

โครงการวิจัย	การพัฒนานมเปรี้ยวถั่วเหลืองผสมโปรไบโอติกต่อต้านการอักเสบของระบบทางเดินอาหาร
หน่วยงาน	คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
ผู้วิจัย	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ไชยวัฒน์ ไชยสุต นายสาร์ทเจน ภิรัตนทร์ นางสาวศศิธร ศิริลุณ

บทคัดย่อ

244813

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษานมเปรี้ยวถั่วเหลืองที่ผลิตโดยแบคทีเรียไบโอดิค ที่อาจมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายในการต้านการอักเสบของลำไส้ได้ โดยการคัดเลือกแบคทีเรียกรดแอลกอติกจากผลิตภัณฑ์อาหารหมักของไทย และนำมาศึกษาคุณสมบัติของการเป็นแบคทีเรียไบโอดิค เช่น การทนต่อกรด การทนต่อเกลือน้ำดี การมีฤทธิ์ต้านจุลชีพ ความสามารถในการเจริญ นอกจากนี้ยังได้ศึกษาความสามารถในการเกาะติด และความสามารถในการเหนี่ยวนำให้เซลล์เพาะเลี้ยง Caco-2 ผลิตไโซโนไน์ อินเตอโลวิคิน-6 และอินเตอโลวิคิน-10 ที่มีผลต่อการอักเสบและต้านการอักเสบของลำไส้ได้ แล้วคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียที่มีคุณสมบัติดังกล่าวมาศึกษาเป็นต้นเชื้อในการผลิตนมเปรี้ยวถั่วเหลือง และทดสอบคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวถั่วเหลืองที่ผลิตโดยต้นเชื้อแบคทีเรียไบโอดิคที่คัดเลือกได้ โดยศึกษาปริมาณกรดแอลกอติก ชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ปนเปื้อน ฤทธิ์ต้านจุลชีพของผลิตภัณฑ์ ความสามารถในการเจริญของต้นเชื้อเมื่ออยู่ในผลิตภัณฑ์ คุณสมบัติของผลิตภัณฑ์ต่อการสร้างไโซโนไน์ คุณสมบัติทางประสาทสัมผัส และความคงสภาพของผลิตภัณฑ์ เป็นต้น

จากการทดลองพบว่าจากตัวอย่างอาหารหมักทั้งหมด 335 ตัวอย่าง แยกได้แบคทีเรียกรดแอลกอติกทั้งหมด 742 ไอโซเลท ซึ่งมีความสามารถในการทนต่อกรดทั้งหมด 273 ไอโซเลท (คิดเป็นร้อยละ 36.79 ของแบคทีเรียที่แยกได้) และทนต่อเกลือน้ำดีทั้งสองความเข้มข้น คือ ร้อยละ 0.15 และ 0.30 ทั้งหมด 184 ไอโซเลท (คิดเป็นร้อยละ 24.80 ของแบคทีเรียที่แยกได้) และเมื่อทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค พับเพียง 12 ไอโซเลทที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ทดสอบทุกชนิด ได้แก่ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhi*, *Shigella sonnei* และยีสต์ *Candida albicans* ATCC 90028 และทั้ง 12 สายพันธุ์มีความสามารถในการเกาะติดกับเซลล์ Caco-2 โดยสายพันธุ์ Libd33 มีความสามารถในการเกาะติดสูงที่สุด โดยมีร้อยละการเกาะติดเท่ากับร้อยละ 10.48 ± 0.51 ใกล้เคียงกับแบคทีเรีย *Lactobacillus rhamnosus* GG ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีรายงานถึงความสามารถในการเกาะติดสูง นอกจากนี้สายพันธุ์ Libd33 ยังมีความสามารถในการเจริญสูงสุด โดยมีค่าอัตราการเจริญจำเพาะเท่ากับ 0.83 ชม^{-1} และมีความสามารถในการเหนี่ยวนำให้เซลล์ Caco-2 สร้าง IL-10 ซึ่งเป็นไโซโนไน์ที่เกี่ยวข้องกับการต้านการอักเสบได้ โดย

ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ระหว่างปริมาณต้นเชื้อในระดับ High dose (10^8 cfu/mL) และระดับ Low dose (10^6 cfu/mL) เมื่อพิจารณาจากคุณสมบัติการทดสอบโดยรวมจึงได้คัดเลือกสายพันธุ์ *Lactobacillus plantarum* Libd33 มาเป็นต้นเชื้อในการผลิตนมเปรี้ยวถั่วเหลือง และเมื่อทดสอบคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวถั่วเหลืองในการเหนี่ยวนำให้เซลล์ Caco-2 สร้าง IL-10 พบว่า ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวสามารถเหนี่ยวนำให้เซลล์ Caco-2 สร้าง IL-10 ได้ปริมาณสูงกว่าที่ตรวจพบเมื่อทดสอบกับต้นเชื้อแบคทีเรียเพียงอย่างเดียว ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเสริมฤทธิ์กันของต้นเชื้อแบคทีเรีย และสารสำคัญในนมถั่วเหลือง ซึ่งนอกจากผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวถั่วเหลืองจะมีคุณสมบัติในการเหนี่ยวนำให้สร้างไซโตคิน IL-10 แล้ว เมื่อผ่านการทดสอบความคงสภาพเป็นเวลา 30 วัน ยังพบว่าต้นเชื้อสามารถอยู่รอดได้ในปริมาณสูงถึงประมาณ 6 log cycle สามารถส่งเสริมสุขภาพได้ จากผลการศึกษาครั้งนี้ ทำให้ทราบถึงความสามารถของแบคทีเรีย *L. plantarum* Libd33 ใน การเป็นต้นเชื้อเพื่อผลิตผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติส่งเสริมสุขภาพ และนมเปรี้ยวถั่วเหลืองที่ผลิตโดยใช้ต้นเชื้อสายพันธุ์นี้ยังมีคุณสมบัติในการส่งเสริมสุขภาพได้เช่นกัน

Research Title	Development of Probiotics Sour Soybean Juices Against Gastrointestinal Tract Inflammation
	Faculty of Pharmacy, Chiang Mai University
Researcher	Assis. Prof. Dr. Chaiyavat Chaiyasut
	Mr. Sartjin Peerajan
	Miss Sasithon Sirilun

Abstract

244813

The objective of this research is to study the probiotics sour soybean juices against gastrointestinal tract inflammation. Many strains of lactic acid bacteria (LAB) were selected from various kinds of Thai fermented food. Then LAB strains were investigated for probiotic properties such as acid tolerant, bile salt tolerant, antimicrobial activity and growth ability. Moreover, *in vitro* adherent activity and production of interleukin-6 (IL-6) and interleukin-10 (IL-10) cytokines of Caco-2 cells induced by LAB were also investigated. These kinds of cytokine related to pro-inflammatory and anti-inflammatory of bowel. The one isolate was selected with probiotic properties to be starter culture for producing probiotics sour soybean juices. The quantity of lactic acid, microbial contaminants, antimicrobial activity, growth ability, modulation of cytokines production by Caco-2 cells, sensory and stability of products were measured.

Total 742 isolates of LAB from 335 fermented food samples were observed. A collection of 273 lactobacilli strains (36.79% of total isolates) had acid tolerance and 184 strains (24.80% of total isolates) can tolerate both 0.15%(w/v) and 0.30%(w/v) bile salt. Moreover, 12 strains had antimicrobial activities against microbial indicators as follows: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Salmonella typhi*, *Shigella sonnei* and *Candida albicans* ATCC 90028. The 12 strains with probiotic properties had potential adherence to Caco-2 cells and modulation of IL-6 and IL-10 cytokines secretion by Caco-2 cells. Libd33 was the most efficient strain of Caco-2 adherence with $10.48 \pm 0.51\%$ which was similar to *Lactobacillus rhamnosus* GG, the high potential strain to attach Caco-2 cells. The Libd33 strain showed the highest growth ability with specific growth rate as 0.83 h^{-1} . The ability of induction IL-10 cytokine by Caco-2 cells had no significantly different ($P \leq 0.05$) between high dose (10^8 cfu/mL) and low dose (10^6

cfu/mL) of this strain. From the results, the Libd33 had probiotic properties and IL-10 induction. The strain was selected to be a potential starter culture probiotic LAB for sour soybean juices. Sour soybean juices with *L. plantarum* Libd33 starter culture were more effective to induce high amount of IL-10 production than only bacterial strain. These results might be due to both activities of bacterial starter and soy milk bioactive substances. At the end of 30 days of stability evaluation, the maximum amount of survival strain was 6 log cycles which was claimed as health encouragement. The selected strain, *L. plantarum* Libd33, could be develop as an effective starter culture for fermented product and sour beverages. Furthermore, probiotics sour soybean juices with Libd33 showed high potency to be developed as an effective health promoting functional products.