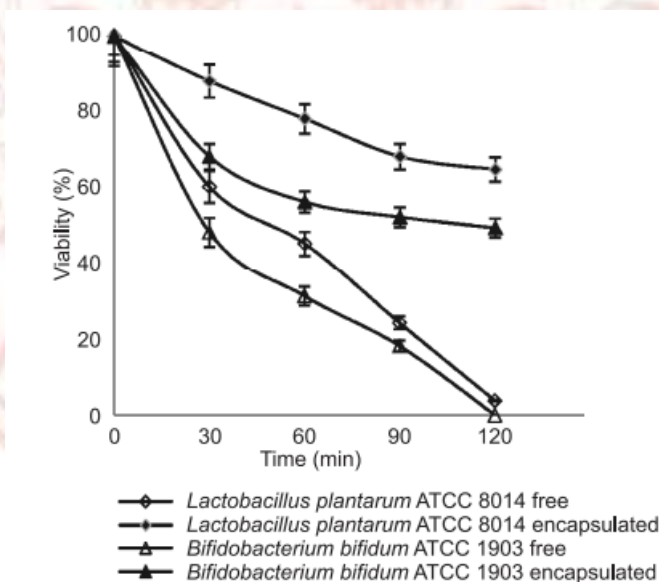
(Lp33 และ Lp17). มีการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ การบริโภครีโอบีโติก ผลผลิตของการหมัก และความมีชีวิตของจุลินทรีย์ที่หมักในระหว่างการจัดเก็บในสภาวะที่ควบคุม ผลการวิจัยเผยให้เห็นผลผลิตของการหมักที่สูงขึ้นเมื่อใช้ PSY 94% สำหรับ Lp17 และ INU 78% สำหรับ Lp33 ในการหมักร่วมกับอัลจินเต แคปซูลที่ผลิตได้มีลักษณะทรงกลมและแสดงคุณสมบัติการไหลที่ดี และความสามารถในการมีชีวิตระหว่างการจัดเก็บจะสูงกว่าที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สำหรับแคปซูล PSY ซึ่งยังให้การปกป้องที่ดีที่สุดในสภาวะทางเดินอาหารอีกด้วย



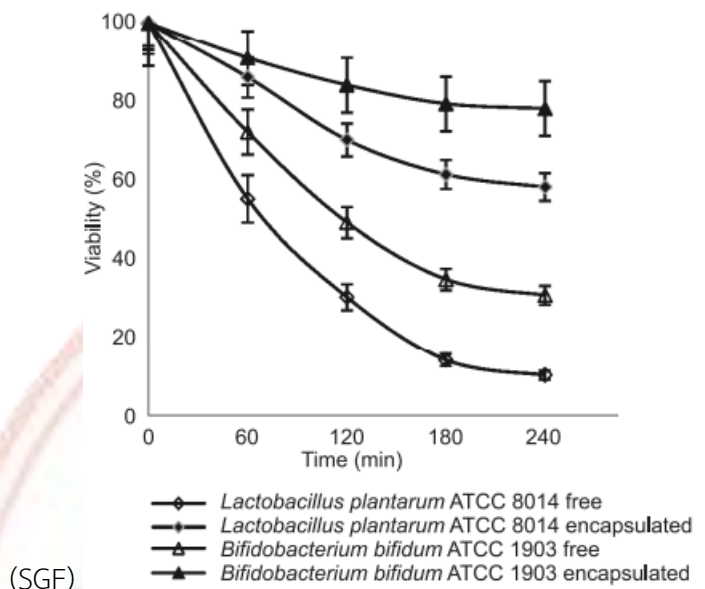
ภาพที่ 9 ปริมาณเชื้อโพรไบโอติกที่สามารถดำรงชีวิตได้ ($\log \text{CFU mL}^{-1}$) ของโพรไบโอติกที่เวลา 48 ชั่วโมง อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ที่มีแป้งมันฝรั่ง (PS) ไฮเลียมฮัสค์ (PSY) อินนูลิน (INU) และไม่มีแหล่งคาร์บอน (■) *Lactobacillus plantarum* Lp 17 (□) *Lactobacillus plantarum* Lp33 และ (▀) *Lactobacillus casei* Shirota แท่งแต่ละแท่งแสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการจำลองสามครั้ง ตัวอักษรที่แตกต่างกันบนแท่งเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) Valero-Cases and Frutos (2015) ศึกษาผลของวิธีการไมโครเอ็นแคปซูลแบบต่าง ๆ กระบวนการเอ็กทราชันและไมโครเอ็นแคปซูลชันอิมัลชันอินนูลินมีผลต่อความสามารถในการมีชีวิตรอดของ *Lactobacillus plantarum* ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยเติมอินนูลินลงไประหว่างการไมโครเอ็นแคปซูลชันที่ 0, 1 และ 2% นอกจากนี้ ยังได้ศึกษาผลของระยะต่าง ๆ ของการย่อยอาหารในระบบทางเดินอาหารต่อการอยู่รอดของจุลินทรีย์ระหว่างการเก็บรักษาวันที่ 0, 15 และ 30 วัน ในไมโครแคปซูลทั้งสองประเภท พบว่าการป้องกันที่ดีที่สุดและการอยู่รอดที่สูงขึ้นของ *Lactobacillus plantarum* ระหว่างการเก็บรักษา 30 วันนั้น พบว่ามีอินนูลิน 2% ในปริมาณที่ลดลงเพียง 0.71 และ 0.47 log สำหรับการเอ็กทราชันและไมโครเอ็นแคปซูลชันอิมัลชันตามลำดับ จากการเก็บรักษาเป็นเวลา 15 วัน ไมโครแคปซูล

อิมัลชันไม่สามารถรักษาโครงสร้างไว้ได้ระหว่างกระบวนการย่อยในหลอดทดลอง เมื่อสิ้นสุดสภาวะจำลองทางเดินอาหาร 30 วัน จำนวนเซลล์คือ 7.40 และ 6.53 log CFU g⁻¹ สำหรับการเอ็กทราชันและไมโครเอ็นแคปซูลชันแบบอิมัลชันตามลำดับ ในวิธีการไมโครเอ็นแคปซูลชันทั้งสองวิธี *Lactobacillus plantarum* แสดงให้เห็นอัตราการรอดชีวิตสูง $\geq 10^6$ CFU g⁻¹ อย่างไรก็ตาม สำหรับระยะเวลาการเก็บรักษาที่ยาวนาน วิธีที่ดีที่สุดสำหรับการเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของ *Lactobacillus plantarum* ต่อการย่อยอาหารในทางเดินอาหารคือการห่อหุ้มด้วยกระบวนการเอ็กทราชัน

Kwoak et al. (2022) ศึกษาโพรไบโอติก *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 และ *Bifidobacterium bifidum* ATCC 1903 ห่อหุ้มด้วยอัลจิเนตที่ผสมกับแป้งโดยเทคนิคเอ็กทราชันเมื่อรักษาความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนตและอัตราส่วนของอัลจิเนตต่อแป้งไว้ที่ 2% และ 1:1 ตามลำดับ พบว่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มสูงที่สุด การห่อหุ้มช่วยเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ที่ห่อหุ้มของ *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 และ *Bifidobacterium bifidum* ATCC 1903 ใน SGF และ SIF ได้อย่างมีนัยสำคัญ พบว่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มของ *L. plantarum* ATCC 8014 และ *B. bifidum* ATCC 1903 อยู่ที่ 87.5% และ 68.3% ตามลำดับ เซลล์ที่ปล่อยออกมาจากแคปซูลได้อย่างสมบูรณ์นั้นทำได้ภายในเวลาอย่างน้อย 3 ชั่วโมง และโพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มนั้นมีเสถียรภาพที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 วัน พบว่าการห่อหุ้ม *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 และ *Bifidobacterium bifidum* ATCC 1903 ในอัลจิเนตที่ผสมกับแป้งโดยกระบวนการเอ็กทราชันนั้นมีประโยชน์ในการส่งโพรไบโอติกไปยังลำไส้



ภาพที่ 10 อัตราการรอดชีวิตของเซลล์อิสระและเซลล์ที่ห่อหุ้มของ *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 และ *Bifidobacterium bifidum* ATCC 1903 ในน้ำย่อยในกระเพาะอาหารจำลอง



ภาพที่ 11 อัตราการรอดชีวิตของเซลล์ที่เป็นอิสระและถูกห่อหุ้มของ *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 และ *Bifidobacterium bifidum* ATCC 1903 ในของเหลวในลำไส้จำลอง (SIF) Lee et al. (2019) ศึกษาโพรไบโอติก *Lactobacillus acidophilus* KBL409 ถูกห่อหุ้มด้วยอัลจิเนต (AL) และอัลจิเนต-ไคโตซาน (AL/Chi) โดยวิธีเอ็กทราซัน ขนาดและศักย์ซีตาของ ไมโครสเฟียร์วัดเพื่อยืนยันการห่อหุ้ม เพื่อประเมินผลการป้องกันของไมโครสเฟียร์ต่อของเหลวในทางเดินอาหาร ตัวอย่างทั้งหมดสัมผัสกับของเหลวในกระเพาะอาหารจำลอง (SGFs, pH 1.5) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 หรือ 2 ชั่วโมง ตามด้วยการบ่มกับของเหลวในลำไส้จำลอง (SIFs, pH 6.5) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ความสามารถในการยึดเกาะของไมโครสเฟียร์ประเมินโดยใช้เซลล์เยื่อบุลำไส้ HT29-MTX เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาของโพรไบโอติก เช่น ไดแซ็กคาไรด์และ พอลิแซ็กคาไรด์ผสมกับเซลล์อิสระหรือเซลล์ที่ห่อหุ้มในระหว่างกระบวนการทำให้แห้งด้วยการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze-drying) ขนาดของไมโครสเฟียร์แสดงให้เห็นการกระจายตัวที่แคบ ในขณะที่ศักย์ซีตาของไมโครสเฟียร์ AL และ AL/Chi อยู่ที่ -17.9 ± 2.3 และ 20.4 ± 2.6 mV ตามลำดับ เซลล์ที่ห่อหุ้มด้วย AL/Chi แสดงอัตราการรอดชีวิตสูงสุดเมื่อผ่านเข้าสู่ SGF และ SIF ก็ตาม ความสามารถในการยึดเกาะเมือกของไมโครสเฟียร์ AL และ AL/Chi สูงกว่า 94% ในขณะที่ *L. acidophilus* ที่เป็นอิสระแสดงการยึดเกาะเมือก 88.1% ซูโครส 10% แสดงอัตราการรอดชีวิตมากกว่า 80% ในเซลล์อิสระหรือในแคปซูล ดังนั้น *L. acidophilus* ที่ห่อหุ้มด้วยไมโครสเฟียร์ AL และ AL/Chi จึงมีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่าหลังจากสัมผัสกับทางเดินอาหาร และมีความสามารถในการยึดเกาะเมือก

ดีกว่าเซลล์อิสระ นอกจากนี้ ชูโครสยังแสดงฤทธิ์ในการปกป้องสูงสุดของ
ในระหว่างกระบวนการทำให้แห้งด้วยการแช่แข็ง

L. acidophilus

Yildirim and Johnson (1998) มีการศึกษาเชื้อ *Bifidobacterium bifidum* จำนวน 5 สายพันธุ์ ATCC 11863 และ 29591 และ NCFB 1453, 1454, 1455 เพื่อทดสอบการผลิตแบคทีริโอซินในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่เติมซีเอสเตอิน 0.05% พบว่าเฉพาะสายพันธุ์ NCFB 1454 เท่านั้นที่สามารถปล่อยแบคทีริโอซินออกมาในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งตั้งชื่อว่า บีฟิโดซิน บี (Bifidocin B) บีฟิโดซิน บี มีความไวต่อเอนไซม์โปรตีโอไลติกหลายชนิด เช่น protease IV, pronase E, protease XVII, proteinase K, trypsin, alpha-chymotrypsin, papain และ pepsin แต่มีความทนทานต่อเอนไซม์ catalase, peroxidase, lipase, lysozyme, cellulase, ribonuclease A และ amylase นอกจากนี้ ยังทนต่อตัวทำลายอินทรีย์ เช่น เอทิลแอลกอฮอล์ อะซิโตน เฮกเซน คลอโรฟอร์ม เมทานอล และอีเธอร์ และทนต่อความร้อนที่ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15, 30 และ 60 นาที หรือที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที บีฟิโดซิน บี คงความสามารถทางชีวภาพหลังเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20°C หรือ -7°C นาน 3 เดือน และทนต่อ pH 2 ถึง 10 บีฟิโดซิน บี ยังมีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อโรคที่ปนเปื้อนในอาหารและแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเสีย เช่น *Listeria*, *Enterococcus*, *Bacillus*, *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, และ *Pediococcus* แต่ไม่มีผลต่อแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ สายพันธุ์อื่นที่ทดสอบ บีฟิโดซิน บี ผลิตขึ้นในระยะเอ็กซ์โปเนนเชียลและมีฤทธิ์สูงสุดที่ 3,200 AU/ml ในระยะคงที่ช่วงแรก บีฟิโดซิน บี มีมวลโมเลกุลประมาณ 3.3 กิโลดาลตัน เมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Tricine-sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis (Tricine-SDS-PAGE)

Zanjani et al. (2014) ศึกษาการอยู่รอดของจุลินทรีย์โปรไบโอติก *Lactobacillus casei* ATCC 39392 และ *Bifidobacterium bifidum* ATCC 29521 ห่อหุ้มด้วยแบง์เจลลาติน อัลจิเนต เคลือบไคโตซานและอินนูลินโดยใช้เทคนิคอิมัลชัน และเก็บไว้ในน้ำย่อยกระเพาะอาหารจำลอง พร้อมกับเปปซินที่ pH 1.5 และน้ำย่อยลำไส้จำลองพร้อมกับแพนกรีเอตินและเกลือน้ำดีที่ pH 8 เป็นเวลา 2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สันฐานวิทยาและขนาดของไมโครแคปซูลวัดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดและกล้องจุลทรรศน์แบบออปติคอล ผลการศึกษาบ่งชี้ว่าการอยู่รอดของจุลินทรีย์โปรไบโอติกไมโครเอ็นแคปซูลเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในสภาพจำลองของระบบทางเดินอาหาร การเคลือบไคโตซานมีบทบาทสำคัญในการปกป้องแบคทีเรียโปรไบโอติกในสภาพจำลองของระบบทางเดินอาหาร และเส้นผ่านศูนย์กลางของไมโครแคปซูลจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเคลือบไคโตซาน การศึกษานี้บ่งชี้ว่าการเคลือบไมโครแคปซูลด้วยแบง์เจลลาตินอัลจิเนตที่เคลือบด้วยไคโตซานสามารถปกป้องแบคทีเรียโปรไบโอติกจากสภาพจำลองของระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ได้

Vera-Santander et al. (2024) การศึกษานี้มุ่งเน้นการประเมินการเจริญเติบโตของโปรไบโอติก 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Lactiplantibacillus plantarum* 299v, *Lactocaseibacillus*

casei Shirota และ *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BPL1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผลิตจากนมหมักซึ่งมีโยยอาหารที่ละลายน้ำได้ เช่น อินนูลินหรือมูซิเลจจากเมล็ดเจีย ในความเข้มข้นต่าง ๆ ที่ 1% และ 2% w/w นอกจากนี้ยังศึกษาผลของโยยอาหารต่อการผลิตกรดไขมันสายสั้นและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเซลล์ ซึ่งจัดเป็นโพลีโอดิก ผลการศึกษาพบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่พัฒนาขึ้นสามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของโพรไบโอติกได้เป็นอย่างดี โดยเฉพาะในสูตรที่เติมอินนูลิน *Lactiplantibacillus plantarum* 299v และ *Lacticaseibacillus casei* Shirota ผลิตกรดแลคติกและกรดอะซิติกเป็นหลัก ขณะที่ *B. lactis* BPL1 ให้ปริมาณกรดไขมันสายสั้นสูงสุดในอาหารที่มีอินนูลิน 2% (w/w) นอกจากนี้ กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของโพลีโอดิกจาก *Lactiplantibacillus plantarum* 299v เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อมีการเติมโยยอาหารที่ละลายน้ำได้ ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าโพลีโอดิกสามารถผลิตได้จากวัตถุดิบที่ยั่งยืน โดยเฉพาะการใช้น้ำหมักและโยยอาหาร ซึ่งอาจเป็นส่วนผสมที่มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นอาหารใหม่ที่มีแหล่งของกรดไขมันสายสั้นและสารต้านอนุมูลอิสระ

Thinkohkaew, Aumphaiphensiri, et al. (2024) ได้ทำการการพัฒนาเม็ดปิดไฮโดรเจลจากอัลจิเนตและไคโตซานที่ผสมร่วมกับอินนูลินซึ่งสกัดจากรากโกโบ เพื่อใช้เป็นระบบการห่อหุ้มและควบคุมการปลดปล่อยโพรไบโอติก ผลการศึกษพบว่า การเติมอินนูลินช่วยเพิ่มความแข็งแรงเชิงกลและความหนาแน่นของโครงสร้างเม็ด ส่งผลให้โพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มมีความทนทานต่อสภาวะกรดและเกลือได้ดียิ่งขึ้น อีกทั้งอินนูลินยังทำหน้าที่เป็นพรีไบโอติกที่ช่วยเสริมการเจริญของโพรไบโอติกหลังการปลดปล่อย ในด้านจลพลศาสตร์การปลดปล่อย งานวิจัยนี้พบว่าพฤติกรรมการปลดปล่อยโพรไบโอติกสามารถอธิบายได้ด้วยแบบจำลอง Korsmeyer–Peppas และ Higuchi model โดยผลการวิเคราะห์ค่าดัชนีการแพร่ (n) จาก Korsmeyer–Peppas model ชี้ให้เห็นว่ากลไกการปลดปล่อยอยู่ในลักษณะการแพร่แบบ Fickian diffusion ร่วมกับการสลายตัวบางส่วนของเมทริกซ์พอลิเมอร์ (Anomalous transport) ซึ่งเป็นคุณลักษณะทั่วไปของระบบไฮโดรเจลที่มีการเชื่อมโยงระหว่างอัลจิเนต ไคโตซาน และอินนูลิน ดังแสดงในตารางที่ 6 ผลการทดลองนี้ชี้ให้เห็นว่า อินนูลินมีบทบาทสำคัญไม่เพียงในฐานะพรีไบโอติก แต่ยังส่งผลต่อคุณสมบัติการควบคุมการปลดปล่อยของโครงสร้างพอลิเมอร์ ทำให้โพรไบโอติกสามารถปลดปล่อยได้อย่างค่อยเป็นค่อยไปและตรงตำแหน่งเป้าหมายในลำไส้ ซึ่งช่วยเพิ่มศักยภาพของโพรไบโอติกในการออกฤทธิ์เชิงสุขภาพได้ดียิ่งขึ้น

ตารางที่ 6 แบบจำลองจลนศาสตร์ของเม็ดปิดโพรไบโอติก

Beads	Kinetic models					
	Zero-order	First-order	Higuchi	Korsmeyer-Peppas		
	R ²	R ²	R ²	R ²	k	n
Control bead	0.6519	0.5959	0.8003	0.8996	0.0838	0.4360
BR-Inu bead	0.7019	0.6371	0.8423	0.9245	0.0774	0.4563
S-Inu bead	0.7003	0.6363	0.8450	0.9330	0.0844	0.4306

Thinkohkaew, Jonjaroen, et al. (2024) ได้ทำการศึกษาการพัฒนาเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชันของโพรไบโอติกในเมทริกซ์อัลจินต/เจลแลนกันที่เคลือบด้วยไคโตซาน เพื่อเพิ่มความมีชีวิตรอดและความคงตัวของจุลินทรีย์ภายใต้สภาวะแวดล้อมที่เลียนแบบระบบทางเดินอาหาร ผลการวิจัยพบว่า การเคลือบผิวด้วยไคโตซานช่วยเสริมความแข็งแรงเชิงกลและลดการซึมผ่านของกรด ทำให้โพรไบโอติกมีอัตราการรอดชีวิตสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อผ่านการจำลองสภาวะกรดและเกลือ น้ำดี อีกทั้งยังช่วยชะลอการสูญเสียความมีชีวิตในระหว่างการเก็บรักษา ในส่วนของจลพลศาสตร์การปลดปล่อย การศึกษานี้ได้ประยุกต์ใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ เช่น Higuchi model และ Korsmeyer–Peppas เพื่ออธิบายรูปแบบและกลไกการปลดปล่อยของโพรไบโอติกจากเมทริกซ์ ผลการวิเคราะห์พบว่า ข้อมูลการปลดปล่อยสอดคล้องกับแบบจำลอง Korsmeyer–Peppas มากที่สุด โดยค่าดัชนีการแพร่ (n) ที่ได้อยู่ในช่วง 0.43–0.89 ซึ่งบ่งชี้ว่ากลไกการปลดปล่อยเป็นลักษณะ Anomalous transport หรือการควบคุมร่วมกันระหว่างการแพร่ (Fickian diffusion) และการสลายตัวของเมทริกซ์พอลิเมอร์ ดังแสดงในตารางที่ 7 ข้อค้นพบดังกล่าวชี้ให้เห็นว่า โครงสร้างพอลิเมอร์เชิงซ้อนที่ประกอบด้วยอัลจินต เจลแลนกัน และการเคลือบด้วยไคโตซาน ไม่เพียงทำหน้าที่เป็นเกราะป้องกันโพรไบโอติก แต่ยังสามารถควบคุมอัตราและกลไกการปลดปล่อยให้เหมาะสมกับการออกฤทธิ์ในตำแหน่งเป้าหมายของลำไส้ โดยการใช้จลพลศาสตร์ช่วยยืนยันบทบาทเชิงกลไกของระบบห่อหุ้มและทำให้สามารถคาดการณ์ประสิทธิภาพการส่งผ่านโพรไบโอติกได้

ตารางที่ 7 แบบจำลองจลนศาสตร์ของเม็ดบีดโพรไบโอติก

Samples	Kinetic models					
	Zero-order model	First-order model	Higuchi model	Korsmeyer–Peppas model		
	R ²	R ²	R ²	R ²	k	n
Alg–Ch	0.7128	0.6321	0.8551	0.9173	0.0879	0.4441
Alg–GG–Ch	0.7942	0.6927	0.9064	0.9411	0.0777	0.4603

Jing et al. (2022) ได้ศึกษาเกี่ยวกับการสังเคราะห์เม็ดบีดไฮโดรเจลโซเดียมอัลจินต/คาร์บอกซีเมทิลไคโตซาน (SA/CMCS) ที่ตอบสนองต่อค่า pH ซึ่งส่งเสริมด้วยพันธะไฮโดรเจน เพื่อใช้

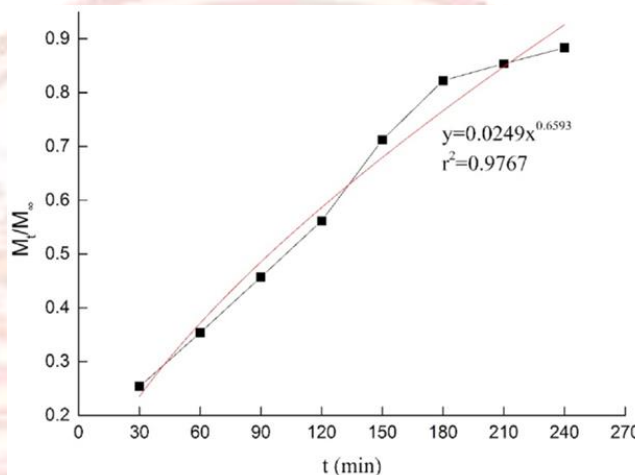
เป็นระบบนำส่งโปรตีนสำหรับการรับประทานทางปาก งานวิจัยนี้จะมุ่งเน้นไปที่การนำส่งโปรตีนแล็คโตเฟอร์ริน (Lactoferrin, LF) ซึ่งเป็นโปรตีนที่จับกับธาตุเหล็ก การศึกษาจลพลศาสตร์การปลดปล่อยของ LF จากไฮโดรเจล SA/CMCS ดำเนินการในสภาวะลำไส้เล็กจำลอง (SIF, pH 7.4) เพื่อหาแนวทางการปลดปล่อยที่ดีที่สุด โดยการปลดปล่อยใน SIF ได้ถูกนำมาวิเคราะห์โดยใช้แบบจำลองจลนศาสตร์ต่างๆ ได้แก่ แบบจำลองลำดับศูนย์ (Zero-order) แบบจำลองลำดับหนึ่ง (First-order) แบบจำลองฮิกูชิ (Higuchi) และแบบจำลองคอร์สมeyer-เปปปาส (Korsmeyer-Peppas) ซึ่งแบบจำลองที่เหมาะสมที่สุด คือ แบบจำลองจลนศาสตร์ลำดับหนึ่ง ถือเป็นแบบจำลองที่เหมาะสมที่สุด โดยมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สูงสุด ($R^2 > 0.9600$) แบบจำลองนี้อธิบายว่าปริมาณของยาที่ถูกปลดปล่อยออกมานั้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของยาในโครงข่ายพอลิเมอร์ และการวิเคราะห์กลไกการปลดปล่อยโดยใช้แบบจำลองคอร์สมeyer-เปปปาส พบว่าเม็ดบีด LF-loaded SA/CMCS ส่วนใหญ่ (S2C1, S1C1, S1C2) ค่าดัชนีการแพร่ (n) ที่คำนวณได้อยู่ระหว่าง 0.43 ถึง 0.85 ซึ่งบ่งชี้ว่าการปลดปล่อย LF นั้นเป็นไปตามกลไก non-Fickian กลไกนี้เกี่ยวข้องกับการรวมกันของการแพร่ การบวมตัว และการเสื่อมสลายของเม็ดบีด รวมถึงการเปลี่ยนแปลงของอันตรกิริยาทางไฟฟ้าสถิต ดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 แบบจำลองจลนศาสตร์ของเม็ดบีดไฮโดรเจลโซเดียมอัลจิเนต/คาร์บอกซีเมทิลไคโตซาน (SA/CMCS)

Sample	R ²				
	Zero-order	First-order	Higuchi	Korsmeyer-Peppas	n
S2C1	0.9686	0.9894	0.9962	0.9835	0.8183
S1C1	0.8914	0.9651	0.9693	0.9361	0.7184
S1C2	0.8319	0.9689	0.9397	0.9199	0.5814
S1C3	0.7589	0.9869	0.8941	0.9312	0.3267

ได้ทำการวิจัยเพื่อพัฒนาระบบนำส่งโดยใช้ไมโครเจลไฮโดรเจลอัลจิเนต/แคปปา-คาร์ราจีแนน (alginate/K-carrageenan) สำหรับการปลดปล่อยอิมมูโนโกลบูลินจากไข่แดง (Egg Yolk IgY) ภายใต้สภาวะทางเดินอาหารจำลอง ผลการศึกษาจลพลศาสตร์การปลดปล่อยของ IgY เป็นสิ่งสำคัญในการประเมินประสิทธิภาพของระบบนำส่งนี้ในการนำส่งโปรตีนไปยังลำไส้เล็ก เพื่อทำความเข้าใจกลไกการปลดปล่อย IgY จากเม็ดบีดไฮโดรเจลคอมโพสิตในสภาวะลำไส้เล็กจำลอง (SIF) ได้ทำการวิเคราะห์ข้อมูลการปลดปล่อยโดยใช้แบบจำลองจลนศาสตร์ทั่วไป 4 แบบจำลอง ได้แก่ แบบจำลองลำดับศูนย์

(Zero-order) แบบจำลองลำดับหนึ่ง (First-order) แบบจำลองฮิกูชิ (Higuchi) และแบบจำลองไรเกอร์-เปปปาส (Ritger-Peppas) ผลการทดลองพบว่า แบบจำลองจลนศาสตร์ที่เหมาะสมที่สุด คือแบบจำลอง Ritger-Peppas แบบจำลองนี้มีความเหมาะสมในการอธิบายข้อมูลการปลดปล่อยที่สูงกว่า (มีค่า R^2 สูงกว่า) เมื่อเม็ดบีดคอมโพสิตมีความเข้มข้นของแคปทา-คาร์ราจีแนน ตั้งแต่ 0.3% ขึ้นไป สมการที่เหมาะสมที่สุดคือ $M_t/M_\infty = 0.0249x^{0.6593}$ โดยมีค่า $R^2 = 0.9767$ ดังแสดงในภาพที่ 12



ภาพที่ 12 เส้นโค้งที่เหมาะสมของแบบจำลอง Ritger-Peppas สำหรับจลนพลศาสตร์การปลดปล่อยในหลอดทดลองของเม็ดบีดอัลจิเนต/แคปทา-คาร์ราจีแนน ที่บรรจุ IgY (1.5%/0.3%)

2.8. สิทธิบัตรและอนุสิทธิบัตรที่เกี่ยวข้อง

อนุสิทธิบัตรของ นางณัฐฉิณี อีรกุลกิตติพงศ์ นางสาวสุชาดา สุคนธานนท์ นางสาวสุทธสิริ อนันทวรรณ และนายณวัฒน์ เกตุสวัสดิวงศ์ ปี 2564 เรื่อง กรรมวิธีการผลิตไมโครแคปซูลของโพรไบโอติก เลขที่คำขอ1903001327 เริ่มจากการเลี้ยงโพรไบโอติกในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว (De Man Rogosa and Sharpe: MRS broth) จนได้เป็นสารแขวนลอย จากนั้นทำไมโครเอนแคปซูเลชัน (Microencapsulation) โดยเตรียมอิมัลชัน (Emulsion) เชิงซ้อนชนิดน้ำในน้ำมันในน้ำ ด้วยโซเดียมอัลจิเนต น้ำมัน ได้แก่ น้ำมันมะพร้าว หรือน้ำมันมะกอก และสารพอลิซอร์เบต 80 (polysorbate 80) แล้วนำเข้ากระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย ด้วยการนำใส่ในเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray dryer) จะได้ไมโครแคปซูล (Microcapsule) แห่งที่มีขนาด 10-300 ไมโครเมตร ซึ่งนำไปใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เวชสำอาง ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร หรือผลิตภัณฑ์สิ่งทอได้

อนุสิทธิบัตรของ ดร.อุทัยวรรณ วิทย์เกียรติ รศ.ดร.สุนีย์ นิธิสินประเสริฐ รศ.ดร.วิเชียร ลีลาวัชรมาศ และนางสาวอัจฉริยา นาคราช เลขที่คำขอ1703002099 ปี 2565 เรื่อง กรรมวิธีการผลิต

เครื่องต้มโปรไบโอติกส์จากมอลท์ข้าวไรซ์เบอร์รี่ การประดิษฐ์นี้เกี่ยวข้องกับ กรรมวิธีการผลิต เครื่องต้มโปรไบโอติกส์จากมอลท์ข้าวไรซ์เบอร์รี่มีขั้นตอนดังนี้ นำข้าวเปลือกไรซ์เบอร์รี่มาแช่น้ำ จากนั้นนำมาลดเวลาแช่น้ำเหลือ 6 ชั่วโมง สลับกับการสะเด็ดน้ำแล้วผึ่งไว้ 10 ชั่วโมง จนครบ 24 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาแช่ข้าวในน้ำ 2 ชั่วโมง สลับกับการสะเด็ดน้ำผึ่งไว้ 10 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาอบในตู้อบให้แห้ง จะได้เป็นข้าวไรซ์เบอร์รี่เพาะงอกอบแห้งแล้วจึงนำมาแยกรากกับยอดออกจากกัน ต่อมานำข้าวมอลท์ที่ได้มาต้มสกัดให้ได้สารสกัดข้าวมอลท์ไรซ์เบอร์รี่ แล้วจึงนำสารสกัดข้าวมอลท์ไรซ์เบอร์รี่ที่ได้มาเติมสารโปรไบโอติก แล้วหมักด้วยจุลินทรีย์โปรไบโอติกส์ที่เตรียมเป็นเซลล์ตรึง ได้ผลผลิตเป็นเครื่องต้มโปรไบโอติกส์จากมอลท์ข้าวไรซ์เบอร์รี่

อนุสิทธิบัตรของ ผศ.ดร. วิรัตน์ วาณิชศรีรัตนนา ผศ.ดร. วิรัตน์วาณิชศรีรัตนนา นางสาวติยะภรณ์ เหลืองพิพัฒน์ และ รศ.ดร. สาโรจน์ศรีคันสนียกุล เลขที่คำขอ 0603000466 ปี 2555 เรื่อง กรรมวิธีการผลิตกรดแลคติกด้วยระบบเซลล์ตรึง ประกอบด้วยการเตรียมสารแขวนลอยเซลล์แบคทีเรียกรดแลคติก การเตรียมเซลล์ตรึงแบคทีเรียกรดแลคติก เทคนิคการตรึงเซลล์แบบชนิดโครงข่ายอัลจิเนตและเยื่อแอลจิเนต และกรรมวิธีการผลิตกรดแลคติกด้วยกรรมวิธีการหมักแบบเบ็ดเสร็จในระดับฟลาสก์ หรือแบบเบ็ดเสร็จเวียนกลับน้ำหมักหรือแบบเบ็ดเสร็จเวียนกลับน้ำหมักซ้ำ หรือแบบต่อเนื่องเวียนกลับน้ำหมักในถังปฏิกรณ์แบบคอลัมน์บรรจุเซลล์ตรึงเยื่ออัลจิเนตโดยใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ *Lactococcus lactis* IO-1 TISTR 1401 เป็นต้นแบบของกรณีศึกษา โดยมีการควบคุมการหมักภายใต้สภาวะที่เหมาะสมที่สุดที่ได้ จากการออกแบบการทดลองด้วยวิธีทะกุกิ (Taguchi method)

อนุสิทธิบัตรของ รองศาสตราจารย์อภิรักษ์ เพียรมงคล และนางตรีอินดราริณี เวียร์ยันโตโร เลขที่คำขอ 1603002368 ปี 2564 เรื่อง กระบวนการผลิตอาหารเสริมจุลินทรีย์และผลิตภัณฑ์ เป็นกระบวนการสำหรับแปรรูปอาหารให้อยู่ในลักษณะของอาหารแปรรูปที่ซึ่งมีการเสริมเชื้อจุลินทรีย์ชนิดโปรไบโอติก โดยเฉพาะในกลุ่มของแลคติกแอซิด แบคทีเรีย ที่ซึ่งกระบวนการผลิตอาหารเสริมจุลินทรีย์ลักษณะหนึ่งที่เหมาะสมจัดให้ประกอบด้วยขั้นตอนการเตรียมเพื่อการปรับปรุงคุณภาพของอาหารก่อนเข้าสู่ขั้นตอนถัดไปและเตรียมสารละลายจุลินทรีย์เพื่อใช้ในการแทรกซึม สำหรับแทรกซึมเชื้อจุลินทรีย์เข้าสู่ภายในโครงสร้างของอาหาร การทำแห้งสำหรับลดความชื้นของอาหารเสริมเชื้อจุลินทรีย์หรืออย่างใดอย่างหนึ่งหรือร่วมกัน เพื่อให้ได้กระบวนการผลิตอาหารเสริมจุลินทรีย์และ

ผลิตภัณฑ์ที่มีระยะเวลาในกระบวนการที่ไม่นาน ประกอบด้วยกระบวนการในการเพิ่มคุณภาพของอาหาร อีกทั้งประยุกต์ใช้ได้อย่างกว้างขวางสำหรับผลิตภัณฑ์ที่แตกต่างกัน สำหรับผลิตภัณฑ์ได้นั้นจัดให้มีระยะเวลาในการเก็บรักษานาน มีรสสัมผัส รสชาติ สีส่นที่เป็นที่ต้องการของผู้บริโภค อีกทั้งมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่มีชีวิตชนิดโปรไบโอติกในปริมาณที่มากเพียงพอต่อการเป็นอาหารเพื่อสุขภาพได้

อนุสิทธิบัตรของ ออกัสติน ออง ซุน ฮ็อค และคณะ เลขที่คำขอ 1901004893 ปี 2566 เรื่อง เม็ดปิดแคลเซียมอัลจิเนตแบคทีเรียที่ถูกเคลือบไคโตซานสำหรับกำจัดแอมโมเนีย ในการบำบัดน้ำเสีย ด้วยการเติมจุลินทรีย์ ประกอบไปด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Ochrobactrum intermedium* และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* ถูกตรึงเอาไว้ในเม็ดปิดแคลเซียมอัลจิเนตที่เคลือบไคโตซาน ประกอบพร้อมด้วยขั้นตอนของการบำบัดการไหลเข้ามาของน้ำเสียทางชีวภาพนาน 5-8 ชั่วโมง ในเครื่องปฏิกรณ์ชีวภาพกระบวนการบำบัดน้ำเสียอาจจะประกอบพร้อมเพิ่มเติมด้วยขั้นตอนของการเลี้ยงมาก่อนของเม็ดปิดแคลเซียมอัลจิเนต แบคทีเรียที่เคลือบไคโตซานในการไหลเข้ามาของน้ำเสียนาน 6-12 ชั่วโมง กระบวนการบำบัดน้ำเสียอาจจะถูกนำไปใช้ภายใต้พารามิเตอร์ที่ถูกปรับให้เหมาะสมที่ซึ่งถึงปฏิกรณ์ชีวภาพถูกเติมด้วยการไหลเข้ามาของน้ำเสียใหม่ 65-75% โดยปริมาตร/ปริมาตร ที่ถูกเสริมด้วยแหล่งคาร์บอนทุก ๆ 2-4 ชั่วโมง ที่เติมอากาศด้วยเครื่องปั๊มอากาศและรักษาให้อยู่ที่อุณหภูมิเท่ากับ 30-40 องศาเซลเซียส

อนุสิทธิบัตรของ นายประมวล ทรายทอง นางวนิดา เทวฤทธิ์ ชิติสรณ์กุล และนางสาว พิศมัย ศรีชาเยช เลขที่คำขอ 2003001182 ปี 2566 เรื่อง ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มหมักจากน้ำทางกะทิ (Culture coconut whey by lactic acid bacteria) เสริมพรีไบโอติกและสารสกัดจากหม่อน (Mulberry extract) พร้อมทั้งกรรมวิธีการผลิตผลิตภัณฑ์ดังกล่าว มีส่วนประกอบ ดังนี้ น้ำทางกะทิหมัก น้ำตาลทราย สาร สเตบิลไลเซอร์ (Stabilizer) สารอิมัลซิไฟเออร์ (Emulsifier) กรดมะนาว (Citric acid) สารพรีไบโอติก และสารสกัดจากหม่อน โดยการเตรียมผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มหมักจาก น้ำทางกะทิเสริมพรีไบโอติกและสารสกัดจากหม่อน เตรียมดังนี้ เริ่มจากการเตรียมน้ำทางกะทิหมัก โดยนำน้ำทางกะทิมาเติมน้ำตาลทราย ต้มให้ความร้อน จากนั้นเติมตะกอนกะทิลงไป ต้มต่อแล้วทำให้เย็น แล้วจึงเติมกลัเชื้อโยเกิร์ตทางการค้า บ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16-18 ชั่วโมง จะได้เป็นน้ำทางกะทิหมัก แล้วนำน้ำทางกะทิหมักที่เตรียมได้ มาเติมน้ำหม่อนเข้มข้นที่มีความหวาน 35 บริกซ์ และน้ำตาลทราย จากนั้นเติมสาร สเตบิลไลเซอร์ (Stabilizer) สารอิมัลซิไฟเออร์ (Emulsifier) และกรดมะนาว (Citric acid) ลงไปผสมส่วนประกอบต่างๆ ให้เข้ากัน บรรจุลงในภาชนะบรรจุที่มีการเติมส่วนผสมของสารพรีไบโอติกไว้ที่ก้นภาชนะ

อนุสิทธิบัตรของ นางสาวสินีนานา ไทยบุญรอด นายวรายุทธ สะโงมแสง นางสาวภัทรพร โกนิล และนางสาวสุดคณิง สิงห์โต เลขที่คำขอ 1903001618 ปี 2566 เรื่อง กรรมวิธีการเตรียมเม็ดปิดรูปพรุนจากโซเดียมอัลจิเนต การประดิษฐ์นี้เกี่ยวข้องกับวิธีการเตรียมเม็ดปิดที่มีขนาดและปริมาณรูพรุนที่แตกต่างกันของ โซเดียมอัลจิเนตหรือพอลิไวนิลแอลกอฮอล์-โซเดียมอัลจิเนต ซึ่งมีลักษณะเฉพาะคือ วิธีการดังกล่าวประกอบด้วยขั้นตอน ก. เตรียมของผสมของสารละลายโซเดียมอัลจิเนตที่มีความเข้มข้นอยู่ในช่วงร้อยละ 1 ถึง 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และผงแคลเซียมคาร์บอเนตที่มีความเข้มข้นอยู่ในช่วงร้อยละ 0.1 ถึง 10 โดย น้ำหนักต่อปริมาตร ในตัวทำละลายที่เป็นน้ำ ข. หยดของผสมที่เตรียมจากขั้นตอน ก) ลงในสารละลายกรดที่มีความเข้มข้น 0.01 ถึง 2.0 โมลาร์ เพื่อให้เกิดเป็นเม็ดปิด ค. กวนเม็ดปิดที่ได้เป็นเวลา 1 ถึง 48 ชั่วโมง ง. แخذเม็ดปิดที่ได้จากขั้นตอน ค) ลงในสารละลายของแคลเซียมคลอไรด์ที่มีความเข้มข้นอยู่ในช่วงร้อยละ 1 ถึง 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และกรดบอริกที่มีความเข้มข้นอยู่ในช่วงร้อยละ 1 ถึง 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยเม็ดปิดที่ได้ตามการประดิษฐ์นี้ มีขนาดและปริมาณรูพรุนขนาดเล็กที่แตกต่างกัน ปรับใช้งานได้หลากหลาย ไม่เป็นพิษกับสิ่งแวดล้อม สามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ

อนุสิทธิบัตรของ นางสาวปาลิดา ตั้งอนุรัตน์ เลขที่คำขอ 1903003152 ปี 2565 เรื่อง สูตรเยลลี่กล้วยน้ำว้าพร้อมดื่มเสริมเม็ดปิดสโพรไบโอติก และกรรมวิธีการผลิต เม็ดปิดสโพรไบโอติกประกอบด้วยน้ำกล้วยน้ำว้า เม็ดปิดสโพรไบโอติก คาร์ราจีแนน (Carrageenan) ซึ่งมีกรรมวิธีการผลิตคือ การผลิตเม็ดปิดสโพรไบโอติก (Probiotic beads) ที่เสริมจุลินทรีย์สโพรไบโอติก 2 สายพันธุ์ คือ แบคทีเรียแลคโตบาซิลลัส แพลนทารัม (*Lactobacillus plantarum*) และแบคทีเรียเพดดิโอคอคคัส เพนโทซาเซียส (*Pediococcus pentosaceus*) ส่วนการเตรียมน้ำกล้วย โดยนำกล้วยน้ำว้าล้างทำความสะอาด นึ่งแล้วแช่ในน้ำแข็ง ปอกเปลือก นำไปบดให้ละเอียด บ่มในสภาวะที่เหมาะสม แช่น้ำเดือด แล้วกรองผ่านถุงกรองไนลอนได้น้ำกล้วย และผลิตเยลลี่กล้วย เสริมเม็ดปิดสโพรไบโอติกโดยนำกล้วยน้ำว้าสุกมาสกัดให้เป็นน้ำด้วยเอนไซม์ และนำมาทำให้อยู่ในรูปเยลลี่ พร้อมดื่มซึ่งมีการเสริมจุลินทรีย์กลุ่มสโพรไบโอติกโดยอาศัยเทคโนโลยีการห่อหุ้มเซลล์สโพรไบโอติกด้วยโซเดียมอัลจิเนตร่วมกับน้ำผลไม้

อนุสิทธิบัตรของ นางสาวกฤติยา เชื้อนเพชร นางสาวภัทริน พิชัยภูษิต นางสาวชริดา ภาคาทรัพย์ เลขที่คำขอ 2003001213 ปี 2567 เรื่อง สูตรและกรรมวิธีการผลิตเม็ดปิดน้ำผึ้งผสมมะนาวเสริมอินนูลินจากแก่นตะวันด้วยเทคนิครีเวิร์สสเฟียร์ฟิเคชัน การประดิษฐ์นี้เกี่ยวข้องกับสูตรและกรรมวิธีการผลิตเม็ดปิดน้ำผึ้งผสมมะนาวเสริมอินนูลินจากแก่นตะวันด้วยเทคนิครีเวิร์สสเฟียร์ฟิเคชันมีส่วนประกอบ คือ สารสกัดอินนูลินจากแก่นตะวัน น้ำผึ้งผสมมะนาว กรดแอสคอร์บิก แคลเซียมแลคเตท และแซนแทนกัม ขึ้นรูปทรงกลมโดยใช้เทคนิคทางวิทยาศาสตร์การปรุงอาหารโมเลกุลาร์แกสโตรโนมี (Molecular Gastronomy) โดยการใช้สารละลายโซเดียมอัลจิเนต และสารละลายแคลเซียม

แลคเตท บรรจุผลิตภัณฑ์ในขวดแก้วปิดผนึก และฆ่าเชื้อโดยการพาสเจอร์ไรซ์ เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ (อุณหภูมิแช่เย็น) เป็นผลิตภัณฑ์อาหารนวัตกรรมจากแก่นตะวัน สร้างความแปลกใหม่ทั้งรสชาติ และรูปลักษณ์ของผลิตภัณฑ์นอกจากนี้ ยังให้คุณค่าทางโภชนาการ มีคุณค่าเชิงฟังก์ชัน และมีสาร โภชนเภสัช

อนุสิทธิบัตรของ นายจิรจิต อินทร นางสาวเปรมนภา สีสภา นางสาวศรัณญา สอนมณี เลขที่คำขอ 2003000812 ปี 2566 เรื่อง เม็ดปิดอัลจินตที่มีสารสกัดน้ำมันฟักข้าว ซึ่งส่วนประกอบคือ โซเดียมอัลจินต สารสกัดน้ำมันฟักข้าว วิตามินซี วิตามินอี สารต้านออกซิเดชัน สารอิมัลซิไฟเออร์ สารกันเสีย แคลเซียมคลอไรด์ การนำสารสกัดน้ำมันฟักข้าว มาใช้ในการทำเม็ดปิดอัลจินต เพื่อเพิ่มความคงตัวและทำให้มี ลักษณะที่สวຍงามน่าใช้สำหรับการเป็นสารส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เป็นการเพิ่มมูลค่าให้ ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและสามารถนำไปใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์ได้

อนุสิทธิบัตรของ นางสาวอารยา รานอก นางสาวเพชรศรี ก้อนคำบา นางสาวพรนภา อามะโส และนางสาวชนิดา กุประดิษฐ์ เลขที่คำขอ 1803001429 ปี 2565 เรื่อง สูตรส่วนผสมสำหรับการผลิตสเปรดชาเขียว ซึ่งเสริมด้วยเม็ดปิดโพรไบโอติกและอินนูลิน สิ่งประดิษฐ์นี้มุ่งเน้นพัฒนาสูตรผลิตภัณฑ์สเปรดชาเขียวที่เสริมด้วยโพรไบโอติก แลคโตบาซิลลัส คาเซอี (*Lactobacillus casei*) และพรีไบโอติก (อินนูลิน) เพื่อเพิ่มคุณค่าทาง โภชนาการ โดยศึกษาปริมาณอินนูลิน การผลิตเม็ดปิดโพรไบโอติก และศึกษาการอยู่รอดของ ชื้อโพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มในเม็ดปิดในสภาวะจำลองระบบทางเดินอาหาร คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์ ผลการศึกษาพบว่า ปริมาณอินนูลินที่เหมาะสมคือ ร้อยละ 5 ผลการห่อหุ้มเชื้อแลคโตบาซิลลัส คาเซอี ด้วยวิธีพ่นฝอยด้วยความร้อน พบว่า เชื้อมีปริมาณลดลงภายหลังการพ่นฝอยแต่ยังคงมีประสิทธิภาพในการนำเสริมในผลิตภัณฑ์อาหาร ส่วนในสภาวะทางเดินอาหารจำลอง การอยู่รอดของโพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มมีปริมาณลดลงที่สภาวะน้ำย่อยกระเพาะอาหาร และจะเพิ่มขึ้นในสภาวะลำไส้จำลอง แต่อย่างไรก็ตามยังคงมีจำนวนมากกว่า 10^6 โคโลนีต่อกรัมตัวอย่าง ซึ่งเป็นจำนวนขั้นต่ำที่ยังคงมีประโยชน์ต่อสุขภาพ จากการศึกษาปริมาณ เปปไทด์และคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์ พบว่า ผลิตภัณฑ์สเปรดชาเขียวมีประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระได้ดีในสภาวะจำลองทางเดิน อาหารจำลองด้วยวิธีการต้านอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS) และคุณสมบัติการรีดิวซ์เหล็กเฟอริก (FRAP) ซึ่งมีค่าสูงสุดเท่ากับ 34.12 ± 1.26 และ 9.36 ± 0.02 มิลลิกรัมสมมูลโทรออกซ์ต่อกรัมตัวอย่างตามลำดับ จากการทดสอบนี้สรุปได้ว่า ผลิตภัณฑ์สเปรดชาเขียวสามารถที่จะพัฒนาเป็นอาหารฟังก์ชันซินไบโอติกและมีประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ

บทที่ 3

วิธีการทดลอง

3.1. โพรไบโอติก อาหารเลี้ยงเชื้อ และสารเคมี

3.1.1 เชื้อโพรไบโอติก *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (ปทุมธานี, ประเทศไทย) และ *Lactobacillus sporogenes* BC 208 จาก New Bellus Enterprises Co., LTD. ประเทศไต้หวัน

3.1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1.2.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ De Man's Sharpe and Rogosa Broth (MRS broth) (Sisco Research Laboratories Pvt. Ltd., India)

3.1.2.2 อาหารแข็งเลี้ยงเชื้อ De Man's Sharpe and Rogosa agar broth (MRS agar broth) (Sisco Research Laboratories Pvt. Ltd., India)

3.1.2.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (Hi-media, India)

3.1.2.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth (Hi-media, India)

3.1.3 สารเคมี

3.1.3.1 อัลจิเนต (Fuji Chemical Industry Co., Ltd, Japan)

3.1.3.2 ไคโตซาน (Zhejiang Golden-Shell Pharmaceutical Co., Ltd, China)

3.1.3.3 อินนูลิน (DP 14-17, Fuji Nihon Thai Inulin Co., Ltd., Thailand)

3.1.3.4 กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) (Quality Reagent Chemical, New Zealand)

3.1.3.5 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) (Elago Enterprises Pty Ltd., Australia)

3.1.3.6 กรดไฮโดรคลอริก (HCl) (Quality Reagent Chemical, New Zealand)

3.1.3.7 แคลเซียมคลอไรด์ (Sisco Research Laboratories Pvt. Ltd., India)

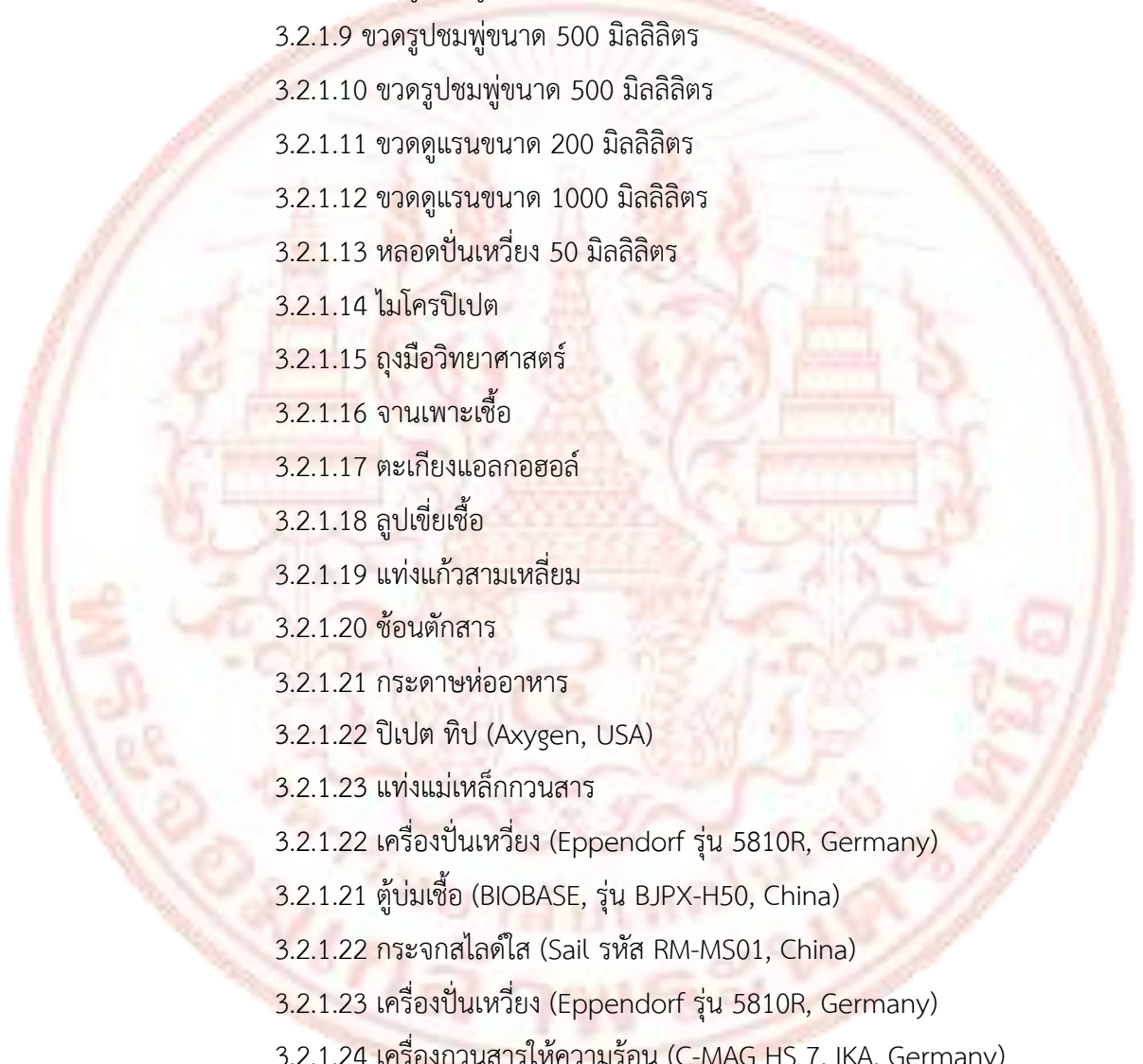
3.1.3.8 โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) (Quality Reagent Chemical, New Zealand)

- 3.1.3.8 โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) (KemAus™, Australia)
- 3.1.3.9 โซเดียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4) (KemAus™, Australia)
- 3.1.3.10 เอทานอล ($\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$) (RCI Labscan Limited, Thailand)
- 3.1.3.11 น้ำปราศจากไอออน (DI water)
- 3.1.3.12 Employing PrestoBlue™ Cell Viability Reagent (Thermo Fisher Scientific, MA, USA)
- 3.1.3.13 เพปซิน (Pepsin, ≥ 250 units/mg) (Sigma-Aldrich, USA)
- 3.1.2.14 เกลื่อน้ำดี (Bile salt) (Sigma-Aldrich, USA)
- 3.1.2.15 แพนครีเอติน (Pancreatin 8X) (Sigma-Aldrich, USA)
- 3.1.2.16 ไลเปส (Lipases, ≥ 700 unit/mg) (Sigma-Aldrich, USA)
- 3.1.2.17 ทริปซิน (Trypsin, $\geq 7,500$ unit/mg) (Sigma-Aldrich, USA)
- 3.1.2.18 Bovine serum albumin (BSA) (EMD Millipore, USA)
- 3.1.2.19 Folin & ciocalteu phenol reagent (Loba Chemie™, Loba Chemie Pvt. Ltd., Mumbai, India)
- 3.1.2.20 คอปเปอร์ (II) ซัลเฟต ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) (Ajax Finechem Pty Ltd., Australia)
- 3.1.2.21 โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) (Sisco Research Laboratories Pvt. Ltd, India)
- 3.1.2.22 กลูโคส (EMD Millipore, USA)
- 3.1.2.23 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., India)
- 3.1.2.24 โพแทสเซียมโซเดียมทาร์เทรต ($\text{C}_4\text{H}_4\text{KNaO}_6 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$) (Sisco Research Laboratories Pvt. Ltd, India)
- 3.1.2.25 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sisco Research Laboratories Pvt. Ltd, India)

3.2. อุปกรณ์และเครื่องมือการวิเคราะห์

3.2.1 อุปกรณ์

- 3.2.1.1 ปีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร
- 3.2.1.2 ปีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร
- 3.2.1.3 ปีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร

- 
- 3.2.1.4 ปีกเกอร์ขนาด 1000 มิลลิลิตร
 - 3.2.1.5 หลอดทดลอง
 - 3.2.1.6 แท่งแก้วคนสาร
 - 3.2.1.7 ขวดรูปชมพู่ขนาด 50 mL
 - 3.2.1.8 ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
 - 3.2.1.9 ขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร
 - 3.2.1.10 ขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร
 - 3.2.1.11 ขวดดูแรนขนาด 200 มิลลิลิตร
 - 3.2.1.12 ขวดดูแรนขนาด 1000 มิลลิลิตร
 - 3.2.1.13 หลอดปั่นเหวี่ยง 50 มิลลิลิตร
 - 3.2.1.14 ไมโครปิเปต
 - 3.2.1.15 ถังมือวิทยาศาสตร์
 - 3.2.1.16 จานเพาะเชื้อ
 - 3.2.1.17 ตะเกียงแอลกอฮอล์
 - 3.2.1.18 ลูบเซียเชื้อ
 - 3.2.1.19 แท่งแก้วสามเหลี่ยม
 - 3.2.1.20 ซ้อนตักสาร
 - 3.2.1.21 กระดาษห่ออาหาร
 - 3.2.1.22 ปิเปต ทิป (Axygen, USA)
 - 3.2.1.23 แท่งแม่เหล็กกวนสาร
 - 3.2.1.22 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Eppendorf รุ่น 5810R, Germany)
 - 3.2.1.21 ตู้บ่มเชื้อ (BIOBASE, รุ่น BJPX-H50, China)
 - 3.2.1.22 กระจกสไลด์ใส (Sail รหัส RM-MS01, China)
 - 3.2.1.23 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Eppendorf รุ่น 5810R, Germany)
 - 3.2.1.24 เครื่องกวนสารให้ความร้อน (C-MAG HS 7, IKA, Germany)
 - 3.2.1.25 เครื่องผลิตเม็ดบีดและแคปซูล (Buchi encapsulator B-390, Flawil, Switzerland)
 - 3.2.1.26 ถังปฏิกรณ์ชีวภาพ ขนาด 5 L (Eppendorf BioFlo 120, Germany)
 - 3.2.1.27 เครื่องนิ่งฆ่าเชื้อ (SH Scientific, SH-AC-60M, Korea)
 - 3.2.1.28 เครื่องเขย่าสาร (Vortex Mixer Genie 2, Scientific Industries, USA)

3.2.2 เครื่องมือการวิเคราะห์

3.2.2.1 Fourier transform infrared spectroscope (Tensor 27, Bruker, Germany)

3.2.2.2 Microplate reader (รุ่น AMR-100, Hangzhou Allsheng Instruments Co., Ltd.)

3.2.2.3 กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (BIOBASE, DM-300M, China)

3.2.2.4 โครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High performance liquid chromatography, HPLC) (Alltech ELSD 2000ES, USA)

3.3. วิธีการทดลอง

3.3.1 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้นของ *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129 และ *Lactobacillus sporogenes* BC 208

3.3.1.1 การเตรียมกล้าเชื้อของ *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129

การศึกษานี้ใช้เชื้อ *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129 เริ่มจากถ่ายเชื้อ 1 หลอด จาก stock culture ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปปั่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พร้อมเขย่าในตู้บ่มเชื้อที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.3.1.2 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้นของ *Lactobacillus sporogenes* BC 208

การศึกษานี้ใช้เชื้อ *Lactobacillus sporogenes* BC 208 เริ่มจากถ่ายเชื้อ 1 หลอด จาก stock culture ที่เลี้ยงบนอาหารแข็งลงในหลอดทดลองที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปปั่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พร้อมเขย่าในตู้บ่มเชื้อที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.3.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129 และ *Lactobacillus sporogenes* BC 208

3.3.2.1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129

จากการทดลอง 3.3.1.1 ถ่ายเชื้อจากเชื้อกล้าลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปปั่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พร้อมเขย่าในตู้บ่มเชื้อที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที วัดค่าเริ่มต้นที่เวลา 0 ชั่วโมง โดยการดูดสารละลายแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อมา 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดเก็บตัวอย่าง จากนั้นนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในทุก ๆ 5 ชั่วโมง จนถึงเวลาที่ 80 ชั่วโมง

3.3.2.2 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus sporogenes*

BC 208

จากวิธีทำ 3.3.1.2 ถ่ายเชื้อจากเชื้อกล้างในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พร้อมเขย่าในตู้บ่มเชื้อที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที วัดค่าเริ่มต้นที่เวลา 0 ชั่วโมง โดยการดูดสารละลายแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อมา 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดเก็บตัวอย่าง จากนั้นนำไปวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร ในทุก ๆ 5 ชั่วโมง จนถึงเวลาที่ 80 ชั่วโมง

3.3.3 การเตรียมถังปฏิกรณ์ชีวภาพชนิดถังกวนขนาด 5 ลิตร ของ *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129 และ *Lactobacillus sporogenes* BC 208

3.3.3.1 การเตรียมถังปฏิกรณ์ชีวภาพชนิดถังกวนขนาด 5 ลิตร ของ *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129

นำกล้าเชื้อจากการทดลอง 3.3.1.1 ถ่ายเชื้อจากเชื้อกล้างในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พร้อมเขย่าในตู้บ่มเชื้อที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที หลังจากนั้นถ่ายเชื้อจากเชื้อกล้างในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ปริมาตร 500 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พร้อมเขย่าในตู้บ่มเชื้อที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที เวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อปริมาตร 50 และ 500 มิลลิลิตร นำผลมาจากการทดลอง 3.3.2.1 ที่อยู่ในช่วง Mid-log phase แล้ววัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เท่ากับ 0.7 ซึ่งเป็นช่วงเวลาที่เซลล์ที่มีการเจริญเติบโตได้รวดเร็วและมีปริมาณสูง จะได้กล้าเชื้อ 10% ก่อนการเพาะเลี้ยงในถังหมัก ก่อนที่จะถ่ายเชื้อลงสู่ถังปฏิกรณ์ชีวภาพขนาด 5 ลิตร ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส และความเร็วรอบการกวนที่ 100 รอบต่อนาที ค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้ออยู่ที่ 6 ตลอดการทดลอง โดยใช้ระบบควบคุม pH อัตโนมัติ ซึ่งประกอบด้วยปั๊มท่อสารละลายกรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) ความเข้มข้น 3 โมลต่อลิตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 3.0 โมลต่อลิตร เก็บตัวอย่างน้ำหมักทุก ๆ 24 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์จลนพลศาสตร์ของการผลิตมวลเซลล์ จากนั้นนำน้ำหมักไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกส่วนใสที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันสายสั้น (Short chain fatty acid, SCFA) ส่วนมวลเซลล์ที่ได้จะนำไปผ่านกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drying) เพื่อใช้ในกระบวนการห่อหุ้มโปรไบโอติก

3.3.3.2 การเตรียมถังปฏิกรณ์ชีวภาพชนิดถังกวนขนาด 5 ลิตร ของ *Lactobacillus sporogenes* BC 208

นำกล้าเชื้อจากการทดลอง 3.3.1.2 ถ่ายเชื้อจากเชื้อกล้าลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ปริมาตร 50 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พร้อมเขย่าในตู้บ่มเชื้อที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที หลังจากนั้นถ่ายเชื้อจากเชื้อกล้าลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ปริมาตร 500 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พร้อมเขย่าในตู้บ่มเชื้อที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที เวลาที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อปริมาตร 50 และ 500 มิลลิลิตร นำผลมาจากการทดลอง 3.3.2.2 ที่อยู่ในช่วง Mid-log phase ซึ่งเป็นช่วงที่เซลล์ที่มีการเจริญเติบโตได้รวดเร็วและมีปริมาณสูง แล้ววัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เท่ากับ 0.4 จะได้กล้าเชื้อ 10% ก่อนการเพาะเลี้ยงในถังหมัก ก่อนที่จะถ่ายเชื้อลงสู่ถังปฏิกรณ์ชีวภาพขนาด 5 ลิตร ที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส และความเร็วรอบการกวนที่ 150 รอบต่อนาที ค่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้ออยู่ที่ 6.5 ตลอดการทดลอง โดยใช้ระบบควบคุม pH อัตโนมัติ ซึ่งประกอบด้วยปั๊มท่อสารละลาย กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) ความเข้มข้น 3 โมลต่อลิตร และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 3.0 โมลต่อลิตร เก็บตัวอย่างน้ำหมักทุก ๆ 24 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์เจแนลผลศาสตร์ของการผลิตมวลเซลล์ จากนั้นนำน้ำหมักไปปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกส่วนใสที่ ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันสายสั้น (Short chain fatty acid, SCFA) ส่วนมวลเซลล์ที่ได้จะนำไปผ่านกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drying) เพื่อใช้ในกระบวนการห่อหุ้มโปรไบโอติก

3.3.4 วิเคราะห์หาปริมาณกรดไขมันสายสั้น (Short fatty acid, SCFA)

3.3.4.1 การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันสายสั้นจากเชื้อ *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129 และ *Lactobacillus sporogenes* BC 208 ดำเนินการโดยใช้ส่วนของเหลวของน้ำหมักวันที่ 7 ปั่นเหวี่ยงเอาตะกอนออก แล้วกรองส่วนใสด้วย Syringe filter 0.22 ไมโครเมตร ตกตะกอนโปรตีนออกด้วย 99% เมทานอล อัตราส่วน 1 ต่อ 5 นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High performance liquid chromatography, HPLC) คอลัมน์ Rezex ROA-organic Acid H^+ (300x7.8 มิลลิเมตร) คอลัมน์อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เฟสเคลื่อนที่ 0.005 โมล กรดซัลฟิวริก การไหล 0.6 มิลลิลิตรต่อนาที เพื่อวัดปริมาณกรดไขมันสายสั้น 5 ชนิด ได้แก่ กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก กรดแลกติก กรดบิวทิริก และกรดฟอร์มิก

3.3.5 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำหมักจากการเพาะเลี้ยงโพรไบโอติก

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl (DPPH) assay โดยดัดแปลงวิธีของ Krishna et al. (2021) เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลต่อลิตรในเมทานอล 99 เปอร์เซ็นต์ การทดลองประกอบด้วยการเติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 100 ไมโครลิตรลงในแต่ละส่วน 100 ไมโครลิตรของ *B. bifidum* TISTR 2129 และ *L. sporogenes* BC 208 จากนั้นถ่ายไปยัง 96-well plate ตามด้วยการบ่มเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร (Molecular Devices, USA) คำนวณค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดังในสมการที่ 5 ดังต่อไปนี้

$$\text{Scavenging activity(\%)} = \frac{A_0}{1-(A_1 - A_2)} \quad (5)$$

โดยที่ A_0 คือค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุม (น้ำแทนตัวอย่าง) A_1 คือค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง และ A_2 คือค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างเพียงอย่างเดียว (น้ำแทน DPPH)

3.3.6 การห่อหุ้มโพรไบโอติก *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129 และ *Lactobacillus sporogenes* BC 208 ด้วยไบโอพอลิเมอร์

การห่อหุ้มโพรไบโอติกโดยใช้วิธีเอ็กทรูชัน (Extrusion method) ดัดแปลงวิธีการของ Thinkohkaew, Aumphaiphensiri, et al. (2024) เริ่มต้นด้วยการนำมวลเซลล์ *B. bifidum* TISTR 2129 และ *L. sporogenes* BC 208 จาก 3.3.3.1 และ 3.3.3.2 มาผสมกับอัลจิเนต อินนูลิน และเคลือบด้วยไคโตซาน โดยที่เชื้อเริ่มต้นทุกสูตรประมาณ $10 \log \text{CFU/mL}$ การทดลองแบ่งเป็น 4 สูตรดังนี้

1. ผสมมวลเซลล์ *B. bifidum* TISTR 2129 และ *L. sporogenes* BC 208 กับอัลจิเนต 2 เปอร์เซ็นต์ (A)
2. ผสมมวลเซลล์ *B. bifidum* TISTR 2129 และ *L. sporogenes* BC 208 กับอัลจิเนต 2 เปอร์เซ็นต์ และเคลือบด้วยไคโตซาน (AC)
3. ผสมมวลเซลล์ *B. bifidum* TISTR 2129 และ *L. sporogenes* BC 208 กับอัลจิเนต 2 เปอร์เซ็นต์ และอินนูลิน 3 เปอร์เซ็นต์ (AI)
4. ผสมมวลเซลล์ *B. bifidum* TISTR 2129 และ *L. sporogenes* BC 208 กับอัลจิเนต 2 เปอร์เซ็นต์ และอินนูลิน 3 เปอร์เซ็นต์ และเคลือบด้วยไคโตซาน (AIC)

ผสมส่วนผสมให้เป็นสารละลายเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำไปทำให้ปราศจากเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วเติมมวลเซลล์ *B. bifidum* TISTR 2129 และ *L. sporogenes*

BC 208 ที่ผ่านกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drying) แล้วนำไปห่อหุ้มด้วยเทคนิค เอ็กซ์ทรูชัน (Extrusion) โดยใช้เครื่องผลิตเม็ดบีดและแคปซูล (Buchi encapsulator B-390, Flawil, Switzerland) หัวฉีดขนาด 450 ไมโครเมตร ความถี่ 1000 เฮิร์ตซ์ ศักย์ไฟฟ้าที่ขั้วอิเล็กโทรด 1,000 โวลต์ และความดัน 600 บาร์ ปลอ่ยให้เกิดการเชื่อมขวางพันธะ (Cross-linking) กับแคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) เข้มข้น 0.1 โมลต่อลิตร เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นปราศจากเชื้อ แล้วนำไปเคลือบด้วยสารละลายไคโตซานเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาที จะได้เป็นอัลจินेटที่เคลือบด้วยไคโตซาน (AC) และอัลจินेटผสมอินนูลินที่เคลือบด้วยไคโตซาน (AIC)

3.3.7 การศึกษาโครงสร้างทางเคมีของไมโครแคปซูล

เทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโตรสโคปี (Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FTIR) เพื่อยืนยันโครงสร้างทางเคมีของไบโอพอลิเมอร์อัลจินेट อินนูลิน และเคลือบไคโตซาน ก่อนห่อหุ้มและหลังห่อหุ้ม สเปกตรัมอินฟราเรดถูกบันทึกจาก 400 cm^{-1} ถึง 4000 cm^{-1}

3.3.8 ประสิทธิภาพการห่อหุ้มโพรไบโอติก

ไมโครแคปซูลจากการห่อหุ้มที่ยังไม่ผ่านกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง แบ่งเป็น 4 กลุ่มทดลอง ได้แก่ A, AC, AI และ AIC ที่ปราศจากเชื้อ 9 มิลลิลิตร ผสมกับไมโครแคปซูล 1 กรัม จากนั้นทำการสลายไมโครแคปซูลโดยใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer saline, PBS) ที่มีค่า pH 6 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ที่ปราศจากเชื้อเพื่อให้ได้จำนวนเซลล์ที่นับได้ จากนั้นการทำให้เชื้อกระจายในจานเพาะเชื้อ (Spread plate) บนอาหาร MRS agar เซลล์ที่มีชีวิตจะถูกนับหลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสถานะที่ไม่มีออกซิเจนเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ดังสมการที่ 6 ต่อไปนี้ โดย Fareez et al. (2015) ใช้เพื่อคำนวณประสิทธิภาพการห่อหุ้ม

$$\text{ประสิทธิภาพการห่อหุ้มโพรไบโอติก (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{จำนวนเซลล์ในไมโครแคปซูล}}{\text{จำนวนเซลล์เริ่มต้น}} \times 100 \quad (6)$$

3.3.9 การวัดดัชนีการบวมของเม็ดบีด

พฤติกรรมการบวมของเม็ดบีดภายใต้การจำลองการย่อยอาหารในระบบทางเดินอาหาร ดัดแปลงวิธีการทดลองจาก Gbassi et al. (2011) เริ่มต้นด้วยการแช่เม็ดบีด 1 กรัมลงในสารละลายจำลองน้ำย่อยในกระเพาะอาหาร (Simulated gastric fluid, SGF) ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่ปรับค่า pH เป็น 3 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 1 โมลต่อลิตร และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส กวนอย่างต่อเนื่องที่ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากการจำลองสภาวะกระเพาะอาหาร เม็ดบีดนำไปใส่ในสารละลายจำลองน้ำย่อยในลำไส้ ค่า pH ของสารละลายถูกปรับให้เป็น 7 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลต่อลิตร ส่วนผสมบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส กวนผสมอย่างต่อเนื่องที่ 100 รอบต่อนาที และบ่มอีก 8 ชั่วโมง ในช่วงเวลาที่กำหนดเม็ดบีดที่บวมถูก

นำออกมาและเช็ดด้วยกระดาษกรองอย่างระมัดระวังเพื่อขจัดความชื้นส่วนเกินบนผิวหน้าก่อนการชั่งน้ำหนัก ดัชนีการบวม (Swelling index, SI) ถูกกำหนดโดยการคำนวณการเพิ่มขึ้นของน้ำหนัก โดยใช้สมการที่ 7 ดังต่อไปนี้

$$\text{ดัชนีการบวม (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{\text{น้ำหนักสุดท้าย} - \text{น้ำหนักเริ่มต้น}}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น}} \times 100 \quad (7)$$

3.3.10 การศึกษาการปลดปล่อยโพรไบโอติกภายใต้การย่อยอาหารในระบบทางเดินอาหารในหลอดทดลอง

การย่อยอาหารในระบบทางเดินอาหารในหลอดทดลอง ดำเนินการตามวิธีการ INFOGEST ของ Brodkorb et al. (2019) โดยมีการปรับเปลี่ยนเล็กน้อยให้เหมาะสมกับสถานะการทดลอง กระบวนการย่อยประกอบด้วยสามระยะที่ต่อเนื่องกัน ได้แก่ ระยะในช่องปาก ระยะในกระเพาะอาหาร และระยะในลำไส้ โดยใช้สารละลายจำลองน้ำลาย (Simulated salivary fluid, SSF) สารละลายจำลองน้ำย่อยในกระเพาะอาหาร (Simulated gastric fluid, SGF) และสารละลายจำลองน้ำย่อยในลำไส้ (Simulated intestinal fluid, SIF) ตามลำดับ สำหรับระยะในช่องปาก ตัวอย่าง 4 สูตร ได้แก่ A AC AI และ AIC ปริมาณ 1 กรัม ผสมกับ SSF ในอัตราส่วนน้ำหนัก 1:1 จากนั้นเติม CaCl_2 ความเข้มข้น 0.3 โมล และเอนไซม์อะไมเลส มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 75 หน่วยต่อมิลลิลิตร ค่า pH ของสารละลายปรับให้เป็น 7 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลต่อลิตร ส่วนผสมจึงบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส กวนผสมอย่างต่อเนื่องที่ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 นาที ระยะในกระเพาะอาหารเริ่มต้นด้วยสารละลาย SGF ที่มีเอนไซม์เปปซินที่มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 2,000 หน่วยต่อมิลลิลิตร และแกสทริกไลเปส (Gastric lipase) ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 60 หน่วยต่อมิลลิลิตร ปรับค่า pH ให้เป็น 3 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 1 โมลต่อลิตร และส่วนผสมที่บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส กวนผสมที่ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อจำลองสถานะในกระเพาะอาหาร ระยะในลำไส้ดำเนินการโดยการให้ SIF ที่มีน้ำดี (Bile extract) ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ และแพนครีเอติน (Pancreatin) มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 100 หน่วยต่อมิลลิลิตร ปรับค่า pH ให้เป็น 7 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลต่อลิตร และกวนผสมที่ 100 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง เพื่อจำลองการย่อยอาหารในลำไส้ เมื่อกระบวนการย่อยในแต่ละระยะเสร็จสิ้น ตัวอย่างจะถูกเก็บเพื่อทำการวิเคราะห์ จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตทั้งหมดที่ปลดปล่อยออกมานับและแสดงเป็นหน่วยโคโลนีก่อตัวต่อมิลลิลิตร (Colony-forming units per millilitre; CFU/mL)

3.3.11 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเม็ดปิดห่อหุ้มโพรไบโอติก

การศึกษาจลนพลศาสตร์การปลดปล่อยของโพรไบโอติกที่ห่อหุ้มในหลอดทดลองตามโปรโตคอล INFOGEST ในระยะช่องปาก กระเพาะอาหาร และระยะลำไส้ เก็บตัวอย่างในช่วงเวลาต่าง ๆ ตามวิธีทำใน 3.3.9 การปลดปล่อยในหลอดทดลองวิเคราะห์โดยใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์หลายแบบ ได้แก่ แบบจำลองอันดับศูนย์ (Zero-order) แบบจำลองอันดับหนึ่ง (First-order) แบบจำลองฮิกูจิ (Higuchi) และแบบจำลองคอร์สไมเยอร์-เปปปาส (Korsmeyer–Peppas) เพื่อศึกษากลไกการแพร่ของเม็ดปิด โดย M_t และ M_∞ แทนปริมาณของเม็ดปิดที่ปลดปล่อยออกมาในช่วงเวลาใดเวลาหนึ่ง และปริมาณที่ปลดปล่อยได้สูงสุดเมื่อถึงภาวะสมดุลตามลำดับ แบบจำลองที่เหมาะสมที่สุดได้ถูกเลือกโดยการประเมินค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (R^2) (Jing et al., 2022; Thinkohkaew, Jonjaroen, et al., 2024) โดยใช้สมการดังต่อไปนี้

$$\text{แบบจำลองอันดับศูนย์ (Zero-order):} \quad M_t/M_\infty = kt \quad (1)$$

$$\text{แบบจำลองอันดับหนึ่ง (First-order):} \quad M_t/M_\infty = 1 - e^{-kt} \quad (2)$$

$$\text{แบบจำลองฮิกูจิ (Higuchi):} \quad M_t/M_\infty = kt^{1/2} \quad (3)$$

$$\text{แบบจำลองคอร์สไมเยอร์-เปปปาส (Korsmeyer–Peppas):} \quad M_t/M_\infty = kt^n \quad (4)$$

3.3.12 ความเป็นพิษต่อเซลล์เยื่อบุลำไส้ Caco-2

ความเป็นพิษต่อเซลล์ของอัลจินेट 2 เปอร์เซ็นต์ และอินนูลิน 3 เปอร์เซ็นต์ สารละลายไคโตซาน 0.4 เปอร์เซ็นต์ 0.1 โมลต่อลิตร แคลเซียมคลอไรด์ (CaCl_2) และตัวอย่างของสูตร A, AC, AI และ AIC ที่ผ่านการจำลองกระบวนการย่อยอาหารในหลอดทดลองแล้ว ทดสอบโดยใช้เซลล์สายพันธุ์ Caco-2 ตามมาตรฐาน ISO 10993-5 (2009) โดยใช้ PrestoBlue™ Cell Viability Reagent (Thermo Fisher Scientific, MA, USA) ละลายตัวอย่างในอาหารเลี้ยงเชื้อ DMEM และกรองด้วยตัวกรอง 0.22 ไมโครเมตร เพาะเลี้ยงเซลล์ที่ 6×10^3 เซลล์/หลุม ในไมโครไทเตอร์เพลต 96 หลุม จากนั้นจึงเปลี่ยนอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยสารละลายตัวอย่าง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีตัวอย่างทำหน้าที่เป็นตัวควบคุมเชิงบวก หลังจากระยะเวลาบ่มเพิ่มเติม 24 ชั่วโมง จึงเติม PrestoBlue (PB) reagent (10 ไมโครลิตร) ลงในหลุม และวัดการเปลี่ยนแปลงความมีชีวิตของเซลล์โดยใช้เครื่องอ่านไมโครเพลตที่ความยาวคลื่น 570 และ 600 นาโนเมตรหลังจากผ่านไป 3 ชั่วโมง

3.3.13 ความสามารถในการจับไขมันของเม็ดปิดภายใต้การย่อยอาหารในระบบทางเดินอาหารในหลอดทดลอง

การทดลองนี้ศึกษาการจับไขมันของเม็ดปิดห่อหุ้มโพรไบโอติก ได้แก่ A, AC, AI และ AIC โดยเลียนแบบการย่อยอาหารในระบบทางเดินอาหารในหลอดทดลอง ดำเนินการตามโปรโตคอล INFOGEST ของ Brodtkorb et al. (2019) เม็ดปิดแต่ละสูตรในปริมาณ 1 กรัมถูกนำไปผสมกับน้ำมันชนิดต่าง ๆ ซึ่งได้แก่ น้ำมันปาล์ม น้ำมันหมู น้ำมันดอกทานตะวัน และน้ำมันถั่วเหลือง โดยใช้อัตราส่วนเม็ดปิดต่อน้ำมันเท่ากับ 1:40 (กรัมต่อกรัม) ผสมกับของเหลวจำลองในกระเพาะอาหาร

(SGF) ที่มีเอนไซม์เปปซินที่มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 2,000 หน่วยต่อมิลลิลิตร และแกสทริกไลเปส (Gastric lipase) ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 60 หน่วยต่อมิลลิลิตร ปรับค่า pH ให้เป็น 3 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 1 โมลต่อลิตร และส่วนผสมบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส กวนผสมที่ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อจำลองสภาวะในกระเพาะอาหาร ต่อมาเติมสารละลายจำลองน้ำย่อยในลำไส้ (SIF) ที่มีน้ำดี (Bile extract) ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลา และแพนครีเอติน (Pancreatin) มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 100 หน่วยต่อมิลลิลิตร ปรับค่า pH ให้เป็น 7 ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลต่อลิตร และกวนผสมที่ 100 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำตะกอนที่ได้มากรองในกรวยกรองบุคเนอร์ภายใต้สภาวะสุญญากาศ น้ำมันที่กักเก็บอยู่ในเม็บบิดสกัดด้วยเอทิลอีเทอร์ปริมาตร 20 มิลลิลิตร แล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อขจัดตัวทำละลายที่ตกค้าง จากนั้นทำการวัดน้ำหนักของน้ำมันที่กักเก็บอยู่ในเม็บบิดด้วยวิธีการชั่งน้ำหนักตามวิธีของ Silva et al. (2021) ผลการจับไขมันแสดงในหน่วยกรัมไขมันต่อกรัมเม็บบิด ดังแสดงสมการที่ 8

$$\text{ความสามารถในการจับไขมัน (กรัม ไขมัน/กรัม เม็บบิด)} = \frac{\text{น้ำหนักของไขมันที่จับได้ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักของเม็บบิดเริ่มต้น (กรัม)}} \times 100 \quad (8)$$

3.3.14 การศึกษาอายุการเก็บรักษาในสภาวะเร่ง (Accelerated Shelf-Life Testing, ASLT)

การศึกษาการประเมินความมีชีวิตของเซลล์ที่ผ่านกระบวนการห่อหุ้มและทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dry) เพื่อใช้ในการวิเคราะห์อายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ โดยดำเนินการจัดเก็บเม็บบิดแต่ละสูตรไว้ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ ได้แก่ 4, 25 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 28 วัน และทำการสุ่มตัวอย่างเพื่อตรวจสอบจำนวนโพโรไบโอติกทุก ๆ 7 วัน แล้วทำการเจือจางตัวอย่าง (Series dilution) จากนั้นเพาะเลี้ยงจานเพาะเชื้อที่มีฐาน MRS นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง หลังจากนั้น ทำการนับจำนวนหน่วยก่อโคโลนี (Colony Forming Units, CFU) ที่เจริญบนจานเพาะเชื้อแต่ละจาน เพื่อประเมินอัตราการรอดชีวิตของเซลล์ในแต่ละช่วงเวลา การเก็บรักษา การหาอายุการเก็บรักษาใช้หลักการของ Accelerated Shelf-Life Testing (ASLT) ซึ่งเป็นการศึกษาในสภาวะเร่ง การคำนวณจลนพลศาสตร์ปฏิกิริยาต่อไปนี้จะถูกใช้ในการกำหนดอายุการเก็บรักษา โดยที่ N_0 หรือ $\ln N_0$ คือจำนวนเซลล์โพโรไบโอติกในวันที่ 0 และ N_t หรือ $\ln N_t$ คือขีดจำกัดวิกฤตของจำนวนเซลล์โพโรไบโอติกทั้งหมด ($6 \log \text{CFU/ml}$) k คือค่าคงที่อัตราปฏิกิริยาที่อุณหภูมิใดอุณหภูมิหนึ่งและ T_s คือ อายุการเก็บรักษาที่คำนวณได้ (วัน) ดังแสดงในสมการที่ 9 และ 10 (Jannah et al., 2022)

แบบจำลองอันดับศูนย์ (Zero-order): $T_s = (N_0 - N_t)/k \quad (9)$

แบบจำลองอันดับหนึ่ง (First-order): $T_s = (\ln N_0 - \ln N_t)/k \quad (10)$

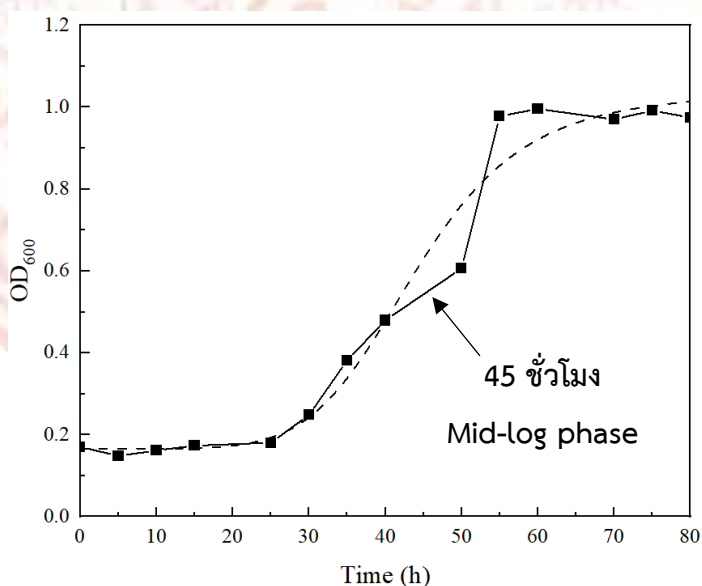
บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1. ผลการศึกษาการเจริญเติบโตของ *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129 และ *Lactobacillus sporogenes* BC 208

4.1.1 การศึกษาการเจริญเติบโตของ *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129

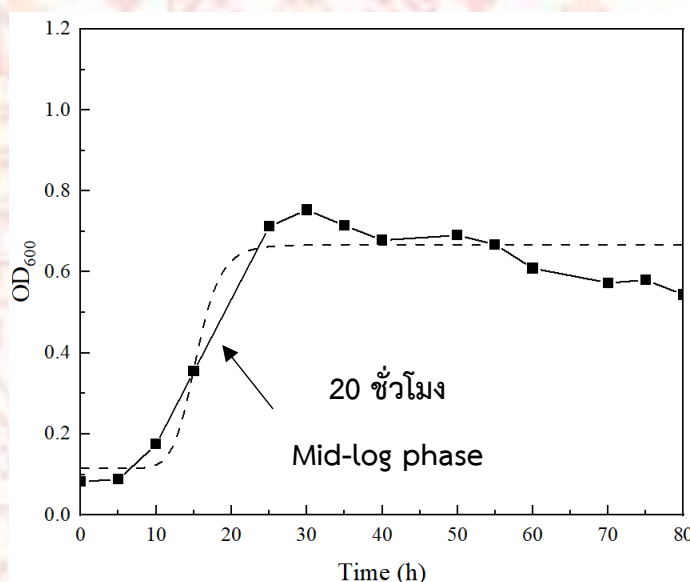
การเจริญเติบโตของเชื้อ *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129 แสดงให้เห็นว่าในช่วง 0-25 ชั่วโมงแรก เชื้อมีการเจริญเติบโตช้าและค่าการดูดกลืนแสง (OD_{600}) คงที่ประมาณ 0.2 ซึ่งเป็นระยะปรับตัว (Lag phase) หลังจากนั้นในช่วง 25-40 ชั่วโมง เชื้อเริ่มมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ โดยค่าการดูดกลืนแสง เพิ่มขึ้นจาก 0.2 เป็น 0.4 ที่เวลา 45 ชั่วโมง เชื้อเข้าสู่ระยะ Mid-log phase เนื่องจากในช่วง Mid-log phase เชื้ออยู่ในภาวะที่มีการแบ่งเซลล์อย่างต่อเนื่องและมีอัตราการสังเคราะห์สารชีวโมเลกุล เช่น โปรตีน กรดนิวคลีอิก และเอนไซม์ อยู่ในระดับสูง ส่งผลให้เกิดการสะสมชีวมวลอย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพสูงสุด โดยค่าการดูดกลืนแสง เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนจาก 0.4 เป็น 1.0 ในช่วงเวลา 40-60 ชั่วโมง หลังจาก 60 ชั่วโมงเป็นต้นไป การเจริญเติบโตของเชื้อเข้าสู่ระยะคงที่ (Stationary phase) โดยค่าการดูดกลืนแสงคงที่ประมาณ 1.0 จนถึงชั่วโมงที่ 80 โดยจุดที่เหมาะสมสำหรับการผลิตในระดับอุตสาหกรรมที่ระยะ Mid-log phase ที่เวลา 45 ชั่วโมง



ภาพที่ 13 ระยะการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129 โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (OD_{600}) เทียบกับเวลา (ชั่วโมง)

4.1.2 การศึกษาการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus sporogenes* BC 208

การเจริญเติบโตของเชื้อ *Lactobacillus sporogenes* BC 208 แสดงให้เห็นว่าในช่วง 0-5 ชั่วโมงแรก เชื้อมีการเจริญเติบโตช้า โดยค่าการดูดกลืนแสง (OD_{600}) คงที่ประมาณ 0.1 ซึ่งเป็นระยะปรับตัว (Lag phase) หลังจากนั้นเชื้อเริ่มมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วในช่วง 10-30 ชั่วโมง โดยค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นจาก 0.1 เป็น 0.7 เป็นระยะเพิ่มจำนวน (Exponential phase) และพบว่าที่เวลา 20 ชั่วโมง เข้าสู่ระยะ Mid-log phase ซึ่งเป็นระยะเวลาที่เซลล์มีการเจริญเติบโตได้อย่างทวีคูณ หลังจาก 30 ชั่วโมง เชื้อเข้าสู่ระยะคงที่และเริ่มตาย (Stationary phase) โดยค่าการดูดกลืนแสงลดลงจาก 0.7 เป็น 0.55 ที่ 80 ชั่วโมง โดยจุดที่เหมาะสมสำหรับการผลิตในระดับอุตสาหกรรมที่ระยะ Mid-log phase ที่เวลา 20 ชั่วโมง

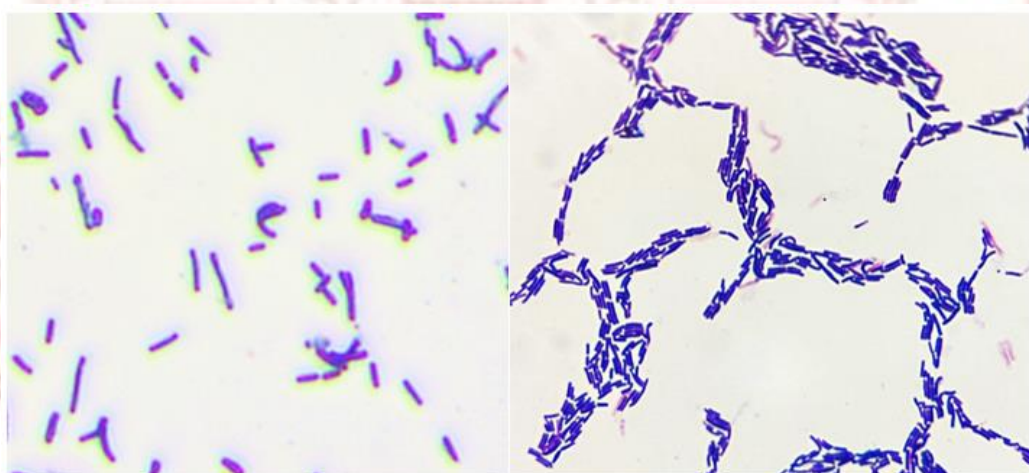


ภาพที่ 14 ระยะการเจริญเติบโตของเชื้อ *Lactobacillus sporogenes* BC 208 โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (OD_{600}) เทียบกับเวลา (ชั่วโมง)

4.2. จลนพลศาสตร์ผลผลิตของ *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129 และ *Lactobacillus sporogenes* BC 208

การศึกษาลักษณะพื้นฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์ของ *B. bifidum* TISTR 2129 และ *L. sporogenes* BC 208 แสดงให้เห็นความแตกต่างทางสัณฐานวิทยาที่ชัดเจนระหว่างเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ ดังแสดงในภาพที่ 15 *B. bifidum* TISTR 2129 ปรากฏเป็นเซลล์รูปแท่ง (Rod-shaped cells) โดยบางส่วนแสดงลักษณะการแตกแขนงที่เป็นเอกลักษณ์ (ภาพที่ 15ก) ในขณะที่ *L. sporogenes* BC 208 แสดงลักษณะสัณฐานรูปแท่งทั่วไปโดยไม่มีการแตกแขนง (ภาพที่ 15ข) ข้อสังเกตเหล่านี้สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่อธิบายโครงสร้างเซลล์ของบิฟิโดแบคทีเรียและแลคโตบาซิลลัส

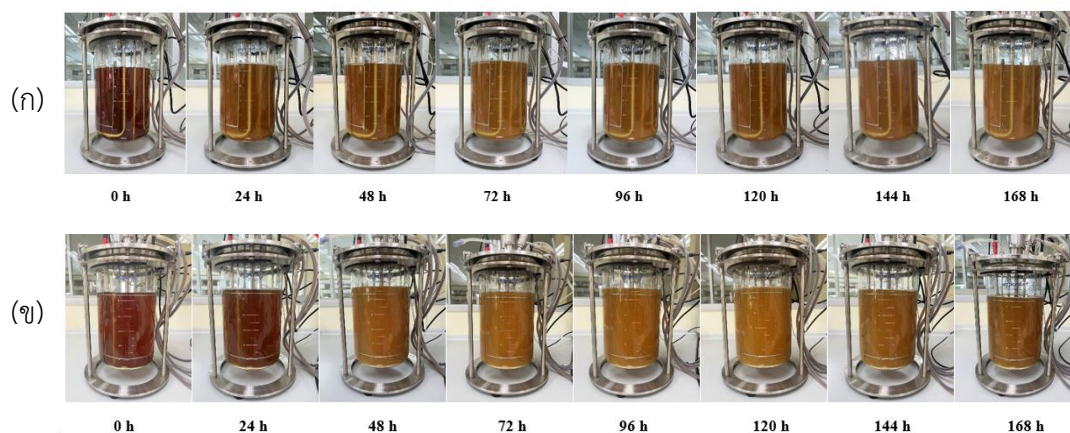
(Almjalawi & Al Sa'ady, 2023; Padmavathi et al., 2018) ลักษณะของน้ำหมักในถังปฏิกรณ์ชีวภาพดังแสดงในภาพที่ 16 แสดงให้เห็นความแตกต่างอย่างชัดเจนในความขุ่นและการพัฒนาสีระหว่างจุลินทรีย์โพรไบโอติกทั้งสองสายพันธุ์ โดย *B. bifidum* TISTR 2129 (ภาพที่ 16ก) ความขุ่นเพิ่มขึ้นตั้งแต่ช่วง 24 ชั่วโมงแรกของกระบวนการหมัก ในขณะที่น้ำหมักที่เพาะเลี้ยงด้วย *L. sporogenes* BC 208 (ภาพที่ 16ข) แสดงความขุ่นที่สังเกตเห็นได้เริ่มต้นที่ 48 ชั่วโมง การเพาะเลี้ยง *B. bifidum* TISTR 2129 ที่ค่า pH 6.0 และความเร็วในการกวน 100 รอบต่อนาที ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตแบบไร้ออกซิเจน ความเร็วในการกวนที่ลดลงอาจเป็นเพราะต้องการจำกัดการถ่ายเทออกซิเจน จึงสร้างสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการเมแทบอลิซึมแบบไร้ออกซิเจน (Anaerobic metabolism) *L. sporogenes* BC 208 หมักที่ค่า pH สูงกว่าที่ 6.5 และความเร็วในการกวน 150 รอบต่อนาที เชื้อต่อจุลินทรีย์กลุ่มที่สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน (Facultative anaerobes) นอกจากนี้ระยะพักตัว (Lag phase) ที่เป็นลักษณะเฉพาะของ *B. bifidum* TISTR 2129 ภายใต้สภาวะที่เหมาะสมอาจอธิบายถึงการเจริญเติบโตแบบทวีคูณในระยะแรกเมื่อเทียบกับ *L. sporogenes* BC 208 ซึ่งมีระยะพักตัวที่ยาวนานกว่าอันเป็นส่วนหนึ่งของกระบวนการงอกของสปอร์ (Hyronimus et al., 2000)



(ก)

(ข)

ภาพที่ 15 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์ (กำลังขยาย 100x) แสดงลักษณะของโพรไบโอติก (ก) *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129 และ (ข) *Lactobacillus sporogenes* BC 208



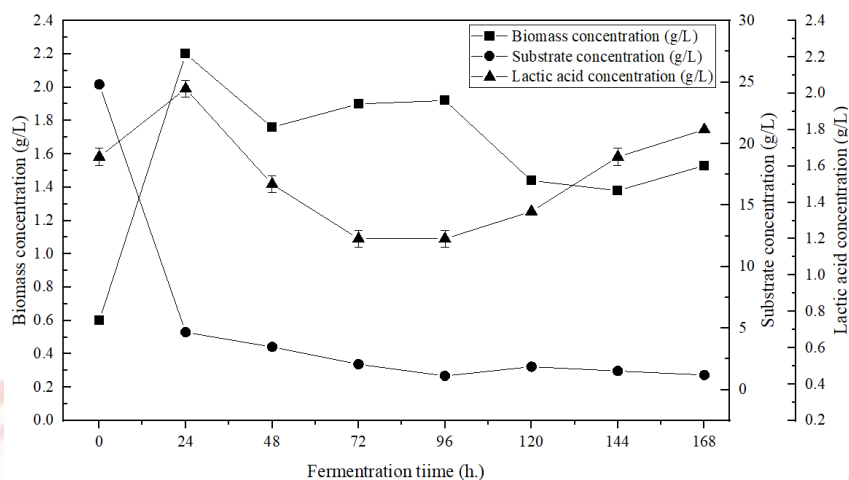
ภาพที่ 16 ลักษณะของน้ำหมักในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (ก) *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129 และ (ข) *Lactobacillus sporogenes* BC 208 ตลอดระยะเวลา 168 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

พฤติกรรมจลนศาสตร์ของ *B. bifidum* TISTR 2129 และ *L. sporogenes* BC 208 ระหว่างการหมักวิเคราะห์ผ่านความเข้มข้นของมวลชีวภาพ การใช้น้ำตาลกลูโคส และการผลิตกรดแลกติก ร่วมกับพารามิเตอร์ทางจลนศาสตร์ที่สรุปไว้ในตารางที่ 9 *B. bifidum* TISTR 2129 (ภาพที่ 17ก) มีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วของความเข้มข้นมวลชีวภาพในช่วง 24 ชั่วโมงแรก โดยสูงสุดที่ 2.20 กรัม/ลิตร ซึ่งสอดคล้องกับค่าผลผลิตมวลชีวภาพที่เพิ่มขึ้น ($Y_{x/s}$ เท่ากับ 0.039 กรัมเซลล์/กรัมกลูโคส) และอัตราการผลิตมวลเซลล์ (0.006 กรัม/ลิตร/ชั่วโมง) แม้จะมีอัตราการเจริญเติบโตเฉพาะสูงสุดที่ลดลง ($\mu_{max} = 0.005 \text{ h}^{-1}$) ค่า K_s ที่ต่ำ (7.19 กรัม/ลิตร) สะท้อนถึงการใช้กลูโคสที่สูงขึ้น ซึ่งให้เห็นว่า *B. bifidum* TISTR 2129 มีการปรับตัวที่ดีสำหรับการดูดซึมสารอาหารแม้ในความเข้มข้นของสารตั้งต้นที่ต่ำ ค่าเหล่านี้บ่งชี้ถึงประสิทธิภาพการดูดซึมและการใช้สารตั้งต้นที่ดีขึ้นแม้ในความเข้มข้นที่ต่ำกว่า ซึ่งเป็นประโยชน์ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน (pH 6.0, 100 รอบต่อนาที) เมื่อเทียบกับ *L. sporogenes* BC 208 พบว่าการเริ่มต้นการเจริญเติบโตของมวลเซลล์เกิดขึ้นช้ากว่า โดยมีการสะสมของมวลเซลล์หลังจาก 48 ชั่วโมง อาจเกิดจากลักษณะของจุลินทรีย์ที่สร้างสปอร์ ทำให้ต้องมีการงอก (germination) ก่อนเข้าสู่ระยะการแบ่งเซลล์อย่างแท้จริง (ภาพที่ 17ข) แม้จะมีค่า μ_{max} สูงกว่า (0.018 h^{-1}) สายพันธุ์นี้แสดงผลผลิตมวลชีวภาพที่ต่ำกว่า ($Y_{x/s} = 0.026$ กรัมเซลล์/กรัมกลูโคส) และผลิตภาพต่ำกว่า (0.003 กรัม/ลิตร/ชั่วโมง) แสดงถึงประสิทธิภาพในการสร้างมวลเซลล์ต่อหน่วยกลูโคสที่น้อยกว่า ค่า K_s ที่สูง (12.62 กรัม/ลิตร) สะท้อนถึงความสามารถในการจับกลูโคสที่ต่ำกว่า ซึ่งอาจส่งผลให้เกิดการดูดซึมกลูโคสช้าในช่วงเริ่มต้นของการเจริญเติบโต เกิดระยะพักตัวที่ยาวนานขึ้น และจลนศาสตร์การหมักที่ช้าลงภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนมากกว่า (pH 6.5, 150 รอบต่อนาที) นอกจากนี้การผลิตกรดแลกติกแตกต่างกันระหว่าง *L. sporogenes* BC 208 การผลิตกรด

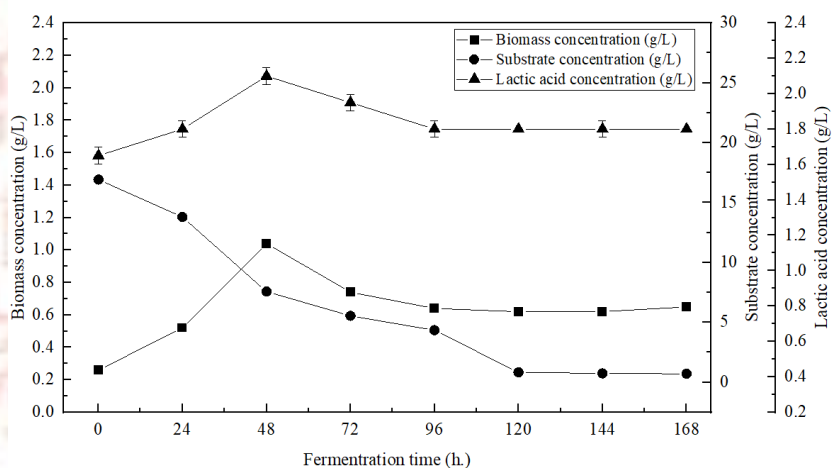
($Y_{p/s} = 0.009$ กรัมกรดแลกติก/กรัมกลูโคส) ซึ่งใกล้เคียงกับ *B. bifidum* TISTR 2129 (0.006 กรัมกรดแลกติก/กรัมกลูโคส) สิ่งนี้บ่งชี้ว่าแม้ *L. sporogenes* BC 208 อาจใช้สัดส่วนของกลูโคสที่บริโภคไปในการผลิตกรดแลกติกมากกว่า แต่อัตราเมแทบอลิซึมโดยรวมลดลง ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการเพาะเลี้ยงแบบไมโครแอโรฟิลิก (Microaerophilic cultivation) และการสร้างสปอร์ ในการศึกษา *L. sporogenes* BC 208 เพาะเลี้ยงโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ซึ่งแม้จะเพียงพอสำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียทั่วไป แต่ไม่ได้ให้การควบคุมที่เหมาะสมต่ออัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N) สิ่งนี้ส่งผลให้เกิดผลผลิตมวลเซลล์ที่ต่ำกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Pandey (2016) ที่สามารถผลิตมวลเซลล์ได้ถึง 30 กรัมต่อลิตร โดย 81% ของเซลล์อยู่ในระยะสปอร์ (Sporulated stage) ในระบบการหมักแบบ fed-batch ที่มีการปรับอัตราส่วน C/N อย่างเหมาะสม ผลลัพธ์เหล่านี้บ่งชี้ว่าแม้ทั้งสองสายพันธุ์จะแสดงกิจกรรมการหมัก ซึ่ง *B. bifidum* TISTR 2129 เหมาะสมกว่าสำหรับการประยุกต์ใช้ที่ต้องการการผลิตมวลเซลล์อย่างรวดเร็วและการผลิตกรดในสภาวะไร้ออกซิเจนอย่างเคร่งครัด ในขณะที่ *L. sporogenes* BC 208 จำเป็นต้องมีการปรับเปลี่ยน เช่น การปรับเปลี่ยนสภาวะการหมัก เพื่อเพิ่มจุลนาสตรในระยะเวลาพักตัวและประสิทธิภาพการใช้สารตั้งต้น

ตารางที่ 9 ค่าพารามิเตอร์ทางจลนพลศาสตร์ของการเจริญเติบโตของ *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129 และ *Lactobacillus sporogenes* BC 208

โพรไบโอติก	$\mu_{\max}$ (h ⁻¹)	K_s (g/L)	$Y_{x/s}$ (g cell / g glucose)	$Y_{p/s}$ (g lactic acid / g glucose)	Productivity (Biomass) (g/L/h)	Productivity (Lactic) (g/L/h)
<i>B. bifidum</i> TISTR 2129	0.005	7.19	0.039	0.006	0.006	0.001
<i>L. sporogenes</i> BC 208	0.018	12.62	0.026	0.009	0.003	0.001



(ก)



(ข)

ภาพที่ 17 การเปลี่ยนแปลงของมวลเซลล์ การใช้กลูโคส และการผลิตกรดแลกติกระหว่างการหมักของ (ก) *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129 และ (ข) *Lactobacillus sporogenes* BC 208 ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 168 ชั่วโมง

4.3. การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันสายสั้นในน้ำหมักจากการเพาะเลี้ยงโพรไบโอติกสองสายพันธุ์

การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันสายสั้นในน้ำหมักที่ได้จากการเพาะเลี้ยงโพรไบโอติกในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ดังแสดงตารางที่ 10 พบว่า *B. bifidum* TISTR 2129 ให้ค่าการผลิตกรดแลกติกสูงที่สุดเท่ากับ 310.35 มิลลิกรัมต่อลิตร ขณะที่ *L. sporogenes* BC 208 ให้ค่ากรดแลกติกต่ำกว่าเล็กน้อยที่ 275.44 มิลลิกรัมต่อลิตร สำหรับกรดอะซิติก พบว่า *L. sporogenes* BC 208 มีการผลิตในระดับที่สูงกว่าเท่ากับ 77.54 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อเทียบกับ *B. bifidum* TISTR 2129 ที่ผลิตได้ 72.31 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้ *B. bifidum* TISTR 2129 ยังผลิตกรดฟอรั่มิกในปริมาณที่สูงกว่าคือ 9.79 มิลลิกรัมต่อลิตร ขณะที่ *L. sporogenes* BC 208 ผลิตได้ 7.90 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตาม ไม่พบการผลิตกรดบิวทิริกและกรดโพรพิโอนิกในน้ำหมักของทั้งสองสายพันธุ์นี้ ซึ่งเป็นผลมาจาก

สายพันธุ์เหล่านี้ไม่มีทางเดินเมแทบอลิซึมที่จำเป็นต่อการผลิตกรดเหล่านี้ นอกจากนี้ชนิดของอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่ใช้ก็มีส่วนจำกัดต่อการเกิด SCFAs บางชนิด เนื่องจากอาหารนี้เหมาะต่อการเจริญเติบโตและการผลิตกรดแลกติกและกรดอะซิติกของแบคทีเรียในกลุ่ม *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* เป็นหลัก การผลิตกรดบิวทิริกและกรดโพรพิโอนิกอาจเกิดขึ้นได้ดีขึ้นหากมีการปรับอาหารเลี้ยงเชื้อให้เหมาะสม เช่น การเติมสารอาหารหรือเส้นใยอาหารที่เหมาะสม (Kepecka et al., 2025) งานวิจัยโดย Görgün and Ersan (2020) ศึกษาการผลิต SCFAs โดยสายพันธุ์ *Bifidobacterium* ในสภาพแวดล้อมที่มีการเติมไซรัป ซึ่งเป็นแหล่งเส้นใยอาหารธรรมชาติที่อุดมด้วยกลูโคแมนแนน ผลการศึกษาพบว่าสายพันธุ์ *Bifidobacterium* สามารถผลิต SCFAs หลายชนิดได้ทั้งกรดแลกติก กรดอะซิติก กรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทิริก ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเติมไซรัปช่วยส่งเสริมการหมักและการผลิต SCFAs ของแบคทีเรียเหล่านี้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ การที่ไซรัปเป็นแหล่งเส้นใยอาหารสูงนั้นมีส่วนสำคัญต่อความสามารถในการผลิต SCFAs เพราะเส้นใยอาหารทำหน้าที่เป็นสารตั้งต้นที่แบคทีเรียสามารถหมักได้ และยังส่งเสริมการเจริญเติบโตของแบคทีเรียชนิดที่เป็นประโยชน์ต่อระบบทางเดินอาหาร

เมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองในงานของเราที่ใช้สายพันธุ์ *B. bifidum* TISTR 2129 และ *L. sporogenes* BC 208 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS พบว่าทั้งสองสายพันธุ์สามารถผลิตกรดแลกติก กรดอะซิติก และกรดฟอร์มิกได้ แต่ไม่พบการผลิตกรดบิวทิริกและกรดโพรพิโอนิก สาเหตุสำคัญน่าจะมาจากสายพันธุ์ที่เลือกใช้ไม่มีทางเดินเมแทบอลิซึมที่จำเป็นต่อการผลิต SCFAs เหล่านี้ อีกทั้งชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่ใช้ก็อาจจำกัดต่อการผลิต SCFAs บางชนิดโดยเฉพาะกรดบิวทิริกและโพรพิโอนิก ในขณะที่งานของ Görgün and Ersan (2020) แสดงให้เห็นว่าการเติมไซรัปเป็นแหล่งเส้นใยอาหารช่วยกระตุ้นการผลิต SCFAs หลายชนิดได้ การเปรียบเทียบนี้สะท้อนให้เห็นว่าการเลือกสายพันธุ์โพรไบโอติกและองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อมีความสำคัญต่อการผลิต SCFAs ชนิดต่าง ๆ อย่างชัดเจน

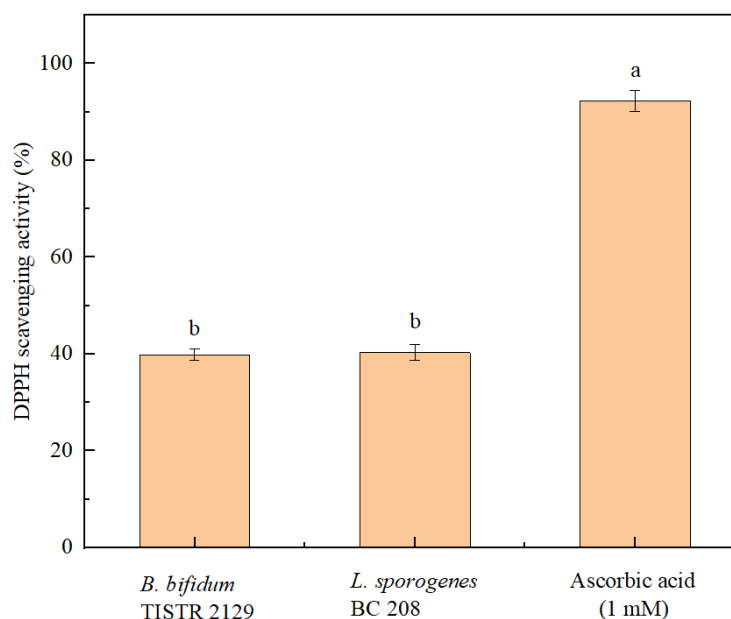
ตารางที่ 10 การผลิตกรดไขมันสายสั้นในน้ำหมักจากการเพาะเลี้ยงโพรไบโอติกสองสายพันธุ์

โพรไบโอติก	กรดไขมันสายสั้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)				
	กรดแลกติก	กรดอะซิติก	กรดฟอร์มิก	กรดบิวทิริก	กรดโพรพิโอนิก
<i>B. bifidum</i> TISTR 2129	310.35	72.31	9.79	-	-
<i>L. sporogenes</i> BC 208	275.44	77.54	7.90	-	-

หมายเหตุ: เครื่องหมาย (-) คือตรวจไม่พบกรดไขมันสายสั้น

4.4. ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำหมักจากการเพาะเลี้ยงโพรไบโอติกสองสายพันธุ์

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำหมักจากการเพาะเลี้ยง *B. bifidum* TISTR 2129 และ *L. sporogenes* BC 208 ดำเนินการโดยใช้วิธี DPPH radical scavenging assay ดังแสดงในภาพที่ 18 โดยใช้กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid) ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลต่อลิตร เป็นกลุ่มควบคุมเชิงบวก ซึ่งให้ค่าการกำจัดอนุมูลอิสระสูงสุดที่ $92.23 \pm 2.16\%$ ในขณะที่น้ำหมักจาก *B. bifidum* TISTR 2129 แสดงฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระเท่ากับ $39.86 \pm 1.14\%$ และ *L. sporogenes* BC 208 มีค่าการกำจัดอนุมูลอิสระเท่ากับ $40.34 \pm 1.68\%$ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ากรดแอสคอร์บิกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าทั้งสองสายพันธุ์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.0001$) ผลการทดลองสอดคล้องกับงานวิจัยของ Rwubuzizi et al. (2025) รายงานว่าค่าการกำจัดอนุมูลอิสระของ *Lactiplantibacillus plantarum* ST10BG เท่ากับ 36.96% ในขณะที่ Zhang et al. (2011) รายงานว่าค่าการกำจัดอนุมูลอิสระที่ต่ำกว่า คือ 27.50% ของ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* LJJ และ 23.99% ของ *Lactocaseibacillus casei* subsp. *casei* SY13 นอกจากนี้ Shengyu et al. (2012) รายงานว่าค่าการกำจัดอนุมูลอิสระของ *Lactobacillus plantarum* C88 เท่ากับ 53.05% นอกจากนี้ การวิเคราะห์ด้วย HPLC พบว่าน้ำหมักจากทั้งสองสายพันธุ์มีกรดอินทรีย์สำคัญ ได้แก่ กรดแลคติก กรดอะซิติก และกรดฟอร์มิก ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากการหมักของจุลินทรีย์กรดแลคติก (LAB) กรดอินทรีย์เหล่านี้มีบทบาทในการต้านอนุมูลอิสระ โดยสามารถจับอนุมูลอิสระและลดความเครียดออกซิเดชัน นอกจากนี้ยังช่วยปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้และเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกัน (Gao et al., 2025) นอกจากนี้ เชื้อจุลินทรีย์กรดแลคติก (LAB) โดยเฉพาะสายพันธุ์ *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระผ่านหลายกลไก กลไกหนึ่งคือ LAB สามารถจับและกำจัดอนุมูลโดยตรง เช่น อนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ หรืออนุมูลไฮดรอกซิล ซึ่งเกิดจากการมีสารประกอบบนผิวเซลล์หรือจากเมตาบอไลต์ที่จุลินทรีย์หลั่งออกมา อีกกลไกหนึ่งคือ LAB บางสายพันธุ์สามารถสร้างเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ เช่น ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (Superoxide dismutase) คาตาเลส (Catalase) และกลูตาไธโอนเพอรอกซิเดส (Glutathione peroxidase) (Kepecka et al., 2025) และผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำหมักจากการเพาะเลี้ยงโพรไบโอติกสองสายพันธุ์ แสดงให้เห็นว่าโพรไบโอติกเหล่านี้สามารถสร้างสารเมตาบอไลต์ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ในระหว่างกระบวนการหมัก การมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระนี้สะท้อนถึงศักยภาพของโพรไบโอติกในการผลิตกรดไขมันสายสั้นที่เป็นประโยชน์หลังจากถูกส่งไปยังลำไส้ ซึ่งช่วยเสริมสุขภาพของระบบทางเดินอาหารและลดความเครียดออกซิเดชันในร่างกาย การศึกษานี้จึงชี้ให้เห็นว่าโพรไบโอติกมีบทบาทในการส่งเสริมคุณสมบัติแบบการทำงานที่หลากหลายของผลิตภัณฑ์ทางโภชนาการได้ด้วย

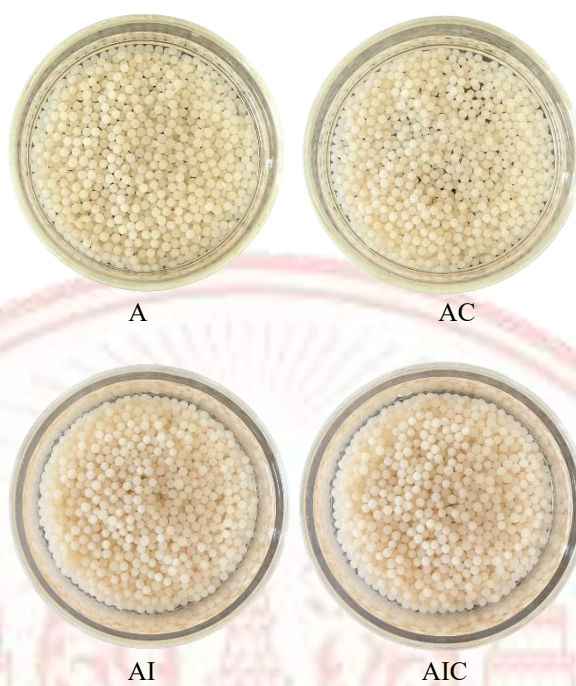


ภาพที่ 18ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำหมักจากการเพาะเลี้ยงโพรไบโอติกสองสายพันธุ์

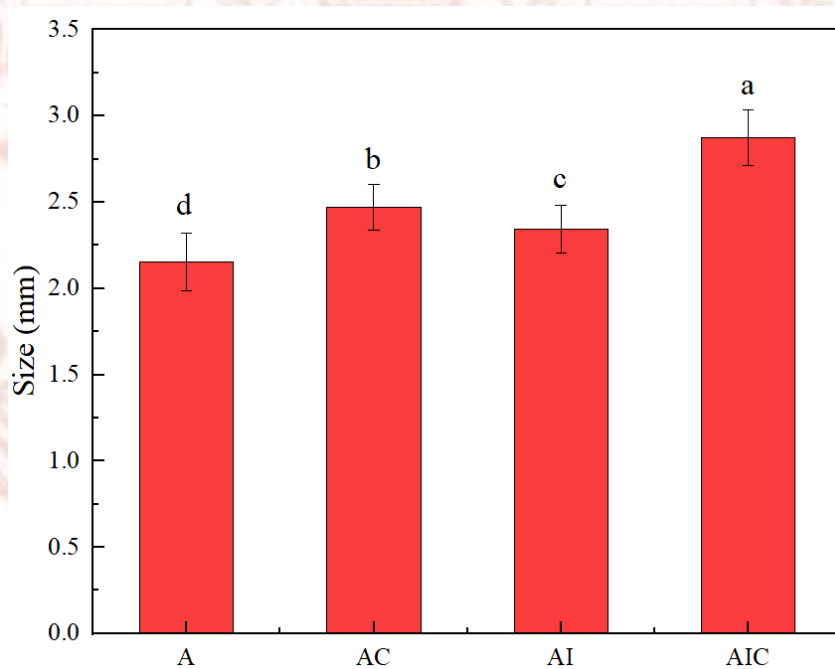
4.5. ลักษณะทางกายภาพและเคมีของเม็ดบีด

4.5.1 ลักษณะทางกายภาพ

เม็ดบีดห่อหุ้มโพรไบโอติกที่ผลิตขึ้นของสูตร A AC AI และ AIC ทั้งหมดแสดงรูปร่างทรงกลมที่สม่ำเสมอและมีสีขาวนวล คุณลักษณะเหล่านี้มีความสำคัญต่อการนำส่งโพรไบโอติกและการปกป้องที่มีประสิทธิภาพ ดังแสดงในภาพที่ 19 การวิเคราะห์ขนาดของเม็ดบีดพบว่าสูตร AIC มีขนาดใหญ่ที่สุด (2.87 ± 0.16 มิลลิเมตร) รองลงมาคือสูตร AC (2.47 ± 0.13 มิลลิเมตร) และสูตร AI (2.34 ± 0.14 มิลลิเมตร) ในขณะที่สูตร A มีขนาดเล็กที่สุด (2.16 ± 0.17 มิลลิเมตร) การวิเคราะห์ทางสถิติแสดงให้เห็นว่าขนาดของเม็ดบีดแต่ละสูตรมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.0001$) ดังแสดงในภาพที่ 20 ผลการศึกษาบ่งชี้ว่าการเติมอินนูลินและโคโตซานส่งผลให้เม็ดบีดมีขนาดเพิ่มขึ้น โดยสูตรที่มีทั้งอินนูลินเคลือบโคโตซาน (AIC) ให้ขนาดเม็ดบีดที่ใหญ่ที่สุด ซึ่งอาจอธิบายได้ว่า การผสมสารประกอบทั้งอัลจิเนตและอินนูลินเคลือบโคโตซาน ทำให้เกิดโครงสร้างพอลิเมอร์ที่หนาแน่นและแข็งแรงมากขึ้น ส่งผลให้เม็ดบีดมีเส้นผ่านศูนย์กลางเพิ่มขึ้น ทั้งนี้สอดคล้องกับรายงานของ Krasaekoopt et al. (2004) ที่ระบุว่า การเคลือบหรือผสมสารช่วยเสริมโครงสร้าง เช่น โคโตซาน สามารถเพิ่มความหนาแน่นและความทนทานของเม็ดบีดได้ (Krasaekoopt et al., 2004) และงานวิจัยของ Darjani et al. (2016) รายงานว่าการเติมอินนูลินร่วมกับอัลจิเนตและการเคลือบด้วยโคโตซานสามารถเพิ่มเส้นผ่านศูนย์กลางของเม็ดบีดได้เล็กน้อย และช่วยเสริมความคงตัวของเม็ดบีดภายใต้สภาวะกรดจำลองในกระเพาะอาหาร (ประมาณ 2.9 mm เทียบกับ 2.2 mm ในสูตรอัลจิเนตเพียงอย่างเดียว)



ภาพที่ 19 ลักษณะของเม็ดปิดหุ้มโพรไบโอติก



ภาพที่ 20 ขนาดของเม็ดปิดหุ้มโพรไบโอติก

4.5.2 องค์ประกอบของโครงสร้างและหมู่ฟังก์ชันของไบโอพอลิเมอร์และเม็ดบีด

การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคสเปกโทรสโกปีอินฟราเรดแบบฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์ม (Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FTIR) ของไมโครแคปซูลที่ห่อหุ้มด้วยพอลิเมอร์ 3 ชนิด ได้แก่ อัลจิเนต อินนูลิน และโคโตซาน แสดงให้เห็นถึงลักษณะเฉพาะของหมู่ฟังก์ชันต่าง ๆ ดังแสดงในภาพที่ 21

ผลการวิเคราะห์พบพิกัดสำคัญที่แสดงถึงหมู่ฟังก์ชันหลักในโครงสร้างของอัลจิเนต โดยพบพิกัดที่ตำแหน่งประมาณ 3400 cm^{-1} ซึ่งเป็นลักษณะการสั่นแบบยืดของพันธะไฮดรอกซิล (-OH) แสดงถึงการมีอยู่ของหมู่ไฮดรอกซิลจำนวนมากในโครงสร้างของอัลจิเนต สอดคล้องกับลักษณะของพอลิแซ็กคาไรด์ทั่วไป ในช่วงประมาณ 2920 cm^{-1} พบพิกัดที่แสดงถึงการสั่นของพันธะคาร์บอน-ไฮโดรเจน (C-H) ซึ่งเกิดจากหมู่เอทิลในสายพอลิเมอร์ ขณะที่พิกัดบริเวณ 1610 cm^{-1} และ 1417 cm^{-1} สะท้อนถึงการสั่นของพันธะคาร์บอนิล (C=O) ของหมู่คาร์บอกซิเลต (COO^-) โดยตำแหน่งที่ 1610 cm^{-1} เป็นการสั่นแบบไม่สมมาตร (Asymmetric stretching) และ 1417 cm^{-1} เป็นการสั่นแบบสมมาตร (Symmetric stretching) ซึ่งเป็นลักษณะจำเพาะของโครงสร้างกรดแมนยูโรนิคและกรดกลูโรนิค หน่วยย่อยหลักของอัลจิเนต นอกจากนี้ยังพบพิกัดที่ 1030 cm^{-1} ซึ่งสอดคล้องกับการสั่นของพันธะคาร์บอน-ออกซิเจน (C-O) ที่อาจเกิดจากหมู่ไฮดรอกซิลหรือพันธะอีเทอร์ภายในโมเลกุลของพอลิเมอร์ (Kuczajowska-Zadrozna et al., 2020) ดังแสดงในตารางที่ 11

หมู่ฟังก์ชันหลักในโครงสร้างของอินนูลิน โดยพบแถบการดูดกลืนที่บริเวณ 3284 cm^{-1} ซึ่งเป็นลักษณะของการสั่นแบบยืดของพันธะไฮดรอกซิล (-OH) เป็นลักษณะเฉพาะของหมู่ไฮดรอกซิลจำนวนมากในโมเลกุลอินนูลิน นอกจากนี้ยังพบแถบที่ 2932 cm^{-1} ซึ่งสัมพันธ์กับการสั่นของพันธะคาร์บอน-ไฮโดรเจน (C-H) ในหมู่เมทิลหรือเมทิลีนภายในโครงสร้างน้ำตาล ในช่วงคลื่น 1646 cm^{-1} สังเกตพบแถบการดูดกลืนซึ่งอาจสัมพันธ์กับการสั่นของหมู่คาร์บอนิล (C=O) ที่อาจเกิดจากการมีน้ำหรือกลุ่มคาร์บอกซิลเล็กน้อยในโครงสร้าง ต่อมาในช่วง 1413 cm^{-1} พบแถบการสั่นของพันธะ C-H ซึ่งสื่อถึงการมีหมู่ CH_2 หรือ CH_2OH อยู่ในโครงสร้างอินนูลิน ส่วนบริเวณช่วงคลื่นระหว่าง 1115 ถึง 930 cm^{-1} เป็นแถบเด่นที่แสดงถึงพันธะ C-O-C ซึ่งแสดงถึงพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic linkage) ที่เกิดจากการเชื่อมต่อระหว่างหน่วยฟรุกโตสในโครงสร้างอินนูลิน ซึ่งเป็นลักษณะเฉพาะของพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดฟรุกแทน (Lorenzo-Santiago et al., 2023) ดังแสดงในตารางที่ 12

หมู่ฟังก์ชันหลักในโครงสร้างของโคโตซานพบแถบการดูดกลืนขนาดใหญ่ที่บริเวณ 3287 cm^{-1} ซึ่งเกิดจากการสั่นของพันธะ O-H และ N-H ซึ่งแสดงถึงการมีอยู่ของหมู่ไฮดรอกซิลและหมู่อะมิโนอิสระจำนวนมากในโครงสร้างของโคโตซาน ที่บริเวณ 2868 cm^{-1} ตรวจพบการสั่นของพันธะ C-H ของหมู่เมทิล ซึ่งพบได้ทั่วไปในโครงสร้างของพอลิเมอร์จากน้ำตาล แถบสำคัญอีกตำแหน่งหนึ่งคือ 1648 cm^{-1} ซึ่งเป็นแถบอะไมด์ I (Amide I) สัมพันธ์กับการสั่นของพันธะ C=O ของหมู่

แอสีทามิโด ($-\text{NHCO}-$) ที่ยังคงหลงเหลืออยู่จากการแปรสภาพไคตินเป็นไคโตซานบริเวณ 1580 cm^{-1} เป็นแถบอะไมด์ II (Amide II) ซึ่งเกิดจากการสั่นแบบโค้งงอของพันธะ N-H และการสั่นของพันธะ C-N แสดงถึงการคงอยู่ของหมู่อะมิโนในโครงสร้างของไคโตซาน ที่บริเวณ 1020 cm^{-1} ตรวจพบแถบการสั่นของพันธะ C-O ซึ่งสัมพันธ์กับโครงสร้างของน้ำตาลในพอลิเมอร์ (Lustriane et al., 2018) ดังแสดงในตารางที่ 13

ตารางที่ 11 การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของอัลจิเนต

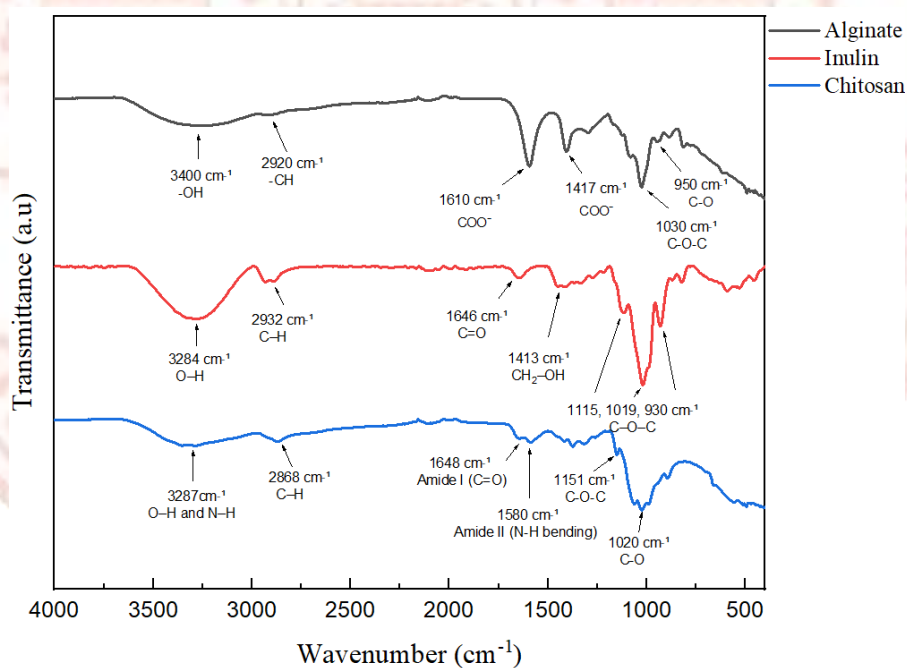
เลขคลื่น (Wavenumber, cm^{-1})	หมู่ฟังก์ชัน (Functional group)
3400	การสั่นของหมู่ไฮดรอกซิล ($-\text{OH}$)
2920	การสั่นของพันธะคาร์บอน-ไฮโดรเจน ($\text{C}-\text{H}$)
1610	การสั่นแบบไม่สมมาตร (asymmetric) ของหมู่คาร์บอกซิเลต (COO^-)
1417	การสั่นสมมาตร (symmetric) ของหมู่คาร์บอกซิเลต (COO^-)
1030	การยืดของ C-O ที่เกี่ยวข้องกับกรดยูโรนิก

ตารางที่ 12 การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของอินนูลิน

เลขคลื่น (Wavenumber, cm^{-1})	หมู่ฟังก์ชัน (Functional group)
3284	การสั่นของหมู่ไฮดรอกซิล ($-\text{OH}$)
2932	การสั่นของพันธะคาร์บอน-ไฮโดรเจน ($\text{C}-\text{H}$)
1646	การสั่นของพันธะคาร์บอนิล ($\text{C}=\text{O}$)
1413	การสั่นของพันธะ C-H ซึ่งสื่อถึงการมีหมู่ CH_2 หรือ CH_2OH
930, 1019, 1115	พันธะ C-O ซึ่งแสดงถึงพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic linkage)

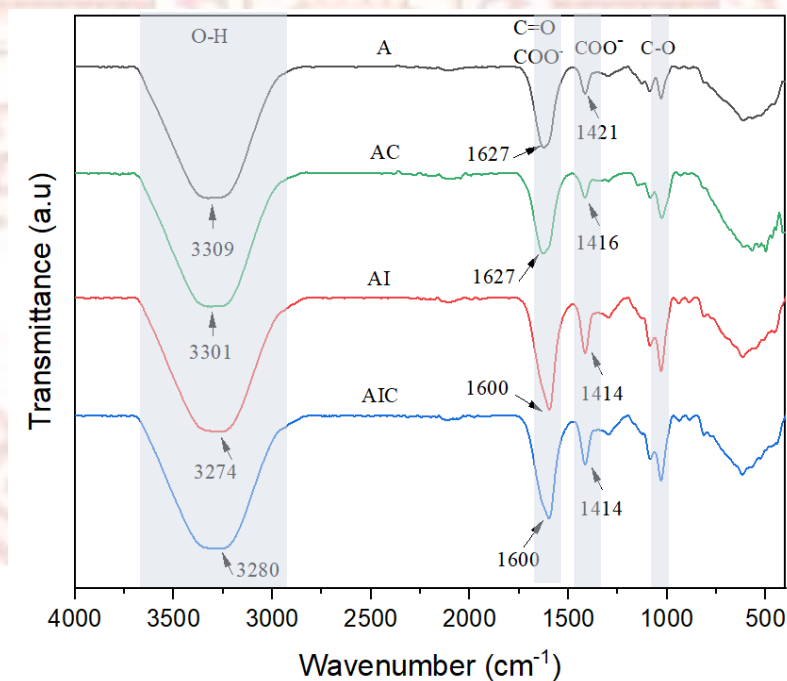
ตารางที่ 13 การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของไคโตซาน

เลขคลื่น (Wavenumber, cm^{-1})	หมู่ฟังก์ชัน (Functional group)
3287	กลุ่มไฮดรอกซิล (-OH) และกลุ่มอะมีน (N-H)
2868	การสั่นของพันธะคาร์บอน-ไฮโดรเจน (C-H)
1648	กลุ่มคาร์บอนิล (C=O) ที่เกี่ยวข้องกับอะไมด์ I
1586	การสั่นแบบโค้งงอของพันธะ N-H และการสั่นของพันธะ C-N ที่เกี่ยวข้องกับอะไมด์ II
1418, 1374 และ 1321	กลุ่ม $-\text{CH}_2$ และ $-\text{CH}_3$ รวมถึงการยืดของ C-N ที่เกี่ยวข้องกับอะไมด์ III
1151	กลุ่ม C-O-C การสั่นของพันธะไกลโคซิดิกในโครงสร้างพอลิแซ็กคาไรด์
1059, 1027 และ 990	กลุ่มของ C-O โครงสร้างของน้ำตาลในไคโตซาน



ภาพที่ 21 สเปกตรัม FTIR ของไบโอพอลิเมอร์ทั้ง 3 ชนิด ที่ใช้ในการทอหุ้ม ได้แก่ อัลจิเนต อินนูลิน และไคโตซาน

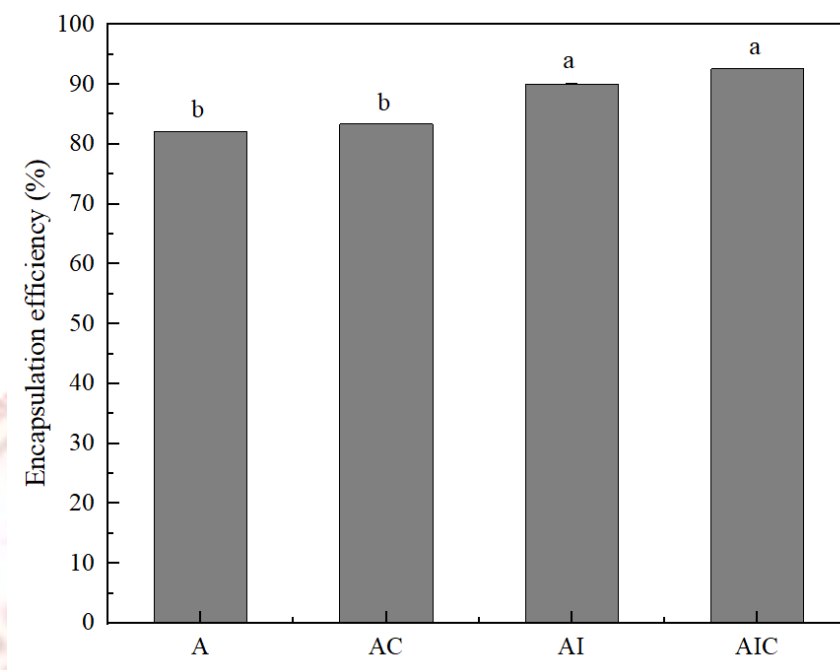
จากผลการวิเคราะห์ด้วย FTIR ของเม็ดปิดโพรไบโอติกสูตร A, AC, AI และ AIC หลังการห่อหุ้ม พบว่าการสั่นแบบยืดของหมู่ O-H มีการเลื่อนจาก $3301/3309\text{ cm}^{-1}$ ไปที่ $3274/3280\text{ cm}^{-1}$ ขณะที่การสั่นแบบไม่สมมาตรและการสั่นแบบสมมาตรของ COO^- มีการเลื่อนจาก 1627 cm^{-1} ไปที่ 1600 cm^{-1} และจาก $1421/1426\text{ cm}^{-1}$ ไปที่ 1414 cm^{-1} ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 21 การเปลี่ยนแปลงดังกล่าวแสดงถึงการเกิด ปฏิสัมพันธ์ของพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bonding) ระหว่างหมู่ไฮดรอกซิล (-OH) ของอินนูลินกับหมู่คาร์บอกซิเลต (COO^-) ของอัลจิเนต ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ของ Atia et al. (2017) และ Thinkohkaew, Aumphaiphensiri, et al. (2024) ที่ระบุว่าการห่อหุ้มโพรไบโอติกด้วยพอลิแซ็กคาไรด์และพรีไบโอติก เช่น อินนูลิน จะก่อให้เกิดการเชื่อมโยงด้วยพันธะไฮโดรเจน ส่งผลต่อโครงสร้างและเสถียรภาพของเม็ดปิด ดังนั้นการเลื่อนของพิกัด FTIR ในงานวิจัยนี้สามารถยืนยันได้ว่าการเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างอินนูลินและอัลจิเนตจริง ซึ่งช่วยเสริมสร้างโครงสร้างของเม็ดปิดให้มีความแข็งแรงและอาจเพิ่มประสิทธิภาพการปกป้องเซลล์โพรไบโอติกในสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกัน ดังแสดงในภาพที่ 22



ภาพที่ 22 สเปกตรัม FTIR ของเม็ดปิดโพรไบโอติกสูตร A, AC, AI และ AIC หลังการห่อหุ้ม

4.6. ประสิทธิภาพการห่อหุ้มของเม็ดบีดโพรไบโอติก

จากผลการทดลองแสดงในภาพที่ 23 พบว่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มของสูตร A, AC, AI และ AIC เท่ากับ $82.11 \pm 0.07\%$, $83.41 \pm 0.01\%$, $90.06 \pm 0.10\%$ และ $92.56 \pm 0.09\%$ ตามลำดับ โดยสูตรที่มีการเติมอินนูลิน (AI และ AIC) แสดงค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มสูงกว่าสูตรที่ไม่มีอินนูลินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ขณะที่ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างสูตร A และ AC ($p = 0.544$) และระหว่าง AI และ AIC ($p = 0.112$) ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าการเติมอินนูลินมีผลต่อการเพิ่มประสิทธิภาพการห่อหุ้มมากกว่าการเคลือบด้วยโคโตซานภายใต้เงื่อนไขการทดลองนี้ ประสิทธิภาพการห่อหุ้มที่เพิ่มขึ้นในเม็ดบีดที่มีอินนูลิน อาจเกิดจากความสามารถของอินนูลินในการเติมเต็มช่องว่างภายในเมทริกซ์ของอัลจิเนต และการเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างอินนูลินกับอัลจิเนต ซึ่งส่งผลให้เกิดชั้นโครงสร้างที่ประสานกันอย่างสมบูรณ์และช่วยเพิ่มการยึดเกาะกับเซลล์โพรไบโอติก แม้ว่าโคโตซานจะเป็นที่ยอมรับว่ามีบทบาทสำคัญในการปรับปรุงคุณสมบัติด้านการเป็นเกราะป้องกันและเพิ่มความแข็งแรงเชิงกลของเม็ดอัลจิเนต (Zhang et al., 2024) แต่เคลือบโคโตซานมีแนวโน้มที่จะช่วยเพิ่มเสถียรภาพในระยะยาว ปกป้องเซลล์จากความเครียดสิ่งแวดล้อม และช่วยควบคุมการปลดปล่อยในระบบทางเดินอาหาร มากกว่าที่จะทำให้ประสิทธิภาพการห่อหุ้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (Masoomi Dezfooli et al., 2022) การศึกษาก่อนหน้านี้นี้รายงานว่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มของระบบที่มีการผสมอินนูลินมีค่าระหว่าง 83% ถึง 90% (Parsana et al., 2023; Serrano-Casas et al., 2017; Thinkohkaew, Aumphaiphensiri, et al., 2024) เมื่อเปรียบเทียบกับผลการทดลองในงานวิจัยนี้พบว่ามีค่าที่สูงกว่าอย่างชัดเจน แสดงให้เห็นว่าการใช้เครื่องเอนแคปซูเลเตอร์ (Encapsulator) มีความได้เปรียบกว่าวิธีการห่อหุ้มแบบดั้งเดิมที่ใช้เข็มหรือปั๊ม เนื่องจากสามารถควบคุมการเกิดหยดได้อย่างสม่ำเสมอ ลดความแปรปรวนของขนาดเม็ดบีด และลดความสูญเสียของเซลล์โพรไบโอติกในกระบวนการห่อหุ้ม ดังนั้น การใช้เครื่องเอนแคปซูเลเตอร์จึงไม่เพียงแต่เพิ่มค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มให้สูงกว่างานวิจัยก่อนหน้านี้นี้ แต่ยังช่วยให้ได้เม็ดบีดที่มีขนาดและรูปร่างสม่ำเสมอ มีความสามารถในการผลิตซ้ำได้ดี และเหมาะสมต่อการพัฒนาไปสู่การประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรมอย่างยั่งยืน



ภาพที่ 23 ประสิทธิภาพการห่อหุ้มของเม็ดปิดห่อหุ้มโพรไบโอติก

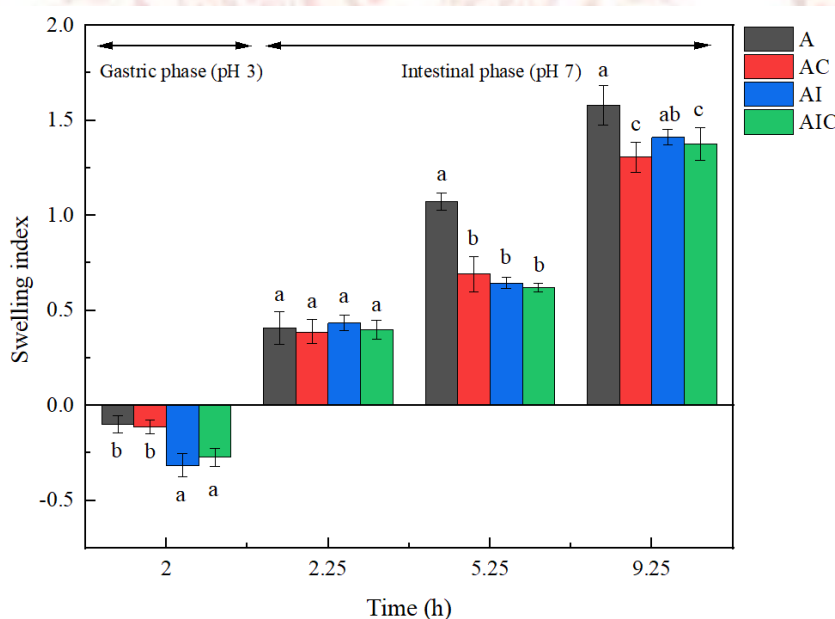
4.7. พฤติกรรมการบวมของเม็ดปิด

ดัชนีการบวมของเม็ดปิดในการจำลองการย่อยอาหารในระบบทางเดินอาหาร โดยเริ่มจากระยะกระเพาะอาหารแล้วเข้าสู่ระยะลำไส้ ดังแสดงในภาพที่ 24 ระยะกระเพาะอาหารที่ pH 3 เม็ดปิดทั้งหมดแสดงพฤติกรรมการบวมเชิงลบในระหว่างการย่อยเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เม็ดปิด A และ AC แสดงความแตกต่างเล็กน้อยในการบวม ซึ่งอยู่ที่ -0.10 ± 0.04 และ -0.11 ± 0.04 ตามลำดับ โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.97$) ซึ่งบ่งชี้ว่าการเคลือบด้วยโคโตซานไม่ได้เปลี่ยนแปลงพฤติกรรมการบวมของเม็ดปิดในสภาพแวดล้อมที่เป็นกรดอย่างมีนัยสำคัญ ในทางกลับกันเม็ดปิด AI และ AIC มีค่าดัชนีการบวม -0.32 ± 0.06 และ -0.27 ± 0.05 ซึ่งลดลงมากกว่าเม็ดปิด A และ AC อย่างมีนัยสำคัญ ($p = 0.003$, $p = 0.011$, $p = 0.017$ และ $p = 0.004$) สะท้อนให้เห็นโครงสร้างที่หดรัดมากขึ้น อย่างไรก็ตาม ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญระหว่างเม็ดปิด AI และ AIC ซึ่งบ่งชี้ว่าการเคลือบโคโตซานเม็ดปิดที่บรรจุอินนูลินไม่ส่งผลกระทบต่อพฤติกรรมการบวมอย่างมีนัยสำคัญ

ในการเปลี่ยนผ่านสู่ระยะลำไส้ที่ pH 7 เม็ดปิดทั้งหมดแสดงพฤติกรรมการบวมที่เพิ่มขึ้นที่เวลา 5.25 ชั่วโมง เม็ดปิด A แสดงดัชนีการบวมสูงสุดที่ 1.07 ± 0.05 รองลงมาคือเม็ดปิด AC ที่ 0.69 ± 0.09 เม็ดปิด AI ที่ 0.64 ± 0.03 และเม็ดปิด AIC ที่ 0.62 ± 0.02 การวิเคราะห์ทางสถิติแสดงความแตกต่างอย่างมากระหว่างเม็ดปิดอัลจินตและเม็ดปิดอื่น ๆ ทั้งหมด ($p < 0.0001$) ในจุดเวลาสุดท้ายที่ 9.25 ชั่วโมง เม็ดปิด A แสดงดัชนีการบวมสูงสุดที่ 1.58 ± 0.10 ในขณะที่เม็ดปิด AC

AI และ AIC แสดงดัชนีการบวมที่คล้ายคลึงกันที่ 1.39 ± 0.03 , 1.41 ± 0.04 และ 1.38 ± 0.09 ตามลำดับ

พฤติกรรมกรรมการบวมของเม็ดปิด เมื่อสังเกตภายใต้กล้องจุลทรรศน์อาหาร มีความสัมพันธ์อย่างชัดเจนกับรูปแบบการปลดปล่อยโพรไบโอติก ดังที่แสดงในภาพที่ 24 เม็ดปิดทุกสูตรแสดงการบวมตัวเชิงลบในระยะกระเพาะอาหารที่ pH 3 ซึ่งบ่งชี้ว่าโครงสร้างเจลเกิดการหดตัว พฤติกรรมนี้เป็นลักษณะเฉพาะของไฮโดรเจลที่มีฐานเป็นอัลจินต ซึ่งการหดตัวของโครงข่ายและการลดลงของแรงผลักไฟฟ้าสถิตเกิดจากกลุ่มคาร์บอกซิลของอัลจินตได้รับโปรตอนในสภาพแวดล้อมที่เป็นกรด (Malektaj et al., 2023) ดังนั้น การปลดปล่อยเซลล์โพรไบโอติกในระยะนี้จึงเกิดขึ้นอย่างจำกัด โดยเฉพาะในเม็ดปิด AC และ AIC ซึ่งการมีอินนูลินหรือเคลือบไคโตซานทำให้โครงสร้างของปิดหนาแน่นขึ้นและยับยั้งการปลดปล่อยของเซลล์โพรไบโอติกมากขึ้น ในทางกลับกัน เม็ดปิดทุกสูตรแสดงการบวมตัวเชิงบวกอย่างมีนัยสำคัญในระยะลำไส้ที่ pH 7 ตามรายงานของ Jin et al. (2009) อธิบายว่าเกิดจากกลไกการแลกเปลี่ยนไอออนระหว่าง Na^+ ใน PBS และ Ca^{2+} ในเมทริกซ์อัลจินต โดยเฉพาะในส่วนของโพลีแมนโนรูนต การปลดปล่อยของโพรไบโอติกจากการคลายตัวของสายโซ่ และการพองตัวของเจลที่เพิ่มขึ้นเนื่องจากจำนวนกลุ่มคาร์บอกซิลที่เป็นไอออนเพิ่มขึ้นและความแข็งแรงของการเชื่อมโยงข้ามลดลง นอกจากนี้ เม็ดปิด AIC แสดงการปลดปล่อยสูงสุดที่ 10.25 ชั่วโมง แม้ว่าจะมีดัชนีพองตัวต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับเม็ดปิดอื่น ๆ แสดงให้เห็นว่าการเติมอินนูลินช่วยให้การปลดปล่อยโพรไบโอติกต่อเนื่องไปพร้อมกับควบคุมการบวม อาจเป็นเพราะโครงสร้างพูนและคุณสมบัติส่งเสริมโพรไบโอติกของอินนูลิน

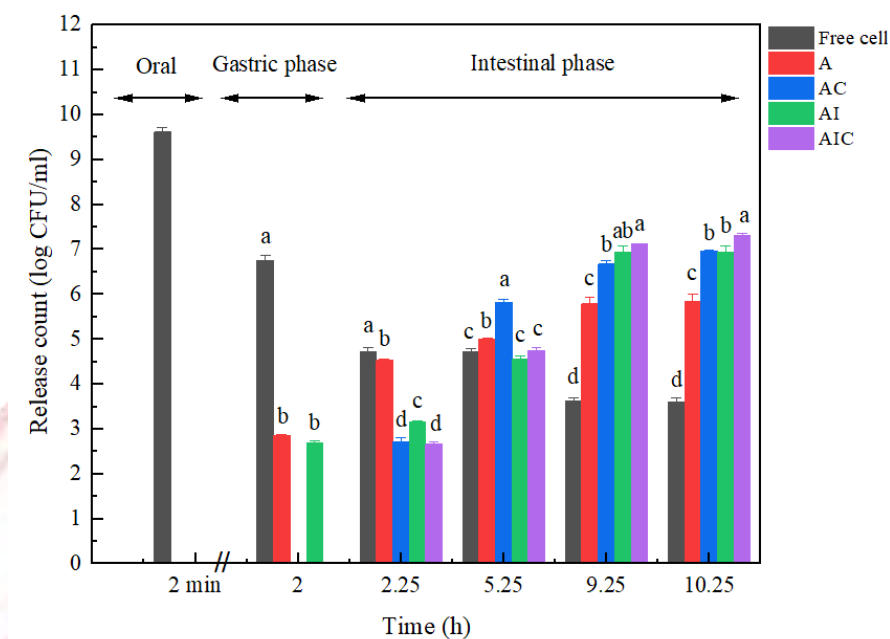


ภาพที่ 24 พฤติกรรมการบวมของเม็ดปิดห่อหุ้มโพรไบโอติก

4.8. การศึกษาการปลดปล่อยโพรไบโอติกภายใต้การย่อยอาหารในระบบทางเดินอาหารในหลอด

ทดลองโดย INFOGEST โพรโตคอล

การปลดปล่อยโพรไบโอติกจากเม็ดบิตห่อหุ้มภายใต้สภาวะการย่อยอาหารจำลองตาม INFOGEST โพรโตคอล ดังแสดงในภาพที่ 25 ในระยะปากที่ pH 7 เวลา 2 นาที พบว่าเซลล์โพรไบโอติกที่ไม่ถูกห่อหุ้มปลดปล่อยออกมาสูงสุดที่ $9.62 \pm 0.10 \log \text{CFU/mL}$ ในขณะที่เม็ดบิตห่อหุ้มทุกสูตรไม่มีการปลดปล่อย ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสำเร็จในการห่อหุ้มและป้องกันเซลล์ภายใต้สภาวะในช่องปาก ในระยะกระเพาะอาหารที่ pH 3 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง พบว่ามีการปลดปล่อยเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในเม็ดบิตทุกสูตร โดยสูตร A และ AI ปลดปล่อยได้ $2.86 \pm 0.03 \log \text{CFU/mL}$ และ $2.69 \pm 0.04 \log \text{CFU/mL}$ ตามลำดับ ในขณะที่สูตรอื่น ๆ ไม่พบการปลดปล่อยโพรไบโอติก เมื่อเข้าสู่ระยะลำไส้ที่ pH 7 เวลา 2.25–10.25 ชั่วโมง เม็ดบิตทุกสูตรแสดงการปลดปล่อยโพรไบโอติกที่เพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ โดยที่เวลา 10.25 ชั่วโมง สูตร AIC มีค่าการปลดปล่อยสูงสุดอยู่ที่ $7.32 \pm 0.03 \log \text{CFU/mL}$ สูตร AC และ AI แสดงการปลดปล่อยในระดับปานกลาง ในขณะที่สูตร AIC คงรูปแบบการปลดปล่อยอย่างต่อเนื่องในระยะลำไส้ ผลเหล่านี้ชี้ให้เห็นว่าส่วนประกอบของวัสดุที่ใช้ในการห่อหุ้มมีผลกระทบต่อการปลดปล่อยโพรไบโอติกระหว่างการย่อยอาหารจำลอง ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าการใช้อัลจิเนตและอินนูลินที่เคลือบด้วยโคโคซาน มีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญต่อการปลดปล่อยโพรไบโอติกในระหว่างการย่อยทางเดินอาหาร การปลดปล่อยโพรไบโอติกที่สังเกตได้ในการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าวิธีการห่อหุ้มสามารถปกป้องโพรไบโอติกได้อย่างมีประสิทธิภาพ ทำให้เซลล์ยังคงมีชีวิตอยู่ตลอดการส่งผ่านทางเดินอาหาร โพรไบโอติกสามารถรักษาความมีชีวิตอยู่ได้ไม่น้อยกว่า $6 \log \text{CFU/mL}$ ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่จำเป็นต่อการให้ประโยชน์ต่อสุขภาพ (FAO/WHO, 2006) ซึ่งงานวิจัยนี้สอดคล้องกับผลการศึกษาก่อนหน้าที่ยืนยันถึงการเพิ่มการรอดชีวิตของ *Lactobacillus casei* เมื่อถูกห่อหุ้มในอัลจิเนตและอินนูลินที่เคลือบด้วยโคโคซานโดยวิธีการเอ็กทราซัน (Thinkohkaew, Aumphaiphensiri, et al., 2024)



ภาพที่ 25 การศึกษาการปลดปล่อยโพรไบโอติกภายใต้การย่อยอาหารในระบบทางเดินอาหารในหลอดทดลองโดย INFOGEST โปรโตคอล

4.9. จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเม็ดบีดหุ้มโพรไบโอติก

การศึกษารูปแบบการปลดปล่อยของเม็ดบีดโพรไบโอติกภายใต้การย่อยอาหารในระบบทางเดินอาหารในหลอดทดลองโดย INFOGEST ใช้แบบจำลองจลนศาสตร์ ได้แก่ แบบจำลองอันดับศูนย์ (Zero-order) แบบจำลองอันดับหนึ่ง (First-order) แบบจำลองฮิกูจิ (Higuchi) และแบบจำลองคอร์สไมเยอร์-เปปปาส (Korsmeyer–Peppas) เพื่อศึกษากลไกการปลดปล่อยของโพรไบโอติกจากเม็ดบีด ผลการวิเคราะห์แสดงในตารางที่ 14 พบว่าเม็ดบีด A ให้ค่า R^2 สูงสุดในแบบจำลอง Higuchi ($R^2 = 0.83132$) แสดงถึงการปลดปล่อยที่ควบคุมด้วยกระบวนการแพร่เป็นหลัก (Diffusion-controlled release) อย่างไรก็ตาม ค่า n จากแบบจำลอง Korsmeyer–Peppas เท่ากับ 0.2990 (< 0.43) ซึ่งบ่งชี้ว่ากลไกหลักเป็นแบบ Fickian diffusion กล่าวคือการเคลื่อนที่ของจุลินทรีย์ออกจากเมทริกซ์เกิดจากการแพร่เพียงอย่างเดียว เม็ดบีด AC มีค่า R^2 สูงสุดในแบบจำลอง First-order ($R^2 = 0.96942$) สะท้อนว่าการปลดปล่อยขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของโพรไบโอติกที่เหลืออยู่ในเม็ดบีด และค่า n เท่ากับ 0.5235 ซึ่งอยู่ในช่วง $0.43 < n < 1$ จัดอยู่ในกลไก non-Fickian หรือ Anomalous release หมายถึงการปลดปล่อยที่เกิดจากทั้งการแพร่และการพองตัวของพอลิเมอร์ร่วมกัน (Dash, 2010) และเม็ดบีด AI และ AIC มีค่า R^2 สูงสุดในแบบจำลอง Korsmeyer–Peppas (0.99516 และ 0.99667 ตามลำดับ) และมีค่า n เท่ากับ 0.6033 และ 0.6730 แสดงว่ากลไกการปลดปล่อยเป็นแบบ anomalous release เช่นเดียวกัน แต่มีแนวโน้มการควบคุมการปลดปล่อยที่ดีกว่า AC เนื่องจากมีทั้ง

R^2 และค่าดัชนี n ที่สูงกว่า ซึ่งชี้ให้เห็นถึงการปลดปล่อยที่ซับซ้อนและมีประสิทธิภาพมากขึ้น โดยเฉพาะเมื่อดูค่า AIC ที่มีค่า k สูงที่สุด (0.0277) บ่งชี้ถึงอัตราการปลดปล่อยที่รวดเร็วกว่าเมื่อดูสูตรอื่น ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับรายงาน Costa and Lobo (2001) และ Siepmann and Peppas (2011) ที่พบว่าแบบจำลอง Higuchi และ Korsmeyer-Peppas เหมาะสมต่อการอธิบายการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์จากเมทริกซ์พอลิเมอร์ ซึ่งอาจเกิดจากโครงสร้างของเมทริกซ์ที่มีความสามารถในการพองตัวและควบคุมการแพร่ของจุลินทรีย์ได้ การเติมอินนูลินและการเคลือบไคโตซาน (สูตร AI และ AIC) ส่งผลให้เกิดการปลดปล่อยแบบควบคุมได้ดียิ่งขึ้น โดยทำให้การปลดปล่อยไม่ได้เกิดจากการแพร่เพียงอย่างเดียว แต่มีการพองตัวและการสลายตัวของเมทริกซ์เข้ามาร่วมด้วย

ตารางที่ 14 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเม็ดบีดห่อหุ้มโพรไบโอติก

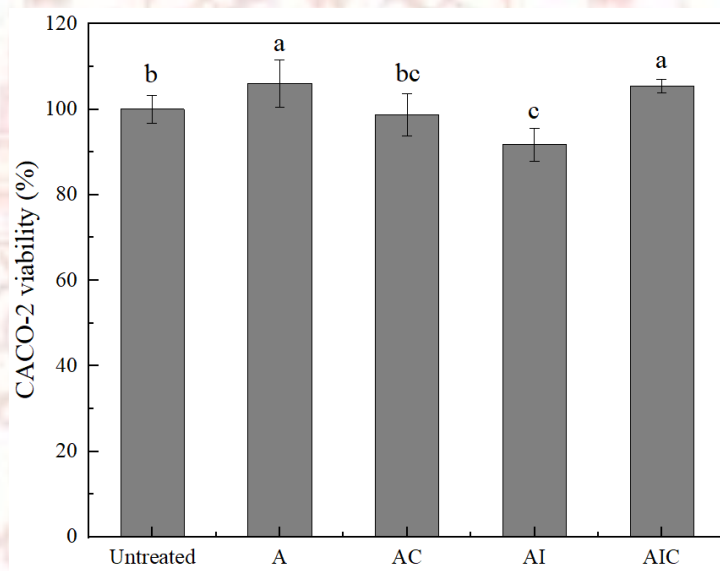
เม็ดบีด	Zero-order	First-order	Higuchi	Korsmeyer-Peppas	k	n
	R^2	R^2	R^2	R^2		
A	0.68846	0.81360	0.83132	0.79486	0.0011	0.2990
AC	0.85650	0.96942	0.88377	0.91755	0.0077	0.5235
AI	0.94199	0.97087	0.99072	0.99155	0.0160	0.6033
AIC	0.92559	0.99516	0.91958	0.99667	0.0277	0.6730

หมายเหตุ: k คือค่าคงที่อัตราการปลดปล่อยโพรไบโอติก และ n คือค่าดัชนีการปลดปล่อยใช้บอกกลไกการปลดปล่อย

4.10. ความเป็นพิษต่อเซลล์ของเม็ดบีดโพรไบโอติกหลังการย่อยแบบจำลองในหลอดทดลองโดยใช้เซลล์เยื่อบุลำไส้ Caco-2

ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ Caco-2 ของเม็ดบีดโพรไบโอติกหลังการย่อยแบบจำลองในหลอดทดลอง แสดงให้เห็นว่า ความมีชีวิตของเซลล์ยังคงอยู่ในระดับสูงทุกสูตร โดยมีค่าเท่ากับ 106% ในสูตร A, 97% ในสูตร AC, 93% ในสูตร AI และ 108% ในสูตร AIC ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 26 เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมเชิงบวก (Untreated) พบว่าไม่มีสูตรใดที่ทำให้ความมีชีวิตของเซลล์ต่ำกว่า 70% ซึ่งเป็นเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดโดย ISO 10993-5 สำหรับการพิจารณาว่าเป็นสารที่ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ (Non-cytotoxic) ทั้งนี้พบว่าสูตร A และ AIC มีค่าความมีชีวิตของเซลล์สูงกว่าสูตรอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.0001$) สะท้อนให้เห็นถึงความเป็นไปได้ที่องค์ประกอบของเม็ดบีดในสองสูตรนี้อาจมีบทบาทในการปกป้องเซลล์จากความเสียหาย

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเม็ดบีดโพรไบโอติกทุกสูตรไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ Caco-2 และยังคงความมีชีวิตของเซลล์ในระดับสูงกว่าเกณฑ์มาตรฐานอย่างชัดเจน เนื่องจากโพรไบโอติกและพรีไบโอติกมีบทบาทในการสร้างสมดุลของจุลชีพและป้องกันความเสียหายของเยื่อบุลำไส้ผ่านการสร้างกรดไขมันสายสั้น ซึ่งช่วยเสริมสร้างการเชื่อมต่อระหว่างลำไส้ (Tight junctions) (Rau et al., 2024) การที่สูตร AIC แสดงค่าความมีชีวิตของเซลล์สูงที่สุด อาจเนื่องมาจากการเสริมอินนูลินร่วมกับการเคลือบไคโตซาน ซึ่งนอกจากจะช่วยคงความมีชีวิตรอดของโพรไบโอติกแล้วยังอาจสร้างสภาวะที่ส่งผลเชิงบวกต่อเซลล์ลำไส้ เช่น การทำหน้าที่เป็นแหล่งพลังงานและการลดความเครียดออกซิเดชันของเซลล์ลำไส้ (Kolida & Gibson, 2007) ผลการทดลองนี้ยืนยันว่าเม็ดบีดโพรไบโอติกที่พัฒนาขึ้นมีความปลอดภัยและมีศักยภาพสำหรับการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เสริมอาหารหรือนวัตกรรมอาหารเชิงฟังก์ชัน



ภาพที่ 26 ผลการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของเม็ดบีดหลังการย่อยแบบจำลองในหลอดทดลองโดยใช้เซลล์เยื่อบุลำไส้ Caco-2

4.11. ความสามารถในการจับไขมันของเม็ดบีดภายใต้การย่อยในระบบทางเดินอาหาร

ความสามารถในการจับไขมันของเม็ดบีดภายใต้การย่อยในระบบทางเดินอาหารของสูตร A, AC, AI และ AIC ดังแสดงในตารางที่ 15 พบว่าเม็ดบีดทุกสูตรมีความสามารถในการจับไขมันอิ่มตัว (น้ำมันหมู) ได้สูงกว่าไขมันไม่อิ่มตัว (น้ำมันถั่วเหลือง) โดยสูตร AC (1.40 ± 0.27 กรัมไขมัน/กรัมเม็ดบีด) และ AIC (1.35 ± 0.10 กรัมไขมัน/กรัมเม็ดบีด) มีค่าการจับไขมันอิ่มตัวสูงที่สุด ซึ่งแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.0001$) เมื่อเทียบกับสูตร A (0.45 ± 0.14 g/g) และ AI (0.29 ± 0.02 กรัมไขมัน/กรัมเม็ดบีด) ในขณะที่ความสามารถในการจับไขมันไม่อิ่มตัวของเม็ดบีดแต่ละสูตรไม่พบ

ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าโครงสร้างการห่อหุ้มที่มีการเคลือบไคโตซาน (AC และ AIC) ช่วยเพิ่มความสามารถในการจับไขมันอิ่มตัวได้ดีกว่าโครงสร้างที่ไม่มีการเคลือบ (A และ AI) เนื่องจากไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ที่มีประจุบวกของหมู่อะมิโน ($-NH_2^+$) สามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนและแรงดึงดูดทางไฟฟ้าสถิตกับกรดไขมันอิสระหรือตัวกลางที่มีประจุลบ ส่งผลให้เม็ดปิดมีศักยภาพสูงขึ้นในการดูดซับไขมัน โดยเฉพาะไขมันอิ่มตัวที่มีการจัดเรียงตัวของสายโซ่ตรงและแน่น (Othman & Abd Rahman, 2024) นอกจากนี้ การที่เม็ดปิดจับไขมันอิ่มตัวได้ดีกว่าไขมันไม่อิ่มตัว อาจเนื่องมาจากความแตกต่างของโครงสร้างโมเลกุล โดยไขมันอิ่มตัวมีโครงสร้างสายตรงที่สามารถจัดเรียงตัวแน่นและเข้ากับโครงข่ายพอลิเมอร์ได้ง่ายกว่า ขณะที่ไขมันไม่อิ่มตัวมีพันธะคู่ซึ่งก่อให้เกิดการบิดงอของสายโซ่ ทำให้การยึดเกาะกับเมทริกซ์ลดลง (Vieira et al., 2015) โดยเม็ดปิดทั้งสองสูตรยังแสดงความสามารถในการจับไขมันภายใต้สภาวะจำลองทางเดินอาหาร ทำให้เม็ดปิดมีความหลากหลายของฟังก์ชันการทำงาน ไม่เพียงแค่ปลดปล่อยโพรไบโอติกเท่านั้น แต่ยังสามารถจับไขมันในลำไส้ไปพร้อมกัน ซึ่งเพิ่มคุณค่าของผลิตภัณฑ์ทั้งในด้านประสิทธิภาพและความหลากหลายของฟังก์ชันการทำงาน

ตารางที่ 15 ความสามารถในการจับไขมันของเม็ดปิดโพรไบโอติก

ประเภทไขมัน		ความสามารถจับไขมัน (กรัม ไขมัน/กรัม เม็ดปิด)			
		A	AC	AI	AIC
ไขมันอิ่มตัว	น้ำมันหมู	0.45 ± 0.14^b	1.40 ± 0.27^a	0.29 ± 0.02^b	1.35 ± 0.10^a
ไขมันไม่อิ่มตัว	น้ำมันถั่วเหลือง	0.15 ± 0.04^a	0.24 ± 0.03^a	0.16 ± 0.03^a	0.25 ± 0.11^a

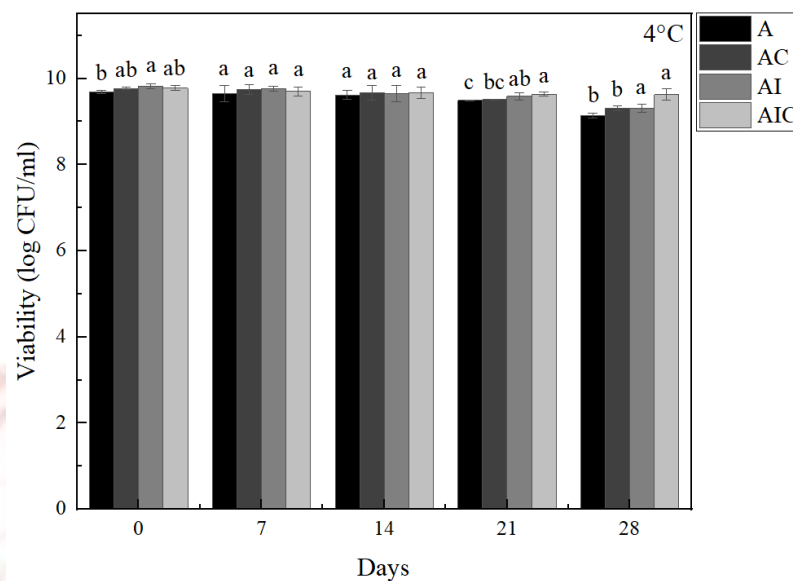
4.12. ความมีชีวิตรอดในการเก็บรักษาของเม็ดปิดโพรไบโอติกภายใต้อุณหภูมิต่าง ๆ

การศึกษาความมีชีวิตรอดของเม็ดปิดโพรไบโอติกที่ผ่านกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง ภายใต้สภาวะอุณหภูมิการเก็บรักษา 4, 25 และ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน พบว่าอุณหภูมิและวัสดุที่ใช้ห่อหุ้มส่งผลชัดเจนต่อการคงสภาพของจุลินทรีย์ ที่ 4°C ทุกสูตร A, AC, AI และ AIC สามารถรักษาความมีชีวิตรอดได้ใกล้เคียงค่าตั้งต้นประมาณ $9 \log \text{CFU/ml}$ ตลอด 28 วัน (ภาพที่ 27) ที่ 25 องศาเซลเซียส พบการลดลงชัดเจนเมื่อเวลาการเก็บเพิ่มขึ้น โดยสูตร A ลดลงมากที่สุดประมาณ $2.5 \log \text{CFU/ml}$ ภายใน 28 วัน ในขณะที่ AC, AI และ AIC ลดลงน้อยกว่า โดยเฉพาะ AI และ AIC สามารถคงระดับได้มากกว่า $8.5 \log \text{CFU/ml}$ แสดงให้เห็นว่าการห่อหุ้มด้วยอินูลินและเคลือบไคโตซานมีบทบาทช่วยรักษาความมีชีวิตรอดของโพรไบโอติก (ภาพที่ 28) และที่ 37

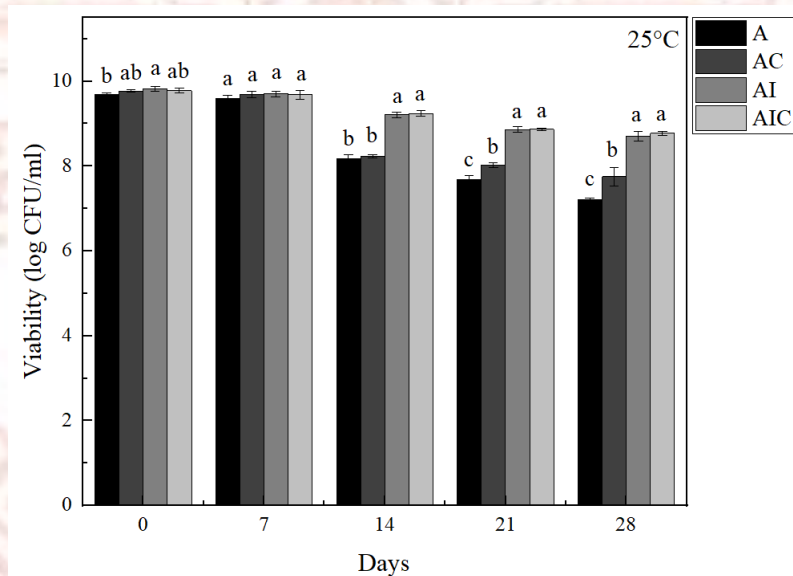
องศาเซลเซียส พบการสูญเสียความมีชีวิตรอดสูงสุด โดยสูตร A โพรไบโอติกมีชีวิตรอด 7.0 log CFU/ml ในวันที่ 28 ขณะที่ AC, AI และ AIC ช่วยลดการสูญเสียได้ โดย AIC ความมีชีวิตรอดของโพรไบโอติกสูงสุด 7.32 log CFU/ml (ภาพที่ 29)

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าอุณหภูมิเป็นปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อการคงเหลือของโพรไบโอติก การเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทำให้ความมีชีวิตรอดของเซลล์คงที่ตลอดการเก็บ เนื่องจากอุณหภูมิต่ำช่วยลดอัตราการหายใจของจุลินทรีย์ ลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และชะลอการเสื่อมสลายของโครงสร้างเจล ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Ji et al. (2019) ที่พบว่าการเก็บโพรไบโอติกที่ 4 องศาเซลเซียส ทำให้สามารถรักษาความมีชีวิตรอดได้ดีกว่าเก็บในสภาวะอุณหภูมิสูงและการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และ 37 องศาเซลเซียส พบการลดลงของความมีชีวิตรอด โดยเฉพาะในสูตร A และ AC ที่มีอัลจินตอย่างเดียว ซึ่งยืนยันว่าอัลจินตเพียงอย่างเดียวมีข้อจำกัดในการปกป้องโพรไบโอติก แต่สูตรที่ผสมอินนูลิน AI และ AIC แสดงให้เห็นว่าอัลจินตเพียงอย่างเดียวไม่สามารถปกป้องโพรไบโอติกจากสภาวะอุณหภูมิสูงได้อย่างเพียงพอ เนื่องจากอินนูลินทำหน้าที่เป็นโพรไบโอติกที่ช่วยเพิ่มความเสถียรของโครงสร้างเจลและทำหน้าที่เป็นแหล่งพลังงานสำรองให้แก่โพรไบโอติกในสภาวะการเก็บรักษา ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาโดย Parsana et al. (2023) ที่รายงานว่าเม็ดปิดอัลจินตผสมอินนูลินเคลือบไคโตซานสามารถรักษาความมีชีวิตรอดของโพรไบโอติกได้สูงกว่าสูตรอัลจินตเพียงอย่างเดียว นอกจากนี้การเคลือบไคโตซานบนผิวเม็ดปิด สูตร AC และ AIC ช่วยเพิ่มความแข็งแรงเชิงกล ลดการรั่วไหลของสารภายใน และลดการแพร่ของออกซิเจนหรือน้ำเข้าสู่เม็ดปิด ส่งผลให้โพรไบโอติกทนต่อการเสื่อมสลายได้ดียิ่งขึ้น (Ji et al., 2019)

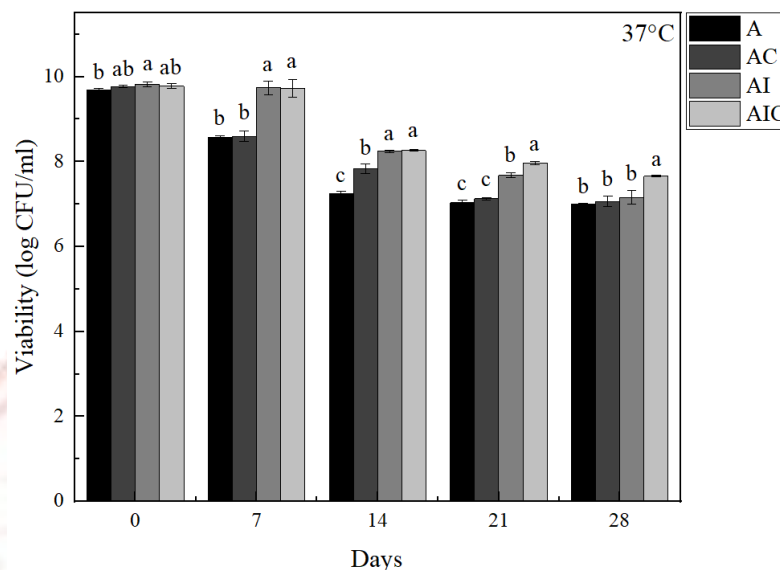
ผลการทดลองนี้ยังแสดงให้เห็นว่า สูตร AIC มีความเสถียรสูงที่สุดในทุกอุณหภูมิการเก็บ โดยเฉพาะที่ 25 และ 37 องศาเซลเซียส ที่มีการสูญเสียความมีชีวิตรอน้อยกว่าสูตรอื่น แสดงถึงผลร่วมเชิงบวก (Synergistic effect) ระหว่างอัลจินต อินนูลิน และไคโตซาน ซึ่งสนับสนุนรายงานของ Fayed et al. (2018) ที่ชี้ว่าการห่อหุ้มแบบซินไบโอติกสามารถเพิ่มความคงตัวและการรอดชีวิตในสภาวะรุนแรงในระบบทางเดินอาหารได้มากขึ้น



ภาพที่ 27 ความมีชีวิตรอดในการเก็บรักษาของเมล็ดปัดโพไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มภายใต้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 28 วัน



ภาพที่ 28 ความมีชีวิตรอดในการเก็บรักษาของเมล็ดปัดโพไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มภายใต้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 28 วัน



ภาพที่ 29 ความมีชีวิตรอดในการเก็บรักษาของเม็ดบิตโพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มภายใต้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 28 วัน

4.13. การประมาณอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ด้วยการทดสอบอายุการเก็บแบบเร่ง

การประเมินอายุการเก็บรักษาของเม็ดบิตโพรไบโอติกที่ผ่านกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งภายใต้สภาวะเร่ง โดยใช้สมการจลนศาสตร์แบบจำลองอันดับหนึ่งในการคำนวณ เนื่องจากให้ค่า R^2 สูงที่สุดเมื่อเทียบกับสมการอันดับศูนย์

จากตารางที่ 16 พบว่าเม็ดบิตโพรไบโอติกมีอายุการเก็บรักษาแตกต่างกันไปตามสูตรและอุณหภูมิการเก็บรักษา โดยที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สูตร A มีอายุการเก็บรักษาเพียง 6 เดือน 29 วัน ขณะที่สูตร AC, AI และ AIC มีอายุการเก็บรักษายาวนานขึ้นคือ 9 เดือน 18 วัน, 1 ปี 2 เดือน 18 วัน และ 1 ปี 3 เดือน 8 วัน ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสูตรที่เติมอินนูลินหรือเคลือบไคโตซาน (AI และ AIC) สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้อย่างมีประสิทธิภาพ เนื่องจากอินนูลินทำหน้าที่เป็นพรีไบโอติกและมีคุณสมบัติปกป้องจุลินทรีย์จากความเสียหายระหว่างการเก็บรักษา (Mensink et al., 2015; Romano et al., 2018) ในสภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส พบว่าอายุการเก็บรักษาลดลงอย่างมีนัยสำคัญ โดยสูตร A มีอายุการเก็บรักษาเพียง 1 เดือน 11 วัน ขณะที่สูตร AI และ AIC สามารถยืดอายุได้ถึง 2 เดือน 28 วัน และ 3 เดือน 4 วัน ตามลำดับ สะท้อนว่าการใช้สารร่วมและการเคลือบเม็ดบิตช่วยเพิ่มความทนทานของจุลินทรีย์ต่อการเสื่อมสลายจากอุณหภูมิที่สูงขึ้น เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส อายุการเก็บรักษาลดลงอย่างชัดเจน โดยสูตร A มีอายุเพียง 28 วัน ในขณะที่สูตร AIC ยังคงมีอายุการเก็บรักษาได้สูงสุดคือ 1 เดือน 12 วัน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยก่อน

หน้าที่พบว่าการเคลือบหลายชั้นและการใช้สารพรีไบโอติกสามารถยืดอายุความคงตัวของโพรไบโอติกได้ดีกว่าสูตรที่ไม่มีพรีไบโอติก (Misra et al., 2022)

ตารางที่ 16 อายุการเก็บรักษาของเม็ดปิดโพรไบโอติกที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dry)

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	สูตร	k	$\ln N_0$	$\ln N_t$	T_s	อายุการเก็บรักษา
4	A	0.04145	22.50	13.82	209.43	6 เดือน 29 วัน
	AC	0.03021	22.52	13.82	288.26	9 เดือน 18 วัน
	AI	0.01984	22.61	13.82	443.18	1 ปี 2 เดือน 18 วัน
	AIC	0.01896	22.60	13.82	463.42	1 ปี 3 เดือน 8 วัน
25	A	0.21055	22.41	13.82	40.80	1 เดือน 11 วัน
	AC	0.20638	22.47	13.82	41.95	1 เดือน 12 วัน
	AI	0.10148	22.70	13.82	87.57	2 เดือน 28 วัน
	AIC	0.09199	22.50	13.82	94.45	3 เดือน 4 วัน
37	A	0.30096	22.09	13.82	27.50	28 วัน
	AC	0.21435	21.97	13.82	38.03	1 เดือน 8 วัน
	AI	0.22007	22.61	13.82	39.96	1 เดือน 10 วัน
	AIC	0.24417	23.98	13.82	41.61	1 เดือน 12 วัน

หมายเหตุ: k คืออัตราการเปลี่ยนแปลงคุณภาพ, $\ln N_0$ คือจำนวนเซลล์โพรไบโอติกในวันเริ่มต้น (วันที่ 0), $\ln N_t$ คือขีดจำกัดวิกฤติของจำนวนโพรไบโอติกทั้งหมด และ T_s คืออายุการเก็บรักษา (วัน)

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

การศึกษานี้มุ่งเน้นการพัฒนาผลิตภัณฑ์ไบโอติกซีเนอรัจี โดยมุ่งเน้นการศึกษาจุลนาผลศาสตร์ การผลิตมวลเซลล์ของโพรไบโอติกสองสายพันธุ์ ได้แก่ *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129 และ *Lactobacillus sporogenes* BC 208 ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ รวมถึงการประยุกต์ใช้เทคโนโลยี การห่อหุ้มโพรไบโอติกด้วยไบโอพอลิเมอร์ ได้แก่ อัลจิเนต อินนูลิน และโคโคซาน เพื่อเพิ่มควมมีชีวิต รอดของโพรไบโอติกภายใต้สภาวะการจำลองการย่อยอาหาร ตลอดจนประเมินคุณสมบัติด้านความ เป็นพิษต่อเซลล์ การจับไขมัน และอายุการเก็บรักษาของเม็ดปิด

5.1. การศึกษาจุลนาผลศาสตร์การผลิตและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของโพรไบโอติก

5.1.1. การเจริญเติบโตในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ

การศึกษานาผลศาสตร์การเจริญเติบโตและการผลิตมวลเซลล์ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพพบว่า *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129 เข้าสู่ระยะ Mid-log phase ที่เวลา 45 ชั่วโมง ขณะที่ *Lactobacillus sporogenes* BC 208 เข้าสู่ระยะ Mid-log phase ที่เวลา 20 ชั่วโมง การเพาะเลี้ยง *B. bifidum* TISTR 2129 ให้ค่าผลผลิตมวลชีวภาพ ($Y_{x/s}$) สูงกว่า (0.039 กรัมเซลล์/กรัมกลูโคส) เมื่อเทียบกับ *L. sporogenes* BC 208 (0.026 กรัมเซลล์/กรัมกลูโคส) ซึ่งบ่งชี้ถึงประสิทธิภาพในการ ผลิตมวลเซลล์ที่ดีกว่าภายใต้สภาวะการหมัก

5.1.2. การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันสายสั้นในน้ำหมักจากการเพาะเลี้ยงโพรไบโอติก สองสายพันธุ์

น้ำหมักจาก *B. bifidum* TISTR 2129 ให้ปริมาณกรดแลกติกสูงสุดที่ 310.35 มิลลิกรัมต่อ ลิตร ส่วน *L. sporogenes* BC 208 ให้ปริมาณกรดอะซิติกสูงสุดที่ 77.54 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตาม ไม่พบการผลิตกรดบิวทิริกและกรดโพรพิโอนิกในน้ำหมักของทั้งสองสายพันธุ์ ผลดังกล่าวแสดง ให้เห็นว่าสายพันธุ์โพรไบโอติกทั้งสองชนิดมีความสามารถในการผลิตกรดไขมันสายสั้นที่แตกต่างกัน โดยมีกรดแลกติกและกรดอะซิติกเป็นผลิตภัณฑ์หลัก ขณะที่การขาดการผลิตกรดบิวทิริกและโพรพิ โอนิกอาจมาจากข้อจำกัดของสายพันธุ์และองค์ประกอบอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่ไม่เหมาะสมต่อ เส้นทางเมแทบอลิซึมดังกล่าว

5.1.3. ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำหมักจากการเพาะเลี้ยงโพรไบโอติกสองสายพันธุ์

น้ำหมักจาก *L. sporogenes* BC 208 แสดงฤทธิ์การกำจัดอนุมูลอิสระ (DPPH) สูงกว่าเล็กน้อยที่ $40.34 \pm 1.68\%$ เทียบกับ *B. bifidum* TISTR 2129 ที่ $39.86 \pm 1.14\%$ ขณะที่กรดแอสคอร์บิก ซึ่งใช้เป็นกลุ่มควบคุมเชิงบวกให้ค่าการกำจัดสูงสุดที่ $92.23 \pm 2.16\%$ ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่า น้ำหมักจากโพรไบโอติกทั้งสองสายพันธุ์มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในระดับปานกลาง และมีค่าน้อยกว่าวิตามินซีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.0001$) แต่ยังแสดงถึงศักยภาพในการเป็นแหล่งสารออกฤทธิ์ชีวภาพที่สามารถช่วยลดความเครียดออกซิเดชันได้

5.2. ลักษณะทางกายภาพและเคมีของเม็ดบีด

เม็ดบีดทุกสูตร A, AC, AI, และ AIC มีรูปร่างทรงกลมและสีขาวนวล สูตร AIC มีขนาดใหญ่ที่สุด คือ 2.87 ± 0.16 มิลลิเมตร ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเติมอินนูลินและการเคลือบไคโตซานช่วยเพิ่มขนาดและความหนาแน่นของเม็ดบีด และการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค FTIR ยืนยันว่ามีการเกิดปฏิสัมพันธ์ระหว่างหมู่ไฮดรอกซิล ($-OH$) ของอินนูลินกับหมู่คาร์บอกซิเลต ($-COO^-$) ของอัลจิเนตผ่านพันธะไฮโดรเจน ซึ่งช่วยเสริมสร้างความแข็งแรงและเสถียรภาพของโครงสร้างเม็ดบีด

5.3. ประสิทธิภาพการห่อหุ้มของเม็ดบีดโพรไบโอติก

เม็ดบีดโพรไบโอติกที่ผลิตจากอัลจิเนตเพียงอย่างเดียวมีประสิทธิภาพการห่อหุ้มอยู่ในระดับปานกลาง แต่เมื่อมีการเติมอินนูลินลงในโครงสร้างเม็ดบีด ค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากอินนูลินมีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติกที่สามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนกับอัลจิเนต ส่งผลให้โครงข่ายเจลมีความหนาแน่นมากขึ้นและช่วยลดการรั่วซึมของเซลล์โพรไบโอติกออกจากเม็ดบีด ในขณะที่เดียวกับการเคลือบผิวเม็ดบีดด้วยไคโตซานก็มีส่วนช่วยเสริมสร้างความแข็งแรงของโครงสร้างเพิ่มเติมจากปฏิกิริยาไฟฟ้าสถิตร่วมกับอัลจิเนต ทำให้ผิวเม็ดบีดมีความทนทานต่อการแตกตัวได้ดีขึ้น

เมื่อพิจารณาสูตรทั้งหมด พบว่าสูตรที่มีทั้งอินนูลินและการเคลือบไคโตซาน (AIC) ให้ค่าประสิทธิภาพการห่อหุ้มสูงที่สุด โดยมีค่ามากกว่า 92% ซึ่งสูงกว่าสูตรอัลจิเนตเพียงอย่างเดียวอย่างชัดเจน แสดงให้เห็นว่าการใช้ไบโอพอลิเมอร์ร่วมกันสามารถช่วยเพิ่มความคงตัวและศักยภาพในการปกป้องโพรไบโอติกภายในเม็ดบีดได้อย่างมีประสิทธิภาพ ผลการวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่าการพัฒนาสูตรเม็ดบีดที่ผสมผสานทั้งอินนูลินและไคโตซานเป็นแนวทางที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการสร้างระบบนำส่งโพรไบโอติกไปยังลำไส้ที่มีคุณภาพและความคงตัวสูง

5.4. พฤติกรรมการบวมและการปลดปล่อยเม็ดบีดโพรไบโอติก

ผลการศึกษาพฤติกรรมการบวมของเม็ดบีดโพรไบโอติกพบว่า เม็ดบีดทุกสูตรมีการหดตัวเมื่ออยู่ในสภาวะกรดจำลองของกระเพาะอาหาร (pH 3) เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ซึ่งเป็นผลจากการที่กลุ่มคาร์บอกซิลของอัลจินเตรับโปรตอนและทำให้โครงสร้างเจลเกิดการหดตัวลง โดยสูตร AI และ AIC มีการหดตัวมากกว่าสูตร A และ AC อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สะท้อนว่าการเติมอินนูลินมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างในสภาวะกรด ขณะที่ในสภาวะจำลองลำไส้เล็ก (pH 7) เม็ดบีดทุกสูตรกลับมีการบวมตัวเพิ่มขึ้นอย่างเด่นชัด อันเนื่องมาจากการคลายตัวของโครงข่ายอัลจินเตและการดูดซึมน้ำเข้าสู่โครงร่างเจล ทำให้ค่าดัชนีการบวมอยู่ในช่วง 1.38–1.41

สำหรับการปลดปล่อยโพรไบโอติกภายใต้การย่อยอาหารในระบบทางเดินอาหารตามแบบจำลอง INFOGEST พบว่า เม็ดบีดทุกสูตรสามารถชะลอการปลดปล่อยเซลล์โพรไบโอติกในช่วงสภาวะกระเพาะอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยเฉพาะสูตรที่มีการเสริมอินนูลินและการเคลือบไคโตซาน (AIC) ซึ่งสามารถปกป้องเซลล์ไม่ให้ถูกทำลายได้ดีที่สุด และมีการปลดปล่อยจุลินทรีย์ออกมาอย่างต่อเนื่องเมื่อเข้าสู่สภาวะลำไส้เล็ก ซึ่งเป็นตำแหน่งเป้าหมายในการออกฤทธิ์ของโพรไบโอติก ผลดังกล่าวยืนยันว่าการปรับปรุงโครงสร้างเม็ดบีดด้วยการใช้ไบโอพอลิเมอร์ร่วมกันมีบทบาทสำคัญทั้งต่อพฤติกรรมการบวมและการควบคุมการปลดปล่อยจุลินทรีย์ โดยสูตร AIC ให้ค่าการปลดปล่อยสะสมสูงสุดที่ $7.32 \pm 0.03 \log \text{CFU/mL}$ ที่ 10.25 ชั่วโมง ซึ่งสูงกว่าเกณฑ์ขั้นต่ำในการให้ประโยชน์ต่อสุขภาพ ($6 \log \text{CFU/mL}$)

จากผลการทดลอง พบว่าเม็ดบีดสูตร A ปลดปล่อยสารออกฤทธิ์แบบ Fickian diffusion ซึ่งเป็นการแพร่เพียงอย่างเดียว ทำให้เกิดการปลดปล่อยเร็วและไม่สม่ำเสมอ ในขณะที่สูตร AC, AI และ AIC แสดงการปลดปล่อยแบบ Anomalous (non-Fickian diffusion) ซึ่งควบคุมร่วมกันโดยการแพร่ การบวมตัว และการสลายตัวของเมทริกซ์พอลิเมอร์ ส่งผลให้การปลดปล่อยสารออกฤทธิ์เกิดขึ้นอย่างค่อยเป็นค่อยไปและสม่ำเสมอ โดยเฉพาะสูตร AIC ที่มีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์สูงสุด ($R^2 = 0.99667$) จึงเหมาะสมที่สุดสำหรับการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์แบบควบคุมและมีประสิทธิภาพ

5.5. ความเป็นพิษต่อเซลล์ของเม็ดบีดโพรไบโอติกหลังการย่อยแบบจำลองในหลอดทดลองโดยใช้เซลล์เยื่อบุลำไส้ Caco-2

เม็ดบีดโพรไบโอติกทุกสูตรที่ผ่านการย่อยแบบจำลองแล้วแสดงความเป็นพิษต่อเซลล์เยื่อบุลำไส้ Caco-2 ในระดับต่ำมาก โดยมีความมีชีวิตของเซลล์สูงกว่า 93% ในทุกสูตร และสูตร AIC ให้ค่าความมีชีวิตของเซลล์สูงสุดที่ 100% ซึ่งยืนยันว่าผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยตามมาตรฐานสากล (ISO 10993-5)

5.6. ความสามารถในการจับไขมันของเม็ดปิดภายใต้การย่อยในระบบทางเดินอาหาร

ความสามารถในการจับไขมันของเม็ดปิดโพรไบโอติก พบว่า เม็ดปิดที่มีการเคลือบโคโตซาน (AC และ AIC) แสดงความสามารถในการจับไขมันอิ่มตัว (น้ำมันหมู) ได้สูงที่สุด (1.40 ± 0.27 และ 1.35 ± 0.10 กรัมไขมัน/กรัมเม็ดปิด ตามลำดับ) ซึ่งสูงกว่าสูตรที่ไม่มีการเคลือบอย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่าโคโตซานมีบทบาทสำคัญในการเพิ่มคุณสมบัติการจับไขมัน

5.7. ความคงตัวและอายุการเก็บรักษาในสภาวะเร่ง (Storage Stability and ASLT)

การศึกษาความคงตัวในการเก็บรักษา พบว่าที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทุกสูตรสามารถคงความมีชีวิตรอดของโพรไบโอติกในระดับสูงได้ตลอด 28 วัน เมื่อพิจารณาในสภาวะเร่ง (Accelerated Shelf-Life Testing, ASLT) ดำรับ AIC แสดงความคงตัวสูงสุด และมีอายุการเก็บรักษาที่คาดการณ์ด้วยแบบจำลองอันดับหนึ่งที่ยาวนานที่สุด ณ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส คือ 1 ปี 3 เดือน 8 วัน

5.8. ข้อเสนอแนะ

5.8.1. ข้อเสนอแนะด้านการปรับปรุงสภาวะการผลิตมวลเซลล์โพรไบโอติก

การเพิ่มผลผลิตมวลเซลล์และประสิทธิภาพการหมัก ควรมีการศึกษาเพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพทางจุลชีววิทยาของเชื้อ *Lactobacillus sporogenes* BC 208 เนื่องจากมีอัตราการผลิตมวลเซลล์ (Productivity) และผลผลิตมวลชีวภาพ ($Y_{x/s} = 0.026$ กรัมเซลล์/กรัมกลูโคส) ต่ำกว่า *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129 การวิจัยในอนาคตควรพิจารณาการปรับเปลี่ยนองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ เช่น ปรับอัตราส่วนคาร์บอนต่อไนโตรเจน (C/N ratio) ให้เหมาะสม หรือใช้ ระบบการหมักแบบป้อนสารอาหาร (fed-batch system) เพื่อลดระยะพักตัว (lag phase) และเพิ่มผลผลิตมวลเซลล์ให้สูงขึ้นสำหรับการใช้งานในระดับอุตสาหกรรม

5.8.2. การกระตุ้นการผลิตกรดไขมันสายสั้นที่มีประโยชน์อื่น ๆ

แม้ว่าน้ำหมักจะมีการผลิตกรดแลกติกและกรดอะซิติก แต่ไม่พบการผลิตกรดบิวทิริกและกรดโพรพิโอนิก ซึ่งเป็นกรดไขมันสายสั้นที่มีบทบาทสำคัญในการด้านการอักเสบและเสริมสุขภาพลำไส้ จึงควรทำการศึกษา การเติมพรีไบโอติกชนิดอื่น หรือสารตั้งต้นที่หลากหลาย นอกเหนือจาก MRS broth เช่น ไชรัป หรือเส้นใยอาหารบางชนิด เพื่อกระตุ้นทางเดินเมแทบอลิซึมของโพรไบโอติกให้สามารถผลิตกรดบิวทิริกและกรดโพรพิโอนิกได้

5.8.3. การวิเคราะห์ทางกายภาพของโครงสร้างของเม็ดปิด

สูตร AIC แสดงประสิทธิภาพการปกป้องและการปลดปล่อยที่ดีที่สุด และมีกลไกการปลดปล่อยแบบ Anomalous release ($n = 0.6730$) ดังนั้น เพื่อให้เข้าใจกลไกนี้มากยิ่งขึ้น ควรมีการวิเคราะห์โครงสร้างพื้นผิวและโครงสร้างภายในของอนุภาคด้วยเทคนิคกล้องจุลทรรศน์

อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) เพื่อแสดงภาพความหนาแน่นของเมทริกซ์ นอกจากนี้ หากต้องการยืนยันว่ามีการเคลือบไคโตซานจริง สามารถทำการวิเคราะห์ Zeta potential เพื่อประเมินประจุไฟฟ้าบนพื้นผิวของเม็ดบีด การเปลี่ยนแปลงของประจุรอบนอกสามารถสะท้อนการมีอยู่และความสมบูรณ์ของชั้นเคลือบพอลิเมอร์ได้ ทำให้สามารถเชื่อมโยงลักษณะทางโครงสร้างกับพฤติกรรมการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ได้อย่างชัดเจน

5.8.4. การทดสอบในผลิตภัณฑ์อาหารจริง

จากผลการศึกษาพบว่า เม็ดบีดโพรไบโอติกที่ผ่านกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze-drying) มีความคงตัวและอายุการเก็บรักษาที่ดี แสดงให้เห็นถึงศักยภาพในการนำไปใช้เชิงพาณิชย์ อย่างไรก็ตาม เพื่อให้ได้ข้อมูลที่ครอบคลุมและสะท้อนถึงการใช้งานจริงมากยิ่งขึ้น ควรมีการศึกษาคงตัวของเม็ดบีดซินไบโอติก (AIC) เพิ่มเติมในอนาคต โดยการนำไปประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารเชิงพาณิชย์หลากหลายประเภท เช่น ผลิตภัณฑ์นม โยเกิร์ต อาหารเสริม และอาหารหมักดอง การประยุกต์ใช้ดังกล่าวมีเป้าหมายเพื่อให้เม็ดบีดซินไบโอติกทำหน้าที่เป็นส่วนประกอบที่ช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน ปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ และลดระดับไขมันในร่างกาย นอกจากนี้ ควรมีการทดลองเพิ่มเติมเกี่ยวกับการนำเม็ดบีดไปใช้ในผลิตภัณฑ์ประเภทน้ำผลไม้หรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร เพื่อศึกษาผลต่อคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสและเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ อีกทั้ง ควรมีการทดสอบ ความทนความร้อนของเม็ดบีดโพรไบโอติก ภายใต้สภาวะการแปรรูปอาหารจริง เช่น การพาสเจอร์ไรซ์ (pasteurization) หรือการอบแห้ง (drying process) เพื่อประเมินความอยู่รอดของจุลินทรีย์ภายหลังผ่านกระบวนการผลิต เนื่องจากความสามารถในการคงตัวภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูงถือเป็นปัจจัยสำคัญที่กำหนดความเหมาะสมของเม็ดบีดโพรไบโอติกต่อการใช้งานในอุตสาหกรรมอาหาร ดังนั้น การประเมินความอยู่รอดของโพรไบโอติกในระหว่างการเก็บรักษาและการแปรรูปภายใต้สภาวะจริงของผลิตภัณฑ์ จึงเป็นขั้นตอนสำคัญที่ควรดำเนินการ เพื่อยืนยันถึงประสิทธิภาพและความเหมาะสมของเม็ดบีดซินไบโอติกสำหรับการใช้งานเชิงพาณิชย์ในอนาคต

บรรณานุกรม

- Afonina, I. S., Zhong, Z., Karin, M., & Beyaert, R. (2017). Limiting inflammation—the negative regulation of NF-**KB** and the NLRP3 inflammasome. *Nature immunology*, 18(8), 861-869.
- Ahern, D. K., Kreslake, J. M., & Phalen, J. M. (2006). What is eHealth (6): perspectives on the evolution of eHealth research. *Journal of medical Internet research*, 8(1), e490.
- Almjalawi, B. S. A., & Al Sa'ady, A. T. (2023). In Vitro Cytotoxic Effect of Biosurfactants Extracted from Bifidobacterium Species on MCF-7 and WRL68 Cell Lines. *Iranian Journal of Breast Diseases*, 15(4), 69-88.
- Altermann, E., Russell, W. M., Azcarate-Peril, M. A., Barrangou, R., Buck, B. L., McAuliffe, O., Souther, N., Dobson, A., Duong, T., & Callanan, M. (2005). INAUGURAL ARTICLE by a Recently Elected Academy Member: Complete genome sequence of the probiotic lactic acid bacterium *Lactobacillus acidophilus* NCFM. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(11), 3906.
- And, C. I., & Kailasapathy, K. (2005). Effect of co-encapsulation of probiotics with prebiotics on increasing the viability of encapsulated bacteria under in vitro acidic and bile salt conditions and in yogurt. *Journal of food science*, 70(1), M18-M23.
- Anderson, J. W., & Gilliland, S. E. (1999). Effect of fermented milk (yogurt) containing *Lactobacillus acidophilus* L1 on serum cholesterol in hypercholesterolemic humans. *Journal of the American College of Nutrition*, 18(1), 43-50.
- Apolinário, A. C., de Lima Damasceno, B. P. G., de Macêdo Beltrão, N. E., Pessoa, A., Converti, A., & da Silva, J. A. (2014). Inulin-type fructans: A review on

different aspects of biochemical and pharmaceutical technology.

Carbohydrate polymers, 101, 368-378.

Arai, S., Morinaga, Y., Yoshikawa, T., Ichiishi, E., Kiso, Y., Yamazaki, M., Morotomi, M., Shimizu, M., Kuwata, T., & Kaminogawa, S. (2002). Recent trends in functional food science and the industry in Japan. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 66(10), 2017-2029.

Arepally, D., & Goswami, T. K. (2019). Effect of inlet air temperature and gum Arabic concentration on encapsulation of probiotics by spray drying. *LWT*, 99, 583-593.

Arora, T., Singh, S., & Sharma, R. K. (2013). Probiotics: interaction with gut microbiome and antiobesity potential. *Nutrition*, 29(4), 591-596.

Atia, A., Gomma, A. I., Fliss, I., Beyssac, E., Garrait, G., & Subirade, M. (2017). Molecular and biopharmaceutical investigation of alginate–inulin synbiotic coencapsulation of probiotic to target the colon. *Journal of Microencapsulation*, 34(2), 171-184.

Aydın, S., Bacanlı, M., Anlar, H. G., Çal, T., Arı, N., Bucurgat, Ü. Ü., Başaran, A. A., & Başaran, N. (2019). Preventive role of Pycnogenol® against the hyperglycemia-induced oxidative stress and DNA damage in diabetic rats. *Food and Chemical Toxicology*, 124, 54-63.

Barajas-Nava, L. A., Sánchez, A. C., Castilla-Peon, M. F., Pizarro-Castellanos, M. P., & Frias, R. V. (2018). Probiotics for the treatment of irritable bowel syndrome in children. *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2018(8).

Barclay, T., Ginic-Markovic, M., Cooper, P., & Petrovsky, N. (2010). Inulin-a versatile polysaccharide with multiple pharmaceutical and food chemical uses. *Journal of Excipients & Food Chemicals*, 1(3).

- Barry, A. R., & Dixon, D. L. (2021). Omega-3 fatty acids for the prevention of atherosclerotic cardiovascular disease. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*, 41(12), 1056-1065.
- Basu, S., Banerjee, D., Chowdhury, R., & Bhattacharya, P. (2018). Controlled release of microencapsulated probiotics in food matrix. *Journal of Food Engineering*, 238, 61-69.
- Beecher, G. R. (1999). Phytonutrients' role in metabolism: effects on resistance to degenerative processes. *Nutrition Reviews*, 57(9), 3-6.
- Beneke, C. E., Viljoen, A. M., & Hamman, J. H. (2009). Polymeric plant-derived excipients in drug delivery. *Molecules*, 14(7), 2602-2620.
- Berg, G., Rybakova, D., Fischer, D., Cernava, T., Vergès, M.-C. C., Charles, T., Chen, X., Cocolin, L., Eversole, K., & Corral, G. H. (2020). Microbiome definition revisited: old concepts and new challenges. *Microbiome*, 8, 1-22.
- Bernardeau, M., Lehtinen, M., Forssten, S., & Nurminen, P. (2017). Importance of the gastrointestinal life cycle of *Bacillus* for probiotic functionality. *Journal of food science and technology*, 54(8), 2570-2584.
- Bolotin, A., Wincker, P., Mauer, S., Jaillon, O., Malarne, K., Weissenbach, J., Ehrlich, S. D., & Sorokin, A. (2001). The complete genome sequence of the lactic acid bacterium *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* IL1403. *Genome research*, 11(5), 731-753.
- Bongaerts, G. P., & Severijnen, R. S. (2016). A reassessment of the PROPATRIA study and its implications for probiotic therapy. *Nature biotechnology*, 34(1), 55-63.
- Bourebaba, Y., Marycz, K., Mularczyk, M., & Bourebaba, L. (2022). Postbiotics as potential new therapeutic agents for metabolic disorders management. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 153, 113138.

- Brinques, G. B., do Carmo Peralba, M., & Ayub, M. A. (2010). Optimization of probiotic and lactic acid production by *Lactobacillus plantarum* in submerged bioreactor systems. *J Ind Microbiol Biotechnol*, 37(2), 205-212.
<https://doi.org/10.1007/s10295-009-0665-1>
- Brodkorb, A., Egger, L., Alming, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu-Lacanal, C., Boutrou, R., & Carrière, F. (2019). INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. *Nature protocols*, 14(4), 991-1014.
- Brosnan, J. T., Mills, J. L., Ueland, P. M., Shane, B., Fan, R., Chiu, C.-Y., Pangilinan, F., Brody, L. C., Brosnan, M. E., & Pongnopparat, T. (2018). Lifestyle, metabolite, and genetic determinants of formate concentrations in a cross-sectional study in young, healthy adults. *The American journal of clinical nutrition*, 107(3), 345-354.
- Burgain, J., Gaiani, C., Linder, M., & Scher, J. (2011). Encapsulation of probiotic living cells: From laboratory scale to industrial applications. *Journal of Food Engineering*, 104(4), 467-483.
- Caggianiello, G., Kleerebezem, M., & Spano, G. (2016). Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: from health-promoting benefits to stress tolerance mechanisms. *Applied microbiology and biotechnology*, 100, 3877-3886.
- Cani, P. D., Amar, J., Iglesias, M. A., Poggi, M., Knauf, C., Bastelica, D., Neyrinck, A. M., Fava, F., Tuohy, K. M., & Chabo, C. (2007). Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes*, 56(7), 1761-1772.
- Cao, J., Yu, Z., Liu, W., Zhao, J., Zhang, H., Zhai, Q., & Chen, W. (2020). Probiotic characteristics of *Bacillus coagulans* and associated implications for human health and diseases. *Journal of functional foods*, 64, 103643.

- Castagliuolo, I., Lamont, J. T., Nikulasson, S. T., & Pothoulakis, C. (1996). *Saccharomyces boulardii* protease inhibits *Clostridium difficile* toxin A effects in the rat ileum. *Infection and immunity*, 64(12), 5225-5232.
- Chambers, E. S., Morrison, D. J., & Frost, G. (2015). Control of appetite and energy intake by SCFA: what are the potential underlying mechanisms? *Proceedings of the Nutrition Society*, 74(3), 328-336.
- Chan, W.-J. J., McLachlan, A. J., Luca, E. J., & Harnett, J. E. (2020). Garlic (*Allium sativum* L.) in the management of hypertension and dyslipidemia—A systematic review. *Journal of Herbal Medicine*, 19, 100292.
- Chávarri, M., Marañón, I., Ares, R., Ibáñez, F. C., Marzo, F., & del Carmen Villarán, M. (2010). Microencapsulation of a probiotic and prebiotic in alginate-chitosan capsules improves survival in simulated gastro-intestinal conditions. *International journal of food microbiology*, 142(1-2), 185-189.
- Cheikhyyoussef, A., Cheikhyyoussef, N., Chen, H., Zhao, J., Tang, J., Zhang, H., & Chen, W. (2010). Bifidin I—A new bacteriocin produced by *Bifidobacterium infantis* BCRC 14602: Purification and partial amino acid sequence. *Food Control*, 21(5), 746-753.
- Chen, J. J., Wang, R., Li, X.-f., & Wang, R.-l. (2011). *Bifidobacterium longum* supplementation improved high-fat-fed-induced metabolic syndrome and promoted intestinal Reg I gene expression. *Experimental Biology and Medicine*, 236(7), 823-831.
- Chen, X., Yang, G., Song, J.-H., Xu, H., Li, D., Goldsmith, J., Zeng, H., Parsons-Wingerter, P. A., Reinecker, H.-C., & Kelly, C. P. (2013). Probiotic yeast inhibits VEGFR signaling and angiogenesis in intestinal inflammation. *PloS one*, 8(5), e64227.
- Chiu, W.-C., Huang, Y.-L., Chen, Y.-L., Peng, H.-C., Liao, W.-H., Chuang, H.-L., Chen, J.-R., & Yang, S.-C. (2015). Synbiotics reduce ethanol-induced hepatic steatosis

and inflammation by improving intestinal permeability and microbiota in rats. *Food & Function*, 6(5), 1692-1700.

Cho, S. S. (2009). *Weight control and slimming ingredients in food technology*. John Wiley & Sons.

Chung, B. H., Horie, S., & Chiong, E. (2019). The incidence, mortality, and risk factors of prostate cancer in Asian men. *Prostate international*, 7(1), 1-8.

Claesson, M. J., Van Sinderen, D., & O'Toole, P. W. (2007). The genus *Lactobacillus*—a genomic basis for understanding its diversity. *FEMS microbiology letters*, 269(1), 22-28.

Cleophas, M. C., Ratter, J. M., Bekkering, S., Quintin, J., Schraa, K., Stroes, E. S., Netea, M. G., & Joosten, L. A. (2019). Effects of oral butyrate supplementation on inflammatory potential of circulating peripheral blood mononuclear cells in healthy and obese males. *Scientific reports*, 9(1), 775.

Corr, S. C., Li, Y., Riedel, C. U., O'Toole, P. W., Hill, C., & Gahan, C. G. (2007). Bacteriocin production as a mechanism for the antiinfective activity of *Lactobacillus salivarius* UCC118. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(18), 7617-7621.

Corsetti, A., & Settanni, L. (2007). Lactobacilli in sourdough fermentation. *Food research international*, 40(5), 539-558.

Corsinovi, L., Biasi, F., Poli, G., Leonarduzzi, G., & Isaia, G. (2011). Dietary lipids and their oxidized products in Alzheimer's disease. *Molecular nutrition & food research*, 55(S2), S161-S172.

Costa, P., & Lobo, J. M. S. (2001). Modeling and comparison of dissolution profiles. *European journal of pharmaceutical sciences*, 13(2), 123-133.

- Cotter, P. D., Ross, R. P., & Hill, C. (2013). Bacteriocins—a viable alternative to antibiotics? *Nature Reviews Microbiology*, 11(2), 95-105.
- Darjani, P., Nezhad, M. H., Kadkhodaei, R., & Milani, E. (2016). Influence of prebiotic and coating materials on morphology and survival of a probiotic strain of *Lactobacillus casei* exposed to simulated gastrointestinal conditions. *LWT*, 73, 162-167.
- Darvishi, N., Fard, N. A., & Sadrnia, M. (2021). Genomic and proteomic comparisons of bacteriocins in probiotic species *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* and inhibitory ability of *Escherichia coli* MG 1655. *Biotechnology reports*, 31, e00654.
- Das, L., Bhaumik, E., Raychaudhuri, U., & Chakraborty, R. (2012). Role of nutraceuticals in human health. *J Food Sci Technol*, 49(2), 173-183.
<https://doi.org/10.1007/s13197-011-0269-4>
- Dash, S. (2010). Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. *Acta Pol Pharm*.
- de LeBlanc, A. d. M., & Perdígón, G. (2010). The application of probiotic fermented milks in cancer and intestinal inflammation. *Proceedings of the Nutrition Society*, 69(3), 421-428.
- de Vos, P., Lazarjani, H. A., Poncelet, D., & Faas, M. M. (2014). Polymers in cell encapsulation from an enveloped cell perspective. *Advanced drug delivery reviews*, 67, 15-34.
- De Vrese, M., & Schrezenmeir. (2008). Probiotics, prebiotics, and synbiotics. *Food biotechnology*, 1-66.
- Deal, C. L., & Moskowitz, R. W. (1999). Nutraceuticals as therapeutic agents in osteoarthritis: the role of glucosamine, chondroitin sulfate, and collagen hydrolysate. *Rheumatic Disease Clinics of North America*, 25(2), 379-395.

- Delzenne, N. M., & Williams, C. M. (2002). Prebiotics and lipid metabolism. *Current opinion in lipidology*, 13(1), 61-67.
- Dinić, M., Pecikoza, U., Djokić, J., Stepanović-Petrović, R., Milenković, M., Stevanović, M., Filipović, N., Begović, J., Golić, N., & Lukić, J. (2018). Exopolysaccharide produced by probiotic strain *Lactobacillus paraplantarum* BGCG11 reduces inflammatory hyperalgesia in rats. *Frontiers in pharmacology*, 9, 1.
- Dixit, Y., Wagle, A., & Vakil, B. (2016). Patents in the field of probiotics, prebiotics, synbiotics: a review. *J Food Microbiol Saf Hyg*, 1(02), 1-13.
- Drabińska, N., Zieliński, H., & Krupa-Kozak, U. (2016). Technological benefits of inulin-type fructans application in gluten-free products—A review. *Trends in Food Science & Technology*, 56, 149-157.
- Drago, B. B., Kimura, D., Rovnaghi, C. R., Schwingshackl, A., Rayburn, M., Meduri, G. U., & Anand, K. J. (2015). Double-blind, placebo-controlled pilot randomized trial of methylprednisolone infusion in pediatric acute respiratory distress syndrome. *Pediatric Critical Care Medicine*, 16(3), e74-e81.
- Ducker, G. S., Ghergurovich, J. M., Mainolfi, N., Suri, V., Jeong, S. K., Hsin-Jung Li, S., Friedman, A., Manfredi, M. G., Gitai, Z., & Kim, H. (2017). Human SHMT inhibitors reveal defective glycine import as a targetable metabolic vulnerability of diffuse large B-cell lymphoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(43), 11404-11409.
- Duthie, G. G., Gardner, P. T., & Kyle, J. A. (2003). Plant polyphenols: are they the new magic bullet? *Proceedings of the Nutrition Society*, 62(3), 599-603.
- Egan, M., O'Connell Motherway, M., Kilcoyne, M., Kane, M., Joshi, L., Ventura, M., & Van Sinderen, D. (2014). Cross-feeding by *Bifidobacterium breve* UCC2003 during co-cultivation with *Bifidobacterium bifidum* PRL2010 in a mucin-based medium. *BMC microbiology*, 14, 1-14.

- Egbuna, C., & Dable-Tupas, G. (2020). Functional foods and nutraceuticals. *Springer Nature Switzerland AG*, 1, 1-632.
- Eid, R., Jakee, J., Rashidy, A., Asfour, H., Omara, S., Kandil, M., Mahmood, Z., Hahne, J., & Seida, A. (2016). Potential antimicrobial activities of probiotic *Lactobacillus* strains isolated from raw milk. *J Probiotics Health*, 4(2), 138.
- El-Kader, A., & Abu Hashish, H. (2020). Encapsulation techniques of food bioproduct. *Egyptian Journal of Chemistry*, 63(5), 1881-1909.
- FAO/WHO. (2006). Probiotics in food: Health and nutritional properties and guidelines for evaluation. In: Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health
- Fardet, A., & Rock, E. (2014). Toward a new philosophy of preventive nutrition: from a reductionist to a holistic paradigm to improve nutritional recommendations. *Adv Nutr*, 5(4), 430-446. <https://doi.org/10.3945/an.114.006122>
- Fareez, I. M., Lim, S. M., Mishra, R. K., & Ramasamy, K. (2015). Chitosan coated alginate-xanthan gum bead enhanced pH and thermotolerance of *Lactobacillus plantarum* LAB12. *International journal of biological macromolecules*, 72, 1419-1428.
- Fayed, B., Abood, A., El-Sayed, H. S., Hashem, A. M., & Mehanna, N. S. (2018). A synbiotic multiparticulate microcapsule for enhancing inulin intestinal release and *Bifidobacterium* gastro-intestinal survivability. *Carbohydrate polymers*, 193, 137-143.
- Fernandes, K. F. D., De Oliveira, K. Á. R., & De Souza, E. L. (2021). Application of potentially probiotic fruit-derived lactic acid bacteria loaded into sodium alginate coatings to control anthracnose development in guava and mango during storage. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 1-15.

- Fernández, L., Cárdenas, N., Arroyo, R., Manzano, S., Jiménez, E., Martín, V., & Rodríguez, J. M. (2016). Prevention of infectious mastitis by oral administration of *Lactobacillus salivarius* PS2 during late pregnancy. *Clinical Infectious Diseases*, 62(5), 568-573.
- Fuller, R. (1989). Probiotics in man and animals. *The Journal of applied bacteriology*, 66(5), 365-378.
- Fuller, R., & Peridigón, G. (2008). *Gut flora, nutrition, immunity and health*. John Wiley & Sons.
- Gänzle, M. G., & Follador, R. (2012). Metabolism of oligosaccharides and starch in lactobacilli: a review. *Frontiers in Microbiology*, 3, 340.
- Gao, Y., Liang, Q., Sun, J., Wu, X., Song, Y., Xu, Y., Nie, H., Huang, J., & Mu, G. (2025). Probiotic potential of lactic acid bacteria with antioxidant properties in modulating health: Mechanisms, applications, and future directions. *Food Bioscience*, 106181.
- Gaspar, C., Donders, G., Palmeira-de-Oliveira, R., Queiroz, J., Tomaz, C., Martinez-de-Oliveira, J., & Palmeira-de-Oliveira, A. (2018). Bacteriocin production of the probiotic *Lactobacillus acidophilus* KS400. *Amb Express*, 8, 1-8.
- Gbassi, G. K., Vandamme, T., Yolou, F. S., & Marchioni, E. (2011). In vitro effects of pH, bile salts and enzymes on the release and viability of encapsulated *Lactobacillus plantarum* strains in a gastrointestinal tract model. *International dairy journal*, 21(2), 97-102.
- Ghalfi, H., Allaoui, A., Destain, J., Benkerroum, N., & Thonart, P. (2006). Bacteriocin activity by *Lactobacillus curvatus* CWBI-B28 to inactivate *Listeria monocytogenes* in cold-smoked salmon during 4 C storage. *Journal of Food Protection*, 69(5), 1066-1071.

- Gibson, G. R., & Roberfroid, M. B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *The Journal of nutrition*, 125(6), 1401-1412.
- Gill, H., & Prasad, J. (2008). Probiotics, immunomodulation, and health benefits. *Bioactive components of milk*, 423-454.
- Giraffa, G., Chanishvili, N., & Widyastuti, Y. (2010). Importance of lactobacilli in food and feed biotechnology. *Research in microbiology*, 161(6), 480-487.
- Glibowski, P., & Bukowska, A. (2011). The effect of pH, temperature and heating time on inulin chemical stability. *Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria*, 10(2), 189-196.
- Gorain, S. (2024). Functional Foods and Nutraceuticals. In *Micronutrients and Macronutrients as Nutraceuticals* (pp. 1-45). Apple Academic Press.
- Görgün, B. U., & Ersan, L. Y. (2020). Short-chain fatty acids production by *Bifidobacterium* species in the presence of salep.
- Grice, E. A., & Segre, J. A. (2012). The human microbiome: our second genome. *Annual review of genomics and human genetics*, 13(1), 151-170.
- Grimm, V., Westermann, C., & Riedel, C. U. (2014). *Bifidobacteria*-host interactions—An update on colonisation factors. *BioMed research international*, 2014(1), 960826.
- Gu, Q. (2023). *Bacteriocins*. Springer.
- Guardamagna, O., Amaretti, A., Puddu, P. E., Raimondi, S., Abello, F., Cagliero, P., & Rossi, M. (2014). *Bifidobacteria* supplementation: effects on plasma lipid profiles in dyslipidemic children. *Nutrition*, 30(7-8), 831-836.

- Guarner, F. (2007). Studies with inulin-type fructans on intestinal infections, permeability, and inflammation. *The Journal of nutrition*, 137(11), 2568S-2571S.
- Guerra-Ponce, W. L., Gracia-Vásquez, S. L., González-Barranco, P., Camacho-Mora, I. A., Gracia-Vásquez, Y. A., Orozco-Beltrán, E., & Felton, L. A. (2016). In vitro evaluation of sustained released matrix tablets containing ibuprofen: a model poorly water-soluble drug. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 52, 751-759.
- GÜLTEKİN, M., Ramirez, P., Broutet, N., & Hutubessy, R. (2020). World Health Organization call for action to eliminate cervical cancer globally. In (Vol. 30).
- Guo, Q., Li, S., Xie, Y., Zhang, Q., Liu, M., Xu, Z., Sun, H., & Yang, Y. (2017). The NAD⁺-dependent deacetylase, Bifidobacterium longum Sir2 in response to oxidative stress by deacetylating SigH (OH) and FOXO3a in Bifidobacterium longum and HEK293T cell respectively. *Free Radical Biology and Medicine*, 108, 929-939.
- Hamasalim, H. J. (2016). Synbiotic as feed additives relating to animal health and performance. *Advances in Microbiology*, 6(4), 288-302.
- Hata, T., Tanaka, R., & Ohmomo, S. (2010). Isolation and characterization of plantaricin ASM1: a new bacteriocin produced by Lactobacillus plantarum A-1. *International journal of food microbiology*, 137(1), 94-99.
- Heidebach, T., Först, P., & Kulozik, U. (2012). Microencapsulation of probiotic cells for food applications. *Critical reviews in food science and nutrition*, 52(4), 291-311.
- Hertzler, S. R., & Clancy, S. M. (2003). Kefir improves lactose digestion and tolerance in adults with lactose maldigestion. *Journal of the American Dietetic association*, 103(5), 582-587.

- Hodgkinson, K., El Abbar, F., Dobranowski, P., Manoogian, J., Butcher, J., Figeys, D., Mack, D., & Stintzi, A. (2023). Butyrate's role in human health and the current progress towards its clinical application to treat gastrointestinal disease. *Clinical Nutrition*, 42(2), 61-75.
- Horvath, P., Coûté-Monvoisin, A.-C., Romero, D. A., Boyaval, P., Fremaux, C., & Barrangou, R. (2009). Comparative analysis of CRISPR loci in lactic acid bacteria genomes. *International journal of food microbiology*, 131(1), 62-70.
- Hou, K., Wu, Z.-X., Chen, X.-Y., Wang, J.-Q., Zhang, D., Xiao, C., Zhu, D., Koya, J. B., Wei, L., & Li, J. (2022). Microbiota in health and diseases. *Signal transduction and targeted therapy*, 7(1), 1-28.
- Houston, M. C. (2005). Nutraceuticals, vitamins, antioxidants, and minerals in the prevention and treatment of hypertension. *Progress in cardiovascular diseases*, 47(6), 396-449.
- Huang, H.-Y., Tang, Y.-J., King, V. A.-E., Chou, J.-W., & Tsen, J.-H. (2015). Properties of *Lactobacillus reuteri* chitosan-calcium-alginate encapsulation under simulated gastrointestinal conditions. *Int Microbiol*, 18(1), 61-69.
- Hyronimus, B., Le Marrec, C., Sassi, A. H., & Deschamps, A. (2000). Acid and bile tolerance of spore-forming lactic acid bacteria. *International journal of food microbiology*, 61(2-3), 193-197.
- Iwaniak, A., Darewicz, M., Mogut, D., & Minkiewicz, P. (2019). Elucidation of the role of in silico methodologies in approaches to studying bioactive peptides derived from foods. *Journal of functional foods*, 61, 103486.
- Iyer, P. G., Codipilly, D. C., Chandar, A. K., Agarwal, S., Wang, K. K., Leggett, C. L., Latuche, L. R., & Schulte, P. J. (2022). Prediction of progression in Barrett's esophagus using a tissue systems pathology test: a pooled analysis of

international multicenter studies. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 20(12), 2772-2779. e2778.

Jannah, S. R., Rahayu, E. S., Yanti, R., Suroto, D. A., & Wikandari, R. (2022). Study of Viability, Storage Stability, and Shelf Life of Probiotic Instant Coffee *Lactiplantibacillus plantarum* Subsp. *plantarum* Dad-13 in Vacuum and Nonvacuum Packaging at Different Storage Temperatures. *International Journal of Food Science*, 2022(1), 1663772.

Jensen, G. S., Cash, H. A., Farmer, S., & Keller, D. (2017). Inactivated probiotic *Bacillus coagulans* GBI-30 induces complex immune activating, anti-inflammatory, and regenerative markers in vitro. *Journal of inflammation research*, 107-117.

Ji, R., Wu, J., Zhang, J., Wang, T., Zhang, X., Shao, L., Chen, D., & Wang, J. (2019). Extending viability of *Bifidobacterium longum* in chitosan-coated alginate microcapsules using emulsification and internal gelation encapsulation technology. *Frontiers in Microbiology*, 10, 1389.

Jin, L., Hong, Y.-C., Pyo, J.-W., Song, H., Kang, J. Y., Lee, S. W., Yoon, D. S., Kim, B.-M., & No, K. (2009). Monitoring of swelling and degrading behavior of alginate beads using optical tweezers. *Biochip J*, 3(3), 213-218.

Jing, H., Huang, X., Du, X., Mo, L., Ma, C., & Wang, H. (2022). Facile synthesis of pH-responsive sodium alginate/carboxymethyl chitosan hydrogel beads promoted by hydrogen bond. *Carbohydrate polymers*, 278, 118993.

Kabir, A., Aiba, Y., Takagi, A., Kamiya, S., Miwa, T., & Koga, Y. (1997). Prevention of *Helicobacter pylori* infection by lactobacilli in a gnotobiotic murine model. *Gut*, 41(1), 49-55.

Kadooka, Y., Sato, M., Ogawa, A., Miyoshi, M., Uenishi, H., Ogawa, H., Ikuyama, K., Kagoshima, M., & Tsuchida, T. (2013). Effect of *Lactobacillus gasseri* SBT2055

in fermented milk on abdominal adiposity in adults in a randomised controlled trial. *British Journal of Nutrition*, 110(9), 1696-1703.

Kalliomäki, M., Salminen, S., Arvilommi, H., Kero, P., Koskinen, P., & Isolauri, E. (2001). Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *The Lancet*, 357(9262), 1076-1079.

Kalmokoff, M., Zwicker, B., O'hara, M., Matias, F., Green, J., Shastri, P., Green-Johnson, J., & Brooks, S. (2013). Temporal change in the gut community of rats fed high amylose cornstarch is driven by endogenous urea rather than strictly on carbohydrate availability. *Journal of applied microbiology*, 114(5), 1516-1528.

Kanatani, K., Oshimura, M., & Sano, K. (1995). Isolation and characterization of acidocin A and cloning of the bacteriocin gene from *Lactobacillus acidophilus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(3), 1061-1067.

Karamali, M., Dadkhah, F., Sadrkhanlou, M., Jamilian, M., Ahmadi, S., Tajabadi-Ebrahimi, M., Jafari, P., & Asemi, Z. (2016). Effects of probiotic supplementation on glycaemic control and lipid profiles in gestational diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Diabetes & metabolism*, 42(4), 234-241.

Kasubuchi, M., Hasegawa, S., Hiramatsu, T., Ichimura, A., & Kimura, I. (2015). Dietary gut microbial metabolites, short-chain fatty acids, and host metabolic regulation. *Nutrients*, 7(4), 2839-2849.

Kaushik, J. K., Kumar, A., Duary, R. K., Mohanty, A. K., Grover, S., & Batish, V. K. (2009). Functional and probiotic attributes of an indigenous isolate of *Lactobacillus plantarum*. *PloS one*, 4(12), e8099.

- Khalbas, A. H., Albayati, T. M., Ali, N. S., & Salih, I. K. (2024). Drug loading methods and kinetic release models using of mesoporous silica nanoparticles as a drug delivery system: A review. *South African Journal of Chemical Engineering*.
- Kim, H. S., & Gilliland, S. E. (1983). Lactobacillus acidophilus as a dietary adjunct for milk to aid lactose digestion in humans. *Journal of Dairy Science*, 66(5), 959-966.
- Klaenhammer, T. R. (1988). Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Biochimie*, 70(3), 337-349.
- Kobyliak, N., Conte, C., Cammarota, G., Haley, A. P., Styriak, I., Gaspar, L., Fusek, J., Rodrigo, L., & Kruzliak, P. (2016). Probiotics in prevention and treatment of obesity: a critical view. *Nutrition & metabolism*, 13, 1-13.
- Kocot, A. M., Jarocka-Cyrta, E., & Drabińska, N. (2022). Overview of the importance of biotics in gut barrier integrity. *International journal of molecular sciences*, 23(5), 2896.
- Kolars, J. C., Levitt, M. D., Aouji, M., & Savaiano, D. A. (1984). Yogurt—an autodigesting source of lactose. *New England Journal of Medicine*, 310(1), 1-3.
- Kolida, S., & Gibson, G. R. (2007). Prebiotic capacity of inulin-type fructans. *The Journal of nutrition*, 137(11), 2503S-2506S.
- Kondo, S., Xiao, J.-z., Satoh, T., Odamaki, T., Takahashi, S., Sugahara, H., Yaeshima, T., Iwatsuki, K., Kamei, A., & Abe, K. (2010). Antiobesity effects of Bifidobacterium breve strain B-3 supplementation in a mouse model with high-fat diet-induced obesity. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 74(8), 1656-1661.
- Konuray, G., & Erginkaya, Z. (2018). Potential use of Bacillus coagulans in the food industry. *Foods*, 7(6), 92.

- Krasaekoopt, W., Bhandari, B., & Deeth, H. (2003). Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *International dairy journal*, 13(1), 3-13.
- Krasaekoopt, W., Bhandari, B., & Deeth, H. (2004). The influence of coating materials on some properties of alginate beads and survivability of microencapsulated probiotic bacteria. *International dairy journal*, 14(8), 737-743.
- Krasaekoopt, W., Bhandari, B., & Deeth, H. C. (2006). Survival of probiotics encapsulated in chitosan-coated alginate beads in yoghurt from UHT-and conventionally treated milk during storage. *LWT-Food Science and Technology*, 39(2), 177-183.
- Krasaekoopt, W., & Watcharapoka, S. (2014). Effect of addition of inulin and galactooligosaccharide on the survival of microencapsulated probiotics in alginate beads coated with chitosan in simulated digestive system, yogurt and fruit juice. *LWT-Food Science and Technology*, 57(2), 761-766.
- Krasse, P., Carlsson, B., Dahl, C., Paulsson, A., Nilsson, Å., & Sinkiewicz, G. (2006). Decreased gum bleeding and reduced gingivitis by the probiotic *Lactobacillus reuteri*. *Swedish dental journal*, 30(2), 55-60.
- Krishna, A. R., Jayalekshmi, S. K., Antony, T. M. P., & Ramasamy, S. (2021). Antioxidant Activity of Antilisterial Bacteriocins Isolated from *Paenibacillus polymyxa* and *Enterococcus faecium* GRD AA. *Asian Journal of Biological and Life Sciences*, 10(3), 567.
- Krumbeck, J. A., Walter, J., & Hutkins, R. W. (2018). Synbiotics for Improved Human Health: Recent Developments, Challenges, and Opportunities. *Annu Rev Food Sci Technol*, 9, 451-479. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030117-012757>

- Kuczajowska-Zadrożna, M., Filipkowska, U., & Jóźwiak, T. (2020). Adsorption of Cu (II) and Cd (II) from aqueous solutions by chitosan immobilized in alginate beads. *Journal of environmental chemical engineering*, 8(4), 103878.
- Kuo, S.-M. (2013). The interplay between fiber and the intestinal microbiome in the inflammatory response. *Advances in Nutrition*, 4(1), 16-28.
- Kwoak, C.-S., Kim, S.-J., & Kim, C.-S. (2022). Microencapsulation of *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 and *Bifidobacterium bifidum* ATCC 1903 in alginate blended with starch by extrusion technique. *The Indian Journal of Animal Sciences*, 92(1), 136-138.
- Ladda, B., Jantararussamee, C., Pradidarcheep, W., Kasorn, A., Matsathit, U., & Taweechotipatr, M. (2023). Anti-inflammatory and gut microbiota modulating effects of probiotic *Lactobacillus paracasei* MSMC39-1 on dextran sulfate sodium-induced colitis in rats. *Nutrients*, 15(6), 1388.
- Laterza, L., Rizzatti, G., Gaetani, E., Chiusolo, P., & Gasbarrini, A. (2016). The gut microbiota and immune system relationship in human graft-versus-host disease. *Mediterranean journal of hematology and infectious diseases*, 8(1).
- Leahy, S., Higgins, D., Fitzgerald, G., & Van Sinderen, D. (2005). Getting better with bifidobacteria. *Journal of applied microbiology*, 98(6), 1303-1315.
- Lecerf, J.-M., Dépeint, F., Clerc, E., Dugenet, Y., Niamba, C. N., Rhazi, L., Cayzeele, A., Abdelnour, G., Jaruga, A., & Younes, H. (2012). Xylo-oligosaccharide (XOS) in combination with inulin modulates both the intestinal environment and immune status in healthy subjects, while XOS alone only shows prebiotic properties. *British Journal of Nutrition*, 108(10), 1847-1858.
- Lee, H.-J., & Kim, H.-Y. (2011). Lantibiotics, class I bacteriocins from the genus *Bacillus*. *Journal of microbiology and biotechnology*, 21(3), 229-235.

Lee, K. Y., & Mooney, D. J. (2012). Alginate: properties and biomedical applications. *Progress in polymer science*, 37(1), 106-126.

Lee, Y., Ji, Y. R., Lee, S., Choi, M.-J., & Cho, Y. (2019). Microencapsulation of probiotic *Lactobacillus acidophilus* KBL409 by extrusion technology to enhance survival under simulated intestinal and freeze-drying conditions.

Łepecka, A., Szymański, P., & Okoń, A. (2025). Isolation, identification, and evaluation of the antioxidant properties of lactic acid bacteria strains isolated from meat environment. *PloS one*, 20(7), e0327225.

Li, M., Wang, X., Dong, X., Teng, G., Dai, Y., & Wang, W. (2024). *Lactobacillus reuteri* compared with placebo as an adjuvant in *Helicobacter pylori* eradication therapy: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*, 17, 17562848241258021.

Liao, W., Sun, G., Xu, D., Wang, Y., Lu, Y., Sun, J., Xia, H., & Wang, S. (2021). The blood-pressure-lowering effect of food-protein-derived peptides: A meta-analysis of recent clinical trials. *Foods*, 10(10), 2316.

Lim, C., Lee, D. W., Israelachvili, J. N., Jho, Y., & Hwang, D. S. (2015). Contact time-and pH-dependent adhesion and cohesion of low molecular weight chitosan coated surfaces. *Carbohydrate polymers*, 117, 887-894.

Lin, S.-H., Chou, L.-M., Chien, Y.-W., Chang, J.-S., & Lin, C.-I. (2016). Prebiotic effects of xylooligosaccharides on the improvement of microbiota balance in human subjects. *Gastroenterology research and practice*, 2016(1), 5789232.

Liong, M. T., & Shah, N. P. (2005). Acid and bile tolerance and the cholesterol removal ability of bifidobacteria strains. *Bioscience and microflora*, 24(1), 1-10.

- Liu, G., Song, Z., Yang, X., Gao, Y., Wang, C., & Sun, B. (2016). Antibacterial mechanism of bifidocin A, a novel broad-spectrum bacteriocin produced by *Bifidobacterium animalis* BB04. *Food Control*, 62, 309-316.
- Liu, S. (2002). Intake of refined carbohydrates and whole grain foods in relation to risk of type 2 diabetes mellitus and coronary heart disease. *Journal of the American College of Nutrition*, 21(4), 298-306.
- LOKESH, P., PAVITHRA, N., NEELA, K., RAJAN, J., & ARSHAN, M. M. K. (2021). INVESTIGATION ON THE EFFECTIVENESS OF PROBIOTIC MICROBIOTA ON CANCER. *Asian Journal of Advances in Medical Science*, 3(1), 127-157.
- Lopes, S. M., Krausová, G., Rada, V., Gonçalves, J. E., Gonçalves, R. A., & de Oliveira, A. J. (2015). Isolation and characterization of inulin with a high degree of polymerization from roots of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni. *Carbohydrate research*, 411, 15-21.
- Lorenzo-Santiago, M., Camacho-Ruiz, R., García-Hernández, E., Rendón-Villalobos, R., Rodríguez-Campos, J., & Contreras-Ramos, S. (2023). Conversion of residual sugars from vinasses to 5-Hydroxymethyl furfural (5-HMF) and phenolic compounds using ion exchange resins and thermal treatment. *Environmental Technology & Innovation*, 32, 103354.
- Lotfipour, F., Mirzaeei, S., & Maghsoodi, M. (2012). Preparation and characterization of alginate and psyllium beads containing *Lactobacillus acidophilus*. *The Scientific World Journal*, 2012(1), 680108.
- Lustriane, C., Dwivany, F. M., Suendo, V., & Reza, M. (2018). Effect of chitosan and chitosan-nanoparticles on post harvest quality of banana fruits. *Journal of Plant Biotechnology*, 45(1), 36-44.
- Machiels, K., Joossens, M., Sabino, J., De Preter, V., Arijs, I., Eeckhaut, V., Ballet, V., Claes, K., Van Immerseel, F., & Verbeke, K. (2014). A decrease of the

butyrate-producing species *Roseburia hominis* and *Faecalibacterium prausnitzii* defines dysbiosis in patients with ulcerative colitis. *Gut*, 63(8), 1275-1283.

Majeed, M., Nagabhushanam, K., Natarajan, S., Sivakumar, A., Ali, F., Pande, A., Majeed, S., & Karri, S. K. (2015). *Bacillus coagulans* MTCC 5856 supplementation in the management of diarrhea predominant Irritable Bowel Syndrome: a double blind randomized placebo controlled pilot clinical study. *Nutrition Journal*, 15, 1-10.

Malektaj, H., Drozdov, A. D., & deClaville Christiansen, J. (2023). Swelling of homogeneous alginate gels with multi-stimuli sensitivity. *International journal of molecular sciences*, 24(6), 5064.

Manson, J. E., Cook, N. R., Lee, I.-M., Christen, W., Bassuk, S. S., Mora, S., Gibson, H., Albert, C. M., Gordon, D., & Copeland, T. (2019). Marine n-3 fatty acids and prevention of cardiovascular disease and cancer. *New England Journal of Medicine*, 380(1), 23-32.

Marín-Manzano, M. C., Abecia, L., Hernández-Hernández, O., Sanz, M. L., Montilla, A., Olano, A., Rubio, L. A., Moreno, F. J., & Clemente, A. (2013). Galacto-oligosaccharides derived from lactulose exert a selective stimulation on the growth of *Bifidobacterium animalis* in the large intestine of growing rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(31), 7560-7567.

Marteau, P., Minekus, M., Havenaar, R., & Huis, J. (1997). Survival of lactic acid bacteria in a dynamic model of the stomach and small intestine: validation and the effects of bile. *Journal of Dairy Science*, 80(6), 1031-1037.

Martín, M. J., Lara-Villoslada, F., Ruiz, M. A., & Morales, M. E. (2015).

Microencapsulation of bacteria: A review of different technologies and their

impact on the probiotic effects. *Innovative food science & emerging technologies*, 27, 15-25.

Masoomi Dezfooli, S., Bonnot, C., Gutierrez-Maddox, N., Alfaro, A. C., & Seyfoddin, A. (2022). Chitosan coated alginate beads as probiotic delivery system for New Zealand black footed abalone (*Haliotis iris*). *Journal of Applied Polymer Science*, 139(29), e52626.

Matusek, A., Merész, P., Le, T. K. D., & Örsi, F. (2009). Effect of temperature and pH on the degradation of fructo-oligosaccharides. *European Food Research and Technology*, 228, 355-365.

Meng, H., Ba, Z., Lee, Y., Peng, J., Lin, J., Fleming, J. A., Furumoto, E. J., Roberts, R. F., Kris-Etherton, P. M., & Rogers, C. J. (2017). Consumption of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 in yogurt reduced expression of TLR-2 on peripheral blood-derived monocytes and pro-inflammatory cytokine secretion in young adults. *European journal of nutrition*, 56, 649-661.

Mensink, M. A., Frijlink, H. W., van der Voort Maarschalk, K., & Hinrichs, W. L. (2015). Inulin, a flexible oligosaccharide I: Review of its physicochemical characteristics. *Carbohydrate polymers*, 130, 405-419.

Messaoudi, S., Manai, M., Kergourlay, G., Prévost, H., Connil, N., Chobert, J.-M., & Dousset, X. (2013). *Lactobacillus salivarius*: bacteriocin and probiotic activity. *Food microbiology*, 36(2), 296-304.

Metchnikoff, I. I. (2004). *The prolongation of life: optimistic studies*. Springer Publishing Company.

Meyer, T. S. M., Miguel, Â. S. M., Fernández, D. E. R., & Ortiz, G. M. D. (2015). Biotechnological production of oligosaccharides—applications in the food industry. *Food production and industry*, 2, 25-78.

- Mine, Y., & Shahidi, F. (2005). *Nutraceutical proteins and peptides in health and disease*. CRC Press.
- Misra, S., Pandey, P., Dalbhat, C. G., & Mishra, H. N. (2022). Emerging technologies and coating materials for improved probiotication in food products: A review. *Food and Bioprocess Technology*, 15(5), 998-1039.
- Mišurcová, L., Ambrožová, J., & Samek, D. (2011). Seaweed lipids as nutraceuticals. *Advances in food and nutrition research*, 64, 339-355.
- Mitrou, P., Petsiou, E., Papakonstantinou, E., Maratou, E., Lambadiari, V., Dimitriadis, P., Spanoudi, F., Raptis, S., & Dimitriadis, G. (2015). The role of acetic acid on glucose uptake and blood flow rates in the skeletal muscle in humans with impaired glucose tolerance. *European Journal of Clinical Nutrition*, 69(6), 734-739.
- Möckel, J. E., & Lippold, B. C. (1993). Zero-order drug release from hydrocolloid matrices. *Pharmaceutical research*, 10, 1066-1070.
- Myung, S. K., Kim, H. B., Lee, Y. J., Choi, Y. J., & Oh, S. W. (2021). Calcium Supplements and Risk of Cardiovascular Disease: A Meta-Analysis of Clinical Trials. *Nutrients*, 13(2). <https://doi.org/10.3390/nu13020368>
- Nag, A., Han, K.-S., & Singh, H. (2011). Microencapsulation of probiotic bacteria using pH-induced gelation of sodium caseinate and gellan gum. *International dairy journal*, 21(4), 247-253.
- Nguyen, H.-T., Truong, D.-H., Kouhondé, S., Ly, S., Razafindralambo, H., & Delvigne, F. (2016). Biochemical engineering approaches for increasing viability and functionality of probiotic bacteria. *International journal of molecular sciences*, 17(6), 867.
- Niamah, A. K., Al-Sahlany, S. T. G., Ibrahim, S. A., Verma, D. K., Thakur, M., Singh, S., Patel, A. R., Aguilar, C. N., & Utama, G. L. (2021). Electro-hydrodynamic

processing for encapsulation of probiotics: A review on recent trends, technological development, challenges and future prospect. *Food Bioscience*, 44, 101458.

Nyangale, E. P., Farmer, S., Cash, H. A., Keller, D., Chernoff, D., & Gibson, G. R. (2015). *Bacillus coagulans* GBI-30, 6086 modulates *Faecalibacterium prausnitzii* in older men and women. *The Journal of nutrition*, 145(7), 1446-1452.

O'Callaghan, A., & Van Sinderen, D. (2016). Bifidobacteria and their role as members of the human gut microbiota. *Frontiers in Microbiology*, 7, 925.

O'Flaherty, S., & Klaenhammer, T. R. (2010). The role and potential of probiotic bacteria in the gut, and the communication between gut microflora and gut/host. *International dairy journal*, 20(4), 262-268.
<https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.11.011>

O'Shea, E. F., O'Connor, P. M., O'Sullivan, O., Cotter, P. D., Ross, R. P., & Hill, C. (2013). Bactofencin A, a new type of cationic bacteriocin with unusual immunity. *MBio*, 4(6), 10.1128/mbio. 00498-00413.

Oesser, S., Schunk, M., & Proksch, E. (2020). Positive effect of fish-derived Bioactive Collagen Peptides on skin health. *International Journal on Nutraceuticals, Functional Foods and Novel Foods*.

Ohashi, Y., & Ushida, K. (2009). Health-beneficial effects of probiotics: Its mode of action. *Animal Science Journal*, 80(4), 361-371.

Oliviero, F., Scanu, A., Zamudio-Cuevas, Y., Punzi, L., & Spinella, P. (2018). Anti-inflammatory effects of polyphenols in arthritis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(5), 1653-1659.

Othman, S. A., & Abd Rahman, S. N. F. (2024). Chitosan Properties: A Preliminary Review. *Journal of Advanced Mechanical Engineering Applications*, 5(1), 8-12.

Ouwehand, A. C., Salminen, S., & Isolauri, E. (2002). Probiotics: an overview of beneficial effects. Lactic Acid Bacteria: Genetics, Metabolism and Applications: Proceedings of the seventh Symposium on lactic acid bacteria: genetics, metabolism and applications, 1–5 September 2002, Egmond aan Zee, the Netherlands,

Ozogul, F., Cagalj, M., Šimat, V., Ozogul, Y., Tkaczewska, J., Hassoun, A., Kaddour, A. A., Kuley, E., Rathod, N. B., & Phadke, G. G. (2021). Recent developments in valorisation of bioactive ingredients in discard/seafood processing by-products. *Trends in Food Science & Technology*, 116, 559-582.

Paarakh, M. P., Jose, P. A., Setty, C., & Peterchristoper, G. (2018). Release kinetics– concepts and applications. *International Journal of Pharmacy Research & Technology (IJPRT)*, 8(1), 12-20.

Padmavathi, T., Bhargavi, R., Priyanka, P. R., Niranjan, N. R., & Pavitra, P. V. (2018). Screening of potential probiotic lactic acid bacteria and production of amylase and its partial purification. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 16(2), 357-362.

Palacios, J., Vignolo, G., Farias, M., de Ruiz Holgado, A. P., Oliver, G., & Sesma, F. (1999). Purification and amino acid sequence of lactocin 705, a bacteriocin produced by *Lactobacillus casei* CRL 705. *Microbiological Research*, 154(2), 199-204.

Paliyath, G., Bakovic, M., & Shetty, K. (2011). *Functional foods, nutraceuticals, and degenerative disease prevention*. John Wiley & Sons.

- Pandey, K. R. (2016). Development of bioprocess for high density cultivation yield the probiotic *Bacillus coagulans* and its spores. *Journal of BioScience and Biotechnology*, 5(2), 173-181.
- Parsana, Y., Yadav, M., & Kumar, S. (2023). Microencapsulation in the chitosan-coated alginate-inulin matrix of *Limosilactobacillus reuteri* SW23 and *Lactobacillus salivarius* RBL50 and their characterization. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 5, 100285.
- Parvez, S., Malik, K. A., Ah Kang, S., & Kim, H. Y. (2006). Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *Journal of applied microbiology*, 100(6), 1171-1185.
- Paul, D. (2011). Elaborations on the Higuchi model for drug delivery. *International journal of pharmaceutics*, 418(1), 13-17.
- Peredo, A., Beristain, C., Pascual, L., Azuara, E., & Jimenez, M. (2016). The effect of prebiotics on the viability of encapsulated probiotic bacteria. *LWT*, 73, 191-196.
- Pérez-Ramos, A., Madi-Moussa, D., Coucheney, F., & Drider, D. (2021). Current knowledge of the mode of action and immunity mechanisms of LAB-bacteriocins. *Microorganisms*, 9(10), 2107.
- Pérez-Sánchez, A., Barrajón-Catalán, E., Herranz-López, M., & Micol, V. (2018). Nutraceuticals for skin care: A comprehensive review of human clinical studies. *Nutrients*, 10(4), 403.
- Petrariu, O.-A., Barbu, I. C., Niculescu, A.-G., Constantin, M., Grigore, G. A., Cristian, R.-E., Mihaescu, G., & Vrancianu, C. O. (2024). Role of probiotics in managing various human diseases, from oral pathology to cancer and gastrointestinal diseases. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1296447.

- Pokusaeva, K., Fitzgerald, G. F., & van Sinderen, D. (2011). Carbohydrate metabolism in *Bifidobacteria*. *Genes & nutrition*, 6, 285-306.
- Porto, C. M., de Paula Santana da Silva, T., & Sougey, E. B. (2019). Contribuições da vitamina D no tratamento de sintomas depressivos e fatores de risco cardiovascular: protocolo de estudo para um ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado por placebo. *Trials*, 20(1), 583.
<https://doi.org/10.1186/s13063-019-3699-3>
- Raigond, P., Ezekiel, R., & Raigond, B. (2015). Resistant starch in food: a review. *J Sci Food Agric*, 95(10), 1968-1978. <https://doi.org/10.1002/jsfa.6966>
- Rajkumar, S. V., Richardson, P., & San Miguel, J. F. (2015). Guidelines for determination of the number of prior lines of therapy in multiple myeloma. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 126(7), 921-922.
- Rao, S. C., Athalye-Jape, G. K., Deshpande, G. C., Simmer, K. N., & Patole, S. K. (2016). Probiotic supplementation and late-onset sepsis in preterm infants: a meta-analysis. *Pediatrics*, 137(3).
- Rau, S., Gregg, A., Yaceczko, S., & Limketkai, B. (2024). Prebiotics and probiotics for gastrointestinal disorders. *Nutrients*, 16(6), 778.
- Razavi, S., Janfaza, S., Tasnim, N., Gibson, D. L., & Hoorfar, M. (2021). Microencapsulating polymers for probiotics delivery systems: Preparation, characterization, and applications. *Food Hydrocolloids*, 120, 106882.
- Reid, G. (2008). Probiotic Lactobacilli for urogenital health in women. *Journal of clinical gastroenterology*, 42, S234-S236.
- Reid, G., Jass, J., Sebuly, M. T., & McCormick, J. K. (2003). Potential uses of probiotics in clinical practice. *Clinical microbiology reviews*, 16(4), 658-672.

- Rinninella, E., Raoul, P., Cintoni, M., Franceschi, F., Miggiano, G. A. D., Gasbarrini, A., & Mele, M. C. (2019). What is the healthy gut microbiota composition? A changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases. *Microorganisms*, 7(1), 14.
- Rivière, A., Selak, M., Lantin, D., Leroy, F., & De Vuyst, L. (2016). Bifidobacteria and butyrate-producing colon bacteria: importance and strategies for their stimulation in the human gut. *Frontiers in Microbiology*, 7, 979.
- Roberfroid, M. B., & Delzenne, N. M. (1998). Dietary fructans. *Annual review of nutrition*, 18(1), 117-143.
- Romano, N., Mobili, P., Zuñiga-Hansen, M. E., & Gómez-Zavaglia, A. (2018). Physico-chemical and structural properties of crystalline inulin explain the stability of *Lactobacillus plantarum* during spray-drying and storage. *Food research international*, 113, 167-174.
- Roselli, M., Mariotti, S., Ferroni, P., Laudisi, A., Mineo, D., Pompeo, E., Ambroggi, V., & Mineo, T. C. (2006). Postsurgical chemotherapy in stage IB nonsmall cell lung cancer: Long-term survival in a randomized study. *International journal of cancer*, 119(4), 955-960.
- Roškar, I., Švigelj, K., Štempelj, M., Volfand, J., Štabuc, B., Malovrh, Š., & Rogelj, I. (2017). Effects of a probiotic product containing *Bifidobacterium animalis* subsp. *animalis* IM386 and *Lactobacillus plantarum* MP2026 in lactose intolerant individuals: Randomized, placebo-controlled clinical trial. *Journal of functional foods*, 35, 1-8.
- Rossi, M., Corradini, C., Amaretti, A., Nicolini, M., Pompei, A., Zanoni, S., & Matteuzzi, D. (2005). Fermentation of fructooligosaccharides and inulin by bifidobacteria: a comparative study of pure and fecal cultures. *Applied and Environmental Microbiology*, 71(10), 6150-6158.

Ruiz, L., Delgado, S., Ruas-Madiedo, P., Sánchez, B., & Margolles, A. (2017).

Bifidobacteria and their molecular communication with the immune system. *Frontiers in Microbiology*, 8, 2345.

Ruscica, M., Penson, P. E., Ferri, N., Sirtori, C. R., Pirro, M., Mancini, G. B. J., Sattar, N.,

Toth, P. P., Sahebkar, A., Lavie, C. J., Wong, N. D., Banach, M., International Lipid Expert, P., & International Lipid Expert Panel, E. (2021). Impact of nutraceuticals on markers of systemic inflammation: Potential relevance to cardiovascular diseases - A position paper from the International Lipid Expert Panel (ILEP). *Prog Cardiovasc Dis*, 67, 40-52.

<https://doi.org/10.1016/j.pcad.2021.06.010>

Russell, C., Keshavamurthy, S., & Saha, S. (2021). Nutraceuticals in the Management of Cardiovascular Risk Factors: Where is the Evidence? *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets*, 21(3), 150-161.

<https://doi.org/10.2174/1871529X21666211201104124>

Saavedra, J. M., Abi-Hanna, A., Moore, N., & Yolken, R. H. (2004). Long-term consumption of infant formulas containing live probiotic bacteria: tolerance and safety. *The American journal of clinical nutrition*, 79(2), 261-267.

Saberi Riseh, R., Skorik, Y. A., Thakur, V. K., Moradi Pour, M., Tamanadar, E., & Noghabi, S. S. (2021). Encapsulation of plant biocontrol bacteria with alginate as a main polymer material. *International journal of molecular sciences*, 22(20), 11165.

Saldanha, S. N., & Tollefsbol, T. O. (2012). The role of nutraceuticals in chemoprevention and chemotherapy and their clinical outcomes. *Journal of oncology*, 2012(1), 192464.

Salih, N., Hutari, A., Gaseem, W., & Yusoff, W. (2009). Maximization of growth and storage of locally isolated *Lactobacillus salivarius* subsp. *Salivarius* with high

stability and functionality. 25th Southern Biomedical Engineering Conference 2009, 15–17 May 2009, Miami, Florida, USA,

Salminen, S., Collado, M. C., Endo, A., Hill, C., Lebeer, S., Quigley, E. M., Sanders, M.

E., Shamir, R., Swann, J. R., & Szajewska, H. (2021). The International Scientific Association of Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of postbiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 18(9), 649-667.

Saraf, K., Shashikanth, M., Priy, T., Sultana, N., & Chaitanya, N. (2010). Probiotics-do they have a role in medicine and dentistry. *J Assoc Physicians India*, 58(1), 488-490.

Saulnier, D. M., Molenaar, D., de Vos, W. M., Gibson, G. R., & Kolida, S. (2007). Identification of prebiotic fructooligosaccharide metabolism in *Lactobacillus plantarum* WCFS1 through microarrays. *Applied and Environmental Microbiology*, 73(6), 1753-1765.

Scalbert, A., Johnson, I. T., & Saltmarsh, M. (2005). Polyphenols: antioxidants and beyond. *The American journal of clinical nutrition*, 81(1), 215S-217S.

Sela, D. A., & Mills, D. A. (2010). Nursing our microbiota: molecular linkages between bifidobacteria and milk oligosaccharides. *Trends in microbiology*, 18(7), 298-307.

Senni, K., Pereira, J., Gueniche, F., Delbarre-Ladrat, C., Sinquin, C., Ratiskol, J., Godeau, G., Fischer, A.-M., Helley, D., & Collic-Jouault, S. (2011). Marine polysaccharides: a source of bioactive molecules for cell therapy and tissue engineering. *Marine drugs*, 9(9), 1664-1681.

Senok, A., Ismaeel, A., & Botta, G. (2005). Probiotics: facts and myths. *Clinical Microbiology and Infection*, 11(12), 958-966.

- Serrano-Casas, V., Pérez-Chabela, M. L., Cortés-Barberena, E., & Totosa, A. (2017). Improvement of lactic acid bacteria viability in acid conditions employing agroindustrial co-products as prebiotic on alginate ionotropic gel matrix co-encapsulation. *Journal of functional foods*, 38, 293-297.
- Shafiei, F., Ghavami-Lahiji, M., Kashi, T. S. J., & Najafi, F. (2021). Drug release kinetics and biological properties of a novel local drug carrier system. *Dental research journal*, 18(1), 94.
- Shah, N. P. (2007). Functional cultures and health benefits. *International dairy journal*, 17(11), 1262-1277.
- Sharma, M., Dwivedi, P., Singh Rawat, A. K., & Dwivedi, A. K. (2016). Nutrition nutraceuticals: a proactive approach for healthcare. In *Nutraceuticals* (pp. 79-116). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-804305-9.00003-8>
- Shimauchi, H., Mayanagi, G., Nakaya, S., Minamibuchi, M., Ito, Y., Yamaki, K., & Hirata, H. (2008). Improvement of periodontal condition by probiotics with *Lactobacillus salivarius* WB21: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Clin Periodontol*, 35(10), 897-905. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2008.01306.x>
- Shivangi, S., Dorairaj, D., Negi, P. S., & Shetty, N. P. (2021). Development and characterisation of a pectin-based edible film that contains mulberry leaf extract and its bio-active components. *Food Hydrocolloids*, 121, 107046.
- Shreiner, A. B., Kao, J. Y., & Young, V. B. (2015). The gut microbiome in health and in disease. *Current opinion in gastroenterology*, 31(1), 69-75.
- Shu, Q., Lin, H., Rutherford, K. J., Fenwick, S. G., Prasad, J., Gopal, P. K., & Gill, H. S. (2000). Dietary *Bifidobacterium lactis* (HN019) enhances resistance to oral *Salmonella typhimurium* infection in mice. *Microbiology and immunology*, 44(3), 213-222.

- Siepmann, J., & Peppas, N. A. (2011). Higuchi equation: Derivation, applications, use and misuse. *International journal of pharmaceutics*, 418(1), 6-12.
- Sikorski, Z. E. (2006). *Chemical and functional properties of food components*. CRC press.
- Silva, F. B., Gasparrini, L. J., Cremonez, P. A., Burin, G. R., Machado, B., Polinarski, M. A., Arantes, M. K., & Alves, H. J. (2021). Chitosan preparations with improved fat-binding capacity. *Journal of Applied Polymer Science*, 138(34), 50841.
- Singh, B., Mal, G., Sharma, D., Gautam, S., Kumar, M., Solimene, U., Metalla, M., & Marotta, F. (2018). Plant Polyphenols: The Futuristic Bioactive Therapeutics for Skin Care. In *Polyphenols: Prevention and Treatment of Human Disease* (pp. 385-394). Elsevier.
- Singh, D. P., Singh, J., Boparai, R. K., Zhu, J., Mantri, S., Khare, P., Khardori, R., Kondepudi, K. K., Chopra, K., & Bishnoi, M. (2017). Isomalto-oligosaccharides, a prebiotic, functionally augment green tea effects against high fat diet-induced metabolic alterations via preventing gut dysbacteriosis in mice. *Pharmacological research*, 123, 103-113.
- Sornplang, P., & Piyadeatsoontorn, S. (2016). Probiotic isolates from unconventional sources: a review. *Journal of animal science and technology*, 58, 1-11.
- Subramanian, P., & Anandharamakrishnan, C. (2023). Introduction to functional foods and nutraceuticals. In *Industrial Application of Functional Foods, Ingredients and Nutraceuticals* (pp. 3-43). Elsevier.
- Swanson, K. S., Gibson, G. R., Hutkins, R., Reimer, R. A., Reid, G., Verbeke, K., Scott, K. P., Holscher, H. D., Azad, M. B., & Delzenne, N. M. (2020). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 17(11), 687-701.

- Szajewska, H., & Mrukowicz, J. (2005). Meta-analysis: non-pathogenic yeast *Saccharomyces boulardii* in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea. *Alimentary pharmacology & therapeutics*, 22(5), 365-372.
- Takehara, Y., Aono, F., Kumakiri, J., & Kato, O. (2012). Publications from Juntendo University Graduate School of Medicine, 2012 [4/6]. *cancer cells*, 103, 806-812.
- Terpou, A., Papadaki, A., Lappa, I. K., Kachrimanidou, V., Bosnea, L. A., & Kopsahelis, N. (2019). Probiotics in food systems: Significance and emerging strategies towards improved viability and delivery of enhanced beneficial value. *Nutrients*, 11(7), 1591.
- Thinkohkaew, K., Aumphaiphensiri, N., Tangamornsiri, T., Niamsiri, N., Potiyaraj, P., & Suppavorasatit, I. (2024). Inulin extracted from burdock root (*Arctium lappa* L.) incorporated alginate/chitosan hydrogel beads for probiotics encapsulation. *Journal of Agriculture and Food Research*, 18, 101405.
- Thinkohkaew, K., Jonjaroen, V., Niamsiri, N., Panya, A., Suppavorasatit, I., & Potiyaraj, P. (2024). Microencapsulation of probiotics in chitosan-coated alginate/gellan gum: Optimization for viability and stability enhancement. *Food Hydrocolloids*, 151, 109788.
- Thinkohkaew, K., Tangamornsiri, T., Niamsiri, N., Potiyaraj, P., & Suppavorasatit, I. (2024). Inulin extracted from burdock root (*Arctium lappa* L.) incorporated alginate/chitosan hydrogel beads for probiotics encapsulation. *Journal of Agriculture and Food Research*, 18, 101405.
- Tønnesen, H. H., & Karlsen, J. (2002). Alginate in drug delivery systems. *Drug development and industrial pharmacy*, 28(6), 621-630.

- Townsend, J. R., Kirby, T. O., Sapp, P. A., Gonzalez, A. M., Marshall, T. M., & Esposito, R. (2023). Nutrient synergy: Definition, evidence, and future directions. *Frontiers in Nutrition*, 10, 1279925.
- Trindade, L., Martins, V., Rodrigues, N., Souza, E., Martins, F., Costa, G., Almeida-Leite, C., Faria, A., Cardoso, V., & Maioli, T. (2018). Oral administration of Simbioflora®(synbiotic) attenuates intestinal damage in a mouse model of 5-fluorouracil-induced mucositis. *Beneficial Microbes*, 9(3), 477-486.
- Turroni, F., Ventura, M., Buttó, L. F., Duranti, S., O'Toole, P. W., Motherway, M. O. C., & van Sinderen, D. (2014). Molecular dialogue between the human gut microbiota and the host: a Lactobacillus and Bifidobacterium perspective. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 71, 183-203.
- Valero-Cases, E., & Frutos, M. J. (2015). Effect of different types of encapsulation on the survival of Lactobacillus plantarum during storage with inulin and in vitro digestion. *LWT-Food Science and Technology*, 64(2), 824-828.
- Van Laere, A., & Van den Ende, W. (2002). Inulin metabolism in dicots: chicory as a model system. *Plant, Cell & Environment*, 25(6), 803-813.
- Van Zanten, G. C., Knudsen, A., Röytiö, H., Forssten, S., Lawther, M., Blennow, A., Lahtinen, S. J., Jakobsen, M., Svensson, B., & Jespersen, L. (2012). The effect of selected synbiotics on microbial composition and short-chain fatty acid production in a model system of the human colon.
- Vanderpool, C., Yan, F., & Polk, B. D. (2008). Mechanisms of probiotic action: implications for therapeutic applications in inflammatory bowel diseases. *Inflammatory bowel diseases*, 14(11), 1585-1596.
- Vaughan, E., & Mollet, B. (1999). Probiotics in the new millennium. *Food/Nahrung*, 43(3), 148-153.

- Vera-Santander, V. E., Mani-López, E., López-Malo, A., & Jiménez-Munguía, M. T. (2024). Use of whey for a sustainable production of postbiotics with potential bioactive metabolites. *Sustainable Food Technology*, 2(4), 1101-1112.
- Vieira, S. A., McClements, D. J., & Decker, E. A. (2015). Challenges of Utilizing Healthy Fats in Foods1-3. *Advances in Nutrition*, 6(3), 309S-317S.
- Wada, T., Sugatani, J., Terada, E., Ohguchi, M., & Miwa, M. (2005). Physicochemical characterization and biological effects of inulin enzymatically synthesized from sucrose. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(4), 1246-1253.
- Waheed Janabi, A. H., Kamboh, A. A., Saeed, M., Xiaoyu, L., BiBi, J., Majeed, F., Naveed, M., Mughal, M. J., Korejo, N. A., Kamboh, R., Alagawany, M., & Lv, H. (2020). Flavonoid-rich foods (FRF): A promising nutraceutical approach against lifespan-shortening diseases. *Iran J Basic Med Sci*, 23(2), 140-153. <https://doi.org/10.22038/IJBMS.2019.35125.8353>
- Waliszewski, K. N., & Blasco, G. (2010). Nutraceutical properties of lycopene. *Salud publica de Mexico*, 52(3), 254-265.
- Wang, L., Zhang, K., Zhang, K., Zhang, J., Fu, J., Li, J., Wang, G., Qiu, Z., Wang, X., & Li, J. (2020). Antibacterial activity of Cinnamomum camphora essential oil on Escherichia coli during planktonic growth and biofilm formation. *Frontiers in Microbiology*, 11, 561002.
- Wang, S., Zhu, H., Lu, C., Kang, Z., Luo, Y., Feng, L., & Lu, X. (2012). Fermented milk supplemented with probiotics and prebiotics can effectively alter the intestinal microbiota and immunity of host animals. *Journal of Dairy Science*, 95(9), 4813-4822.

- Weizman, Z., Asli, G., & Alsheikh, A. (2005). Effect of a probiotic infant formula on infections in child care centers: comparison of two probiotic agents. *Pediatrics*, 115(1), 5-9.
- Wells, J. M., & Mercenier, A. (2008). Mucosal delivery of therapeutic and prophylactic molecules using lactic acid bacteria. *Nature Reviews Microbiology*, 6(5), 349-362.
- Westermann, C., Gleinser, M., Corr, S. C., & Riedel, C. U. (2016). A critical evaluation of bifidobacterial adhesion to the host tissue. *Frontiers in Microbiology*, 7, 1220.
- Whorwell, P. J., Altringer, L., Morel, J., Bond, Y., Charbonneau, D., O'mahony, L., Kiely, B., Shanahan, F., & Quigley, E. M. (2006). Efficacy of an encapsulated probiotic *Bifidobacterium infantis* 35624 in women with irritable bowel syndrome. *Official journal of the American College of Gastroenterology/ACG*, 101(7), 1581-1590.
- Wichienchot, S., Thammarutwasik, P., Jongjareonrak, A., Chansuwan, W., Hmadhlu, P., Hongpattarakere, T., Itharat, A., & Ooraikul, B. (2011). Extraction and analysis of prebiotics from selected plants from southern Thailand. *Songklanakarin Journal of Science & Technology*, 33(5).
- Wildman, R. E., Wildman, R., & Wallace, T. C. (2016). *Handbook of nutraceuticals and functional foods*. CRC press.
- Wong, A. S., Che, C.-M., & Leung, K.-W. (2015). Recent advances in ginseng as cancer therapeutics: a functional and mechanistic overview. *Natural product reports*, 32(2), 256-272.
- Wong, J. M., De Souza, R., Kendall, C. W., Emam, A., & Jenkins, D. J. (2006). Colonic health: fermentation and short chain fatty acids. *Journal of clinical gastroenterology*, 40(3), 235-243.

- Yang, C. S., Landau, J. M., Huang, M.-T., & Newmark, H. L. (2001). Inhibition of carcinogenesis by dietary polyphenolic compounds. *Annual review of nutrition*, 21(1), 381-406.
- Yildirim, Z., & Johnson, M. G. (1998). Characterization and antimicrobial spectrum of bifidocin B, a bacteriocin produced by *Bifidobacterium bifidum* NCFB 1454. *Journal of Food Protection*, 61(1), 47-51.
- Yildirim, Z., Winters, D., & Johnson, M. (1999). Purification, amino acid sequence and mode of action of bifidocin B produced by *Bifidobacterium bifidum* NCFB 1454. *Journal of applied microbiology*, 86(1), 45-54.
- YILDIRIM, Z., & YILDIRIM, M. (2001). Characterization of buchnericin LB produced by *Lactobacillus buchneri* LB. *Turkish Journal of Biology*, 25(1), 73-82.
- Yoshida, T., Maruyama, T., Miura, M., Inoue, M., Fukuda, K., Shimazu, K., Taguchi, D., Kanda, H., Oshima, M., & Iwabuchi, Y. (2018). Dietary intake of pyrolyzed deketene curcumin inhibits gastric carcinogenesis. *Journal of functional foods*, 50, 192-200.
- Yousef, M., Pichyangkura, R., Soodvilai, S., Chatsudthipong, V., & Muanprasat, C. (2012). Chitosan oligosaccharide as potential therapy of inflammatory bowel disease: Therapeutic efficacy and possible mechanisms of action. *Pharmacological research*, 66(1), 66-79.
- Zaman, S. A., & Sarbini, S. R. (2016). The potential of resistant starch as a prebiotic. *Critical reviews in biotechnology*, 36(3), 578-584.
- Zanjani, M. A. K., Tarzi, B. G., Sharifan, A., & Mohammadi, N. (2014). Microencapsulation of probiotics by calcium alginate-gelatinized starch with chitosan coating and evaluation of survival in simulated human gastro-intestinal condition. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*, 13(3), 843.

Zhang, J., Gu, S., Zhang, T., Wu, Y., Ma, J., Zhao, L., Li, X., & Zhang, J. (2022).

Characterization and antibacterial modes of action of bacteriocins from *Bacillus coagulans* CGMCC 9951 against *Listeria monocytogenes*. *LWT*, 160, 113272.

Zhang, L., Shen, B., Zheng, C., Huang, Y., Liang, Y., Fei, P., Chen, J., & Lai, W. (2024).

Chitosan/oxidized sodium alginate/Ca²⁺ hydrogels: Synthesis, characterization and adsorption properties. *Food Hydrocolloids*, 156, 110368.

Zommiti, M., Feuilleley, M. G., & Connil, N. (2020). Update of probiotics in human world: a nonstop source of benefactions till the end of time.

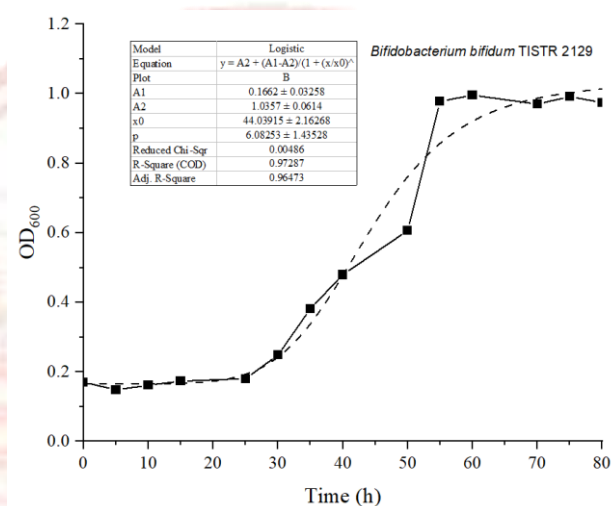
Microorganisms, 8(12), 1907.

Zúñiga, M., Monedero, V., & Yebra, M. J. (2018). Utilization of host-derived glycans by intestinal *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* species. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1917.

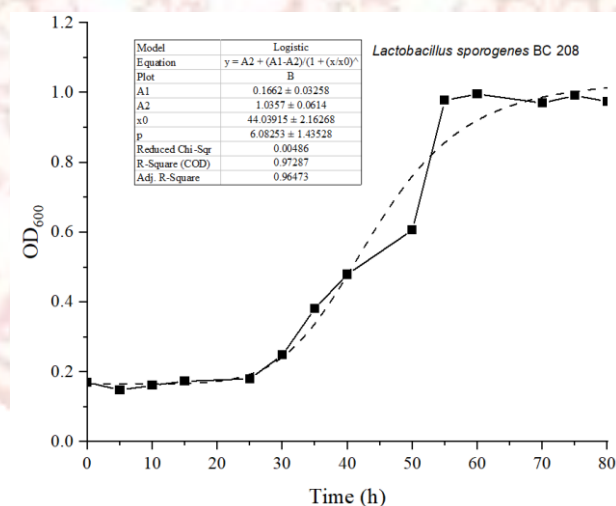
ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

1. ข้อมูลการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

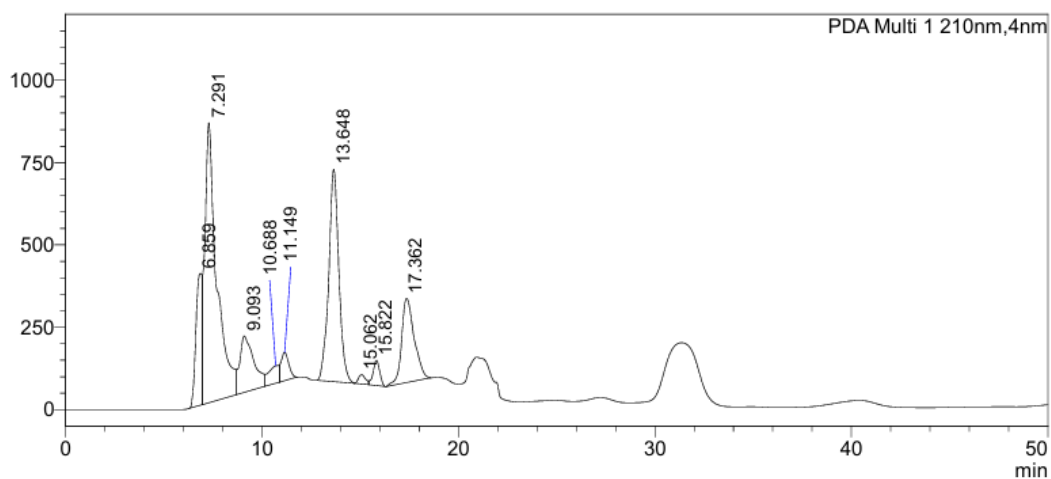


ภาพที่ 30 ระยะการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129 โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (OD_{600}) เทียบกับเวลา (ชั่วโมง) โดยใช้สมการ Logistic



ภาพที่ 31 ระยะการเจริญเติบโตของเชื้อ *Lactobacillus sporogenes* BC 208 โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (OD_{600}) เทียบกับเวลา (ชั่วโมง) โดยใช้สมการ Logistic

2. การวิเคราะห์ปริมาณกรดไขมันสายสั้นด้วยเทคนิค HPLC

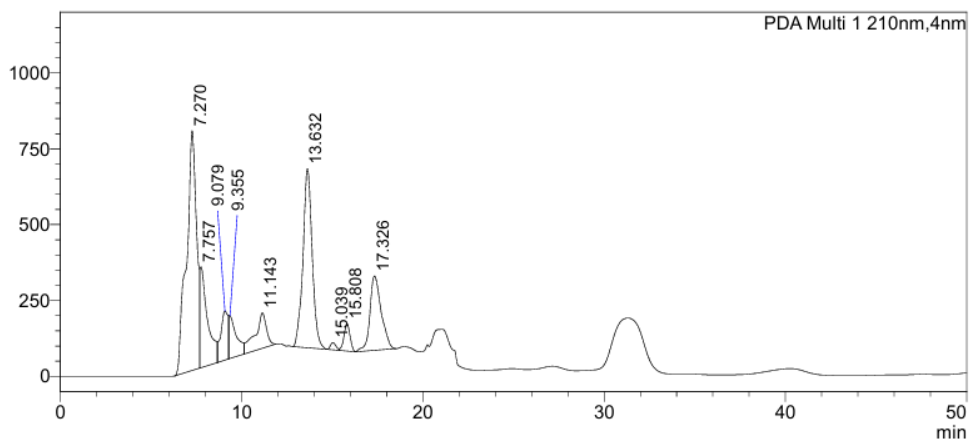


<Peak Table>

PDA Ch1 210nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Mark	Name
1	6.859	8188783	399726		
2	7.291	36054097	849574	V	
3	9.093	8496545	171305	V	
4	10.688	2024277	52912	V	
5	11.149	2382242	85946	V	
6	13.648	23082072	644128		Lactic acid
7	15.062	710174	28401		Formic acid
8	15.822	1798338	76565	V	Acetic acid
9	17.362	11368699	255039		
Total		94105228	2563597		

ภาพที่ 32 โครมาโตแกรมของกรดอินทรีย์ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วย HPLC ของเชื้อ *Bifidobacterium bifidum* TISTR 2129



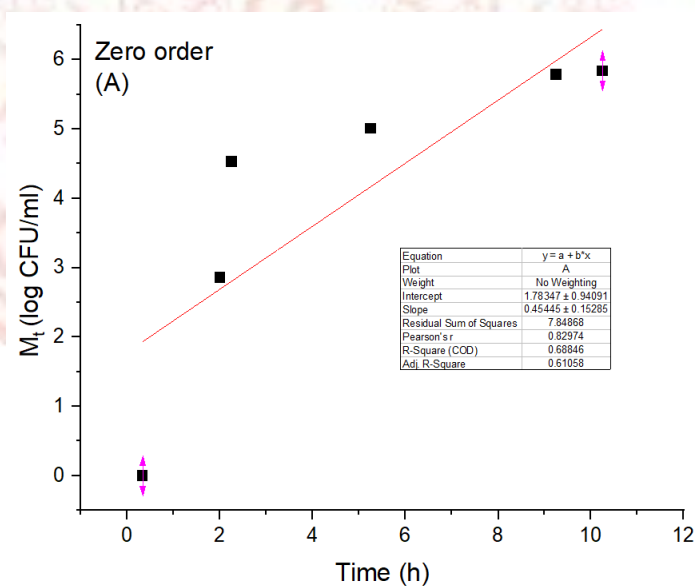
<Peak Table>

PDA Ch1 210nm

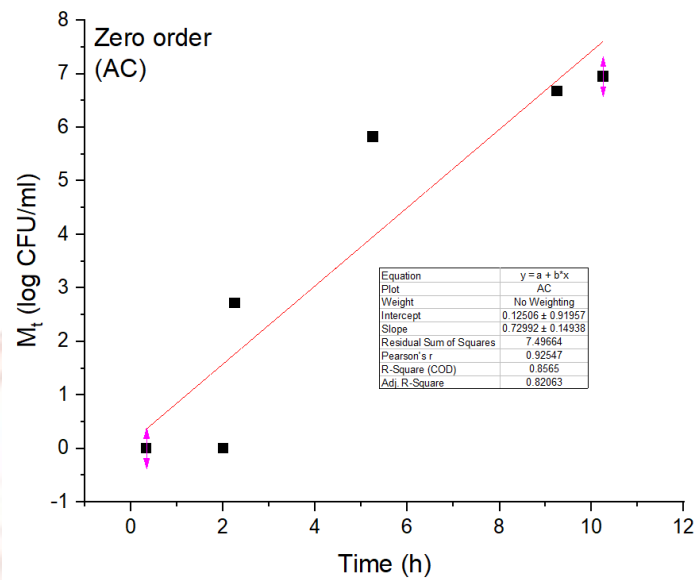
Peak#	Ret. Time	Area	Height	Mark	Name
1	7.270	30512377	790536		
2	7.757	9784456	332236	V	
3	9.079	4518762	161672	V	
4	9.355	4048421	140896	V	
5	11.143	5260452	117001	V	
6	13.632	20993221	590735		Lactic acid
7	15.039	501850	23887		Formic acid
8	15.808	2097597	90467	V	Acetic acid
9	17.326	10603126	244821		
Total		88320263	2492252		

ภาพที่ 33 โครมาโตแกรมของกรดอินทรีย์ที่ตรวจวิเคราะห์ด้วย HPLC ของเชื้อ *Lactobacillus sporogenes* BC 208

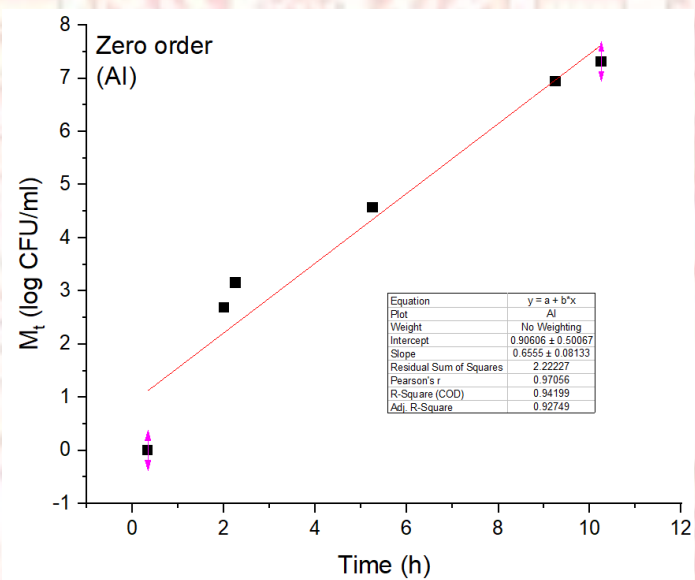
3. จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเม็บบิดห่อหุ้มโพรไบโอติก



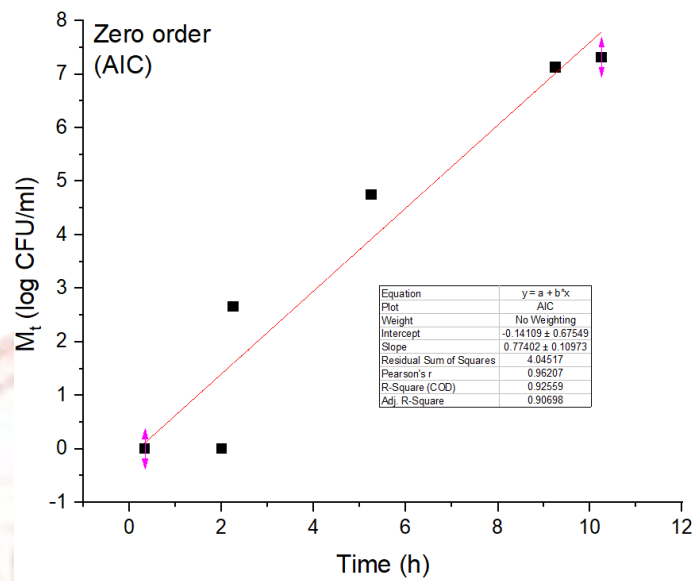
ภาพที่ 34 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเม็บบิด A ด้วยสมการ Zero-order



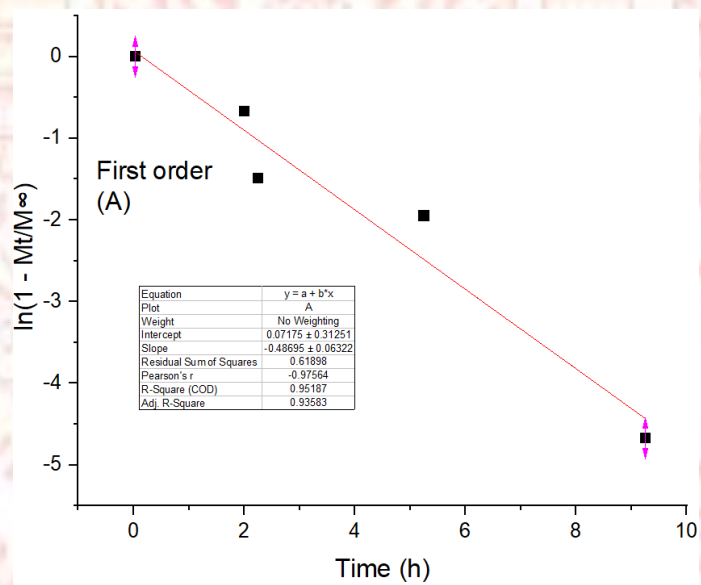
ภาพที่ 35 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเม็ดบีด AC ด้วยสมการ Zero-order



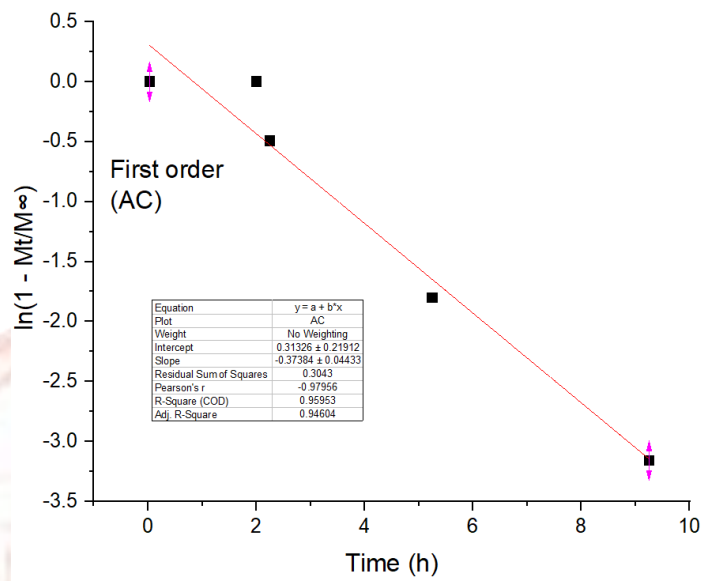
ภาพที่ 36 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเม็ดบีด AI ด้วยสมการ Zero-order



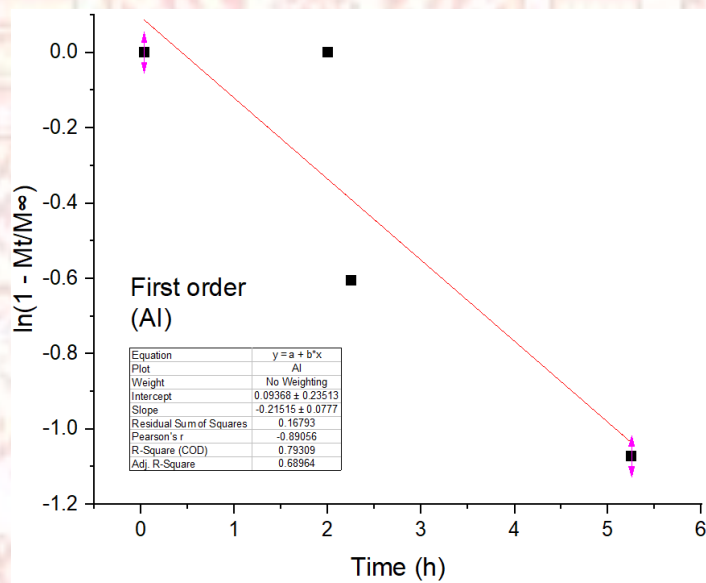
ภาพที่ 37 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเม็ดปิด AIC ด้วยสมการ Zero-order



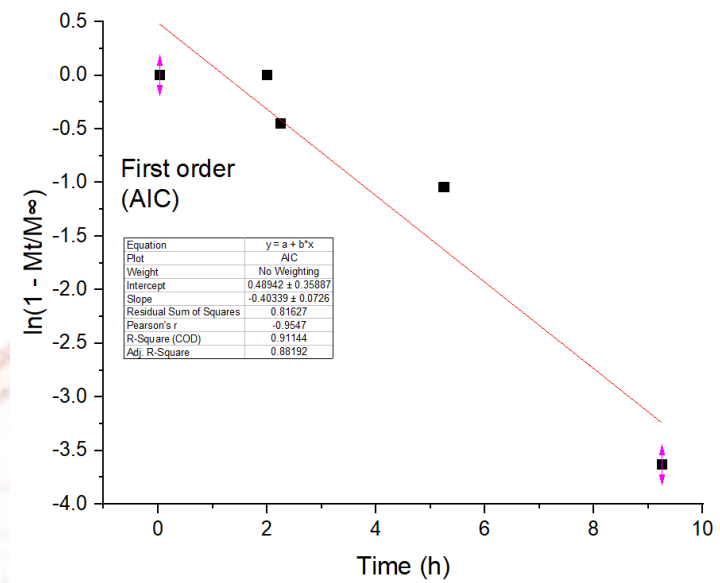
ภาพที่ 38 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเม็ดปิด A ด้วยสมการ First-order



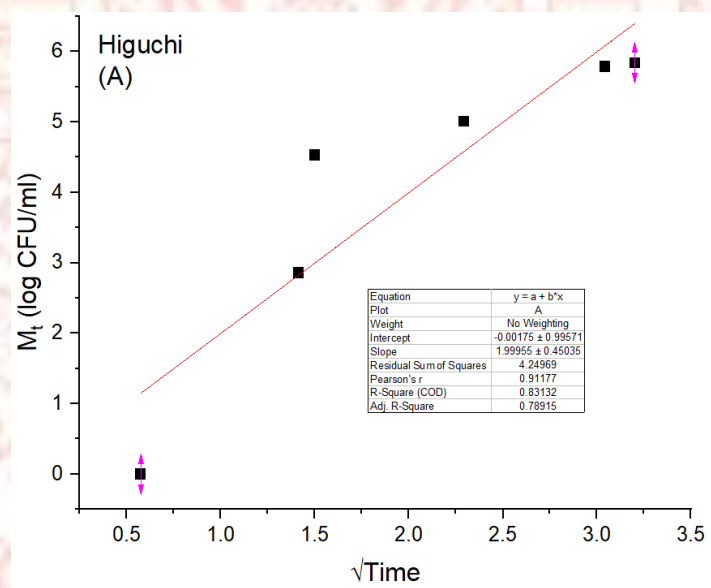
ภาพที่ 39 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเมตบีด AC ด้วยสมการ First-order



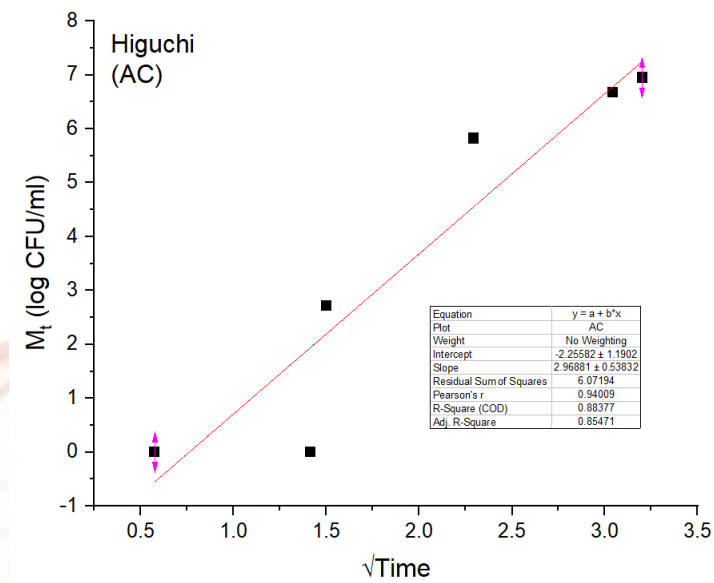
ภาพที่ 40 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเมตบีด AI ด้วยสมการ First-order



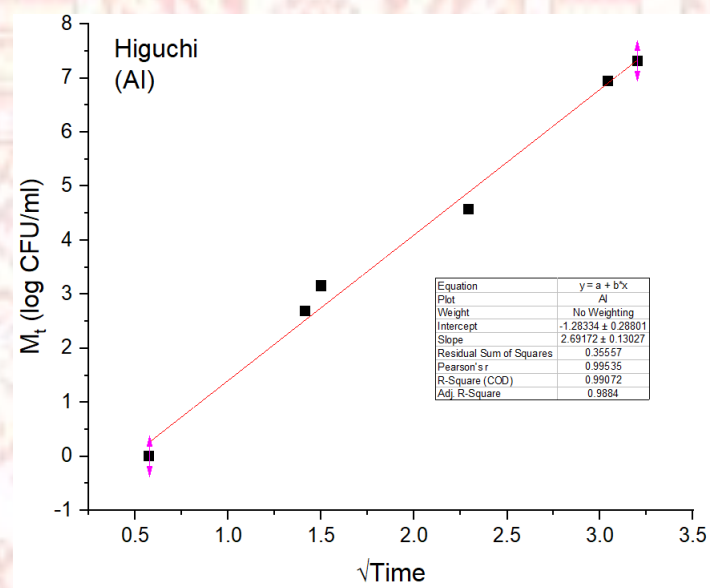
ภาพที่ 41 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเม็ดปิด AIC ด้วยสมการ First-order



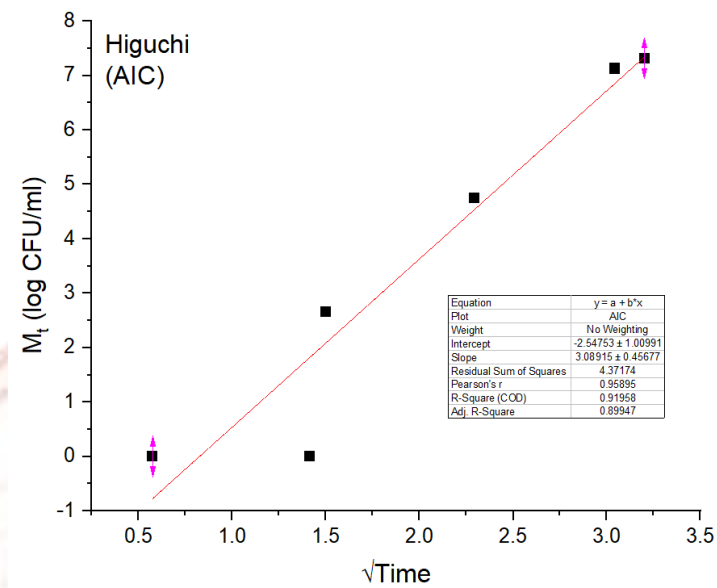
ภาพที่ 42 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเม็ดปิด A ด้วยสมการ Higuchi



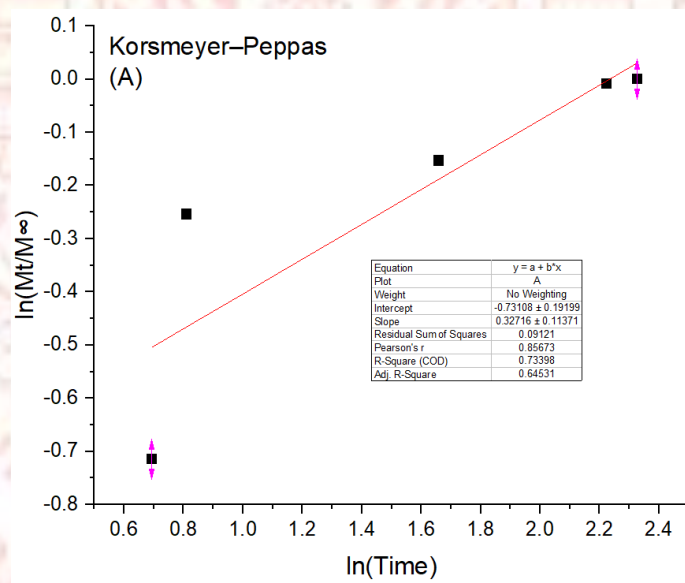
ภาพที่ 43 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเม็ดปิด AC ด้วยสมการ Higuchi



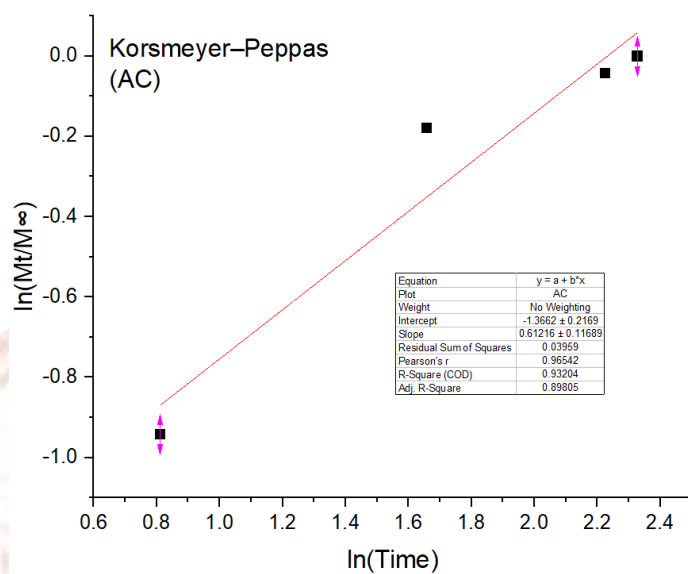
ภาพที่ 44 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเม็ดปิด AI ด้วยสมการ Higuchi



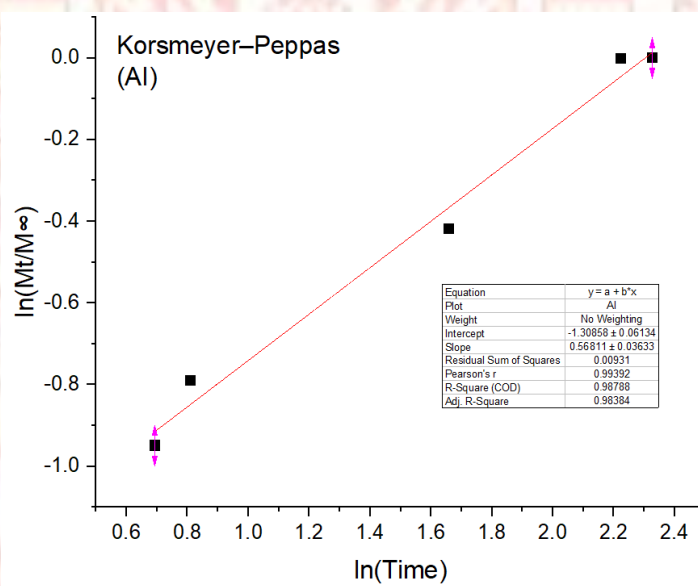
ภาพที่ 45 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเม็ดปิด AIC ด้วยสมการ Higuchi



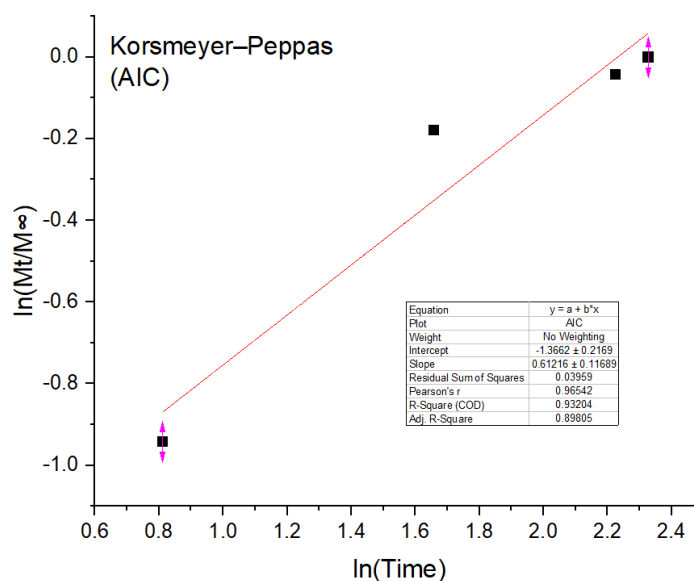
ภาพที่ 46 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเม็ดปิด A ด้วยสมการ Korsmeyer-Peppas



ภาพที่ 47 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเม็ดบีด AC ด้วยสมการ Korsmeyer-Peppas

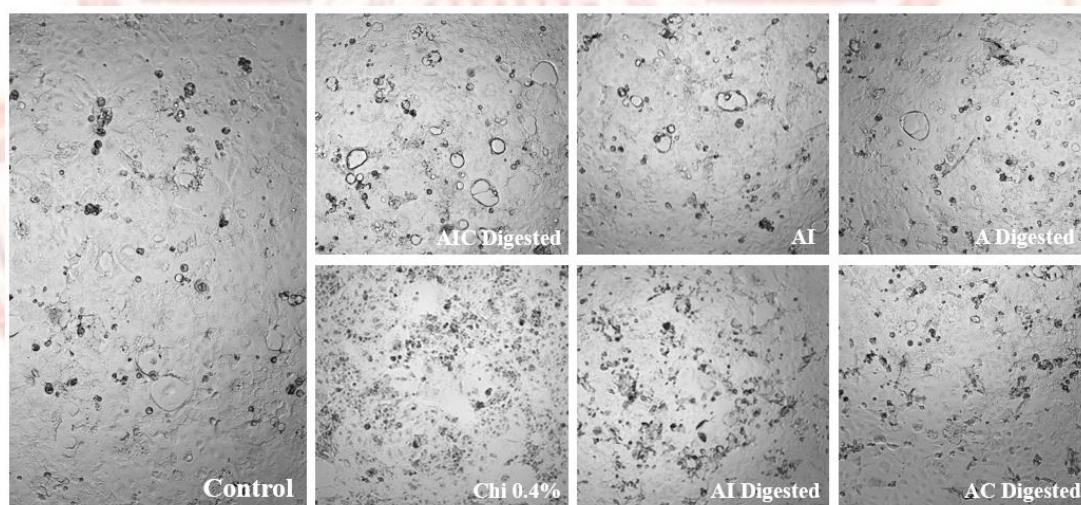


ภาพที่ 48 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเม็ดบีด AI ด้วยสมการ Korsmeyer-Peppas



ภาพที่ 49 จลนศาสตร์การปลดปล่อยของเม็ดบีด AIC ด้วยสมการ Korsmeyer-Peppas

4. ความเป็นพิษต่อเซลล์ของเม็ดบีดโพรไบโอติกหลังการย่อยแบบจำลองในหลอดทดลองโดยใช้เซลล์เยื่อบุลำไส้ Caco-2



ภาพที่ 50 การศึกษาความเป็นพิษต่อเซลล์ของเม็ดบีดโพรไบโอติกหลังการย่อยแบบจำลองในหลอดทดลอง โดยใช้เซลล์เยื่อบุลำไส้ Caco-2 ที่กำลังขยาย 40 เท่า

ภาคผนวก ข

ข้อมูลในการศึกษาการประมาณอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ด้วยการทดสอบอายุการเก็บแบบเร่ง

การศึกษาการประมาณอายุการเก็บของผลิตภัณฑ์ด้วยการทดสอบอายุการเก็บแบบเร่งใช้แบบจำลองอันดับหนึ่ง (First-order) สมการดังนี้

แบบจำลองอันดับศูนย์ (Zero-order); $T_s = (N_0 - N_t)/k$

แบบจำลองอันดับหนึ่ง (First-order); $T_s = (\ln N_0 - \ln N_t)/k$

โดยที่ N_0 หรือ $\ln N_0$ คือจำนวนเซลล์โพรไบโอติกในวันที่ 0 และ N_t หรือ $\ln N_t$ คือขีดจำกัดวิกฤตของจำนวนเซลล์โพรไบโอติกทั้งหมด ($6 \log \text{CFU/mL}$) k คือค่าคงที่อัตราปฏิกิริยาที่อุณหภูมิใดอุณหภูมิหนึ่งและ T_s คือ อายุการเก็บรักษาที่คำนวณได้ (วัน)

1. การเก็บรักษาของเมดบีตโพรไบโอติกที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

1.1 สูตร A คำนวณโดยใช้สมการ First order ได้สมการดังนี้

$$y = 22.49631 - 0.04145t; R^2 = 0.78949$$

โดยที่; จุดตัดแกน y (intercept) เท่ากับ 22.49631 เป็นค่า $\ln N_0$

ค่าความชัน (slope) เท่ากับ 0.04145 เป็นค่า k

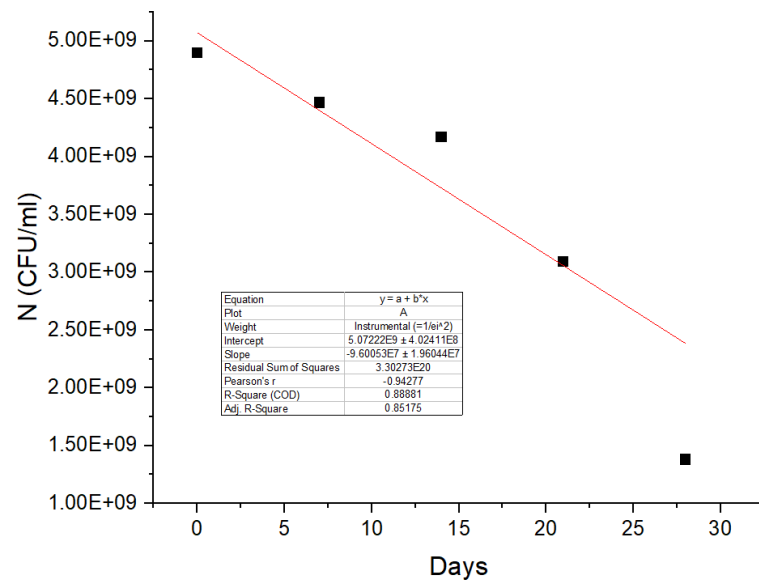
ค่า $\ln N_t$ เท่ากับ 13.82 มาจาก $6 \log \text{CFU/mL}$ เปลี่ยนให้เป็นหน่วย CFU/mL จะได้ $10^{(6)}$ เท่ากับ 1000000 CFU/mL แล้วนำ $\ln(N_t) = 13.82$

แทนค่าในสมการ First order; $T_s = (\ln N_0 - \ln N_t)/k$

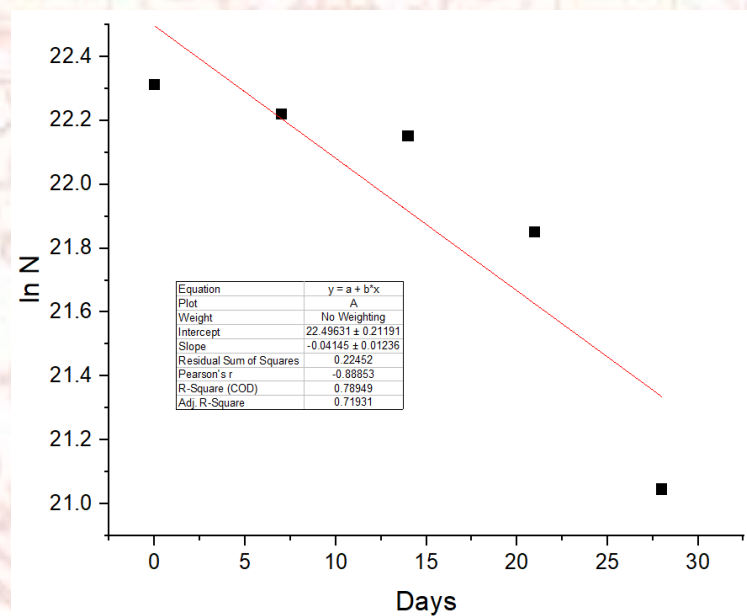
$$T_s = (22.49631 - 13.82)/0.04145$$

$$T_s = 207 \text{ วัน}$$

ดังนั้น สูตร A มีอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เท่ากับ 207 วัน หรือ 6 เดือน 29 วัน



ภาพที่ 51 สมการการเก็บรักษาของเม็ดปิด A ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ Zero order



ภาพที่ 52 สมการการเก็บรักษาของเม็ดปิด A ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ First order

1.2 สูตร A คำนวณโดยใช้สมการ First order ได้สมการดังนี้

$$y = 22.52374 - 0.03021t; R^2 = 0.95673$$

โดยที่: จุดตัดแกน y (intercept) เท่ากับ 22.52374 เป็นค่า $\ln N_0$

ค่าความชัน (slope) เท่ากับ 0.03021 เป็นค่า k

ค่า $\ln N_t$ เท่ากับ 13.82 มาจาก 6 log CFU/mL เปลี่ยนให้เป็นหน่วย CFU/mL จะได้ $10^{(6)}$

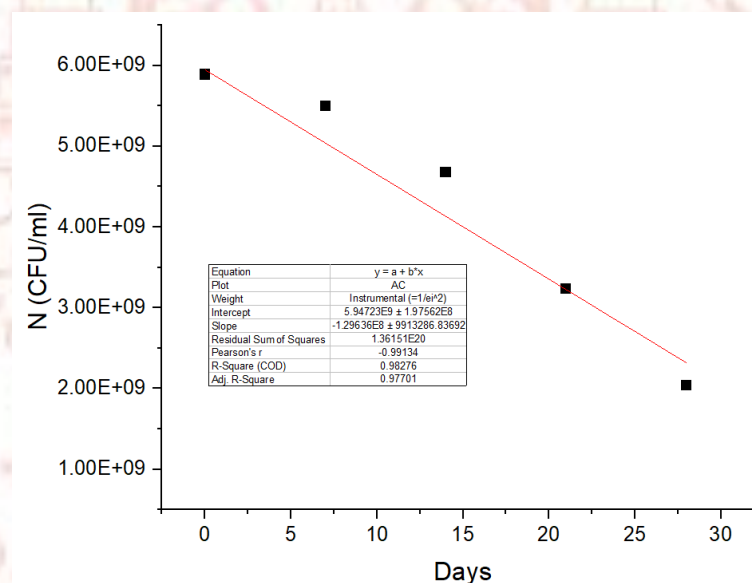
เท่ากับ 1000000 CFU/mL แล้วนำ $\ln(N_t) = 13.82$

แทนค่าในสมการ First order; $T_s = (\ln N_0 - \ln N_t)/k$

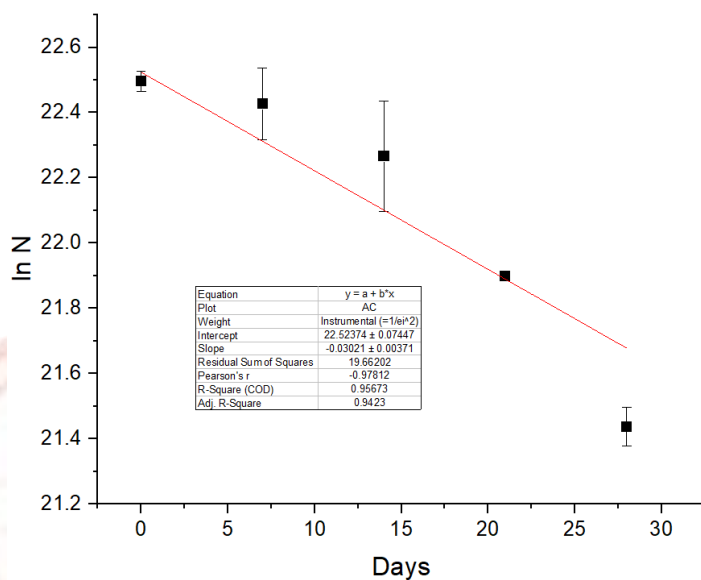
$$T_s = (22.52374 - 13.82)/0.03021$$

$$T_s = 288 \text{ วัน}$$

ดังนั้น สูตร A มีอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เท่ากับ 288 วัน หรือ 9 เดือน 18 วัน



ภาพที่ 53 สมการการเก็บรักษาของเม็ดบีด AC ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ Zero order



ภาพที่ 54 สมการการเก็บรักษาของเม็ดบีด AC ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ First order

1.1 สูตร AI คำนวณโดยใช้สมการ First order ได้สมการดังนี้

$$y = 22.60821 - 0.01984t; R^2 = 0.98656$$

โดยที่; จุดตัดแกน y (intercept) เท่ากับ 22.60821 เป็นค่า $\ln N_0$

ค่าความชัน (slope) เท่ากับ 0.01984 เป็นค่า k

ค่า $\ln N_t$ เท่ากับ 13.82 มาจาก 6 log CFU/mL เปลี่ยนให้เป็นหน่วย CFU/mL จะได้ $10^{(6)}$

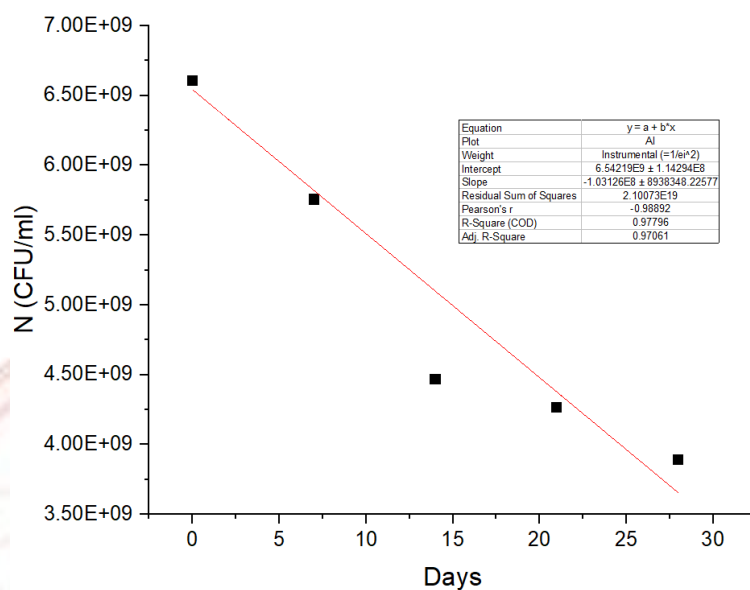
เท่ากับ 1000000 CFU/mL แล้วนำ $\ln(N_t) = 13.82$

แทนค่าในสมการ First order; $T_s = (\ln N_0 - \ln N_t)/k$

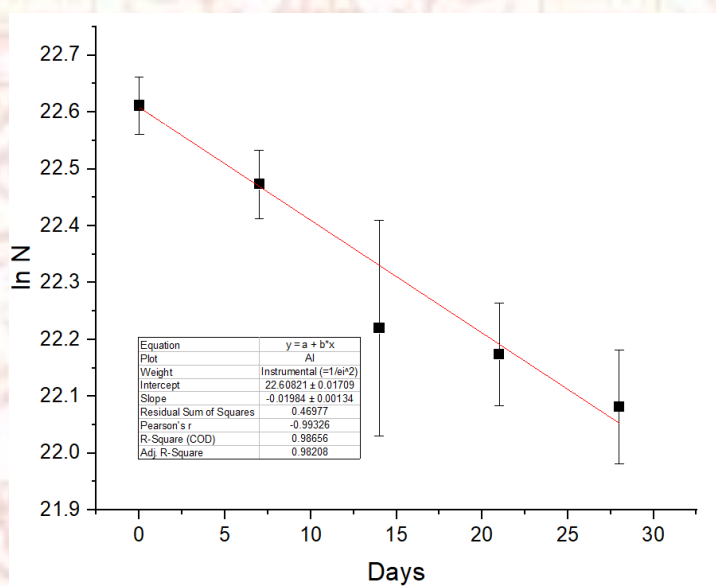
$$T_s = (22.60821 - 13.82)/0.01984$$

$$T_s = 443 \text{ วัน}$$

ดังนั้น สูตร AI มีอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เท่ากับ 443 วัน หรือ 1 ปี 2 เดือน 18 วัน



ภาพที่ 55 สมการการเก็บรักษาของเม็ดปัด AI ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ Zero order



ภาพที่ 56 สมการการเก็บรักษาของเม็ดปัด AI ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ First order

1.2 สูตร AIC คำนวณโดยใช้สมการ First order ได้สมการดังนี้

$$y = 22.60192 - 0.01896t; R^2 = 0.96984$$

โดยที่: จุดตัดแกน y (intercept) เท่ากับ 22.60192 เป็นค่า $\ln N_0$

ค่าความชัน (slope) เท่ากับ 0.01896 เป็นค่า k

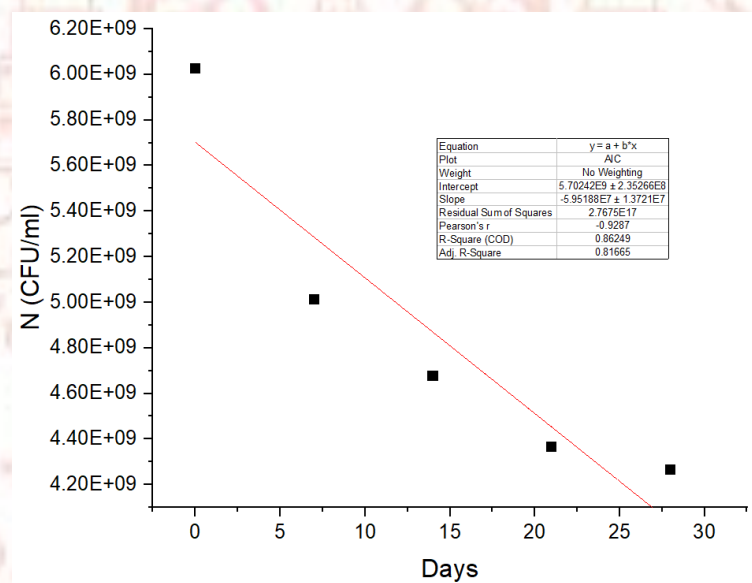
ค่า $\ln N_t$ เท่ากับ 13.82 มาจาก 6 log CFU/mL เปลี่ยนให้เป็นหน่วย CFU/mL จะได้ $10^{(6)}$ เท่ากับ 1000000 CFU/mL แล้วนำ $\ln(N_t) = 13.82$

แทนค่าในสมการ First order; $T_s = (\ln N_0 - \ln N_t)/k$

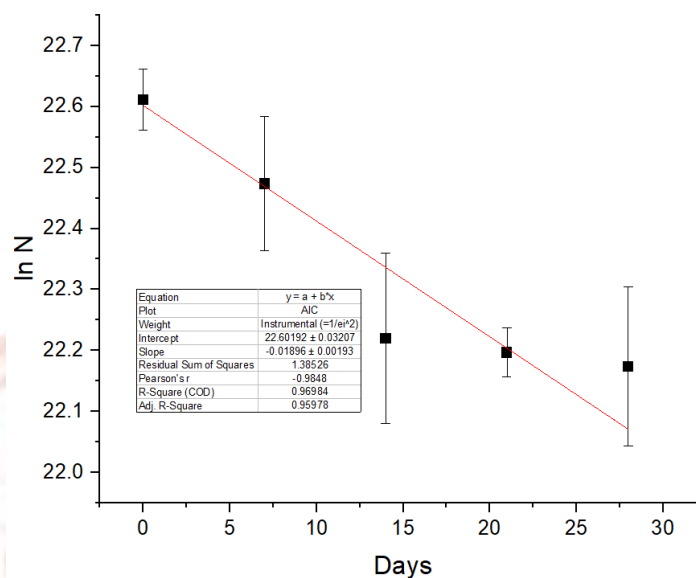
$$T_s = (22.60192 - 13.82)/0.01896$$

$$T_s = 463 \text{ วัน}$$

ดังนั้น สูตร AIC มีอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เท่ากับ 463 วัน หรือ 1 ปี 3 เดือน 8 วัน



ภาพที่ 57 สมการการเก็บรักษาของเม็ดบีด AIC ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ Zero order



ภาพที่ 58 สมการการเก็บรักษาของเม็ดบีด AIC ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ First order

2. การเก็บรักษาของเม็ดบีดโพรไบโอติกที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

2.1 สูตร A คำนวณโดยใช้สมการ First order ได้สมการดังนี้

$$y = 22.4064 - 0.21055t; R^2 = 0.97506$$

โดยที่; จุดตัดแกน y (intercept) เท่ากับ 22.4064 เป็นค่า $\ln N_0$

ค่าความชัน (slope) เท่ากับ 0.21055 เป็นค่า k

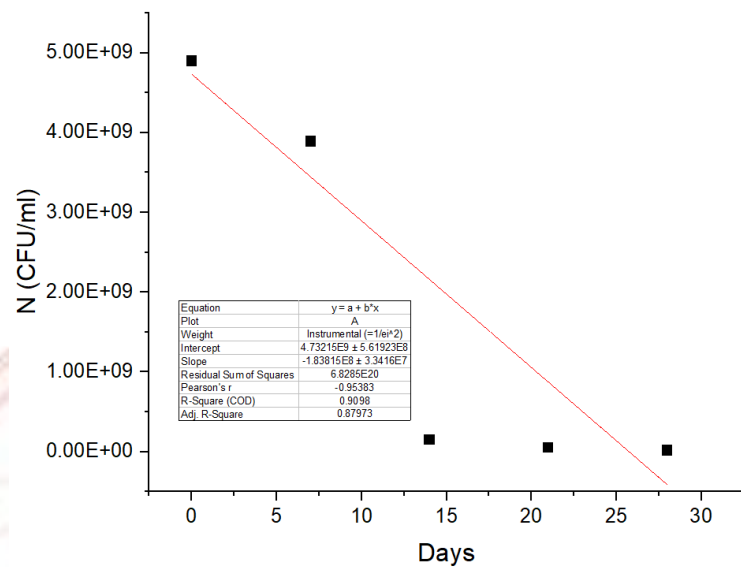
ค่า $\ln N_t$ เท่ากับ 13.82 มาจาก 6 log CFU/mL เปลี่ยนให้เป็นหน่วย CFU/mL จะได้ $10^{(6)}$ เท่ากับ 1000000 CFU/mL แล้วนำ $\ln(N_t) = 13.82$

แทนค่าในสมการ First order; $T_s = (\ln N_0 - \ln N_t)/k$

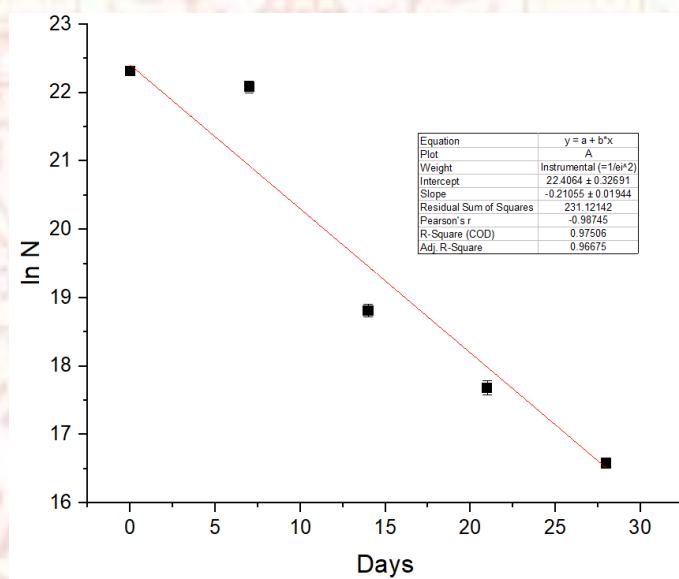
$$T_s = (22.4064 - 13.82)/0.21055$$

$$T_s = 41 \text{ วัน}$$

ดังนั้น สูตร A มีอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เท่ากับ 41 วัน หรือ 1 เดือน 11 วัน



ภาพที่ 59 สมการการเก็บรักษาของเม็ดบีด A ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ Zero order



ภาพที่ 60 สมการการเก็บรักษาของเม็ดบีด A ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ First order

2.2 สูตร AC คำนวณโดยใช้สมการ First order ได้สมการดังนี้

$$y = 22.4737 - 0.20638t; R^2 = 0.91921$$

โดยที่; จุดตัดแกน y (intercept) เท่ากับ 22.4064 เป็นค่า $\ln N_0$

ค่าความชัน (slope) เท่ากับ 0.21055 เป็นค่า k

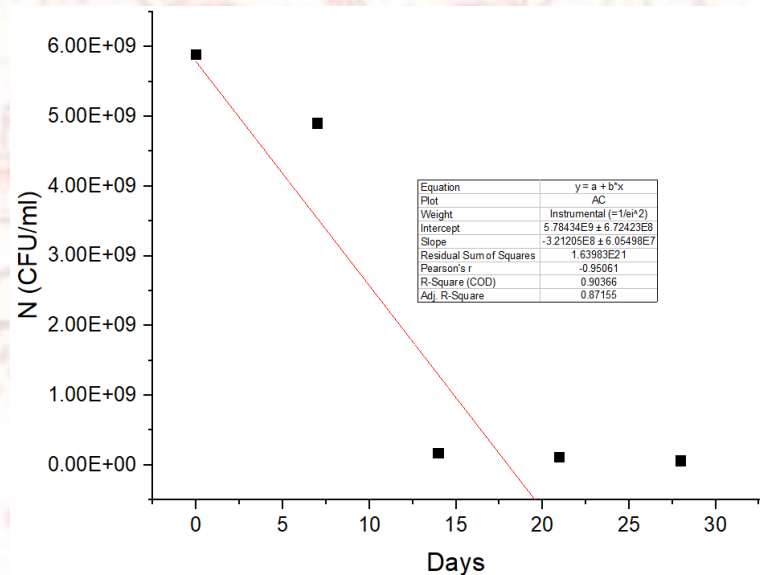
ค่า $\ln N_t$ เท่ากับ 13.82 มาจาก 6 log CFU/mL เปลี่ยนให้เป็นหน่วย CFU/mL จะได้ $10^{(6)}$ เท่ากับ 1000000 CFU/mL แล้วนำ $\ln(N_t) = 13.82$

แทนค่าในสมการ First order; $T_s = (\ln N_0 - \ln N_t)/k$

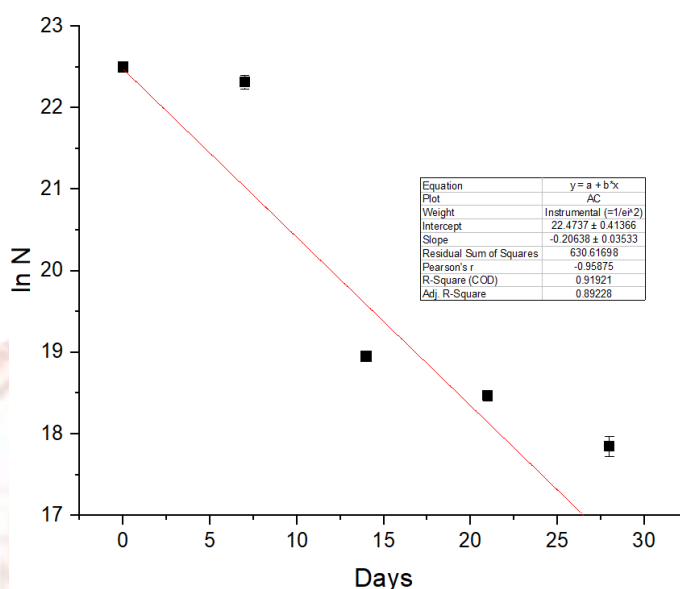
$$T_s = (22.4737 - 13.82)/0.20638$$

$$T_s = 42 \text{ วัน}$$

ดังนั้น สูตร AC มีอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เท่ากับ 42 วัน หรือ 1 เดือน 12 วัน



ภาพที่ 61 สมการการเก็บรักษาของเม็ดบีด AC ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ Zero order



ภาพที่ 62 สมการการเก็บรักษาของเม็ดปิด AC ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ First order

2.3 สูตร AI คำนวณโดยใช้สมการ First order ได้สมการดังนี้

$$y = 22.70208 - 0.10148t; R^2 = 0.96364$$

โดยที่; จุดตัดแกน y (intercept) เท่ากับ 22.70208 เป็นค่า $\ln N_0$

ค่าความชัน (slope) เท่ากับ 0.10148 เป็นค่า k

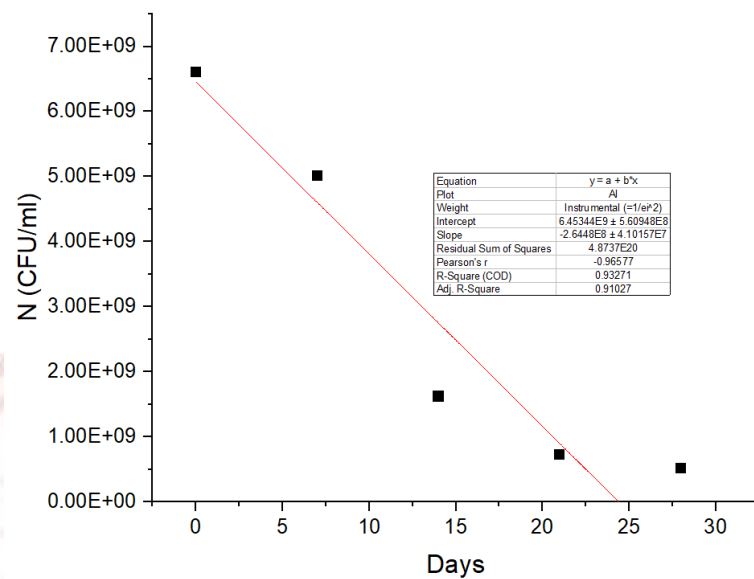
ค่า $\ln N_t$ เท่ากับ 13.82 มาจาก 6 log CFU/mL เปลี่ยนให้เป็นหน่วย CFU/mL จะได้ $10^{(6)}$ เท่ากับ 1000000 CFU/mL แล้วนำ $\ln(N_t) = 13.82$

แทนค่าในสมการ First order; $T_s = (\ln N_0 - \ln N_t)/k$

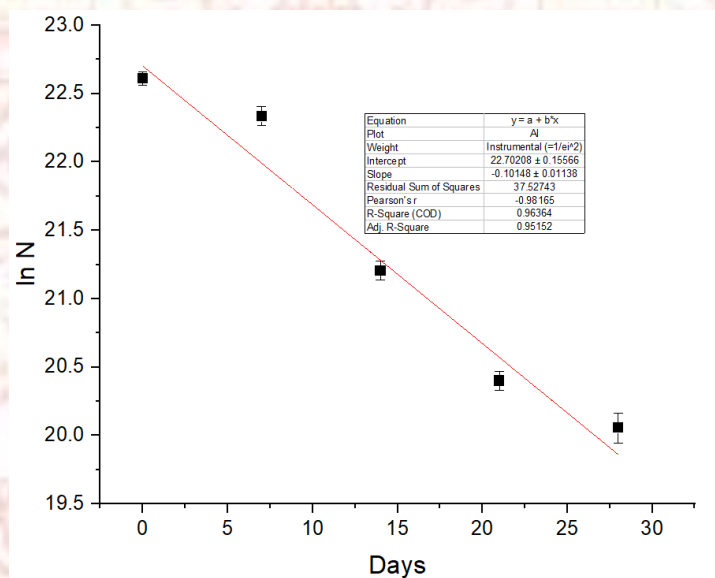
$$T_s = (22.70208 - 13.82)/0.10148$$

$$T_s = 88 \text{ วัน}$$

ดังนั้น สูตร AI มีอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เท่ากับ 88 วัน หรือ 2 เดือน 28 วัน



ภาพที่ 63 สมการการเก็บรักษาของเม็ดบีด AI ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ Zero order



ภาพที่ 64 สมการการเก็บรักษาของเม็ดบีด AI ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ First order

2.4 สูตร AIC คำนวณโดยใช้สมการ First order ได้สมการดังนี้

$$y = 22.50376 - 0.09199t; R^2 = 0.95942$$

โดยที่; จุดตัดแกน y (intercept) เท่ากับ 22.50376 เป็นค่า $\ln N_0$

ค่าความชัน (slope) เท่ากับ 0.09199 เป็นค่า k

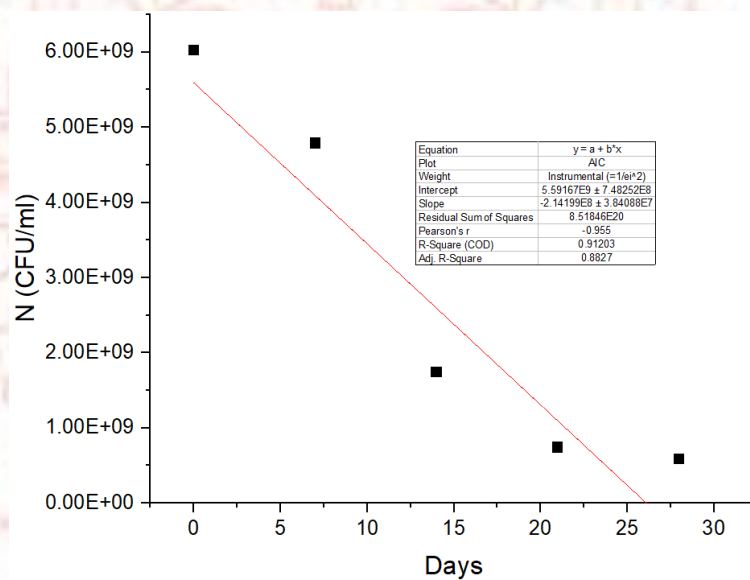
ค่า $\ln N_t$ เท่ากับ 13.82 มาจาก 6 log CFU/mL เปลี่ยนให้เป็นหน่วย CFU/mL จะได้ $10^{(6)}$ เท่ากับ 1000000 CFU/mL แล้วนำ $\ln(N_t) = 13.82$

แทนค่าในสมการ First order; $T_s = (\ln N_0 - \ln N_t)/k$

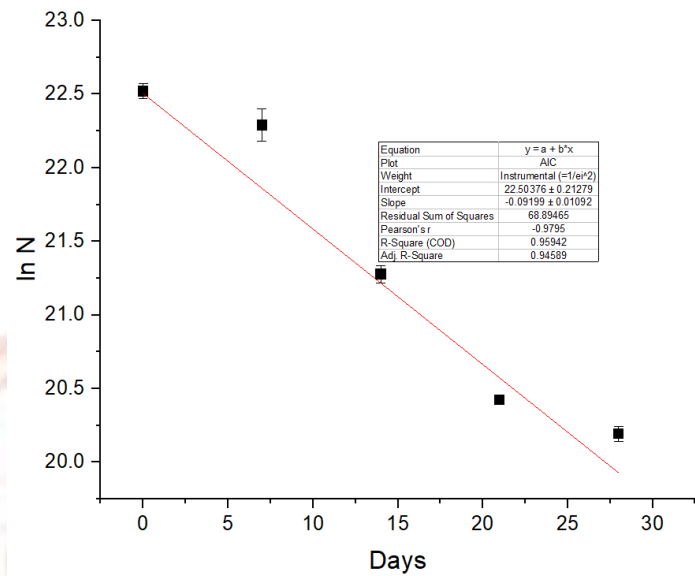
$$T_s = (22.50376 - 13.82)/0.09199$$

$$T_s = 94 \text{ วัน}$$

ดังนั้น สูตร AIC มีอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เท่ากับ 94 วัน หรือ 3 เดือน 4 วัน



ภาพที่ 65 สมการการเก็บรักษาของเม็ดปัด AIC ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ Zero order



ภาพที่ 66 สมการการเก็บรักษาของเม็ดบีด AIC ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ First order

3. การเก็บรักษาของเม็ดบีดโพรไบโอติกที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

3.1 สูตร A คำนวณโดยใช้สมการ First order ได้สมการดังนี้

$$y = 22.09284 - 0.30096t; R^2 = 0.92976$$

โดยที่; จุดตัดแกน y (intercept) เท่ากับ 22.09284 เป็นค่า $\ln N_0$

ค่าความชัน (slope) เท่ากับ 0.30096 เป็นค่า k

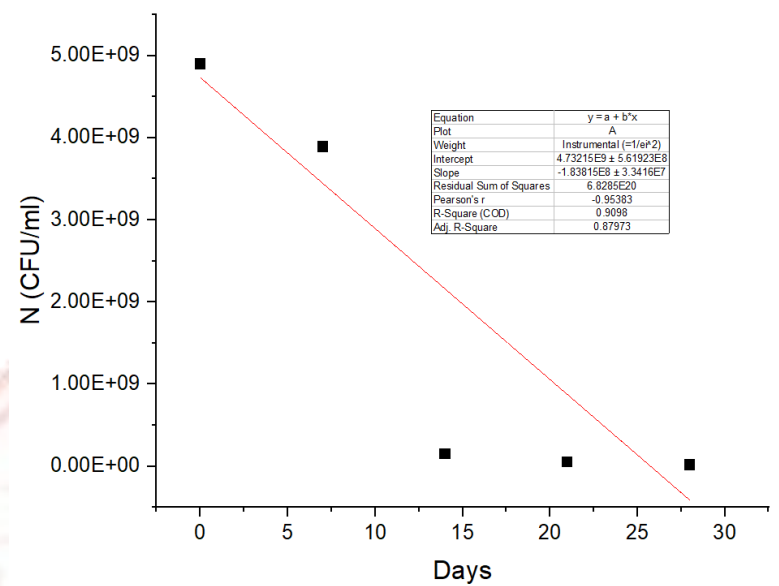
ค่า $\ln N_t$ เท่ากับ 13.82 มาจาก 6 log CFU/mL เปลี่ยนให้เป็นหน่วย CFU/mL จะได้ 10^6 เท่ากับ 1000000 CFU/mL แล้วนำ $\ln(N_t) = 13.82$

แทนค่าในสมการ First order; $T_s = (\ln N_0 - \ln N_t)/k$

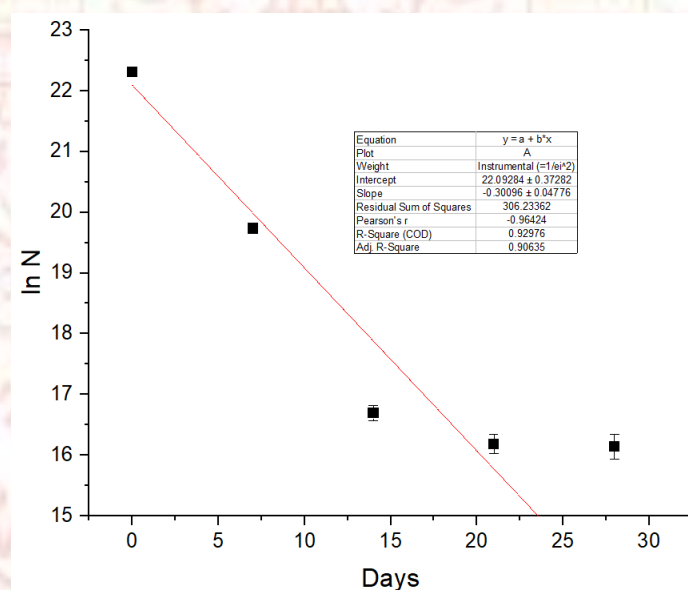
$$T_s = (22.09284 - 13.82)/0.30096$$

$$T_s = 28 \text{ วัน}$$

ดังนั้น สูตร A มีอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เท่ากับ 28 วัน



ภาพที่ 67 สมการการเก็บรักษาของเม็ดบีด A ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ Zero order



ภาพที่ 68 สมการการเก็บรักษาของเม็ดบีด A ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ First order

3.2 สูตร AC คำนวณโดยใช้สมการ First order ได้สมการดังนี้

$$y = 21.9664 - 0.21435t; R^2 = 0.93894$$

โดยที่; จุดตัดแกน y (intercept) เท่ากับ 21.9664 เป็นค่า $\ln N_0$

ค่าความชัน (slope) เท่ากับ 0.21435 เป็นค่า k

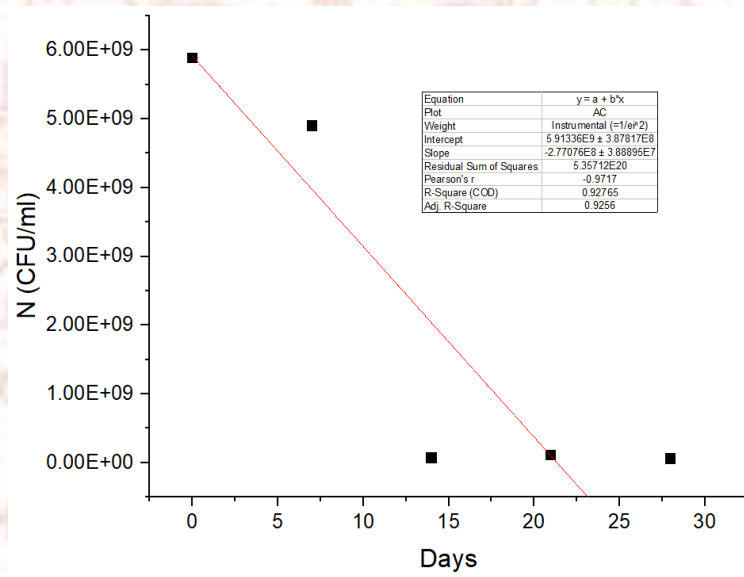
ค่า $\ln N_t$ เท่ากับ 13.82 มาจาก 6 log CFU/mL เปลี่ยนให้เป็นหน่วย CFU/mL จะได้ $10^{(6)}$ เท่ากับ 1000000 CFU/mL แล้วนำ $\ln(N_t) = 13.82$

แทนค่าในสมการ First order; $T_s = (\ln N_0 - \ln N_t)/k$

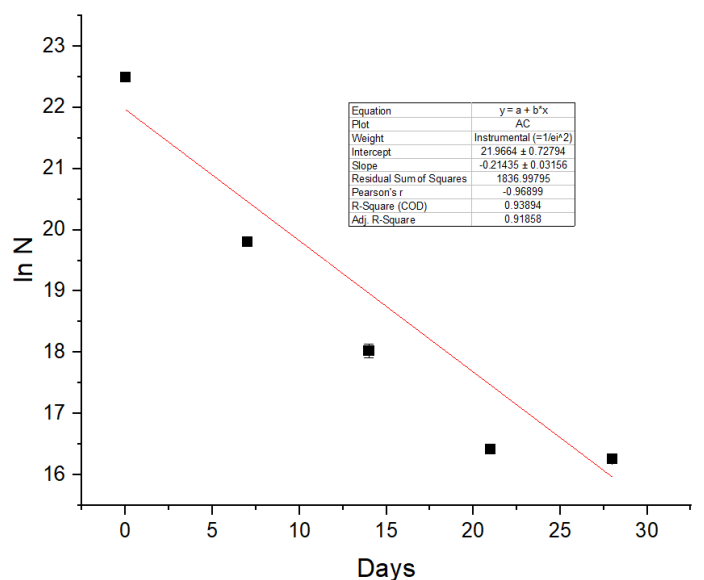
$$T_s = (21.9664 - 13.82)/0.21435$$

$$T_s = 38 \text{ วัน}$$

ดังนั้น สูตร AC มีอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เท่ากับ 1 เดือน 8 วัน



ภาพที่ 69 สมการการเก็บรักษาของเม็ดปิด AC ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ Zero order



ภาพที่ 70 สมการการเก็บรักษาของเม็ดปิด AC ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ First order

3.3 สูตร AI คำนวณโดยใช้สมการ First order ได้สมการดังนี้

$$y = 22.60851 - 0.22007t; R^2 = 0.96467$$

โดยที่; จุดตัดแกน y (intercept) เท่ากับ 22.60851 เป็นค่า $\ln N_0$

ค่าความชัน (slope) เท่ากับ 0.22007 เป็นค่า k

ค่า $\ln N_t$ เท่ากับ 13.82 มาจาก 6 log CFU/mL เปลี่ยนให้เป็นหน่วย CFU/mL จะได้ $10^{(6)}$

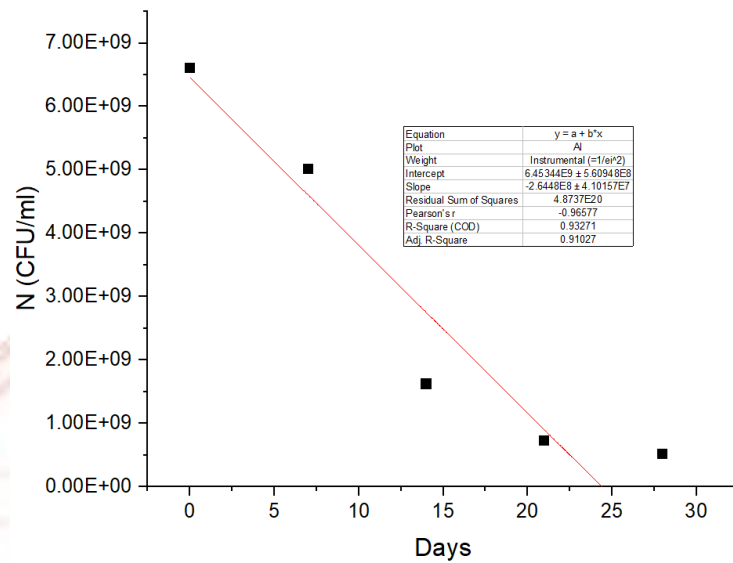
เท่ากับ 1000000 CFU/mL แล้วนำ $\ln(N_t) = 13.82$

แทนค่าในสมการ First order; $T_s = (\ln N_0 - \ln N_t)/k$

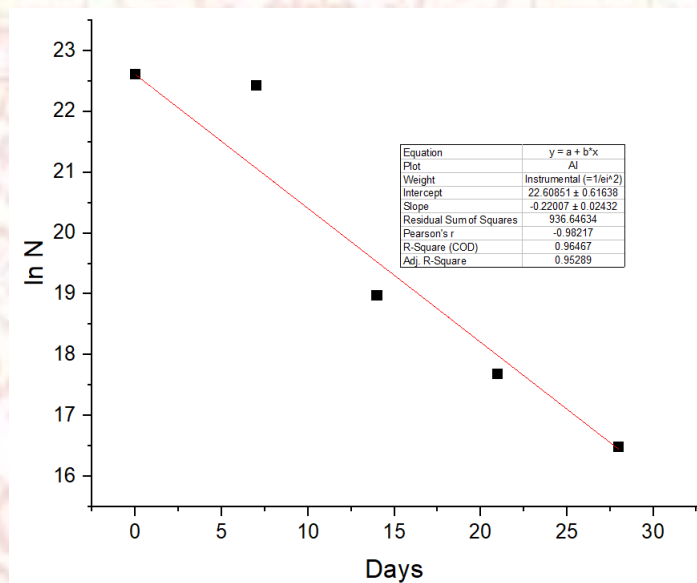
$$T_s = (22.60851 - 13.82)/0.22007$$

$$T_s = 40 \text{ วัน}$$

ดังนั้น สูตร AI มีอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เท่ากับ 1 เดือน 10 วัน



ภาพที่ 71 สมการการเก็บรักษาของเม็ดบีด AI ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ Zero order



ภาพที่ 72 สมการการเก็บรักษาของเม็ดบีด AI ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ First order

3.4 สูตร AIC คำนวณโดยใช้สมการ First order ได้สมการดังนี้

$$y = 23.97598 - 0.24417t; R^2 = 0.89005$$

โดยที่; จุดตัดแกน y (intercept) เท่ากับ 23.97598 เป็นค่า $\ln N_0$

ค่าความชัน (slope) เท่ากับ 0.24417 เป็นค่า k

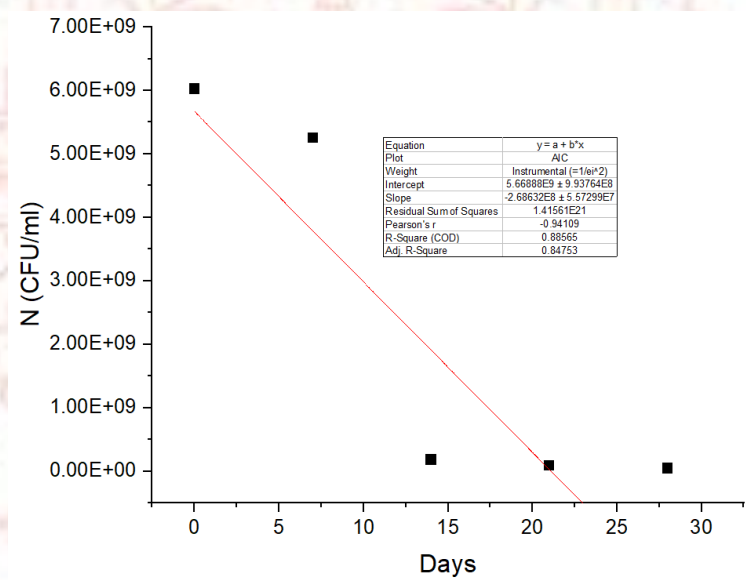
ค่า $\ln N_t$ เท่ากับ 13.82 มาจาก 6 log CFU/mL เปลี่ยนให้เป็นหน่วย CFU/mL จะได้ $10^{(6)}$ เท่ากับ 1000000 CFU/mL แล้วนำ $\ln(N_t) = 13.82$

แทนค่าในสมการ First order; $T_s = (\ln N_0 - \ln N_t)/k$

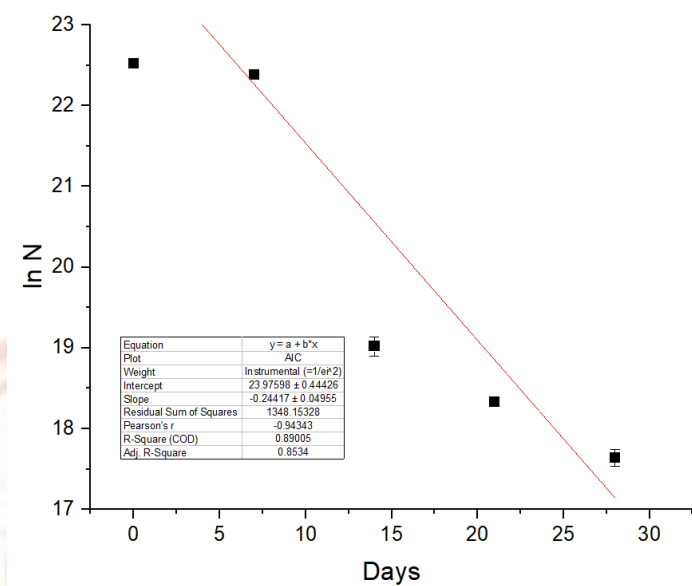
$$T_s = (23.97598 - 13.82)/0.24417$$

$$T_s = 42 \text{ วัน}$$

ดังนั้น สูตร AIC มีอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เท่ากับ 1 เดือน 12 วัน



ภาพที่ 73 สมการการเก็บรักษาของเม็ดปัด AIC ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ Zero order



ภาพที่ 74 สมการการเก็บรักษาของเม็ดปัด AIC ด้วยสภาวะเร่ง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยใช้สมการ First order

ภาคผนวก ค

ข้อมูลทางสถิติ

1. ค่าทางสถิติของการทดลอง

1.1 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำหมักจากการเพาะเลี้ยงโพรไบโอติกสองสายพันธุ์

Descriptives									
DPPH									
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum	
BB	3	39.8600	1.40300	.81002	36.3748	43.3452	39.04	41.48	
BC	3	40.3400	2.05832	1.18837	35.2268	45.4532	39.00	42.71	
AC	3	92.3033	2.62696	1.51668	85.7776	98.8291	89.27	93.83	
Total	9	57.5011	26.16518	8.72173	37.3888	77.6134	39.00	93.83	

ANOVA					
DPPH					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	5450.722	2	2725.361	623.841	.000
Within Groups	26.212	6	4.369		
Total	5476.934	8			

Post Hoc Tests							
Multiple Comparisons							
Dependent Variable: DPPH							
(I) Conditions			Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
Tukey HSD						Lower Bound	Upper Bound
BB	BB	BC	-.48000	1.70659	.958	-5.7163	4.7563
		AC	-52.44333 [*]	1.70659	.000	-57.6796	-47.2070
	BC	BB	.48000	1.70659	.958	-4.7563	5.7163
		AC	-51.96333 [*]	1.70659	.000	-57.1996	-46.7270
	AC	BB	52.44333 [*]	1.70659	.000	47.2070	57.6796
		BC	51.96333 [*]	1.70659	.000	46.7270	57.1996
LSD	BB	BC	-.48000	1.70659	.788	-4.6559	3.6959
		AC	-52.44333 [*]	1.70659	.000	-56.6192	-48.2675
	BC	BB	.48000	1.70659	.788	-3.6959	4.6559
		AC	-51.96333 [*]	1.70659	.000	-56.1392	-47.7875
	AC	BB	52.44333 [*]	1.70659	.000	48.2675	56.6192
		BC	51.96333 [*]	1.70659	.000	47.7875	56.1392

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

1.2 ขนาดของเม็ดปิดหุ้มโพรไบโอติก

Descriptives

Size

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
A	50	2.1560	.16922	.02393	2.1079	2.2041	1.80	2.50
AC	50	2.4720	.13407	.01896	2.4339	2.5101	2.00	2.80
AI	50	2.3420	.14010	.01981	2.3022	2.3818	2.00	2.60
AIC	50	2.8740	.16389	.02318	2.8274	2.9206	2.50	3.20
Total	200	2.4610	.30454	.02153	2.4185	2.5035	1.80	3.20

ANOVA

Size

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	13.894	3	4.631	198.976	.000
Within Groups	4.562	196	.023		
Total	18.456	199			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Size

	(I) Conditions	(J) Conditions	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	A	AC	-.31600 [*]	.03051	.000	-.3951	-.2369
		AI	-.18600 [*]	.03051	.000	-.2651	-.1069
		AIC	-.71800 [*]	.03051	.000	-.7971	-.6389
	AC	A	.31600 [*]	.03051	.000	.2369	.3951
		AI	.13000 [*]	.03051	.000	.0509	.2091
		AIC	-.40200 [*]	.03051	.000	-.4811	-.3229
	AI	A	.18600 [*]	.03051	.000	.1069	.2651
		AC	-.13000 [*]	.03051	.000	-.2091	-.0509
		AIC	-.53200 [*]	.03051	.000	-.6111	-.4529
	AIC	A	.71800 [*]	.03051	.000	.6389	.7971
		AC	.40200 [*]	.03051	.000	.3229	.4811
		AI	.53200 [*]	.03051	.000	.4529	.6111
LSD	A	AC	-.31600 [*]	.03051	.000	-.3762	-.2558
		AI	-.18600 [*]	.03051	.000	-.2462	-.1258
		AIC	-.71800 [*]	.03051	.000	-.7782	-.6578
	AC	A	.31600 [*]	.03051	.000	.2558	.3762
		AI	.13000 [*]	.03051	.000	.0698	.1902
		AIC	-.40200 [*]	.03051	.000	-.4622	-.3418
	AI	A	.18600 [*]	.03051	.000	.1258	.2462
		AC	-.13000 [*]	.03051	.000	-.1902	-.0698
		AIC	-.53200 [*]	.03051	.000	-.5922	-.4718
	AIC	A	.71800 [*]	.03051	.000	.6578	.7782
		AC	.40200 [*]	.03051	.000	.3418	.4622
		AI	.53200 [*]	.03051	.000	.4718	.5922

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

1.3 ประสิทธิภาพการห่อหุ้มของเม็ดปิดโพรไบโอติก

Descriptives								
EE								
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
A	3	82.1067	1.52713	.88169	78.3131	85.9003	80.38	83.28
AC	3	83.4133	.55411	.31991	82.0369	84.7898	82.79	83.85
AI	3	90.0633	1.21187	.69967	87.0529	93.0738	89.29	91.46
AIC	3	92.5567	1.12926	.65198	89.7514	95.3619	91.87	93.86
Total	12	87.0350	4.69003	1.35389	84.0551	90.0149	80.38	93.86

Test of Homogeneity of Variances			
EE			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.627	3	8	.259

ANOVA					
EE					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	231.194	3	77.065	57.265	.000
Within Groups	10.766	8	1.346		
Total	241.960	11			

Multiple Comparisons							
Dependent Variable: EE							
		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval		
					Lower Bound	Upper Bound	
(I) Conditions							
Tukey HSD	A	AC	-1.30667	.94719	.544	-4.3399	1.7266
		AI	-7.95667*	.94719	.000	-10.9899	-4.9234
		AIC	-10.45000*	.94719	.000	-13.4832	-7.4168
	AC	A	1.30667	.94719	.544	-1.7266	4.3399
		AI	-6.65000*	.94719	.001	-9.6832	-3.6168
		AIC	-9.14333*	.94719	.000	-12.1766	-6.1101
	AI	A	7.95667*	.94719	.000	4.9234	10.9899
		AC	6.65000*	.94719	.001	3.6168	9.6832
		AIC	-2.49333	.94719	.112	-5.5266	.5399
	AIC	A	10.45000*	.94719	.000	7.4168	13.4832
		AC	9.14333*	.94719	.000	6.1101	12.1766
		AI	2.49333	.94719	.112	-.5399	5.5266
LSD	A	AC	-1.30667	.94719	.205	-3.4909	.8776
		AI	-7.95667*	.94719	.000	-10.1409	-5.7724
		AIC	-10.45000*	.94719	.000	-12.6342	-8.2658
	AC	A	1.30667	.94719	.205	-.8776	3.4909
		AI	-6.65000*	.94719	.000	-8.8342	-4.4658
		AIC	-9.14333*	.94719	.000	-11.3276	-6.9591
	AI	A	7.95667*	.94719	.000	5.7724	10.1409
		AC	6.65000*	.94719	.000	4.4658	8.8342
		AIC	-2.49333	.94719	.030	-4.6776	-.3091
	AIC	A	10.45000*	.94719	.000	8.2658	12.6342
		AC	9.14333*	.94719	.000	6.9591	11.3276
		AI	2.49333*	.94719	.030	-.3091	4.6776

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

1.4 พฤติกรรมการบวมของเม็ดปิด

การบวมของเม็ดปิดที่ 2 ชั่วโมง

Homogeneous Subsets			
Swelling2			
		N	Subset for alpha = 0.05
			1 2
Tukey HSD ^a	AI2	3	-.3167
	AIC2	3	-.2733
	AC2	3	-.1133
	A2	3	-.1000
	Sig.		.709 .986
Duncan ^a	AI2	3	-.3167
	AIC2	3	-.2733
	AC2	3	-.1133
	A2	3	-.1000
	Sig.		.310 .747

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

การบวมของเม็ดปิตที่ 2.25 ชั่วโมง

Homogeneous Subsets			
Swelling2.25			
		N	Subset for alpha = 0.05
			1
Bead2.25			
Tukey HSD ^a	AC2.25	3	.3867
	AI2.25	3	.3967
	A2.25	3	.4067
	AI2.25	3	.4333
	Sig.		.812
Duncan ^a	AC2.25	3	.3867
	AI2.25	3	.3967
	A2.25	3	.4067
	AI2.25	3	.4333
	Sig.		.427

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

การบวมของเม็ดปิตที่ 5.25 ชั่วโมง

Homogeneous Subsets				
Swelling5.25				
Bead5.25		N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
Tukey HSD ^a	AI5.25	3	.6200	
	AI5.25	3	.6433	
	AC5.25	3	.6900	
	A5.25	3		1.0733
	Sig.		.468	1.000
Duncan ^a	AI5.25	3	.6200	
	AI5.25	3	.6433	
	AC5.25	3	.6900	
	A5.25	3		1.0733
	Sig.		.182	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

การบวมของเม็ดปิตที่ 9.25 ชั่วโมง

Homogeneous Subsets				
Swelling9.25				
		N	Subset for alpha = 0.05	
			1	2
Bead9.25				
Tukey HSD ^a	AIC9.25	3	1.3767	
	AC9.25	3	1.3900	
	AI9.25	3	1.4100	1.4100
	A9.25	3		1.5833
	Sig.		.940	.072
Duncan ^a	AIC9.25	3	1.3767	
	AC9.25	3	1.3900	
	AI9.25	3	1.4100	
	A9.25	3		1.5833
	Sig.		.602	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

1.5 การศึกษาการปลดปล่อยโพรไบโอติกภายใต้การย่อยอาหารในระบบทางเดินอาหารใน

หลอดทดลองโดย INFOGEST โปรโตคอล

การปลดปล่อยโพรไบโอติกที่ 2 ชั่วโมง

Homogeneous Subsets

Homogeneous Subsets					
Rerease					
Beads		N	Subset for alpha = 0.05		
			1	2	3
Tukey HSD ^a	AI2	3	2.6867		
	A2	3	2.8600		
	FC2	3		6.7633	
	Sig.		.066	1.000	
Duncan ^a	AI2	3	2.6867		
	A2	3		2.8600	
	FC2	3			6.7633
	Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

การปลดปล่อยโพรไบโอติกที่ 2.25 ชั่วโมง

Homogeneous Subsets

Homogeneous Subsets						
Rerease2.25						
		N	Subset for alpha = 0.05			
			1	2	3	4
Beads2.25						
Tukey HSD*	AIC2.25	3	2.6600			
	AC2.25	3	2.7167			
	AI2.25	3		3.1533		
	A25	3			4.5300	
	FC2.25	3				4.7233
	Sig.		.828	1.000	1.000	1.000
Duncan*	AIC2.25	3	2.6600			
	AC2.25	3	2.7167			
	AI2.25	3		3.1533		
	A25	3			4.5300	
	FC2.25	3				4.7233
	Sig.		.319	1.000	1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.						
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.						

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

การปลดปล่อยโพรไบโอติกที่ 5.25 ชั่วโมง

Homogeneous Subsets

Rerease5.25						
		N	Subset for alpha = 0.05			
			1	2	3	4
Beads5.25						
Tukey HSD*	AI5.25	3	4.5667			
	FC5.25	3	4.7267	4.7267		
	AIC5.25	3		4.7533		
	A5.25	3			5.0100	
	AC5.25	3				5.8233
	Sig.		.068	.984	1.000	1.000
Duncan*						
	AI5.25	3	4.5667			
	FC5.25	3		4.7267		
	AIC5.25	3		4.7533		
	A5.25	3			5.0100	
	AC5.25	3				5.8233
	Sig.		1.000	.618	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

การปลดปล่อยโปรไบโอติกที่ 9.25 ชั่วโมง

Homogeneous Subsets						
Rerease9.25						
		N	Subset for alpha = 0.05			
			1	2	3	4
Beads9.25						
Tukey HSD ^a	FC9.25	3	3.6200			
	A9.25	3		5.7867		
	AC9.25	3			6.6733	
	AI9.25	3			6.9400	6.9400
	AIC9.25	3				7.1233
	Sig.		1.000	1.000	.062	.266
Duncan ^a	FC9.25	3	3.6200			
	A9.25	3		5.7867		
	AC9.25	3			6.6733	
	AI9.25	3				6.9400
	AIC9.25	3				7.1233
	Sig.		1.000	1.000	1.000	.055

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

การปลดปล่อยโปรไบโอติกที่ 10.25 ชั่วโมง

Homogeneous Subsets						
Rerease10.25						
		N	Subset for alpha = 0.05			
			1	2	3	4
Beads10.25						
Tukey HSD*	FC10.25	3	3.6033			
	A10.25	3		5.8400		
	AI10.25	3			6.9500	
	AC10.25	3			6.9667	
	AIC10.25	3				7.3167
	Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000
Duncan*	FC10.25	3	3.6033			
	A10.25	3		5.8400		
	AI10.25	3			6.9500	
	AC10.25	3			6.9667	
	AIC10.25	3				7.3167
	Sig.		1.000	1.000	.858	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาวชลธร บัวโรย
ชื่อวิทยานิพนธ์	การผลิตผลิตภัณฑ์ไบโอติกซีเนอร์จีและการประยุกต์ใช้แพลตฟอร์มการนำส่ง
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
ประวัติ	เกิดเมื่อวันที่ 14 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2543 กรุงเทพมหานคร ประวัติการศึกษา พ.ศ. 2566 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยสวนดุสิต ข้อมูลการติดต่อ โทรศัพท์ : 083-8832401 E-mail: chonlatornbuaroy14@gmail.com ผลงานวิจัย Buaroy, C., Detchomphoo, K., Pasriwong, N., Thanee, L., & Kongruang, S. (2025). Effect of agitation rate for enhanced growth, metabolite production and kinetic modelling of <i>Bifidobacterium bifidum</i> fermentation. <i>International Journal of Applied Science and Engineering</i>, 22(4), 2025162. https://doi.org/10.6703/IJASE.202512_22(4).001 Buaroy, C., Wisuthiphaet, N., & Kongruang, S. (2025, August). <i>Development of triple-polymer beads for the delivery of probiotics under simulated gastrointestinal digestion</i> (Oral presentation). The 6th Research, Invention, and Innovation Congress (RI2C 2025), Bangkok, Thailand.