พรีไบโอติกจากแป้ง 6 ชนิดที่เหมาะสมสำหรับจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่มีความสัมพันธ์กับโรคลำไส้แปรปรวน
Prebiotic from 6 Kinds of Flour for Probiotics Related to Irritable Bowel Syndrome

ศศิวิมล พลเยี่ยม[1] สุภัจรี เรืองสมวงษ์[1] และ สุภาภรณ์ เลขวัต[2]
Phonyiam, S.[1], Reungsomwong, S.[1] and Lekhavat, S.[2]

Abstract

Three strains of probiotic bacteria related to irritable bowel syndrome (IBS), namely, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis*, were selected to study in this work. Prebiotic activity (PA) scores assessment of 6 types of flour prepared from white radish, boiled white radish, Kluai Hom Thong bananas, Kluai Namwa bananas, Jerusalem artichoke and Hydrolyzed Konjac were evaluated. Growth study of probiotic strains in media containing tested flour was examined. The results showed that radish either fresh or boiled has a high PA scores (15-20) that promoted the growth of *L paracasei*. In addition, boiled white radish and hydrolyzed Konjac flour slightly promoted *B. animalis*. However, all of tested flour has no any potential to enhance the growth of *L. acidophilus*. Furthermore, it was found that growth rate of all probiotic strains in testing media containing boiled white radish is better than others and closely to media containing fructooligosaccharide and commercial media.

Keywords: Prebiotic, Probiotic, Prebiotic activity scores

บทคัดย่อ

งานวิจัยเลือกใช้โพรไบโอติกสามสายพันธุ์ที่มีความสัมพันธ์กับโรคลำไส้แปรปรวน ได้แก่ *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus acidophilus* และ *Bifidobacterium animalis* ทำการประเมินค่ากิจกรรมพรีไบโอติก (PA) ของแป้งจากพืช 6 ชนิด คือ หัวไชเท้า, หัวไชเท้าต้ม, กล้วยหอมทอง, กล้วยน้ำว้า, แก่นตะวัน และบุกที่ผ่านการย่อย ทำการวัดการเจริญของโพรไบโอติกในอาหารทดสอบที่มีแป้งตัวอย่าง พบว่าแป้งหัวไชเท้าทั้งชนิดดิบและชนิดต้มมีค่า PA สูง (15-20) ซึ่งส่งเสริมการเจริญของ *L. paracasei* ได้ดี และพบว่าแป้งหัวไชเท้าแบบต้มและแป้งบุกที่ผ่านการย่อยส่งเสริมการเจริญของ *B. animalis* ได้เล็กน้อย อย่างไรก็ตามพบว่าแป้งทุกชนิดไม่ส่งเสริมการเจริญของ *L. acidophilus* นอกจากนี้ยังพบว่าโพรไบโอติกทุกสายพันธุ์ในอาหารทดสอบที่มีแป้งหัวเท้าต้มมีอัตราการเจริญของเชื้อที่ดีว่าแป้งชนิดอื่นและมีค่าใกล้เคียงกับอาหารทดสอบที่มีฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์และอาหารเลี้ยงเชื้อทางการค้า

คำสำคัญ: พรีไบโอติก โพรไบโอติก ค่ากิจกรรมพรีไบโอติก

คำนำ

โรคลำไส้แปรปรวน (Irritable bowel syndrome , IBS) เป็นโรคเกิดจากอาการผิดปกติเรื้อรังของการทำงานของระบบทางเดินอาหารโดยเฉพาะในส่วนของลำไส้ พบบ่อยในผู้หญิง และมากกว่าร้อยละ 50 เกิดกับผู้ที่อยู่ในช่วงวัยทำงานจนถึงอายุ 35 ปี เนื่องจากยังไม่ทราบสาเหตุที่แน่นอนของการเกิดโรคและมีการแสดงอาการที่หลากหลายทำให้ยากต่อการ การรักษาจึงต้องรักษาตามอาการที่เกิดขึ้น ผู้มีภาวะโรคลำไส้แปรปรวนควรเลือกบริโภคอาหารที่เหมาะสม

โพรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์และมีบทบาทในระบบย่อยอาหาร โดยมีความสัมพันธ์ต่อการเกิดโรคระบบทางเดินอาหาร ซึ่งโพรไบโอติกจะทำหน้าที่ปรับสมดุลจำนวนประชากรของจุลินทรีย์ที่อยู่ในลำไส้โดยจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติกและผลผลิตที่เกิดจากจุลินทรีย์เองจะไปจำกัดการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค (Fuller, 1989) ปัจจุบันจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกที่เป็นที่รู้จักมี 2 กลุ่ม คือ จุลินทรีย์กลุ่มแลคโตบาซิลลัส (Lactobacillus) และกลุ่ม ไบฟิโดแบคทีเรียม (Bifidobacterium) อาหารบางประเภทจะมีการย่อยแค่บางส่วนในระบบการย่อยไปจนเมื่อถึงลำไส้ใหญ่จึงจะใช้แบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ช่วยย่อยจึงทำให้เกิดลมในท้องและปวดบีบได้ ดังนั้นจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่มีบทบาทในระบบทางเดินอาหารจึงมีความสัมพันธ์กับอาการของโรคลำไส้แปรปรวน และพบว่าการบริโภคอาหารที่มีใยอาหาร (fiber) มากขึ้น จะช่วยให้ลำไส้ได้ฝึกบีบตัวดีขึ้น

[1] ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย 35 หมู่ 3 ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120
[1] Biodiversity Research Centre, Thailand Institute of Scientific and Technological Research, 35 Moo 3, Khlong 5, Khlong Luang, Pathum Thani, 12120
[2] ศูนย์เชี่ยวชาญนวัตกรรมอาหารสุขภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย 35 หมู่ 3 ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี 12120
[2] Expert Centre of Innovative Health Food, Thailand Institute of Scientific and Technological Research, 35 Moo 3, Khlong 5, Khlong Luang, Pathum Thani, 12120

พรีไบโอติกเป็นสารประกอบกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์ที่ช่วยในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในลำไส้ โดยสารที่เป็นพรีไบโอติกจะต้องไม่ถูกย่อยและดูดซึมในระบบทางเดินอาหารส่วนบน และถูกใช้เป็นสารอาหารสำหรับจุลินทรีย์ในระบบลำไส้ (Gibson และ Roberfroid, 1995) นอกจากฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ อินูลิน และกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ แล้วยังมีน้ำตาลในกลุ่มราฟิโนส และแป้งที่ทนต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ (resistance starch) ที่มีมีคุณสมบัติเป็นสารพรีไบโอติก รวมถึงน้ำตาลแอลกอฮอล์บางชนิดเช่น แลคทิทอล ซอร์บิทอล และมอลทิทอล (Gibson และคณะ, 2000) ซึ่งมีงานวิจัยจำนวนหนึ่งรายงานของพรีไบโอติกที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มแลคโตบาซิไลและไบฟิโดแบคทีเรีย และมีผลในการลดจำนวนลงของจุลินทรีย์กลุ่มคลอสทิเดีย กลุ่มเอนเทอโรคอคไค กลุ่มเอนเทอโรแบคทีเรีย และกลุ่มแบคทีรอยด์ (Tanaka และคณะ, 1983; Hidaka และคณะ, 1986; Hayakawa และคณะ, 1990)))

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดของแป้งที่เตรียมจากหัวไชเท้า, หัวไชเท้าต้ม, กล้วยหอมทอง, กล้วยน้ำว้า, แก่นตะวัน และบุกที่ผ่านการย่อยที่มีคุณสมบัติพรีไบโอติกที่ช่วยในการส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติก โดยทดสอบกับโพรไบโอติก 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *L. paracasei*, *L. acidophilus* และ *B. animalis* วิเคราะห์ค่ากิจกรรมพรีไบโอติกซึ่งคำนวณเปรียบเทียบกับการเจริญของเชื้อ *E. coli K12* และทำการศึกษาการเจริญของเชื้อทั้งสามชนิดในอาหารทดสอบเทียบกับฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์และอาหารทางการค้า

อุปกรณ์และวิธีการ

เตรียมกล้าเชื้อโพรไบโอติก 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *L. paracasei* (TISTR 2593), *L. acidophilus* (TISTR 2734) และ *B. animalis* (TISTR 2591) (ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย) ที่มีความสัมพันธ์กับโรคลำไส้แปรปรวน โดยปิเปตต้นเชื้อโพรไบโอติก 1% v/v ลงในหลอดอาหารเหลวปริมาตร 5 ml ที่เตรียมจาก MRS both (Sigma, USA) เสริมด้วย L-cysteine (Sigma, USA) 0.05% w/v จากนั้นนำไปบ่ม 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และทำการกระตุ้นเชื้ออีกครั้งโดยวิธีการเดิม เก็บรักษากล้าเชื้อไว้ในหลอดทดลองที่ปิดสนิทในอุณหภูมิ 4 °C ก่อนนำมาใช้ทำการทดลองโดยเก็บไม่เกิน 48 ชม.(Azmi และคณะ, 2012)

เตรียมแป้งที่ทำการศึกษา 6 ชนิด จาก หัวไชเท้าดิบ หัวไชเท้าต้ม กล้วยหอมทอง กล้วยน้ำว้า แก่นตะวัน ที่นำไปอบแห้งและบดเป็นผง และแป้งบุกที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แมนนาเนส ประเมินค่ากิจกรรมพรีไบโอติกในแป้งทดสอบโดยคำนวณเปรียบเทียบกับเชื้อ *E coli* K12 (Huebner และคณะ, 2007) และทดสอบอัตราการเจริญของเชื้อโพรไบโอติกที่อุณหภูมิการบ่ม 37 °C เป็นเวลา 48 ชม. ในอาหารทดสอบเทียบกับกลูโคสและอาหารทางการค้า (Azmi และคณะ, 2012) นับจำนวนเชื้อโดยวิธีดรอปเพลท (Naghili และตณะ, 2012) และวัดค่าปริมาณกรดแลกเตทด้วยเครื่องวิเคราะห์ชีวเคมี (YSI 2900 Biochemistry Analyzer, USA) บันทึกผลการเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาการบ่ม ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง และนำข้อมูลไปวิเคราะห์ผลและพลอตกราฟจำนวนเซลล์ที่นับได้ ปริมาณกรดแลคเตท และค่า PA โดยคำนวณค่า PA = (การเจริญของเชื้อโพรไบโอติกในพรีไบโอติก/การเจริญของเชื้อโพรไบโอติกในกลูโคส)- (การเจริญของเชื้อ *E coli* K12 ในพรีไบโอติก/การเจริญของเชื้อ *E coli* K12 ในกลูโคส)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

แป้งหัวไชเท้าทั้งชนิดดิบและชนิดที่ผ่านการต้มมีแนวโน้มเป็นสารพรีไบโอติกที่สามารถส่งเสริมการเจริญของเชื้อโพรไบโอติก *L. paracasei* ได้ดี มีค่า PAเป็นบวกสูงในช่วง 15-20 รองลงมาคือแป้งกล้วยหอม (0.69) และแป้งบุกที่ผ่านการย่อย (0.16) (Figure 1) ทั้งนี้พบว่าแป้งจากหัวไชเท้าต้มและแป้งบุกที่ผ่านการย่อยสามารถส่งเสริมการเจริญของเชื้อ *B. animalis* ได้เพียงเล็กน้อย อย่างไรก็ตามพบว่าแป้งทุกชนิดไม่ส่งเสริมการเจริญของเชื้อ *L. acidophilus* (ค่า PA เป็นลบ)

พบว่าจำนวนเซลล์ที่นับได้มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการบ่มนานขึ้น และเริ่มมีอัตราการเจริญคงที่ในระยะเวลาการบ่มตั้งแต่ 24 ชม. (Figure 2 a-c) เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการบ่มพบว่าอาหารทดสอบที่มีส่วนผสมของแป้งหัวไชเท้ามีแนวโน้มการเจริญของ *L. paracasei*, *L. acidophilus* และ *B. animalis* ใกล้เคียงกับอาหารทดสอบทางการค้า (MRS broth) ซึ่งพบเชื้อมากที่สุด (Log 8.0 –Log 9.5 CFU/ml.) ในขณะที่อาหารทดสอบที่ไม่มีกลูโคสและอาหารทดสอบที่มีแป้งบุกมีการเจริญต่ำสุด (Log 8.0 –Log 8.5 CFU/ml) สามารถอภิปรายได้ว่าแป้งหัวไชเท้าเป็นพืชหัวที่มีแหล่งคาร์บอนหรือมีน้ำตาลชนิดที่เชื้อ *L. paracasei* สามารถนำไปใช้ได้ สอดคล้องกับผลวิเคราะห์ชนิดน้ำตาลในหัวไชเท้าที่พบ FOS 0.16% และอินนูลิน 2.14% (Moongngarm และคณะ, 2011) อย่างไรก็ตามมีรายงานว่าแป้งกล้วยหอมที่เหมาะสมควรเตรียมจากกล้วยดิบซึ่งจะมีคุณสมบัติพรีไบโอติกที่ดีกว่ากล้วยหอมแบบห่ามที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ ซึ่งมีการศึกษาว่าแป้งกล้วยดิบสามารถส่งเสริมการเจริญของ *L. acidophilus* (Mahore และ Shirolkar,2018)

แนวโน้มของจำนวนเซลล์ที่นับได้เพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการบ่มที่นานขึ้น (Figure 2 a-c) และสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงของค่ากรดแลคเตทที่เชื้อสร้างขึ้น โดยพบว่าเชื้อ *L. paracasei* จะสร้างแลคเตทสูง ในอาหารทดสอบที่มี MRS (14 g/l) แป้งหัวไชเท้า (8.77 g/l) แป้งหัวไชเท้าต้ม (8.50 g/l) และแป้งกล้วยหอม (4.38 g/l) ตามลำดับ (Figure 2 a) โดยที่เชื้อ *L. acidophilus* จะสร้างแลคเตทสูง ในอาหารทดสอบที่มีแป้งหัวไชเท้าต้ม (6.09 g/l) แป้งหัวไชเท้า (5.66 g/l) แป้งแก่นตะวัน (5.13 g/l) และ MRS (4.35 g/l) ตามลำดับ (Figure 2 b) ในขณะที่เชื้อ *B. animalis* จะสร้างแลคเตทสูงที่ในอาหารทดสอบที่มี FOS (6.9 g/l) แป้งแก่นตะวัน (4.96 g/l) และแป้งแก่นหัวไชเท้าต้ม (4.86 g/l) ตามลำดับ (Figure 2 c)

จากข้อมูลผลการทดลองข้างต้นจะเห็นได้ว่าแป้งหัวไชเท้า แป้งหัวไชเท้าต้ม แป้งกล้วยหอม และแป้งแก่นตะวัน เป็นสารพรีไบโอติกที่ดีซึ่งสามารถช่วยส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกทั้ง 3 สายพันธุ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสายพันธุ์ *L. paracasei* ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mitsou และคณะ (2011) ที่รายงานสมบัติโพรไบโอติกของกล้วยหอม และ Jovanovic และคณะ (2014) ที่รายงานผลการวิเคราะห์ปริมาณโอลิโกแซคคาไรด์ในผักและผลไม้

สรุปผล

งานวิจัยทำการศึกษาสมบัติพรีไบโอติกโดยประเมินจากคะแนนค่ากิจกรรมพรีไบโอติก (Prebiotic activity) และอัตราการเจริญของเชื้อ ของแป้ง 6 ชนิด ได้แก่ หัวไชเท้า, หัวไชเท้าต้ม, กล้วยหอมทอง, กล้วยน้ำว้า, แก่นตะวัน และบุกที่ผ่านการย่อย ที่เหมาะสมกับโพรไบโอติกสายพันธุ์ที่มีความสัมพันธุ์กับโรคลำไส้แปรปรวน ได้แก่ *L. paracasei L. acidophilus* และ โดย *B. animalis* พบว่าแป้งหัวไชเท้าดิบและหัวไชเท้าต้มเป็นพรีไบโอติกที่ส่งเสริมการเจริญของ *L. paracasei* ในขณะที่แป้งจากหัวไชเท้าต้มและแป้งบุกที่ผ่านการย่อยสามารถส่งเสริมการเจริญของเชื้อ *B. animalis* เล็กน้อย และผลการเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่าอาหารทดสอบที่มีแป้งหัวไชเท้ามีการเจริญของ *L. paracasei*, *L. acidophilus* และ *B. animalis* ใกล้เคียงกับอาหารทดสอบทางการค้า (MRS broth) ซึ่งพบเชื้อมากที่สุด (Log 8.0 –Log 9.5 CFU/ml.) และสูงกว่าการเจริญของเชื้อในอาหารทดสอบที่มี FOS

เอกสารอ้างอิง

Azmi, A.F.M.N., Mustafa, S., Hashim, D.Md. and Manap, Y.A., 2012, Prebiotic Activity of Polysaccharides Extracted from *Gigantochloa Levis* (Buluh beting) Shoots, Molecules, 17:1635-1651.

Fuller, R., 1989, Probiotics in Man and Animals, Journal of Applied Bacteriology, 66: 365-378.

Gibson, G. R., Ottaway, P. B. and Rastall, R. A., 2000, Prebiotics: New Developments in Functional Foods, Chandos Publishing Ltd., Oxford. 108 p.

Hayakawa, K., Mizutani, J., Wada, K., Massai, T., Yoshihara, I. and Mitsuoka, T., 1990, Effects of Soybean Oligosaccharides on Human Fecal Flora, Microbial Ecology in Health and disease, 3: 293-303.

Hidaka, H., Eida, T., Takizawa, T., Tokunaga, T. and Tashiro, Y., 1986, Effects of Fructooligosaccharides on Intestinal Flora and Human Health, Bifidobacteria Microflora, 5: 37-50.

Huebner, J., Wehling, R. L. and Hutkins, R. W., 2007, Functional Activity of Commercial Prebiotics, International Dairy Journal, 17(7): 770-775.

Jovanovic, M. R., Kuzmanova, S. and Winkelhausen, E., 2014, Oligosaccharide Profile in Fruits and Vegetables as Sources of Prebiotics and Functional foods, International Journal of Food Properties, 17(5): 949-965.

Mahore, J.G. and Shirolkar, S.V., 2018, Investigation of Effect of Ripening and Processing on Prebiotic Potential of Banana, Journal of Yong Pharmacists, 10(4): 293-297.

Mitsou E. K., Kougia E., Nomikos Tz, Yannakoulia M., Mountzouris K. C. and Kyriacou A., 2011, Effect of Banana Consumption on Fecal Microbiota: a Randomised, Controlled Trial, Anaerobe, 17(6): 384-387.

Moongngarm A., Trachoo N. and Sirigungwan N., 2011, Low Molecular Weight Carbohydrates, Prebiotic Content, and Prebiotic Activity of Selected Food Plants in Thailand, Advance Journal of Food Science and Technology, 3(4): 269-274.

Naghili, H., Tajik, H., Mardani, K., Rouhani, S.M.R., Ehsani, A. and Zare, P., 2013, Validation of Drop Plate Technique for Bacterial Enumeration by Parametric and Nonparametric tests, Veterinary Research Forum, 4 (3): 179–183.

Tanaka, R., Takayama, H., Morotomi, M., Kuroshima, T., Ueyama, S., Matsumoto, K., Kuroda, A. and Mutai, M., 1983, Effects of Administration of TOS and *Bifidobacterium breve* 4006 on The Human Fecal Flora, Bifidobacteria Microflora, 2: 17-24.

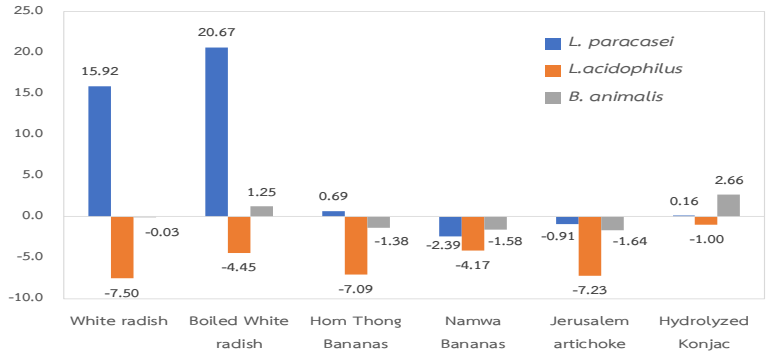

Figure 1 Prebiotic activity scores of *L. paracasei*, *L.acidophilus* and *B. animalis* on testing flour: White radish, Boiled White radish, Hom Thong bananas, Namwa bananas, Jerusalem artichoke and Hydrolyzed Konjac glucomannan. Data are means of tree replicate trials.

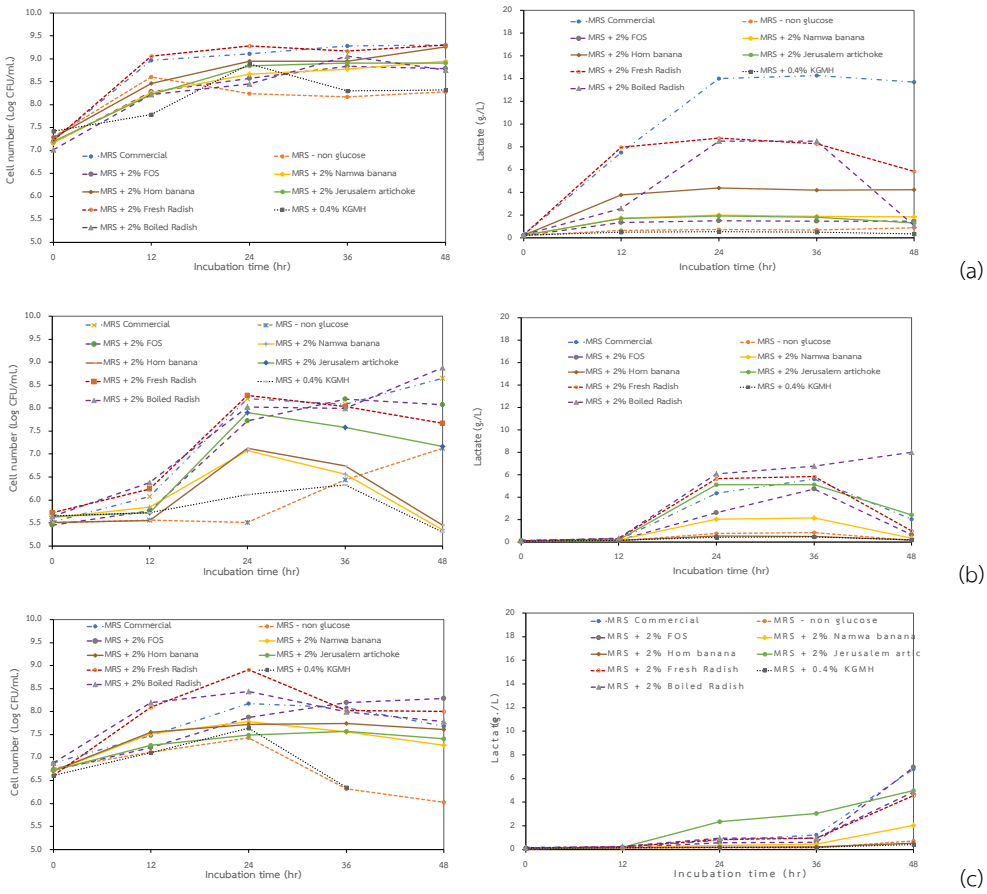

Figure 2 Counted cell number and lactate content of (a) *L. paracasei*, (b) *L. acidophilus* and (c) *B. animalis* in cultured broth containing testing media: Commercial, Non-Glucose, 2% FOS, 2% White radish, 2% Boiled White radish, 2% Hom Thong bananas, 2% Namwa bananas, 2% Jerusalem artichoke and 2% Hydrolyzed Konjac glucomannan during 48 hr incubation time at 37 °c. Data are means of tree replicate trials.