ศิริวรรณ ณะวงษ์ : การแยกและคัดเลือกแบคทีเรียแลคติคโพรไบโอติกที่มีคุณสมบัติลดคอเลสเตอรอลจากกากมันสำปะหลัง (ISOLATION AND SELECTION OF POTENTIAL PROBIOTIC LACTIC ACID BACTERIA FROM CASSAVA PULP FOR CHOLESTEROL LOWERING PROPERTY) อาจารย์ที่ปรึกษา : ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์, 132 หน้า.

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ เพื่อคัดแยก และระบุชนิดของแบคทีเรียโพรไบโอติกที่มีความทนต่อกรดและเกลือน้ำดี และมีคุณสมบัติในการลดปริมาณคอเลสเตอรอลจากกากมันสำปะหลังซึ่งเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูปแป้งมันสำปะหลัง นอกจากนี้ได้ศึกษาผลของกระบวนการห่อหุ้มของเชื้อแบคทีเรียแลคติคโพรไบโอติกต่อการรอดชีวิตในระบบทางเดินอาหารจำลอง รวมทั้งอายุการเก็บรักษา ได้คัดแยกแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติในการลดปริมาณคอเลสเตอรอลจากตัวอย่างกากมันสำปะหลังที่สุ่มเก็บในช่วงวันแรกจนถึงวันที่ 28 จากโรงงานอุตสาหกรมแป้งมันสำปะหลังในจังหวัดนครราชสีมา ประเทศไทย นำแบคทีเรียโพรไบโอติกที่คัดแยกได้ทั้งสิ้น 390 ไอโซเลท มาทำการทดสอบความสามารถในการเจริญในภาวะที่มีเกลือน้ำดีร้อยละ 0.15 และ 0.50 ทดสอบความสามารถเจริญในภาวะความเป็นกรด-ด่าง 2-9 และทดสอบความสามารถผลิตเอนไซม์ย่อยเกลือน้ำดีบนอาหารแข็งที่เติมเกลือน้ำดี (oxgall) ร้อยละ 0.3 พบว่าประมาณ 38 ไอโซเลท แสดงกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยเกลือน้ำดี จากผลการทดสอบการลดปริมาณคอเลสเตอรอลของแบคทีเรียที่คัดเลือก 3 ไอโซเลท (3C2-10, 21C2-10 และ 21C2-12) พบว่าสามารถลดปริมาณคอเลสเตอรอลในอาหารเหลวได้ 18-24 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยเซลล์ที่มีชีวิตเท่านั้น และจากการทดสอบผลการใช้พรีไบโอติก พบว่า แบคทีเรียที่คัดเลือกสามารถใช้ ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS), แลคตูโลส และ อินนูลินได้และมีความสามารถในการเกาะติดกับผนังลำไส้ได้ดี จากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ 16S rRNA gene ของแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ทั้ง 3 ไอโซเลท (3C2-10, 21C2-10 และ 21C2-12) พบว่าเป็น *Lactobacillus plantarum, L. acidophilus* และ *L. fermentum* ตามลำดับ

จากผลการศึกษาการเพิ่มความสามารถในการการรอดชีวิตในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์จำลอง พบว่า สารสกัดจากกากมันสำปะหลัง แป้งข้าว และรำข้าว สามารถเพิ่มอัตราการรอดชีวิตในทางเดินอาหารจำลอง ของแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ทั้ง 3 ไอโซเลท ประมาณ 7 log (CFU/มิลลิลิตร) ที่ภาวะความเป็นกรด-ด่าง 2 นาน 1 ชั่วโมง นอกจากนั้น นวัตกรรมการนำวัตถุดิบตามมาตรฐานอาหารเพื่อใช้ในการห่อหุ้มเซลล์ โดยการใช้ เจลาติน-มอลโตเดกตริน (G-MD) ร่วมกับเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนส (TGase) สามารถป้องกันแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มได้จากสภาวะระบบทางเดินอาหารจำลองเจลาติน-มอลโตเดกตริน (G-MD) ที่ทำจากเจลาติน เอ 300 และความเข้มข้นของเอนไซม์ทรานส์กลูตามิเนส (TGase) 10 ยูนิตต่อกรัม สามารถป้องกันการ

ทำลายของเซลล์แบคทีเรียที่ถูกห่อหุ้ม โดยเอนไซม์เปปซินในน้ำย่อยกระเพาะอาหาร (ที่สภาวะกรด-ด่าง 2 นาน 2 ชั่วโมง อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส) และน้ำย่อยที่ลำไส้ (ที่สภาวะกรด-ด่าง 7.4 นาน 4 ชั่วโมง อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส) จากการรอดชีวิตของแบคทีเรีย *Lactobacillus* ที่ถูกห่อหุ้ม (3C2-10, 21C2-10 และ 21C2-12) พบการลดลง 0.2-1 log (CFU/กรัม) เมื่อเปรียบเทียบการลดลงของเชื้อแบคทีเรียอิสระพบ 3-4 log (CFU/กรัม) การศึกษานี้แสดงให้เห็นถึงแนวโน้มของแบคทีเรียโพรไบโอติกที่คัดเลือกได้ทั้ง 3 ไอโซเลท มีคุณสมบัติในการลดระดับคอเลสเตอรอล

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร ลายมือชื่อนักศึกษา_____

ปีการศึกษา 2558 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา_____

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม_____

SIRIWAN NAWONG : ISOLATION AND SELECTION OF POTENTIAL PROBIOTIC LACTIC ACID BACTERIA FROM CASSAVA PULP FOR CHOLESTEROL LOWERING PROPERTY. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. RATCHADAPORN OONSIVILAI, Ph.D., 132 PP.

PROBIOTIC LACTIC ACID BACTERIA/ CASSAVA PULP/ CHOLESTEROL LOWERING PROPERTY

The objectives of this study were to isolate and identify potential probiotic bacterial strains from cassava pulp based on their acid and bile salt tolerances and cholesterol lowering activities. In addition, the influence of the microencapsulation process on the survival of potential probiotic lactic acid bacterial strains in simulated gastrointestinal conditions including storage time were studied. Cholesterol lowering probiotic bacteria were isolated from cassava pulp samples which were ramdomly collected from tapioca starch industries in Nakhon Ratchasima, Thailand from the first day to the 28thday. Three hundred and ninety isolates were tested for their tolerance on bile salt at concentrations of 0.15% and 0.50%, also from at pH 2 to 9 including bile salt hydrolase (BSH) activities were tested on plates containing 0.3% oxgall. Approximately 38 isolates showed BSH activity. Three selected strains (3C2-10, 21C2-10 and 21C2-12) could decrease cholesterol concentration in culture broth 18-24 µg/mL by only active cells. All selected strains (3C2-10, 21C2-10 and 21C2-12) showed the ability to metabolize prebiotics as Fructooligosaccharide (FOS), lactulose and inulin, and also showed the ability to strengthen cell adhesion. From 16S rDNA nucleotide sequence analysis, three strains (3C2-10, 21C2-10 and 21C2-12) were

identified as *Lactobacillus plantarum, L. acidophilus* and *L. fermentum,* respectively.

From the study related to the ability to survive in the simulated gastro-intestinal tract of selected strains, the results showed that the viability of three *Lactobacillus* strains (3C2-10, 21C2-10 and 21C2-12) were improved by approximately 7 log (CFU/mL) in the presence of cassava pulp, rice starch and rice bran at pH 2 with 1h incubation time. In addition, a novel formulation of food-grade phase-separated gelatin-maltodextrin (G-MD) microspheres, where the gelatin was cross-linked with transglutaminase (TGase), would protect encapsulated probiotic lactic acid bacteria during exposure to the simulated upper gastro-intestinal tract conditions. The G-MD microsphere made with gelatin A300 bloom and a TGase concentration of 10 U/g prevented pepsin-induced degradation of the microspheres in simulated gastric juice (pH 2.0, 2 h , 37^{o}C) and intestinal juice (pH 7.4, 4 h , 37^{o}C). The survivor levels of the three encapsulated *Lactobacilllus* sp. (3C2-10, 21C2-10 and 21C2-12) were reduced by 0.2-1 log (CFU/g) as compard to 3-4 log (CFU/g) for the free non-encapsulated cells. The stability of the encapsulated process could provide protection for three strains of *Lactobacillus* sp. cells in refrigerated storage for 40 days. These studies demonstrated the potential of three selected isolates to be the probiotic lactic acid bacteria for cholesterol lowering property.

School of Food Technology Student's Signature_____

Academic Year 2015 Advisor's Signature_____

Co-advisor's Signature_____