

ภาณุการ์ มลาวัลย์: ผลของการเติมโปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลต และแป้งมันสำปะหลังในเม็ด
เจลแคลเซียมอัลจิเนตต่อความคงตัวของฟาจแซลโมเนลลา (EFFECTS OF SOY PROTEIN
ISOLATE AND CASSAVA STARCH ADDED IN Ca-ALGINATE BEADS ON STABILITY
OF SALMONELLA PHAGE) อาจารย์ที่ปรึกษา: ดร.พัชรินทร์ ศิริงาน , 96 หน้า.

คำสำคัญ : การกักเก็บ, โปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลต, แป้งมันสำปะหลัง, เม็ดเจลแคลเซียมอัลจิเนต,
ความคงตัวของฟาจ

ฟาจแซลโมเนลลา (*vB_salP-pYM*) ที่มีศักยภาพในการควบคุมเชื้อ *Salmonella* enterica serovar Typhimurium ซึ่งก่อโรคในคนและทั่วไปพบแซลโมเนลลาอาศัยอยู่ในทางเดินอาหารโดยเฉพาะในสัตว์ปีก การป้องกันเชื้อแซลโมเนลลาโดยใช้ฟาจ นิยมให้ทางปากผ่านทางเดินอาหาร (Oral route administration) เข้าไปยังลำไส้เล็กซึ่งเป็นจุดที่มีมักพบเชื้อแซลโมเนลลา ซึ่งฟาจนี้ไม่สามารถอยู่รอดในสภาวะความเป็นกรดในกระเพาะอาหารได้ ดังนั้นวัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือเพื่อประเมินการกักเก็บฟาจด้วยเม็ดเจลแคลเซียมอัลจิเนต (Ca-alginate beads) โดยศึกษาผลการเติมโปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลต (SPI) หรือแป้งมันสำปะหลัง (CS) ต่อความคงตัวของฟาจแซลโมเนลลาในเม็ดเจลแคลเซียมอัลจิเนตที่มีร้อยละประสิทธิภาพการกักเก็บฟาจในเม็ดเจลแคลเซียมอัลจิเนตที่มีการเติมโปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลตหรือแป้งมันสำปะหลัง มีค่า $>97\%$ และไม่แตกต่างกันกับการกักเก็บในเม็ดเจลที่ไม่เติม ($p > 0.05$) แสดงว่าการเติมโปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลตหรือแป้งมันสำปะหลังไม่มีผลต่อประสิทธิภาพการกักเก็บฟาจ นอกจากนี้พบว่าการเติม SPI และ CS ในเม็ดเจลแคลเซียมอัลจิเนตที่ความเข้มข้น 0.15% และ $0.30\% (w/v)$ สามารถเพิ่มความคงตัวของฟาจในสภาวะกรด ($pH\ 2.5$) และที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ได้ดีกว่าฟาจอิสระและฟาจที่กักเก็บในเม็ดเจลแคลเซียมอัลจิเนตที่ไม่เติมเพิ่มอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ความคงตัวของฟาจภายใต้สภาวะจำลองของกระเพาะ พบว่าการเติมแป้งมันสำปะหลังที่ความเข้มข้น $0.30\% (w/v)$ ฟาจที่ถูกกักเก็บสามารถอยู่รอดได้มากกว่า 60% ที่ 120 นาที ได้นานกว่าการเติมโปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลต $0.30\% (w/v)$ ซึ่งทำให้ฟาจอยู่รอดได้แค่ 60 นาที แต่ยืงนานกว่าฟาจที่ถูกกักเก็บในเม็ดเจลที่ไม่เติมโปรตีนและแป้ง ซึ่งอยู่รอดประมาณ 40% หลังบ่ม 30 นาที และผลการประเมินความสามารถในการปลดปล่อยฟาจในระบบจำลองของลำไส้เล็ก พบว่าการเติมโปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลตและแป้งมันสำปะหลังในเม็ดเจลสามารถลดระยะเวลาการปลดปล่อยฟาจในลำไส้เล็กได้เร็วกว่าการกักเก็บในเม็ดเจลแคลเซียมอัลจิเนตที่ไม่เติมภายในเวลา 30 นาที และ 120 นาที ตามลำดับ และยังเพิ่มความอยู่รอดในเกลื่อน้ำดีของฟาจที่ถูกกักเก็บได้มากกว่า 90% ในเม็ดเจลแคลเซียมอัลจิเนตที่มีการเติมที่ความเข้มข้น $0.3\% (w/v)$ ของ SPI หรือ CS นอกจากนี้การเติม $0.3\% (w/v)$ SPI หรือ CS ในเม็ดเจลแคลเซียมอัลจิเนต ทำให้ฟาจที่ถูกกักเก็บสามารถอยู่รอดโดยมีการลดลงเพียงเล็กน้อยในระยะเวลา

การเก็บรักษาหกเดือนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ($p < 0.05$) แสดงให้เห็นว่าการเติมโปรตีนถั่วเหลือง ไอโซเลตหรือแป้งมันสำปะหลังสามารถกักเก็บฟาจเซลล์โมเนลลาได้อย่างมีประสิทธิภาพ สามารถเพิ่มการอยู่รอดในสภาวะการจำลองในกระเพาะอาหาร โดยเฉพาะการเติมแป้งมันปะหลัง และสามารถลดระยะเวลาการปลดปล่อยฟาจที่ถูกกักเก็บในลำไส้เล็กที่เป็นเป้าหมายได้เร็วขึ้น โดยฟาจสามารถอยู่รอดได้สามารถเข้าไปควบคุมการติดเชื้อเซลล์โมเนลลาในระบบทางเดินอาหาร แต่อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มการจำลองระบบทางเดินอาหารทั้งระบบ เพื่อสำรวจการอยู่รอดของฟาจที่ถูกกักเก็บในเม็ดเจลแคลเซียมอัลจิเนตที่มีการเติมโปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลตและแป้งมันสำปะหลังได้ เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการควบคุมโรคติดเชื้อ (phage therapy)

PANUKAR MALAWAN: EFFECTS OF SOY PROTEIN ISOLATE AND CASSAVA
STARCH ADDED IN Ca-ALGINATE BEADS ON STABILITY OF SALMONELLA PHAGE.
THESIS ADVISOR: PATCHARIN SIRINGAN, Ph.D., Number of 96 page PP.

Keyword: Entrapment, Soy protein isolate, Cassava starch, Ca-alginate beads, Phage stability

Salmonella phage (*vB_salP-pYM*) with the potential to control *Salmonella enterica* serovar Typhimurium — a pathogen in humans commonly found in the gastrointestinal tract, especially in poultry — is typically administered orally to reach the small intestine, where *Salmonella* is often found. However, this phage cannot survive the acidic conditions of the stomach. Therefore, the objective of this study was to evaluate the entrapment of the phage using calcium alginate beads and to investigate the effects of adding soy protein isolate (SPI) or cassava starch (CS) on the stability of the phage in the calcium alginate beads. The entrapment efficiency of the phage in calcium alginate beads with added SPI or CS was greater than 97%, with no significant difference compared to beads without additives ($p > 0.05$), indicating that SPI or CS does not affect phage entrapment efficiency. Additionally, the incorporation of 0.15% and 0.30% (w/v) SPI or CS significantly improved phage stability under acidic conditions (pH 2.5) and at 50°C compared to free phages and those entrapped without additives ($p < 0.05$). Under simulated gastric conditions, cassava starch at 0.30% (w/v) allowed over 60% of entrapped phages to survive after 120 minutes, longer than SPI at the same concentration, which maintained survival for only 60 minutes. Both were more effective than phages entrapped without additives, which showed approximately 40% survival after 30 minutes. In simulated small intestine conditions, the both addition of SPI or CS to the beads significantly accelerated the release of phages within 30 minutes, while phages that entrapped in beads without additives were released at 120 minutes. Furthermore, these additions improved phage survival in bile salt solution to over 90% at a concentration of 0.30% (w/v) SPI or CS. Moreover, adding 0.30% (w/v) SPI or CS to the calcium alginate beads resulted in only a slight reduction in phage viability during six months of storage at 4°C ($p < 0.05$). This demonstrates that SPI or CS can effectively entrap *Salmonella* phages, enhance their survival under simulated gastric conditions — particularly with cassava starch — and accelerate their release in the targeted site (small intestine), allowing the phages to control *Salmonella* infections in the gastrointestinal tract.

However, further studies simulating the entire gastrointestinal system are recommended to explore the survival of phages entrapped in calcium alginate beads with SPI and CS for future applications in phage therapy for infectious disease control.