การศึกษาความเป็นไปได้ของการเตรียมแคปซูลเคลือบเอนเทอริคของเชื้อ *Lactobacillus pentosus* FF1

Feasibility Study of Enteric-Coated Capsules Containing *Lactobacillus pentosus* FF1

ฉัตรสุดา เอกนพพระ[1*] และ ณัฐกาญจน์ แดงมณี[2]

Chatsuda Aeknoppa[1*] and Nattakan Dangmanee[2]

[1]นักศึกษาปริญญาโท หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต วิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต*

[2]อาจารย์ประจำ หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต วิทยาลัยการแพทย์แผนตะวันออก มหาวิทยาลัยรังสิต

[1]Graduate student in Master of Science (Oriental Medicine) of Oriental Medicine College, Rangsit University*

[2]Lacturer in Master of Science (Oriental Medicine) of Oriental Medicine College, Rangsit University

**Corresponding author, E-mail: may_tim_atom@hotmail.com*

บทคัดย่อ

การเตรียมแคปซูลเคลือบเอนเทอริคของเชื้อ *L. pentosus* FF1 เพื่อศึกษาการอยู่รอดของเชื้อ *L. pentosus* FF1 หลัง freeze dry โดยใช้สาร cryoprotectant และเพื่อศึกษาการเตรียมผงของเชื้อ *L. pentosus* FF1 ในรูปแบบแคปซูลเคลือบเอนเทอริค โดยนำตะกอนของเชื้อ *L. pentosus* FF1 กระจายตัวในสารละลาย soybean oligosaccharides เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งใช้เป็นสาร cryoprotectant จากนั้นนำไปผ่านกระบวนการแช่เยือกแข็ง และนำไปบรรจุแคปซูลเคลือบเอนเทอริค ผลการศึกษาพบว่าการอยู่รอดของเชื้อ *L. pentosus* FF1 หลัง freeze dry โดยใช้ soybean oligosaccharides เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นสาร cryoprotectant มีการรอดชีวิตสูงสุดคือ 81.09% แคปซูลเคลือบเอนเอริคมีเชื้อ *L. pentosus* FF1 10^8 cfu/ml มีความสม่ำเสมอของน้ำหนัก 98.225±0.0827 มิลลิกรัม การปลดปล่อยตัวเชื้อเกิดขึ้นในระบบจำลองของลำไส้ที่มีค่า pH 7.4 และมีจำนวนเชื้ออยู่รอดสูงสุด 98.21% หลังจากเก็บเป็นระยะเวลา 6 เดือน ซึ่งยังคงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในด้านการเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไป

***คำสำคัญ**: พรีไบโอติก โพรไบโอติก Lactobacillus pentosus FF1*

Abstract

Formulation of enteric-coated capsules containing *L. pentosus* FF1 and survival rate analysis of *L. pentosus* FF1 after freeze-drying with cryoprotectant are performed in this study. Preparation powder of *L. pentosus* FF1 in the form of enteric coated capsules is also studied. *L. pentosus* FF1 cell pellet was suspended in 1% soybean oligosaccharides as cryoprotectant and then it was freeze-dried. *L. pentosus* FF1 dry powder was filled into enteric coated capsules. The results shows that the highest survival rate of *L. pentosus* FF1 after freeze drying and using 1% of soybean oligosaccharides as cryoprotectant is 81.09%. The uniformity of weight, release profile and stability of prepared enteric coated capsules are evaluated. The uniformity of weight is complied with British

Pharmacopie criteria. *L. pentosus* FF1 was released in simulated intestinal tract at pH 7.4. Moreover, this strain exhibits the maximum survival rate of 98.21% after storage of 6 months.

***Keywords**: Prebiotic, Probiotic, Lactobacillus pentosus FF1*

1.บทนำ

เนื่องจากสภาพแวดล้อมที่เปลี่ยนไป มนุษย์มีปัญหาเกี่ยวกับสุขภาพมากขึ้น รูปแบบอาหารที่รับประทานก็เปลี่ยนแปลงไปเช่นกัน โดยหันมาบริโภคอาหารประเภทโปรตีนและไขมันมากขึ้น แต่กลับรับประทานอาหารประเภทที่มีใยอาหาร เช่น ผักและผลไม้ลดน้อยลง ส่งผลให้เกิดความผิดปกติกับระบบทางเดินอาหารขึ้นโดยเฉพาะลำไส้ทำให้เกิดโรคร้ายตามมา เช่น ลำไส้อักเสบ ท้องเสียเรื้อรัง ริดสีดวงทวาร ขาดวิตามินบางชนิด (อาทิ วิตามินบีและวิตามินเค) คลอเลสเตอรอลในเลือดสูง โรคภูมิต้านทานทำร้ายตัวเอง โรคภูมิแพ้ ไปจนถึงโรคที่มีความร้ายแรงอย่างโรคมะเร็งลำไส้ เป็นต้น นอกจากการรับประทานอาหารที่มีใยอาหารน้อยลงแล้ว ปัจจัยหลักอีกประการหนึ่งซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดโรคร้ายต่าง ๆ เหล่านี้ก็คือ การที่ลำไส้มีปริมาณจุลินทรีย์ลดน้อยลง (เอกลักษณ์ ทวีโรจนกุล, 2009) การลดความเสี่ยงและการป้องกันในการเกิดโรคต่าง ๆ เหล่านี้ได้คือ การรักษาสมดุลของจุลชีพที่อยู่ในร่างกาย โดยในร่างกายของเรามีจุลินทรีย์อยู่ 2 ชนิด ได้แก่ จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ (beneficial microorganisms) ซึ่งเป็นจุลินทรีย์กลุ่มโพรไบโอติก และจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค (pathogenic microorganisms) โดยส่วนใหญ่จะอยู่ในลำไส้ ดังนั้นการเจริญของโพรไบโอติกและการส่งเสริมสุขภาพจึงขึ้นอยู่กับการรับประทานอาหารเข้าไป โดยอาหารที่สามารถส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติกเรียกว่า พรีไบโอติก มีคุณสมบัติคือ ไม่ถูกย่อยด้วยกรดในกระเพาะอาหารและเอนไซม์ในลำไส้เล็กและสามารถเคลื่อนไปยังลำไส้ใหญ่ในสภาพที่สมบูรณ์ (สุพจน์ นวลละออง, 2552) ซึ่งการเตรียมผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร โพรไบโอติกนั้นจะต้องเตรียมในรูปแบบผงแห้ง โดยวิธีการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (freeze drying) ซึ่งการทำแห้งวิธีนี้สามารถรักษาคุณค่าทางอาหารและคุณภาพทางประสาทสัมผัสได้ดีกว่าการทำแห้งแบบทั่วไป (เศรษฐการ นุชนิยม, 2554) และนำเทคโนโลยีการเคลือบโพรไบโอติกโดยใช้สาร cryoprotectant ที่เหมาะสมเพื่อให้เก็บรักษาได้ยาวนานขึ้นและเชื้อมีอัตรการรอดชีวิตสูงขึ้นหลังผ่านกระบวนการทำแห้งแบบเยือกแข็ง สาร cryoprotectant ที่เลือกใช้ได้จากธรรมชาติและจากการสังเคราะห์ ที่พบในธรรมชาติจะพบในผักและผลไม้ เช่น กล้วย กระเทียมหัวหอมใหญ่ หน่อไม้ฝรั่ง มะเขือเทศ ถั่วเหลือง ถั่วเขียว แครอท และอื่น ๆ อีกมากมายและที่ได้จากการสังเคราะห์โดยใช้เอนไซม์ย่อยจากโพลีแซคคาไรด์ เช่น fructo-oligosaccharides (FOS), galacto-oligosaccharides (GOS), soybean-oligosccharides (SOS), xylo-oligosaccharides, inulin, lactosucrose, lactulose (Panesar et al, 2016) ซึ่งสาร cryoprotectant มีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติกที่มีอยู่ในพืชธรรมชาติ ใยอาหารเป็นส่วนหนึ่งของพืชที่เอนไซม์ในร่างกายไม่สามารถย่อยได้ไม่มีสารอาหารและไม่มีพลังงาน แต่มีบทบาทสำคัญต่อภาวะโภชนาการและสุขภาพของมนุษย์ (รุสมัน ดะแซสาเมาะ, 2557) อีกทางเลือกหนึ่งในการรับประทานอาหารที่มีโพรไบโอติกเพื่อให้อยู่รอดได้ในระบบทางเดินอาหารคือ รับประทานในรูปแคปซูลเคลือบ (enteric coating) เพื่อป้องกันการปลดปล่อยตัวยาที่กระเพาะอาหารก่อนที่จะถึงลำไส้เล็ก (Hussan et al, 2012) จากการศึกษาของรุสนาณี แวกาจิ (2558) ได้คัดแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกที่มีคุณสมบัติโพรไบโอติก สามารถคัดแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลกติกไอโซเลท FF1 จากปลาส้ม ซึ่งเชื้อนี้มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกที่ดีคือ สามารถทนต่อสภาวะกรดในกระเพาะและทนต่อเกลือน้ำดีในลำไส้และยัง

สามารถยับยั้งเชื้อ Enteropathogenic *Escherichia coli* (EPEC) DMST 30546 ได้ ส่วนการยึดเกาะกับเซลล์ของเชื้อแบคทีเรียพบว่า มีความสามารถในการแย่งกับเชื้อก่อโรค *E.coli* (EPEC) ต่อการยึดเกาะกับเซลล์ได้ดีที่สุด โดยทำให้จำนวนเชื้อก่อโรคลดลงได้อย่างมีนัยสำคัญ

ดังนั้นการวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาการอยู่รอดของเชื้อ *L. pentosus* FF1 หลัง freeze dry โดยใช้สาร cryoprotectant ที่เป็นสารพรีไบโอติกที่จะพบในธรรมชาติและการเตรียมผงของเชื้อ *L. pentosus* FF1 ในรูปแบบแคปซูลเคลือบเอนเทอริค

2. วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการอยู่รอดของเชื้อ *L. pentosus* FF1 หลัง freeze dry โดยใช้สาร cryoprotectant
2. เพื่อศึกษาการเตรียมผงของเชื้อ *L. pentosus* FF1 ในรูปแบบแคปซูลเคลือบเอนเทอริค

3. วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 ประชากร/กลุ่มตัวอย่างที่ศึกษา

เชื้อ *L. pentosus* FF1 ที่แยกได้จากปลาส้ม ใช้ความเข้มข้น 10^8 cfu/ml

3.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิจัย

3.2.1 ตู้บ่มเชื้อ (incubator)

3.2.2 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centifuge)

3.2.3 เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze-dryer)

3.2.4 เครื่องบรรจุแคปซูล (capsule filler)

3.2.5 เครื่อง dissolution tester

3.3 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.3.1 การคัดเลือก cryopratectant ที่ได้จากการสังเคราะห์

นำเชื้อ *L. pentosus* FF1 โดยดูดมา 100 ไมโครลิตร นำมาเลี้ยงในอาหาร De Man Rogosa and Sharpe (MRS) broth ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะไม่มีอากาศ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อ *L. pentosus* FF1 ที่เลี้ยงไว้มาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนที่ใสออกให้เหลือแต่ตะกอนเชื้อแล้วนำตะกอนเชื้อที่ได้จากการเหวี่ยงไปผสมกับสาร cryoprotectant สังเคราะห์ที่เตรียมไว้ FOS 1%, 2%, 3% GOS 1%, 2%, 3% SOS 1%, 2%, 3% ทำการทดลอง 3 ซ้ำ หลังจากนั้นนำเชื้อที่มีสาร FOS, GOS และ SOS ไปเข้า freeze dry เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หลัง freeze dry นำเชื้อที่มีสาร FOS, GOS และ SOS มาตรวจนับจำนวนเชื้อที่อยู่รอด โดยใช้ drop plate บนอาหาร De Man Rogosa and Sharpe (MRS) agar ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดตามสมการข้างล่าง

การอยู่รอด (%) = (N1/N0) x 100%

N1 คือ จำนวนเชอที่มีชีวิตหลังการทดสอบ

N0 คือ จำนวนเชื้อที่มีชีวิตก่อนการทดสอบ

3.3.2 การคัดเลือก cryoprotectant ที่ได้จากธรรมชาติ (C = แครอท, G = ถั่วเขียว, T = มะเขือเทศ)

นำเชื้อ *L. pentosus* FF1 โดยดูดมา 100 ไมโครลิตร นำมาเลี้ยงในอาหาร De Man Rogosa and Sharpe (MRS) broth ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะไม่มีอากาศ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อ *L. pentosus* FF1 ที่เลี้ยงไว้มาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนที่ใสออกให้เหลือแต่ตะกอนเชื้อแล้วนำตะกอนเชื้อที่ได้จากการเหวี่ยงไปผสมกับสาร cryoprotectant ที่เตรียมไว้ การเตรียมพรีไบโอติกที่ความเข้มข้น 1% , 2% และ 3% โดยทำการชั่งสารสกัด C, G และ T ที่ความเข้มข้น 1% ชั่งสารสกัด C, G และ T ในปริมาตร 0.1g ความเข้มข้น 2% ชั่งสารสกัด C, G และ T 0.2 g ความเข้มข้น 3% ชั่งสารสกัด C, G และ T 0.3 g แล้วนำสารสกัดแต่ละความเข้มข้นไปผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 5 มิลลิลิตร แล้วนำสารcryoprotectant ที่ผสมกับ C 1%, 2%, 3% G 1%, 2%, 3% และ T 1%, 2%, 3% ทำการทดลอง 3 ซ้ำ หลังจากนั้นนำเชื้อที่มีสาร cryoprotectant จากธรรมชาติ C, G และ T เข้า freeze dry เป็นเวลา 48 ชั่วโมงหลัง freeze dry นำเชื้อที่มีสาร C, G และ T ตรวจนับจำนวนเชื้อที่อยู่รอด โดยวิธี drop plate บนอาหาร De Man Rogosa and Sharpe (MRS) agar ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดตามสมการข้างล่าง

การอยู่รอด (%) = (N1/N0) x 100%

N1 คือ จำนวนเชื้อที่มีชีวิตหลังการทดสอบ

N0 คือ จำนวนเชื้อที่มีชีวิตก่อนการทดสอบ

3.3.3 การเตรียมแคปซูลเคลือบเอนเทอริคที่มีเชื้อ *L. pentosus* FF1

นำเชื้อ *L. pentosus* FF1 ใช้ความเข้มข้น 10^8 cfu/ml โดยดูดมา 100 ไมโครลิตร นำมาเลี้ยงในอาหาร De Man Rogosa and Sharpe (MRS) broth ปริมาตร 5 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะไม่มีอากาศ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อ *L. pentosus* FF1 ที่เลี้ยงไว้มาหมุนเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนที่ใสออกให้เหลือแต่ตะกอนเชื้อแล้วนำตะกอนเชื้อที่ได้จากการเหวี่ยงไปผสมกับสาร SOS 1% จากนั้นนำไปผ่านกระบวนการแช่เยือกแข็ง หลังจากนั้นนำเชื้อ *L. pentosus* FF1 ใช้ความเข้มข้น 10^8 cfu/ml มาบรรจุลงในแคปซูล เบอร์ 1 โดยใช้เครื่องบรรจุแคปซูล และทำในสภาวะปราศจากเชื้อ

3.3.4 การประเมินคุณสมบัติแคปซูลเคลือบเอนเทอริคที่มีเชื้อ *L. pentosus* FF1

3.3.4.1 การหาความสม่ำเสมอของน้ำหนัก (uniformity of weight)

จากข้อกำหนดของเภสัชตำรับอังกฤษ BP 2016 ให้ทำการทดสอบดังนี้ สุ่มยาแคปซูลมา 20 แคปซูลจากนั้นคำนวณหาน้ำหนักเฉลี่ยของยาแคปซูล การประเมินต้องมีไม่เกิน 2 แคปซูลเบี่ยงเบนจากค่าเฉลี่ยมากกว่า percentage

deviation (10 เปอร์เซ็นต์สำหรับน้ำหนักเฉลี่ยนของแคปซูลน้อยกว่า 300 มิลลิกรัม 7.5 เปอร์เซ็นต์สำหรับน้ำหนักเฉลี่ยของแคปซูลมากกว่าหรือเท่ากับ 300 มิลลิกรัม) และไม่มีแคปซูลใดเลยเบี่ยงเบนเกิน 2 เท่าของ percentage deviation

3.3.4.2 การทดสอบการปลดปล่อยเชื้อ *L. pentosus* FF1 การศึกษานี้ ต้องการเพียงแสดงการปลดปล่อยเชื้อในระบบจำลองลำไส้ เพื่อให้สามารถคำนวณการปลดปล่อย จึงใช้จำนวนแคปซูล 100 แคปซูล

ทำการศึกษาการปลดปล่อยของเชื้อ *L.pentosus* FF1 โดยใช้เครื่อง dissolution แบบ rotating paddle ใส่แคปซูลเคลือบเคลือบเอนเทอริคที่มีเชื้อ *L. pentosus* FF1 จำนวน 100 แคปซูลลงใน vessel ขนาด 1 ลิตรของเครื่องซึ่งมีระบบจำลองของกระเพาะอาหาร pH 1.2 ประมาณ 900 มิลลิลิตรเป็น dissolution medium เครื่องทำงานที่ความเร็ว 50 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำแคปซูลใส่ลงในระบบจำลองลำไส้ pH 7.4 ปริมาตร 900 มิลลิลิตรทันที เครื่องทำงานต่อที่สภาวะเดิมเป็นเวลา 2 ชั่วโมง ในระหว่างการทดลองสุ่มตัวอย่าง dissolution medium ที่เวลาต่าง ๆ กันและเติม dissolution medium กลับเข้าไปในปริมาตรที่เท่ากันกับการสุ่มตัวอย่างแต่ละครั้ง จากนั้นนำมานับจำนวนเชื้อที่ถูกปลดปล่อยออกมาใน dissolution medium โดยวิธี plate counting บนอาหาร De Man Rogosa and Sharpe (MRS) agar และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยของเชื้อตามสมการข้างล่าง

การปลดปล่อย (%) = (N1/N0) x 100%
N1 คือ จำนวนเชื้อหลังการปลดปล่อยที่เวลาต่างๆ
N0 คือ จำนวนเชื้อก่อนการศึกษาการปลดปล่อย (Dangmanee, 2013)

3.3.4.3 การทดสอบความคงตัว (stability)

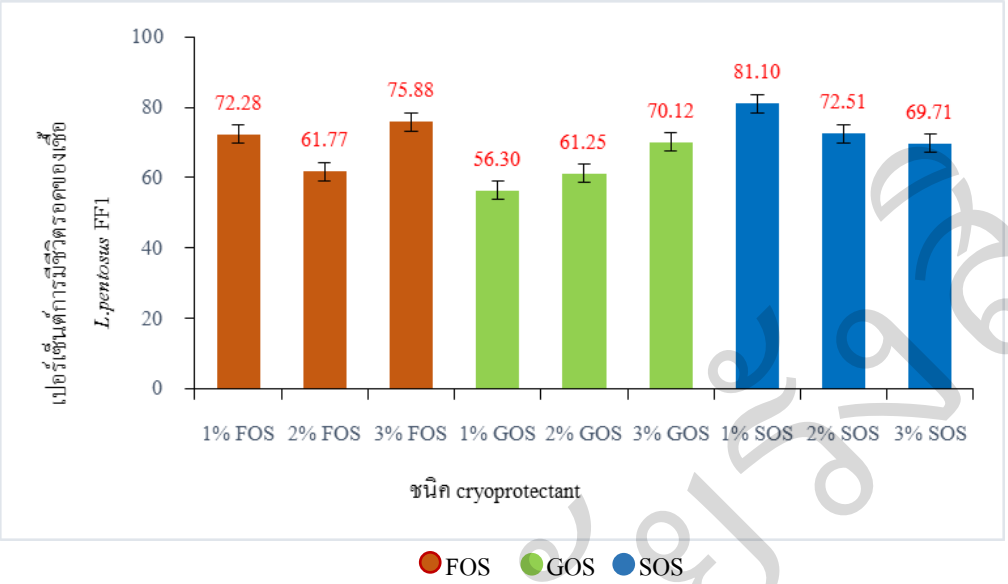
เก็บแคปซูลเคลือบเอนเทอริคที่มีเชื้อ *L. pentosus* FF1 ในภาชนะที่ปราศจากเชื้อที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 เดือน ในระหว่างการเก็บสุ่มยาแคปซูลมาทุก 1 เดือนเพื่อตรวจนับจำนวนเชื้อที่อยู่รอด โดยสุ่มมา 3 แคปซูล ตรวจนับจำนวนเชื้อที่อยู่รอด โดยใช้วิธี drop plate บนอาหาร De Man Rogosa and Sharpe (MRS) agar ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดตามสมการข้างล่าง

การอยู่รอด (%) = (N1/N0) x 100%
N1 คือ จำนวนเชื้อหลังเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสทีเวลาต่าง ๆ
N0 คือ จำนวนเชื้อก่อนการศึกษาความคงตัว

4. ผลการวิจัย

4.1 การคัดเลือก cryoprotectant ที่ได้จากการสังเคราะห์ (รูปที่ 1)

จากการคัดเลือก cryoprotectant ที่ได้จากการสังเคราะห์ พบว่า 1% SOS มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับ 3% FOS พบว่า จำนวนเชื้อมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของเชื้อ *L. pentosus* FF1 ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)



รูปที่ 1 แสดงเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของเชื้อ *L. pemtosus* FF1 กับ cryoprotectant ที่ได้จากการสังเคราะห์ หลัง freeze dry จากแคปซูลเคลือบเอนเทอริค

4.2 การคัดเลือก cryoprotectant ที่ได้จากธรรมชาติ (รูปที่ 2)

จากการคัดเลือกหา cryoprotectant ที่ได้จากธรรมชาติ พบว่า 2% G มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับ 1% G พบว่า จำนวนเชื้อมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของเชื้อ *L. pentosus* FF1 ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ(p>0.05)

รูปที่ 2 แสดงเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของเชื้อ *L. pentosus* FF1 กับ cryoprotectant ที่ได้จากธรรมชาติหลัง freeze dry จากแคปซูลเคลือบเอนเทอริค

ดังนั้นสาร cryoprotectant ที่มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของเชื้อ *L. pentosus* FF1 สูงสุดคือ 1% SOS มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของเชื้อ *L. pentosus* FF1 81.10% เมื่อเปรียบเทียบกับ 1% G มีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของเชื้อ *L. pentosus* FF1 70.47% สารพรีไบโอติกที่มีคุณสมบัติเป็น cryoprotectant ที่เหมาะสมและมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของเชื้อ *L. pentosus* FF1 หลัง freeze dry สูงคือ 1% SOS พบว่า เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดของเชื้อ *L. pentosus* FF1 ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)

4.3 แคปซูลเคลือบเอนเทอริคที่มีเชื้อ *L. pentosus* FF1

นำผงเชื้อ *L pentosus* FF1 บรรจุลงแคปซูลเคลือบเอนเทอริค เบอร์ 1 โดยใช้เครื่องบรรจุแคปซูล และทำในสภาวะปราศจากเชื้อ มีเชื้อ 8.06 x10^8 cfu/ml (100 มิลลิกรัม)

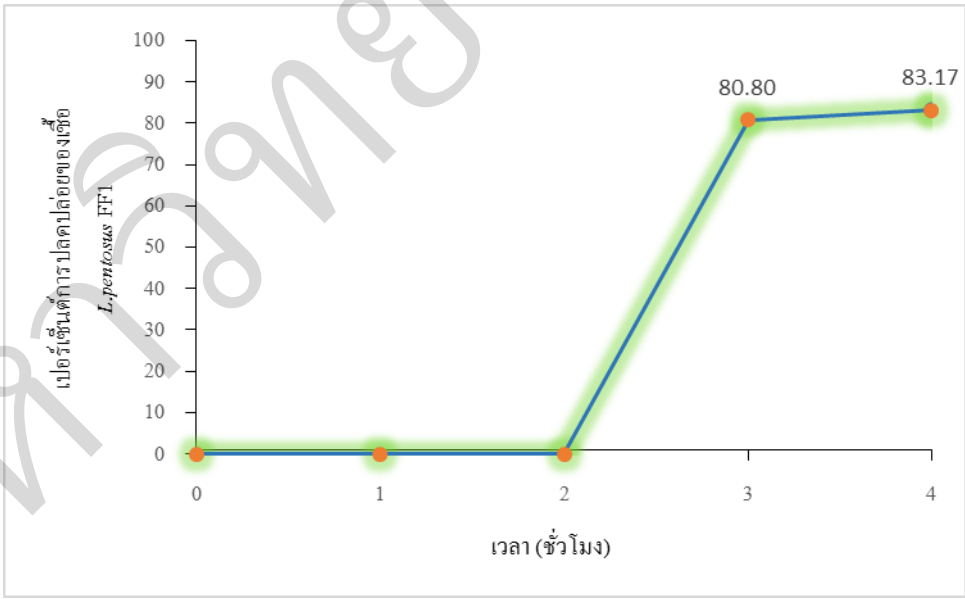
4.4 คุณสมบัติแคปซูลเคลือบเอนเทอริคที่มีเชื้อ *L. pentosus* FF1

4.4.1 ความสม่ำเสมอของน้ำหนัก (uniformity of weight)

น้ำหนักเฉลี่ยของยาแคปซูลเท่ากับ 98.23±0.09 มิลลิกรัม เป็นไปตามข้อกำหนดของเภสัชตำรับอังกฤษให้ทำการทดสอบดังนี้ นั่นคือต้องมีน้ำหนักอยู่ในช่วง 92.90-101.70 มิลลิกรัม

4.4.2 การปลดปล่อยเชื้อ *L. pentosus* FF1

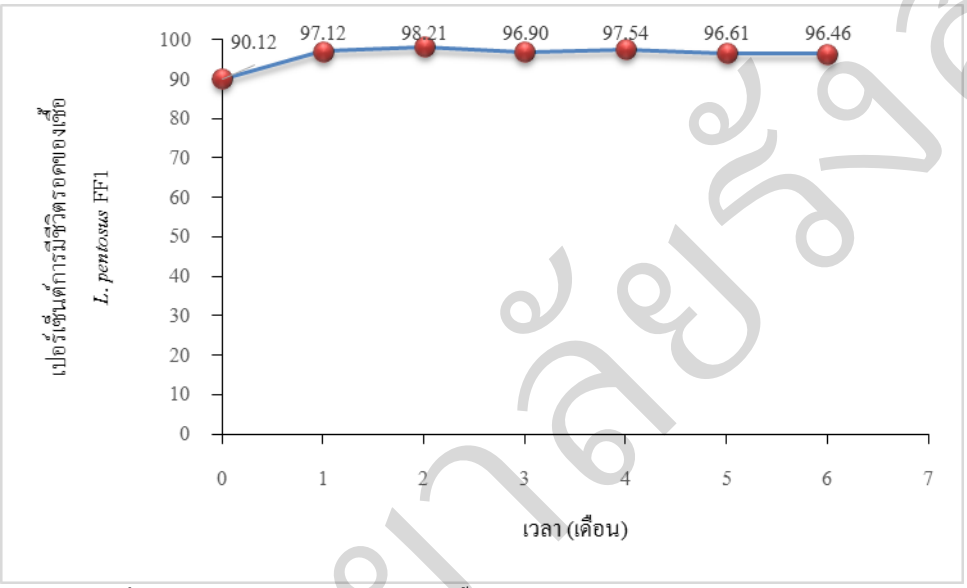
เชื้อมีการปลดปล่อยออกจากแคปซูลหลังเวลา 2 ชั่วโมงในระบบจำลองของลำไส้ pH 7.4 มีการปลดปล่อยเพิ่มมากขึ้นจนถึงชั่วโมงที่ 4 (รูปที่ 3) การศึกษานี้ยังไม่สามารถหาระยะเวลาของผลการปลดปล่อยทั้งหมด



รูปที่ 3 แสดงเปอร์เซ็นต์การปลดปล่อยเชื้อ *L. pentosus* FF1 จากแคปซูลเคลือบเอนเทอริค

4.4.3 ความคงตัว

ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาเป็นเวลา 6 เดือน พบว่า เชื้อ *L. pentosus* FF1 มีการอยู่รอดสูงในช่วง 91-99 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับระยะเวลาเริ่มต้นซึ่งมีจำนวนเชื้อ 91 เปอร์เซ็นต์ พบว่า เพิ่มขึ้นอย่างไม่มีนัยสำคัญ (p>0.05) (รูปที่ 4)



รูปที่ 4 แสดงเปอร์เซ็นต์การมีชีวิตรอดของเชื้อ *L. pentosus* FF1 จากแคปซูลเคลือบเอนเทอริค

5. การอภิปรายผล

แคปซูลเคลือบเอนเทอริคที่มีเชื้อ *L. pentosus* FF1 ซึ่งเชื้ออยู่ในรูปของผงแห้งที่ใช้ Soybean oligosaccharides เป็นสาร cryoprotectant ในกระบวนการ freeze-dry และนำไปบรรจุแคปซูลเคลือบเอนเทอริค ผลการศึกษาพบว่า การอยู่รอดของเชื้อ *L. pentosus* FF1 หลังกระบวนการ freeze-dry มีอัตราการอยู่รอดสูง และจากการประเมินคุณสมบัติของแคปซูลพบว่า ความสม่ำเสมอของน้ำหนักแคปซูลเป็นไปตามข้อกำหนดของเภสัชตำรับอังกฤษซึ่งอยู่ในช่วง 92.9-101.7 มิลลิกรัม และเชื้อ *L. pentosus* FF1 ไม่ถูกปลดปล่อยที่กระเพาะอาหาร pH 1.2 แต่ถูกปลดปล่อยออกจากแคปซูลในระบบจำลองของลำไส้ pH 7.4 แสดงให้เห็นว่าเชื้อโพรไบโอติกนี้จะถูกนำส่งไปสู่ลำไส้ สอดคล้องกับงานวิจัยที่ได้มีรายงานว่า แคปซูลที่เคลือบด้วย Eudragit® S (Marvola et al, 2008) ไม่เกิดการปลดปล่อยเชื้อในสภาวะจำลองกระเพาะอาหาร แต่เชื้อถูกปลดปล่อยในสภาวะจำลองลำไส้ ทำให้เชื้อที่ถูกปลดปล่อยที่อวัยวะเป้าหมาย นั่นคือ ลำไส้ ผลการปลดปล่อยเป็นการแสดงความเป็นไปได้ในการให้เชื้อไปอยู่ที่ส่วนลำไส้ ทั้งนี้ยังต้องศึกษาเพิ่มเติมในปริมาณและระยะเวลาของการปลดปล่อยเชื้อที่เหมาะสมต่อไป การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ เป็นเวลา 6 เดือน พบว่า เชื้อมีการอยู่รอดสูงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ และการศึกษานี้เป็นการแสดงถึงความเป็นไปได้ในการที่จะพัฒนาแคปซูลเคลือบเอนเทอริคของเชื้อ *Lactobacillus pentosus* FF1 ซึ่งยังคงต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในด้านการเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไป

6. บทสรุป

แคปซูลเคลือบเอนเทอริคที่มีเชื้อ *L. pentosus* FF1 ซึ่งเชื้ออยู่ในรูปของผงแห้งที่ใช้ Soybean oligosaccharides เข้มข้น 1% เป็นสาร cryoprotectant เนื่องจาก Soybean oligosaccharides เป็นสารพรีไบโอติกที่มีคุณสมบัติเป็น cryoprotectant ที่ช่วยป้องกันการเกิดผลึกน้ำแข็งภายในเซลล์ในกระบวนการ freeze-dry ทำให้เชื้อมีอัตราการอยู่รอดสูงสุด และแคปซูลเคลือบเอนเทอริคที่มีเชื้อ *L pentosus* FF1 พบปริมาณเชื้อสูงตามมาตรฐานของผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกคือ ควรมีปริมาณเชื้อ 10^8 cfu/ml ในด้านการประเมินคุณสมบัติแคปซูลเคลือบ พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยของยาแคปซูลเป็นไปตามข้อกำหนดของเภสัชตำรับอังกฤษ เชื้อเริ่มปลดปล่อยออกจากแคปซูลในระบบจำลองของลำไส้ และเชื้อมีการอยู่รอดสูงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ เป็นเวลา 6 เดือน

7. กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากทุนอุดหนุนการวิจัย มหาวิทยาลัยรังสิต ประจำปีการศึกษา 2559

8. เอกสารอ้างอิง

รุสมัน ดะแซสาเมาะ. (2557). การสกัดและการทำบริสุทธิ์โอลิโกแซคคาไรด์จากเนื้อแก้วมังกรและการประเมินคุณสมบัติการเป็นสารพรีไบโอติก (วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

รุสนาณี แวกาจิ. (2558). การคัดแยกแบคทีเรียกรดแลกติกที่มีคุณสมบัติโพรไบโอติกจากผลิตภัณฑ์อาหารหมักดอง. (วิทยานิพนธ์ปริญญาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

เศรษฐการ นุชนิยม. (2554). การผลิตน้ำตำลึงผงโดยการทำแห้งแบบเยือกแข็ง Production of Freeze-Dried Ivy Gourd Juice Power. *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*, *19*(2), 51-63.

สุพจน์ นวลละออง. (2552). การสกัดสารพรีไบโอติกส์จากพืชเกษตร (วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต). มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.

เอกลักษณ์ ทวีโรจนกุล. (2552). Probiotic Prebiotic คู่หูกู้วิกฤติโรคในระบบทางเดินอาหาร. *Technology Promotion Magazine, 203*, 66-72.

Dangmanee, N. (2013). Probiotic Properties of Lactobacillus fermentum SK5 and pharmaceutical preparation design. Doctor of Philosophy in Pharmaceutical Sciences, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Prince of Songkla University.

Hussan, S. D., Santanu, R., Verma, P., and Bhadari, V. (2012). A review on recent advances of enteric coating. *IOSR Journal of pharmacy*, *2*(16), 05-11.

Marvola, T., Marvola, J., Kanerva, H., Ahonen, A., Lindevall, K., and Marvola., A. (2008). Neutron activation based gamma scintigraphic evaluation of enteric-coated capsules for local treatment in colon. *International Journal of Pharmaceutics*, 349, (1-2), 24-29.

Panesar, P. S., Bali, V., Kumar, S., Babbar, N., and Oberoi, H. S. (2016). Prebiotics. *Reference Module in Food Science Encyclopedia of Food and Health*, 464-471.