เลขที่อนุสิทธิบัตร 23495

อสป/200 - ข

อนุสิทธิบัตร

อาศัยอำนาจตามความในพระราชบัญญัติสิทธิบัตร พ.ศ. 2522
ซึ่งแก้ไขเพิ่มเติมโดยพระราชบัญญัติสิทธิบัตร (ฉบับที่ 3) พ.ศ. 2542
อธิบดีกรมทรัพย์สินทางปัญญาออกอนุสิทธิบัตรฉบับนี้ให้แก่

มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

สำหรับการประดิษฐ์ตามรายละเอียดการประดิษฐ์ ข้อถือสิทธิ และรูปเขียน (ถ้ามี) ดังที่ปรากฏในอนุสิทธิบัตรนี้

เลขที่คำขอ	2003000178
วันขอรับอนุสิทธิบัตร	29 มกราคม 2563
ผู้ประดิษฐ์	นางสาววิลาวรรณ์ เชื้อบุญ และ นายสุวิจักขณ์ สมจินดา
ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์	กรรมวิธีการผลิตแคปซูลยืดอายุการเก็บรักษาจุลินทรีย์

ให้ผู้ทรงอนุสิทธิบัตรนี้มีสิทธิและหน้าที่ตามกฎหมายว่าด้วยสิทธิบัตรทุกประการ

ออกให้ ณ วันที่ 5 เดือน เมษายน พ.ศ. 2567

หมดอายุ ณ วันที่ 28 เดือน มกราคม พ.ศ. 2569

(นายกิตติวัฒน์ ปัจฉิมนันท์)
รองอธิบดีกรมทรัพย์สินทางปัญญา ปฏิบัติราชการแทน
อธิบดีกรมทรัพย์สินทางปัญญา
ผู้ออกอนุสิทธิบัตร

พนักงานเจ้าหน้าที่

หมายเหตุ
1. ผู้ทรงอนุสิทธิบัตรต้องชำระค่าธรรมเนียมรายปีเริ่มตั้งแต่ปีที่ 5 ของอายุอนุสิทธิบัตร มิฉะนั้น อนุสิทธิบัตรนี้จะสิ้นอายุ
2. ผู้ทรงอนุสิทธิบัตรจะขอชำระค่าธรรมเนียมรายปีล่วงหน้าโดยชำระทั้งหมดในคราวเดียวได้
3. ภายใน 90 วันก่อนวันสิ้นอายุอนุสิทธิบัตร ผู้ทรงอนุสิทธิบัตรมีสิทธิขอต่ออายุอนุสิทธิบัตรได้ 2 คราว มีกำหนดคราวละ 2 ปี โดยยื่นคำขอต่ออายุ ต่อพนักงานเจ้าหน้าที่
4. การอนุญาตให้ใช้สิทธิตามอนุสิทธิบัตรและการโอนอนุสิทธิบัตรต้องทำเป็นหนังสือและจดทะเบียนต่อพนักงานเจ้าหน้าที่

Ref.256701025798848

รายละเอียดการประดิษฐ์

ชื่อที่แสดงถึงการประดิษฐ์

กรรมวิธีการผลิตแคปซูลยืดอายุการเก็บรักษาจุลินทรีย์

ลักษณะและความมุ่งหมายของการประดิษฐ์

การประดิษฐ์นี้เป็นกรรมวิธีการผลิตแคปซูลยืดอายุการเก็บรักษาจุลินทรีย์ด้วยเทคนิคสเฟียริฟิเคชัน (Spherification) ประกอบด้วยขั้นตอน ได้แก่ การเตรียมส่วนของชั้นของเหลวภายใน (Liquid-core) การเตรียมส่วนของชั้นห่อหุ้ม (Gelling bath) และการทำไมโครเอ็นแคปซูลโดยวิธีสเฟียริฟิเคชัน (Spherification) เพื่อพัฒนาแคปซูลกักเก็บจุลินทรีย์เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาและคงประสิทธิภาพจุลินทรีย์

สาขาวิทยาการที่เกี่ยวข้องกับการประดิษฐ์

สาขาเทคโนโลยีการเกษตร โดยเฉพาะส่วนที่เกี่ยวกับกรรมวิธีการผลิตแคปซูลยืดอายุการเก็บรักษาจุลินทรีย์

ภูมิหลังของศิลปะหรือวิทยาการที่เกี่ยวข้อง

โรคแอนแทรคโนส เกิดจากสาเหตุจากเชื้อราคอเลกโตตริครัม (Colletotrichum sp.) เป็นโรคที่สำคัญและพบการระบาดในทุกพื้นที่การผลิตพริก ซึ่งอาจก่อให้เกิดความเสียหายทั้งในแปลงปลูกและหลังการเก็บเกี่ยว (บุญญวดี และคณะ, 2559) เชื้อรานี้สามารถเข้าทำลายได้ในระยะที่ยังไม่สุก แต่ยังไม่แสดงอาการจะแสดงอาการต่อเมื่อผลพริกเริ่มสุกจะเรียกการเข้าทำลายแบบนี้ว่า การเข้าทำลายแบบแฝง กรณีผลพริกเป็นโรคแอนแทรคโนส เมล็ดภายในผลก็เป็นโรคแอนแทรคโนสด้วย ซึ่งสามารถอยู่ข้ามฤดูและแพร่ระบาดปลิวแพร่กระจายไปตามลม ละอองน้ำ แมลง เครื่องมือกสิกรรม และแสดงอาการของโรคเมื่อนำไปปลูกต่อไป วิธีการควบคุมส่วนใหญ่มักควบคุมด้วยสารเคมีโดยการควบคุมด้วยวิธีดังกล่าวอาจก่อให้เกิดผลข้างเคียงเช่น ปัญหาสารเคมีตกค้างในผลผลิตและสภาพแวดล้อม การควบคุมโรคพืชด้วยชีววิธีจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่สำคัญในการนำมาใช้ป้องกันกำจัดโรคแอนแทรคโนสในพริก (ดาราวดี, 2558) เช่น การนำเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์มาใช้ในการควบคุมโรคแอนแทรกโนสในพริก (มาลิษา และวิลาวรรณ์, 2562) หรือการพัฒนาชีวผลิตภัณฑ์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของพืชเศรษฐกิจในระยะกล้า เช่น พริก คะน้า ข้าวโพด (ปัญญาพร และวิลาวรรณ์, 2562) การใช้จุลินทรีย์ในการควบคุมโรคพืชยังคงมีข้อจำกัดหลายประการเช่น ความสะดวกในการใช้ การขนส่ง และอายุการเก็บรักษาของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ ปัจจุบันมีเทคนิคและวิธีการที่จะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ เช่น การทำไมโครเอนแคปซูเลชันโดยการพ่นแห้ง (dry spray) แต่เทคโนโลยีดังกล่าวต้องใช้ความร้อนสูงซึ่งไม่เหมาะกับจุลินทรีย์และเพื่อแก้ไขหรือลดข้อจำกัดในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ชนิดผงละลายน้ำให้สามารถคงความมีชีวิตของจุลินทรีย์ได้ยาวนานมากยิ่งขึ้น ผู้ประดิษฐ์ได้นำเทคโนโลยีการทำไมโครเอนแคปซูลด้วยเทคนิคสเฟียริฟิเคชัน ซึ่งเป็นเทคนิคที่ใช้ในการผลิตอาหาร เช่น การผลิตไข่มุกระเบิด โดยภายนอกจะถูกเคลือบด้วยเยลลี่แต่เวลากัดแล้วเป็นน้ำผลไม้แตกออกมา นำมาประยุกต์ใช้ในการพัฒนาชีวผลิตภัณฑ์เพื่อป้องกันจุลินทรีย์จาก

นายสุวัจชัย บุญอารี

Signed by DIP-CA

สภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการเก็บกักและยืดอายุการเก็บรักษาจุลินทรีย์ โดยการนำเทคนิคไมโครเอนแคปซูเลชันมาประยุกต์ใช้เพื่อกักเก็บจุลินทรีย์ให้อยู่ในไมโครแคปซูล จะส่งผลให้เพิ่มอัตราการรอดชีวิตของจุลินทรียมากขึ้นอีกด้วย

ทั้งนี้จากการสืบค้นสิทธิบัตรที่เกี่ยวกับการเก็บจุลินทรีย์โดยวิธีการเก็บในแคปซูล พบดังนี้ สิทธิบัตรเลขที่ประกาศโฆษณา WO 2012/021432 A2 เรื่อง กระบวนการผลิตแคปซูลซอฟเจลที่เสถียรที่มีแบคทีเรียโปรไบโอติกแบบไมโครแคปซูล (Process of Manufacturing A Stable Softgel Capsule Containing Microencapsulated Probiotic Bacteria) ได้เปิดเผยกรรมวิธีของการพัฒนาแคปซูลซอฟเจลที่มีแบคทีเรียโปรไบโอติกแบบไมโครแคปซูลถูกผลิตขึ้นเพื่อให้แคปซูลซอฟเจลมีความเสถียรเป็นเวลา 24 เดือนที่อุณหภูมิห้อง กระบวนการผลิตแคปซูลซอฟเจลที่ประกอบด้วยแบคทีเรียโปรไบโอติกที่ถูกห่อหุ้มด้วยไมโครแคปซูลขั้นตอนการพัฒนาประกอบด้วย : (1) แบคทีเรียโปรไบโอติกถูกห่อหุ้มด้วยไมโครแคปซูลโดยเคลือบด้วยไขมันจากผักผักอย่างน้อยหนึ่งชนิดโดยใช้ไขมันจากผักที่มีจุดหลอมเหลว 35 องศาเซลเซียส และ 75 องศาเซลเซียส; (2) เติมสารเพื่อหยุดการทำงานของแบคทีเรียโปรไบโอติกถูกห่อหุ้มด้วยไมโครแคปซูล (3) การผสมการเติมทำที่ความเข้มต่ำและอุณหภูมิต่ำ (4) การลดการจับก้อนของแบคทีเรียโปรไบโอติกกถูกห่อหุ้มด้วยไมโครแคปซูลโดยการเติมแบบผสมเพื่อให้การเติม ดิ-แอกโกลเมอเรท (de-agglomerated) และ (5) เติมแบคทีเรียโปรไบโอติกถูกห่อหุ้มด้วยไมโครแคปซูลใน ดิ-แอกโกลเมอเรท (de-agglomerated) ในแคปซูลซอฟเจล

สิทธิบัตรสหรัฐอเมริกา เลขที่ US 10131961 B2 เรื่อง แคปซูลของจุลินทรีย์ชีวภาพที่ใช้งานได้กับอัลจิเนตและไอออนเหล็กเรียกว่าเม็ดไบโอซิกมา ไบโอลิชชิง (Biosigma Bioleaching (bbs)) และการใช้งานในกระบวนการกำจัดชีวภาพ (Capsules Of Viable Biomining Microorganisms, With Alginate And Iron Ions Called Biosigma Bioleaching Seeds (bbs) And Their Use For Inoculation Of These Microorganisms In Bioleaching Processes) ได้เปิดเผยกรรมวิธีของการประดิษฐ์จุลินทรีย์บรรจุอยู่ในแคปซูลอัลจิเนต เรียกว่า ไบโอซิกมา ไบโอลีชชิง ซีด (BioSigma Bioleaching Seeds) หรือ BBS ซึ่งแคปซูลอัลจิเนตมี iron (II) และ/หรือ iron (III) โดยไอออนเป็นแบบ ครอส-ลิงกิง แคทชัน (cross-linking cations) ซึ่งแคปซูลที่พัฒนาขึ้นนี้สามารถนำไปใช้ในกระบวนการล้างสารพิษ หรือการเพิ่มอัตราการชะล้างชีวภาพในกองหรือกองขยะซึ่งสามารถล้างพิษที่เกิดจากจุลินทรีย์ ซึ่งวิธีการประกอบด้วยขั้นตอนต่อไปนี้: ก) สร้างแคปซูล ไบโอซิกมา ไบโอลีชชิง (BioSigma Bioleaching (BBS)) ซึ่งเป็นแคปซูลที่ประกอบด้วยกลุ่มจุลินทรีย์โดยบรรจุไว้ในอัลจิเนตในรูปของเหลวและไอออนของ Fe (II) หรือ Fe (III) หรือผสมกันและใช้เป็นตัวเชื่อมโยง จะได้แคปซูล BBS ประกอบด้วยส่วนผสมของสารละลายโซเดียมอัลจิเนตที่ความเข้มข้น 0.2% ถึง 3% โดยมีจุลินทรีย์ในอัตราส่วน 4: 1 ถึง 1: 4 โดยปริมาตร และเป็นแคปซูล BBS ในสารละลายที่ประกอบด้วยไอออน Fe (II) หรือ Fe (III) หรือส่วนผสมดังกล่าว ข) แคปซูล BBS บรรจุจุลินทรีย์ที่ระดับความเข้มข้นสูงกว่า 103 เซลล์/มิลลิลิตร จุลินทรีย์ประกอบด้วย อะซิดิทิโอบาซิลลัส ไทโอออกซิแดนส์ (Acidithiobacillus thiooxidans) อย่างน้อย 9.74×106 จุลินทรีย์ / มิลลิลิตร, อะซิดิฟิเลียม

นายสุวัจชัย บุญอารี

Signed by DIP-CA

(Acidiphilium spp.) อย่างน้อย 1.00×103 จุลินทรีย์/มิลลิลิตร,เลปโทสพิริลลัม (Leptospirillum spp.), อย่างน้อย 1.00×103 จุลินทรีย์/มิลลิลิตร, เฟอโรพลาสมา (Ferroplasma spp.) อย่างน้อย 3.42×106 จุลินทรีย์/มิลลิลิตร และ ค) การนำแคปซูล BBS บรรจุจุลินทรีย์ไปใช้โดยสัดส่วนของแคปซูล BBS ระหว่าง 0.01% และ 99% โดยน้ำหนักแห้งต่อกรัมของแร่เพื่อสร้างส่วนผสมที่เป็นเนื้อเดียวกัน

สิทธิบัตรจีนเลขที่ประกาศโฆษณา CN1854293 เรื่อง ไมโครเอ็นแคปซูเลชันชีวภาพ (Biological microcapsulation) ได้เปิดเผยกรรมวิธีของการพัฒนาไมโครแคปซูลเพื่อปรับปรุงความสามารถในการลดการปลดปล่อยของไมโครแคปซูล ซึ่งรวมถึงขั้นตอนต่อไปนี้: ก) เติมสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ในสารละลายโซเดียมอัลจิเนต ข) เติมสารละลายจากข้อ ก) ใน กลูติน-แคลเซียมคลอไรด์ (glutin-$CaCl_2$) ด้วยค่าพีเอช (pH) ที่อุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส และหยดสารสะลายข้อ ก) ที่ระดับความเร็ว 40-60 หยด/นาที ความเร็วคงที่นาน 3.5-5 ชั่วโมง เพื่อสร้างความหยาบให้กับไมโครแคปซูลเพิ่มสารละลาย $CaCl_2$ เพื่อให้กลายเป็นปูนอีก 10-15 นาที และเติมสารละลายไคโตซานที่มีค่าพีเอชคงที่นาน 2-3 ชั่วโมง และนำไปแช่ในสารละลายน้ำเกลือที่ผ่านการฆ่าเชื้อเป็นเวลา 6-24 ชั่วโมง ไมโครแคปซูลที่ผลิตโดยวิธีนี้แสดงให้เห็นถึงรูปร่างที่สม่ำเสมอความคงทนและความสามารถในการปลดปล่อยช้าที่ยอดเยี่ยม

อนุสิทธิบัตรไทยเลขที่ 10808 เรื่อง กรรมวิธีการตรึงเซลล์แบคทีเรียโปรไบโอติกให้อยู่ในไมโครแคปซูลด้วยโปรตีนนมไฮโดรไซเซท ได้เปิดเผยกรรมวิธีการตรึงเซลล์แบคทีเรียโปรไบโอติก ให้อยู่ในไมโครแคปซูลด้วยโปรตีนนมไฮโดรไลเซท ซึ่งประกอบด้วยขั้นตอนการเตรียมโปรตีนนมไฮโดรไลเซท และขั้นตอนการตรึงเซลล์แบคทีเรียโปรไบโอติก โดยจัดให้มีการหมักนมด้วยแบคทีเรียโปรติโอไลติก 2 ชนิด นาน 40 ชั่วโมง ร่วมกับการไฮโดรไลซ์ด้วยสารละลายด่างชนิดโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ปรับพีเอช (pH) เป็น 9.0 ที่อุณหภูมิ 60 องศา เซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง ทำการปรับค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยกรดชนิดอะซิติกแอซิด (CH_3COOH) จากนั้นนำโปรตีนนมไฮโดรไลเซทไปนึ่งฆ่าเชื้อและเก็บไว้ในตู้เย็น สำหรับใช้ในการตรึงเซลล์แบคทีเรียโดยนำ เซลล์ผสมกับโปรตีนนมไฮโดรไลเซทและสารละลายอิเล็คโตรไลท์ชนิดแคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) ความ เข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปั่นกวนให้เข้ากันดี แล้วจึงเทลงในน้ำมันพืชเมล็ดดอกทานตะวัน ปั่นกวนตลอดเวลาด้วย ความเร็ว 1,400 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที จนเกิดการสร้างแคปซูลขนาด ไมโครเมตรห่อหุ้มแบคทีเรียโปรไบโอติกไว้ภายในร่วมกับพรีไบโอติกคือ โอลิโกแซ็กคาไรด์และโปรตีนบางส่วนที่ได้จากการหมักนมเป็นอาหารให้กับแบคทีเรียภายในแคปซูลไมโครแคปซูลที่ได้สามารถนำไปใช้ประโยชน์คือสามารถใช้เป็นอาหารเสริมในลักษณะเคลือบกับอาหารสัตว์สำเร็จรูป หรือนำไปขึ้นรูปและทำแห้งเป็นอาหารเสริมโปรไบโอติกสำหรับสัตว์ โดยวิธีการทำแห้งแบบฉีดพ่นฝอยผ่านลมร้อนและแบบอบแห้งเม็ดเล็ก เพื่อสะดวกในการเก็บรักษา และการใช้งาน นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มปริมาณโปรตีนในอาหารสัตว์ด้วย

นายสุวัจชัย บุญอารี

Signed by DIP-CA

<u>การเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์</u>

กรรมวิธีการผลิตแคปซูลยืดอายุการเก็บรักษาจุลินทรีย์ มีขั้นตอนดังนี้

ก. การเตรียมส่วนของชั้นของเหลว (Liquid-core)

ก.1 เตรียมจุลินทรีย์โดยเลี้ยงไว้ในอาหารเหลวนูเทรียน กลูโคส บอร์ท (nutrient glucose broth (NGB)) บนเครื่องเขย่า 120-150 รอบ/นาที จากนั้นปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนเซลล์ 6000-8000 รอบ/นาที นาน 5-10 นาที นำตะกอนเซลล์ที่ได้ปรับความเข้มข้น 10^{15-20} โคโลนี/มิลลิลิตร

ก.2 เตรียมสารตัวพาจุลินทรีย์ ความเข้มข้น 1-5% (น้ำหนัก/ปริมาตร) จากนั้นนำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5±2 องศาเซลเซียส 1-2 ชั่วโมง โดยสารตัวพาจุลินทรีย์ เลือกได้จาก แคลเซียมแลคเตท หรือโซเดียมแอลจิเนต

ก.3 นำสารแขวนลอยจุลินทรีย์ (ข้อ ก.1) ผสมในสารตัวพาจุลินทรีย์ ความเข้มข้น 1-5% (น้ำหนัก/ปริมาตร) (ข้อ ก.2) ในอัตราส่วนสารแขวนลอยจุลินทรีย์ : สารตัวพาจุลินทรีย์ เท่ากับ 8-10 : 80-100 (ปริมาตร/ปริมาตร)

ข. การเตรียมส่วนของชั้นห่อหุ้ม (Gelling bath)

เป็นส่วนที่ทำให้เกิดการห่อหุ้มของชั้นของเหลวภายในโดยใช้สารประกอบไฮโดรคอลลอยด์และมีสมบัติทำให้เกิดเจลแบบไอออนิก เจลเลชัน (ionic gelation) ที่ระดับความเข้มข้น 0.5-1.5% (น้ำหนัก/ปริมาตร) จากนั้นนำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5±2 องศาเซลเซียส 20-24 ชั่วโมง โดยสารประกอบไฮโดรคอลลอยด์ เลือกได้จากโซเดียมแอลจิเนต หรือ แคลเซียมแลคเตท

ค. การทำไมโครเอ็นแคปซูลโดยวิธีสเฟียริฟิเคชัน (Spherification)

ค.1 หยดจุลินทรีย์ในส่วนของชั้นของเหลวภายใน (liquid-core) (ข้อ ก) โดยใช้ไซริงค์ขนาด 10 มิลลิลิตร ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1-2 มิลลิเมตร ดูดสารละลาย หยดลงในส่วนของชั้นห่อหุ้ม (gelling bath) คนเบาๆ ด้วยแมกนีติกบาร์เป็นเวลา 5-10 นาที ในขั้นตอนนี้เป็นการทำให้เกิดการห่อหุ้มของสารละลายโดยการหยดส่วนของชั้นของเหลวภายใน (liquid-core) ลงในส่วนของชั้นห่อหุ้ม (gelling bath) เพื่อทำให้เกิดการสร้างเจลของสารประกอบไฮโดรคอลลอยด์ ซึ่งจะเกิดขึ้นทันทีที่สารทั้ง 2 ชนิด สัมผัสกัน แล้วเกิดการห่อหุ้มรอบ ๆ จุลินทรีย์ ทำให้จุลินทรีย์ถูกบรรจุอยู่ในแคปซูลมีลักษณะเป็นทรงกลม

ค.2 จากนั้นนำแคปซูลจุลินทรีย์ จากข้อ ค.1 ที่ได้มาแช่ในสารตัวพาที่ความเข้มข้น 0.5-1.5% และ 1.0-1.5% เป็นเวลา 5-10 และ 10-20 นาที ตามลำดับ เพื่อเพิ่มความสามารถในการจับประจุบวกของสารประกอบไฮโดรคอลลอยด์ที่ห่อหุ้มภายนอกทำให้โครงสร้างของแคปซูลแข็งแรงมากขึ้น

นายสุวัจชัย บุญอารี

Signed by DIP-CA

การเก็บรักษา

นำแคปซูลจุลินทรีย์ที่ได้จากข้อ ค. กรองบนตะแกรงปลอดเชื้อจากนั้นนำใส่ถุงฟลอยด์ซิลปิดให้สนิทแล้วนำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4±3 องศาเซลเซียส

<u>วิธีการในการประดิษฐ์ที่ดีที่สุด</u>

5 ได้กล่าวไว้แล้วในหัวข้อการเปิดเผยการประดิษฐ์โดยสมบูรณ์

นายสุวัจชัย บุญอารี

Signed by DIP-CA

ข้อถือสิทธิ

1. กรรมวิธีการผลิตแคปซูลยืดอายุการเก็บรักษาจุลินทรีย์ มีขั้นตอนดังนี้

ก. การเตรียมส่วนของชั้นของเหลวภายใน (Liquid-core)

ก.1 การเตรียมจุลินทรีย์โดยเลี้ยงไว้ในอาหารเหลวนูเทรียน กลูโคส บอร์ท (nutrient glucose broth (NGB)) บนเครื่องเขย่า 120-150 รอบ/นาที จากนั้นปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอนเซลล์ 6000-8000 รอบ/นาที นาน 5-10 นาที นำตะกอนเซลล์ที่ได้ปรับความเข้มข้น 10^{15-20} โคโลนี/มิลลิลิตร

ก.2 เตรียมสารตัวพาจุลินทรีย์ ความเข้มข้น 1-5% (น้ำหนัก/ปริมาตร) จากนั้นนำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5±2 องศาเซลเซียส 1-2 ชั่วโมง

ที่ซึ่ง สารตัวพาจุลินทรีย์ เลือกได้จาก แคลเซียมแลคเตท หรือโซเดียมแอลจิเนต

ก.3 นำสารแขวนลอยจุลินทรีย์ (ข้อ ก.1) ผสมในสารตัวพาจุลินทรีย์ ความเข้มข้น 1-5 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) (ข้อ ก.2) ในอัตราส่วนสารแขวนลอยจุลินทรีย์: สารตัวพาจุลินทรีย์ เท่ากับ 8-10: 80-100 (ปริมาตร/ปริมาตร)

ข. การเตรียมส่วนของชั้นห่อหุ้ม (Gelling bath) เป็นส่วนที่ทำให้เกิดการห่อหุ้มของชั้นของเหลวภายในโดยใช้สารประกอบไฮโดรคอลลอยด์และมีสมบัติทำให้เกิดเจลแบบไอออนิก เจลเลชัน (ionic gelation) ที่ระดับความเข้มข้น 0.5-1.5% (น้ำหนัก/ปริมาตร) จากนั้นนำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5±2 องศาเซลเซียส 20-24 ชั่วโมง

ที่ซึ่ง สารประกอบไฮโดรคอลลอยด์ เลือกได้จากโซเดียมแอลจิเนต หรือ แคลเซียมแลคเตท

ค. การทำไมโครเอ็นแคปซูลโดยวิธีสเฟียริฟิเคชัน (spherification)

ค.1 หยดจุลินทรีย์ในส่วนของชั้นของเหลวภายใน (liquid-core) (ข้อ ก) โดยใช้ไซริงค์ขนาด 10 มิลลิลิตร ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 1-2 มิลลิเมตร ดูดสารละลาย หยดลงในส่วนของชั้นห่อหุ้ม (gelling bath) คนเบาๆ ด้วยแมกนีติกบาร์เป็นเวลา 5-10 นาที ในขั้นตอนนี้เป็นการทำให้เกิดการห่อหุ้มของสารละลายโดยการหยดส่วนของชั้นของเหลวภายใน (liquid-core) ลงในส่วนของชั้นห่อหุ้ม (gelling bath) เพื่อทำให้เกิดการสร้างเจลของสารประกอบไฮโดรคอลลอยด์ ซึ่งจะเกิดขึ้นทันทีที่สารทั้ง 2 ชนิด สัมผัสกัน แล้วเกิดการห่อหุ้มรอบ ๆ จุลินทรีย์ ทำให้จุลินทรีย์ถูกบรรจุอยู่ในแคปซูล มีลักษณะเป็นทรงกลม

ค.2 จากนั้นนำแคปซูลจุลินทรีย์ จากข้อ ค.1 ที่ได้มาแช่ในสารตัวพาที่ความเข้มข้น 0.5-1.5% และ 1.0-1.5% เป็นเวลา 5-10 และ 10-20 นาที ตามลำดับ เพื่อเพิ่มความสามารถในการจับประจุบวกของสารประกอบไฮโดรคอลลอยด์ที่ห่อหุ้มภายนอกทำให้โครงสร้างของแคปซูลแข็งแรงมากขึ้น

2. กรรมวิธีการผลิตแคปซูลยืดอายุการเก็บรักษาจุลินทรีย์ ตามข้อถือสิทธิ 1 ที่ซึ่งการเก็บรักษา ทำได้โดยนำแคปซูลจุลินทรีย์ที่ได้จากข้อ ค. กรองบนตะแกรงปลอดเชื้อ จากนั้นนำใส่ถุงฟลอยด์ซิลปิดให้สนิทแล้วนำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4±3 องศาเซลเซียส

นายสุวัจชัย บุญอารี

Signed by DIP-O

บทสรุปการประดิษฐ์

กรรมวิธีการผลิตแคปซูลยืดอายุการเก็บรักษาจุลินทรีย์ มีขั้นตอนดังนี้ ขั้นแรกคือการเตรียมส่วนของชั้นของเหลว (Liquid-core) โดยเลี้ยงจุลินทรีย์ไว้ในอาหารเหลวนูเทรียน กลูโคส บอร์ท (nutrient glucose broth (NGB)) นำตะกอนเซลล์ที่ได้ปรับความเข้มข้น หลังจากนั้น เตรียมสารตัวพาจุลินทรีย์ โดยสารตัวพาจุลินทรีย์ เลือกได้จาก แคลเซียมแลคเตท หรือโซเดียมแอลจิเนต แล้วจึงนำจุลินทรีย์ในขั้นตอนแรกมาผสมในสารตัวพาจุลินทรีย์ โดยในขั้นตอนการเตรียมส่วนของชั้นห่อหุ้ม (Gelling bath) ใช้สารประกอบไฮโดรคอลลอยด์และมีสมบัติทำให้เกิดเจลแบบไอออนิก เจลเลชัน (ionic gelation) ขั้นตอนสุดท้ายคือการทำไมโครเอ็นแคปซูลโดยวิธีสเฟียริฟิเคชัน (Spherification) โดยหยดจุลินทรีย์ในส่วนของชั้นของเหลวภายใน (liquid-core) ในขั้นตอนแรกลงในส่วนของชั้นห่อหุ้ม (gelling bath) จะได้ผลิตแคปซูลยืดอายุการเก็บรักษาจุลินทรีย์ ซึ่งการเก็บรักษา เก็บที่อุณหภูมิ 4±3 องศาเซลเซียส

นายสุวัจชัย บุญอารี

Signed by DIP-O