ผลของกลูโคแมนแนนดั้งเดิมต่อกิจกรรมการเจริญและการผลิตกรดของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก

The Effect of Native Glucomannan on Growth Activity and Acid Production of Lactic Acid Bacteria

อัญชญา นะคะจัด[1,2] อิศราวุธ ประเสริฐสังข์[1,2] และปริยาภรณ์ อิศรานุวัฒน์[1,2*]
Aunchaya Nakajad[1,2], Isarawut Prasertsung[1,2] and Pariyaporn Itsaranuwat[1,2*]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาผลของกลูโคแมนแนนดั้งเดิมต่อกิจกรรมการเจริญและการผลิตกรดของแบคทีเรีย *Lactococcus lactis* A7 เปรียบเทียบกับแบคทีเรียทางการค้า 2 ชนิด ได้แก่ *L. pentosus* และ *L. acidophilus* จากผลการศึกษาพบว่ากลูโคแมนแนนดั้งเดิมสามารถจำแนกตามน้ำหนักโมเลกุลเป็น 2 กลุ่ม คือ กลูโคแมนแนนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (1.9×10^6 ดาลตัน) และกลูโคแมนแนนน้ำหนักโมเลกุลต่ำ 1.4×10^3 ดาลตัน ร้อยละ 58.08 และ 41.92 ตามลำดับ และมีค่าดัชนีการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุล (polydispersity index: PDI) เท่ากับ 1.6 และ 1.2 ตามลำดับ จากการศึกษาสมบัติการเป็นพรีไบโอติกของกลูโคแมนแนนที่ส่งเสริมการเจริญของเชื้อโพรไบโอติก พบว่าการเจริญมีแนวโน้มใกล้เคียงกันและมีค่าการดูดกลืนแสง (optical density: OD) สูงสุด เท่ากับ 0.83±0.03 0.70±0.01 0.66±0.01 และ 0.60±0.03 สำหรับ *L. lactis* A7 *L. pentosus L. acidophilus* และอินูลิน ตามลำดับ ดังนั้นเชื้อ *L. lactis* A7 ที่เลี้ยงร่วมกับกลูโคแมนแนน จึงเป็นสารสกัดกลูโคแมนแนนที่สามารถทำให้เชื้อ *L. lactis* A7 เจริญได้ดีกว่าสูตรควบคุม (อินูลิน) โดยมีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำสุดที่ชั่วโมงที่ 24 เท่ากับ 5.75±0.02 นอกจากนี้ยังพบว่ามีค่าดัชนีการเป็นพรีไบโอติก (prebiotic index: PI) สูงสุด เท่ากับ 1.23 0.74 และ 0.63 สำหรับ *L. lactis* A7 *L. pentosus* และ *L. acidophilus* ตามลำดับ

คำสำคัญ: กลูโคแมนแนน พรีไบโอติก โพรไบโอติก

[1] หน่วยวิจัยทางอุตสาหกรรมชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
[2] ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
[*] Corresponding author e-mail: pariyaporn.i@msu.ac.th
DOI: https://doi.org/10.65217/wichchajnstru.2025.v44i1.262311

Received: 27 February 2024, Revised: 22 March 2024, Accepted: 9 April 2024

Abstract

This work aimed to study the effects of native glucomannan on the growth and acid production of the bacterium *Lactococcus lactis* A7 in comparison with two commercial probiotic strains, *L. pentosus* and *L. Acidophilus*.From the results, it was found that the native glucomannan was found to be composed of two molecular weight fractions: high molecular weight glucomannan (1.9×10^6 Da) and low molecular weight glucomannan (1.4×10^3 Da), accounting for 58.08% and 41.92%, respectively, with polydispersity index (PDI) values of 1.6 and 1.2. Evaluation of its prebiotic properties in promoting probiotic growth revealed comparable growth trends, with the highest optical density (OD) values observed at 0.83±0.03, 0.70±0.01, 0.66±0.01, and 0.60±0.03 for *L. lactis* A7, *L. pentosus*, *L. acidophilus*, and inulin (control), respectively. Notably, *L. lactis* A7 cultured with native glucomannan exhibited enhanced growth compared to the inulin control, with the lowest pH recorded at 24 hours (5.75±0.02). Additionally, the highest prebiotic index (PI) values were observed at 1.23, 0.74, and 0.63 for *L. lactis* A7, *L. pentosus*, and *L. acidophilus*, respectively.

Keywords: Glucomannan, Prebiotic, Probiotic

บทนำ

ในปัจจุบัน ผู้คนมีความสนใจที่จะดูแลสุขภาพมากขึ้น โดยเฉพาะในเรื่องการควบคุมอาหาร การขับถ่าย การควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด เนื่องจากในปัจจุบันมีโรคต่าง ๆ เพิ่มมากขึ้น อาทิ เช่น โรคเบาหวาน คอเลสเตอรอลสูง จึงได้หันมาใช้พรีไบโอติกซึ่งเป็นอาหารของโพรไบโอติก มีผลในการช่วยกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์ในกลุ่มโพรไบโอติกและช่วยส่งเสริมสุขภาพของเจ้าบ้าน (host) พรีไบโอติกมีสมบัติ คือ สามารถดูดซับน้ำและพองตัวได้ดี เหมาะสำหรับในกลุ่มที่ควบคุมอาหาร นอกจากนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ด้านการแพทย์ อาทิ ด้านอุตสาหกรรมยา โดยใช้เพื่อควบคุมระดับน้ำตาลและระดับคอเลสเตอรอลในเลือด ลดอาการท้องผูก ท้องเสีย ทั้งนี้ยังสามารถใช้เป็นส่วนผสมของยาเม็ด รวมไปถึงช่วยในการปรับสมดุลของช่องท้อง ซึ่งสามารถช่วยแก้ปัญหาข้อกังวลด้านสุขภาพตามที่ได้กล่าวไปข้างต้น พรีไบโอติกสามารถพบได้ในพืชหลายชนิด ได้แก่ หัวหอม หน่อไม้ฝรั่ง กระเทียม ถั่วเหลือง กล้วย รวมไปถึงบุก เป็นต้น ตามที่เราเห็นในท้องตลาด มีการใช้บุกเป็นส่วนผสมในอาหารสุขภาพอย่างกว้างขวาง ทั้งผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและเครื่องดื่ม

บุก (Konjac) คือ มันชนิดหนึ่ง เป็นพืชล้มลุกที่พบมากในทุกภาคของประเทศไทย ถูกนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านอาหารอย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะส่วนหัวที่นิยมนำมาแปรรูปเป็นแป้ง และแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริมหลายชนิด เนื่องจากมีเส้นใยสูงและมีสรรพคุณทางยาหลายด้าน นอกจากนี้ในบุกประกอบด้วยกลูโคแมนแนน (glucomannan) เป็นเส้นใยธรรมชาติที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (high molecular-weight) เป็นสารประเภทคาร์โบไฮเดรต ประกอบด้วย กลูโคสและแมนโนส ซึ่งกลูโคแมนแนน

สามารถช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดได้ เนื่องจากมีความเหนียวจะช่วยยับยั้งการดูดซึมของกลูโคสจากทางเดินอาหาร

กลูโคแมนแนนเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) (Chyba and Sagan, 1997) มีโครงสร้างประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว 2 ชนิด คือ น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลแมนโนส เชื่อมต่อกันเป็นเส้นตรงด้วยแรงยึดเหนี่ยวระหว่างขั้วที่ตำแหน่ง β-1,4'-glycosidic ของแต่ละโมเลกุล โดยทั่วไปแล้วกลูโคแมนแนนมีน้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 200 ถึง 2,000 กิโลดาลตัน (Khanna, 2003) ซึ่งกลูโคแมนแนนมีสมบัติเป็นเส้นใยอาหาร (dietary fiber) สามารถดูดซับน้ำได้ดีมาก มีความหนืดมากที่สุดในกลุ่มเส้นใยอาหาร เป็นสารที่ทำให้เกิดเจล (gelling agent) สามารถทำให้เกิดเจลที่คงตัวต่อความร้อนได้ (thermoirreversible gel) โดยมีการประยุกต์ใช้กลูโคแมนแนนหลายด้าน ได้แก่ สกัดและถูกนำมาใช้ในกลุ่มอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อใช้เป็นอิมัลซิไฟเออร์ (emulsifiers) สารเพิ่มความหนืด (thickener) ทั้งนี้เป็นสารตั้งต้นที่ใช้ในการเป็นพรีไบโอติก ซึ่งสารประกอบพวกพอลิแซ็กคาไรด์เป็นคาร์โบไฮเดรตที่ไม่สามารถย่อยและไม่ถูกดูดซึมในระบบทางเดินอาหารส่วนต้นและสามารถเคลื่อนที่ผ่านไปสู่บริเวณลำไส้ใหญ่ได้ในสภาพสมบูรณ์ โดยมีผลช่วยกระตุ้นการเจริญของกลุ่มจุลินทรีย์โพรไบโอติกในลำไส้ใหญ่และส่งเสริมสุขภาพของเจ้าบ้าน (Gibson and Roberfroid, 1995) สารที่ใช้เป็นพรีไบโอติกต้องมีสมบัติทนต่อการย่อยของกรดในกระเพาะอาหาร ไม่ถูกดูดซึมในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก และสามารถเคลื่อนที่ไปจนถึงลำไส้ใหญ่ได้โดยไม่มีการเปลี่ยนแปลง (Harman *et al*., 2004; Kolida *et al*., 2002; Ellegård *et al*., 1997) สามารถที่จะเกิดการหมักในลำไส้ใหญ่โดยแบคทีเรียที่มีประโยชน์ เช่น บิฟิโดแบคทีเรีย (bifidobacteria) และ *Lactobacillus* sp. และอาหารลดน้ำหนักในรูปของใยอาหาร ซึ่งมีสมบัติสำคัญ คือ สามารถดูดซับน้ำและพองตัวได้ดี ไม่สามารถทำปฏิกิริยากับกรดและด่างหรือน้ำย่อยในร่างกายจึงไม่ถูกดูดซึมในร่างกาย

ด้วยเหตุนี้ในงานวิจัยนี้จึงมีความสนใจที่จะศึกษาผลของกลูโคแมนแนนดั้งเดิมต่อกิจกรรมการเจริญและการผลิตกรดของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก โดยนำกลูโคแมนแนนเชิงการค้าไปตรวจวัดน้ำหนักโมเลกุลด้วยเทคนิค gel permeation chromatography (GPC) วิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของกลูโคแมนแนน ศึกษาสมบัติการเป็นพรีไบโอติก ซึ่งประกอบด้วย ศึกษาการส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติกและการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง (growth curve and pH reduction) และศึกษาดัชนีการเป็นพรีไบโอติก (prebiotic index: PI)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. วิเคราะห์สมบัติของกลูโคแมนแนน

1.1 วัดน้ำหนักโมเลกุลด้วยเทคนิคเจลเพอร์มีเอชันโครมาโทกราฟี

การวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลของสารละลายกลูโคแมนแนนโดยใช้เครื่อง gel permeation chromatography (GPC) ยี่ห้อ Waters รุ่น Waters 600E เตรียมสารตัวอย่างก่อนการวิเคราะห์ทำโดยนำสารละลายตัวอย่างที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง จากนั้นนำสารตัวอย่างไปวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลโดยใช้คอลัมน์ ultra hydrogel linear I และตัวตรวจจับดัชนีหักเหแสง (refractive index: RI) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ฉีดเข้าสู่คอลัมน์ ultra hydrogel linear I โดยมีสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ เป็นตัวพาสารตัวอย่างเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์

ผลการวิเคราะห์จะถูกนำไปเทียบกับสารละลายมาตรฐานพูลลูแลน (pullulans) ที่มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 5,900 ถึง 708,000 ดาลตัน

1.2 วัดโครงสร้างทางเคมีด้วยเทคนิคฟูเรียร์ทรานส์ฟอร์มอินฟราเรดสเปกโทรสโกปี

การวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของสารละลายกลูโคแมนแนนโดยใช้เครื่อง Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR) ยี่ห้อ PerkinElmer Model SPOTLIGHT 200i (วิเคราะห์ที่ศูนย์เครื่องมือกลาง มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม) โดยใช้การวัดแบบ ATR (attenuated total reflectance) ด้วยเครื่อง PIKE Gladi ATR ก่อนการวิเคราะห์สารตัวอย่างจะถูกนำไปทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง และนำไปวิเคราะห์ที่ช่วงสเปกตรัม 4,000-400 ความละเอียดของเลขคลื่น 1 ต่อเซนติเมตร

2. การทดสอบประสิทธิภาพของกลูโคแมนแนนจากบุกต่อการเป็นพรีไบโอติก

2.1 การเตรียมเชื้อทดลอง

เชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก ได้แก่ *Lactococcus lactis* A7 *L. pentosus* และ *L. acidophilus* เพาะเลี้ยงโพรไบโอติกแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อ de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง

สำหรับเชื้อก่อโรคทดสอบที่ใช้ ได้แก่ *Escherichia coli* เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว nutrient broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.2 การศึกษาการส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติกและการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง

การศึกษาการส่งเสริมการเจริญของเชื้อโพรไบโอติก ดัดแปลงวิธีจาก Synytsya *et al*. (2009) โดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth สูตรดัดแปลงโดยเติมกลูโคแมนแนนร้อยละ 0.25 แทนน้ำตาลกลูโคส ในสูตรพื้นฐานใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth สูตรดัดแปลงโดยเติมอินูลินเป็นชุดควบคุม เติมเชื้อโพรไบโอติกทั้ง 3 สายพันธุ์ ปริมาณเชื้อร้อยละ 2.00 (ปริมาตรต่อปริมาตร) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เก็บตัวอย่างชั่วโมงที่ 0 3 6 9 12 18 และ 24 ตามลำดับ ตรวจวัดการเจริญของแบคทีเรีย โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร และวัดการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.3 คำนวณดัชนีการเป็นพรีไบโอติก

การทดสอบดัชนีการเป็นพรีไบโอติกเป็นการศึกษาความสามารถของกลูโคแมนแนนต่อการส่งเสริมการเจริญของเชื้อโพรไบโอติกแบคทีเรียและยับยั้งเชื้อก่อโรค ซึ่งดัดแปลงตามวิธีการของ Huebner *et al*. (2008)

การศึกษาการเจริญของเชื้อโพรไบโอติกทั้ง 3 สายพันธุ์ ทำตามข้อ 2.2) สำหรับเชื้อก่อโรคที่ใช้ คือ *E. coli* ทำการทดลองเช่นเดียวกันกับการส่งเสริมการเจริญของเชื้อโพรไบโอติกโดยเลี้ยงในอาหารเหลว nutrient broth ที่เติมสูตรดัดแปลง ได้แก่ ใช้อาหารเหลว nutrient broth สูตรพื้นฐานผสมกลูโคแมนแนนร้อยละ 0.25) และใช้อาหารเหลว nutrient broth สูตรพื้นฐานผสมอินูลินร้อยละ 0.25 เป็นชุดควบคุม วัดค่าดูดกลืนแสงชั่วโมงที่ 0 และ 24 นำผลที่ได้มาคำนวณค่าดัชนีการเป็นพรีไบโอติกตามสมการ (1)

$$\text{ดัชนีการเป็นพรีไบโอติก} = \frac{A}{B} - \frac{C}{D} \qquad (1)$$

เมื่อ A = ค่า log การดูดกลืนแสงของโพรไบโอติกที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมพรีไบโอติกที่ 24 ชั่วโมง - ค่า log การดูดกลืนแสงของโพรไบโอติกที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมพรีไบโอติกที่ 0 ชั่วโมง

B = ค่า log การดูดกลืนแสงของโพรไบโอติกที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมกลูโคสที่ 24 ชั่วโมง - ค่า log การดูดกลืนแสงของโพรไบโอติกที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมกลูโคสที่ 0 ชั่วโมง

C = ค่า log การดูดกลืนแสงของแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้ของคนที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ เติมพรีไบโอติกที่ 24 ชั่วโมง - ค่า log การดูดกลืนแสงของแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้ของคนที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมพรีไบโอติกที่ 0 ชั่วโมง

D = ค่า log การดูดกลืนแสงของแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้ของคนที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมกลูโคสที่ 24 ชั่วโมง - ค่า log การดูดกลืนแสงของแบคทีเรียประจำถิ่นในลำไส้ของคนที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมกลูโคสที่ 0 ชั่วโมง

4. การวิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้หลักสถิติ

การวิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้หลักสถิติ แผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design: CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (one way analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เวอร์ชัน 22.0

ผลการวิจัย

1. ผลการวิเคราะห์น้ำหนักโมเลกุลกลูโคแมนแนน

จากการตรวจวัดน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยโดยน้ำหนัก (weight-averaged molecular weight) ของสารละลายกลูโคแมนแนนด้วยเทคนิค GPC พบว่ากลูโคแมนแนนมีน้ำหนักโมเลกุล 2 ช่วง ได้แก่ กลูโคแมนแนนน้ำหนักโมเลกุลสูง (high molecular weight glucomannan) มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 1.0×10^4 - 1.0×10^6 ดาลตัน และกลูโคแมนแนนน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (low molecular weight) มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า 1.0×10^4 ดาลตัน นอกจากนั้นตรวจพบกลูโคแมนแนนน้ำหนักโมเลกุลเริ่มต้น 1.9×10^6 ดาลตัน และตรวจพบกลูโคแมนแนนน้ำหนักโมเลกุลต่ำ 1.4×10^3 ดาลตัน โดยมีค่าดัชนีการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุล (polydispersity index: PDI) เท่ากับ 1.6 และ 1.2 ตามลำดับ

ค่าดัชนีการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลเป็นพารามิเตอร์ที่สำคัญที่สามารถอธิบายความกว้างหรือการกระจายของตัวของขนาดอนุภาค ซึ่งอาจแปรผันตั้งแต่ 0 ถึง 1 ถ้าค่าดัชนีการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลน้อยกว่า 0.1 แสดงว่าโพลิเมอร์มีการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลน้อยหรือมีน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียงกัน ในทางตรงกันข้ามถ้าค่าดัชนีการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลมีค่ามากกว่า 0.1 แสดงว่ามีการกระจายตัวของอนุมภาคที่มีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันมาก เมื่อพิจารณาผลของความเข้มข้นของสารละลายกลูโคแมนแนนต่อร้อยละผลได้ของกลูโคแมนแนน สารละลายกลูโคแมนแนนที่ตรวจพบน้ำหนักโมเลกุล 1.9×10^6 ดาลตัน ตรวจพบร้อยละผลได้เท่ากับ 58.08 และกลูโคแมนแนนน้ำหนักโมเลกุลต่ำ 1.4×10^3 ดาลตัน ตรวจพบร้อยละผลได้เท่ากับ 41.92 ดังตารางที่ 1

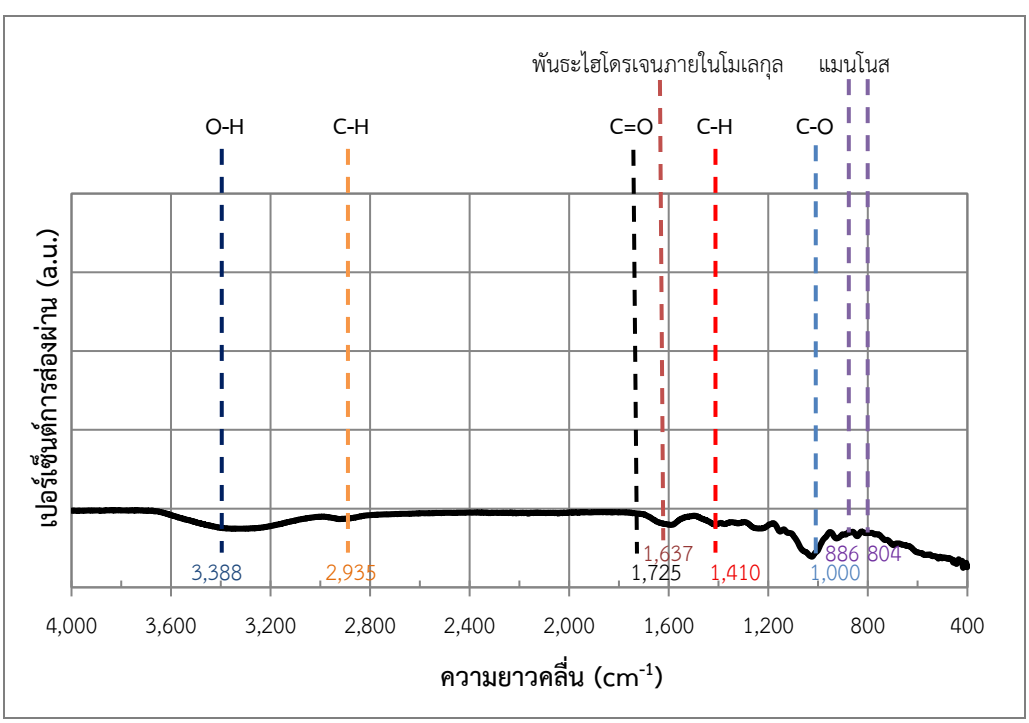
ตารางที่ 1 ผลของน้ำหนักโมเลกุลของกลูโคแมนแนน

ตัวอย่าง	น้ำหนักโมเลกุล	ค่าดัชนีการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุล	ร้อยละผลได้
กลูโคแมนแนน	1.9×10^{6}	1.6	58.08
	1.4×10^{3}	1.2	41.92

หมายเหตุ: - น้ำหนักโมเลกุลที่เทียบเคียงกับสารมาตรฐานพูลลูแลน

2. ผลการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของกลูโคแมนแนน

จากการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีของกลูโคแมนแนนด้วยเทคนิค FTIR เพื่อตรวจสอบหมู่ฟังก์ชันและแสดงลักษณะโครงสร้างทางเคมีที่สำคัญ พบว่าพีคที่ตำแหน่ง 3,388 ต่อเซนติเมตร เนื่องจากการสั่นแบบยืด (stretching) ของหมู่ไฮดรอกซิล (O-H) (Li *et al*., 2021) และพีคที่ตำแหน่ง 2,935 และ 1,410 ต่อเซนติเมตร ซึ่งสอดคล้องกับการสั่นแบบยืดในหมู่แอลเคน (C-H) (Li *et al*., 2021) พีคที่ตำแหน่ง 1,725 ต่อเซนติเมตร เนื่องจากการสั่นแบบยืดที่เชื่อมระหว่างคาร์บอนและออกซิเจน (C=O) นอกจากนั้นพีคที่ตำแหน่ง 1,637 ต่อเซนติเมตร ซึ่งสอดคล้องกับพันธะไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นภายในโมเลกุล (intramolecular hydrogen bonding) (Zheng *et al*., 2019) ขณะที่พีคที่ตำแหน่ง 1,000 ต่อเซนติเมตร มีการสั่นแบบยืดโดยเชื่อมโยงระหว่างคาร์บอนและออกซิเจน (C-O) สอดคล้องกับพีคที่ตำแหน่ง 886 และ 804 ต่อเซนติเมตร แสดงถึงโครงสร้างของน้ำตาลแมนโนส (Zheng *et al*., 2019) ดังภาพที่ 1



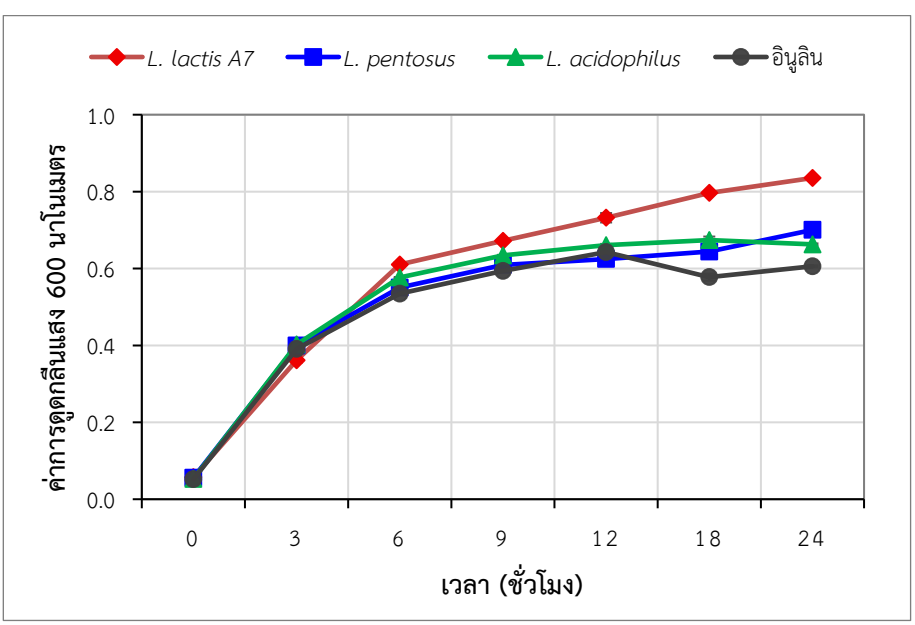
ภาพที่ 1 ลักษณะโครงสร้างทางเคมีของสารละลายกลูโคแมนแนน

3. ผลการส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติกและการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง

จากการศึกษาการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติก *L. lactis* A7 และเชื้อทางการค้าได้แก่ *L. pentosus* และ *L. acidophilus* นำมาเลี้ยงกับกลูโคแมนแนนโดยเปรียบเทียบกับอินูลิน พบว่าผลของกลูโคแมนแนนต่อการเจริญของเชื้อ *L. lactis* A7 และเชื้อทางการค้าเติมกลูโคแมนแนนลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนเปรียบเทียบกับอินูลินเป็นชุดควบคุม โดยทดสอบความสามารถของสารสกัดในการส่งเสริมการเจริญของเชื้อโพรไบโอติก และเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 3 6 9 12 18 และ 24 ชั่วโมง เพื่อนำมาวัดการเจริญของโพรไบโอติก

3.1 ผลการส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติก

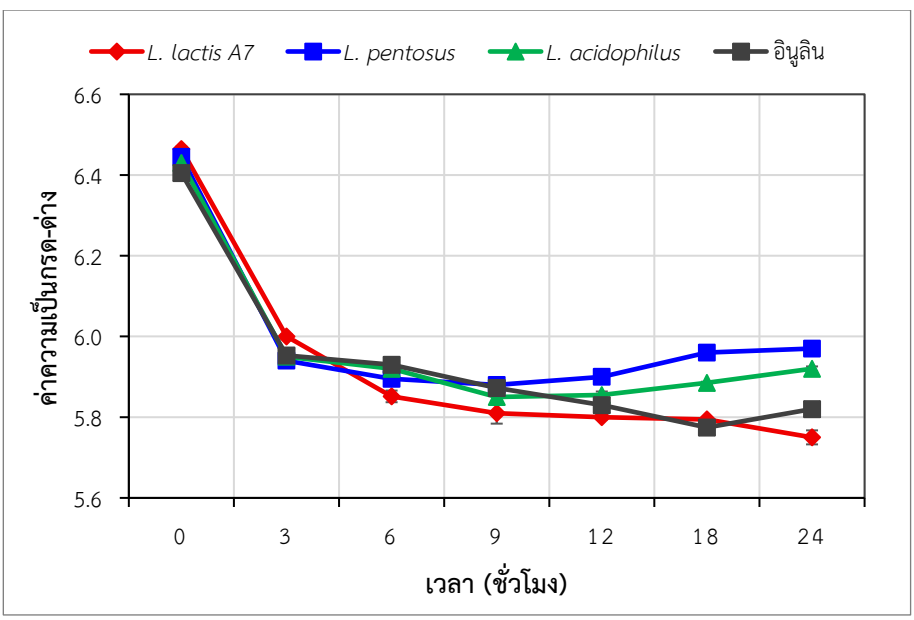
จากการศึกษาการเจริญของเชื้อ *L. lactis* A7 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ที่มีการเติมกลูโคแมนแนนและทำการเก็บตัวอย่างที่เวลา 0 3 6 9 12 18 และ 24 ชั่วโมง พบว่าเชื้อ *L. lactis* A7 มีค่าการดูดกลืนแสง (optical density: OD) สูงสุดชั่วโมงที่ 24 โดยอยู่ระหว่าง 0.60-0.83 ซึ่งกลูโคแมนแนนมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด เท่ากับ 0.83 ตามด้วยเชื้อ *L. pentosus* เท่ากับ 0.70 เชื้อ *L. acidophilus* เท่ากับ 0.66 และอินูลิน เท่ากับ 0.60 ดังนั้นกลูโคแมนแนนที่เลี้ยงร่วมกับ *L. lactis* A7 เป็นสารสกัดกลูโคแมนแนนที่สามารถทำให้เชื้อ *L. lactis* A7 เจริญได้ดีกว่าสูตรควบคุม คือ อินูลิน เท่ากับ 0.60 ดังภาพที่ 2



ภาพที่ 2 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตรกับเวลาของเชื้อ *L. lactis* A7 *L. pentosus* และ *L. acidophilus* โดยเปรียบเทียบกับอินูลิน

3.2 ผลการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง

จากการศึกษาการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างของเชื้อโพรไบโอติก ได้แก่ *L. lactis A7 L. pentosus* และ *L. acidophilus* นำมาเลี้ยงกับกลูโคแมนแนนโดยเปรียบเทียบกับอินูลิน ผลการศึกษาพบว่าเชื้อ *L. lactis* A7 ในทุกสารสกัดมีแนวโน้มในการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่างใกล้เคียงกัน ซึ่งเป็นผลของค่าความเป็นกรด-ด่างที่ตรวจพบระหว่างการทดสอบ แสดงว่าเชื้อ *L. lactis* A7 สามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ที่เติมสารสกัดกลูโคแมนแนน โดยมีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำสุดชั่วโมงที่ 24 โดยอยู่ระหว่าง 5.75-5.97 ซึ่ง *L. lactis* A7 เท่ากับ 5.75 ตามด้วยอินูลินเท่ากับ 5.82 เชื้อ *L. acidophilus* เท่ากับ 5.92 และเชื้อ *L. pentosus* เท่ากับ 5.97 ดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรด-ด่างกับเวลาของเชื้อ *L. lactis* A7 *L. pentosus* และ *L. acidophilus* โดยเปรียบเทียบกับอินูลิน

4. ผลการทดสอบความสามารถของการเป็นพรีไบโอติก

การวิเคราะห์ความสามารถของการเป็นพรีไบโอติกของสารสกัดกลูโคแมนแนน โดยเปรียบเทียบกับอินูลินที่สามารถกระตุ้นการเจริญของเชื้อโพรไบโอติก ด้วยวิธี prebiotic activity assay ซึ่งดัดแปลงตามวิธีการของ Huebner *et al.* (2008)

ดัชนีการเป็นพรีไบโอติกแสดงถึงความสัมพันธ์เชิงเปรียบเทียบระหว่างการเจริญของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ เช่น บิฟิโดแบคทีเรีย และ *Lactobacillus* sp. และแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค เช่น *E. coli* (Plongbunjong *et al*., 2017) โดยการเปลี่ยนแปลงของประชากรแบคทีเรียที่แสดงถึงดัชนีพรีไบโอติกเชิงบวก จากการทดสอบผลการเปรียบเทียบความสามารถของการเป็นพรีไบโอติกของกลูโคแมนแนนนำมาผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ สารพรีไบโอติกดังกล่าวมีความสามารถในการส่งเสริมการเจริญของเชื้อโพรไบโอติกของกลูโคแมนแนน พบว่าในการเลี้ยงร่วมกับสารสกัดกลูโคแมนแนน

ส่งผลดีต่อการเจริญของเชื้อ *L. lactis* A7 เห็นได้ชัดเจน จึงถือว่าสารสกัดที่ได้นั้นมีความสามารถในการเป็นพรีไบโอติกที่ดี แต่สำหรับอินูลินถือว่าสารสกัดที่ได้นั้นมีความสามารถในการเป็นพรีไบโอติกต่ำกว่า เมื่อเปรียบเทียบค่าความสามารถของการเป็นพรีไบโอติกต่อการเจริญของเชื้อ *L. lactis* A7 และเชื้อทางการค้า พบว่าอินูลินมีค่าความสามารถต่อการเป็นพรีไบโอติกต่อเชื้อ *L. acidophilus* สูงสุด เท่ากับ 0.65 รองลงมาเชื้อ *L. pentosus* เท่ากับ 0.52 และ *L. lactis* A7 เท่ากับ 0.50 ตามลำดับ ต่อมาเมื่อทดสอบกับกลูโคแมนแนน มีค่าความสามารถต่อการเป็นพรีไบโอติกต่อเชื้อ *L. lactis* A7 สูงสุด เท่ากับ 1.23 รองลงมาเชื้อ *L. pentosus* เท่ากับ 0.74 และเชื้อ *L. acidophilus* เท่ากับ 0.63 ตามลำดับ ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ค่าดัชนีการเป็นพรีไบโอติกของเชื้อ *L. lactis A7 L. pentosus* และ *L. acidophilus*

อาหารเลี้ยงเชื้อ	เชื้อจุลินทรีย์	ค่าดัชนีการเป็นพรีไบโอติก
อินูลิน	*L. pentosus*	0.52
	L. acidophilus	0.65
	L. lactis A7	0.50
กลูโคแมนแนน	*L. pentosus*	0.74
	L. acidophilus	0.63
	L. lactis A7	1.23

การอภิปรายผลการวิจัย

กลูโคแมนแนนมีสมบัติเป็นเส้นใยอาหาร สามารถดูดซับน้ำได้ดีมาก มีความหนืดมากที่สุดในกลุ่มเส้นใยอาหาร เป็นสารที่ทำให้เกิดเจล สามารถทำให้เกิดเจลที่คงตัวต่อความร้อนได้ โดยถูกนำมาใช้ในกลุ่มอุตสาหกรรมอาหาร ทั้งนี้เป็นสารตั้งต้นที่ใช้ในการเป็นพรีไบโอติก ดังนั้นหากกลูโคแมนแนนดั้งเดิมสามารถเลี้ยงร่วมกับ *L. lactis* A7 เพื่อส่งเสริมการเจริญและลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง รวมถึงดัชนีการเป็นพรีไบโอติกได้ก็แสดงว่ากลูโคแมนแนนนั้นมีความสามารถในการเป็นพรีไบโอติก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Daeschel (1989) เนื่องจากโพรไบโอติกนั้นมีความสามารถในการสร้างกรดส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง ซึ่งมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น โดยผลิตได้จากแบคทีเรียกรดผลิตแลคติกถูกนำมาใช้ในการหมักเพื่อรักษาคุณภาพทางโภชนาการของอาหารต่าง ๆ มีฤทธิ์ต้านจุลชีพหลักที่กระทำโดยแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก คือ การผลิตกรดแลคติกและการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง โพรไบโอติกแบคทีเรียมีผลดีต่อสุขภาพในลำไส้ กระตุ้นให้แบคทีเรียเหล่านี้เจริญได้ โดยเฉพาะทำให้การติดเชื้อในลำไส้ลดลงด้วยกลไกหลายอย่างรวมถึงการลดค่าความเป็นกรด-ด่างในลำไส้ (โดยการผลิตกรด) และการขับยาปฏิชีวนะตามธรรมชาติ (Gibson, 2005) นอกจากนี้ยังสามารถผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ผลิตขึ้นโดยแลคติกแบคทีเรีย มีฤทธิ์ต้านจุลชีพ โดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ อาจเป็นผลจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของหมู่ซัลไฮดริลที่ทำให้เกิดการเสียสภาพของเอนไซม์จำนวนหนึ่ง และจากปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันของไขมันในเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งจะทำให้การซึมผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์เพิ่มขึ้น (Kong and Davison, 1980) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ยังอาจเป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตอนุมูลอิสระที่ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เช่น ซูเปอร์ออกไซด์ ($^{\bullet}O_2^-$) และ

อนุมูลไฮดรอกซิล (•OH) จะทำให้เกิดรูรั่วที่ผนังเซลล์ของเซลล์แบคทีเรียเป้าหมาย ซึ่งสามารถทำลายดีเอ็นเอได้ (Byczkowski and Gessner, 1988) และการศึกษาของ Boonkla *et al.* (2024) รายงานว่าแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกสามารถผลิตสารต้านอนุมูลอิสระที่ส่งผลดีต่อสุขภาพได้

อย่างไรก็ตามในการใช้ประโยชน์จากพรีไบโอติกของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติกนั้น จะสัมพันธ์กับเชื้อกลุ่มโพรไบโอติกที่มีความเจาะจงในการย่อย โดยค่าความสามารถในการเป็นพรีไบโอติกนั้นแสดงให้เห็นถึงความสามารถในการเผาผลาญ (metabolic capacity) ของจุลินทรีย์แต่ละสายพันธุ์ ซึ่งจากการทดลองที่กล่าวมาข้างต้นแสดงให้เห็นว่ากลูโคแมนแนนมีความสามารถในการเป็นพรีไบโอติกสูงกว่าอินูลิน สอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ของ Ariestanti *et al*. (2019) ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับกิจกรรมพรีไบโอติกของบุกกลูโคแมนแนน (porang glucomannan: PGM) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตบุกโอลิโกกลูโคแมนแนน และผลกระทบต่อจุลินทรีย์ในลำไส้ พบว่าคอนยัคโอลิโกกลูโคแมนแนน (Konjac oligo-glucomannan: KOG) จะแสดงศักยภาพของพรีไบโอติกมากกว่าอินูลินที่มีขายทั่วไป ซึ่งผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นความสามารถของผลิตภัณฑ์ที่ผ่านกระบวนการย่อยบุกโอลิโกกลูโคแมนแนน (Porang oligo-glucomannan: POG) และคอนยัคโอลิโกกลูโคแมนแนน ในการส่งเสริมการเจริญของบิฟิโดแบคทีเรีย และสอดคล้องกับ Anggela *et al*. (2022) ได้ทำการศึกษาการเป็นพรีไบโอติกของแป้งโอลิโกกลูโคแมนแนนโดยใช้การหมักอุจจาระเป็นชุดเมื่อนำไปศึกษาผลของการเป็นพรีไบโอติก พบว่าบุกโอลิโกกลูโคแมนแนน คอนยัคโอลิโกกลูโคแมนแนน และบุกกลูโคแมนแนนมีค่าดัชนีการเป็นพรีไบโอติก เท่ากับ 10.29 8.53 และ 4.25 ตามลำดับ นอกจากนี้บุกโอลิโกกลูโคแมนแนนยังแสดงให้เห็นว่าเป็นพรีไบโอติกที่มีประสิทธิภาพมากกว่าสารตั้งต้นอื่น ๆ โดยกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในเชื้อบิฟิโดแบคทีเรียและในขณะเดียวกันสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคได้

สรุปผลการวิจัย

จากการตรวจวัดน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของกลูโคแมนแนน พบช่วงของน้ำหนักโมเลกุล 2 ช่วง ได้แก่ กลูโคแมนแนนน้ำหนักโมเลกุลสูง มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 1.0×10^4 - 1.0×10^6 ดาลตัน และกลูโคแมนแนนน้ำหนักโมเลกุลต่ำ มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า 1.0×10^4 ดาลตัน กลูโคแมนแนนตรวจพบน้ำหนักโมเลกุลเริ่มต้น 1.9×10^6 ดาลตัน และตรวจพบกลูโคแมนแนนน้ำหนักโมเลกุลต่ำ 1.4×10^3 ดาลตัน โดยมีค่าดัชนีการกระจายตัวของน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 1.6 และ 1.2 ตามลำดับ ตรวจพบร้อยละ 58.08 และ 41.92 ตามลำดับ จากการศึกษาสมบัติการเป็นพรีไบโอติกที่สภาวะต่าง ๆ เพื่อส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติก *L. lactis* A7 โดยเติมกลูโคแมนแนนในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ส่วนในตัวอย่างควบคุมเติมอินูลิน พบว่าอัตราการเจริญมีแนวโน้มใกล้เคียงกัน แต่กลูโคแมนแนนมีค่าการดูดกลืนของแสงสูงสุด สามารถส่งเสริมการเจริญของ *L. lactis* A7 เท่ากับ 0.83±0.03 ตามด้วยเชื้อ *L. pentosus* เท่ากับ 0.70±0.01 เชื้อ *L. acidophilus* เท่ากับ 0.66±0.01 และอินูลิน เท่ากับ 0.60±0.03 ดังนั้น กลูโคแมนแนนที่เลี้ยงร่วมกับ *L. lactis* A7 เป็นสารสกัดกลูโคแมนแนนที่สามารถทำให้เชื้อ *L. lactis* A7 เจริญได้ดีกว่าสูตรควบคุม คือ อินูลิน 0.60±0.02 นอกจากนั้นยังพบว่าเชื้อโพรไบโอติก *L. lactis* A7 ที่เลี้ยงร่วมกับกลูโคแมนแนนมีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำสุดที่ชั่วโมงที่ 24 โดยมีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.75±0.02 แต่สูงกว่าตัวอย่างควบคุมอินูลินเท่ากับ 5.82±0.05 และ

เชื้อ *L. acidophilus* มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.92±0.02 และเชื้อ *L. pentosus* เท่ากับ 5.97±0.01 และเมื่อวิเคราะห์ความสามารถของการเป็นพรีไบโอติก พบว่าค่าดัชนีการเป็นพรีไบโอติกสูงสุด คือ กลูโคแมนแนนมีค่าความสามารถต่อการเป็นพรีไบโอติกต่อเชื้อ *L. lactis* A7 สูงสุด เท่ากับ 1.23 ตามด้วยเชื้อ *L. pentosus* เท่ากับ 0.74 และเชื้อ *L. acidophilus* เท่ากับ 0.63

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ให้การสนับสนุนตรวจวิเคราะห์คุณภาพงานวิจัยให้เกิดความสมบูรณ์และแม่นยำ

เอกสารอ้างอิง

Anggela, A., Harmayani, E., Setyaningsih, W. and Wichienchot, S. (2022). Prebiotic effect of porang oligo-glucomannan using fecal batch culture fermentation. *Food Science and Technology*, 42, doi: https://doi.org/10.1590/fst.06321.

Ariestanti, C.A., Seechamnanturakit, V., Harmayani, E. and Wichienchot, S. (2019). Optimization on production of konjac oligo-glucomannan and their effect on the gut microbiota. *Food Science & Nutrition*, 7(2), 788-796, doi: https://doi.org/10.1002/fsn3.927.

Boonkla, W., Kerdsin, A. and Itsaranuwat, P. (2024) Antioxidant activities of *Boesenbergia rotunda* (L.) Mansf. fermented with lactic acid bacteria. *Wichcha Journal Nakhon Si Thammarat Rajabhat University*, 43(2), 66-75, doi: https://doi.org/10.65217/wichchajnstru.2024.v43i2.260335.

Byczkowski, J.Z. and Gessner, T. (1988). Biological role of superoxide ion-radical. *International Journal of Biochemistry*, 20(6), 569-580, doi: https://doi.org/10.1016/0020-711X(88)90095-X.

Chyba, C.F. and Sagan, C. (1997). Comets as a source of prebiotic organic molecules for the early earth. In Thomas, P.J., Chyba, C.F. and McKay, C.P. (Eds.). *Comets and the origin and evolution of life*, pp. 147-173. New York: Springer.

Daeschel, M.A. (1989). Antimicrobial substances from lactic acid bacteria for use as food preservatives. *Food Technology*, 43(1), 164-167.

Ellegård, L., Andersson, H. and Bosaeus, I. (1997). Inulin and oligofructose do not influence the absorption of cholesterol, or the excretion of cholesterol, Ca, Mg, Zn, Fe, or bile acids but increases energy excretion in ileostomy subjects. *European Journal of Clinical Nutrition*, 51(1), 1-5, doi: https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1600320.

Gibson, G.R. and Roberfroid, M.B. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *The Journal of Nutrition*, 125(6), 1401-1412, doi: https://doi.org/10.1093/jn/125.6.1401.

Gibson, R.S. (2005). *Principles of nutritional assessment*. (2nd ed). New York: Oxford University Press.

Harman, G.E., Lorito, M. and Lynch, J.M. (2004). Uses of *Trichoderma* spp. to alleviate or remediate soil and water pollution. *Advances in Applied Microbiology*, 56, 313-330, doi: https://doi.org/10.1016/S0065-2164(04)56010-0.

Huebner, J., Wehling, R.L., Parkhurst, A. and Hutkins, R.W. (2008). Effect of processing conditions on the prebiotic activity of commercial prebiotics. *International Dairy Journal*, 18(3), 287-293, doi: https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.08.013.

Khanna, S. (2003). *The chemical, physical and nutritional properties of the plant polysaccaride konjac glucomannan*. Ph.D. thesis in Doctoral Dissertation, Glasgow Caledonian University, Glasgow.

Kolida, S., Tuohy, K. and Gibson, G.R. (2002). Prebiotic effects of inulin and oligofructose. *British Journal of Nutrition*, 87(suppl 2), S193-S197, doi: https://doi.org/10.1079/BJN/2002537.

Kong, S. and Davison, A.J. (1980). The role of interactions between O_2, H_2O_2,·OH, e- and O_2- in free radical damage to biological systems. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 204(1), 18-29, doi: https://doi.org/10.1016/0003-9861(80)90003-X.

Li, F., Sun, X., Yu, W., Shi, C., Zhang, X., Yu, H. and Ma, F. (2021). Enhanced konjac glucomannan hydrolysis by lytic polysaccharide monooxygenases and generating prebiotic oligosaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 253, doi: https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117241.

Plongbunjong, V., Graidist, P., Knudsen, K.E.B. and Wichienchot, S. (2017). Isomaltooligosaccharide synthesised from rice starch and its prebiotic properties in vitro. *International Journal of Food Science & Technology*, 52(12), 2589-2595, doi: https://doi.org/10.1111/ijfs.13545.

Zheng, Q., Li, W., Liang, S., Zhang, H., Yang, H., Li, M. and Zhang, Y. (2019). Effects of ultrasonic treatment on the molecular weight and anti-inflammatory activity of oxidized konjac glucomannan. *CyTA-Journal of Food*, 17(1), 1-10, doi: https://doi.org/10.1080/19476337.2018.1541195.