บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความรู้เกี่ยวกับเห็ด

2.1.1 เห็ด

เห็ด เป็นสิ่งมีชีวิตชั้นต่ำ พบทั้งในน้ำ บนบกและในอากาศ มีลักษณะคล้ายสาหร่าย แต่ไม่มีคลอโรฟิลล์ เป็นเส้นใยเล็กๆ ซึ่งแต่ละเส้นเรียกว่า ไฮฟา เส้นเหล่านี้มักอยู่รวมกันเป็นกระจุก (ไมซีเลียม) บางชนิดมีเซลล์เดียว เช่น ยีสต์บางชนิดรวมเป็นดอกเห็ด เนื่องจากไม่มีคลอโรฟิลล์สำหรับการสังเคราะห์แสง เห็ดจึงต้องอาศัยการย่อยสลายอาหารจากภายนอก ได้แก่ อินทรียวัตถุทั่วไป เห็ดขยายพันธุ์ด้วยสปอร์ (spore) เมื่อสปอร์ไปตกบนบริเวณพื้นที่ที่มีสภาพเหมาะสมต่อการเจริญเติบโต สปอร์ก็จะเจริญเป็นเส้นใย แล้วพัฒนาเจริญขึ้นเป็นดอกเห็ดต่อไป (วัลลภ พรหมทอง, 2544)

สถาบัน American Mushroom Industry Research ค้นพบว่า เห็ดอุดมสมบูรณ์ด้วยโปรตีน ฟอสฟอรัส ธาตุเหล็ก ไทอามีน (วิตามินบี 1) ไรโบฟลาวิน (วิตามินบี 2) ไนอาซิน และแร่ธาตุอื่นๆ นอกจากนี้ในเห็ดบางชนิดจะมีวิตามินดี และเบต้า-คาโรทีน (□-carotene) อีกด้วย ส่วนโซเดียมในเห็ดมีค่อนข้างต่ำ เห็ดจึงเป็นอาหารที่เหมาะสำหรับบุคคลที่ต้องระวังในเรื่องอาหารเกี่ยวกับโรคหัวใจ โรคตับ โรคความดันสูงและโรคไตอักเสบ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าเห็ดมีกรดฟอลิคอยู่มาก ซึ่งเป็นกรดสำคัญที่ร่างกายต้องการเพื่อป้องกันการเกิดโรคโลหิตจางที่มักเป็นกันมากในสตรีและเนื่องจากเห็ดเป็นอาหารที่ไม่มีแป้งจึงเหมาะที่จะเป็นอาหารสำหรับผู้ที่เป็นโรคเบาหวานอีกด้วย

ด้านโภชนาการถือว่าเห็ดเป็นอาหารที่ดี เห็ดสดมีองค์ประกอบของความชื้น 90% โปรตีนประมาณ 3% ซึ่งเป็นโปรตีนที่สมบูรณ์มีกรดอะมิโนจำเป็นอยู่ครบ คือ มีดรรชนีกรดอะมิโนจำเป็น (essential amino acid index) เท่ากับ 72-98% ของเนื้อสัตว์ และมีกรดนิวคลีอิคค่อนข้างสูง เห็ดสดมีคาร์โบไฮเดรตระหว่าง 3-28% เส้นใย 3-32% และให้พลังงานน้อยเพียง 60-90 แคลอรีต่อปอนด์ น้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบในเห็ดมีหลายชนิด ความหวานของเห็ดเนื่องจากน้ำตาลพิเศษ เช่น Trehalose ซึ่งถูกเรียกเฉพาะว่าเป็นน้ำตาลเห็ด (mushroom sugar) น้ำตาลนี้จะพบมากในเห็ดอ่อน เมื่อเห็ดโตเต็มที่น้ำตาล Trehalose นี้จะถูกเปลี่ยนให้เป็นน้ำตาลกลูโคสที่รสหวานลดลง เห็ดทั่วไปมีไขมันต่ำมากประมาณ 2-8% ดังนั้นในปัจจุบันนี้จึงเป็นที่ยอมรับกันว่า เห็ดเป็นแหล่งอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงและเป็นแหล่งของโปรตีนที่มีคุณภาพ ราคาถูก มีกลิ่นและรสดี มีความหลากหลายให้เลือกได้มาก เห็ดพื้นบ้าน เช่น เห็ดโคน เห็ดเผาะ เห็ดไข่ห่าน และเห็ดเพาะเลี้ยง เช่น เห็ดฟาง เห็ดหอม

เห็ดหูหนู จึงเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของอาหารเพื่อสุขภาพเป็นแหล่งโปรตีนและสารชูรสในอาหารมังสวิรัติและอาหารเจ รวมทั้งเป็นวัตถุดิบในการเตรียมผลิตภัณฑ์เสริมอาหารหลายชนิด

ปัจจุบันนอกจากการบริโภคเห็ดเป็นอาหารแล้ว ยังได้มีการสกัดสารบริสุทธิ์จากเห็ดเพื่อใช้เป็นยา เนื่องจากผนังเซลล์ของเห็ด มีสารโพลีแซคคาไรด์ซึ่งเป็นตัวกระตุ้นการสร้างแอนติบอดี้ในร่างกายมนุษย์ (Hobbs *et al*., 1995) ทำให้สามารถนำเห็ดมาผลิตเป็นยารักษาโรคและบำรุงร่างกายได้ ซึ่งจากการศึกษาในห้องปฏิบัติการและในการศึกษาทางคลินิก พบว่าในเห็ดมีสารบางอย่างที่ช่วยกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายและยับยั้งการเจริญของก้อนเนื้องอก โดยเฉพาะสารจำพวกโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharides) เช่น เห็ด *Ganoderma lucidum* เ ห็ด *Grifola frondosa* และเห็ด *P. ostreatus* เป็นต้น โพลีแซคคาไรด์กลุ่มนี้เป็น Homo หรือ Hetero-Glucans ที่เชื่อมด้วยพันธะ β-1-3 และ 1-6 ไกลโคซิดิก จากการค้นพบสารที่มีคุณสมบัติเป็นยาจากเห็ด ทำให้นักวิจัยได้หาวิธีให้เห็ดสร้างสารได้เร็วขึ้นในพื้นที่ที่จำกัดและสามารถสกัดสารบริสุทธิ์ได้อีกด้วย โดยวิธีที่นำมาใช้ คือ การเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ด (mycelium) ทำให้ใช้ระยะเวลาสั้นกว่าเมื่อเทียบกับการศึกษาในดอกเห็ด ซึ่งเริ่มจากการเพาะเห็ดจนกระทั่งสกัดสารนั้นมาใช้ประโยชน์ต้องใช้ระยะเวลานานและอาจมีการปนเปื้อนของสารที่ไม่ต้องการที่ติดมากับดอกเห็ด

2.1.2 วงจรชีวิตของเห็ด

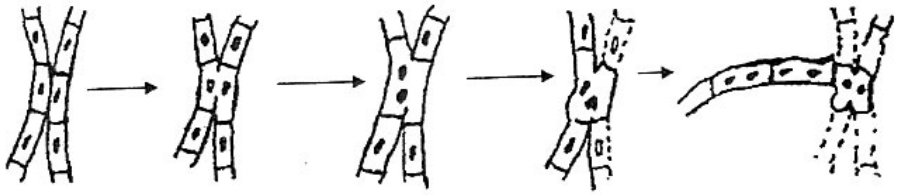
วงจรชีวิตของเห็ดจะมีลักษณะคล้ายกัน โดยจะหมุนเวียนเริ่มจากเบซิดิโอสปอร์ (Basidiospore) เมื่อปลิวไปตกในบริเวณที่เหมาะสมสปอร์ก็จะงอกเส้นใยออกมาและเส้นใยพวกนี้จะรวมตัวกันและพัฒนาไปเป็นดอกเห็ด จากนั้นก็จะมีการสร้างสปอร์หมุนเวียนกันไปเรื่อยๆ แต่ตามปกติจะมีระยะการเจริญเติบโต 9 ระยะ คือ (ปัญญา โพธิ์ฐิติรัตน์, 2532; วิฑูรย์ พลาวุฑฒ์, 2527)

1. เมื่อเห็ดเจริญเติบโตเต็มที่จะมีการสร้างเบซิดิโอสปอร์ บริเวณเบซิเดี่ยมซึ่งอยู่ใต้ครีบดอก สปอร์พวกนี้เป็นพวก haploid เมื่อสปอร์ปลิวไปตกที่เหมาะสมก็จะงอกเส้นใยออกมา

2. เส้นใยที่งอกออกมานี้ เรียกว่า เส้นใยขั้นที่หนึ่ง (primary mycelium) ซึ่งมีโครโมโซมเป็น haploid (n) จึงเรียกว่า Homokaryotic mycelium คือ เมื่อสปอร์งอกเป็นเส้นใย ขั้นต้นก็จะเป็นเส้นใยที่ในแต่ละช่องกั้นมีนิวเคลียสเพียงนิวเคลียสเดียว ภาพประกอบ 2.1

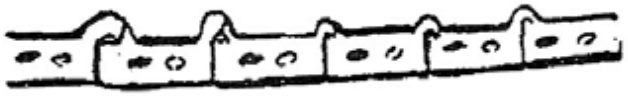
ภาพประกอบ 2.1 ลักษณะเส้นใยขั้นต้น (primary mycelium)

3. เส้นใยขั้นที่หนึ่งจะรวมตัวกันเป็นเส้นใยขั้นที่สอง เรียกระยะนี้ว่า Plasmogamy ซึ่งเป็นระยะที่เส้นใยขั้นที่หนึ่งของเห็ดเชื่อมต่อกันและไซโตพลาสซึมของทั้งสองฝ่ายมารวมเข้าด้วยกัน ทำให้นิวเคลียสทั้ง 2 อัน มารวมอยู่ในเซลล์เดียวกัน จากนั้นก็มีการพัฒนาไปเป็นเส้นใยขั้นที่สอง (secondary mycelium) ภาพประกอบ 2 เส้นใยชนิดนี้เป็นแบบที่พบมากที่สุด เช่น ในเชื้อเห็ดที่ใช้เพาะให้เป็นดอกเห็ด เป็นเส้นใยที่แยกจากดอกเห็ดมาเลี้ยงบนอาหารวุ้น เป็นต้น



ภาพประกอบ 2.2 ลักษณะการเกิดเส้นใยขั้นที่สอง (secondary mycelium)

4. Karyogamy เป็นระยะที่นิวเคลียสสองอันรวมตัวกัน ถ้าเป็นเชื้อราชั้นต่ำจะเกิดอย่างรวดเร็ว แต่ถ้าเป็นเชื้อราชั้นสูง ระยะการรวมตัวกันจะต้องใช้เวลาพอสมควร จึงทำให้เห็นว่าภายในเซลล์มี 2 นิวเคลียส (binucleus) ซึ่งเรียกระยะนี้ว่า dikaryon เส้นใยขั้นที่สองจะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว เส้นใยขั้นที่สองแต่ละเซลล์จะมีข้อยึดระหว่างเซลล์ เรียกว่า clamp connection ภาพประกอบ 3 เส้นใยขั้นที่สองนี้ สามารถขยายพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการสร้างคลามิโดสปอร์ (chlamydospore) หรือสร้างออยเดี่ยม (oidium)



ภาพประกอบ 2.3 ลักษณะข้อยึดต่อระหว่างเซลล์ในเส้นใย (clamp connection)

5. เส้นใยขั้นที่สองจะเจริญเพิ่มปริมาณมากขึ้นและมีการรวมตัวกันเป็นกลุ่มก้อน เรียกเส้นใยในระยะนี้ว่า เส้นใยขั้นที่สาม (tertiary mycelium) ซึ่งเป็นพวก dikaryotic mycelium เส้นใยจะเริ่มพัฒนาไปเป็นตุ่มดอกเล็กๆ และเจริญเติบโตขึ้นเรื่อยๆ

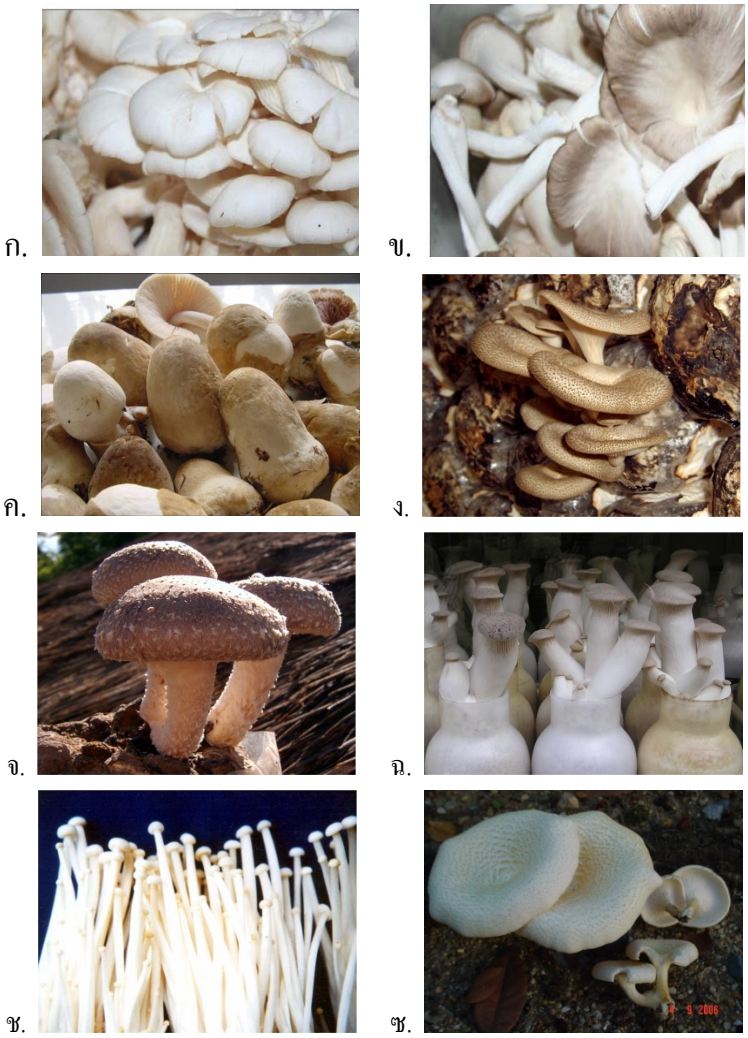
6. ดอกเห็ดในระยะนี้ มีการพัฒนาไปเป็นดอกเห็ดที่มีรูปร่างคล้ายร่มและมีการสร้างเบซิเดี่ยมคล้ายรูปกระบอง ในแต่ละเบซิเดี่ยมจะมีนิวเคลียสอยู่สองอัน

7. นิวเคลียสทั้งสองอัน (n+n) ในเบซิเดี่ยมจะรวมตัวกันและมีการแลกเปลี่ยนลักษณะทางพันธุกรรมกัน นิวเคลียสในระยะนี้ เรียกว่า diploid nucleus (2n)

8. นิวเคลียสที่รวมตัวกัน (diploid nucleus) จะมีการแบ่งตัวแบบ meiosis ลดจำนวนโครโมโซมเป็น haploid จำนวน 4 อัน

9. เบซิเดี่ยมจะมีการสร้างก้านชูสปอร์ (sterigma) 4 อัน และนิวเคลียสทั้ง 4 อัน จะเคลื่อนที่สู่ปลาย sterigma นิวเคลียสทั้ง 4 อันจะพัฒนาไปเป็นเบซิดิโอสปอร์ (basidiospore) เพื่อขยายพันธุ์ต่อไป

2.1.3 ลักษณะของเห็ดที่ใช้ในงานวิจัย



ภาพประกอบ 2.4 เห็ดชนิดต่างๆ ที่ใช้ในงานวิจัย

ก. = เห็ดนางรม	ข. = เห็ดนางฟ้า	ค. = เห็ดฟาง	ง. = เห็ดบด/ กระด้าง
จ. = เห็ดหอม	ฉ. = เห็ดนางรมหลวง	ช. = เห็ดเข็มทอง	ซ. = เห็ดขอนขาว

ตาราง 2.1 เห็ดที่ใช้ในงานวิจัย

ลำดับ	ชื่อท้องถิ่น	ชื่อสามัญ	ชื่อวิทยาศาสตร์	วงศ์	ผู้ศึกษา
1	เห็ดนางรม	Sapied Oyster Mushroom	*Pleurotus cornucopiae* (Pers.) Rolland.	Pleurotaceae	อนงค์, 2535
2	เห็ดนางฟ้า เห็ดเป๋าฮื้อ	Phoenic Oyster Mushroom	*Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Singer.	Tricholomataceae	เกษม, 2537
3	เห็ดนางรมหลวง	King Oyster Mushroom	*Pleurotus eringii* (DC.ex Fr.) Quél.	Pleurotaceae	ศราวุฒิ, 2551
4	เห็ดหอม	Shitake	*Lentinus edodes* (Berk.) Sing.	Tricholomataceae	ราชบัญฑิต, 2539
5	เห็ดเข็มทอง	Enokitake	*Flammulina velutipes* (Curt. ex Fr.) Sing.	Tricholomataceae	ราชบัญฑิต, 2539
6	เห็ดบด เห็ดกระด้าง	-	*Trametes cingulata* Berk.	Polyporaceae	ราชบัญฑิต, 2539
7	เห็ดฟาง เห็ดบัว	Straw mushroom	*Volvariella volvacea* (Bull. Fr.) Sing.	Pluteaceae	ราชบัญฑิต, 2539
8	เห็ดขอน เห็ดมะม่วง	-	*Lentinus squarrosulus* Mont.	Tricholomataceae	ราชบัญฑิต, 2539

1. เห็ดนางรม

เห็ดนางรม มีถิ่นกำเนิดแถบยุโรป มีการเจริญเติบโตได้ดีในไม้โอ๊ค (oak) เมเปิ้ล (maple) ไม้ท้อ (peach) เป็นต้น และสามารถเจริญเติบโตได้ดีในเขตอบอุ่น ต่อมาได้มีการทดลองเพาะเลี้ยงในไทย พบว่าสามารถปรับตัวเจริญได้ดีในไทยจนเป็นที่รู้จักกันดี เห็ดนางรมจัดเป็นเห็ดที่นิยมรับประทานกันมาก เป็นเห็ดที่มีสีขาวสะอาด และมีรสชาติหอมหวาน เนื้อไม่เหนียว เพาะได้ง่าย มีกลิ่นและรสชาติที่ดี (ศราวุฒิ ปิงเขียว, 2551) เห็ดชนิดนี้มีคุณสมบัติต่อต้านมะเร็ง กระตุ้นภูมิคุ้มกัน ต่อต้านไวรัส เป็นยาปฏิชีวนะ รังับการเจริญของเนื้องอก ไขมันในหลอดเลือดสูง ต่อต้านอาการอักเสบ (Yang and Jong, 1989)

2. เห็ดนางฟ้า

เห็ดนางฟ้ามีถิ่นกำเนิดในแถบภูเขาหิมาลัย ประเทศอินเดีย ในสภาพธรรมชาติชอบเจริญเติบโตตามตอไม้ผุ ในบริเวณนี้มีอากาศชื้น และเย็น มีลักษณะคล้ายเห็ดนางรม และเห็ดเป๋าฮื้อ แต่ดอกจะมีสีขาวนวลจนถึงสีน้ำตาลอ่อน เห็ดนางฟ้าสามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 15-35 ^{0}C และ ที่ 25 ^{0}C เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุด เห็ดชนิดนี้เจริญเติบโตได้ดีให้ผลผลิตเร็ว และให้ผลผลิตในรูปการค้าได้ เพราะมีขนาดดอกปานกลาง เนื้อแน่น มีกลิ่นหอม รสหวาน มีความกรอบ เก็บรักษาไว้ได้นานกว่าเห็ดนางรม (ศราวุฒิ ปิงเขียว, 2551) Zakia Bano Rajarathnam และคณะ (1987) กล่าวว่าเห็ดเป็นแหล่งที่ดีของวิตามินหลายชนิด เห็ดสกุล Pleurotus มีวิตามินบีรวม และกรดโพลิค ไธอามีนไนอะซีน และไรโบฟลาวิน สูงกว่าเห็ดสกุล Auricularia และ Lentinus

3. เห็ดนางรมหลวง

เห็ดนางรมหลวง พบขึ้นเองในธรรมชาติ ตามรากและตอไม้ ในยุโรปตอนใต อัฟาริกาเหนือและเอเชียตอนกลาง เป็นเห็ดที่มีขนาดใหญ่ที่สุดชนิดหนึ่งของตระสกุลเห็ดนางรม และเป็นที่นิยมของคนยุโรป ปัจจุบันสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) ไดทำการเพาะเป็นแห่งแรกในประเทศไทย พบว่าเห็ดนางรมหลวง มีส่วนช่วยลดความดนโลหิตและลดไขมันในเส้นเลือด

4. เห็ดหอม

เห็ดหอม มีถิ่นกำเนิดในประเทศญี่ปุ่น จีน และประเทศในแถบเอเชียที่มีอากาศเย็น พบมากในป่าเจริญบนต้นไม้จำพวก ต้นเกาลัด ต้นบีช ต้นโอ๊ก เป็นต้น นอกจากนี้ยังเป็นเห็ดที่มีความสำคัญทางอุตสาหกรรม สามารถเพาะได้ด้วยท่อนไม้หรือในถุงพลาสติก ในค.ศ.1970 มีงานวิจัยหลายชิ้นในญี่ปุ่นพบว่า เห็ดหอมมีสารสำคัญที่มีชื่อว่า อิริตาดีนีน (eritadenine) ซึ่งทำให้ระดับโคเลสเตอรอลในเลือดลดลงได้อย่างน่าอัศจรรย์และมีสารเลนติแนน (lentinan) ที่ช่วยกระตุ้นการทำงานของเซลล์ระบบภูมิคุ้มกันให้มีประสิทธิภาพในการต่อสู้ยับยั้งหรือป้องกันการเติบโตของเซลล์เนื้องอกต่างๆ ได้ดีอีกด้วยปัจจุบัน นักวิจัยสมัยใหม่ซึ่งได้ทำการวิจัยเกี่ยวกับเห็ดชิตาเกะ พบว่า เห็ดชิ

ตาเกะมีส่วนช่วยในการลดความเสี่ยงต่อโรคหลอดเลือดหัวใจตีบ ต้านโรคมะเร็งและโรคร้ายต่างๆ จากเชื้อไวรัส (Hobbs C *et al*., 1995)

5. เห็ดเข็มทอง

เห็ดเข็มทอง เป็นเห็ดสีขาวหัวเล็กๆ ขึ้นติดกัน เป็นแพ รส ชาติเหนียวนุ่ม นิยมกันมากในประเทศญี่ปุ่น พบทั่วไปในเขตหนาว จีน ญี่ปุ่น อเมริกา และออสเตเรีย ชอบขึ้นกับไม้ที่ตายแล้ว และออกดอกในช่วงฤดูหนาว สามารถรับประทานได้ทั้งในรูปของเห็ดสด และเห็ดแห้ง สามารถนำไปปรุงอาหารได้มากเท่าที่ต้องการ หากรับประทานดิบอาจมีพิษแต่เมื่อทำให้สุกแล้วไม่มีความเป็นพิษ สรรพคุณทางยา เชื่อว่ามีคุณสมบัติในการรักษาโรคตับ และแผลในกระเพาะอาหาร (Yang and Jong, 1989) โพลีแซคคาไรด์จากเห็ดชนิดนี้สามารถยับยั้งการเจริญของมะเร็ง เห็ดเข็มทองมีสาร Flammulina เป็นโปรตีนที่สกัดได้เส้นใยเห็ด มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งเยื่อบุช่องท้อง (ehrlich) และเซลล์มะเร็ง Sarcoma 180 ในหนูขาว ได้ผลถึง 81.1-100% และมีคุณสมบัติในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน (Ikekawa *et al*., 1995)

6. เห็ดกระด้าง

เห็ดกระด้าง พบมากในช่วงเดือนตุลาคม ถึงเดือนธันวาคม เกิดเป็นดอกเดี่ยวหรือกลุ่มโคนติดกัน 3-5 ดอก บนขอนไม้ พบในบริเวณป่าเต็งรัง ป่าเบญจพรรณ ทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือ นิยมนำมาทำอาหารในรูปของ แกงและซุป (อนงค์ จันทร์ศรีกุล, 2542) มีคุณสมบัติในการแก้โรคลม แก้ปวดท้อง แก้พิษจากสัตว์ต่างๆ โดยนำมาฝนกินแก้เม็ดตุ่มพอง ที่เกิดจากพิษไข้ (Klinhom *et al.,* 2002)

7. เห็ดฟาง

เห็ดฟาง เป็นเห็ดยอดนิยมของคนไทย นิยมเพาะกันบนกองฟางข้าวชื้นๆ โคนมีสีขาว ส่วนหมวกสีน้ำตาลอมเทา หาซื้อได้ง่ายตามท้องตลาดตลอดทั้งปี เดิมคนไทยเรียกเห็ดฟางว่า เห็ดบัว เพราะมีเกิดขึ้นได้เองในกองเปลือกเมล็ดบัวที่กะเทาะเมล็ดภายในออกแล้ว เห็ดฟางมีวิตามินซีสูงจำนวนมาก ช่วยป้องกันโรคเลือดออกตามไรฟัน โรคเหงือก และลดอาการผื่นคันต่างๆ มีสาร Vovatoxin ช่วยป้องกันการเติบโตของไวรัส ที่ทำให้เกิดไข้หวัดใหญ่ ช่วยลดปัญหาเกี่ยวกับไขมันในเส้นเลือดและโรคหัวใจได้ (ราชบัณฑิตยสถาน, 2539)

8. เห็ดขอนขาว

เห็ดขอนขาว เป็นเห็ดที่มีสีขาว และมีกรวยตื้นๆ คล้ายแตรเกิดดอกเดี่ยวหรือกลุ่มโคนติดกัน เจริญบนขอนไม้ เหียง พบได้ในป่าเต็งรัง ฤดูการที่พบคือ ฤดูฝน ใช้ประกอบอาหารประเภท แกง ผัด สามารถยับยั้งการเติบโตเซลล์มะเร็ง กรด eburicoic ที่สามารถใช้สังเคราะห์สารประกอบเสตรียลอยด์ ที่มีบทบาทในการควบคุมร่างกาย (ราชบัณฑิตยสถาน, 2539)

2.2. พรีไบโอติค

พรีไบโอติค (prebiotic) คือ สารอาหารที่รับประทานเข้าไปแล้วจะไม่ถูกย่อยและไม่ถูกดูดซึมในระบบทางเดินอาหารส่วนบน โดยจะเลือกกระตุ้นเฉพาะแบคทีเรียตัวใดตัวหนึ่งหรือกลุ่มใดกลุ่มหนึ่ง เช่น *Bifidobacterium* เมื่อเชื้อตัวนี้ไปถึงลำไส้ใหญ่ ก็จะทำให้ผู้ที่มีเชื้อนี้อยู่มีสุขภาพดี (Fooks, Gibson, 1999) ตัวอย่างอาหารที่เป็นพรีไบโอติค พบมากในหัวหอม กล้วย กระเทียม อาร์ทิโชก (artichoke) ชิคอรี (chicory) และหน่อไม้ฝรั่ง (asparagus) เป็นต้น พบเล็กน้อยในผักผลไม้และเมล็ดธัญพืชต่างๆ เช่น มะเขือเทศ ข้าวสาลีข้าวไรย์ น้ำผึ้ง เบียร์ (สุญาณี พงษ์ธนานิกร, 2549)

2.2.1 ประเภทของพรีไบโอติค

สารที่สามารถจัดเป็น prebiotics ได้นั้น จะต้องมีลักษณะอย่างน้อย 3 ประการ คือ สารนั้นจะต้องไม่ถูกย่อยหรือดูดซับในกระเพาะอาหารหรือลำไส้เล็ก สารนั้นจะต้องจำเพาะกับแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ในลำไส้ เช่น Bifidobacterium และการหมักของสารนั้นควรมีการกระตุ้นที่เป็นประโยชน์ต่อ host ซึ่งสามารถแบ่งประเภทของพรีไบโอติคได้ดังนี้

1. Alcohol sugar จัดเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีดัชนีการสังเคราะห์โพลิเมอร์ (degree of polymerization) เพียง 1-2 ตัว ตัวอย่างสารในกลุ่มนี้ เช่น maltitol, sorbitol, isomalt, xylitol เป็นต้น ในบางครั้งจะเรียก alcohol sugar ว่า POLYOLS สามารถเป็นสารให้ความหวานได้ โดยมีความหวานประมาณ 3 ใน 4 หรือครึ่งหนึ่งของน้ำตาลทั่วไป และยังดูดซับได้ช้าในลำไส้เล็กเมื่อเทียบกับน้ำตาล จึงทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ

2. Resistant starch จัดเป็น polysaccharides ซึ่งจะไม่ถูกดูดซับในลำไส้เล็กประกอบด้วย amylase พบประมาณร้อยละ 20-25

3. Non-starch polysaccharides (NSP) เป็นสารที่ได้รับจากพืช เช่น pectin, cellulose, hemicellulose, guar และ xylan

4. Inulin เป็นสาร polysaccharides ที่พืชเก็บไว้เป็นอาหาร พบในพืชมากกว่า 36,000 ชนิดเช่น Chicory root เห็ด หัวหอม หัวกระเทียม กล้วย เป็นต้น

5. Sugar และ Oligosaccharides สำหรับ prebiotics ในกลุ่มนี้ จัดเป็น short-chain polysaccharide ประกอบด้วยน้ำตาลตั้งแต่ 2 ถึง 20 หน่วย ตัวอย่างเช่น raffinose, stachyose, fructo-oligosaccharides (FOS) ซึ่งจัดเป็น non-digestible oligosaccharide นอกจากนี้ยังมี lactose, lactulose, galacto-oligosaccharide (GOS), soybean oligosaccharide, lactosucrose, isomalto-oligosaccharide, gluco-oligosaccharides, xylo-oligosaccharides และ palatinose ที่สามารถจัดเป็นพรีไบโอติค ได้ด้วย

6. Mucin glycoproteins ถูกสร้างโดย goblet cells ที่อยู่ในเยื่อบุผิวลำไส้และเป็นสารตั้งต้นหลักสำหรับการหมักในลำไส้

7. Related mucopolysaccharides ตัวอย่างเช่น chondroitin sulphate, heparin, pancreatic และ bacterial secretions ซึ่งสารเหล่านี้เป็นสารที่มีไว้สำหรับจุลินทรีย์ในลำไส้

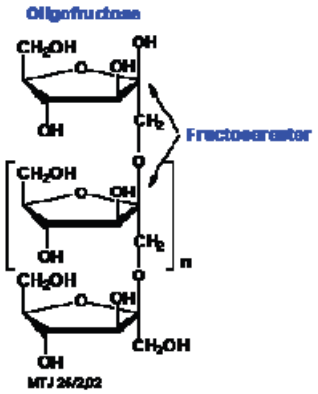
8. Protein and peptides สารเหล่านี้สร้างขึ้นในอาหาร สร้างโดยการหลั่งของตับอ่อน หรือสร้างโดยแบคทีเรีย แต่จะมีปริมาณน้อยกว่าพวกคาร์โบไฮเดรต (วารสารอาหาร สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ปีที่ 35 ฉบับที่ 2 เมษายน-มิถุนายน 2548 หน้า 96-101)

2.2.2 คุณสมบัติของสารพรีไบโอติค

พรีไบโอติค เป็นอาหารที่ย่อยไม่ได้ด้วยระบบทางเดินอาหารส่วนบน (Upper Gastrointestinal Tract) มีประโยชน์ต่อผู้ให้อาศัย (host) เมื่อพรีไบโอติคถูกนำไปใช้โดยแบคทีเรียในลำไส้ จะทำให้มีร่างกายของเราได้รับพลังงานและสารสำคัญบางอย่างตัวอย่าง เช่น inulin-type fructans ให้กรดแลคติค (lactic acid) และกรดไขมันชนิดสายสั้น ซึ่งเป็นผลิตผลจากกระบวนการหมัก (fermentation) และในการหมักนี้จะทำให้เกิดการกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์สุขภาพ แบคทีเรียที่ว่านี้มีแบคทีเรียจำพวก *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum* และ *Streptococcus thermophilus* หรือเรียกว่า โพรไบโอติค (probiotic) และในสภาวะความเป็นกรดที่เกิดขึ้นจะช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรค เช่น *Clostridium perfringens, Salmonella* spp.และ *Esherichia coli* ในลำไส้ (Gibson and Roberfroid, 1995)

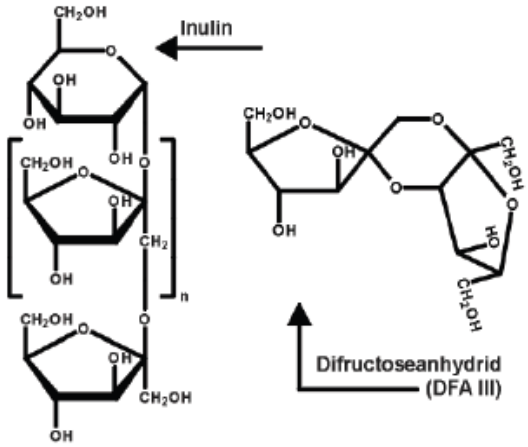
เนื่องจากพรีไบโอติคมีประโยชน์ต่อสุขภาพหลายอย่าง เช่น การลดความรุนแรงของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค การลดลงของไขมันในเลือด คุณสมบัติในการต้านมะเร็งลำไส้ ควบคุมระดับฮอร์โมนในร่างกาย ลดอาการท้องผูกและกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันร่างกาย ลำไส้สามารถดูดซึมแคลเซียมและธาตุเหล็กได้ดีขึ้นเป็นผลทำให้ลดการเกิดโรคกระดูกผุได้อีกด้วย จากประโยชน์ข้างต้นที่ได้กล่าวมาแล้ว จึงได้มีการศึกษาเกี่ยวกับการผลิตสารพรีไบโอติคมากขึ้น องค์ประกอบในอาหารเหล่านี้ที่จัดเป็นพรีไบโอติค ได้แก่ ฟรุคโต-โอลิโกแซกคาไรด์ (fructo-oligosacchasides) อินนูลิน (inulin) กลูโค-โอลิโกแซกคาไรด์ (gluco-oligosacchasides) กาแลคโต-โอลิโกแซกคาไรด์ (galacto-oligosacchasides) ไอโซมอลโต-โอลิโกแซกคาไรด์ (isomalto-oligosacchasides) ซิโล-โอลิโกแซกคาไรด์ (xilo-oligosacchasides) นอกจากนี้แลคทีทอล (lactitol) แลคทูโลส (lactulose) และแลคโตส (lactose) ที่ไม่สามารถดูดซึมโดยลำไส้เล็ก อาจมีผลเป็นพรีไบโอติคในลำไส้ใหญ่ได้

โอลิโกฟรุคโตส (oligofructose) หรือ Fructooligosaccharides คือ น้ำตาลฟรุคโตส 2 โมเลกุล ยึดติดกันที่ตำแหน่ง â-2, 1 และต่อกับน้ำตาลกูลโคส (GFm) มีจำนวนโมเลกุลต่อกันไม่เกิน 9 โมเลกุล คือ มีค่า DP อยู่ระหว่าง 2-9 โมเลกุลนั้นเอง (ปิยวัฒก์ วสยางกูร, 2548)



ภาพประกอบ 2.5 โครงสร้างของโอลิโกฟรุคโตส

อินนูลิน (inulin) คือ น้ำตาลฟรุคโตส 2 โมเลกุลยึดติดกันที่ตำแหน่ง □-2, 1 และต่อกับน้ำตาลกูลโคส (GFm) มีจำนวนโมเลกุลต่อกัน 9 ถึง 60 โมเลกุล คือ มีค่า DP อยู่ระหว่าง 9-60 โมเลกุล จะเป็นโอลิโกแซคคาร์ไรด์ที่ยาวกว่าโอลิโกฟรุคโตส (oligofructose) แต่ก็มีคุณสมบัติเป็นสารพรีไบโอติค เหมือนกัน (บุษบา วิวัฒน์เวคิน, 2543)



ภาพประกอบ 2.6 โครงสร้างของอินนูลิน

ประโยชน์ต่อสุขภาพที่กล่าวอ้างของพรีไบโอติค ได้แก่ ช่วยส่งเสริมการทำงานของระบบทางเดินอาหารมีผลต่อการดูดซึมเกลือแร่บางชนิดและมีผลต่อเมแทบอลิซึมของไขมัน ซึ่งสามารถอธิบายได้ดังนี้

2.2.3 บทบาทของพรีไบโอติคต่อสุขภาพ

1. ผลต่อระบบทางเดินอาหาร เมื่อพรีไบโอติคถูกนำไปใช้โดยโพรไบโอติคในกระบวนการหมัก (fermentation) ซึ่งการหมักนี้จะทำให้มีการกระตุ้นการเจริญของ bifidobacteria ซึ่งเป็นกลุ่มจุลินทรีย์สุขภาพและในสภาวะความเป็นกรดที่เกิดขึ้นจะช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของ

Clostridium perfringens, Salmonella spp. และ *Esherichia coli* ในลำไส้ จึงช่วยป้องกันท้องเสีย ท้องเดิน โดยเฉพาะจากการติดเชื้อได้ นอกจากนี้ด้วยคุณสมบัติคล้ายใยอาหารอื่นๆ ก็จะช่วยบรรเทาอาการท้องผูก เนื่องจากผลของการเพิ่มน้ำหนักของอุจจาระและผลต่อการเคลื่อนไหวของลำไส้จึงช่วยให้ขับถ่ายง่ายขึ้น นอกจากนี้ยังมีการศึกษาถึงผลของพรีไบโอติคในการต้านมะเร็ง (anticarcinogenic effect)

2. ผลต่อการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิด พรีไบโอติคจะรบกวนการดูดซึมของเกลือแร่ ด้วยการเข้าไปจับกับแร่ธาตุไว้ในโครงสร้างที่ซับซ้อนของมันทำให้ไม่สามารถถูกดูดซึมได้ที่ลำไส้เล็ก เมื่อเดินทางมาถึงลำไส้ใหญ่จึงปลดปล่อยแร่ธาตุเหล่านั้นออกมา เมื่อมีการหมักโดยแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ทำให้ได้กรดไขมันชนิดสายสั้น ความเป็นกรดก็จะช่วยในการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิดในร่างกาย ได้แก่ แคลเซียมและแมกนีเซียม นอกจากนี้อาจด้วยกลไกที่ทำให้เกิดแรงดันออสโมติก (osmotic effect) จึงทำให้เกิดการดึงน้ำเข้ามาช่วยในการละลายเกลือแร่ต่างๆ และพรีไบโอติคที่ช่วยในเรื่องการดูดซึมแคลเซียมนั้นอาจส่งผลลดความเสี่ยงต่อกระดูกพรุนได้อีกด้วย

3. ผลต่อเมแทบอลิซึมของไขมัน สำหรับการศึกษาเกี่ยวกับการช่วยลดระดับไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) นั้นยังไม่มีข้อมูลมากนัก ส่วนเรื่องการลดคอเลสเตอรอล (cholesterol) ก็ยังมีการศึกษาไม่มากนักเช่นกัน ซึ่งส่วนใหญ่ยังเป็นการศึกษาในสัตว์ทดลองอย่างไรก็ตามมีผู้อธิบายกลไกที่เป็นไปได้ คือ การที่จุลินทรีย์สุขภาพเพิ่มจำนวนมากขึ้น จะช่วยย่อยสลายคอเลสเตอรอลและยับยั้งการดูดซึมผ่านผนังลำไส้ หรืออาจเป็นผลอันเนื่องจากกระบวนการหมักที่ได้กรดไขมันสายสั้น โดยเฉพาะกรดโพรพิโอนิค (proprionic acid) ซึ่งสามารถไปยับยั้งการสังเคราะห์ไขมันรวมทั้งคอเลสเตอรอล อีกกลไกหนึ่งคือ มีการปรับเปลี่ยนระดับกลูโคสและอินซูลิน เนื่องจากการสังเคราะห์ไขมันมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงเมแทบอลิซึมของกลูโคสด้วย ดังนั้นพรีไบโอติคอาจช่วยลดความเสี่ยงต่อโรคหลอดเลือดแข็งซึ่งมีสาเหตุจากไขมันโดยเฉพาะภาวะไตรกลีเซอไรด์ในเลือดสูง (hypertriglyceridemia) และภาวะดื้อต่ออินซุลิน (insulin resistance) สาเหตุจากกินอาหารคาร์โบไฮเดรตสูง (สุญาณี พงษ์ธนานิกร, 2549)

2.2.4 การทดสอบสารพรีไบโอติค (พันธ์ระวี หมวดศรี, 2551)

การตรวจสอบหาสารพรีไบโอติคในตัวอย่างทำได้โดย

1. การวิเคราะห์หาปริมาณของสารคาร์โบไฮเดรตซึ่งเป็นการหาสารพรีไบโอติคทางอ้อมมีดังนี้

1.1) Colorimetric assays เป็นเทคนิคที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารคาร์โบไฮเดรตโดยอาศัยปฏิกิริยาเคมีทำให้เกิดสี แล้วตรวจวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องมือ UV-Vis Spectrophotometer

1.2) ใช้วิธีการตรวจหาโดยใช้เครื่อง High performance liquid chromatography (HPLC)

2. การศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพของสารพรีไบโอติคที่เตรียมได้ (Olano *et al.,* 2000) ซึ่งมีวิธีการดังนี้

2.1) การหมักสารพรีไบโอติคกับเชื้อโพรไบโอติคที่เลือกอย่างเหมาะสม

2.2) การวัดอัตราการเจริญของเชื้อโพรไบโอติคด้วยสารพรีไบโอติคที่สกัดได้

2.3 สารโพลีแซคคาไรด์ (รำไพ เกณฑ์สาคู, 2551)

2.3.1 โพลีแซคคาไรด์

โพลีแซคคาไรด์ คือ คาร์โบไฮเดรตโมเลกุลใหญ่ที่ประกอบด้วย โมโนแซคคาไรด์ (Monosaccharide) ตั้งแต่ 12 โมเลกุลขึ้นไปมาจับกันด้วย Glycosidic linkage โครงสร้างของโมเลกุลอาจเป็นสายตรง (linear) เช่น Cellulose Amylose หรือเป็นแบบแตกแขนง (branched shape) เช่น Glycogen, Amylopectin โดย Biopolymer แบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ

1. โฮโมโพลีแซคคาไรด์ (homopolysaccharide)

1.1)โพลีแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วย โมโนแซคคาไรด์ชนิดเดียวกันมาต่อกัน แป้ง (starch) เป็นคาร์โบไฮเดรตที่พืชสังเคราะห์และเก็บสะสมไว้เป็นพลังงานสำรอง พบมากในธัญพืช มันฝรั่งและพืชตระกูลถั่ว เมื่อสลายให้ Glucose อย่างเดียว จึงเป็น Homopolymer ที่เรียกว่า Glucan มีส่วนประกอบที่สำคัญ 2 ส่วนแยกจากกัน คือ Amylose มีปริมาณ 15-20% ประกอบด้วยกลูโคส ตั้งแต่ 100-1000 โมเลกุล ต่อกันด้วย β-(1$\rightarrow$4) Glycosidic linkage เป็นสายยาวไม่แตกกิ่งขดเป็นเกลียว อีกส่วน คือ Amylopectin มีประมาณ 80-85% ประกอบด้วยกลูโคสตั้งแต่ 300-6000 โมเลกุลมาต่อกันด้วย β-(1$\rightarrow$4) และแตกแขนงด้วย β-(1$\rightarrow$6) Linkages จะพบการแตกแขนงที่ทุกๆ 25-30 Glucose residues

1.2) ไกลโคเจน (glycogen) เก็บเป็นพลังงานสำรองในสัตว์ พบมากในตับและกล้ามเนื้อ มีลักษณะโครงสร้างเหมือน Amylopectin ในแป้งแต่แขนงที่แยกออกนั้นสั้นกว่า

1.3) อินนูลิน (inulin) เป็นแป้งที่พบสะสมอยู่ในหัวและรากของพืชบางชนิด มีฟรุคโตสเป็นส่วนประกอบ จึงเรียกว่า Fructosan ซึ่งโมเลกุลของฟรุคโตสต่อกันด้วย β-(2$\rightarrow$1) Linkage ละลายได้ดีในน้ำอุ่น

1.4) เด็กซ์แตรน (dextrans) เป็นคาร์โบไฮเดรตที่พบในพวกยีสต์และแบคทีเรีย ประกอบด้วย glucose เท่านั้น จึงเป็น Glucan ชนิดหนึ่ง ส่วนใหญ่ต่อกันด้วย β-(1$\rightarrow$6) Linkages

บางครั้งอาจมีการแตกแขนงด้วย β-(1→2), β-(1→3) หรือ β-(1→4) linkages โดยขึ้นอยู่กับชนิดของยีสต์และแบคทีเรีย

1.5) เซลลูโลส (cellulose) เป็นสารประกอบที่สำคัญของผนังเซลล์พืช เป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีมากที่สุดในโลก เป็น Glucan ที่มี Glucose มาเชื่อมต่อกันด้วย β-(1→4) Linkage เป็นสายยาวและตรงไม่แตกกิ่ง ถูกทำให้แข็งโดย H-bonds ระหว่างอะตอมของออกซิเจนบนวงแหวน Pyranose กับหมู่ –OH ของโมเลกุลถัดไปและรวมตัวกันเป็นมัด เรียกว่า เส้นใย (fiber) ในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ไม่สามารถใช้เซลลูโลสเป็นแหล่งของพลังงาน เนื่องจากไม่มีเอนไซม์ Cellulase แต่เส้นใยที่ย่อย ไม่ได้นี้ รวมทั้งเส้นใยจำพวกอื่นของพืช เช่น Hemicellulose, pectin มีประโยชน์ในฐานะเป็นกากอาหาร

1.6) ไคติน (chitin) เป็นส่วนประกอบของโครงสร้างเช่นเดียวกับเซลลูโลส พบในเปลือกของสัตว์พวกหอย แมลงและผนังเซลล์ของรา ประกอบด้วยอนุพันธ์ของน้ำตาลกลูโคส คือ N-acetylglucosamine มาต่อกันด้วย β-(1→4) linkage

2. เฮเทอโรโพลีแซคคาไรด์ (heteropolysaccharide)

เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วย โมโนแซคคาไรด์หลาย ชนิดมาต่อกันและมักจะพบน้ำตาลอะมิโนรวมอยู่ด้วย จึงอาจเรียกว่าเป็น Glycosaminoglycan (GAGs) หรือ Mucopolysaccharides ซึ่งประกอบด้วยอนุพันธ์ของน้ำตาล 2 ชนิด สลับกันเป็น Repeating disaccharide units ที่ส่วนมากจะเป็น Amino sugar (อาจจะมีหมู่ sulfate หรือไม่ได้) และ Uronic acids ประเภทของเฮเทอโรโพลีแซคคาไรด์ที่สำคัญมีดังนี้

Chondroitin sulfate, Dermatan sulfate, Heparin, Heparan sulfate, Keratan sulfate, Hyaluronic acid พวก Chondroitin sulfate, Keratan sulfate, Hyaluronic acid ทำหน้าที่เป็นสารประกอบพื้นฐาน (ground substance) ของเนื้อเยื่อเกี่ยวพันและส่วนที่เป็นโครงร่างของร่างกาย เช่น กระดูก กระดูกอ่อนและฟัน เนื่องจาก Glycosaminoglycan มีลักษณะคล้ายวุ้น มีความสามารถในการอุ้มน้ำได้ดีและต้องใช้พื้นที่มากในการวางตัว ทำให้มีคุณสมบัติที่ดีในการเป็นสารช่วยหล่อลื่นและบรรเทาแรงกระแทก จึงพบได้มากที่น้ำหล่อข้อ (synovial fluid of oints)

Heparin แตกต่างจาก Glycosaminoglycan ชนิดอื่น ตรงที่พบเป็นส่วนประกอบอยู่ภายในเซลล์ โดยถูกเก็บสะสมอยู่ใน granules ของ mast cells ที่บุผนังหลอดเลือดของตับ ปอดและผิวหนัง มีฤทธิ์เป็นสารกันเลือดแข็ง (anticoagulate) และกระตุ้นการทำงานของ เอ็นไซม์ Lipoprotein lipase ที่เร่งการสลาย Cholomicron จำนวนหมู่ซัลเฟตในโมเลกุลมีความสำคัญต่อการทำหน้าที่กันเลือดแข็งของ Heparin ส่วน Heparine sulfate มีหมู่ Sulfate น้อยกว่า จึงมีฤทธิ์กันเลือดแข็งน้อยกว่า พบเป็นส่วนประกอบของ Basement membrane ของผิวเซลล์ทั่วไป โดยเฉพาะที่ผนังหลอดเลือด

2.3.2 คุณสมบัติของสารโพลีแซคคาไรด์

ในการศึกษาทางด้านโครงสร้างของสารโพลีแซคคาไรด์มีวิธีการที่แตกต่างกัน เช่น ย่อยด้วยกร เอนไซม์ การละลายในตัวทำละลายต่างชนิดกัน การใช้เครื่องโครมาโตรกราฟ เครื่อง IR, UV, NMR, X–ray Diffraction และ Electrophoresis เป็นต้น ซึ่งพบว่ามีลักษณะคล้ายเซลลูโลสจากธรรมชาติและจากการสังเคราะห์ เมื่อย่อยสารโพลีแซคคาไรด์ด้วยกรดและเอนไซม์เซลลูโลสพบว่าประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส ร้อยละ 81.9 และ 95.9 ตามลำดับ มีหมู่อะซีติล (acetyl) โครงสร้างต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก สารโพลีแซคคาไรด์ละลายได้ในกรดซัลฟูริกเข้มข้น ร้อยละ 72 กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น สารละลาย Cuprammonium แต่ไม่ละลายในสารละลายด่าง เช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ 1, 2.5 และ 5 นอร์มอ แอลกอฮอล์ อะซิโตนและในน้ำที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เมื่อนำมาบดให้มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 20 ไมครอน จะมีคุณสมบัติในการไหลเป็นแบบ Dilatant และ Thinxotropic กล่าวคือเมื่อเพิ่มแรงกระทำความข้นหนืดอาจเพิ่มขึ้นหรือลดลงอย่างรวดเร็ว เมื่อหยุดให้แรงกระทำสารละลายจะกลับมีความคงตัวตามเดิม

2.4 กรดไขมันสายสั้น (Short Chain Fatty Acid; SCFA)

กรดไขมันเป็นการเรียงตัวของธาตุคาร์บอน โดยที่ปลายด้านหนึ่งเป็น methyl group อีกด้านหนึ่งเป็น carboxyl group ความยาวของคาร์บอนมีได้หลายตัว หากมีความยาวน้อยกว่า 6 คาร์บอน เรียกว่า กรดไขมันสายสั้น หากมีคาร์บอนมากกว่า 12 คาร์บอน เรียกว่า กรดไขมันสายยาว กรดไขมันเป็นสารอาหารสำคัญ ของกล้ามเนื้อหัวใจและอวัยวะภายในร่างกาย กรดไขมันส่วนที่เหลือใช้ จะถูกสะสมในรูปไตรกลีเซอไรด์ซึ่งจะสะสมเป็นไขมันในร่างกาย (สุญาณี พงษ์ธนานิกร, 2549)

ใยอาหารที่ละลายน้ำได้บางชนิดมีคุณสมบัติพรีไบโอติค ไม่สามารถย่อยได้ในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก แต่จะถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ การย่อยสลายดังก่อให้เกิดกรดไขมันสายสั้น (SCFA) จำพวกบิวทีริค (butyrate) โพรพิโอนิค (propionate) นอกจากนี้ยังมี อินนูลิน ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ กาแลกโตโอลิโกแซกคาไรด์ ช่วยปรับสมดุลการขับถ่ายและด้วยคุณสมบัติเหมือนใยอาหารพรีไบโอติคจะช่วย บรรเทาอาการท้องผูก เนื่องจากผลของการเพิ่มน้ำหนักของอุจจาระและผลต่อการเคลื่อนไหวของลำไส้จึงช่วยให้ขับถ่ายง่ายขึ้นและยังช่วยดูดซึมแร่ธาตุบางชนิดได้ เช่น แคลเซียม เหล็ก แมกนีเซียมและสังกะสี ส่วนใยอาหารที่ไม่ละลายนั้นจะไม่แสดงคุณสมบัติข้างต้นเนื่องจากไม่ถูกย่อยสลายโดยแบคทีเรีย แต่จะช่วยเพิ่มปริมาณกากอาหารและลดระยะเวลาที่ของเสียอยู่ในร่างกายเช่นเดียวกับใยอาหารที่ละลายน้ำได้ อัตราการย่อยสลายใยอาหารโดยแบคทีเรียเป็นอีกปัจจัยสำคัญเนื่องจากมีผลต่อการผลิตกรดและก๊าซในระบบทางเดินอาหารซึ่งเป็นสาเหตุหนึ่งของอาการท้องอืดท้องเฟ้อ

นอกจากนี้กรดไขมันสายสั้น ที่ได้จากกระบวนการย่อยสลายดังกล่าวยังมีส่วนช่วยการลดระดับพีเอช ในลำไส้ใหญ่ ช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหาร อีกทั้งกรดไขมันดังกล่าวโดยเฉพาะอย่างยิ่ง บิวทีริคยังเป็นสารสำคัญที่ใช้ในกระบวนการแบ่งเซลล์ลำไส้ใหญ่ อย่างไรก็ตามใยอาหารแต่ละชนิดมีการย่อยสลายที่แตกต่างกัน จึงทำให้อัตราส่วนของกรดไขมันที่มีผลต่อการทำงานของลำไส้ใหญ่ต่างกันด้วย เมื่อโพลีเดกซ์โทรสถูกย่อยสลายจะเกิดการเพิ่มจำนวนของเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มแลคโตบาซิลลัส (*Lactobacillus*) และไบฟิโดแบคทีเรีย (*Bifidobacteria*) แต่จะทำให้เชื้อแบคทีเรียประเภทอื่นลดจำนวนลง

2.4.1 ตัวอย่างกรดไขมันสายสั้นที่จำเป็นต่อร่างกาย

1. กรดบิวทีริค (butyric acid) ช่วยซ่อมแซมผนังลำไส้และกำจัดสิ่งแปลกปลอมเป็นพลังงานให้เซลล์เยื่อบุผิวลำไส้ ลดความเสี่ยงของโรคมะเร็งลำไส้

2. กรดโพรพิโอนิค (propionic acid) เป็นพลังงานให้เซลล์ตับ ควบคุมการบีบตัวของลำไส้ใหญ่

3. กรดอะซิติค (acetic acid) ช่วยเพิ่มการดูดซึมแร่ธาตุแคลเซียมและแมกนีเซียม ลดความเสี่ยงของภาวะกระดูกพรุน

4. กรดแลคติค (lactic acid) ช่วยยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในลำไส้

2.4.2 บทบาทของกรดไขมันสายสั้นต่อสุขภาพ

ผลต่อระบบทางเดินอาหาร กรดไขมันสายสั้นจะช่วยรักษาสภาวะความเป็นกรดในลำไส้ของมนุษย์ จากการผลิตกรดแลคติค และกรดอะซิติค ซึ่งจะช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น *Clostridium perfringens*, *Salmonella* spp. และ *Esherichia coli* เป็นต้น เช่น *E. coli* O157: H7 และ *S. Enteric* จึงมีผลช่วยป้องกันอาการท้องเดินโดยเฉพาะจากการติดเชื้อได้ นอกจากนี้ด้วยคุณสมบัติเหมือนใยอาหารอื่นๆ ก็จะช่วยบรรเทาอาการท้องผูกได้ด้วยเนื่องจากผลของการเพิ่มน้ำหนักของอุจจาระและผลต่อการเคลื่อนไหวของลำไส้จึงช่วยให้ขับถ่ายง่ายขึ้น

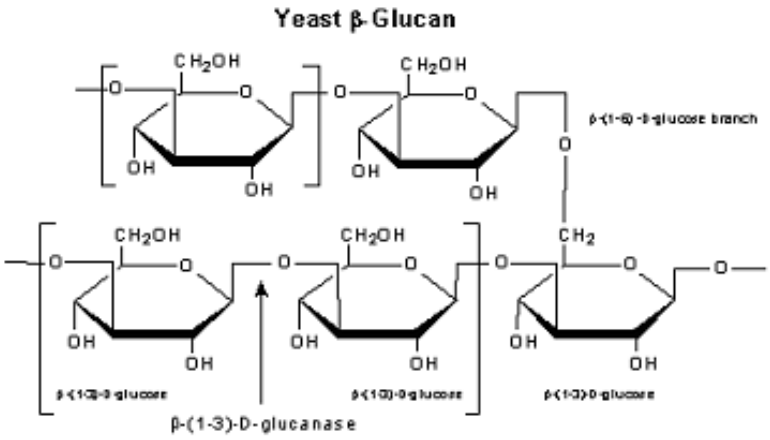
1. ผลต่อการเผาผลาญไขมัน เนื่องจากผลจากกระบวนการหมักที่ได้กรดไขมันสายสั้นบางชนิดโดยเฉพาะกรดโพรพิโอนิค ซึ่งสามารถไปยับยั้งการสังเคราะห์ไขมันรวมทั้งคอเลสเตอรอลอาจช่วยลดความเสี่ยงต่อโรคหลอดเลือดแข็งซึ่งมีสาเหตุจากไขมันได้

2. ผลต่อการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิด ด้วยความเป็นกรดก็จะช่วยในการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิดได้ เช่น แคลเซียม เหล็ก แมกนีเซียมและสังกะสี นอกจากนี้อาจด้วยกลไกที่ทำให้มีการดึงน้ำเข้ามาช่วยในการละลายเกลือแร่ต่างๆ ได้จึงมีการคาดการว่าน่าจะส่งผลช่วยลดความเสี่ยงต่อกระดูกพรุนได้ (สุญาณี พงษ์ธนานิกร, 2549)

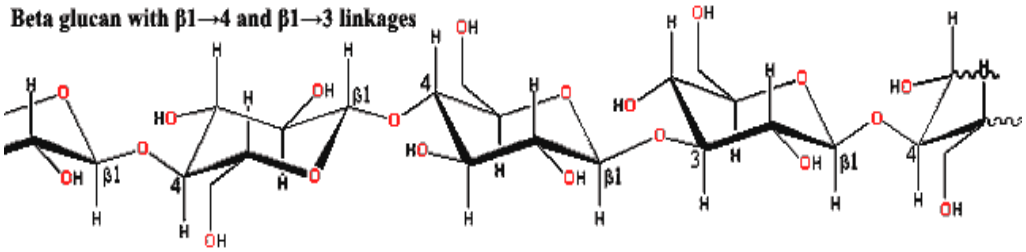
2.5 เบต้า-กลูแคน (β-glucan)

เบต้า-กลูแคน เป็นสารที่สามารถพบได้ทั่วไปในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เช่น ยีสต์ ข้าวโอ๊ต บาร์เลย์ ว่านหางจระเข้ และเห็ดบางชนิด ปัจจุบันมีการศึกษากันอย่างแพร่หลาย การศึกษาครั้งแรกเริ่มขึ้นในทศวรรษที่ 40 เมื่อ Louis Pillemer ศึกษา Zymosan ซึ่งเตรียมได้จากผนังเซลล์ของยีสต์ ที่รู้จักกันทั่วไปว่าเป็นยาที่ออกฤทธิ์กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน แต่ในขณะนั้นยังไม่เป็นที่ทราบแน่ชัดว่า โปรตีน ไขมัน น้ำตาลเชิงซ้อนหรือองค์ประกอบใดของ Zymosan ที่สามารถออกฤทธิ์ต่อระบบภูมิคุ้มกันได้ แต่หลังจากนั้นราวทศวรรษที่ 50 Nicholas DiLuzio มหาวิทยาลัย Tulane ประเทศสหรัฐอเมริกาได้ทำการวิจัยเพิ่มเติมจนพบว่าสารที่มีผลต่อการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันใน Zymosan ที่จริงแล้ว คือ เบต้า-กลูแคนโดยเฉพาะอย่างยิ่ง â-1, 3-D-glucan ซึ่งเป็นโพลีแซคคาไรด์สายยาวของน้ำตาลกลูโคสที่เชื่อมต่อกันด้วย glycoside lingkage ตรงโมเลกุลของออกซิเจนที่ตำแหน่ง C1 กับ hydroxyl ที่ตำแหน่ง C3 ของอีกกลุ่มหนึ่ง (รำไพ เกณฑ์สาคู, 2551)

เบต้า-กลูแคน คือ โพลีแซคคาไรด์ชนิดหนึ่ง โมเลกุลของกลูโคสหลายกลุ่มเชื่อมกับ glycoside-Beta-link ตรงโมเลกุลของออกซิเจนที่ C1 กับ hydroxyl ที่ C2-4 หรือ 6 ของอีกกลุ่มหนึ่ง ทำให้แต่ละกลุ่มมีคุณสมบัติแตกต่างกันไปได้และมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 10^4-76×10^4 (Sutherland *et al*., 1990) ดังนั้น เบต้า-กลูแคนจึงจัดว่าเป็น Homopolysaccharide ซึ่งมีโมโนแซคคาไรด์เพียงชนิดเดียว คือ กลูโคสที่ต่อกันเป็นโซ่ยาว ดังภาพประกอบ 2.14



Polymer of β-(1-3)-D-glycopyranosyl units with branching at β-(1-6)-D-glycopyranosyl units.



ภาพประกอบ 2.7 โครงสร้างของ β-glucan ที่ประกอบด้วย β-1-3-glucan กับ β-1-6-glucan และโครงสร้างของ β-glucan ที่ประกอบด้วย β-1-3-glucan กับ β-1-4-glucan (BOT *et al.,* 2005)

ซึ่งเบต้า-กลูแคนจับกันเป็นพันธะ (1-3, 1-6) β-glucan จะเรียกว่า mixed linkage-β-glucan ซึ่งจะพบในเห็ดและยีสต์ ซึ่งถ้าเป็นเบต้า-กลูแคนจับกันเป็นพันธะ (1-3, 1-4) β-glucan จะพบในข้าวโอ๊ตและข้าวบาร์เลย์ โดยเบต้า-กลูแคนสามารถสกัดได้ด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 65-100 องศาเซลเซียส (150-212 ฟาเรนไฮต์) แล้วใช้วิธีการ Spray-Drying การสกัดอีกวิธีหนึ่ง คือ การสกัดด้วยสารละลาย $NaCO_3$ ที่มีพีเอช 10 โดยใช้อุณหภูมิต่ำ เบต้า-กลูแคนถูกจัดอยู่ในพวก Soluble Dietary Fiber ซึ่งเมื่อนำไปใส่ในอาหารจะทำให้เป็นการลดระดับน้ำตาลในเลือดและช่วยเพิ่มการตอบสนองอินซูลิน ในผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวาน นอกจากนี้เบต้า-กลูแคน ยังมีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติค ซึ่งเป็นสารที่ไปช่วยเสริมสร้างการเจริญเติบโตและระบบการทำงานของแบคทีเรีย ที่มีประโยชน์ต่อระบบทางเดินอาหาร เช่น แบคทีเรีย : *Lactobacillus* spp มีคุณสมบัติไปกระตุ้นกลไกการจับกินเชื้อแบคทีเรีย ที่เรียกว่า Phagocytosis ทำให้ลดปริมาณเชื้อที่อาจก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร มีคุณสมบัติเป็น สาร chelating ในการเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซึมของแร่ธาตุในระบบทางเดินอาหาร (Whistler and James, 1997)

ได้มีการทดลองวิจัยว่า กลูแคน สามารถกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันได้อย่างมีประสิทธิภาพ ช่วยลดการติดเชื้อในผู้ป่วยภูมิคุ้มกันบกพร่องและลดการติดเชื้อหลังการผ่าตัดในกลุ่มที่ติดเชื้อง่าย นอกจากนี้ยังพบว่า เบต้า-กลูแคนเป็นตัวที่ลดระดับ Cholesterol ในเลือดและสามารถนำมาใช้ในการรักษามะเร็งได้อีกด้วย โดยนักโภชนาการได้กำหนดว่าร่างกายควรได้รับใยอาหาร (dietary fiber) ที่ 25-50 กรัมต่อวัน (Whistler and James, 1997) ซึ่งจะไปช่วยเพิ่มมวลอุจจาระทำให้การขับถ่ายสะดวก เนื่องจากไม่ถูกย่อยได้โดย human enzyme เป็นการช่วยป้องกันโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่หรือโรคเกี่ยวกับลำไส้ในลักษณะเดียวกัน นอกจากจะใช้เบต้า-กลูแคน เป็นอาหารเสริมสุขภาพแล้วยังมีการนำไปใช้เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอางจำพวกครีมกันแดดได้อีกด้วย โดยเชื่อว่าเบต้า-กลูแคนที่ใส่ในครีมกันแดดจะสามารถกระตุ้นให้แผลหายเร็วขึ้น โดยจะไปเพิ่มประสิทธิภาพในการสร้างคอลลาเจนของเซลล์ผิวหนัง ช่วยลดการเกิดอนุมูลอิสระและกระตุ้นการทำงานของเซลล์ langerhans ซึ่งเป็นเซลล์ที่

ทำหน้าที่นำสิ่งแปลกปลอมให้แก่เซลล์ในระบบภูมิคุ้มกันคล้ายๆ กับเซลล์ macrophage โดยกระบวนการเหล่านี้จะมีผลทำให้ผิวพรรณเปล่งปลั่งสดใส ลดริ้วรอยและชะลอความแก่ของเซลล์ผิวหนังให้ช้าลงและไม่ใช่แต่มนุษย์เท่านั้น เบต้า-กลูแคนยังกระตุ้นภูมิต้านทานของสัตว์เลื้อยคลานและไม้ดอก ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสารนี้เป็นสารป้องกันตามธรรมชาติ (Son *et al.,* 2005)

ที่ประเทศญี่ปุ่น ได้มีการทดลองนำเห็ดหอมมาสกัด พบว่าในเห็ดหอมให้น้ำตาลโมเลกุลขนาดใหญ่ (mega-sugar) ที่เรียกว่า เบต้า-กลูแคน ถึง 2 ชนิด ได้แก่ Lentinan และ LEM (lentinula edodes mycelium) ซึ่งช่วยทำหน้าที่กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันต่อสู้กับการติดเชื้อและชะลอการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง ซึ่งในการทดลองให้สาร lentinan กับผู้ป่วยมะเร็งร่วมกับการทำเคมีบำบัดก็พบว่าก้อนมะเร็งมีขนาดลดลงและอาการข้างเคียงจากการทำเคมีบำบัดก็เกิดขึ้นน้อยลงด้วย ขณะนี้ทีมวิจัยในญี่ปุ่นกำลังมองหาความเป็นไปได้ในการใช้ LEM ที่ได้จากเห็ดหอมมาบำบัดผู้ป่วยที่ติดเชื้อ HIV และยังพบอีกว่า สารสกัดจากเห็ดหอมอีกตัวหนึ่งชื่อ eritadenine เป็นตัวช่วยลดปริมาณไขมันในเลือดและระดับคอเลสเตอรอลให้กับร่างกายได้อีกด้วย

2.6 โพรไบโอติค

โพรไบโอติค (probiotic) ถูกนำมาใช้เป็นครั้งแรกในรายงานการวิจัยทางวิทยาศาสตร์ของ Lilly และ Stillwell ในปี พ.ศ. 2508 เพื่อกล่าวถึงสารที่จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งขับออกมาและช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นการทำงานที่ตรงข้ามกับการทำงานของยาปฏิชีวนะ (antibiotic) ที่จะทำลายจุลินทรีย์เกือบทุกชนิด

ในปี พ.ศ. 2517 Parker ได้ให้คำจำกัดความว่า โพรไบโอติค คือ สิ่งมีชีวิตและสารเคมีที่มีผลต่อสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้

คำจำกัดความล่าสุด ซึ่งเสนอโดย Fuller ในปี พ.ศ. 2532 อธิบายคำว่า โพรไบโอติค คือ อาหารเสริมซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิต สามารถก่อประโยชน์ต่อร่างกายของสิ่งมีชีวิตที่มันอาศัยอยู่ โดยการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบลำไส้

ปัจจุบันจะถือคำจัดความตามการประชุมขององค์การอาหารและเกษตรโลก/ องค์การอนามัยโลก ที่จัดขึ้นในปี ค.ศ. 2002 เป็นหลัก ซึ่งกล่าวว่าโพรไบโอติค คือ จุลินทรีย์มีชีวิตที่ให้เสริมเพื่อประโยชน์ต่อสุขภาพ เมื่อได้รับปริมาณที่พอเหมาะจะมีประโยชน์ต่อสุขภาพ โดยให้ความสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ที่ดีขึ้น (Food and Agriculture Organization, FAO, World Health Organization, WHO, 2002)

2.6.1 การศึกษาทางการแพทย์ของโพรไบโอติค

1. บทบาทของโพรไบโอติคต่อสุขภาพ ปัจจุบันมีการศึกษาผลทางการแพทย์ของโพรไบโอติคต่อร่างกายของมนุษย์อยู่แล้ว ซึ่งพบว่าช่วยป้องกัน บรรเทาหรือรักษาโรคได้ อย่างไรก็ตามมีการศึกษาหลายงานที่ไม่ได้ทำการทดลองอย่างเป็นทางการและยังขาดแคลนหลักฐานสรุปผลของเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์ต่างๆ ต่อสุขภาพ มีงานวิจัยน้อยมากที่ทราบถึงกลไกแท้จริงที่เกิดขึ้นแม้ว่าโพรไบโอติคจะทำหน้าที่ได้อย่างลุล่วงก็ตาม ตัวอย่างเป้าหมายหลักต่อสุขภาพและหลักฐานที่สนับสนุนการศึกษาดังกล่าว แสดงดังตาราง 2.1

ตาราง 2.2 ประโยชน์ของโพรไบโอติคต่อสุขภาพ

ประโยชน์	ระดับของเอกสาร
บรรเทาอาการที่ร่างกายไม่สามารถย่อยแลคโตส	++++
รักษาและป้องกันอาการท้องเสียจากเชื้อไวรัส	+++
สร้างภูมิคุ้มกัน	++
ป้องกันโรค traveller's diarrhea (การท้องเสียของนักท่องเที่ยวที่มาเที่ยวในประเทศกำลังพัฒนา)	+
ต้านทานการผิดปกติของเซลล์และป้องกันการเกิดมะเร็ง	+
ลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด	-

ที่มา : (Chadwick *et al*., 2003)

2. บทบาทของโพรไบโอติคในระบบทางเดินอาหารและลำไส้

2.1) ผลต่อการดูดซึมสารอาหาร

ลำไส้ใหญ่ของมนุษย์มีจุลินทรีย์หลากหลายชนิดที่มีความซับซ้อนและมีเมทาบอลิซึมต่างๆ กัน หน้าที่เริ่มต้นของจุลินทรีย์ คือ การสร้างพลังงานจากคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกย่อยในทางเดินอาหารส่วนบน ซึ่งจะทำให้เกิดการหมักและการดูดซึมผลิตภัณฑ์หลักที่เกิดขึ้น คือ กรดไขมันสายสั้น โดยกรดไขมันสายสั้น อะซิติค โพรพิโอนิคและบิวทิริค ส่วนใหญ่จะถูกเปลี่ยนเป็นพลังงานในลำไส้ (บิวทิริค) ตับ (โพรพิโอนิค) และกล้ามเนื้อ (อะซิติค)

Naidu *et al.* (1999) กล่าวว่ากรดไขมันสายสั้น เช่น กรดแลคติค โพรพิโอนิค และบิวทีริค จะเป็นผลิตภัณฑ์พลอยได้ในการสร้างพลังงานสะสมและแสดงกิจกรรมทางชีววิทยาของแลคติคแอซิดแบคทีเรีย การหมักของโปรตีนและไขมันในลำไส้ใหญ่จะช่วยเสริมสร้างปริมาณกรดไขมันสายสั้นที่ปลายลำไส้ใหญ่ เนื้อเยื่อเมือกของปลายลำไส้ใหญ่จะทำการดูดซึมกรดไขมันสายสั้นอย่าง

รวดเร็วจากลูเมน (lumen) โดยเฉพาะกรดอะซิติค และกรดโพรพิโอนิค ซึ่งอาจจะไปช่วยสนับสนุนการสร้างพลังงานให้แก่ผู้ถูกอาศัย ในขณะเดียวกันกรดไขมันสายสั้นบางตัวอาจจะช่วยป้องกันการเปลี่ยนแปลงที่เกิดจากจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในเนื้อเยื่อเมือกของลำไส้ เช่น การที่กรดบิวทีริคแสดงผลในการช่วยยับยั้งการเกิดเนื้องอกในเซลล์ของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมได้

2.2) ช่วยบรรเทาอาการที่ร่างกายไม่สามารถย่อยแลคโตสได้

ทั่วโลกมีประชากรประมาณร้อยละ 70 ที่ร่างกายไม่สามารถย่อยแลคโตสได้อย่างสมบูรณ์ เนื่องจากการขาดเอนไซม์แลคเตส แลคเตสเป็นเอนไซม์ที่พบในลำไส้ซึ่งจะช่วยย่อยน้ำตาลแลคโตสในนมให้เป็นกลูโคสและกาแลคโตส การขาดเอนไซม์ดังกล่าวจะก่อให้เกิดอาการท้องเสียท้องขึ้นมาก มีการพองบวมและปวดท้องหลังจากการย่อยนมและผลิตภัณฑ์นม อย่างไรก็ตามในช่วงที่มีอาการท้องเสียระบบลำไส้จะเกิดการอักเสบอย่างรุนแรงหรืออาจเกิดอาการปวดในช่องท้องบ่อยครั้ง กิจกรรมของเอนไซม์ไดแซคคาไรด์ในลำไส้เล็กอาจจะถูกกระทบอย่างรุนแรงและทำให้การลำเลียงโมโนแซคคาไรด์ถูกทำลายลง ด้วยสภาวะนี้จะช่วยสนับสนุนให้ลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่มีการดูดซึมอย่างรุนแรง โดยนักวิจัยหลายท่านแสดงให้เห็นว่าโมโนแซคคาไรด์และไดแซคคาไรด์ร้อยละ 65-85 ในลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่สามารถเปลี่ยนกลับไปเป็นกรดไขมันสายสั้น ที่ง่ายต่อการดูดซึม ถ้ามีการรบกวนของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค การย่อยคาร์โบไฮเดรตที่ไม่สมบูรณ์ในช่วงนี้อาจจะยืดเยื้อได้ (Naidu *et al*., 1999)

เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus bulgaricus* และจุลินทรีย์แลคโตบาซิลลัสอื่นๆ ที่ใช้โดยทั่วไปในอุตสาหกรรมนมหมักนั้นจะช่วยส่งเสริมให้เอนไซม์แลคเตสย่อยแลคโตสในผลิตภัณฑ์นมได้ Naidu *et al*. (1999) ชี้ให้เห็นว่าโยเกิร์ตที่มีเชื้อจุลินทรีย์ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* จะช่วยลดอาการที่ร่างกายไม่สามารถย่อยแลคโตสได้ ในขณะเดียวกันเขายังกล่าวว่าอาการที่ร่างกายไม่สามารถย่อยแลคโตสได้อย่างสมบูรณ์ในเด็กเล็กจะลดลงหลังจากที่ให้รับประทานโยเกิร์ตที่มีเชื้อจุลินทรีย์ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* มากกว่าการบริโภคนมธรรมดา

2.3) ผลการป้องกันโรคทอนซิลและการติดเชื้อในลำคอ

Reid *et al.* (2006) รายงานว่าจากการทดลองปิดตา สุ่ม และใช้ยาที่บังเกิดผลทางจิตใจแต่ไม่มีฤทธิ์รักษาโรคต่อการกลับมาอีกครั้งของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค α-*Steptococci* โดยการให้โพรไบโอติคช้าๆ ซึ่งผู้ป่วย 36 คน ที่เป็นโรคทอนซิลจากการรับเชื้อ *Steptococcal* กลุ่มเอ จะได้รับสารปฏิชีวนะตามการรักษาแบบให้ยาที่บังเกิดผลทางจิตใจแต่ไม่มีฤทธิ์รักษาโรค 19 คนและได้รับเชื้อ α-*Steptococci* 16 คน ผลการทดลองพบว่าการรักษาแบบไม่ได้รับสารโพรไบโอติคจะทำให้ผู้ป่วยกลับมาเป็นทอนซิลก่อน 2 เดือน ส่วนผู้ป่วย 1 คนที่ได้รับโพรไบโอติค และ 11 คนที่ได้รับ

การรักษาแบบให้ยาที่บังเกิดผลทางจิตใจแต่ไม่มีฤทธิ์รักษาโรคจะกลับมาเป็นทอนซิลอีกครั้งหลังจาก 3 เดือน

แนวทางของการใช้เชื้อ α-*Steptococci* กลับมาอีกครั้งในปี 1960 โดยการศึกษาของ Sprunt and Redman (1968) และ Sprunt and Leidy (1988) ซึ่งมีการฉีดวัคซีนจากเชื้อ α-Hemolytic *Steptococcus* สายพันธุ์ 215 เข้าสู่ช่องที่ติดต่อจมูก ปากและหูไปยังหลอดอาหารในเด็กที่ยังมีอายุไม่ครบ 1 ขวบ โดยผลการทดลองพบว่าวัคซีนที่ฉีดจะเข้าไปเปลี่ยนแปลงการรวมตัวของเชื้อจุลินทรีย์อย่างรุนแรง ทำให้อาการอักเสบที่ลำคอในเด็กทุกคนเข้าสู่สภาวะปกติได้ใน 48-72 ชั่วโมง นักวิจัยหลายท่านพบว่าเชื้อ *Steptococcal* ให้ลักษณะการรักษาที่เกิดขึ้นเหมือนกับวัคซีนจากเชื้อ α-Hemolytic *Steptococcal* สายพันธุ์ 215 โดยเฉพาะในเด็กที่มีอาการรุนแรงร้อยละ 6-17 ความสำคัญดังกล่าวจึงทำให้เกิดการพัฒนาขึ้นของโพรไบโอติค

2.4) ผลต่อระบบปัสสาวะและระบบสืบพันธุ์

การศึกษาเริ่มขึ้นจากงานของ Bruce ในปี 1973 รายงานว่าผู้หญิงที่ไม่ได้รับความทรมานจากอาการติดเชื้อกระเพาะปัสสาวะนั้น เกิดจากการที่มี *Lactobacillus* ในช่องคลอด จึงทำให้เกิดทฤษฎีว่าเชื้อดังกล่าวทำหน้าที่เป็นตัวกีดกันจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคจากทวารเข้าสู่กระเพาะปัสสาวะ ดังนั้นก่อนปี 1978 สายพันธุ์ของเชื้อ *Lactobacillus* จึงถูกเลือกมาเพื่อใส่ในช่องคลอดเพื่อลดการติดเชื้ออีก เกณฑ์ที่ใช้เลือกในเวลานั้น คือ ความสามารถในการเกาะติดและการรวมตัวในช่องคลอดเพื่อป้องกันการการเกาะของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค (Reid *et al*., 1987; Reid *et al*., 2006) ทั้งนี้กว่า 22 ปี มาแล้วที่มีการแสดงให้เห็นว่าเชื้อจุลินทรีย์ 3 สายพันธุ์ คือ *Lactobacillus shamnosus* GR-1, *L. reuterin* B-54 และ *L. reuterin* RC-14 มีความสามารถในการรวมตัวที่ช่องคลอดและสามารถลดการรวมตัวของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและการติดเชื้อในกระเพาะปัสสาวะและช่องคลอดได้ (Reid *et al*, 1995, 2001, 2003, 2006; Cadieux *et al*., 2002)

ในขณะเดียวกันเชื้อ *Lactobacillus shamnosus* GR-1 และ *L. reuterin* RC-14 ยังมีความสามารถในการฆ่าเชื้อไวรัสเอชไอวี (Cadieux *et al*., 2002; Reid *et al*., 2006) ได้ และยังแสดงให้เห็นอีกว่า ผู้หญิงที่มีเชื้อ *Lactobacillus* อาจจะมีความเสี่ยงในการติดเชื้อเอชไอวีต่ำ (Sewankambo *et al*., 1997; Reid, 2006)

2.5) ผลการปรับปรุงความสามารถในการเคลื่อนไหวของลำไส้

มีการศึกษาเพียงเล็กน้อยที่แสดงถึงผลของแลคติคแอซิดแบคทีเรียต่ออาการท้องผูกและการปรับปรุงความสามารถในการเคลื่อนไหวของลำไส้ การขาดเอนไซม์แลคเตสอาจทำให้เกิดการพองบวม ตะคริวและท้องเสียหลังจากการย่อยนมได้โดยท้องเสียอาจจะส่งผลต่อการดูดซึมแลคโตสที่ย่อยแล้วหรือการดูดซึมผลิตภัณฑ์กรดที่เกิดจากการหมักรวมถึงการเปลี่ยนแปลงการดูดซึม

ของโซเดียมและน้ำเนื่องจากความเป็นกรดต่ำในลำไส้ ซึ่งกรดและภาวะความเป็นกรดในปลายลำไส้ใหญ่เป็นผลมาจากแลคโตสโดยกิจกรรมของแลคติคแอซิดแบคทีเรีย ทำให้ปลายลำไส้ใหญ่ถูกกระตุ้นให้เกิดการเคลื่อนไหวและอาจจะช่วยบรรเทาอาการท้องผูกได้

Naidu *et al*. (1999) รายงานว่าโรคท้องผูก เป็นโรคหลักของผู้ป่วยสูงอายุในโรงพยาบาลเนื่องจากการสูญเสียความสามารถในการเคลื่อนไหวของลำไส้และเขายังรายงานว่าการให้นมที่มี *L. acidophilus* แก่ผู้ป่วยสูงอายุที่มีปัญหาโรคท้องผูกในโรงพยาบาลจำนวน 42 คน พบว่าการรับประทานนมที่มี *L. acidophilus* 200-300 มิลลิลิตรต่อวัน จะช่วยบรรเทาอาการดังกล่าวได้

2.6) ผลการลดคอเลสเตอรอลในเซรั่ม

เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus acidophilus* มีคุณสมบัติที่ดีในการช่วยเสริมสร้างสุขภาพ โดยการช่วยป้องกันมะเร็ง และป้องกันคอเลสเตอรอลสูง รวมถึงเป็นศัตรูกับจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในลำไส้และในอาหาร เชื้อจุลินทรีย์ *L.* acidophilus สามารถอยู่รอดได้ในสภาพแวดล้อมที่ไม่ดีและสามารถตั้งรากฐานได้ในระบบนิเวศวิทยาที่ซับซ้อนของทางเดินอาหาร ซึ่งผลของคอเลสเตอรอลที่ลดต่ำลงอาจเกิดเนื่องจากความพยายามในการยับยั้งของเอนไซม์ 3-ไฮดรอกซี-3-เมทิลกลูทาริล โคเอ รีดัคเตส โดยไปช่วยจำกัดอัตราการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลในร่างกายและเสริมการขับออกของคอเลสเตอรอลผ่านทางอุจจาระ ในขณะเดียวกันก็เป็นผลมาจากการทำงานร่วมของกรดน้ำดีในลำไส้เชื้อจุลินทรีย์ *L. acidophilus* ที่ให้ประโยชน์ข้างต้น โดยการตั้งรากฐานและทำหน้าที่ในระบบลำไส้เพื่อลดคอเลสเตอรอล อาจมีมากกว่า 1 สายพันธุ์ บนรากฐานของความรู้ใหม่แล้วเชื้อจุลินทรีย์ *L. acidophilus* เพียงสายพันธุ์เดียวอาจจะไม่สามารถให้ประโยชน์ที่ดีที่สุดได้

นอกจากนี้ Naidu *et al*. (1999) รายงานถึงผลของโยเกิร์ตธรรมดา และโยเกิร์ตที่มี *L. acidophilus* ต่อน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น คอเลสเตอรอลในเซรั่ม คอเลสเตอรอลที่ดี คอเลสเตอรอลที่ไม่ดี ไตรกลีเซอไรด์และจำนวนของเชื้อ *Lactobacillus* ในอุจจาระของหนู ผลการทดลองพบว่าหนูที่ได้รับโยเกิร์ตธรรมดาและโยเกิร์ตที่มี *L. acidophilus* จะมีน้ำหนักมากกว่าหนูที่ไม่ได้รับโยเกิร์ต ค่าเฉลี่ยของความเข้มข้นคอเลสเตอรอลในเซรั่มและคอเลสเตอรอลที่ไม่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญในหนูที่กินโยเกิร์ตที่มี *L. acidophilus* ทั้งนี้โยเกิร์ตธรรมดาและโยเกิร์ตที่มี *L. acidophilus* ไม่ส่งผลต่อคอเลสเตอรอลที่ดีและไตรกลีเซอไรด์ ในขณะเดียวกันปริมาณของเชื้อ *Lactobacillus* จะมีปริมาณสูงในอุจจาระของหนูที่กินโยเกิร์ตที่มี *L. acidophilus*

2.7) ผลการจัดการโรคกระดูกพรุน

โยเกิร์ตเป็นแหล่งที่ดีของแคลเซียมในนมสำหรับหนูที่มีอาหารขาดแคลเซียม (Naidu *et al*., 1999) จากรายงานพบว่าโยเกิร์ตมีประโยชน์ต่อการรักษาโรคกระดูกพรุนในผู้สูงอายุ ขณะเดียวกันจากงานวิจัยอื่นๆ ชี้ให้เห็นว่าปรากฏการณ์ที่แลคโตสจะช่วยกระตุ้นการดูดซึมแคลเซียมในมนุษย์ค่อนข้างมีความซับซ้อนและดูเหมือนว่าการดูดซึมแคลเซียมจะลดลงเมื่อร่างกายไม่สามารถ

ย่อยแลคโตสได้และการดูดซึมจะเพิ่มขึ้นในภาวะที่ร่างกายย่อยแลคโตสได้ สิ่งที่น่าสนใจ คือ การขาดเอนไซม์แลคเตสจะพบได้อย่างแพร่หลายในคนที่เป็นโรคกระดูกพรุน (Naidu *et al*., 1999)

2.8) ผลการป้องกันการติดเชื้อในลำไส้

ในช่วงต้นจะพบว่าโพรไบโอติคมีประโยชน์ต่อระบบนิเวศวิทยาของลำไส้ โดยจะช่วยป้องกันการติดเชื้อและการอักเสบของลำไส้ โพรไบโอติคบางสายพันธุ์ถูกคัดเลือกมาเพื่อใช้ยับยั้งเชื้อ *Salmonella*, *E. coli* และ *Staphylococcus aureus* ซึ่งเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค (Bielecka *et al*., 1998; 2002) การเพิ่มขึ้นของเชื้อ Bifidobacterium ในปลายลำไส้ใหญ่ส่งผลต่อทั้งสุขภาพและการรักษาสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ (Bielecka *et al*., 2002) กลไกการทำงานของโพรไบโอติคในลำไส้อาจจะยังไม่มีหลักฐานที่แน่นอนอย่างไรก็ตามคาดว่าโพรไบโอติคน่าจะมีกลไกการทำงานดังนี้ คือ มีการแข่งขันเพื่อแย่งสารอาหาร ผลิตสารต้านเชื้อจุลินทรีย์ ป้องกันการเกาะติด มีการทำให้สารพิษที่สร้างขึ้นลดลงตัวรับมีการป้องกันสารพิษมีการกระตุ้นภูมิคุ้มกันและมีการกำจัดสารพิษออกไป

2.9) ผลการป้องกันสารที่อาจก่อให้เกิดมะเร็งและสารที่อาจก่อให้เกิดการกลายพันธุ์

มีข้อมูลจากการศึกษาอย่างกว้างขวางทั้งในแบบจำลองของมนุษย์และสัตว์เกี่ยวกับคุณสมบัติของโพรไบโอติคในการป้องกันมะเร็ง (Burns and Rowland, 2000; Chadwick *et al*., 2003) ยกตัวอย่าง เช่น โพรไบโอติคสามารถช่วยลดการเกิดเนื้องอกในปลายลำไส้ใหญ่ของสัตว์ทดลอง (Goldin *et al*., 1996; Reddy and Riverson, 1993) ซึ่งเป็นการยากมากที่จะทำการศึกษาผลต่อการป้องกันสารที่อาจก่อให้เกิดมะเร็งในมนุษย์ (Goldin *et al*., 1996; Reddy and Riverson, 1993) อย่างไรก็ตามยังมีรายงานบ้างเกี่ยวกับผลของเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* สายพันธุ์ *Shirota* ต่อการเกิดมะเร็งในกระเพาะปัสสาวะ (Aso *et al*., 1995) จากหลักฐานการศึกษาเมื่อไม่นานมานี้พบว่าการบริโภคโยเกิร์ตอาจจะช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดมะเร็งลำไส้ได้แต่ก็ยังไม่มีหลักฐานที่แท้จริง ส่วนกลไกของผลดังกล่าวก็ยังคงไม่เป็นที่รู้แน่ชัด นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าการบริโภคเชื้อแลคโตบาซิลลัสยังสามารถช่วยลดการเกิดสารที่อาจก่อให้เกิดกลายพันธุ์ได้ในอุจจาระและปัสสาวะของอาสาสมัคร

3. บทบาทของโพรไบโอติคต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน

จากการทดลองนำแลคติคแอซิดแบคทีเรียมาใช้ศึกษาในหลอดทดลองเพื่อการชักนำให้ผลิตสารไซโตคีน (cytokines) ซึ่งเป็นสารที่ร่างกายตอบสนองต่อสารพิษหรือจุลินทรีย์ จะเป็นโมเลกุลที่ช่วยให้เกิดการทำงานร่วมกันของปฏิกิริยาภูมิคุ้มกันต่างๆ (Miettinen *et al*., 1996) โดยจะเกิดเมื่อแบคทีเรียเข้าสู่สภาวะที่ละเอียดอ่อนในระบบทางเดินอาหาร ผลชี้ให้เห็นว่าแบคทีเรียเหล่านี้อาจจะเข้ามาทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของภูมิคุ้มกันแต่ยังคงมีรายงานเพียงเล็กน้อยที่กล่าวว่าเกิด

อะไรขึ้นในระบบทางเดินอาหาร โดยความจริงการเข้าไปแทรกของโพรไบโอติคอาจเพื่อกระตุ้นให้เกิดการผลิตสารต่อต้านเชื้อโรต้าไวรัสที่มีความจำเพาะ (Kaila *et al*., 1992; Chadwick *et al*., 2003) ซึ่งโพรไบโอติคน่าจะสามารถช่วยเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันได้

มีการศึกษาที่ประสบความสำเร็จในการใช้เชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus shamnosus* GG ในการรักษาเด็กที่เป็นโรคภูมิแพ้เรื้อรัง (Isolauri *et al*., 2000) และแพ้อาหาร (Majamaa and Isolauri, 1997; Kalliomki *et al*., 2001) โดยผลชี้ให้เห็นว่าโพรไบโอติคอาจเข้าไปพัฒนาและสร้างเครื่องป้องกันในระบบทางเดินอาหาร อย่างไรก็ตามจากการศึกษาในมนุษย์บางคนพบว่าโพรไบโอติคอาจเข้าไปเปลี่ยนแปลงระบบภูมิคุ้มกันได้ในรูปแบบของ การเพิ่มระดับการขับสารต่อต้านเชื้อโรคในร่างกาย (Schiffrin *et al*., 1996; Marteau *et al*., 1997)

4. บทบาทของโพรไบโอติคต่อภูมิแพ้

การศึกษาการใช้โพรไบโอติคที่เกี่ยวกับโรคภูมิแพ้ส่วนใหญ่ จะศึกษากับเด็กที่เป็นผิวหนังอักเสบเหตุแพ้ภูมิ (atopic eczema/ atopic dermatitis) ซึ่ง Majamaa and Isolauri (1997) ได้ศึกษากับเด็กที่เป็นผิวหนังอักเสบเหตุภูมิแพ้และเด็กที่แพ้นมวัว พบว่าเด็กกลุ่มนี้จะมีสุขภาพดีขึ้นเมื่อได้รับ *L. rhamnosus* GG (Majamaa *et al*., Isolauri *et al*., 1997)

มีการศึกษาบทบาทของโพรไบโอติคต่อการป้องกันโรคภูมิแพ้ที่เกี่ยวกับทางเดินหายใจของ Wheeler *et al*. (1997) โดยให้โพรไบโอติคพวก *L acidophilus* ในผู้ป่วยโรคหืด (asthma) พบว่าจำนวนเม็ดเลือดขาวอิโอซโนฟิล (eosinophil) ลดลงและแกรมมาอินเตอร์เฟียรอนในผู้ป่วยที่เพิ่มขึ้น แต่ตัวแปรเสริมทางคลินิกไม่เปลี่ยนแปลง (Wheeler *et al*., 1997) ในส่วนการศึกษาในคนหนุ่มสาวที่แพ้ละอองเกสรพืช โดยให้โพรไบโอติคพวก *L. rhamnosus* GG ปรากฏว่าไม่ได้ช่วยให้สุขภาพดีขึ้นเลย (Helin *et al*., 2002)

มีข้อพิสูจน์เกี่ยวกับเด็กที่ขอมาเลี้ยงโดยครอบครัวที่มีฐานะดี จะเลี้ยงดูเด็กอย่างดี โดยมีการให้วัคซีนตามกำหนด ให้ยาปฏิชีวนะเวลาเกิดการติดเชื้อและเลี้ยงดูด้วยนมขวดตอนเด็ก ถ้าให้เด็กพวกนี้ได้รับโพรไบโอติคเสริมจะพบว่าลดสถิติในการเกิดโรคภูมิแพ้ลดลงอย่างชัดเจนเมื่อเทียบกับเด็กกลุ่มควบคุม ที่ไม่ได้รับโพรไบโอติคที่เป็นเชื้อ Lactobacilli และ Bifidobacteria (Sarker *et al*., 1996)

5. บทบาทของโพรไบโอติคกับสุขอนามัยช่องปาก

จากการศึกษาของ Kang *et al*. (2006) เรื่องโพรไบโอติคกับกลิ่นปาก โดยศึกษาจากน้ำลายของเด็กอนุบาล จำนวน 460 คน อายุ 4 และ 7 ปี ที่เมืองกวางจู ประเทศเกาหลีใต้ เพื่อแยกเอาเชื้อ Lactobacilli ที่มีความสามารถในการผลิตไฮโดรเจนเพอรอกไซด์เพื่อนำมาเป็นเชื้อโพรไบโอติค

สำหรับทดสอบความสามารถในการยับยั้งการผลิต ไฮโดรเจนซัลไฟด์ของเชื้อ *Fusobacterium nucleatum* ATCC 1093, *Porphyromonas gingivalis* A7A7-28, *Treponema denticola* ATCC 35405 และ *Prevotella intermedia* ATCC 15930 ในห้องปฏิบัติการและนำมาทดสอบดูผลในการลดกลิ่นปากในผู้ใหญ่ จำนวน 46 คน ผลจากการศึกษาสามารถทำให้สามารถเลือกเชื้อ *Weissella cibaria* มาทำหน้าที่เป็นเชื้อโพรไบโอติค ในการทดสอบพบว่าเชื้อโพรไบโอติคที่เตรียมขึ้นเองนี้ สามารถทำให้เชื้อ *F. nucleatum* ลดการผลิต VSC ได้ลดลงและลดปริมาณของเชื้อ *F. nucleatum* ลงได้ด้วย ส่วนในทางคลินิกโพรไบโอติคตัวนี้สามารถลดปริมาณของ ไฮโดรเจนซัลไฟด์และเมทิลเมอร์แคปแทน ลงได้อย่ามีนัยสำคัญทางสถิติ คือ ลดลงที่ ร้อยละ 48.2 และร้อยละ 59.4 ตามลำดับ นอกจากจะมีผลต่อกลิ่นปากแล้ว เชื้อ *W. cibaria* ยังมีผลต่อการสร้างไบโอฟิล์ม ของเชื้อ *Streptococcus mutans* ได้อีกด้วย จากการศึกษาของ Burton *et al*. (2005) โดยนำโพรไบโอติคที่เป็นเชื้อ *Streptococcus salivarius* ก็สามารถลดกลิ่นปากได้เช่นกัน ส่วน *Streptococcus salivarius* K12 ก็สามารถนำมาควบคุมการติดเชื้อในช่องปากได้จะเห็นได้ว่าแม้จะมีการศึกษาเรื่องโพรไบโอติคกับสุขอนามัยช่องปากอยู่บ้าง แต่ก็นับว่าน้อยมากเมื่อเทียบกับการศึกษาโพรไบโอติคที่เกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร

6. บทบาทของโพรไบโอติคในทางคลินิก

มีการศึกษาถึงบทบาทของโพรไบโอติคในการรักษาโรคท้องร่วงในเด็ก จากการศึกษาของ Rosenfeldt *et al*. (2002) โดยทำการศึกษาในเด็กที่ประเทศเดนมาร์คที่มีอายุ 6 และ 36 เดือน จำนวน 69 คน ที่ท้องร่วงจนต้องนอนโรงพยาบาลโดยมีผู้ป่วยติดเชื้อ Rotavirus ร้อยละ 66.7 โพรไบโอติคที่ใช้ คือ *L. uteri* และ *L. rhamnosus* โดยใช้โพรไบโอติค 5 วันติดกัน พบว่าอาการท้องร่วงลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Rosenfeldt *et al*., 2002)

ในปี ค.ศ. 1994 Saavedra ได้ศึกษาเด็กที่เลี้ยงดูโดยให้ดื่มนมที่มีโพรไบโอติค คือ *B. bifidus* และ *S. thermophilus* พบว่าจากสถิติของโรคท้องร่วงที่เกิดกับเด็กที่ได้รับโพรไบโอติคมีร้อยละ 7 ซึ่งน้อยกว่าเด็กกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับโพรไบโอติคที่มีอาการท้องร่วงสูงถึงร้อยละ 31 มีการประเมินผลของโพรไบโอติคในการป้องกันท้องร่วงแบบเฉียบพลัน พบว่าการใช้โพรไบโอติคลดอัตราการเสี่ยงการเกิดท้องร่วงในรายที่มีการติดเชื้อที่ได้รับยาปฏิชีวนะลงได้

จากการศึกษาในประเทศบราซิล Correa *et al*. (2005) พบว่าการให้นมที่ทำในรูปโพรไบโอติคที่มีเชื้อ *B. lactis* และ *S. thermophilus* ร่วมไปกับการป้องกันโรคทางระบบทางเดินอาหาร พบว่าเด็กที่ได้รับโพรไบโอติคร่วมจะลดอัตราการเกิดท้องร่วงลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ได้รับยาหลอก

2.7 สารอาหารและปัจจัยในการเจริญของจุลินทรีย์

2.7.1 สารอาหารที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์

ในสภาวะการเจริญของจุลินทรีย์ จุลินทรีย์ต้องการพลังงานที่จำเป็นต่อการสร้างองค์ประกอบสำคัญต่างๆ ของเซลล์ ในการดำรงชีวิต 2 ประเภท ได้แก่ แหล่งพลังงานและแหล่งของสารเคมี โดยเรียกรวมกันว่าสารอาหาร (nutrients) อย่างไรก็ตามการเจริญของจุลินทรีย์นั้นยังต้องมีองค์ประกอบอื่นๆ ที่เหมาะสมหลายอย่างเช่น ปริมาณน้ำ pH อุณหภูมิ รีดักชั่น ออกซิเดชั่นโพเทนเชียล (reduction/ oxidation potential) ปริมาณออกซิเจน จุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ และสารยับยั้ง สำหรับสารอาหารตามธรรมชาติที่จุลินทรีย์นำไปใช้ประโยชน์ได้ เช่น น้ำนม หรือการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในห้องปฏิบัติการ โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ (culture medium) (ธีรพร ถงบังเกิด, 2546)

สำหรับข้อมูลที่เกี่ยวกับสารอาหารที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ จะทราบได้จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเซลล์จุลินทรีย์ โดยพบว่าในเซลล์จุลินทรีย์มีชีวิต จะมีน้ำเป็นองค์ประกอบประมาณร้อยละ 70-90 ซึ่งน้ำจะเป็นองค์ประกอบของไซโตพลาสซึม (cytoplasm) และเกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาเคมีที่สำคัญภายในเซลล์ ดังจะเห็นได้ว่าน้ำเป็นสารอาหารที่จำเป็น ส่วนองค์ประกอบที่เหลือประมาณร้อยละ 10-30 ของเซลล์เรียกว่า น้ำหนักเซลล์แห้ง (dry weight) ซึ่งประกอบด้วยธาตุและสารเคมีชนิดต่างๆ ที่สำคัญและจำเป็นต่อโครงสร้างและการทำงานของเซลล์ โดยพบว่าธาตุคาร์บอนเป็นธาตุที่มีมากที่สุดและธาตุออกซิเจน ไนโตรเจน ไฮโดรเจนและธาตุอื่นๆ มีปริมาณรองลงมาตามลำดับ แสดงดังตาราง 2.3

ตาราง 2.3 ปริมาณของธาตุต่างๆ ที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์จุลินทรีย์

ธาตุ	ร้อยละ (โดยน้ำหนักแห้ง)
คาร์บอน	50
ออกซิเจน	20
ไนโตรเจน	14
ไฮโดรเจน	8
ฟอสฟอรัส	3
กำมะถัน	1
โปตัสเซียม	1
โซเดียม	1
แคลเซียม	0.5
แมกนีเซียม	0.5
คลอรีน	0.5
เหล็ก	0.2
โบรอน โคบอลต์ แมงกานีส ทองแดง สังกะสี โมลิบดีนัม วานาเดียม นิกเกิล	รวมกัน 0.3

Garbutt (1997)

จากตารางแสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์ต้องการธาตุแต่ละชนิดมากน้องแตกต่างกัน ตั้งแต่ธาตุคาร์บอนลงมาจนถึงธาตุเหล็ก พบว่าจุลินทรีย์ต้องการในปริมาณสูง ซึ่งธาตุเหล่านี้เป็นองค์ประกอบของโครงสร้างสำคัญของเซลล์ รวมไปถึงเอนไซม์และการสร้างเมตาโบไลต์ที่สำคัญอีกด้วย ส่วนธาตุอื่นๆที่จุลินทรีย์ต้องการในปริมาณน้อย แต่มีความสำคัญต่อการดำเนินกิจกรรมของเซลล์ให้เป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ ได้แก่ สังกะสี ทองแดง แมงกานีส โมลิบดีนัม และนิเกิล เป็นองค์ประกอบของเนไซม์ เช่น โคเฟกเตอร์ (cofactor) หรือช่วยให้เอ็นไซม์ทำงานได้ดีขึ้น

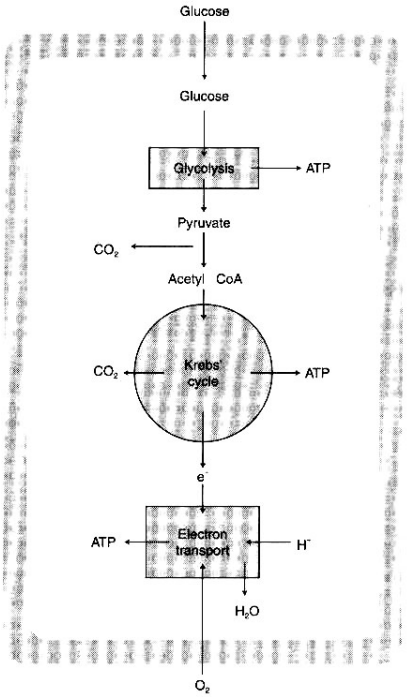
เซลล์ของจุลินทรีย์นั้นพบว่ามีความซับซ้อน ซึ่งประกอบด้วยโมเลกุลของสารอินทรีย์ชนิดต่างๆ อิออนและน้ำ ทำให้เกิดเป็นโครงสร้างของเซลล์และไซโตพลาสซึม เอนไซม์และสารตั้งต้นที่จำเป็นต่อการทำงานของเซลล์ รวมถึงสารอาหารที่เก็บไว้ในรูปที่ไม่ละลายน้ำ บทบาทของธาตุต่างๆ ต่อจุลินทรีย์แสดงดังตาราง 2.4

ตาราง 2.4 บทบาทของธาตุชนิดต่างๆต่อเชื้อจุลินทรีย์

ธาตุ	บทบาทหน้าที่
ไฮโดรเจน	องค์ประกอบของน้ำและโมเลกุลของสารอินทรีย์ภายในเซลล์
ออกซิเจน	องค์ประกอบของน้ำและโมเลกุลของสารอินทรีย์ภายในเซลล์ เป็นตัวรับอิเล็คตรอนตัวสุดท้ายในการหายใจแบบใช้ออกซิเจน
คาร์บอน	องค์ประกอบของสารอินทรีย์ภายในเซลล์
ไนโตรเจน	องค์ประกอบของกรดอะมิโนและโปรตีน รวมทั้งเบสในนิวคลีโอไทด์
กำมะถัน	พบในกรดอะมิโนซีสทีนและเมทไธโอนีน รวมทั้งโคเอนไซม์บางชนิด
ฟอสฟอรัส	พบใน DNA และ RNA รวมทั้งฟอสโฟไลปิดและโคเอนไซม์บางชนิด
โปตัสเซียม	มีบทบาทในการคงแรงดันออสโมติกภายในเซลล์ และเป็นแฟกเตอร์ของเอนไซม์บางชนิด
แมกนีเซียม	องค์ประกอบของเซลล์เมมเบรน ไรโบโซม DNA RNA และเป็นโคแฟกเตอร์ของเอนไซม์หลายชนิด
แคลเซียม	ทำให้ผนังเซลล์แข็งแรง เป็นองค์ประกอบของเอนโดสปอร์ของแบคทีเรีย
เหล็ก	องค์ประกอบของไซโตโครมและเป็นโคแฟกเตอร์ของเอ็นไซม์บางชนิด
Trace elements	องค์ประกอบของระบบเอนไซม์และโคเอนไซม์

Garbutt (1997)

ธาตุคาร์บอนจากสารอินทรีย์จะถูกนำไปใช้สังเคราะห์องค์ประกอบของเซลล์และเป็นแหล่งพลังงานสำคัญในการเจริญ โดยจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความสามารถในการนำธาตุคาร์บอนจากสารอินทรีย์ไปใช้ได้แตกต่างกันออกไป แบคทีเรีย ยีสต์และรา ส่วนใหญ่มักใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนหลัก โดยกลูโคสจะถูกนำไปใช้ก่อนในกรณีที่มีแหล่งคาร์บอนอื่นๆ อยู่ด้วย เนื่องจากกลูโคสจะถูกดูดซึมได้ง่ายและย่อยสลายให้พลังงานในรูปของสารอะดีโนซีนไตรฟอสเฟต (adenosine triphosphate, ATP) จึงมักนิยมใช้กลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อและในกระบวนการหมักทางอุตสาหกรรม ภาพประกอบ 2.8 แสดงกระบวณการสร้างพลังงานจากกลูโคสในสภาวะที่มีออกซิเจน

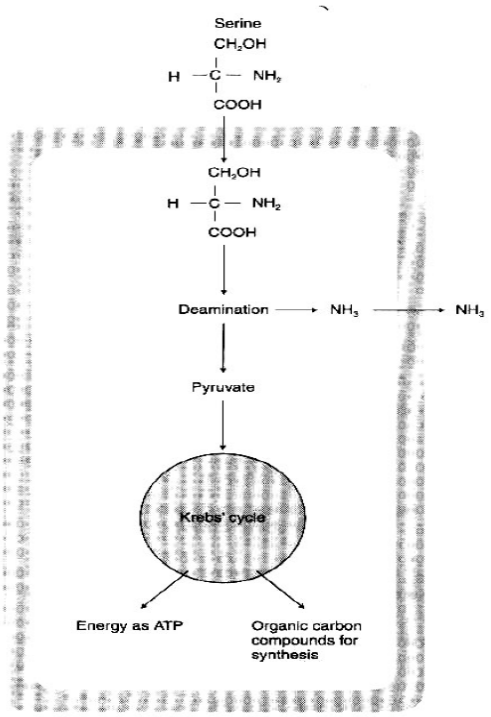


ภาพประกอบ 2.8 กระบวนการสร้างพลังงานโดยการใช้กลูโคสเป็นสารเริ่มต้น

Garbutt (1997)

นอกจากนั้นกลูโคสยังมีบทบาทในวงจรเครบส์ (Krebs'cycle) ซึ่งทำให้เกิดสารประกอบคาร์บอนอื่นๆ ที่เซลล์จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ในกิจกรรมต่างๆ จุลินทรีย์หลายชนิดสามารถใช้น้ำตาลชนิดอื่นๆ เป็นแหล่งคาร์บอนได้นอกเหนือจากกลูโคส โดยแต่ละชนิดจะมีความสามารถในการนำน้ำตาลและ sugar alcohols ไปใช้ได้แตกต่างกัน ซึ่งสามารถนำคุณสมบัตินี้ไปใช้ในการพิสูจน์เอกลักษณ์ของจุลินทรีย์ได้

จุลินทรีย์ส่วนใหญ่สามารถใช้กรดอะมิโนเป็นแหล่งคาร์บอนได้ ในการใช้กรดอะมิโนเป็นแหล่งไนโตรเจนจะเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงของสารที่มีปริมาณเฉพาะ แต่ผลสุดท้ายแล้วจะเหมือนกับการใช้กลูโคส เช่นได้พลังงานในกระบวนการสังเคราะห์สารต่างๆ และได้แหล่งคาร์บอนในการสังเคราะห์องค์ประกอบของเซลล์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นอาจไม่ต้องใส่สารคาร์โบไฮเดรต แต่อาจใช้กรดอะมิโนหรือโปรตีนที่ถูกย่อยสลายทำให้ได้สารที่มีโมเลกุลเล็กลงการใช้กรดอะมิโนในลักษณะนี้เกี่ยวข้องกับการดึงหมู่อะมิโนออกจากกรดอะมิโน (deamination) ทำให้ได้กรดคีโต (keto acid) ซึ่งสามารถเข้าสู่วงจรเครบส์และได้พลังงานและสารประกอบคาร์บอน แอมโมเนียที่เกิดจาก deamination เป็นของเสียและจะถูกปล่อยจากเซลล์ ภาพประกอบ 2.9 แสดงการใช้กรดอะมิโนเซรีน (serine) เป็นแหล่งคาร์บอน



ภาพประกอบ 2.9 แสดงการใช้กรดอะมิโนเซรีน (serine) เป็นแหล่งคาร์บอน Garbutt (1997)

จุลินทรีย์บางชนิดสามารถใช้สารอินทรีย์หลายประเภทเป็นแหล่งของคาร์บอนได้ เช่น *Pseudomonas cepacia* สามารถใช้สารอินทรีย์ต่างๆ ประมาณ 90 ชนิดเป็นแหล่งคาร์บอน นอกจากนั้นอาจใช้สตาร์ช (starch) หรือสารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่เป็นแหล่งของคาร์บอนได้ถ้าจุลินทรีย์นั้นสามารถสร้างเอนไซม์ย่อยสลายสารเหล่านั้นได้

1. แหล่งของไนโตรเจน

จุลินทรีย์สามารถใช้สารหลายชนิดเป็นแหล่งไนโตรเจน ซึ่งจะนำไปใช้ในการสังเคราะห์โปรตีน DNA RNA และสารอื่นๆ ที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ จุลินทรีย์ส่วนใหญ่สามารถใช้กรดอะมิโน รวมทั้งแอมโมเนียม และส่วนน้อยสามารถใช้ไนเตรทหรือไนไตรท์ พวกเชื้อราส่วนใหญ่พบว่ามีความสามารถในการใช้ไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจน ส่วนพวกที่สามารถใช้ไนโตรเจนจากบรรยากาศพบว่ามีน้อยมาก จุลินทรีย์พวกนี้ได้แก่ *Rhizobium* spp. และ *Azotobactor* spp.

2. แหล่งของกำมะถัน

โดยทั่วไปจุลินทรีย์จะใช้กำมะถันในรูปอิออนซัลเฟต (SO_4^{2-}) ในสารละลาย แต่ในบางครั้งอาจใช้สารอนินทรีย์อื่นๆ เป็นแหล่งของซัลเฟอร์ได้ เช่น ซัลไฟต์ (SO_3^{2-}) นอกจากนั้นอาจได้

จากกรดอะมิโนที่มีกำมะถันเป็นองค์ประกอบ เช่น ซีสเตอีน (cysteine) และเมทไธโอนีน (methionine)

3. แหล่งของฟอสฟอรัส

แหล่งของฟอสฟอรัสของจุลินทรีย์มักอยู่ในรูปอิออนของสารอินทรีย์ เช่น ไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($H_2PO^-_4$) และจุลินทรีย์ส่วนมากสามารถใช้ฟอสเฟตที่เป็นองค์ประกอบของสารอินทรีย์ที่มีฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบได้เช่น นิวคลีโอไทด์ (nucleotides)

4. ธาตุอื่น ๆ

จุลินทรีย์จะได้รับธาตุชนิดอื่นๆ จากสิ่งแวดล้อมที่อยู่รอบๆ เช่น โปตัสเซียมในรูป K^+ และแมกนีเซียมในรูป Mg^{2+} เป็นต้น แบคทีเรียและเชื้อราส่วนใหญ่จะสามารถสร้างพลังงานและสังเคราะห์องค์ประกอบต่างๆ ของเซลล์ โดยใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนพื้นฐาน รวมทั้งสารอาหารอื่น ๆ ในรูปสารอนินทรีย์ ตัวอย่างเช่น *E. coli* สามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีองค์ประกอบต่างๆ ได้แก่ น้ำ กลูโคส แอมโมเนียมคลอไรด์ (ammonium chloride) โปตัสเซียมฟอสเฟต (potassium phosphate) แมกนีเซียมซัลเฟต (magnesium sulfate) เฟอร์รัสซัลเฟต (ferrous sulfate) แคลเซียมคลอไรด์ (calcium chloride) และธาตุอาหารอื่นๆ ในปริมาณเล็กน้อย ส่วนเชื้อรา *Aspergillus niger* สามารถเจริญได้ถ้าเติมเมธานอลเป็นแหล่งคาร์บอนและไนเตรทเป็นแหล่งของไนโตรเจน

ในขณะเดียวกันจุลินทรีย์หลายชนิดจะไม่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีองค์ประกอบเพียงเท่านี้ เนื่องจากต้องการสารอินทรีย์ชนิดอื่นๆ ที่จำเป็นในการเจริญ สารอินทรีย์ที่เซลล์ของจุลินทรีย์ไม่สามารถสร้างได้เองและต้องการจากแหล่งภายนอกเรียกว่า growth factors สามารถแบ่งได้เป็น 3 ประเภท ได้แก่

4.1) กรดอะมิโน ซึ่งใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์โปรตีนและเอนไซม์

4.2) พิวรีน (purines) และไพริมิดีน (pyrimidines) ซึ่งใช้ในการสังเคราะห์กรดนิวคลิอิก DNA และ RNA

4.3) วิตามิน (vitamins) จะถูกเปลี่ยนไปเป็นโคเอนไซม์ (coenzymes) ซึ่งเป็นสารโมเลกุลขนาดเล็กที่จำเป็นต่อการทำงานของเอนไซม์บางชนิด

จุลินทรีย์บางชนิดที่ต้องการวิตามินหรือกรดอะมิโนที่เฉพาะสามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณของสารเหล่านี้ในอาหารได้เรียกว่าวิธี bioassays ตัวอย่างเช่น *Lactobacillus plantarum* สามารถใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณไบโอตินในตัวอย่างยีสต์สกัดได้ วิธีนี้มีประโยชน์สำหรับการวิเคราะห์อาหารที่มีสารดังกล่าวในปริมาณน้อย

อาหารของมนุษย์ประกอบด้วยสารอาหารต่างๆ มากมายที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ได้ เช่น น้ำนม เนื้อสัตว์ เนื้อปลา ซึ่งแม้แต่จุลินทรีย์ชนิด fastidious ก็สามารถนำไปใช้ในการ

เจริญได้ เช่น ในพวก *Leuconostoc* spp. และ *Lactobacillus* spp. เป็นต้น ตาราง 2.5 แสดงสารอาหารชนิดต่างๆ ในน้ำนมที่จุลินทรีย์ชนิดต่างๆสามารถนำไปใช้ได้

ตาราง 2.5 สารอาหารชนิดต่างๆ ในน้ำนมที่จุลินทรีย์ชนิดต่างสามารถนำไปใช้ได้

สารอาหาร	จุลินทรีย์ที่นำไปใช้ประโยชน์
แหล่งคาร์บอน	
กลูโคส	โดยจุลินทรีย์ทุกชนิด
กาแลกโตส	โดยจุลินทรีย์บางชนิด
แลกโตส	โดยแบคทีเรียแลกติกและโคลิฟอร์ม
ไขมัน	โดยจุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์ไลเปส เช่น *Pseudomonas fluorescens*
โปรตีน	โดยจุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์โปรตีเนส เช่น *P. fluorescens*
กรดอะมิโน	โดยจุลินทรีย์ทุกชนิด
ซิเตรท	โดยจุลินทรีย์บางชนิด เช่น *Klebsiella* spp.
แหล่งไนโตรเจน	
กรดอะมิโน	โดยจุลินทรีย์ทุกชนิด และจำเป็นในบางชนิด
ยูเรีย	โดยจุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์ยูรีเอส เช่น *Proteus*
โปรตีน	โดยจุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์โปรตีเนส เช่น *P. fluorescens*
เกลือแร่	โดยจุลินทรีย์ทุกชนิดและจำเป็นในทุกชนิด
trace elements	โดยจุลินทรีย์ทุกชนิดและจำเป็นในทุกชนิด
วิตามิน	โดยจุลินทรีย์ทุกชนิดและจำเป็นในบางชนิด
พิวรีนและไพริมิดีน	โดยจุลินทรีย์ทุกชนิดและจำเป็นในบางชนิด

Garbutt (1997)

การเจริญของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารของมนุษย์ นอกจากจะขึ้นกับปริมาณของสารอาหารแล้วยังขึ้นกับปัจจัยอื่นๆ เช่น ปริมาณน้ำ หรือค่า pH ตัวอย่างการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่จำกัดด้วยสารอาหาร เช่น ในข้าวเจ้าสุกที่อาจมีเฉพาะจุลินทรีย์ชนิดที่สร้างเอนไซม์อะมัยเลสที่สามารถย่อยสลายสตาร์ชไปเป็นน้ำตาลที่จุลินทรีย์นำไปใช้ประโยชน์ได้

2.7.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์

1. ชนิดและส่วนประกอบของอาหาร
2. วอเตอร์ แอคติวิตี้ (water activity : a_w)

ผลของ a_w ต่อจุลินทรีย์ จะแตกต่างกันออกไปตามชนิดของจุลินทรีย์ ซึ่งจะมีช่วง a_w ที่จุลินทรีย์สามารถเจริญได้ โดยทั่วไปจุลินทรีย์ส่วนใหญ่มีค่า a_w ที่เหมาะสมต่อการเจริญเข้าใกล้ 1.0 ซึ่งนอกจากมีปริมาณน้ำที่จุลินทรีย์นำไปใช้ได้แล้ว ยังต้องมีสารอาหารที่พอเพียงต่อการเจริญ โดยปกติแบคทีเรียจะทนต่อการเปลี่ยนแปลงของ a_w ที่ลดลงได้ต่ำที่สุด ในขณะที่ยีสต์และเชื้อราทนได้มากกว่า ค่า a_w ต่ำที่สุดที่จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญได้คือต่ำกว่า 0.61 โดยที่ค่านี้การเสื่อมเสียของอาหาร มักมีสาเหตุจากปฏิกิริยาเคมีมากกว่าจากจุลินทรีย์

3. อุณหภูมิ

แบคทีเรียแต่ละประเภท จะต้องการอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตต่างกัน แบ่งได้เป็น 3 ประเภท คือ

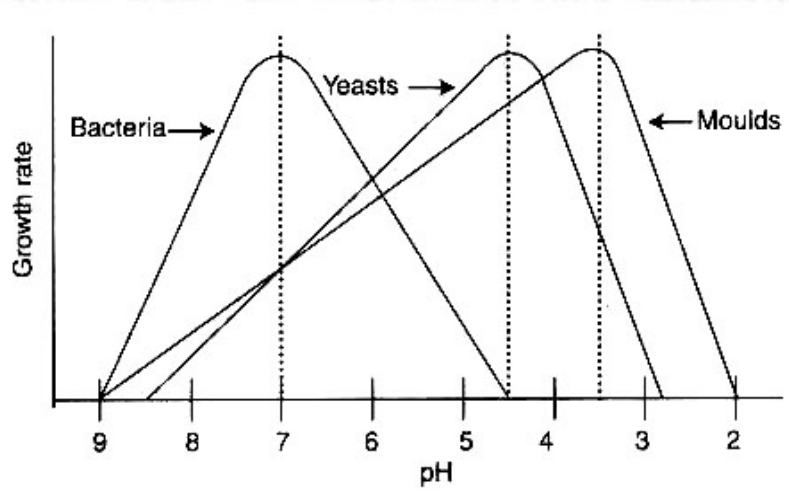
3.1) Psychrophile คือ แบคทีเรียที่ชอบความเย็นและการเจริญได้ดีที่อุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส (10-20 องศาเซลเซียส) ทำให้อาหารในตู้เย็นเน่าเสีย

3.2) Mesophile คือ แบคทีเรียที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 35 องศาเซลเซียส (20-45 องศาเซลเซียส)

3.3) Thermophile คือ แบคทีเรียที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส (50-60 องศาเซลเซียส)

4. ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของอาหาร

จุลินทรีย์แต่ละชนิดจะมีช่วงของ pH ที่เหมาะสมและเฉพาะเช่น *Saccharomyces cerevisiae* มสามารถเจริญได้ในช่วง pH ในช่วง 2.35 - 8.60 แต่ค่า pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญคือที่ 4.5 ผลของ pH ต่ออัตราการเจริญของจุลินทรีย์ต่างๆ แสดงดังภาพประกอบ 2.10



ภาพประกอบ 2.10 ผลของ pH ต่ออัตราการเจริญของจุลินทรีย์ต่างๆ

Garbutt (1997)

จากภาพจะเห็นว่าแบคทีเรียมี pH ต่ำสุดที่สามารถเจริญได้ (minimum pH) ที่ประมาณ 4.0-4.5 และมีช่วง pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญ (optimum pH) ที่ 6.8-7.2 และช่วง pHสูงสุดที่เจริญได้ (maximum pH) ที่ 8.0-9.0 ยกเว้นแบคทีเรียบางชนิดเช่น *Lactobacillus* spp. ที่เจริญในช่วง pH 3.8-7.2 และมี optimum pH ที่ 5.0 และ *Acinetobacter* spp. เจริญที่ pH ระหว่าง 2.8-4.3 และมีค่า pH ที่เหมาะสมต่อการเจริญที่ 3.0

5. ปริมาณออกซิเจน (O_2)

แบคทีเรียแต่ละประเภทต้องการปริมาณออกซิเจนที่แตกต่างกัน ซึ่งสามารถแบ่งกลุ่มแบคทีเรียตามความต้องการออกซิเจนในการเจริญออกเป็น 4 กลุ่มคือ

5.1) Aerobic Bacteria : ต้องการออกซิเจนในการเจริญ

5.2) Anaerobic Bacteria : ไม้องการออกซิเจนในการเจริญ

5.3) Facuttatively Anaerobic Bacteria : มีหรือไม่มีออกซิเจนก็สามารถเจริญได้ แต่ถ้าไม่มีออกซิเจนจะเจริญได้ดีกว่า

5.4) Microaerophilic Bacteria : ต้องการปริมาณออกซิเจนเพียงเล็กเล็กน้อยในการเจริญ

6. สารยับยั้งการเจริญ

6.1) แบคทีเรียสร้างขึ้นเองระหว่างการเจริญ

6.2) สารยับยั้งที่มีอยู่ในธรรมชาติ เช่น Lysozyme ทำหน้าที่ย่อยผนังเซลล์ของแบคทีเรีย
แกรมบวก พบในไข่ขาว, Lactenins พบในนมมีอยู่ 2 ชนิดคือ Lactenin (agglutinin) พบในน้ำนมเหลือง (Colostrum) และ Lactenin 2 (lactoperooxidase) พบใน normal milk

6.3) เติมลงในอาหารเพื่อป้องกันการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสีย เช่น propionate, sorbate

2.8 กระบวนการแยก (separation process)

กระบวณการแยกสารเป็นการเตรียมตัวอย่างให้บริสุทธิ์โดยการแยกสารที่จะวิเคราะห์ (analyte) ออกจากสารรบกวน (interference) หรือการแยกองค์ประกอบของสารตัวอย่างออกจากกันเพื่อช่วยให้สามารถวิเคราะห์องค์ประกอบแต่ละตัวได้ โดยกระบวนการแยกนั้นมีความสำคัญต่อการเตรียมตัวอย่างตลอดการวิเคราะห์คุณภาพ และการทำปริมาณวิเคราะห์

ตาราง 2.6 หลักการและกระบวนการแยก

วิธีการแยก	หลักการ
การตกผลึกและตกตะกอน (crystallization and precipitation)	อาศัยการละลายที่แตกต่างกัน
การกลั่น (distillation)	อาศัยการระเหยที่แตกต่างกันโดยมีจุดเดือดที่ต่างกัน
การสกัด (extraction)	การกระจายตัวระหว่างเฟสสองเฟสที่แตกต่างกัน
เทคนิคโครมาโทกราฟี (chromatography)	
- คอลัมส์โครมาโทกราฟี	การกระจายตัวของสารระหว่างเฟสในคอลัมส์
- โครมาโทกราฟีกระดาษ	การกระจายตัวของสารระหว่างเฟสบนกระดาษ
- ทินเลเยอร์โครมาโทกราฟี	การกระจายตัวของสารระหว่างเฟสบนแผ่น
- แก๊สโครมาโทกราฟี	การกระจายตัวของสารระหว่างเฟสที่เป็นแก๊สกับเฟสที่เป็นของเหลวหรือของแข็ง
- โครมาโทกราฟีเหลวสมรรถนะสูง	การกระจายตัวของสารระหว่างเฟสที่บรรจุในคอลัมส์กับเฟสของเหลว
- ไอออนโครมาโทกราฟี	การแลกเปลี่ยนประจุของไอออน

วรรณา กาญนมยูร, (2544)

การแยกจะเกี่ยวข้องกับการกระจายตัวของสารระหว่างสองเฟส เช่นระหว่างเฟสที่เป็นของเหลวและเฟสที่เป็นแก๊ส (liquid-gas phase) เฟสของแข็งและเฟสของเหลว (solid-liquid phase) โดยอาศัยการให้เกิดภาวะสมดุลของการกระจายตัว ภาวะที่ใช้ในการควบคุมให้เกิดการแยก เช่น อุณหภูมิ ตัวทำละลาย และความเป็นกรด-เบส เป็นต้น สำหรับการสกัดนั้นถือได้ว่า มีความสำคัญในอุตสาหกรรมอาหารอย่างมาก ซึ่งจะถูกนำไปใช้ในกระบวนการแปรรูปอาหาร (food processing) เพื่อผลิตอาหาร รวมทั้งวัตถุเจือปนอาหาร (food additive) เช่น น้ำมันพืช (vegetable oil) น้ำกะทิ กาแฟ (coffee) ชา (tea) สารให้กลิ่นรส (flavoring agent) น้ำมันหอมระเหย (essential oil) สีผสมอาหาร (coloring agent)

สำหรับงานวิจัยนี้จะทำการแยกสารสำคัญที่เกี่ยวข้องในการสกัดสาร โดยใช้หลักการการกระจายตัวระหว่างเฟสสองเฟสที่แตกต่างกัน หรือการสกัดด้วยตัวทำละลาย และใช้หลักการการกระจายตัวของสารระหว่างเฟสที่บรรจุในคอลัมส์กับเฟสของเหลว หรือการใช้เครื่องวิเคราะห์โครมาโทกราฟีเหลวสมรรถนะสูง สำหรับการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของการสกัดสาร

2.8.1 การสกัดด้วยตัวทำละลาย

การสกัดด้วยตัวทำละลาย เป็นวิธีทำสารให้บริสุทธิ์ หรือเป็นวิธีแยกสารออกจากกันวิธีหนึ่งโดยใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสม ซึ่งเป็นเทคนิคที่มีประโยชน์มากในเคมีอินทรีย์ อาศัยสมบัติของการละลายของสารแต่ละชนิดสารที่ต้องการสกัดต้องละลายอยู่ในตัวทำละลาย เช่น การแยกสารออกจากของผสมที่ได้จากการสังเคราะห์ และแยกสารออกจากของผสมที่เกิดขึ้นในธรรมชาติ ทั้งในพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ การสกัดด้วยตัวทำละลายมีหลายวิธี สำหรับในการทดลองนี้จะเป็นวิธีการสกัดของเหลวด้วยของเหลว (liquid-liquid extraction) โดยการแยกสารอนินทรีย์ออกจากสารอินทรีย์ ซึ่งนิยมให้ของผสมละลายหรือแขวนลอยในน้ำ เรียกว่า ชั้นน้ำ (aqueous layer) และสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ (organic solvent) ที่ไม่ละลายน้ำ แยกชั้นอยู่เรียกว่าชั้น สารอินทรีย์ (organic layer) ตัวทำละลายนี้ ได้แก่ อีเทอร์ (ether) เมทิลลีนคลอไรด์ (methylene chloride) คลอโรฟอร์ม (chloroform) คาร์บอนเตตราคลอไรด์ (carbon tetrachloride) เบนซีน (benzene) และเอ็นเฮกเซน (n–hexane) ในการสกัดวิธีนี้นิยมทำในกรวยแยก (separatory funnel) โดยของผสมจะแยกชั้นอยู่ตามความสามารถในการละลายคือ สารอนินทรีย์ที่ละลายน้ำจะแตกตัวเป็นไอออนอยู่ในชั้นน้ำ ในขณะที่สารอินทรีย์จะละลายอยู่ในชั้นสารอินทรีย์

หลักการสกัดสาร เป็นการเติมตัวทำละลายที่เหมาะสมลงในสารที่เราต้องการสกัดจากนั้นทำการเขย่าแรงๆ หรือนำไปต้ม เพื่อให้สารที่เราต้องการจะสกัดละลายในตัวทำละลายที่เราเลือกไว้ การสกัดในลักษณะนี้จะเป็นการใช้ตัวทำละลายหมุนเวียนผ่านสารที่ต้องการสกัดหลายๆ ครั้งต่อเนื่องกันไปจนกระทั่งสกัดสารออกมาได้อย่างเพียงพอ

สำหรับสารที่เราสกัดได้นั้นยังเป็นสารละลายอยู่ ถ้าเราต้องการทำให้บริสุทธิ์เราควรจะนำสารที่ได้ไปแยกตัวทำละลายออกมาก่อน ทั้งนี้อาจจะนำไประเหย หรือนำไปกลั่นต่อไป เช่น การสกัดน้ำขิงจากขิง การสกัดคลอโรฟิลล์ของใบไม้ เป็นต้น

2.8.2 โครมาโทรกราฟี (chromatography)

การวิเคราะห์โครมาโทรกราฟี อาศัยสมบัติ 2 ประการคือ สารต่างชนิดกันมีความสามารถการละลายในตัวทำละลายได้ต่างกัน สารต่างชนิดกันมีความสามารถในการถูกดูดซับด้วยตัวดูดซับได้ต่างกัน โครมาโทกราฟี เป็นการแยกสารผสมที่มีสี หรือสารที่สามารถทำให้เกิดสีได้ วิธีการนี้จะมีเฟส 2 เฟส คือ เฟสอยู่กับที่ (stationary phase) กับ เฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) โดยที่สารในเฟสอยู่กับที่จะทำหน้าที่ดูดซับ (adsorb) สารผสมด้วยแรงไฟฟ้าสถิตย์ สารที่ใช้ทำเฟสอยู่กับที่มีลักษณะเป็นผงละเอียดมีพื้นที่ผิวมาก เช่น อลูมินา (alumina, Al_2O_3) ซิลิกาเจล (silica gel, SiO_2) หรืออาจจะใช้วัสดุที่สามารถดูดซับได้ดี เช่น ชอล์ค กระดาษ เป็นต้น ซึ่งสารที่ทำหน้าที่ดูดซับในเฟสอยู่กับที่ เช่น น้ำ ส่วนเฟสเคลื่อนที่จะทำหน้าที่ชะ (elute) เอาสารผสมออกจากเฟสอยู่กับที่ให้เคลื่อนที่ไป

ด้วย การจะเคลื่อนที่ได้มากหรือน้อยขึ้นอยู่กับแรงดึงดูดระหว่างสารในสารผสมกับตัวดูดซับในเฟสที่อยู่กับที่ ดังนั้นสารที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่จึงได้แก่ พวกตัวทำละลาย เช่น ปิโตรเลียมอีเทอร์ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม เบนซีน เป็นต้น การทำโครมาโทกราฟีสามารถทำได้หลายวิธีจะแตกต่างกันที่เฟสอยู่กับที่ว่า อยู่ในลักษณะใด ตัวอย่างเช่น

โครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ (column chromatography) ทำได้โดยการบรรจุสารที่เป็นเฟสอยู่กับที่ เช่น อลูมินาหรือซิลิกาเจลไว้ในคอลัมน์ แล้วเทสารผสมที่เป็นสารละลายของเหลว ลงสู่คอลัมน์ สารผสมจะผ่านคอลัมน์ช้าๆ โดยตัวทำละลายซึ่งเป็นเฟสเคลื่อนที่เป็นผู้พาไป สารในเฟสอยู่กับที่จะดูดซับสารในสารผสมไว้ส่วนประกอบใดของสารผสมที่ถูกดูดซับได้ดีจะเคลื่อนที่ช้า ส่วนที่ถูกดูดซับไม่ดีจะเคลื่อนที่ได้เร็ว ทำให้สารผสมแยกจากกันได้

โครมาโทกราฟีแบบชั้นบาง (thin layer chromatography) เป็นโครมาโทกราฟีแบบระนาบ(plane chromatography) โดยทำเฟสอยู่กับที่ให้มีลักษณะเป็นครีมข้น แล้วเคลือบบนแผ่นกระจกให้ความหนาของการเคลือบเท่ากันตลอดแล้วนำไปอบให้แห้ง หยดสารละลายของสารผสมที่ต้องการแยกบนแผ่นที่เคลือบเฟสอยู่กับที่นี้ไว้ แล้วนำไปจุ่มในภาชนะที่บรรจุตัวทำละลายที่เป็นเฟสเคลื่อนที่ไว้ โดยให้ระดับของตัวทำละลายต้องอยู่ต่ำกว่าระดับของจุดที่หยดสารผสมไว้ ตัวทำละลายจะซึมไปตามเฟสอยู่กับที่ด้วยการซึมตามรูเล็กเหมือนกับน้ำที่ซึมไปในกระดาษหรือผ้า เมื่อซึมถึงจุดที่หยดสารผสมไว้ ตัวทำละลายจะชะเอาองค์ประกอบในสารผสมนั้นไปด้วยอัตราเร็วที่แตกต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสภาพมีขั้ว (polarity) ของสารที่เป็นองค์ประกอบกับสารที่เป็นตัวทำละลาย ถ้าตัวทำละลายเป็นโมเลกุลมีขั้ว (polar molecules) จะชะเอาสารในสารผสมที่เป็นสารมีขั้วไปด้วยได้เร็ว ส่วนสารที่ไม่มีขั้วในสารผสมจะถูกชะพาไปได้ช้า สารผสมก็จะแยกออกจากกัน

โครมาโทกราฟีแบบกระดาษ (paper chromatography) เป็นโครมาโทกราฟีแบบระนาบอีกแบบหนึ่ง มีวิธีการและหลักการเหมือนกับโครมาโทกราฟีแบบชั้นบาง แตกต่างกันที่เฟสอยู่กับที่ใช้กระดาษที่สามารถดูดซับได้แทนกระจกที่เคลือบด้วยซิลิกาเจล

โครมาโทกราฟีแบบแก๊ส (gas chromatography, GC) ใช้สำหรับแยกสารผสมที่เป็นแก๊ส โดยมีเฟสเคลื่อนที่เป็นแก๊สเช่นกันแต่ไม่ทำปฏิกิริยากับสารผสม เช่น ฮีเลียม จะทำหน้าที่เป็นตัวพา (carier) สารผสม ส่วนเฟสอยู่กับที่อาจจะเป็นของแข็งหรือของเหลวที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์ เมื่อทั้งตัวพาและสารผสมเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์นี้ เฟสอยู่กับที่ในคอลัมน์จะดึงดูดด้วยแรงดึงดูดไฟฟ้าสถิตย์ตามความเป็นขั้วของสารกับโมเลกุลในสารผสมทำให้องค์ประกอบในสารผสมถูกพาไปด้วยอัตราเร็วที่ต่างกัน สารผสมก็จะแยกออกจากกัน

ปัจจุบันเทคนิคของโครมาโทกราฟีได้ถูกพัฒนาให้สามารถทำงานได้รวดเร็ว และใช้แยกสารตัวอย่างได้ครั้งละหลายสารตัวอย่าง เช่น Gas - Liquid Chromatography (GLC), High Performance Liquid Chromatography (HPLC) เป็นต้น

โครมาโทกราฟีเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography, HPLC) อาศัยหลักการพื้นฐานเหมือนแก๊สโครมาโทกราฟี แต่จะต่างกันคือ ระบบโครมาโทกราฟีเหลว เฟสคงที่จะมีขนาดสม่ำเสมอและเล็กมาก ส่วนประกอบที่สำคัญ ประกอบไปด้วย ปั๊ม ระบบนำเข้าตัวอย่าง คอลัมส์ เครื่องตรวจวัดสัญญาณ และระบบบันทึกข้อมูล โครมาโทกราฟีเหลว สามารถใช้ในการวิเคราะห์สารได้หลายชนิด โดยที่ไม่มีข้อจำกัดของการระเหยได้ ดังนั้นจึงมีการใช้งานกันอย่างแพร่หลาย ข้อดีของวิธีนี้ สามารถเลือกเครื่องตรวจวัดสัญญาณได้ทุกชนิด โดยให้ความแม่นยำต่อสัญญาณและเวลารีเทนชันคงที่ (วรรณา กาญนมยูร, 2544)

จากข้อมูลทั้งหมดจะเห็นได้ว่า การวิเคราะห์สารโดยใช้โครมาโทกราฟีนั้น เหมาะสำหรับการแยกสารที่มีปริมาณน้อยได้ สารที่มีสี และไม่มีสี รวมถึงสามารถใช้ได้ทั้งปริมาณวิเคราะห์ (บอกได้ว่าสารที่แยกออกมา มีปริมาณเท่าใด) และคุณภาพวิเคราะห์ (บอกได้ว่าสารนั้นเป็นสารชนิดใด) สามารถแยกสารผสมออกจากกันได้ และสามารถแยกสารออกจากกระดาษกรองหรือตัวดูดซับโดยสกัดด้วยตัวทำละลายได้อีกด้วย

2.9 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Lee *et al*. (2003) นำเห็ดไมตาเกะ (*Grifola frondosa*) ที่เพาะเลี้ยงในอาหารเหลว โดยนำมาปั่นเหวี่ยงเพื่อแยกส่วนที่เป็นเส้นใยและส่วนที่เป็นของเหลวออกจากกัน แล้วจึงนำสารละลายทั้งสองส่วนไปตกตะกอนด้วยเอทานอล ตะกอนที่ได้ คือ โพลีแซคคาไรด์ ชนิดที่ถูกขับออกมานอกเส้นใย แล้วนำส่วนที่เป็นเส้นใยมาทำให้เซลล์แตกด้วยน้ำร้อนจากนั้นนำมาตกตะกอนด้วยเอทานอล ได้ส่วนของพอลิแซคคาไรด์ที่มีอยู่ในเส้นใย จากนั้นนำตะกอนโพลีแซคคาไรด์ ไปทำให้แห้งด้วยเครื่อง Freeze dryer พบว่า ปริมาณโพลีแซคคาไรด์ เห็ดไมตาเกะ (*Grifola frondosa*) ที่เพาะเลี้ยงในอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซลซียส ให้ปริมาณของพอลิแซคคาไรด์ที่ได้ สูงกว่าการเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 20 หรือ 30 องศาเซลเซลซียส

Jin *et al*. (2003) ได้ทำการสกัดสารโพลีแซคคาไรด์ จากเส้นใยเห็ด Poria coccus หลังจากสกัดส่วนที่เป็นไขมันออกไปแล้ว ได้นำส่วนที่เป็นกาก (เส้นใยที่ผ่านการสกัดไขมันออก) จากนั้นนำมาสกัดต่อด้วย 0.5 M NaOH เพื่อเป็นการทำให้เซลล์แตก ซึ่งเป็นวิธีการทางเคมี หลังจากการสกัดข้างต้นแล้วจะได้สารพอลิแซคคาไรด์ในส่วนที่มีอยู่ในเส้นใย

Carbonero *et al*. (2006) ได้ทำการสกัดสารสำคัญในดอกเห็ดนางรม (*Pleurotus eryngii, Plerotus ostreatoroseus*) ด้วยสารเคมีเพื่อสกัดไขมันทิ้งไป ตามด้วยการสกัดด้วยน้ำร้อนแล้วนำสารสกัดที่ได้มาพิสูจน์คุณลักษณะทางเคมี โดยการวิเคราะห์มอโนแซคคาไรด์ methylation analysis และวิธีทางสเปคโครสโคปี ได้แก่ CNMR พบว่าสารสกัดจากดอกเห็ดนางรมมีโครงสร้างเป็น (1-3), (1-

6)-β-D-glucans สำหรับมอโนแซคคาไรด์ที่มีในเห็ดนางรม ได้แก่ กลูโคส (glucose) กาแลคโตส (galactose) และแมนโนส (mannose)

Zhang *et al*. (2007) ได้ทำการสกัดสารโพลีแซคคาไรด์ โดยนำเห็ดมาสกัดไขมันทิ้งด้วยสารเคมี แล้วสกัดต่อด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลซียส ตามด้วยการสกัดด้วยด่างที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ซึ่งวิธีการสกัดด้วยน้ำร้อนจะได้พอลิแซคคาไรด์ที่มีคุณสมบัติละลายน้ำ และวิธีการสกัดด้วยด่างจะได้โพลีแซคคาไรด์ ชนิดที่ไม่ละลายน้ำ ดังนั้นวิธีการสกัดโพลีแซคคาไรด์ ให้บริสุทธิ์นั้นจำเป็นต้องมีเทคนิครวมกัน เช่น ใช้เอทานอลในการตกตะกอน หรือการตกตะกอนด้วยกรดอะซิตริก หรือใช้เทคนิค ion-exchang chromatography, gel filtration และ affinity chromatography และได้ทำการสกัดสารสำคัญที่สกัดจากเห็ดผึ้ง (boletus edulis) เพื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเนื้องอก โดยพบว่าสารสำคัญที่สกัดจากเห็ดผึ้งมีคุณสมบัติในการลดการเจริญของเนื้องอกได้

Zhu *et al*. (2009) ได้ศึกษาคุณลักษณะของโพลิแซคคาไรด์ที่มีคุณสมบัติในการละลายน้ำ ซึ่งทำการสกัดด้วย abalone plepod, *Haliotis discus hamnai* Ino ใช้วิธี protrolytic และเอนไซม์ปาเปนในการสกัด จากนั้นทำการตกตะกอนสารที่ได้ด้วยเอทานอล ทำให้บริสุทธิ์ด้วยเทคนิค gle chromatograpraphy ผลจากการวิเคราะห์ด้วย HPLC และคอลัมน์ TSK-gle, gel filtration chromatography โพลีแซคคาไรด์ ที่สกัดได้จาก abalone plepod, *Haliotis discus hamnai* Ino มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 6 kDa ตามด้วยเทคนิคสเปกสโคปิก ได้แก่ IR spectroscopy, NMR spectroscopy พบว่า โพลีแซคคาไรด์ ที่สกัดได้มีโครงสร้างเป็น 1-, 1,4-, 1,6-,14,6-linked glucose และ 1-, 1,3-, 1,6-,14,6-linked galactose

Gonzaga *et al*. (2005) ได้ศึกษาการสกัดสารโพลีแซคคาไรด์ ในกลุ่มที่ละลายน้ำจากดอกเห็ดหอม (Agaricus blazei) ด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 10, 60 และ 100 องศาเซลเซียส แล้วตกตะกอนด้วยเอทานอล นำส่วนตะกอนที่ได้ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส มาวิเคราะห์ทางเคมีพบสารสำคัญในเห็ดชนิดนี้ที่มีองค์ประกอบของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่าง glucan ที่เชื่อมต่อกับโปรตีน

Tallon, Bressollier and Urdaci (2003) ได้ทำการศึกษาการสกัดสารสำคัญพอลิแซคคาไรด์ที่มีอยู่ในเห็ดหลินจือ เห็ดหูหนู (*Auricularia auricular*) เห็ดแครง (*Schizophyllum commune*) เห็ดหอม (*Lentinula edodes*) เห็ดกระดุม (*Agaricus blazei*) และเห็ดหูหนูขาว (*Tremella fuciformis*) นำไปทำการทดสอบคุณสมบัติของสารสกัดที่ได้ในการการยับยั้งการเจริญของเนื้องอก เพื่อนำไปพัฒนาเป็นยา รวมถึงสามารถลดผลข้างเคียงจากยาที่ได้จากการสังเคราะห์ และพัฒนาเป็นอาหารเสริมอาหารเพื่อสุขภาพโดยพบว่าสารสำคัญที่สกัดจากเห็ดหูหนู เห็ดแครง เห็ดหอม เห็ดกระดุม และเห็ดหูหนูขาว (*Tremella fuciformis*) มีคุณสมบัติในการลดการเจริญของเนื้องอกได้

S. Andriy *et al*. (2008) ได้ทำการศึกษาโครงสร้างและคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติคของ Glucan ที่สกัดได้จากเห็ดนางรม และเห็ดนางรมหลวง โดยการสกัดด้วยน้ำ และอัคคาไลด์ และสารที่ไม่ละลายน้ำ วิเคราะห์โดย Spectroscopic analysis detected พบว่า กลูแคน 1, 3-1, 6-β-D-glucan จะพบในการสกัดด้วยน้ำกับสารที่ไม่ละลายน้ำและ 1,3-β-D-glucan จะอยู่ในการสกัดด้วยน้ำ การสกัดด้วยน้ำจะประกอบไปด้วยโปรตีนที่เป็นส่วนประกอบของกลูแคน ประสิทธิภาพของการแยกโดยการสกัดด้วยน้ำและตะกอนของ β-glucan ในการสกัดด้วยอัคคาไลด์ ทำได้โดย ฟลีโนลิค มีไคตินเล็กน้อยในสารที่ไม่ละลายน้ำ คุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติคในการสกัดด้วยอัคคาไลด์ ทำได้โดยทดสอบกับเชื้อโพรไบโอติค 9 สายพันธุ์ คือ *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* และ *Enterococcus* ผลของการเจริญโพรไบโอติคมีความแตกต่างกันตามชนิดของสารสกัดและสามารถนำไปประยุกต์ใช้ทำซินไบโอติคได้

Hearst *et al*. (2009) ทำการศึกษาคุณสมบัติ antibacterial และ antifungal ของส่วนประกอบของเห็ดหอม *(Lentinula edodes)* และเห็ดนางรม *(Pleurotus ostreatus)* พบว่าผลของการเป็น antibacterial ของเห็ดหอม สามารถยับยั้งได้ 84.6% และยับยั้งยีสต์และราได้ 66.6% ส่วนเห็ดนางรม *(Pleurotus ostreatus)* นั้นสามารถยับยั้งได้ 7.6% และยังพบว่าไม่สามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์และรา 10 สายพันธุ์ ไม่ได้

Rajewska and Balasinska (2004) รวบรวมงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับสารประกอบทางชีวภาพและประโยชน์ต่อสุขภาพในเห็ดกินได้ โดยรายงานว่าสารโพลีแซคคาไรด์ เช่น เบต้า-ไกลแคน และไคโตซาน มีฤทธิ์ในการรักษาและป้องกันโรคมะเร็งโดยจะไปช่วยลดความเสียหายของ DNA (DNA damage) ลดความเข้มข้นของสารก่อมะเร็ง ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย นอกจากนั้นสารจากเห็ดยังมีผลต่อโรคเลือดหัวใจตีบตัน โดยช่วยลด LDL-cholesterol ป้องกันการสะสมของไตรกรีเซอไรด์ในเลือด

Cho *et al.* (2006) ศึกษาการใช้สารสกัดจากเห็ด 2 ชนิดได้แก่ *Tramella fuciformis* and *Phellinus baumii* ในหนู ob/ob mice ที่มีความเข้มข้น 200 mg/ kg โดยการป้อนติดต่ออันเป็นเวลา 52 วัน พบว่าสารสกัดทั้งสองชนิดนั้นมีประสิทธิภาพการใช้อาหารสูงกว่าหนูเบาหวานควบคุม ช่วยลดระดับน้ำตาลและไตรกลีเซอไรด์ในเลือด นอกจากนี้ยังเพิ่มระดับอินซูลินในเลือด

Yamg *et al.* (2003) รายงานผลของการใช้อนุพันธุ์ของกรด retinolic acid ซึ่งสกัดจากเห็ด *P. linteus* ต่อสภาวะการเกิดพังผืดในตับ (liver fibrosis) ในหนูที่มีการดัดแปลงพันธุกรรมของยีน TGF-β1 (Transforming growth factor-beta 1) และเซลล์ตับชนิด hepaticstellate cells (HSC) พบว่ากรด retinolic acid จากเห็ดมีผลในการป้องกันการเกิดพังผืดทั้งใน in vitro และ in vivo

เกศศิณี ตระกูลทิวากร (2543) พบสารพวกโพลีแซคคาไรด์ที่มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของเนื้องอก นอกจากนั้นยังพบคุณสมบัตินี้ในสารโพลีแซคคาไรด์ในเห็ดหอม (shiitake) และสามารถสกัดสาร eritadenine ในเห็ดหอมซึ่งสามารถลดระดับคอเลสเตอรอลในหนู ที่น่าสนใจ คือ เห็ดที่พบในประเทศไทยอาจมีโอกาสพบสารที่มีคุณประโยชน์ด้านสุขภาพเหล่านี้ด้วย

Rao *et al*. (1999) ได้ศึกษาผลของสารพรีไบโอติคต่อการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติค ทำการศึกษาถึงปริมาณของอินนูลินและโอลิโกฟรุคโตสต่อการตอบสนองของ Bifidobacteria พบว่าทั้งอินนูลินและโอลิโกฟรุคโตสถูกใช้ไปอย่างรวดเร็ว สมบูรณ์และยังพบว่าเป็นซับสเตรตที่มีประสิทธิภาพต่อการเจริญของ Bifidobacteria เกือบทุกสายพันธุ์เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำตาลกลูโคส ซึ่งปริมาณของอินนูลินและโอลิโกฟรุคโตสที่เหมาะสมที่สุด คือ 4 กรัมต่อวัน

Handan and Robert (2000) ได้ทำการทดลองความสามารถของการหมักฟรุคโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์ ของ Lactic Acid Bacteria และ Bifidobacteria บน MRS-FOS agar พบว่ามี 12 สายพันธุ์จาก 16 สายพันธุ์ของ *Lactobacillus* และ 7 สายพันธุ์จาก 8 สายพันธุ์ของ *Bifidobacteria* ที่ให้ผลเป็นบวก และเมื่อนำบางสายพันธุ์ไปเลี้ยงบน MRS-FOS broth พบว่ามีการเจริญได้ดีโดยวัดค่าจาก การวัดค่า Optical density (OD)

Gibson *et al*. (1995) ได้ทำการทดลองให้สารโอลิโกฟรุคโตสและอินนูลิน กับหนู พบว่ามีการกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อ Bifidobacteria ขณะที่เชื้อจุลินทรีย์ที่อันตรายและก่อให้เกิดโรค เช่น *E. coli* และ *Clostriduim* มีปริมาณลดลง Bifidobacteria หลายชนิดจะช่วยยับยั้งการเจริญของ *E. coli* และ *C. perfringens* ซึ่งเป็นผลของ Inhibitory substance สารตัวนี้จะไม่ขึ้นกับการเปลี่ยนแปลงของความเป็นกรดด่างการศึกษาพบว่าคุณสมบัติในการฆ่าเชื้อเชื้อจุลินทรีย์นั้น จะทำโดยการกดการเจริญของจุลินทรีย์ที่ถูกยับยั้ง เช่น *Salmonell, Campylobacter, Shigella* รวมทั้ง *Vibrio cholera*

Cummings *et al*. (2001) ได้ทำการศึกษาการย่อยสารพรีไพรโอติคด้วยเอนไซม์ในลำไส้เล็กและเอนไซม์ในตับอ่อน อีกทั้งยังได้ทำการศึกษาการหมักสารพรีไพรโอติคโดยแบคทีเรียในลำไส้ ซึ่งสารพรีไบโอติคที่ได้ทำการศึกษาในครั้งนี้ คือ อินนูลินและโอลิโกฟรุคโตส จากการศึกษาพบว่าทั้งอินนูลินและโอลิโกฟรุคโตสไม่สามารถย่อยด้วยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารแต่จะถูกหมักด้วยแบคทีเรียที่สำคัญในลำไส้ใหญ่ได้แก่ Bifidobacteria และ Lactobacilli ส่งผลทำให้แบคทีเรียดังกล่าวเจริญได้ดีขึ้นและผลิตภัณฑ์สำคัญได้จากการหมัก คือ กรดไขมันสายสั้นๆ ได้แก่ Acetic acid, Propionic acid และ Butyric acid