ผลของโพรไบโอติกส์แบบหุ้มเซลล์ร่วมกับแคนนาบิไดออล ต่อการผลิตเครื่องดื่มหมักจากจมูกข้าวสาลี

Effect of Encapsulated Probiotic with Cannabidiol on the Production of Fermented beverage from Wheat Bran

อุไรวรรณ แก้วถาวรณ์
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รัชนู เมยดง
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รองศาสตราจารย์ ดร.บุญมี กวินเสกสรรค์

บทคัดย่อ

เครื่องดื่มที่มีส่วนผสมของจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์จัดเป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ งานวิจัยนี้มีจุดประสงค์เพื่อพัฒนาหัวเชื้อโพรไบโอติกส์แบบหุ้มเซลล์ของสายพันธุ์ *Lactiplantibacillus plantarum* BL23b ร่วมกับสารแคนนาบิไดออล (CBD) ในการผลิตเครื่องดื่มหมักจากจมูกข้าวสาลี โดยหัวเชื้อโพรไบโอติกส์แบบหุ้มเซลล์ในการทดลองนี้มี 3 สูตร คือสูตรที่ไม่มีสาร CBD (PCBD 0) สูตรที่มีสาร CBD ร้อยละ 0.01 (PCBD 0.01) และสูตรที่มีสาร CBD ร้อยละ 0.02 (PCBD 0.02) เมื่อหมักเครื่องดื่มจากจมูกข้าวสาลีด้วยหัวเชื้อ PCBD 0.01 พบมีการเจริญของโพรไบโอติกส์สูงสุดอยู่ที่ 4.35×10^6 CFU/ml เมื่อเก็บรักษาเครื่องดื่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน มีร้อยละการรอดชีวิตของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกส์อยู่ที่ร้อยละ 100 และมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระอยู่ที่ร้อยละ 89.37 ทั้งนี้ยังพบว่าเครื่องดื่มหมักจมูกข้าวสาลีที่หมักด้วย PCBD 0.01 และ PCBD 0.02 มีกิจกรรมต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรค 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Salmonella enterica* serovar Typhimurium*, Staphylococcus aureus, Escherichia coli* และ *Klebsiella pneumoniae* ในด้านคุณค่าทางโภชนาการเครื่องดื่มหมักโพรไบโอติกส์นี้ไม่เพียงแต่เป็นแหล่งของโพรไบโอติกส์แต่ยังให้พลังงานต่ำ ซึ่งเครื่องดื่มหมักจากจมูกข้าวสาลีจากการศึกษานี้จะเป็นทางเลือกหนึ่งของเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ

คำสำคัญ: โพรไบโอติกส์, สารแคนนาบิไดออล, จมูกข้าวสาลี

ABSTRACT

Beverages containing probiotic microorganisms are classified as functional beverages. The aim of this study was to develop encapsulated probiotic starter culture of *Lactiplantibacillus plantarum* BL23b containing cannabidiol (CBD) for applying in fermented wheat germ beverage. The encapsulated probiotic starter culture in this study had 3 formulas: a formula without CBD (PCBD 0), 0.01 % of CBD (PCBD 0.01), and 0.02 % of CBD (PCBD 0.02). Fermentation of wheat germ beverage with PCBD 0.01 showed highest the growth of probiotic at 4.35 x 10^6 CFU/ml. The survival of probiotics after stored at 4 °C for 28 days was 100% and antioxidant activity was 89.37%. Moreover, the fermented wheat germ with PDBD 0.01 and PCBD 0.02 showed antimicrobial activity against 4 strains of pathogenic bacteria, including: *Salmonella enterica* serovar Typhimurium*, Staphylococcus aureus, Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. Nutrition of fermented wheat germ probiotic beverage is not only a source of probiotics but also low in calories. The fermented wheat germ probiotic beverage would be an alternative beverage as health benefit functional food.

Keywords: Probiotics; Cannabidiol; Wheat germ

1. บทนำ

ผู้คนในปัจจุบันใส่ใจในการดูแลสุขภาพ ตลาดของอาหารเพื่อสุขภาพจึงมีมูลค่าเพิ่มขึ้นในทุก ๆ ปี ตลาดอาหารเพื่อสุขภาพ เป็นหนึ่งในตลาดกลุ่มอาหาร Future food โดยในปี 2563 มีมูลค่าอยู่ที่ 1,030 พันล้านเหรียญดอลล่าสหรัฐ และคาดว่าตลาดจะขยายตัวเฉลี่ยร้อยละ 6 ต่อปี ไปจนถึงปี 2570 ซึ่งคาดว่าจะมีมูลค่าอยู่ที่ 1,550 พันล้านเหรียญดอลล่าสหรัฐ (สถาบันอาหาร กระทรวงอุตสาหกรรม, 2564) อาหารเพื่อสุขภาพประกอบไปด้วยอาหารที่มีส่วนผสมของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ อาหารที่กระตุ้นการทำงานของร่างกาย รวมถึงอาหารที่มีองค์ประกอบของจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์ร่วมด้วย (Balthazar et al., 2022) นิยามของโพรไบโอติกส์คือจุลินทรีย์ที่มีชีวิต เมื่อร่างกายได้รับเข้าไปในปริมาณที่เหมาะสมจะส่งผลดีต่อสุขภาพ (FAO/WHO, 2002) และกลุ่มแบคทีเรียโพรไบโอติกส์ที่ถูกใช้ในการนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่ม ได้แก่สายพันธุ์ *Lactobacillus fermentum* LF026, *Bifidobacterium animalis* BF052 (สุภัสสร วันสุทะ และคณะ, 2562) *Lactobacillus casei* (Hatami et al., 2023) *Lactobacillus fermentum, L. plantarum* และ *B. bifidum* (Nissen et al., 2020) *S. thermophilus, L. acidophilus* และ *Bifidobacterium bifidum* BB-12 (Atwaa et al., 2019) ซึ่งจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์เหล่านี้สามารถสร้างสารที่เกิดประโยชน์ต่อร่างกาย รวมถึงรักษาสมดุลของระบบทางเดินทางอาหาร ลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคไม่เรื้อรัง ปรับสมดุลระบบภูมิคุ้มกัน ลดระดับคอเรสเตอรอล ต้านอนุมูลอิสระ (Khosroshahi et al., 2022; Bayat et al., 2022) ยับยั้งการเกิดมะเร็ง

ในปัจจุบันอาหารจากจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์ประกอบด้วยผลิตภัณฑ์กลุ่มหลักที่ทำมาจากน้ำนมสัตว์ เช่น โยเกิร์ต นมเปรี้ยว และชีส นอกจากนี้ยังสามารถพบจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์ได้ในผลิตภัณฑ์อีกหลายรูปแบบ ไม่ว่าจะเป็นผงแป้ง แคปซูล ยาเม็ดเคี้ยว สารละลาย ยา

เหน็บช่องคลอด หรือเป็นส่วนผสมในอาหารและเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ เป็นต้น (พงศธร ประภักวรางกูล, 2563) รวมถึงในรูปแบบเครื่องดื่มซึ่งได้รับความนิยมในปัจจุบัน ซึ่งเครื่องดื่มที่มีโพรไบโอติกส์ส่วนมากทำมาจากน้ำนมวัว เช่น นมเปรี้ยว หรือโยเกิร์ตพร้อมดื่ม แต่ทั้งนี้อาหารที่ผลิตจากน้ำนมส่งผลต่อผู้บริโภคบางกลุ่มที่แพ้น้ำนมสัตว์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการแพ้นมวัว นอกจากนี้ยังมีกลุ่มคนที่ไม่รับประทานอาหารที่มาจากสัตว์ เช่น กลุ่มทานเจ และวีแกน จึงจำเป็นอย่างยิ่งที่ต้องเพิ่มอาหารเพื่อสุขภาพที่ไม่มีส่วนประกอบมาจากน้ำนมสัตว์ เพื่อรองรับผู้บริโภคที่มีความต้องการหลากหลาย ปัจจุบันจึงมีการพัฒนาเครื่องดื่มโพรไบโอติกส์ที่ไม่มีส่วนผสมของน้ำนม เช่นในงานวิจัยของ สุภัสสร วันสุทะ และคณะ (2562) ได้พัฒนาเครื่องดื่มน้ำแครรอทที่หมักด้วยโพรไบโอติกส์แบบห่อหุ้มเซลล์จากเชื้อแบคทีเรีย *L. fermentum* LF026 และ *B. animalis* BF052 และในงานของ Nakkarach and Withayagiat (2018) พัฒนาเครื่องดื่มซินไบโอติกส์จากสารสกัดมอลต์ข้าวไรซ์เบอร์รี่ ที่ห่อหุ้มเซลล์แบคทีเรียโพรไบโอติกส์ *L. plantarum* TC24 ด้วยแคลเซียมอัลจิเนต เปรียบเทียบกับไม่ห่อหุ้มเซลล์ พบว่าการห่อหุ้มแคลเซียมอัลจิเนตช่วยเพิ่มความอยู่รอดของ *L. plantarum* TC24 ภายใต้สภาวะของระบบทางเดินอาหารได้ อีกทั้งในงานของ (Atwaa et al. (2019) ได้พัฒนาเครื่องดื่มน้ำนมข้าวโพรไบโอติกส์เสริมเนื้อมะม่วงและมะละกอเสริมด้วยแบคทีเรียโพรไบโอติกส์สายพันธุ์ *Streptococcus thermophilus, L. acidophilus* และ *B. bifidum* BB-12 เป็นต้น

ปัจจุบันสารสกัดจากพืชที่กำลังได้รับความสนใจคือสารสกัดจากกัญชงและกัญชา นั่นคือสารแคนนาบิไดออล (Cannabidiol, CBD) โดยมีคุณสมบัติเด่นที่สำคัญคือ ลดการอักเสบ ต้านสารอนุมูลอิสระ และยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ (Kitamura et al., 2020; Martinenghi et al., 2020) จากที่กล่าวมาจึงเป็นที่มาของงานวิจัยนี้ที่ต้องการใช้ประโยชน์จากจมูกข้าวสาลีและสาร CBD ในการพัฒนาหัวเชื้อโพรไบโอติกส์แบบหุ้มเซลล์ร่วมกับสาร CBD เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการผลิตเครื่องดื่มหมักจากจมูกข้าวสาลี เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการผลิตเครื่องดื่มโพรไบโอติกส์ ชนิดใหม่ ๆ

2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อพัฒนาหัวเชื้อโพรไบโอติกส์แบบหุ้มเซลล์ร่วมกับสาร CBD ในการผลิตเครื่องดื่มหมักจากจมูกข้าวสาลี

3. วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 จุลินทรีย์ที่ใช้ในงานวิจัย

เชื้อโพรไบโอติกส์สายพันธุ์ *Lactiplantibacillus plantarum* BL23b เป็นเชื้อที่เก็บใน Stock culture ของ ผศ.ดร.รัชนู เมยดง สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา

3.2 การเตรียมจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์

การเตรียมจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์ *Lactiplantibacillus plantarum* BL23b เลี้ยงเชื้อด้วยอาหาร MRS broth นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อเก็บรักษาเซลล์และทำการเจือจางด้วยสารละลาย Normal Saline Solution (NSS, NaCl ร้อยละ 0.85) จากนั้นนำไปวัดค่าความขุ่นด้วยเครื่อง Spectrophotometer และปรับให้มีค่าความขุ่น OD_{600} เท่ากับ 1.0 (1×10^9 CFU/ml) ก่อนที่จะนำไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.3 การเตรียมหัวเชื้อเอนแคปซูเลชันของโพรไบโอติกส์และสาร CBD

ในการเตรียมหัวเชื้อเอนแคปซูเลชันของโพรไบโอติกส์และสาร CBD ใช้โซเดียมอัลจิเนตร้อยละ 2.0 ละลายด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร รวมถึงสาร CBD ผสมให้เข้ากัน หัวเชื้อสูตรที่ 1 ไม่มีสารสกัด CBD (PCBD 0)

หัวเชื้อสูตรที่ 2 ใช้ CBD ร้อยละ 0.1 (PCBD 0.01) และหัวเชื้อสูตรที่ 3 ใช้ CBD ร้อยละ 0.02 (PCBD 0.02) จากนั้นเติมเชื้อโพรไบโอติกส์สายพันธุ์ *Lactiplantibacillus plantarum* BL23b ปริมาตร 1 มิลลิลิตร (10^9 CFU/ml) จากนั้นผสมให้เข้ากันหยดลงในสารละลายแคลเซียมคลอไรด์ ที่ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (0.1 M $CaCl_2$) โดยใช้เข็มฉีดยาขนาด 20G ความสูงของปลายเข็มฉีดยากับสารละลาย 0.1 M $CaCl_2$ ที่ 5 เซนติเมตร จากนั้นแช่เม็ดเจลในสารละลาย 0.1 M $CaCl_2$ เป็นเวลา 30 นาที ก่อนแยกเม็ดเจล ออกโดยการกรองผ่านผ้าขาวบาง หลังจากกรองเสร็จแล้วนำเม็ดเจลที่ได้มาล้าง 2 ครั้งด้วยสารละลายเปปโตน (peptone) ความเข้มข้น ร้อยละ 0.1 จากนั้นนำเม็ดเจลไปแช่เย็นเพื่อเตรียมทำเครื่องดื่มในขั้นตอนต่อไป

3.4 การเตรียมน้ำจมูกข้าวสาลีสกัดสำหรับทำเครื่องดื่ม

กระบวนการสกัดทำตามวิธีของ Nakkarach and Withayagiat (2018) โดยดัดแปลงบางส่วนซึ่งมีวิธีการดังนี้ นำจมูกข้าวสาลี (Wheat Germ) มาปั่นให้ละเอียด จากนั้นแช่จมูกข้าวสาลีอัตราส่วน 5 กรัมต่อน้ำ 100 มิลลิลิตร (1:20) โดยสกัดด้วยความร้อนเพื่อให้การย่อยสลายแป้งได้สมบูรณ์เรียกว่า Wheat Germ Extract (WGE) เพื่อใช้ในการทำเครื่องดื่มต่อไป

องค์ประกอบของเครื่องดื่มใน 1 ลิตรประกอบด้วย จมูกข้าวสาลีสกัด 500 มิลลิลิตร น้ำสะอาด 500 มิลลิลิตร เจลิติน 0.2 กรัม และน้ำตาลซูโครส 100 กรัม เครื่องดื่มสูตร 1 ใช้หัวเชื้อ PCBD 0 สูตรที่ 2 ใช้ PCBD 0.01 และสูตรที่ 3 ใช้ PCBD 0.02 ผสมส่วนประกอบให้เข้ากัน จากนั้นบรรจุลงขวด แล้วนำไปพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ขั้นตอนต่อมาเตรียมหัวเชื้อเอนแคปซูเลชั่นของโพรไบโอติกส์และสาร CBD ของเครื่องดื่มสูตรทั้ง 3 สูตร ใส่ลงในขวดที่ความเข้มข้นของหัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 1 นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0, 24 และ 48 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างเครื่องดื่มหลังบ่มชั่วโมง ที่ 0, 24 และ 48 มาศึกษาการเจริญของโพรไบโอติกส์ด้วยวิธี plate count ในอาหาร MRS agar ผสม $CaCO_3$ ร้อยละ 0.5 (MRS+$CaCO_3$) และวัดค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter แล้วบันทึกผล

3.5 การศึกษาการเก็บรักษา (shelf life) ของเครื่องดื่มหมักจากจมูกข้าวสาลีสกัดผสมเอนแคบซูเลชันของโพรไบโอติกส์และสาร CBD

เก็บเครื่องดื่มหมักจากจมูกข้าวสาลีสกัดผสมเอนแคปซูเลชันของโพรไบโอติกส์และสาร CBD สูตรที่ 1, 2 และ 3 ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน โดยนำเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพจากข้าวจมูกข้าวสาลีผสมเอนแคปซูเลชันของโพรไบโอติกส์และสาร CBD สูตรที่ 1, 2 และ 3 มาทำการวิเคราะห์ ในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 28 ได้แก่ การวิเคราะห์การรอดชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติกส์ระหว่างการเก็บรักษา ตรวจเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียด้วยวิธีเอ็มพีเอ็น (Most probable number, MPN) การตรวจกิจกรรมการต้านสารอนุมูลอิสระ การตรวจวิเคราะห์กิจกรรมต้านเชื้อแบคทีเรีย (antibacterial activity) ตามวิธีของ Meidong et al. (2018) โดยนำตัวอย่างเครื่องดื่มหมักจากจมูกข้าวสาลีสกัดที่เก็บไว้ของวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 28 นำไปปั่นเหวี่ยง 6000 rpm อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เพื่อเก็บส่วนใส จากนั้นนำไปทดสอบในขั้นตอนการตรวจกิจกรรม antibacterial activity ซึ่งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคที่ใช้ในการทดสอบมีทั้งหมด 4 ชนิด ได้แก่ *Salmonella enterica* serovar Typhimurium, *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* และ *Klebsiella pneumonia*

3.6 สถิติที่ใช้ในการวิจัย

ค่าเฉลี่ยจากการทดลองในการศึกษาการรอดชีวิตของเชื้อโพรไบโอติกส์ ทุกการทดลอง 3 ซ้ำ และนำไปวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนแบบทางเดียว (One way Analysis of variance ANOVA) เมื่อพบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's new Multiple Range Test (DMRT) ที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรม SPSS for Windows

4. สรุปผลการวิจัย

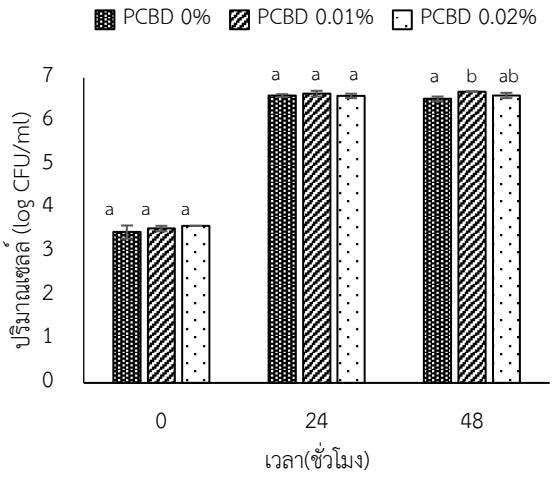
4.1 ผลการเจริญของโพรไบโอติกส์ในเครื่องดื่มจมูกข้าวสาลี

ผลการเจริญเของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกส์ สายพันธุ์ *Lactiplantibacillus plantarum* BL23b ในเครื่องดื่มหมักจากจมูกข้าวสาลีสกัดที่มีปริมาณสาร CBD ที่แตกต่างกันแสดงในภาพที่ 1 พบว่าเครื่องดื่มทั้ง 3 สูตร มีการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกส์ในชั่วโมงที่ 24 เครื่องดื่มทั้ง 3 สูตร มีการเจริญของเชื้อแบคที่เรียโพรไบโอติกส์อยู่ระหว่าง 3.85×10^6 – 4.35×10^6 CFU/ml โดยสูตรที่มีการเจริญสูงสุดคือสูตรที่มีสาร CBD ร้อยละ 0.01 แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับเครื่องดื่มสูตร PCBD 0.02 ผลการตรวจวัดค่า pH ระหว่างการศึกษาการเจริญเของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกส์ สายพันธุ์ *L. plantarum* BL23b ในเครื่องดื่มหมักจากจมูกข้าวสาลีสกัดผสมเอนแคปซูเลชันของโพรไบโอติกส์และสาร CBD พบว่าเครื่องดื่มทั้ง 3 สูตร มีค่า pH ในชั่วโมงที่ 24 ชั่วโมง พบว่าเครื่องดื่มทั้ง 3 สูตร มีค่า pH ลดลงอยู่ระหว่าง 4.12 – 4.21 โดยสูตรที่มีค่า pH ต่ำที่สุดคือสูตรที่ไม่มีสาร CBD (PCBD 0)

4.2 ผลการรอดชีวิตของโพรไบโอติกส์และผลตรวจโคลิฟอร์มในเครื่องดื่มระหว่างการเก็บรักษา

การรอดชีวิตของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกส์ สายพันธุ์ *L. plantarum* BL23b ที่เก็บรักษาในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 28 วัน แสดงในภาพที่ 2 เพื่อเปรียบเทียบกับปริมาณเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกส์ ในวันที่ 28 ของการเก็บรักษา เครื่องดื่มทั้ง 3 สูตร มีค่าร้อยละการรอดชีวิตของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกส์อยู่ระหว่างร้อยละ 100 โดยเครื่องดื่มทั้ง 3 สูตร เมื่อเก็บรักษาครบ 28 วันแล้ว เชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกส์ สายพันธุ์ *L. plantarum* BL23b สามารถรอดชีวิตอยู่ได้ แม้ในเครื่องดื่มจะมีปริมาณสาร CBD ที่แตกต่างกัน

ผลการตรวจโคลิฟอร์มด้วยวิธีเอ็นพีเอ็น คือไม่พบเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียในตัวอย่างเครื่องดื่มหมักจากจมูกข้าวสาลีสกัดผสมเอนแคปซูเลชันของโพรไบโอติกส์และสาร CBD ทั้ง 3 สูตร ตลอดระยะเวลาที่เก็บรักษา 28 วัน แสดงให้เห็นว่าขั้นตอนในการทำเครื่องดื่มมีความสะอาดและปลอดภัย



ภาพที่ 1 การเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติกส์ 48 ชั่วโมง หลังการบ่ม ตัวอักษรตัวยกที่แตกต่างกันแสดงนัยสำคัญทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

4.3 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระระหว่างการเก็บรักษา

ผลการตรวจกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระระหว่างการเก็บรักษาของเครื่องดื่มหมักจากจมูกข้าวสาลีสกัดทั้ง 3 สูตร หลังการหมักเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าเครื่องดื่มหมักจากจมูกข้าวสาลีมีค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระระหว่างการเก็บอยู่ระหว่างร้อยละ 85.64 - 90.33 โดยสูตรที่มีสาร CBD ร้อยละ 0.02 (PCBD 0.02) มีค่าการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด (ร้อยละ 90.33) แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับสูตร PCBD 0.01 (ร้อยละ 89.82) จากผลการศึกษาการเจริญของเชื้อโพรไบโอติกส์สายพันธุ์ *L. plantarum* BL23b และค่ากิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ จึงคัดเลือกสูตรที่มีปริมาณสาร CBD ร้อยละ 0.01 ที่ให้ผลการเจริญดีที่สุดและมีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระที่สูง มาศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระระหว่างการเก็บรักษาในวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 28 พบว่าเครื่องดื่มหมักจากจมูกข้าวสาลีสูตรที่มีปริมาณสาร CBD ร้อยละ 0.01 มีค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระระหว่างการเก็บอยู่ระหว่างร้อยละ 88.98 – 89.78 โดยวันที่ 7 มีค่ากิจกรรมการต้าน

อนุมูลอิสระสูงที่สุด อยู่ที่ร้อยละ 89.78 แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับวันอื่น ๆ ของการศึกษา

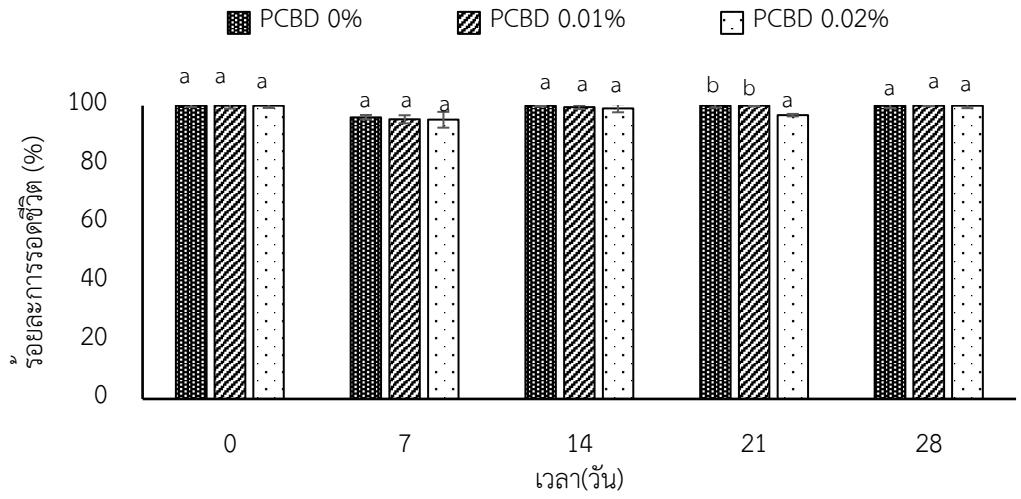
4.4 กิจกรรมต้านเชื้อแบคทีเรียของเครื่องดื่มระหว่างการเก็บรักษา

ผลการตรวจกิจกรรมต้านเชื้อแบคทีเรียของเครื่องดื่มระหว่างการเก็บรักษา ระหว่างเครื่องดื่มทั้ง 3 สูตรกับเชื้อแบคทีเรียก่อโรคทั้ง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ *Salmonella* Typhimurium, *S. aureus, E. coli* และ *K. pneumoniae* แสดงในตารางที่ 1 จากการวัดโซนใสในการยับยั้งหลังจากนำไปบ่มที่ อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าในช่วงวันที่ 0, 7, 14, 21 และ 28 เครื่องดื่มสูตรที่ไม่มีสาร CBD (PCBD) ไม่ปรากฏโซนใส ในเชื้อที่ใช้ทดสอบทั้ง 4 สายพันธุ์ ส่วนเครื่องดื่มสูตรที่มีสาร CBD ร้อยละ 0.01 (PCBD 0.01) และสูตรที่มีสาร CBD ร้อยละ 0.02 (PCBD 0.02) ปรากฏโซนใสในการยับยั้งโดยยับยั้งได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแบคทีเรียแกรมลบ โดยยับยั้ง *S. aureus* ได้สูงกว่าเชื้อแบคทีเรียทดสอบอื่น รองลงมาคือ *Salmonella* Typhimurium, *E. coli* และ *K. pneumoniae* ตามลำดับ

5. อภิปรายผล

ในการวิจัยครั้งนี้ เป็นการศึกษาผลของโพรไบโอติกส์แบบหุ้มเซลล์ร่วมกับสารแคนนาบิไดออล (CBD) ต่อการผลิตเครื่องดื่มหมักจากจมูกข้าวสาลี การเจริญของเชื้อโพรไบโอติกส์ในเครื่องดื่มหมักที่ไม่มีส่วนผสมของนม งานวิจัยของ Marnpae et al. (2022) ทำเครื่องดื่มน้ำฟักข้าวหมักร่วมกับ *L. paracasei* พบว่าเครื่องดื่มน้ำฟักข้าวร้อยละ 10 ที่มีโพรไบโอติกส์เริ่มต้นอยู่ที่ 7.27 log CFU/ml เมื่อหมักเป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีการเจริญของโพรไบโอติกส์อยู่ที่ 8.38 log CFU/ml และงานวิจัยของ Chen et al. (2020) ได้พัฒนาเดื่องดื่มหมักจากข้าวโอ๊ตร้อยละ 10 หมักร่วมกับ *Lactobacillus fermentum* PC1 โดยโพรไบโอติกส์เริ่มต้นอยู่ที่ 7.12 log CFU/ml เมื่อหมักเป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีการเจริญอยู่ที่ 7.96 log CFU/ml จากงานวิจัยดังกล่าวเมื่อเทียบการเจริญโพรไบโอติกส์ในเครื่องดื่มหมักจากจมูกข้าวสาลี พบว่าเครื่องดื่มหมักจากจมูกข้าวสาลีมีการเจริญของโพรไบโอติกส์มากกว่าของทั้ง 2 งานวิจัยข้างต้น โดยในเครื่องดื่มหมักจากจมูกข้าวสาลีพบว่า โพรไบโอติกส์ในชั่วโมงเริ่มต้นอยู่ที่ 3.54 log CFU/ml เมื่อหมักเป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีการเจริญอยู่ที่ 6.63 log CFU/ml (PCBD 0.01)

การรอดชีวิตของเชื้อโพรไบโอติกส์ในเครื่องหมักระหว่างการเก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน จากงานวิจัยของ สุภัสสร วันสุทะ และคณะ (2562) ได้เก็บน้ำแครรอทที่หมักด้วยแบคทีเรียโพรไบโอติกส์ *Lactobacillus fermentum* LF026 และ *Bifidobacterium animalis* BF052 พบว่าเก็บรักษาครบ 28 วัน สูตรที่หมักร่วมกับเชื้อโพรไบโอติกส์ *Lb. fermentum* LF026 อยู่ที่ 8.13 log CFU/ml (เริ่มต้น 8.17 log CFU/ml) และสูตรที่หมักร่วมกับเชื้อโพรไบโอติกส์สายพันธุ์ *Bifidobacterium animalis* BF052 อยู่ที่ 9.28 log CFU/ml (เริ่มต้น 9.34 log CFU/ml) และในงานวิจัยของ Battistini et al. (2017) ได้หมักน้ำถั่วเหลืองร่วมกับเชื้อโพรไบโอติกส์ *Lactobacillus acidophilus* La-5 , *Bifidobacterium animalis* Bb-12 และ *Streptococcus thermophilus* พบว่าเมื่อเก็บครบ 28 วัน สูตรที่หมักด้วย *L. acidophilus* La-5 มีปริมาณการรอดอยู่ที่ 6.18 log CFU/ml (เริ่มต้น 7.56 log CFU/ml) สูตรที่หมักด้วยเชื้อโพรไบโอติกส์ *Streptococcus thermophilus* ปริมาณการรอดอยู่ที่ 7.90 log CFU/ml (เริ่มต้น 8.22 log CFU/ml) และสูตรที่หมักด้วยเชื้อโพรไบโอติกส์ *Bifidobacterium animalis* Bb-12 ปริมาณการรอดอยู่ที่ 8.30 log CFU/ml (เริ่มต้น 8.58 log CFU/ml) โดยในงานวิจัยเครื่องดื่มหมักจากจมูกข้าวสาลี พบการรอดชีวิตของโพรไบโอติกส์ในเครื่องดื่มอยู่ที่ 6.65 log CFU/ml (เริ่มต้น 6.63 log CFU/ml) ในสูตร PCBD 0.01 ซึ่งเมื่อเทียบกับทั้ง 2 งานวิจัยของต้นจะพบว่างานวิจัยมีปริมาณการรอดของโพรไบโอติกส์เพิ่มขึ้นเมื่อเก็บรักษาครบ 28 วัน และปริมาณการรอดของโพรไบโอติกส์สูงเหมือนกับวันแรกๆ ของการผลิตเครื่องดื่ม



ภาพที่ 2 ร้อยละการรอดชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติกส์ สายพันธุ์ *Lactiplantibacillus plantarum* BL23b

ตารางที่ 1 ผลของเครื่องดื่มสูตร PCBD 0.01 ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค

เวลาการเก็บรักษา (วัน)	โซนใสในการยับยั้ง (mm)			
	Salmonella Typhimurium	*S. aureus*	*E. coli*	*K. pneumoniae*
0	15.00±0.00^{b}	20.66±0.57^{b}	14.66±0.57^{d}	12.33±0.57^{c}
7	15.33±0.57^{b}	20.66±0.57^{b}	14.33±0.57^{d}	12.33±0.57^{c}
14	14.66±0.57^{b}	20.00±0.00^{b}	12.00±0.00^{c}	11.33±0.57^{b}
21	10.33±0.57^{a}	15.66±0.57^{a}	10.00±0.00^{b}	8.00±0.00^{a}
28	10.33±0.57^{a}	14.66±0.57^{a}	8.00±0.00^{a}	8.00±0.00^{a}

ตัวอักษรตัวยกที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์ แสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ความมเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระจากการหมักจมูกข้าวสาลีร่วมกับเชื้อโพรไบโอติกส์ งานวิจัยของ Khosroshahi et al. (2022) ใช้จมูกข้าวสาลีร้อยละ 20 หมักร่วมกับแบคทีเรียโพรไบโอติกส์ *Lactobacillus plantarum* และ *Lactobacillus acidophilus* พบว่าสามารถเพิ่มกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระจากร้อยละ 51.18 เพิ่มเป็นร้อยละ 72.73 Bayat et al. (2022) หมักจมูกข้าวสาลีในอัตราส่วน 10 กรัมต่อน้ำ 200 มิลลิลิตร ร่วมกับแบคทีเรียโพรไบโอติกส์ *Lactobacillus plantarum* strain 299v มีค่าการต้านอนุมูลอิสระอยู่ที่ร้อยละ 89.15 จากงานวิจัยทั้ง 2 งานพบว่าการหมักจมูกข้าวสาลีร่วมกับโพรไบโอติกส์สามารถเพิ่มการต้านอนุมูลอิสระได้ โดยงานวิจัยมีการหมักจมูกข้าวสาลีร่วมแบคทีเรียโพรไบโอติกส์ *Lactiplantibacillus plantarum* BL23b ซึ่งมีค่าการต้านอนุมูลอิสระอยู่ที่ 89.37 ซึ่งมีค่าการต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกับของ Bayat et al. (2022)

กิจกรรมต้านเชื้อก่อโรคที่ใช้สารแคนนาบิไดออล (CBD) ในการยับยั้งเชื้อ จากงานวิจัยของ Russo et al. (2021) ใช้สาร CBD ต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียสายพันธุ์ *Salmonella typhimurium* และ *Salmonella newington* ในอาหารเลี้ยงเชื้อมีความเข้มข้นของสาร CBD ที่ 0.0125 µg/mL สามารถยับยั้งเชื้อ *Sal.*

newington และที่ความเข้มข้นเท่ากับ 0.125 µg/ml สามารถยับยั้งเชื้อ *Salmonella* Typhimurium ได้ งานวิจัยของ Martinenghi et al. (2020) ได้นำสาร CBD มาทดสอบการต้านเชื้อ พบว่าสาร CBD ยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ดีในแกรมบวก สายพันธุ์ *Staphylococcus aureus* และ *Staphylococcus epidermidis* รวมถึงยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่ *E. coli* และ *Pseudomonas aeruginosa* โดยมีค่าความเข้มข้นของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียอยู่ในช่วง 1-2 µg/ml โดยในงานวิจัยได้ใช้สาร CBD ในปริมาณร้อยละ 0.01 กรัมที่อยู่ในเครื่องดื่มมาทดสอบพบว่าสามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้แก่ *Salmonella* Typhimurium, *Staphylococcus aureus, Escherichia coli* และ *Klebsiella pneumoniae* โดยสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบได้ดีกว่าแกรมบวก (Martinenghi et al., 2020)

6. ข้อเสนอแนะ

ข้อเสนอแนะในการนำผลการวิจัยไปใช้

ในการวิจัยครั้งนี้สามารถนำผลการวิจัยไปพัฒนาเป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพจากจมูกข้าวสาลี ที่ให้พลังงานต่ำ มีปริมาณโพรไบโอติกส์ที่ดีต่อสุขาพ มีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ และกิจกรรมในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรค

ข้อเสนอแนะในการทำการวิจัยครั้งต่อไป

เพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาต่อไป ผู้วิจัยจึงขอเสนอแนะประเด็นที่น่าศึกษาต่อไป เช่น การนำงานวิจัยไปศึกษาต่อในด้านประสาทสัมผัสเพื่อพัฒนารสชาติของเครื่องดื่มให้เป็นที่ยอมรับมากขึ้น และกระบวนการหมักเพื่อให้มีปริมาณโพรไบโอติกส์ที่สูงขึ้น รวมถึงการหมักโพรไบโอติกส์สายพันธุ์นี้ในธัญพืชชนิดอื่น ๆ เพื่อให้เกิดความหลากหลายของเครื่องดื่ม

7. เอกสารอ้างอิง

พงศธร ประภักรางกุล. (2563). โพรไบโอติกส์ Probiotics. ปทุมธานี: **สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) กระทรวงการอุดมศึกษาวิทยาศาสตร์ วิจัย และนวัตกรรม**, 2563. 48 หน้า. ISBN 978-974-9534-59-5

สถาบันอาหาร กระทรวงอุตสาหกรรม. (2564). สำรวจยอดขายอาหาร กลุ่ม Future food ยังน่าสนใจอยู่หรือไม่. สืบค้นเมื่อวันที่ 8 สิงหาคม 2566 จาก https://www.nfi.or.th/food-warrior/files/WR-64-PPT-3-Futurefood_sale.pdf.

สุภัสสร วันสุทะ ลัดดาวัลย์ ยืนยาว เขมวิทย์ จันต๊ะมา และ ศิริมา สุวรรณกูฏ จันต๊ะมา. (2562). ความคงตัวของแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ผ่านการห่อหุ้มเซลล์ ด้วยวิธีเอ็กซ์ทรูชันในน้ำแครอท. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี**, 7(2), 41-60. ISSN 2287-0083

Atwaa, E. H., Elmaadawy, A.A. and Awaad, E.A. (2019). Production of fruit flavored probiotic rice milk beverage. **Journal of Food and Dairy Sciences**, 10 (2), 453-458.

Balthazar, C.F., Guimarães, J.F., Coutinho, N.M., Pimentel, T.C., Ranadheera, C.S., Santillo, A., Albenzio, M., Cruz, A.G. and Sant'Ana, A. S. (2022). The future of functional food: Emerging technologies application on prebiotics, probiotics and postbiotics. **Comprehensive reviews in food science and food safety**, 21(3), 2560-2586.

Battistini, C., Gullónb, B., Ichimuraa, E.S., Gomes, A.M.P., Ribeiro, E.P., Kunigk, L., Moreirac, J.U.V. and Jurkiewicz, C. (2018). Development and characterization of an innovative synbiotic fermented beverage based on vegetable soybean. **Brazilian journal of microbiology**. 49(2), 303–309**.**

Bayat, E., Nasab, M.M., Fazaeli, M., Majdinasab, M., Kouhdasht, A.M. and Vaquero, M.G. (2022). Wheat Germ Fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* and *Lactobacillus plantarum*: process optimization for enhanced composition and antioxidant properties *in vitro*. **Foods (Basel, Switzerland)**, 11(8), 1125.

Chen, L., Wu, D., Schlundt, J. and Conway, PL. (2020). Development of a dairy-free fermented oat-based beverage with enhanced probiotic and bioactive properties. **Frontiers in Microbiology**, 11, 609734.

FAO/WHO. (2002). **Guidelines for the evaluation of probiotics in food**. Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotic in food, London, Ontario, Canada.

Hatami, S., Tajabadi, N., Massoud, R. and Sharifan, A. (2023). Chemical and sensorial properties of probiotic beverage based on rice bran extract and honey. **Biomass Conversion and Biorefinery**, (13), 5151–5156.

Khosroshahi, E.D., Razavi, S.H., Kaini, H. and Aghakhani, A. (2022). Improvement of stability and antioxidant activity of wheat germ by mixed fermentation versus single fermentation. **Journal of food science and technology,** 59(7), 2905-2912.

Kitamura, M., Kiba, Y., Suzuki, R., Tomida, N., Uwaya, A., Isami, F. and Deng, S. (2020). Cannabidiol content and *in vitro* biological activities of commercial cannabidiol oils and hemp seed oils. **Medicines (Basel, Switzerland), 7(9), 57.**

Marnpae, M., Chusak, C., Balmori, V., Kamonsuwan, K., Dahlan, W., Nhujak, T., Hamid, N. and Adisakwattana, S. (2022). Probiotic Gac fruit beverage fermented with *Lactobacillus paracasei*: Physiochemical properties, phytochemicals, antioxidant activities, functional properties, and volatile flavor compounds. **LWT-Food Science and Technology,** 169, 1113986.

Martinenghi, L.D., Jonsson, R., Lund, T. and Jenssen, H. (2020). Isolation, purification, and antimicrobial characterization of cannabidiolic acid and cannabidiol from *Cannabis satiav*a L. **Biomolecules,** 10(6), 900.

Meidong, R., Khotchanalekha,K., Doolgindachbaporn, S., Nagasawa, T., Nakao, M., Sakai, K. and Tongpimm S. (2018). Evaluation of probiotic Bacillus aerius B81e isolated from healthy hybrid catfish on growth, disease resistance and innate immunity of Pla-mong *Pangasius bocourti*. **Fish and Shellfish Immunology**, 73, 1-10.

Nakkarach, A. and Withayagiat, U. (2018). Comparison of synbiotic beverages produced from rice berry malt extract using selected free and encapsulated probiotic lactic acid bacteria. **Agriculture and Natural Resources**, 52(5), 467-476.

Nissen, L., Carlo, E.D. and Gianotti, A. (2020). Prebiotic potential of hemp blended drinks fermented by probiotics. **Food Research International**, 131, 109029.

Russo, C., Lavorgna, M., Nugnes, R., Orlo, E. and Isidor, M. (2021). Comparative assessment of antimicrobial, antiradical and cytotoxic activities of cannabidiol and its propyl analogue cannabidivarin. **Scientific reports,** 11(1), 22494.