232167

การทดลองนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาคุณสมบัติความเป็นพรีไบโอติคของไซโคลเดกซ์ตริน ด้วยการทดสอบ 2 วิธีคือ การหมักในระบบคงที่ (Batch culture fermentation) และการหมักในระบบต่อเนื่องโดยใช้ระบบหมักของลำไส้ใหญ่จำลอง (Three-stage continuous fermentation, Gut model)

การหมักในระบบกะ (Batch culture fermentation) เป็นการศึกษาคุณสมบัติการหมักของแอลฟาไซโคลเดกซ์ตริน (α-CD) เบต้าไซโคลเดกซ์ตริน (β-CD) และไซโคลเดกซ์ตรินผสม (Mixed-CD) ของแอลฟาไซโคลเดกซ์ตรินและเบต้าไซโคลเดกซ์ตริน อัตราส่วน 1:1 ด้วยเชื้อแบคทีเรียจากอุจจาระในสภาวะจำลองของลำไส้ใหญ่ส่วนท้าย ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเป็นกรด-ด่าง 6.8 และอยู่ในสภาวะไม่มีอากาศ เปรียบเทียบกับการหมักฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS, Raftilose) และมอลโตเดกซ์ตริน (MD) ทำการทดสอบการเปลี่ยนแปลงจำนวนแบคทีเรียที่ได้จากหมักด้วยวิธี Fluorescent in *situ* hybridisation (FISH) และทำการวิเคราะห์กรดไขมันสายสั้น (Short-chain fatty acid; SCFAs) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมัก จากการทดลองพบว่า การหมักด้วยแอลฟาไซโคลเดกซ์ตริน เบต้าไซโคลเดกซ์ตริน และไซโคลเดกซ์ตรินผสม ทำให้เชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม *Bifidobacteria* มีจำนวนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่การหมักชั่วโมงที่ 10 ($P \leq 0.05$) ในขณะที่การหมักด้วย FOS และ MD ทำให้ *Bifidobacteria* มีจำนวนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติภายหลังการหมัก 5 ชั่วโมง ($P \leq 0.05$) นอกจากนี้พบว่า การหมักด้วย แอลฟาไซโคลเดกซ์ตริน เบต้าไซโคลเดกซ์ตริน และไซโคลเดกซ์ตรินผสมสามารถสังเคราะห์กรดโพรไพโอนิคได้มากกว่าการหมักด้วยฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์และมอลโตเดกซ์ตริน

การหมักในระบบต่อเนื่องโดยใช้ระบบการหมักของลำไส้ใหญ่จำลอง (Gut model) เป็นการเลียนแบบสภาะการหมักในลำไส้ใหญ่ 3 ส่วนแบบหมักต่อเนื่องกัน จากผลการการทดลองพบว่า การหมักแอลฟาไซโคลเดกซ์ตรินและเบต้าไซโคลเดกซ์ตริน ทำให้จำนวน *Bifidobacteria* และ *Lactobacillus/Enterococcus* เพิ่มขึ้น ($P \leq 0.05$) ในถังหมักทั้ง 3 ชุด ซึ่งแสดงถึงการเพิ่มจำนวนในลำไส้ใหญ่ส่วนต้น ส่วนกลางและส่วนปลาย ในส่วนของการสังเคราะห์กรดไขมันสายสั้น พบว่าการหมักแอลฟาไซโคลเดกซ์ตริน สามารถสังเคราะห์กรดอะซีติค กรดโพรไพโอนิค กรดบิวทิริค และปริมาณกรดไขมันสายสั้นทั้งหมดเพิ่มขึ้นในลำไส้ใหญ่ส่วนกลางและส่วนปลายอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการเพิ่มจำนวนของ *Bifidobacteria* และ *Lactobacilli/Enterococcus* อย่างไรก็ดี การหมักเบต้าไซโคลเดกซ์ตรินพบว่าสามารถสังเคราะห์

232167

กรดบิวทิริคในลำไส้ใหญ่ส่วนต้นได้ ($P \leq 0.05$) สำหรับการคำนวณค่าดัชนีพรีไบโอติค (Prebiotic index, PI) พบว่าการหมักแอลฟาไซโคลเดกซ์ตรินและเบต้าไซโคลเดกซ์ตรินมีค่าดัชนีพรีไบโอติคในลำไส้ใหญ่ทั้ง 3 ส่วนค่อนข้างต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับค่าดัชนีพรีไบโอติคของพรีไบโอติคทางการค้า โดยพบว่าค่าดัชนีพรีไบโอติคสูงสุด ที่พบในลำไส้ใหญ่ส่วนต้นของการหมักแอลฟาไซโคลเดกซ์ตรินเท่ากับ 0.2067 และค่าดัชนีพรีไบโอติคในลำไส้ใหญ่ส่วนท้ายที่ได้จากการหมักเบต้าไซโคลเดกซ์ตรินเท่ากับ 0.1095

จากคุณสมบัติความสามารถของแอลฟาไซโคลเดกซ์ตรินและเบต้าไซโคลเดกซ์ตรินในการเพิ่มจำนวน *Bifidobacteria*, *Lactobacilli/Enterococcus* และความสามารถในการสังเคราะห์กรดไขมันสายสั้นชนิดต่างๆ สามารถแสดงให้เห็นได้ว่าแอลฟาไซโคลเดกซ์ตรินและเบต้าไซโคลเดกซ์ตรินมีความเป็นไปได้ในการมีคุณสมบัติความเป็นพรีไบโอติค อย่างไรก็ดีควรมีการศึกษาและทดสอบเพิ่มเติมในอาสาสมัครต่อไป

The aim of this study was to find out the prebiotic properties of cyclodextrin by using batch culture fermentation and three-stage continuous fermentation (Gut model).

Batch culture fermentation was used to investigate the fermentation properties of α-cyclodextrin (α-CD), β-cyclodextrin (β-CD), and a mixture of α-cyclodextrin and β-cyclodextrin (in a 1:1 ratio), as compared to fructo-oligosaccharides (FOS; Raftilose) and maltodextrin in mixed faecal culture. The substrates were incubated for 24 hours in batch culture fermentations of human faecal bacteria. The fermentation conditions replicated those found in the distal colon and consisted of an anaerobic environment with a temperature of 37°C and 6.8 pH. Fluorescent in situ hybridization was used to determine changes in the populations of bacteria. Short-chain fatty acid (SCFAs) production was also measured. The results showed that α-CD, β-CD and a mixture of α-CD and β-CD gave significant increases in *Bifidobacteria* after 10 hours of fermentation ($P<0.05$), but FOS and maltodextrin could significantly increase the number of *Bifidobacteria* after 5 hours of incubation. Moreover, the fermentation of α-CD, β-CD and a mixture of α-CD and β-CD were shown to produce higher levels of propionic acid than fermentation of FOS and maltodextrin.

Three-stage continuous fermentation (Gut model) was a model of the human colon to stimulate microbial activities of gut bacteria that consisted of a three-stage culture system. The results showed that the fermentation of α-CD and β-CD resulted in increased numbers of *Bifidobacteria* and the *Lactobacillus/Enterococcus* group in all 3 vessels of the system ($P\leq0.05$), representing the proximal, transverse and distal colonic areas. In addition, the fermentation of α-CD was able to produce acetic acid, propionic acid and butyric acid in part of transverse (V2) and distal colonic areas (V3) that correlated to the increasing number of *Bifidobacteria* and *Lactobacilli/Enterococcus*. However, β-CD was shown to increase butyric in proximal area ($P\leq0.05$). The prebiotic index was also determined and it was found that the prebiotic indices of α-CD and β-CD were lower than that from commercial prebiotics. PI scores from α-CD and β-CD were 0.2067 and 0.1097 in V1 and V3 respectively.

In conclusion, it was found that fermentation of α-CD and β-CD was able to increase *Bifidobacteria* and *Lactobacilli/Enterococcus* and could also produce short-chain fatty acids. Therefore, α-CD and β-CD have the potential to be used in an application as persistent prebiotic but this must be evaluated using in *vivo* human volunteer trials.