การคัดแยกจุลินทรีย์โพรไบโอติกจากกิมจิ
เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เยลลี่คาราจีแนนเสริมสุขภาพ

Isolation of probiotics from kimchi
for development of functional Carrageenan Jelly

วริศรา โชติวาณี

ศศิกาญจน์ สุริยมงคล

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรมอาหาร

คณะอุตสาหกรรมอาหาร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2566

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

การคัดแยกจุลินทรีย์โพรไบโอติกจากกิมจิ เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เยลลี่คาราจีแนนเสริมสุขภาพ

Isolation of probiotics from kimchi for development of functional Carrageenan Jelly

จัดทำโดย

วริศรา โชติวาณี รหัสนักศึกษา 62080133

ศศิกาญจน์ สุริยมงคล รหัสนักศึกษา 62080137

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

27 / พฤษภาคม / 2566

(ผศ.ดร.ทรงศักดิ์ วัฒนชัยเสรีกุล)

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อปัญหาพิเศษ	การคัดแยกจุลินทรีย์โพรไบโอติกจากกิมจิ เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เยลลี่คาราจีแนนเสริมสุขภาพ
ชื่อนักศึกษา	วริศรา โชติวาณี รหัสนักศึกษา 62080133 ศศิกาญจน์ สุริยมงคล รหัสนักศึกษา 62080137
หลักสูตร	วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรมอาหาร
พ.ศ.	2566
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.ทรงศักดิ์ วัฒนชัยเสรีกุล

บทคัดย่อ

โพรไบโอติก คือกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร สามารถจับกับบริเวณผิวของเยื่อบุลำไส้ ก่อให้เกิดประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์ โดยส่วนใหญ่โพรไบโอติกจะเป็นสมาชิกในกลุ่มของแบคทีเรียกรดแลคติก ซึ่งสามารถพบได้ในอาหารหมักชนิดต่าง ๆ เช่น ผลิตภัณฑ์กิมจิ ดังนั้นงานวิจัยจึงมีแนวคิดที่จะคัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติกซึ่งมีคุณสมบัติเป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติก และมีประโยชน์ในการรักษาสมดุลของจุลินทรีย์ภายในระบบทางเดินอาหารจากผลิตภัณฑ์กิมจิ และศึกษาหาคุณสมบัติการอยู่รอดของจุลินทรีย์ภายในระบบทางเดินอาหารจำลอง ตลอดจนศึกษาความสามารถในการผลิตกรดแลคติก และประเมินฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร ผลการคัดแยกจุลินทรีย์จากตัวอย่างกิมจิจำนวน 3 ตัวอย่าง พบว่า สามารถคัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติกได้ทั้งหมด 61 ไอโซเลท เมื่อทำการทดสอบการทนกรด การทนเกลือน้ำดี ความสามารถในการผลิตกรดแลคติก และฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ก่อโรค เพื่อประเมินคุณสมบัติเบื้องต้นในการเป็นโพรไบโอติกที่ดี พบว่าไอโซเลท OB4, OB41 และ SY12.2 มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกที่มีความสามารถการทนต่อสภาวะกรดและเกลือน้ำดี ความสามารถในการผลิตกรดแลคติก และฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ก่อโรค การระบุสายพันธุ์ OB4, OB41 และ SY12.2 โดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA พบว่ามีความคล้ายคลึงกับลำดับเบสของ *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus pentosaceus* และ *Lactobacillus brevis* ตามลำดับ ดังนั้นจึงสามารถนำแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 ไอโซเลท มาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เยลลี่คาราจีแนนเสริมสุขภาพ เพื่อให้คนทั่วไปที่รักสุขภาพได้บริโภคจุลินทรีย์โพรไบโอติกได้ง่ายมากขึ้น

คำสำคัญ: โพรไบโอติก, กิมจิ, แบคทีเรียกรดแลคติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special problem title	Isolation of probiotics from kimchi for development of functional Carrageenan Jelly
Student name	Warissara Chotiwanee Student ID 62080133
	Sasikan Suriyamongkol Student ID 62080137
Program	Bachelor of Science Program in Fermentation Technology in Food Industry
Year	2023
Advisor	Asst. Prof. Dr. Songsak Wattanachaisaereekul

ABSTRACT

Probiotics are a group of living microorganisms that inhibit pathogenic microorganisms in the gastrointestinal tract. They can adhere to human epithelial cells and promote health benefits. Most probiotics are members of lactic acid bacteria which can be found in various fermented foods such as kimchi. Therefore, the research aimed at isolating lactic acid bacteria exhibiting probiotic properties e.g. modulating the balance of microorganisms within the gastrointestinal tract from kimchi products. Moreover, the survival properties in the simulated gastrointestinal tract the ability to produce lactic acid and the antimicrobial activity test were evaluated. According to the results, total of 61 isolates of lactic acid bacteria were isolated from 3 kimchi samples. Acid tolerance, bile salt tolerance, ability to produce lactic acid and antimicrobial activity test showed that OB4, OB41 and SY12.2 isolates were found to be probiotics with acid and bile salt tolerance, ability to produce lactic acid and antimicrobial activity. By analyzing the nucleotide sequences of the 16S rRNA gene OB4, OB41, and SY12.2 isolates were identified as *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus pentosaceus*, and *Lactobacillus brevis*, respectively. Therefore, these strains can be used to develop carrageenan jelly products for health benefits.

Keywords: probiotic, kimchi, lactic acid bacteria

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ปัญหาพิเศษสำเร็จสมบูรณ์ได้ด้วยความช่วยเหลือและการสนับสนุนจากอาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ โดย ผศ.ดร.ทรงศักดิ์ วัฒนชัยเสรีกุล อาจารย์ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีการหมัก คณะอุตสาหกรรมอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ผู้วิจัยขอขอบคุณอาจารย์ที่ให้คำปรึกษา ข้อแนะนำและความคิดเห็นในระหว่างการดำเนินงานวิจัย ทำให้งานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.วิภาวดี สงัดกิจ ผู้เป็นคณะกรรมการสอบปัญหาพิเศษ จากอาจารย์ประจำสาขาวิชาเทคโนโลยีการหมัก คณะอุตสาหกรรมอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่เสียสละเวลาในการสอบปัญหาพิเศษครั้งนี้

ขอขอบพระคุณคณะอาจารย์ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการ และนักวิทยาศาสตร์ประจำคณะอุตสาหกรรมอาหาร ทุกท่านเป็นอย่างสูงที่ให้ความรู้และคอยช่วยเหลืออำนวยความสะดวกตลอดเวลาในการทำวิจัยให้แก่คณะผู้จัดทำตลอดเวลาที่ได้ศึกษาในคณะอุตสาหกรรมอาหารจนกระทั่งประสบความสำเร็จในวันนี้

ขอขอบพระคุณเพื่อน ๆ สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรมอาหาร ที่ให้ความช่วยเหลือและให้ความคิดเห็น คำแนะนำ ในการดำเนินงานวิจัยตลอดมา

ขอขอบพระคุณทุกคนในครอบครัวที่คอยสนับสนุนส่งเสริมและให้กำลังใจตลอดระยะเวลาดำเนินงานวิจัยครั้งนี้

และสุดท้ายนี้ขอบคุณคู่ทำงานวิจัยที่คอยให้ความคิดเห็นและให้กำลังใจเสมอมาจนงานวิจัยเสร็จสมบูรณ์ไปด้วยดี

ประโยชน์อันใดที่เกิดจากปัญหาพิเศษเล่มนี้เป็นผลเนื่องจากความกรุณาของท่านดังกล่าวข้างต้น ดังนั้นผู้จัดทำวิจัยจึงขอกราบขอบคุณอย่างสูงไว้ ณ ที่นี้

วริศรา โชติวาณี
ศศิกาญจน์ สุริยมงคล
27 พฤษภาคม 2566

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VI
สารบัญภาพ	VII
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	1
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	1
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 กิมจิ	3
2.2 ผลิตภัณฑ์เยลลี่	3
2.3 โพรไบโอติก	7
2.4 การคัดเลือกแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกจากผลิตภัณฑ์หมักชนิดต่างๆ	8
2.5 บทบาทของโพรไบโอติกในการดูแลสุขภาพ	10
2.6 แบคทีเรียกรดแลคติกที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก	11
2.7 การระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรียกรดแลคติก	13
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	15
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	18
3.1 วัตถุดิบและสารเคมี	18
3.2 อุปกรณ์	18
3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง	19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	23
4.1 คัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติก (LAB) จากผลิตภัณฑ์กิมจิ	23
4.2 การทดสอบคุณสมบัติของจุลินทรีย์โพรไบโอติก	23
4.3 การศึกษาจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรียกรดแลคติก โดยวิธี 16S rRNA sequence analysis	27
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	36
บรรณานุกรม	37
ภาคผนวก	39
ภาคผนวก ก	39
ภาคผนวก ข	41
ภาคผนวก ค	43
ประวัติผู้เขียน	45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
3.1	การผลิตเยลลี่คาราจีแนนจากน้ำผลไม้	22
4.1	คัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติก (LAB) จากผลิตภัณฑ์กิมจิ	23
4.2	เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดชีวิตของแบคทีเรียกรดแลคติกในความเข้มข้นของเกลือน้ำดีที่ชั่วโมงที่ 0	25
4.3	เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดชีวิตของแบคทีเรียกรดแลคติกในความเข้มข้นของเกลือน้ำดีที่ชั่วโมงที่ 3	25
4.4	เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดชีวิตของแบคทีเรียกรดแลคติกในความเข้มข้นของเกลือน้ำดีที่ชั่วโมงที่ 5	26
4.5	บริเวณการยับยั้งการเจริญจุลินทรีย์ก่อโรค (cm)	27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
4.1	ความสามารถในการทนกรดของแบคทีเรียกรดแลคติก	24
4.2	ความสามารถในการสร้างกรดแลคติก (g/L) ของแบคทีเรียกรดแลคติกเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร MRS broth ที่ระยะเวลา 5 วัน	26
4.3	ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ของไอโซเลท OB4 (Forward)	28
4.4	ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ของไอโซเลท OB4 (Reverse)	29
4.5	ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ของไอโซเลท OB41 (Forward)	30
4.6	ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ของไอโซเลท OB41 (Reverse)	31
4.7	ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ของไอโซเลท SY12.2 (Forward)	32
4.8	ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ของไอโซเลท SY41 (Forward)	33
4.9	ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ของไอโซเลท SY41 (Forward)	34
4.10	ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ของไอโซเลท SY41 (Reverse)	35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

กิมจิ เป็นอาหารของประเทศเกาหลี ประกอบด้วย ผักกาดขาว และหัวไชเท้า ที่หมักด้วยเกลือและเครื่องปรุงอื่น ๆ เช่น ผงพริกเกาหลี ต้นหอม น้ำตาล กระเทียม หอมใหญ่ มักรับประทานเป็นเครื่องเคียง โดยกิมจิอุดมไปด้วยแบคทีเรียกรดแลคติก ซึ่งมีความเป็นโพรไบโอติกเป็นเชื้อจุลินทรีย์มีประโยชน์ที่อาศัยอยู่ภายในลำไส้ของมนุษย์ หากโพรไบโอติกมีปริมาณมากขึ้น และอยู่ในปริมาณที่เหมาะสมก็อาจช่วยลดปัญหาสุขภาพ และเสริมร่างกายให้ทำงานได้ดีมากยิ่งขึ้น (Pobpad, 2021)

ปัจจุบันผลิตภัณฑ์เยลลี่มีจำหน่ายอยู่ตามท้องตลาดมากมาย ซึ่งเป็นที่นิยมในหมู่ผู้บริโภคทุกเพศทุกวัย โดยการผลิตเยลลี่มีส่วนประกอบที่ทำให้เกิดเจล น้ำตาล โพแทสเซียมซิเตรด น้ำผลไม้ โดยพบว่าในเยลลี่มีปริมาณน้ำตาลสูง อาจก่อให้เกิดโรค เช่น เบาหวาน หากรับประทานมากเกินไป จึงได้มีการคิดที่จะพัฒนาผลิตภัณฑ์เยลลี่ เพื่อที่จะเสริมสร้างประโยชน์โดยการเสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติก ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิต ช่วยในการทำงานของระบบทางเดินอาหาร ช่วยเสริมภูมิคุ้มกัน ทั้งยังช่วยป้องกันไม่ให้จุลินทรีย์ชนิดก่อโรคเกิดขึ้นในร่างกาย เพื่อให้ผลิตภัณฑ์มีประโยชน์มากยิ่งขึ้น ดังนั้นจึงได้ทำการคัดแยกจุลินทรีย์กลุ่มกรดแลคติก เพื่อนำไปทดสอบคุณสมบัติความเป็นโพรไบโอติกที่ดีที่สุด และนำไปใส่ในผลิตภัณฑ์เยลลี่

ดังนั้นงานวิจัยนี้มีแนวคิดพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารประเภทเยลลี่สำหรับกลุ่มวัยรุ่นถึงวัยทำงาน เพื่อให้สอดคล้องกับความต้องการของคนในปัจจุบันที่ต้องการกินของหวานแต่กังวลเรื่องความอ้วน และหันมาดูแลสุขภาพมากยิ่งขึ้น อาหารที่เหมาะสมกับคนในยุคปัจจุบันที่กังวลเรื่องน้ำหนัก และรักสุขภาพจึงมีความต้องการสูงขึ้น โดยการนำวัตถุดิบทางจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพด้านคุณประโยชน์ทางโภชนาการ และจัดหาได้ภายในประเทศมาใช้โดยผลิตอาหารประเภทเจลในรูปแบบเยลลี่

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อคัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติกจากผลิตภัณฑ์กิมจิ

1.2.2 เพื่อทดสอบคุณสมบัติความเป็นโพรไบโอติกของแบคทีเรียกรดแลคติกที่คัดแยกได้

1.2.3 เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์เยลลี่คาราจีแนนจากน้ำผลไม้เสริมจุลินทรีย์โพรไบโอติก

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 ได้จุลินทรีย์กรดแลคติกที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก และส่งผลดีต่อสุขภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3.2 ได้พัฒนาผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกให้อยู่ในรูปของเจลลี่คาราจีแนนที่เข้าถึงได้ง่าย และเหมาะกับคนทั่วไปที่ดูแลสุขภาพ

1.3.3 จุลินทรีย์โพรไบโอติกที่คัดแยกได้สามารถนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อื่น ๆ ที่มีคุณสมบัติเทียบเท่าโพรไบโอติกทางการค้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 กิมจิ

กิมจิเป็นหนึ่งในเครื่องเคียงที่นิยมของเกาหลี เป็นอาหารประเภทผักดอง โดยปกติแล้วเป็นที่นิยมใช้ผักกาดขาว หมักพริกป่น ต้นหอม น้ำปลา น้ำตาล กระเทียม รสชาติจะออกเผ็ด เปรี้ยว มีกลิ่นเป็นเอกลักษณ์ โดยตามหลักแล้วรสชาติของกิมจิจะขึ้นอยู่กับของที่นำมาหมัก ปัจจุบันมีการปรับรสชาติให้เข้ากับความชอบหรือปรับให้เข้ากับอาหารแต่ละชนิด

2.1.1 ประโยชน์ของกิมจิ

- กิมจิ มีไฟเบอร์สูงแต่มีแคลอรี่ที่ต่ำ ส่งผลให้ระบบการทำงานดีขึ้น
- ผักที่หมักร่วมไปกับกิมจิ เช่น แครอท หัวหอม กระเทียม มีประโยชน์ต่อร่างกาย
- กิมจิมีโพรไบโอติก และแบคทีเรียชนิดดีที่ช่วยให้ระบบย่อยอาหารทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ

นอกจากนี้ยังมีผลวิจัยอีกมากมายที่ชี้ว่ากิมจินั้นดีต่อสุขภาพ แต่ก็มีข้อควรระวังเรื่องเกลือหรือโซเดียมที่ใช้ในการหมักดอง หากทานมากไปอาจทำให้ท้องเสียได้ นอกจากนี้เนื่องจากความนิยม กิมจิบางที่อาจใส่สารกันเสียซึ่งจะเป็นอันตรายต่อร่างกายได้

2.2 ผลิตภัณฑ์เยลลี่

เจล หมายถึง โครงสร้างของระบบคอลลอยด์ที่ไม่แสดงการไหล (no steady-state flow) เป็นโครงสร้างที่ประกอบด้วยของเหลว และของแข็ง โดยมีของเหลวทำหน้าที่เป็นตัวกลาง และของแข็งที่มีอยู่ในโครงสร้างทำหน้าที่ประสานกันเป็นร่างแห การเกิดโครงสร้างของเจลขึ้นอยู่กับสมดุลระหว่างแรงดึงดูดกับแรงผลัก ระหว่างอนุภาคคอลลอยด์ด้วยกันเอง และระหว่างอนุภาคคอลลอยด์ และสารที่เป็นของเหลว (ปาริฉัตร หงสประภาส, 2545; Schmidt, 1981) โดยเยลลี่จัดเป็นอาหารเจลประเภทหนึ่ง จากการตรวจเอกสารมีการให้ความหมายของเยลลี่ไว้ดังนี้

เยลลี่ หมายถึง ผลิตภัณฑ์ซึ่งทำมาจากน้ำผลไม้ที่ได้จากการคั้นหรือสกัดจากผลไม้สดหรือน้ำผลไม้ที่ผ่านกรรมวิธีหรือทำให้เข้มข้นหรือแช่แข็งผสมกับสารที่ให้ความหวาน และทำให้มีความเหนียว พอเหมาะ มีลักษณะเป็นเจลโปร่งแสง (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2521)

เยลลี่ หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากน้ำผลไม้ หรือน้ำผลไม้เข้มข้น กับสารที่ให้ความหวาน (sweetening agent) และสารที่ทำให้เกิดเจล (gelling agent) เช่น เจลาติน (gelatin) คาราจีแนน (carrageenan) นำมาให้ความร้อนเพื่อให้ส่วนผสมละลาย แล้วทิ้งไว้ให้เย็นจะมีลักษณะเป็นเจล (gel)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โปร่งแสง เยลลี่ที่ดีต้องมีลักษณะใส และมีเนื้อสัมผัสอ่อนนุ่มแต่ไม่เหนียวจนหนืด มีความหยุ่นตัว และไม่เหลว ต้องแข็งพอที่จะคงรูปเดิมเมื่อตัดด้วยมีด (กองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ, 2531)

เยลลี่ หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการน้ำผลไม้ ผัก ธัญชาติ หรือสมุนไพร มาคั้นหรือสกัดแล้วผสมกับสารให้ความหวาน และสารที่ทำให้เกิดเจล เช่น เจลาติน คาราจีแนน วุ้น ในปริมาณที่เหมาะสม ที่จะทำให้ผลิตภัณฑ์อยู่ในลักษณะกึ่งแข็ง อาจผสมกรดผลไม้ และส่วนประกอบอื่น ๆ เช่น ผลไม้ ผัก ธัญชาติ สมุนไพรเคี่ยวให้มีความข้นเหนียวพอเหมาะที่อุณหภูมิที่เหมาะสม อาจแต่งสี และกลิ่นรสด้วยก็ได้ บรรจุในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน, 2547)

2.2.1 ชนิดของเยลลี่

2.2.1.1 เยลลี่ชนิดเหลว หมายถึงเยลลี่ที่มีลักษณะ เหลว นุ่ม มีน้ำเป็นองค์ประกอบ ใช้ช้อนตัก รับประทานหรือใช้หลอดดูด นิยมรับประทานแบบแช่เย็นจัดเป็นของหวานหรือใช้เป็นอาหารว่าง เยลลี่ ประเภทนี้มีส่วนผสมของสารก่อเจล (gelling agent) ที่ได้จากธรรมชาติ ได้แก่ คาราจีแนน เพคติน เจลลาติน ผงบุก สารให้ความหวาน (sweetener) สารปรับความเป็นกรด – ด่าง (pH) สีผสมอาหาร และสารแต่งกลิ่นแต่งรส

2.2.1.2 เยลลี่ชนิดแห้ง หมายถึงเยลลี่ชนิดที่มีเนื้อเหนียวหนึบ แห้ง เป็นเยลลี่ที่ได้จากการนำ ผลไม้ ผัก ธัญพืชตามธรรมชาติ (cereal grain) รวมถึงสมุนไพรมาคั้นหรือสกัดแล้วผสมกับสารให้ความหวาน (sweetener) และสารก่อเจล (gelling agent) เช่น เจลาติน คาราจีแนน วุ้น ในปริมาณที่เหมาะสมที่จะทำให้เยลลี่อยู่ในลักษณะที่แห้ง และเหนียวสามารถผสมกับผลไม้ และส่วนประกอบอื่น ๆ แล้วทำการเคี่ยวในอุณหภูมิที่เหมาะสม แต่งสี และกลิ่นแล้วรับประทานเป็นขนมหวาน

ผลิตภัณฑ์เยลลี่ได้รับความนิยมในกลุ่มคนทุกเพศ ทุกวัย เนื่องจากมีรสชาติ เนื้อสัมผัส สี และกลิ่น เป็นสิ่งสำคัญเพราะเป็นสิ่งดึงดูดใจให้ผลิตภัณฑ์น่ารับประทาน สิ่งที่กล่าวมาข้างต้นล้วนขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของเยลลี่ในตำรับผลิตภัณฑ์

2.2.2 ส่วนประกอบของเยลลี่

2.2.2.1 สารก่อเจล (Gelling agent) เป็นสารที่เกิดการพองตัวได้ในน้ำ เป็นเจลมีลักษณะกึ่งแข็ง และยืดหยุ่นได้ เป็นกลุ่มสาร ประเภทไฮโดรคลอลอยด์ สารก่อเจลแบ่งออกได้ 2 กลุ่ม ได้แก่

กลุ่ม Thermoreversible gel คือ สารก่อเจลเมื่อได้รับอุณหภูมิที่สูงจะเปลี่ยนสถานะกลับเป็นของเหลว ได้แก่ วุ้น (agar) คาราจีแนน (carrageenan) เจลาติน (gelatin) เมื่อเย็นตัวลงจะ เกิดลักษณะเป็นของกึ่งแข็ง ยืดหยุ่น และคงสภาพอยู่ได้ในอุณหภูมิห้อง

กลุ่ม Thermoirreversible gel คือ สารก่อเจลเมื่อได้รับอุณหภูมิที่สูงจะไม่เปลี่ยนสถานะกลับเป็นของเหลว ได้แก่ อัลจิเนต (alginate) โปรตีน เช่น การรวมกันของแอคติน และไมโอซิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารก่อเจลที่นิยมใช้ในการทำขนมหวาน เช่น เยลลี ไอศกรีม หรือเครื่องดื่ม นิยมใช้สารก่อเจล กลุ่ม thermoreversible gel เนื่องจากเป็นสารก่อเจลที่ราคาไม่แพง หาซื้อได้ตามท้องตลาด

เป็นสารก่อเจลที่ได้จากธรรมชาติ จึงเป็นที่นิยมนำมาใช้ในสูตรตำรับขนมหวาน และอาหารชนิดต่าง ๆ ได้แก่

2.2.2.1.1 คาราจีแนนเป็นสารก่อเจลที่ได้จากสาหร่ายสีแดง มีคุณสมบัติเป็นไฮโดรคอลลอยด์ (hydrocolloid) ชอบดึงดูดน้ำ และแขวนลอยในน้ำ ซึ่งโครงสร้างมีโมเลกุลเป็นพอลิแซคคาไรด์ (polysaccharide) ใช้เพิ่มความหนืดทำให้เนื้อเยลลี่แข็งตัว เพิ่มความยืดหยุ่น และสามารถเกิดเจลได้ที่อุณหภูมิห้อง (Hayashi et al., 2007)

2.2.2.1.2 เพคตินเป็นสารก่อเจลที่ได้จากพืชหลายชนิด เช่น มะนาว ส้มโอ เป็นสารกลุ่ม พอลิแซคคาไรด์ (polysaccharide) โครงสร้างมีโมเลกุลขนาดใหญ่เป็นองค์ประกอบหลัก ได้แก่ กรดกาแลกทูโรนิก (galacturonic acid) มีคุณสมบัติกระจายตัวในน้ำได้ดี ความหนืดขึ้นกับปริมาณความเป็นกรด - ด่าง (pH) ปริมาณแคลเซียม และน้ำตาล ใช้เป็นสารเพิ่มความหนืดในอาหาร เยลลี่ เครื่องดื่ม และขนมหวานต่าง ๆ (Boland et al. 2004)

2.2.2.1.3 เจลลาตินเป็นสารก่อเจลจำพวกโปรตีนที่ได้จากการสลายด้วยกรดหรือด่าง แหล่งกำเนิดจากกระดูก และหนังสัตว์ ได้แก่ วัว กระบือ เป็นต้น ซึ่งในเจลลาตินประกอบด้วย glycine, proline และ hydroxyproline เกิดเป็นเจลได้ในอุณหภูมิประมาณ 32 องศาเซลเซียส ได้เป็นของเหลว หนืด เมื่อเย็นตัวลงจะได้เจล ใช้เป็นส่วนประกอบทั้งด้านยา อาหาร และขนมหวาน เป็นต้น (Johnston and Banks., 1990)

2.2.2.2 สารให้ความหวาน (Sweetener) ทำหน้าที่เป็นสารช่วยปรับแต่งรสชาติให้ผลิตภัณฑ์เยลลี่ มีรสชาติที่หวานน่ารับประทาน ได้แก่ กลุ่มน้ำตาลต่าง ๆ ซึ่งสารให้ความหวานเป็นสารที่นำมาแต่งรสชาติอาหาร และเครื่องดื่ม เป็นสารเคมีที่สังเคราะห์ขึ้น และได้จากธรรมชาติ โดยแบ่งออก 2 ประเภท ได้แก่

สารให้ความหวานที่ให้คุณค่าทางโภชนาการ แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ น้ำตาลเป็นสารให้ความหวานในกลุ่มคาร์โบไฮเดรต เช่น กลูโคส ฟลุคโตส และน้ำตาลแอลกอฮอล์ เป็นสารประกอบในกลุ่มแอลกอฮอล์ เช่น ไซลิทอล ซอบิทอล แมนนิทอล เป็นต้น

สารให้ความหวานที่ไม่ให้พลังงานหรือสารให้ความหวานสังเคราะห์สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาแห่งสหรัฐอเมริกา (The United states food and drug administration, U.S. FDA) ได้กำหนดชนิดของสารให้ความหวาน (น้ำตาลเทียม) ที่อนุญาตให้ใช้ในอาหารได้อย่างปลอดภัยในอาหาร และเครื่องดื่มไว้ 6 ชนิด ได้แก่ แซคคาริน หรือ ขัณฑสกร (Saccharin) แอสพาแตม (Aspartame) อะซีซัลเฟม โพแทสเซียม หรือ อะซีซัลเฟม เค (Acesulfame potassium, Acesulfame - K) ซูคราโลส (Sucralose) นีโอแตม (Neotame) แอดแวนแตม (Advantame)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2.3 สารควบคุมความเป็นกรด - ด่าง (pH) ทำหน้าที่ควบคุมความเป็นกรด - ด่าง (pH) ของตำรับผลิตภัณฑ์เยลลี่มีค่าความเป็น กรด - ด่าง (pH) ประมาณ 2.8 – 3.5 ขึ้นอยู่กับชนิดของสาร

ก่อเจล ถ้าค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) เปลี่ยนแปลงไปอาจส่งผลต่อความคงตัวของเยลลี่ได้ สารที่ใช้ปรับความเป็นกรด - ด่าง (pH) ของผลิตภัณฑ์เยลลี่ ได้แก่ กรดซิตริก กรดมาลิก กรดแลคติก เกลือโซเดียมเกลือโพแทสเซียม เกลือแคลเซียมโซเดียม และโพแทสเซียมไบคาร์บอเนต

2.2.2.4 สารแต่งสี (Coloring agent) และสารแต่งกลิ่น (Flavoring agent) สารแต่งสีมีหน้าที่ปรับสีสันให้ผลิตภัณฑ์เยลลี่มีความสวยงาม น่ารับประทานมากยิ่งขึ้น สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ สีจากธรรมชาติ และจากการสังเคราะห์ ซึ่งกลุ่มสีที่ได้จากธรรมชาติที่ใช้ผสมอาหาร และใช้ภายนอกแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม (Martins et al., 2016) ได้แก่ กลุ่มสีอนินทรีย์ เช่น ผงถ่าน titanium dioxide และ calcium carbonate ให้สีขาวขุ่น aluminium และเงินให้สีเทาเงิน iron oxides ให้สีเหลือง แดง น้ำตาล และดำ เป็นต้น ส่วนกลุ่มสีที่สกัดจากส่วนต่าง ๆ ของพืช ผัก ผลไม้ จุลินทรีย์ และสัตว์ต่าง ๆ จนได้เป็นสีออกมา สีผสมธรรมชาติยังแบ่งตามโครงสร้างของรงควัตถุ (pigment) ได้เป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ อนุพันธ์เททราไพโรล (tetrapyrole derivative) เช่น คลอโรฟิลล์ (chlorophyll) และฮีม (heme) จะให้สีเขียว และเมื่อทำปฏิกิริยาจะกลายเป็นสีน้ำตาล อนุพันธ์ไอโซพรีนอยด์ (isoprenoid derivative) เช่น แครอทีนอยด์ชนิดต่าง ๆ จะให้สีเหลือง อนุพันธ์เบนโซไพราน (benzopyran derivative) เป็นสีในกลุ่มแอนโทไซยานิน พบในพืชที่มีสีแดง สีน้ำเงินถึงม่วงเข้ม และสีในกลุ่มแอนโทแซนทินและแทนนิน สารกลุ่มนี้ไม่เป็นที่นิยมเพราะ เกิดการเปลี่ยนแปลงได้ง่าย และกลุ่มสีชนิดอื่น ๆ ได้แก่ สีแดงจากครั่ง และบีทรูท สีเหลืองจากขมิ้น สีเหลืองทองจากหญ้าฝรั่น สีม่วงจากดอกอัญชัน และผิวองุ่น สีเหลืองหรือสีแสดจากดอกคำฝอย เป็นต้น (กิติมา เหมวงษา, 2549) ข้อดีของสีที่ได้จากธรรมชาติคือมีความปลอดภัย และมีฤทธิ์ทางชีวภาพเช่น ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ตัวอย่างเช่น ผักและผลไม้ที่มีสี เขียว แดง เหลือ น้ำเงิน และส้ม จะมีสารสำคัญ เช่น astaxanthin, lycopene, lutein, anthocyanin และ beta carotene ซึ่งสารเหล่านี้เป็นที่ทราบกันดีว่ามีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน อย่างไรก็ตามสีจากธรรมชาติมีข้อจำกัดคือต้องใช้ในปริมาณที่มากกว่าสีสังเคราะห์ และอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงของเนื้อสัมผัส กลิ่น และรสชาติของเครื่องดื่มได้ นอกจากนี้ยังมีความคงตัวต่ำซึ่ง อุณหภูมิ ความเป็นกรด – ด่าง แสง มีผลต่อความคงตัว และความเข้มของสีนอกจากนี้ความไม่สม่ำเสมอของสียังขึ้นอยู่กับอายุ ฤดูกาล สภาพแวดล้อมที่เป็นแหล่งกำเนิดของพืชที่ให้สีจากธรรมชาติ (Griffiths., 2005)

นอกจากนี้ยังมีกลุ่มสีที่สังเคราะห์ขึ้นจากสารเคมีแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่ สีสังเคราะห์ที่ละลายน้ำ สีสังเคราะห์ที่ละลายในน้ำมัน และผงสี (lakes) สีสังเคราะห์ที่ละลายน้ำ ได้แก่ amaranth, ponceau 4 R, erythrosine, carmoisine หรือ azorubine จัดอยู่ในกลุ่มสีแดง sunset yellow FCF, tartrazine จัดอยู่ในกลุ่มสีเหลือง fast green FCF จัดอยู่ในกลุ่มสีเขียว indigo carmine or indigotine และ brilliant blue FCF จัดอยู่ในกลุ่มสีน้ำเงิน นอกจากนี้ยังพบสีสังเคราะห์เลียนแบบสารธรรมชาติ ได้แก่ เบต้าแคโรทีน, เบต้า – อะโป – 8 – แครอทีนาล ข้อดีของสีที่ได้จากการสังเคราะห์คือมีความคงตัวสูง ให้สีที่มีความสม่ำเสมอ ใช้ในปริมาณน้อย มีหลายเฉดสี และมีราคาถูกกว่าเมื่อเทียบกับสีที่ได้จาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ธรรมชาติ อย่างไรก็ตามสีที่ได้จากการสังเคราะห์มีข้อจำกัดคืออาจก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกายถ้าใช้ในปริมาณสูงกว่าที่กำหนด brilliant blue ก่อให้เกิดการแพ้ในเด็ก และ tartrazine ทำให้เกิดอาการคันหอบหืด และไมเกรน นอกจากนี้อาจพบการปนเปื้อนของโลหะหนัก และการตกค้างของสารตั้งต้น และตัวทำละลายที่ใช้ในการสังเคราะห์สี ดังนั้นควรเลือกใช้สีที่ได้จากการสังเคราะห์ตามชนิด และปริมาณที่กระทรวงสาธารณสุขประกาศ

สารแต่งกลิ่นทำหน้าที่ช่วยปรับให้ผลิตภัณฑ์เยลลี่มีกลิ่นหอมน่ารับประทานมากยิ่งขึ้น แบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ สารแต่งกลิ่นที่ได้จากธรรมชาติ สารแต่งกลิ่นที่สังเคราะห์ขึ้น และสารแต่งกลิ่นเลียนแบบธรรมชาติ (ทิพย์ธิดา แก้วตาทิพย์, 2558) ซึ่งสารแต่งกลิ่นที่ได้จากธรรมชาติส่วนใหญ่ได้มาจากพืชที่มีกลิ่นหอมซึ่งมีน้ำมันหอมระเหยเป็นองค์ประกอบหลัก เช่น มะนาว ส้ม สับปะรด ส่วนเครื่องเทศที่ให้กลิ่นหอม เช่น พริกไทย กระวาน กระเทียม ผักชี มิ้นต์ และยังมีสารที่ให้กลิ่นหอมอีกกลุ่มคือสารที่แต่งกลิ่นเลียนแบบธรรมชาติคือ โอลีโอเรซิน ที่ได้จากเครื่องเทศแต่ละชนิด และมีกลิ่นหอมเฉพาะตัว เช่น น้ำมันยี่หร่า น้ำมันกะเพรา อบเชย เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีสารแต่งกลิ่นที่สังเคราะห์ขึ้นที่ใช้แต่งกลิ่นผลิตภัณฑ์อาหาร และเครื่องดื่ม ได้แก่ เอสเทอร์ชนิดต่าง ๆ เอสเทอร์ (Ester) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากปฏิกิริยาระหว่างกรดอินทรีย์กับแอลกอฮอล์ เอสเทอร์ที่เกิดในธรรมชาติจะอยู่ในรูปของไขมัน น้ำมัน และขี้ผึ้ง เอสเทอร์เป็นสารประกอบที่มีมวลโมเลกุลต่ำ และมีกลิ่นคล้ายผลไม้ พบว่าเอสเทอร์ยังเป็นส่วนประกอบในผลไม้หลายชนิด และกลิ่นที่เป็นลักษณะเฉพาะของผลไม้ ชนิดต่าง ๆ เช่น เอทิลบิวทิเรต (ethyl butyrate) มีกลิ่นคล้ายสับปะรด ไอโซเอมิลแอซีเตต (isoamyl acetate) มีกลิ่นคล้ายกล้วยหอมและลูกแพร์ และเอทิลฟีนิลแอซีเตต (ethyl phenylacetate) มีกลิ่นคล้ายน้ำผึ้ง

2.3 โพรไบโอติก (Probiotics)

คำว่า“โพรไบโอติก”นั้น ถูกนำมาใช้ครั้งแรกโดย Lilley และ Stillwell ในปี ค.ศ. 1965 ซึ่งได้กล่าว ว่า โพรไบโอติก หมายถึง สารคัดหลั่งจากจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งซึ่งสามารถกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่งได้ (Lilly and Stillwell, 1965)

ใน ค.ศ. 1999 Salminen และคณะกล่าวว่า โพรไบโอติก คือเซลล์จุลินทรีย์หรือองค์ประกอบของจุลินทรีย์ที่ช่วยส่งเสริมสุขภาพของผู้บริโภค (Salminen et al., 1999)

องค์การอาหารและเกษตรแห่งสหประชาชาติ (Food and Agriculture Organization of the United Nations: FAO) และองค์การอนามัยโลก (World Health Organization: WHO) ได้นิยามโพรไบโอติก ว่า คือจุลินทรีย์มีชีวิตเมื่อบริโภคในปริมาณที่เพียงพอจะช่วยส่งเสริมสุขภาพของผู้บริโภค (FAO/WHO, 2002) ดังนั้น โพรไบโอติก คือ จุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่พบในร่างกายมนุษย์อยู่แล้ว หรือเมื่อรับประทานเข้าไปแล้วช่วยให้ร่างกายผู้นั้นมีสุขภาพที่ดีขึ้น และต้องยังคงสภาพที่มีชีวิต ซึ่งทนต่อสภาวะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเอกสารนี้ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรด และเกลือน้ำดีได้ โดยสามารถยึดเกาะกับเนื้อเยื่อบุผนังลำไส้ และให้ประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์ โดยไม่ก่อให้เกิดโทษต่อร่างกาย (Amara and Shibl, 2015)

2.4 การคัดเลือกแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกจากผลิตภัณฑ์หมักชนิดต่างๆ

ปัจจุบันความสนใจอาหารเพื่อสุขภาพโดยเฉพาะการนำแบคทีเรียโพรไบโอติกมาใช้ประโยชน์มีมากขึ้น ดังนั้น จึงมีการกำหนดคุณสมบัติเพื่อใช้ในการคัดเลือกโพรไบโอติก เพื่อให้มีความเหมาะสมในการนำไปใช้ในทางอุตสาหกรรมหรือเพื่อการค้า และสร้างความเชื่อมั่นด้านความปลอดภัยต่อผู้บริโภคในการนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารประเภทต่างๆ

มีรายงานการคัดแยกแบคทีเรียโพรไบโอติกตั้งแต่ปี 1900 จนปัจจุบัน มักพบว่าคัดแยกมาจากนมและผลิตภัณฑ์นมเป็นส่วนใหญ่ เช่น *B. bifidum, B. breve, L. acidophilus, L. delbrueckii subsp. bulgaricus, L. plantarum, L. casei, L. lactis. E. faecium, E. durans* เป็นต้น (ไชยวัฒน์ ไชยสุต ,1994) นอกจากนี้ พบการรายงานการคัดแยกโพรไบโอติกที่ไม่ได้อยู่ในกลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติก เช่น *Staphyloccus sciuri* จากเนยแข็ง (Mogensen G, et al. 2002) และ *Saccharomyces cerevisiae subsp. Boulardii* จาก Feta cheese (Psomas, E, et al. 2001; Mogensen G, et al. 2002)

ในการคัดเลือกโพรไบโอติกแบคทีเรียกรดแลคติกที่จะนำมาใช้กับมนุษย์จำเป็นมีคุณสมบัติ (Lee et al. 1999; Morelli, 2000; Duangjitcharoen et al. 2008) ดังนี้

(1) ความสามารถในการเจริญได้ในภาวะที่มีเกลือน้ำดีร้อยละ 0.15 และ 0.30 ทั้งนี้เพื่อให้สัมพันธ์กับสภาวะการหลั่งเกลือน้ำดีภายในลำไส้เล็กในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ ที่มีความเข้มข้นของเกลือน้ำดี ประมาณร้อยละ 0.15 - 0.30 และเป็นแหล่งที่จุลินทรีย์โพรไบโอติกอาศัยอยู่

(2) ความสามารถในการเจริญได้ในภาวะความเป็น กรด - ด่าง (ค่าพีเอช, pH unit) 2, 3, 4, 8 และ 9 ซึ่งเป็นระดับความเป็น กรด - ด่าง เช่นเดียวกับที่พบ ในกระเพาะอาหารของมนุษย์ ซึ่งมีความเป็นกรดที่ระดับค่าพีเอชเท่ากับ 3 หรือ ต่ำกว่า และในลำไส้เล็กที่มีความเป็นด่างในระดับค่าพีเอชประมาณ 8 ถึง 9 ทั้งนี้ ความสามารถของแบคทีเรียที่เจริญได้ในสภาวะดังกล่าว บ่งบอกถึงความสามารถในการเจริญรอดชีวิตจากภาวะความเป็น กรด - ด่าง ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ได้

(3) ความสามารถในการย่อยสารชีวโมเลกุลขนาดใหญ่ คือ โปรตีน แป้ง และไขมัน ซึ่งมีความสามารถในการย่อยสารชีวโมเลกุล คือ ความสามารถในการส่งเสริมระบบการย่อยสารอาหารเพื่อการดูดซึมไปใช้ประโยชน์ต่อร่างกายของมนุษย์ได้

(4) สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มี และไม่มีอากาศ ทั้งนี้เนื่องจากในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ ยิ่งลึกลงไปยิ่งมีปริมาณอากาศที่เบาบาง หรือไม่มีอากาศเลย ดังนั้นสายพันธุ์แบคทีเรียกรดแลคติกที่

เอกสารนี้เป็น ไม่ให้ใช้ในทางการค้า

สามารถเป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติกได้ ต้องมีคุณลักษณะที่สามารถเจริญได้ทั้งสภาวะที่มี และไม่มีอากาศได้ ยิ่งสามารถเจริญได้ใกล้เคียงกันในทั้งสองสภาวะ ยิ่งเป็นผลดีต่อการรอดชีวิตในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์

(5) การไม่แก่งแย่งสารอาหารที่จำเป็นต่อร่างกายมนุษย์ โดยการทดสอบความสามารถในการเจริญได้ ในอาหารเพาะเลี้ยงที่ไม่มีวิตามินบี 12 (cobalamin free medium) ทั้งนี้เนื่องจากการดูดซึมวิตามินเข้าสู่ร่างกายมักเกิดที่ลำไส้เล็ก และวิตามินบี 12 เป็นวิตามินที่ละลายน้ำชนิดหนึ่งที่ถูกดูดซึมในบริเวณลำไส้เล็ก ซึ่งเป็นแหล่งที่มาของวิตามินบี 12 ในแหล่งอาหารจากธรรมชาตินั้น พบว่ามีเฉพาะในเนื้อสัตว์เท่านั้น ดังนั้น เมื่อแบคทีเรียสามารถเจริญได้ในอาหารที่ไม่มีวิตามินบี 12 คือไม่ต้องอาศัยวิตามินบี 12 ในการเจริญ จึงน่าจะเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคกลุ่มมังสวิรัติหรือผู้ที่รับประทานอาหารมังสวิรัติที่ไม่ดื่มนม ซึ่งมักจะมีระดับวิตามินบี 12 ในร่างกายต่ำ

(6) ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร และแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของอาหารเน่าเสียรวมทั้งหมด 13 ชนิด ซึ่งคุณสมบัตินี้ของแบคทีเรียจะสามารถต้านจุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหารอาจช่วยในการลดการก่อโรค และป้องกันปัญหาสุขภาพอื่น ๆ ที่มีแบคทีเรียก่อโรค ดังกล่าวเป็นสาเหตุ

(7) ประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติกจากยาปฏิชีวนะ โดยทั่วไปจะพบว่า มีแนวโน้มการตอบสนองต่อประสิทธิภาพของยาปฏิชีวนะใกล้เคียงกัน คือ ดื้อต่อยาในกลุ่มยับยั้งการสังเคราะห์ผนังเซลล์ ได้แก่ ยาปฏิชีวนะ vancomycin และ bacitracin ดื้อต่อยาในกลุ่มยับยั้งการสังเคราะห์โปรตีน ได้แก่ ยาปฏิชีวนะกลุ่ม aminoglycosides เช่น gentamicin kanamycin และ Streptomycin ดื้อต่อยาในกลุ่มยับยั้งการสังเคราะห์กรดนิวคลีอิก ได้แก่ ยาปฏิชีวนะกลุ่ม Quinolones เช่น norfloxacin และ ดื้อต่อยาในกลุ่มยับยั้งการทำหน้าที่ของเยื่อหุ้มเซลล์ ได้แก่ ยาปฏิชีวนะ polymyxin B เป็นต้น

(8) ความสามารถในการเกาะติด และอาศัยอยู่บริเวณลำไส้ของสิ่งมีชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติก ซึ่งความสามารถในการเกาะติดผนังลำไส้ของเจ้าบ้าน เป็นคุณสมบัติที่มีความสำคัญในการส่งเสริมสุขภาพของผู้บริโภค เพราะเป็นการเริ่มต้นของการอาศัยในระบบทางเดินอาหารของสิ่งมีชีวิต และช่วยปรับปรุงระบบภูมิคุ้มกันของเจ้าบ้านหรือผู้บริโภคได้ แบคทีเรียที่สามารถเกาะติดลำไส้ผู้บริโภคได้ จะเป็นตัวขับเคลื่อนสำคัญให้ร่างกายผู้บริโภคเกิดกลไกการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย โดยเฉพาะในลำไส้นั้นมีเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับระบบภูมิคุ้มกันกว่าร้อยละ 80 อยู่บริเวณนี้ จึงถือว่าระบบทางเดินอาหารเป็นแหล่งที่มีบทบาทสูงต่อสุขภาพของสิ่งมีชีวิต เมื่อแบคทีเรียเข้าไปในร่างกายจะทำให้ระบบภูมิคุ้มกัน จดจำว่าเป็นจุลินทรีย์ชนิดดี หรือชนิดที่ไม่ดี และมีการตอบสนองที่แตกต่างกันอย่าง เช่น ถ้าเป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติกชนิดดีมีประโยชน์ เมื่อผ่านเข้ามาในระบบทางเดินอาหาร และเกาะติดผิวเยื่อบุบริเวณลำไส้ ระบบภูมิคุ้มกันจะจดจำมีความทนทาน (oral tolerance) ยอมรับให้อยู่ร่วมกันโดยจุลินทรีย์จะอาศัยอาหาร ในการเจริญเติบโต และผลพลอยได้ก็คือทำให้เจ้าบ้านได้รับสิ่งที่เป็นประโยชน์ร่วมด้วย เป็นการอยู่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัย โดยโพรไบโอติกสามารถทำให้สภาพแวดล้อมที่อาศัยอยู่มีสภาพเป็นกรดทำให้เชื้อก่อโรค ซึ่งมักไม่ทนกรดนั้นไม่สามารถเจริญเติบโตได้ นอกจากนี้โพรไบโอติกยังสามารถผลิตเอนไซม์ที่ช่วยย่อยสารอาหารบางชนิด และสามารถผลิตวิตามินสามารถผลิตสารต้านเชื้อแบคทีเรียก่อโรค เช่น กรดอินทรีย์ แบคเทอริโอซิน ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และสารชนิดอื่น ๆ นอกจากนี้ยังช่วยปรับสมดุลจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ให้สามารถควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหารได้ซึ่งอาจส่งผลดีต่อสุขภาพในด้านอื่น ๆ เช่น ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด ช่วยกระตุ้นหน้าที่ของระบบภูมิคุ้มกัน ช่วยป้องกันการติดเชื้อ ลดการเกิดโรคมะเร็ง (Ouwehand et al., 1999; Zubillaga et al., 2001; Holzapfel and Schillinger, 2002) เพิ่มคุณค่าทางอาหารโดยช่วยให้ระบบย่อยอาหารทางานได้ดี และช่วยบังคับการเคลื่อนที่ภายในระบบทางเดินอาหาร (Vaughan et al., 1999) แต่ ในทางกลับกัน ถ้าเป็นจุลินทรีย์ชนิดที่ไม่ดีหรือเป็นเชื้อก่อโรคระบบภูมิคุ้มกันจะตอบสนองแบบต่อต้านโดยกลไกต่าง ๆ เป็นต้นว่า เหนี่ยวนำให้เซลล์ที่เกี่ยวข้องกับภูมิคุ้มกันมาทำลายหรือดักจับแล้วขับออกจากร่างกาย หรืออาจเหนี่ยวนำให้ระบบภูมิคุ้มกันสร้างสารมาทำลายเชื้อโรค ซึ่งถ้ารุนแรงอาจมีการทำลายเซลล์ของเราจนเกิดภาวะการอักเสบรุนแรงได้ ฉะนั้น คุณสมบัติการเกาะติดเซลล์เยื่อบุของโพรไบโอติกจึงเป็นคุณสมบัติที่มีความสำคัญที่จะเป็นตัวขับเคลื่อนส่งผลต่อสุขภาพของผู้บริโภค

2.5 บทบาทของโพรไบโอติกในการดูแลสุขภาพ

การรับประทานผลิตภัณฑ์ประเภทโพรไบโอติกจะส่งผลดีต่อสุขภาพ ด้วยการเข้าไปทดแทนจุลินทรีย์ดี ที่ร่างกายสูญเสียไปจากการย่อยอาหาร และสาเหตุอื่น เช่น รับประทานอาหารไม่ถูกหลักโภชนาการ ความเครียด พักผ่อนน้อย การใช้ยาปฏิชีวนะมากเกินไป การใช้ยาบางชนิด และสภาพแวดล้อมอื่น ๆ

เดิมที ระบบการย่อยอาหารในสภาพปกติสามารถกำจัดแบคทีเรีย สารพิษ สารเคมี และของเสียอื่น ๆ ออกจากร่างกายได้เอง แต่เมื่อจุลินทรีย์ชนิดดีลดลง จุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายจึงออกฤทธิ์ได้มากขึ้น ทำให้การ เคลื่อนไหวของทางเดินอาหารลดลง และทำงานได้ไม่เต็มที่ จึงอาจส่งผลให้เกิดอาการปวดท้อง แน่นท้อง อาหารไม่ย่อย ท้องผูก ท้องเสีย และอาการอื่น ๆ ตามมาได้

นอกจากนี้ โพรไบโอติกยังมีบทบาทสำคัญต่อระบบภูมิคุ้มกัน ซึ่งเป็นด่านแรกที่ช่วยต่อต้านสิ่งแปลกปลอมจากภายนอกร่างกาย เมื่อร่างกายเสียสมดุลระหว่างจุลินทรีย์ชนิดดี และชนิดที่เป็นอันตราย ทำให้ระบบต่าง ๆ ภายในร่างกายทำงานไม่เป็นไปตามปกติ เชื้อไม่ดี และสิ่งแปลกปลอมจึงก่อสารพิษในขณะที่อยู่ในร่างกายได้ง่ายขึ้น จึงส่งผลให้ระบบภูมิคุ้มกันอ่อนแอลง และเสี่ยงต่ออาการแพ้มากขึ้น เช่น ท้องเสีย ติดเชื้อที่ผิวหนังหรือในช่องคลอด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น

ดังนั้น การรับประทานโพรไบโอติก (Probiotics) จึงอาจช่วยลดโอกาสการเกิดโรคหรือความผิดปกติได้หลายอย่าง เช่น ระบบการย่อยอาหารผิดปกติ เช่น ท้องเสียจากการติดเชื้อหรือการใช้

ยาปฏิชีวนะ โรคลำไส้แปรปรวน และกลุ่มโรคที่มีการอักเสบของระบบทางเดินอาหารเรื้อรัง (Inflammatory Bowel Disease) กลุ่มโรคภูมิแพ้ เช่น โรคจมูกอักเสบจากภูมิแพ้ ฟันผุ โรคปริทันต์ หรือปัญหาเกี่ยวกับช่องปากอื่น ๆ อาการโคลิคในเด็กเล็ก โรคตับ ไข้หวัด ภาวะลำไส้เน่าในทารกที่คลอดก่อนกำหนด

นอกจากประโยชน์ต่อสุขภาพภายในแล้ว โพรไบโอติกอาจช่วยเสริมความแข็งแรง และลดปัญหาผิวหนัง โดยจากการศึกษาที่ใช้โพรไบโอติกเป็นการรักษาเสริม ทั้งรูปแบบรับประทาน และแบบทาในกลุ่มผู้ป่วยที่เป็นโรคผิวหนัง อย่างเป็นสิว โรคผื่นภูมิแพ้ผิวหนัง (Atopic Dermatitis) โรคเซ็บเดิร์ม (Seborrheic Dermatitis) โรคสะเก็ดเงิน และเป็นแผลเรื้อรัง พบว่าการอักเสบของผิวหนังที่เกิดจากภูมิคุ้มกันที่ผิดปกติ และปัจจัยอื่น ๆ ทุเลาลง และยังอาจช่วยให้ผิวดูอ่อนกว่าวัยได้อีกด้วย

ด้วยสรรพคุณสุขภาพเหล่านี้ เราจึงควรใส่ใจในการรับประทานอาหารที่มีโพรไบโอติก (Probiotics) ให้มากขึ้น รวมทั้งอาหารที่มีประโยชน์ประเภทอื่น ๆ โดยเฉพาะผัก และผลไม้ เพื่อเพิ่มใยอาหารที่ช่วยเสริมการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ ซึ่งการบริโภคอย่างต่อเนื่องเป็นประจำอาจช่วยให้ร่างกายแข็งแรงจากภายในสู่ภายนอก เมื่อภาวะจุลินทรีย์ในลำไส้สมดุลก็อาจช่วยบรรเทาอาการผิดปกติต่าง ๆ ทั้งยังช่วยเสริมภูมิต้านทาน ลดความเสี่ยง และความรุนแรงของโรคบางชนิด

2.6 แบคทีเรียกรดแลคติกที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก

แบคทีเรียกรดแลคติก (lactic acid bacteria) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (gram positive bacteria) มีทั้งรูปร่างท่อน และรูปร่างกลม ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างเอนไซม์แคตะเลส (catalase negative) ไม่สร้างสปอร์ (non-spore forming) การจัดเรียงกลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติกในสกุลต่าง ๆ ขึ้นอยู่กับลักษณะรูปร่าง รูปแบบ ของการหมักน้ำตาลกลูโคส การใช้น้ำตาลชนิดต่าง ๆ และการเจริญที่อุณหภูมิต่าง ๆ การผลิตสารต่าง ๆ และ การทนต่อสภาวะกรดหรือด่าง (Soomro et al, 2002)

2.6.1 การจำแนกแบคทีเรียกรดแลคติก (Salvetti et al., 2012)

2.6.1.1 แบคทีเรียกรดแลคติกในกลุ่มแลคโตบาซิลไล

1) กลุ่มที่ทำให้เกิดการหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเททีฟเพียงอย่างเดียว (obligate homofermenter) หมายถึง แบคทีเรียพวกที่หมักแล้วได้ผลผลิตเป็นกรดแลคติกเพียงอย่างเดียวใน สภาวะที่ไม่มีออกซิเจน แบคทีเรียสามารถผลิตกรดแลคติกได้มากกว่าร้อยละ 85 จากน้ำตาลเฮกโซส (hexose) เช่น กลูโคส ได้แก่ *L. acidophilus, L. delbruckii* และ *L. helveticus*

2) กลุ่มที่ทำให้เกิดการหมักได้ทั้งสองแบบ (facultative heterofermenter) หมายถึง แบคทีเรียพวกที่หมักแล้วให้ผลผลิตเป็นกรดแลคติก ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และกรดอะซิติก หรือ เอทานอล ได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน แบคทีเรียสามารถผลิตกรดแลคติกจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำตาลเฮกโซสได้ และสามารถใช้น้ำตาลเพนโทส (pentose) ได้เล็กน้อย ได้แก่ *L. casei, L. plantarum* และ *L. sake*

3) กลุ่มที่ทำให้เกิดการหมักแบบเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟเพียงอย่างเดียว (obligate heterofermenters) หมายถึง แบคทีเรียพวกที่หมักแล้วให้ผลผลิตเป็นกรดแลคติก ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และกรดอะซิติก หรือเอทานอล ได้ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน แบคทีเรียสามารถสามารถใช้น้ำตาลเฮกโซส และน้ำตาลเพนโทสได้ดี ได้แก่ *L. bervis, L. fermentum* และ *L. kefir*

2.6.1.2 แบคทีเรียกรดแลคติกชนิดอื่น ๆ ที่ไม่ใช่แลคโตบาซิลไล

1) *Leuconostoc* เป็นแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีรูปร่างกลม (coccus) ซึ่งเป็นลักษณะสำคัญ ที่ทำให้สามารถจำแนกออกจากพวกแลคโตบาซิลไลได้ง่าย แบคทีเรียชนิดนี้ไม่นิยมนำมาใช้ใน การหมักกรดแลคติก เพราะเกิดการสร้างเมือก (slime) จากการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตได้เดกซ์แทรน (dextran) ซึ่งทำให้เกิดเมือก สามารถเจริญได้ดีในสภาพแวดล้อมที่มีแรงดันออสโมซีสสูง (osmophilic bacteria) และมีหลายสายพันธุ์สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ (psychrophilicbacteria) โดยเจริญได้ในอุณหภูมิ 1-2 องศาเซลเซียส จึงเป็นสาเหตุให้อาหารแช่เย็นเน่าเสีย ตัวอย่างเช่น

Leuconostoc mesenteroides ก่อให้เกิดเมือกในระหว่างกระบวนการผลิตน้ำตาลใช้ในการหมักผักต่าง ๆ เช่น ผักกะหล่ำ แตงกวา เป็นต้น แบคทีเรียสายพันธุ์นี้ยังตรวจพบในผลไม้และผลิตภัณฑ์นมอีกด้วย

Leuconostoc cremoris ใช้เป็นหัวเชื้อ (Starter) ในการผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยว

2) *Pediococcus* เป็นแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีรูปร่างกลม (coccus) ที่นิยมนำมาใช้หมักกรดแลคติก เป็นกลุ่มที่ทำให้เกิดการหมักแบบโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ ไม่สร้างสปอร์ตัวอย่าง เช่น

P. halophilus เป็นแบคทีเรียที่ชอบเกลือ (halophilic bacteria) เจริญได้ดีในที่มีเกลือร้อยละ 6-8 และทนเกลือมากกว่าร้อยละ 15 ในปัจจุบันถูกจัดไว้ในสปีชีส์ใหม่ในชื่อว่า *Tetragenococcus halophilus* เจริญในระหว่างการผลิตซีอิ๊ว (fermented soy sauce) เนยแข็ง (cheese)

P. cerevisiae ก่อให้เกิดการเสื่อมสภาพของเบียร์ เนื่องจากสารไดแอซีทิล (diacety) ที่สร้างขึ้นมา และทนต่อสารเคมีของดอกฮอพ (hop) ที่ใช้ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (antiseptics) ในกระบวนการผลิตเบียร์

3) *Streptococcus* แบคทีเรียในกลุ่มสเตรปโตคอกไค มีลักษณะเด่นที่สามารถจำแนกย่อยออก ได้เป็น 3 กลุ่ม (จีนัส) คือ Enterococci, Lactococcus และ Streptococcus แบคทีเรียมีรูปร่างกลม สามารถเจริญได้ทั้งสภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) มีความต้องการสารอาหารที่มีโครงสร้างซับซ้อน ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ และสามารถทนต่อการฉายรังสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(food irradiation) สายพันธุ์ที่ทนต่อรังสีได้ดี ได้แก่ *Streptococcus faecalis* ตัวอย่างเช่น *Streptococcus thermophiles* ใช้เป็นหัวเชื้อในการผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยว

2.7 การระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรียกรดแลคติก

แบคทีเรียกรดแลคติกมีหลากหลายสายพันธุ์ การระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรียจึงมีประโยชน์ทำให้ทราบสกุล (genus) ชนิด (species) และสายพันธุ์ (strain) ต่าง ๆ ของแบคทีเรีย ซึ่งการระบุสายพันธุ์ของแบคทีเรีย สามารถทำได้หลายวิธี ดังนี้

2.7.1 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

2.7.1.1 การมองด้วยตาเปล่า

การศึกษารูปร่างของเซลล์ และโคโลนีด้วยตาเปล่าบนอาหารเลี้ยงเชื้อ de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) agar โดยแบคทีเรียกรดแลคติกจะมีลักษณะโคโลนีสีขาว ขุ่น ขอบเรียบนูน (Batdorj et al,, 2006)

2.7.1.2 การย้อมสีแกรม (Gram's stain)

การย้อมสีแกรมเป็นเทคนิคการย้อมสีเซลล์ของแบคทีเรีย ใช้ในการศึกษาเซลล์ของแบคทีเรียโดยการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ใช้แสง คิดค้นโดย Han Christian Gram ใน ค.ศ. 1984 สามารถจำแนกแบคที่เรียออกได้เป็น 2 ชนิด คือ แบคทีเรียแกรมบวก (Gram positive bacteria) และแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria) จากคุณสมบัติของผนังเซลล์ (cell wall) โดยแบคทีเรียแกรมลบจะติดสีแดงของซาฟลานินโอ (safranin O) ขณะที่แบคทีเรียแกรมบวกจะติดสีม่วงของคริสตัลไวโอเลต (crystal violet) โดยเมื่อมีการเติมสารละลายไอโอดีนเพื่อยึดสีย้อมกับผนังเซลล์ของแบคทีเรียได้ดียิ่งขึ้นเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนของสีย้อมกับสารละลายไอโอดีนจับกัน (crystal violet - iodine complex) ซึ่งจะเกิดขึ้นเฉพาะในแบคทีเรียแกรมบวก ส่วนแบคทีเรียแกรมลบจะไม่ติดกับสารประกอบดังกล่าว แต่จะติดกับสีย้อมของซาฟลานินโอแทน

การย้อมสีแบคทีเรียแกรมบวก และลบ ที่ติดสีย้อมแตกต่างกันเกี่ยวข้องกับโครงสร้าง และองค์ประกอบของผนังเซลล์ โดยเฉพาะในแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งมีสารพวกไขมันเกาะอยู่ที่ผนังเซลล์มากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก และมีผนังเซลล์ที่บางกว่า ในกระบวนการย้อมสีเมื่อล้างด้วยแอลกอฮอล์หรืออะซิโตนจะไปละลายไขมัน ทำให้รูที่ผนังเซลล์เปิดกว้างขึ้น ยอมให้สารประกอบเชิงซ้อนของสีคริสตัลไวโอเลตกับไอโอดีนหลุดออกมา จึงติดสีแดงของซาฟลานินโอ แต่ในแบคทีเรียแกรมบวกซึ่งมีไขมันที่ผนังเซลล์น้อยกว่า และมีความซับซ้อนขององค์ประกอบที่ผนังเซลล์น้อยกว่าเมื่อล้างสีด้วยแอลกอฮอล์จะทำให้เซลล์เหี่ยวเพราะเกิดจากการสูญเสียน้ำ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์มีขนาดเล็กลง สารประกอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชิงซ้อนของสีคริสตัลไวโอเลตกับไอโอดีนจึงละลายออกมาไม่ได้ ทำให้เซลล์ยังคงติดสีม่วงของคริสตัลไวโอเลต และเมื่อย้อมทับด้วยสีซาฟลานินโอเซลล์จึงไม่ติดสีแดง (Coico, 2005)

2.7.2 การทดสอบทางชีวเคมี (biochemical test)

การทดสอบการเกิดปฏิกิริยาชีวเคมีของแบคทีเรียซึ่งเกิดจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของแบคทีเรียที่มีผลต่อการเจริญ และผลิตสารต่าง ๆ ซึ่งการทดสอบทางชีวเคมีทำเพื่อดูสมบัติของแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ ซึ่งสามารถเปรียบเทียบกับข้อมูลในคู่มือ Bergey's manual ซึ่งเป็นหนังสือที่ใช้สำหรับการจัดจำแนกหมวดหมู่ของแบคที่เรีย โดยตัวอย่างการทดสอบทางชีวเคมี คือ

2.7.2.1 การทดสอบกรสร้างเอนไซม์แคตะเลส (catalase test)

เป็นการทดสอบที่จำแนกแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์แคตะเลส ซึ่งปกติในขบวนการหายใจแบบใช้ออกซิเจนอะตอมของไฮโดรเจนจะรวมตัวกับออกซิเจนจะทำให้เกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งเป็นอันตรายต่อเซลล์ แต่แบคทีเรียส่วนใหญ่สามารถผลิตเอนไซม์แคตะเลสเพื่อย่อยสลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งเป็นสารพิษที่เป็นอันตรายต่อเซลล์ผลผลิตคือได้ก๊าซออกซิเจนกับน้ำ ดังสมการเคมี

$$2H_2O_2 \longrightarrow 2H_2O+O_2$$

ซึ่งแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์แคตะเลสได้จะสามารถป้องกันการถูกทำลาย จากสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ นอกจากนี้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ยังมีส่วนในการสร้างซุปเปอร์ออกไซด์ (superoxide) และไฮดรอกไซด์ (hydroxide) ที่สามารถทำให้เกิดการทำลายชีวโมเลกุล ได้แก่ กรดนิวคลีอิก ซึ่งแบคที่เรียกรดแลติกเป็นแบคที่เรียไม่ใช้อากาศ ไม่ใช้ออกซิเจน หรือ ไม่จำเป็นต้องใช้ออกซิเจน (anaerobic bacteria) ในการดำรงชีวิต ออกซิเจนเป็นพิษต่อเซลล์ของแบคทีเรียแบคทีเรียกรดแลคติกจึงไม่สร้างเอนไซม์แคตะเลส จะให้ผลการทดสอบแคตะเลสเป็นลบ (catalase negative) ทดสอบโดยการหยดสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ลงบนแบคทีเรียที่เขี่ยลงบนแผ่นสไลด์จะไม่เกิดปฏิกิริยาโดยไม่มีฟองเกิดขึ้น (Whittenbury, 1964)

2.7.2.2 ทดสอบการหมักคาร์โบไฮเดรต (carbohydrate fermentation)

แบคทีเรียกรดแลคติกเป็นแบคทีเรียที่สามารถหมักคาร์โบไฮเดรต คือสามารถย่อย น้ำตาลกลูโคส หรือน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 อะตอมอื่น ๆ ได้ โดยผลิตสารต่าง ๆ ออกมา เช่น กรดแลคติก (lactic acid) กรดแอซิติก (acetic acid) กรดฟอร์มิก (formic acid) ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และเอทานอล (ethanol) เป็นต้น แบคทีเรียกรดแลคติกเป็นแบคทีเรียที่สามารถหมักคาร์โบไฮเดรต คือสามารถย่อยน้ำตาล กลูโคส หรือน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 อะตอมอื่น ๆ ได้โดยผลิตสารต่าง ๆ ออกมา ซึ่งจากชนิด และปริมาณสารที่แบคทีเรียผลิตได้นี้สามารถจัดแบ่งแบคทีเรียกรดแลคติกออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ คือ กลุ่มฮอมอเฟอร์เมนเททีฟ (Homofermentative) สามารถผลิตกรดแลคติกจากการหมักย่อยน้ำตาลได้สูงประมาณร้อยละ 95 ที่เหลืออีกร้อยละ 5 จะผลิตกรดแอซิติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(acetic acid) และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์อีกเล็กน้อยและกลุ่มเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ (Heterofermentative) หลังจากการหมักย่อยน้ำตาล และผลิตกรดแลคติกประมาณร้อยละ 50 และอีกร้อยละ 50 ผลิตกรดแอซิติก (acetic acid) กรดฟอร์มิก (formic acid) รวมทั้งเอทานอล (ethanol) และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (Stiles, 1996) คุณสมบัติทางชีวเคมีของแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกได้จากนมแพะหมักแบบธรรมชาติ เมื่อนำมาทดสอบการหมักคาร์โบไฮเดรตด้วยชุดทดสอบสำเร็จรูป API 50 CHL พบว่าเกือบทุกสายพันธุ์ของแบคทีเรียกรดแลคติกที่คัดเลือก ได้แก่ *Lactobacillus plantarum* และมีเพียง 1 ไอโซเลท ที่สันนิษฐานว่าเป็น *Lactobacillus pentosus* (Yelnetty et al, 2014)

2.7.3 การศึกษาทางด้านพันธุศาสตร์โมเลกุลโดยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ตำแหน่งยีน 16S rDNA

การเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ที่ตำแหน่งยีน 16S rRNA เป็นการพิจารณาความเหมือนกันของ DNA (DNA-DNA homology) ที่ใช้จำแนกได้ในระดับสปีชีส์ และสกุล โดยอาศัยความแตกต่างของลำดับเบส ของ RNA ในไรโบโซม (rRNA) โดยเฉพาะในส่วนของ Well conserved region และ Less conserved region ซึ่งมีขนาดประมาณ 1,900 คู่เบส ใน 16S rRNA ซึ่งการเปรียบเทียบมีความแม่นยำมากในการจัดจำแนก และใช้ในการศึกษาถึงความสัมพันธ์กันของจุลินทรีย์ชนิด ต่าง ๆ ทำให้สามารถจัดแบ่งกลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติกออก เป็นสกุลต่าง ๆ *ดังนี้ Aerococcus, Alloiococcus, Carnobacterium, Weissella, Enterococcus, Lactobacillus, Lactococcus, Leuconostoc, Pediococcus, Streptococcus, Tetragenococcus, Vagococcus* (Stiles, 1996)

Ribosomal RNA (rRNA) ของโพรคาริโอตมีขนาด 70S ซึ่งประกอบด้วยหน่วยย่อย 2 หน่วย คือ หน่วยขนาดใหญ่ 50S (large subunit) และหน่วยขนาดเล็กขนาด 30S (smallsubunit) ซึ่งหน่วยเล็กประกอบด้วย 16S rRNA ขนาดประมาณ 1,541 นิวคลีโอไทด์ และโปรตีน 21 ชนิด (ลัดดา เอกสมทราเมษฐ์, 2547) ดังนั้น RNA จึงเหมาะสำหรับนำมาศึกษาวิวัฒนาการระหว่างจุลินทรีย์ เนื่องจากไรโบโซมเป็นออร์แกเนลล์ที่มีอยู่ในจุลินทรีย์ทุกชนิด และมีหน้าที่ในการผลิตโปรตีนเพื่อความอยู่รอดของสิ่งมีชีวิต และพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากในแต่ละช่วงวิวัฒนาการที่อยู่ในระดับเหมาะสม และโครงสร้างของ 16S rRNA มีความสำคัญต่อเซลล์เป็นอย่างมาก ซึ่ง rRNA ของสิ่งมีชีวิตแต่ละชนิดมีลำดับนิวคโอไทด์ที่จำเพาะแน่นอนจึงสามารถนำมาใช้สำหรับเปรียบเทียบความเหมือน หรือความสัมพันธ์ระหว่างสิ่งมีชีวิตได้ (Janda and Abbott, 2007)

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

นฤมล และคณะ (2559) ได้ทำการคัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติก จากน้ำพริก ซึ่งประกอบด้วยเครื่องปรุง และสมุนไพรต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย รวมทั้งมีจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ เช่น แบคทีเรียกรดแลคติก ซึ่งพบได้ในอาหารที่เกิดจากกระบวนการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดแลคติกซึ่งสามารถช่วยยืดอายุการเก็บรักษาอาหารได้ รวมทั้งสามารถป้องกันการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรค จากงานวิจัยนี้ได้คัดกรองแบคทีเรียกรดแลคติก จากน้ำพริก 5 ชนิด แล้วตรวจสอบลักษณะสัณฐาน และทดสอบทางชีวเคมี แยกแบคทีเรีย ได้ 29 ไอโซเลท เป็นแบคทีเรียกรดแลคติก 14 ไอโซเลท และ *Pseudomanas* 15 ไอโซเลท เมื่อตรวจสอบด้วย วิธีทางชีวโมเลกุลทำให้มั่นใจว่าเป็นแบคทีเรียกรดแลคติกสกุลต่าง ๆ ได้แก่ *Lactobacillus*, *Weisella* และ *Leuconostoc* โดยการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ ของยีน 16S rRNA ด้วยโปรแกรม BLASTN เปรียบเทียบกับข้อมูลใน GenBank พบว่าสามารถระบุชนิดของแบคทีเรียกรดแลคติกสกุลต่าง ๆ ได้เป็น *Lactobacillus, Weisella* และ *Leuconostoc* และเมื่อสร้างแผนภูมิความสัมพันธ์ทางพันธุกรรม และวิเคราะห์การจัดกลุ่ม พบว่าสามารถแบ่งกลุ่ม และแยกความแตกต่างทางพันธุกรรมของแบคทีเรียได้ชัดเจนยิ่งขึ้น

ปาริชาติ และคณะ (2562) ได้ทำการคัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติก (lactic acid bacteria) การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาแลกแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีคุณสมบัติโพรไบโอติก จากการนำ LAB จำนวน 10 ไอโซเลท ที่แยกได้จากอาหารหมักต่าง ๆ ได้แก่ แหนม ปลาส้ม และผักดอง มาทดสอบการทนกรด และเกลือน้ำดี ซึ่งจัดเป็นคุณสมบัติของโพรไบโอติก พบว่า LAB ไอโซเลท F1 ซึ่งแยกได้จากปลาส้ม สามารถทนกรดที่ pH เท่ากับ 2 และทนเกลือน้ำดีที่ความเข้มข้นเท่ากับ 2% ได้ดีที่สุด นอกจากนี้จากการศึกษายังพบว่า LAB ดังกล่าวสามารถยับยั้งการเจริญ *Escherichia coli* O157:H7 ATCC 43895 และ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 ได้ เมื่อนำ LAB รหัส F1 ไปตรวจสอบสายพันธุ์ด้วยวิธี 16S rDNA sequence analysis พบว่าลำดับเบสของ 16S rDNA ของ LAB ดังกล่าวคล้ายกับลำเบสของ 16S rDNA ของ *Lactobacillus plantarum* strain JCM 1149 (accession number NR_115605.1) ด้วยเปอร์เซ็นต์ความคล้ายเท่ากับ 99% LAB ที่มีคุณสมบัติ ของโพรไบโอติกที่ได้จากการทดลองนี้สามารถนำไปศึกษาต่อเพื่อใช้ประโยชน์ในอนาคต

สุรัตน์ และคณะ (2564) ได้ทำการแยก และคัดเลือกแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีศักยภาพเป็นโพรไบโอติกจากผลิตภัณฑ์ผักดองพื้นบ้านของไทย งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อแยก และคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก ที่มีศักยภาพเป็นโพรไบโอติกจากผักดองพื้นบ้านของไทย ผลการศึกษาสามารถคัดแยกเชื้อแบคทีเรียแกรมบวกได้ทั้งหมด 30 ไอโซเลท มี 20 ไอโซเลทที่ไม่สร้างแคตะเลส เมื่อนำเชื้อที่คัดแยกได้มาศึกษาคุณสมบัติการเป็นโพรไบโอติก พบว่ามี 9 ไอโซเลท ที่สามารถทนต่อสภาวะกรดและเกลือน้ำดีในระบบทางเดินอาหารได้ และมี 7 ไอโซเลท ที่สามารถย่อยเกลือน้ำดีปฐมภูมิ (sodium glycolate) และเกลือน้ำดีทุติยภูมิ (sodium taurodeoxycholate) ได้ จึงนำเชื้อทั้ง 7 ไอโซเลทไปทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรค พบว่าทั้ง 7 ไอโซเลทสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* และ *Bacillus cereus* ได้ แต่ไม่มีไอโซเลทใดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Staphylococcus aureus* ได้ ผลการทดสอบความสามารถในการยึดเกาะกับเยื่อบุผนังลำไส้ (มิวซิน) พบว่า มีเพียง 4 ไอโซเลท (SF1, SF2, GF1 และ GF2) ที่สามารถยึดเกาะกับมิวซินได้ ผลการจัดจำแนกสายพันธุ์ของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ พบว่า ไอโซเลท SF1 และ SF2 ที่แยกได้จากต้นหอมดอง คือ *Lactobacillus plantarum* HL-12 (100% identity) ไอโซเลท GF1 และ GF2 ที่แยกได้จาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผักกาดเขียวปลีดอง คือ *L. fermentum* นำไปพัฒนาเป็นหัวเชื้อสำหรับการผลิตอาหารหมักพื้นบ้านเพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ให้กับชุมชนได้

วิชมณี และคณะ (2560) การศึกษาผลของการเติมพิวเร่เนื้อมะพร้าวอ่อน และน้ำสับปะรด ในเยลลี่ข้าวไรซ์เบอร์รี่ โดยออกแบบการทดลองแบบ Central Composite Design แปรปริมาณการเติมอยู่ในช่วง 10%-20% ผลการทดลอง พบว่า เยลลี่ข้าวไรซ์เบอร์รี่มีค่าสี ลักษณะเนื้อสัมผัส คะแนนความเข้มของคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส และคะแนนความชอบทางประสาทสัมผัสด้านลักษณะปรากฏ เนื้อสัมผัสความชอบด้านการกลืน และความชอบโดยรวมแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่คะแนนความชอบทางประสาทสัมผัส ได้แก่ สี กลิ่น รสชาติ และความชอบด้านการเคี้ยวไม่แตกต่างกันอย่าง มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p< 0.05$) โดยเยลลี่ข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่มีการเติมพิวเร่เนื้อมะพร้าวอ่อน และน้ำสับปะรดในปริมาณที่เท่ากัน คือ 11.5% เป็นสิ่งทดลองที่เหมาะสมมากที่สุด จากการศึกษาผลของปริมาณของแคปปา-คาราจีแนน และเจลาตินต่อคุณภาพของเยลลี่ พบว่า เยลลี่ข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่มีการใช้แคปปา-คาราจีแนน 1.5% w/w เพียงอย่างเดียวเป็นสิ่งทดลองที่เหมาะสมมากที่สุด มีลักษณะเนื้อสัมผัสที่ดี มีความแข็งไม่น้อยหรือมากจนเกินไป โดยมีค่า Hardness ค่า Adhesiveness และค่า Cohesiveness เท่ากับ 2264.76 g. -181.58 g.sec และ 0.71 ตามลำดับ เยลลี่ที่พัฒนาได้ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิแช่เย็นมีความปลอดภัยสำหรับการบริโภคตลอดการเก็บรักษา 4 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

3.1.1.1 กิมจิ จากร้าน Korean Say yes กรุงเทพมหานคร

3.1.1.2 กิมจิ จากร้าน Seoul Zeed กรุงเทพมหานคร

3.1.1.3 กิมจิ จากร้าน ออนนี่บี กิมจิ กรุงเทพมหานคร

3.1.2 สารเคมี

Agar, Scharlau, Barcelona

Calcium carbonate ($CaCO_3$)

Carrageenan

Glycerol

Hydrochloric acid (HCl)

Lactobacillus MRS Broth (MRS Broth)

Ox bile powder

Phenolpthalein

Sodium chloride (NaCl)

Sodium hydroxide (NaOH)

3.2 อุปกรณ์

ขวดดูแรน

ขวดรูปชมพู

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

บิวเรตต์

บีกเกอร์

ปิเปต

ลูกยางดูดปิเปต

96-well plate

Autoclave (Tomy,SS245)

Biological Safety (Bosstech,HVBT90S)

Incubator

Incubator shaker

Multimode Microplate reader (PerkinElmer EnSight)

PCR Thermal cycler (Eppendrof NexusGX2)

pH meter

Refrigerated Centrifuge. (Eppendorf,5804)

Spreader

3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

3.3.1 คัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติก (LAB) จากผลิตภัณฑ์ผักหมัก

การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกจากผลิตภัณฑ์ผักหมักได้แก่ กิมจิ วิธีการคัดแยกเชื้อ LAB การแยกแบคทีเรียกรดแลคติกจากอาหารหมัก ซึ่งใช้ขั้นตอนตามวิธีของ Phupaboon et al. โดยชั่งตัวอย่างอาหาร 25 กรัม ใส่ในสารละลาย 0.85% (มวล/ปริมาตร) NaCl ปริมาตร 225 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันนำเฉพาะส่วนน้ำมาเจือจางที่ระดับความเจือจาง 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}, 10^{-5} และ 10^{-6} นำทุกความเจือจางมาทำการ spread plate บนอาหาร MRS agar ที่เติม 1% (มวล/ปริมาตร) $CaCO_3$ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากการบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการคัดเลือกเฉพาะโคโลนีเดี่ยว ๆ (single colony) ที่เจริญบนอาหาร MRS agar ไปเพาะเลี้ยงใน MRS broth

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาตร 2 มิลลิลิตร นำแบคทีเรียกรดแลคติกที่คัดเลือกไว้ไปตรวจสอบลักษณะรูปร่างของเซลล์ โดยการย้อมสีแกรม และทดสอบการสร้างเอนไซม์แคตะเลส

การเก็บรักษาแบคทีเรียกรดแลคติก ในรูป glycerol stock culture ทำโดยนำ culture ของแบคทีเรียกรดแลคติกที่เลี้ยงใน MRS broth ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ปริมาตร 500 ไมโครลิตร มาเติม glycerol 50% ปริมาตร 500 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปเก็บไว้อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อไว้ใช้ในการทดลองต่อไป

3.3.2 การทดสอบคุณสมบัติของจุลินทรีย์โพรไบโอติก

3.3.2.1. การทดสอบความสามารถในการทนกรดของแบคทีเรียกรดแลคติก

การทดสอบความสามารถในการทนกรดของแบคทีเรียกรดแลคติก ทำโดยใช้วิธีที่ดัดแปลงมาจากวิธีของ Melia et al. ซึ่งมีขั้นตอนการทำดังนี้ เลี้ยงแบคทีเรียกรดแลคติกในอาหาร MRS broth ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ถ่ายเชื้อ 20 ไมโครลิตร ลงในอาหาร MRS broth ปริมาตร 2 มิลลิลิตร ที่ปรับ pH ให้มีค่าเท่ากับ 1.5 และ 2.5 ส่วนชุดควบคุมใช้อาหาร MRS broth ที่มีค่า pH เท่ากับ 7 นำมาใส่ 96-well plate วิเคราะห์ความเข้มข้นของเชื้อเริ่มต้นที่ 0 ชั่วโมง และหลังจากบ่มเป็นเวลา 3 และ 5 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสง (absorbance) ของ culture ที่ความยาวคลื่นเท่ากับ 600 นาโนเมตรจากเครื่อง Multimode Microplate reader

เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต (% survival) = (ค่าการดูดกลืนแสงของชุดทดลอง/ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม) x 100

3.3.2.2 การทดสอบความสามารถในการทนเกลือน้ำดีของแบคทีเรียกรดแลคติก

เลี้ยงแบคทีเรียกรดแลคติก (LAB) ในอาหาร MRS broth ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อเก็บตะกอนเซลล์ จากนั้นนำตะกอนเซลล์ที่ได้ไปเลี้ยงในอาหาร MRS broth ที่มีการใส่ Ox bile powder ที่ความเข้มข้นเท่ากับ 0.3% (มวล/ปริมาตร), 0.6% (มวล/ปริมาตร) และ 0.9% (มวล/ปริมาตร) โดยชุดควบคุมใช้อาหาร MRS broth ที่ไม่ใส่ Ox bile powder จากนั้นบ่มเชื้อเป็นเวลา 5 ชั่วโมง โดยวิเคราะห์ตัวอย่างที่ชั่วโมงที่ 0 ชั่วโมง , 3 ชั่วโมง และ 5 ชั่วโมง และนำมาวัดการอยู่รอดโดยวิธี Spread plate โดยถ่ายเชื้อ 100 ไมโครลิตร ลงบนเพลท MRS agar บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนับโคโลนีและบันทึกจำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์

3.3.2.3 การทดสอบความสามารถในการสร้างกรดแลคติก

ความสามารถในการสร้างกรดแลคติก ทำได้โดยใช้วิธีดัดแปลงมาจากวิธีของ Sona vale et al. 2018 ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้ เลี้ยงแบคทีเรียกรดแลคติก ในอาหาร MRS broth ปริมาตร 50 มิลลิลิตร และบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน บนเครื่อง Incubator shaker จากนั้นนำไปเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 rpm 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที เพื่อแยกตะกอนเซลล์ออกจากส่วนใส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำส่วนใสที่ได้ไปไทเทรตด้วย 0.1 M NaOH โดยใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ เพื่อสังเกตจุดสิ้นสุดที่มีสีชมพู และคำนวณหาปริมาณกรดแลคติก

Total Acidity (mol/L) = (ปริมาณ NaOH ที่ใช้ไป (ml) x0.1 M NaOH)) / ปริมาตรของสารตัวอย่าง

ปริมาณกรดแลคติก (g/L) = Total Acidity (mol/L) x มวลโมเลกุลของกรดแลคติก (g/mol)

*มวลโมเลกุลของกรดแลคติก (Mw) = 90.08 g/mol

3.3.2.4 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค

การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ เลี้ยงแบคทีเรียกรดแลคติกในอาหาร MRS broth ปริมาตร 50 มิลลิลิตร และบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน บนเครื่อง Incubator shaker จากนั้นนำไปเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 rpm 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที แยกเอาเฉพาะส่วนใส นำส่วนใสมาทำการการเหยน้ำออกโดยเครื่อง Evaporator หลังจากนั้นนำสารสกัดมาเติมน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร จากนั้นปรับความเข้มข้นให้ได้เท่ากับ 5, 10 และ 20 เท่า จากนั้นเลี้ยง *E. coli* 1070 ในอาหารเหลว NB และบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง บนเครื่อง Incubator shaker จากนั้นนำมาใส่ลงในอาหาร NA และนำกระดาษกรอง 8 มิลลิเมตร มาวางบนอาหาร NA และปิเปตสารสกัดปริมาตร 10 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษกรอง นำไปบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และสังเกตส่วนใส (clear zone) ที่เกิดขึ้น โดยมี Chloramphenicol และ MRS เป็นตัวควบคุม

3.3.3 การศึกษาจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรียกรดแลคติก โดยวิธี 16S rRNA sequence analysis

นำโคโลนีแบคทีเรียกรดแลคติกสายพันธุ์บริสุทธิ์ที่คัดแยกได้มาเพิ่มปริมาณ DNA โดยวิธีโคโลนี PCR ซึ่งเริ่มจากการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียกรดแลคติกในอาหาร MRS agar เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้น ทำการเขี่ยเชื้อแต่ละตัว ประมาณ 1 โคโลนีเดี่ยว ลงในหลอด eppendorf โดยประกอบไปด้วย Primer F (7F) 5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3' 2 ไมโครลิตร และPrimer R (1492R) 5'-TACGGYTACCTTGTTACGACTT-3' 2 ไมโครลิตร น้ำNuclease-free 21 ไมโครลิตร และ Master Mix 25 ไมโครลิตร ซึ่งประกอบไปด้วย เอนไซม์ DNA polymerase, $MgCl_2$, buffer และ dNTP จากนั้นเข้าเครื่อง PCR โดยตั้งค่าโปรแกรมดังนี้ Initial DNA denaturation and enzyme activation 95 องศาเซลเซียส 10 นาที Denaturation 95 องศาเซลเซียส 30 วินาที Primer annealing 46 องศาเซลเซียส 30 วินาที Extension 72 องศาเซลเซียส 1 นาที Number of cycles 40 cycles Final extension 72 องศาเซลเซียส 30 นาที และอุณหภูมิที่ตัวฝา 105 องศาเซลเซียส จากนั้น เตรียมเจลโดย มีส่วนประกอบดังนี้ 1X TAE Buffer 100 มิลลิลิตร ผสม Agarose 0.7 กรัม จากนั้นคนให้ละลายจนเป็นเนื้อเดียวกัน เทลงพิมพ์รอจนเจลแข็งตัว เมื่อ PCR ครบเวลา นำ DNA ตัวอย่าง หยดบนกระดาษฟิล์ม

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของลิขสิทธิ์ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2 ไมโครลิตร ผสมกับสีย้อม Safe green 2 ไมโครลิตร โดย Blank คือ DNA Ladder 2 ไมโครลิตร ผสมกับสีย้อม Safe green 2 ไมโครลิตร จากนั้นปิเปตลงเจล และทำการเปิดเครื่อง Gel Electrophoresis โดยตั้งค่า 110 โวลต์ เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลานำเจลเข้าเครื่องถ่ายเจล กดแสง UV เพื่อดูลายพิมพ์ DNA จากนั้นนำ PCR product ที่ได้ไปตรวจวิเคราะห์ลำดับเบสด้วยวิธี Sanger sequencing แล้วนำลำดับเบสที่ได้ไปเปรียบเทียบกับลำดับเบสของ 16S rRNA ในฐานข้อมูล GENBANK โดยใช้โปรแกรม BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) เพื่อหาค่าเปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึงหรือความเหมือน (% homology) ระหว่าง ลำดับเบสของ 16S rRNA ของแบคทีเรียแลคติก กับ ลำดับเบสของ 16S rRNA ของแบคทีเรียแลคติกในฐานข้อมูล GENBANK

3.3.4 การพัฒนาผลิตภัณฑ์ให้เป็นเยลลี่

สูตรการผลิตเยลลี่ประกอบด้วยสารที่ทำให้เกิดเจล สารให้ความหวาน สารควบคุมความเป็นกรด และควบคุมความเป็นกรด-ด่าง สี และกลิ่นรส ทั้งนี้น้ำผลไม้อาจใช้ในลักษณะน้ำคั้นหรือน้ำผลไม้เข้มข้นก็ได้ ตัวอย่างสูตรพื้นฐานทั่วไปในการผลิตเยลลี่จากน้ำผลไม้ แสดงดัง (ตารางที่ 3.1) ชั่งส่วนผสมตามสัดส่วนที่กำหนด โดยผลิตเยลลี่ครั้งละ 300 กรัม นำโพรไบโอติก และน้ำสตอเบอรี่ผสมให้เข้ากันนำแคปปา-คาราจีแนนมาละลายกับน้ำ แล้วนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80±3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที โดยใช้เตาไฟฟ้า จะได้สารละลายที่มีลักษณะใส จากนั้นเติมน้ำตาลทราย แล้วให้ความร้อนต่อเป็นเวลา 2 นาที จนน้ำตาลทรายละลายหมด แล้วค่อย ๆ เติมโพรไบโอติก และน้ำสตอเบอรี่ที่ผสมไว้ คนผสมให้เข้ากัน แล้วให้ความร้อนต่อเป็นเวลา 15 นาที (ณิชาภัทร สมบูรณ์, 2556) บรรจุส่วนผสมลงในถ้วยพลาสติกชนิดโพลีโพรพิลีนขนาด 1 ออนซ์ ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที ปิดฝาถ้วยแล้วนำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 4±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

ตารางที่ 3.1 การผลิตเยลลี่คาราจีแนนจากน้ำผลไม้

ส่วนผสม	ปริมาณ (ร้อยละ)
น้ำผลไม้	16.5
น้ำตาลทราย	7.5
แคปปา-คาราจีแนน	0.9
โพแทสเซียมซิเตรด	0.4
น้ำสะอาด	74.7

ที่มา : จุฑามาศ พีรพัชระ, 2554

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 คัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติก (LAB) จากผลิตภัณฑ์กิมจิ

จากการคัดแยกแบคทีเรียแลคติกในตัวอย่างผลิตภัณฑ์กิมจิ ที่จำหน่ายในกรุงเทพมหานคร จำนวน 3 ตัวอย่าง สามารถคัดแยกแบคทีเรียที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar ได้ทั้งหมด 62 ไอโซเลท เป็นแบคทีเรียแกรมบวก นำแบคทีเรียที่คัดแยกได้ไปทดสอบแคตะเลส ผลการทดสอบว่ามีเพียง 1 ไอโซเลทที่สร้างแคตะเลส ดังนั้นจึงมีเพียง 61 ไอโซเลทที่มีคุณสมบัติเป็นแบคทีเรียกรดแลคติก แสดงดัง (ตารางที่ 4.1) จึงได้นำไปใช้ในการทดสอบขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 4.1 คัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติก (LAB) จากผลิตภัณฑ์กิมจิ

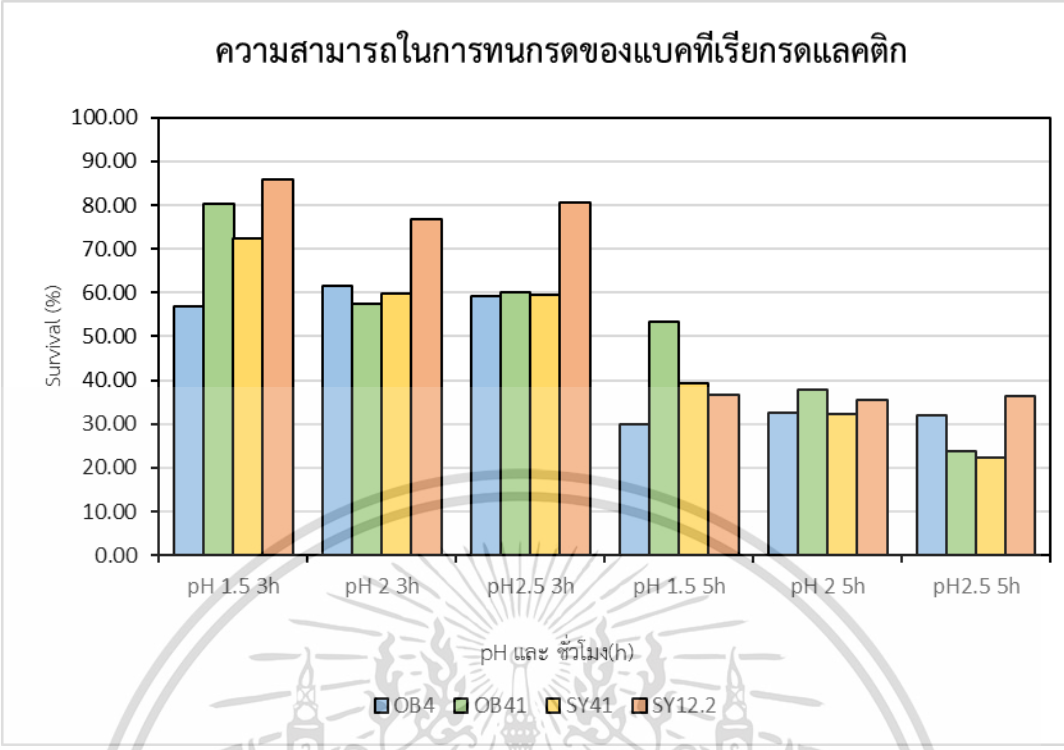
Fermented foods	isolates	Gram stain (positive)	Catalase test (negative)
กิมจิ Korean Say yes	18	18	18
กิมจิ Seoul Zeed	28	28	27
กิมจิ ออนนี่บี	16	16	16
total	62	62	61

4.2 การทดสอบคุณสมบัติของจุลินทรีย์โพรไบโอติก

4.2.1 การตรวจสอบความสามารถในการทนกรดของแบคทีเรียกรดแลคติก

ผลการทดสอบความสามารถในการทนต่อสภาวะกรดของเชื้อ LAB ที่คัดแยกจากกิมจิทั้งหมด 4 ไอโซเลท (OB4, OB41, SY12.2 และ SY41) แสดงดัง (ภาพที่ 4.1) ผลการทดลองพบว่า *L. brevis* SY12.2 มีอัตราการรอดชีวิตสูงสุดอยู่ในช่วง 76.85-85.96% เมื่ออยู่ภายใต้สภาวะ pH 1.5-2.5 เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ซึ่งเปรียบเทียบกับไอโซเลท *L. plantarum* OB4, *P. pentosaceus* SY41 และ *P. pentosaceus* OB41 พบว่ามีอัตราการรอดชีวิตอยู่ในช่วง 56.99-72.54% เมื่ออยู่ภายใต้สภาวะ pH 1.5-2.5 เป็นเวลา 3 ชั่วโมง โดยทั่วไปจุลินทรีย์โพรไบโอติกจะต้องมีค่าการดูดกลืนแสง 0.2-0.8 ซึ่งความคงทนดังกล่าวจัดได้ว่าเป็นคุณสมบัติเบื้องต้นของจุลินทรีย์โพรไบโอติก จึงนำ LAB ทั้ง 4 ไอโซเลท ดังกล่าวไปทดสอบความสามารถในการทนต่อเกลือน้ำดีต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.1 ความสามารถในการทนกรดของแบคทีเรียกรดแลคติก

ภาพที่ 4.1 ความสามารถในการทนกรดของแบคทีเรียกรดแลคติก

การทดสความสามารถในการทนกรดของเชื้อ LAB ที่คัดแยกได้จากสภาวะจำลองความเป็นกรดในกระเพาะอาหารของมนุษย์ ซึ่งเป็นการคัดเลือกเชื้อเบื้องต้น ทั้งนี้เนื่องจากกระเพาะอาหารของมนุษย์เมื่อรับประทานอาหาร จะมีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) อยู่ในช่วง 1.5-2.5 การที่เชื้อมีความสามารถในการมีชีวิตรอดได้ในสภาวะความเป็นกรดนั้น อาจเนื่องมาจากแหล่งที่มาของเชื้อตัวอย่างที่นำมาทำการทดสอบ โดยปกติเชื้อที่มีความสามารถในการเจริญได้ในสภาวะของแหล่งที่มาที่มีความเป็นกรดอยู่แล้วนั้น ก็จะมีความสามารถในการทนต่อสภาวะการทดสอบภายใต้สภาวะความเป็นกรดได้ดี

4.2.2 การตรวจสอบความสามารถในการทนเกลือน้ำดีของแบคทีเรียกรดแลคติก

จากตารางที่ 3-5 แสดงความสามารถในการทนต่อเกลือน้ำดีของแบคทีเรียกรดแลคติกที่ความเข้มข้นของเกลือน้ำดีที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.3, 0.6 และ 0.9% พบว่าไอโซเลท *L. plantarum* OB4 สามารถทนต่อเกลือน้ำดีที่ 0.9% ที่เวลา 5 ชั่วโมง ได้ 84.08% ซึ่งมากที่สุด ในขณะที่ไอโซเลท *L. brevis* SY12.2 มีความสามารถในการทนเกลือน้ำดีต่ำ จึงไม่สามารถรอดชีวิตได้ นอกจากนี้เกลือน้ำดีมีผลต่อการอยู่รอดของแบคทีเรียกรดแลคติกแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ และความเข้มข้นของเกลือน้ำดี ซึ่งความเข้มข้นของเกลือน้ำดีในลำไส้ มีความแปรปรวนตั้งแต่ 1.5% - 2.0% (มวล/ปริมาตร) ในชั่วโมงแรกของการย่อยอาหาร และหลังจากนั้นลดลงประมาณ 0.3% (มวล/ปริมาตร) โดยการทนต่อ

เอกสารนี้สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกลือน้ำดีของแบคทีเรียกรดแลคติกขึ้นอยู่กับความสามารถในการไฮโดรไลซ์เกลือน้ำดีของแต่ละสายพันธุ์ เพื่อลดความเป็นพิษเกลือน้ำดีต่อเซลล์ของแบคทีเรียกรดแลคติก (Noriega *et al.*,2004)

ซึ่งผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการรายงานของ Vinderola, & Reinheimer (2003) พบว่าโพรไบโอติกสามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีเกลือน้ำดีความเข้มข้นร้อยละ 0.30

ตารางที่ 4.2 เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดชีวิตของแบคทีเรียกรดแลคติกในความเข้มข้นของเกลือน้ำดีที่ชั่วโมงที่ 0

Strain	% Survival in bile salt concentration of 0 h		
	0.30%	0.60%	0.90%
0B4	100.00	100.00	100.00
OB41	100.00	100.00	100.00
SY41	100.00	100.00	100.00
SY12.2	100.00	0.00	0.00

ตารางที่ 4.3 เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดชีวิตของแบคทีเรียกรดแลคติกในความเข้มข้นของเกลือน้ำดีที่ชั่วโมงที่ 3

Strain	% Survival in bile salt concentration of 3 h		
	0.30%	0.60%	0.90%
0B4	93.45	91.81	88.96
OB41	87.61	0.00	0.00
SY41	94.54	98.87	95.28
SY12.2	92.14	0.00	0.00

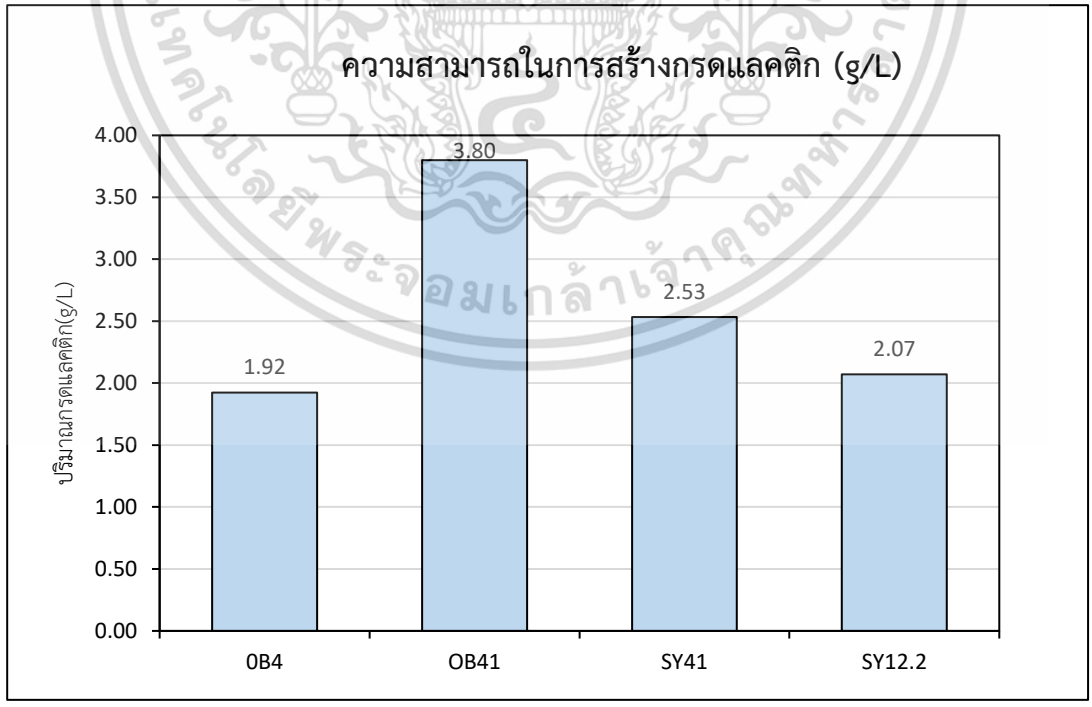
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 เปอร์เซ็นต์การอยู่รอดชีวิตของแบคทีเรียกรดแลคติกในความเข้มข้นของเกลือน้ำดีที่ชั่วโมงที่ 5

Strain	% Survival in bile salt concentration of 5 h		
	0.30%	**0.60%**	**0.90%**
0B4	88.36	88.43	84.08
OB41	84.20	0.00	0.00
SY41	79.65	81.74	0.00
SY12.2	83.21	0.00	0.00

4.2.3 ความสามารถในการสร้างกรดแลคติก

จากภาพที่ 4.2 แสดงความสามารถในการสร้างแบคทีเรียกรดแลคติก จะเห็นได้ว่าแบคทีเรียกรดแลคติกสามารถใช้น้ำตาล เพื่อสร้างกรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย จากแบคทีเรียกรดแลคติก 4 ไอโซเลทที่คัดแยกได้ จะเห็นได้ว่า *L. plantarum* OB41 สามารถสร้างกรดแลคติกได้สูงถึง 3.80 g/L



ภาพที่ 4.2 ความสามารถในการสร้างกรดแลคติก (g/L) ของแบคทีเรียกรดแลคติกเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร MRS broth ที่ระยะเวลา 5 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.4 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค

จากการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* 1070 พบว่า แบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 4 ไอโซเลท มีฤทธิ์ในการยับยั้ง *E. coli* 1070 ดังตารางที่ 4.5 โดยไอโซเลท *L. plantarum* OB4, *P. pentosaceus* OB41, *P. pentosaceus* SY41 และ *L. brevis* SY12.2 มีบริเวณการยับยั้งการเจริญ โดยมีค่าความยาวของเส้นผ่านศูนย์กลางบริเวณยับยั้งการเจริญอยู่ที่ 0.9, 1, 0.9 และ 0.8 เซนติเมตร ตามลำดับ จะเห็นได้ว่า *P. pentosaceus* OB41 มีบริเวณการยับยั้งการเจริญสูงที่สุด

ตารางที่ 4.5 บริเวณการยับยั้งการเจริญจุลินทรีย์ก่อโรค (cm)

ตัวอย่างสารสกัด (10 ไมโครลิตร)	**ความเข้มข้นเริ่มต้น (ไมโครกรัม/ไมโครลิตร)**	**เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (เซนติเมตร) ที่ระดับการเจือจางต่างๆ**			
		1X	**1/5X**	**1/10X**	**1/20X**
chloramphenicol	35	3.2	2.3	2.1	1.6
MRS (Negative control)	1,061.13	-	-	-	-
OB4	1,054.83	0.9	-	-	-
OB41	1,024.93	1	-	-	-
SY12.2	958.2	0.8	-	-	-
SY41	986.5	0.9	-	-	-

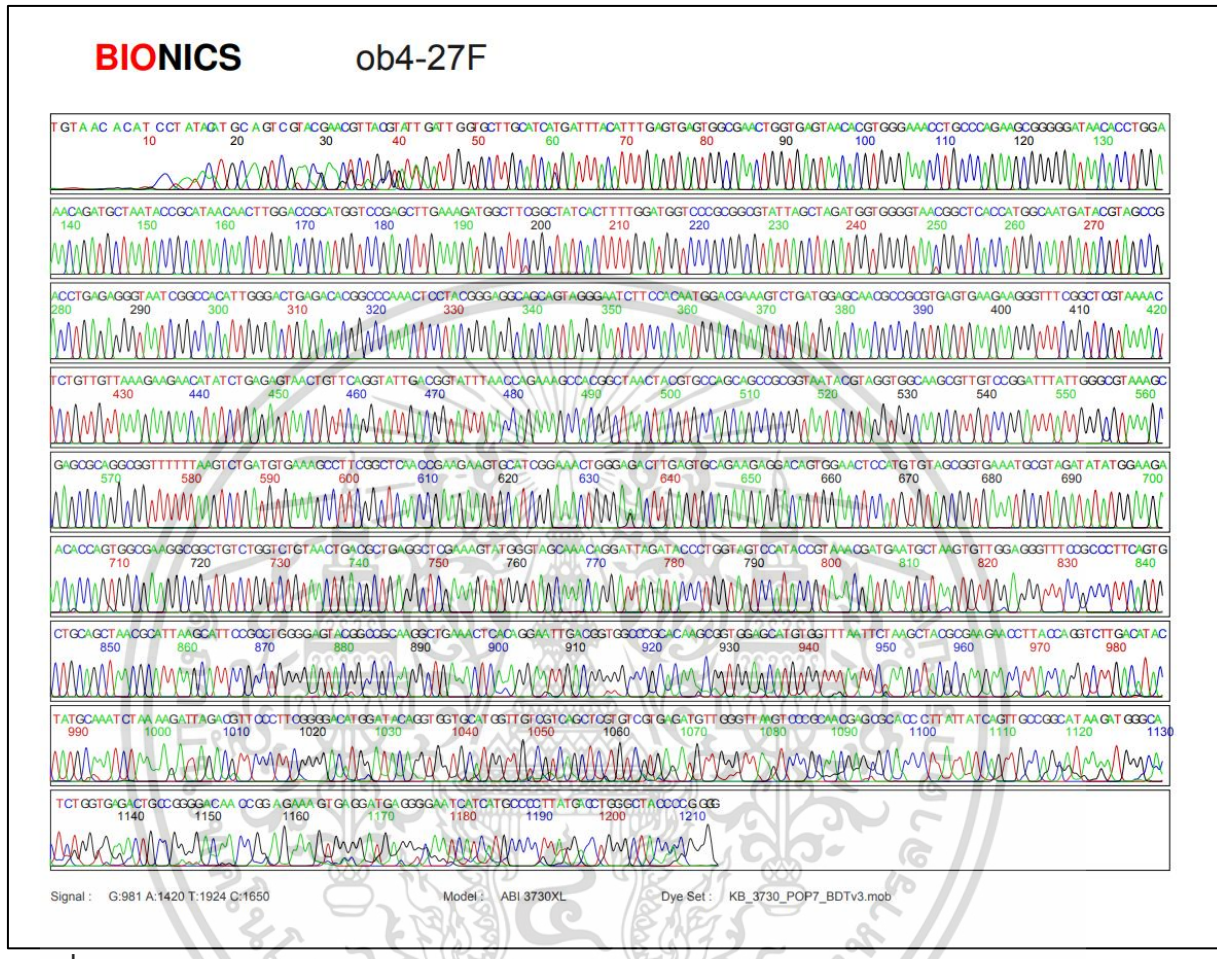
หมายเหตุ (-) หมายถึง ไม่มีการสร้างส่วนใส (clear zone)

4.3 การศึกษาจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรียกรดแลคติก โดยวิธี 16S rRNA sequence analysis

เมื่อนำ genomic DNA ของแบคทีเรียกรดแลคติก มาใช้เป็นแม่แบบ (template) เพื่อทำ โคโลนี PCR เพื่อเพิ่มจำนวน 16S rRNA แล้วนำ PCR product ที่ได้ไปตรวจหาลำเบส พบว่าแบคทีเรียกรดแลคติก OB4, OB41, SY41 และSY12.2 มีลำดับเบส (รูปภาพที่ 4.2-4.10) เมื่อนำลำดับเบสดังกล่าวไปเปรียบเทียบกับลำดับเบสของ 16S rRNA ที่อยู่ในฐานข้อมูล GENBANK พบว่าลำดับเบสของ PCR product ที่ได้มีความคล้ายคลึงกับลำดับเบสของ 16S rRNA ของ ด้วยเปอร์เซ็นต์ความคล้ายคลึง (% identity) เท่ากับ 99.43%, 99.93%, 99.65% และ 99.65% แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียกรดแลคติก

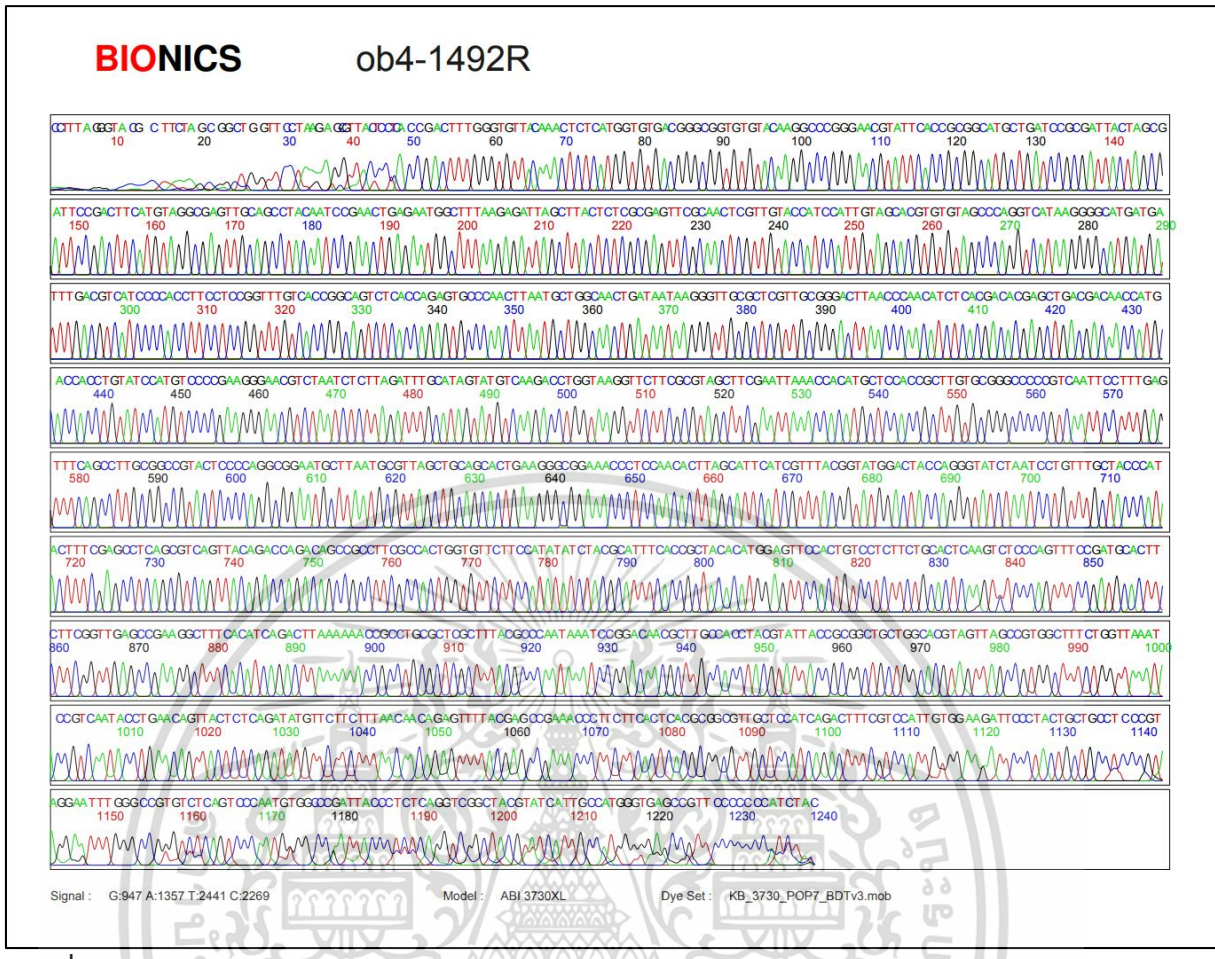
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

OB4, OB4, SY41 และSY12.2 มีความเป็นไปได้ที่จะเป็น *Lactobacillus plantarum*, *Pediococcus pentosaceus*, *Pediococcus pentosaceus* และ*Lactobacillus brevis* ตามลำดับ



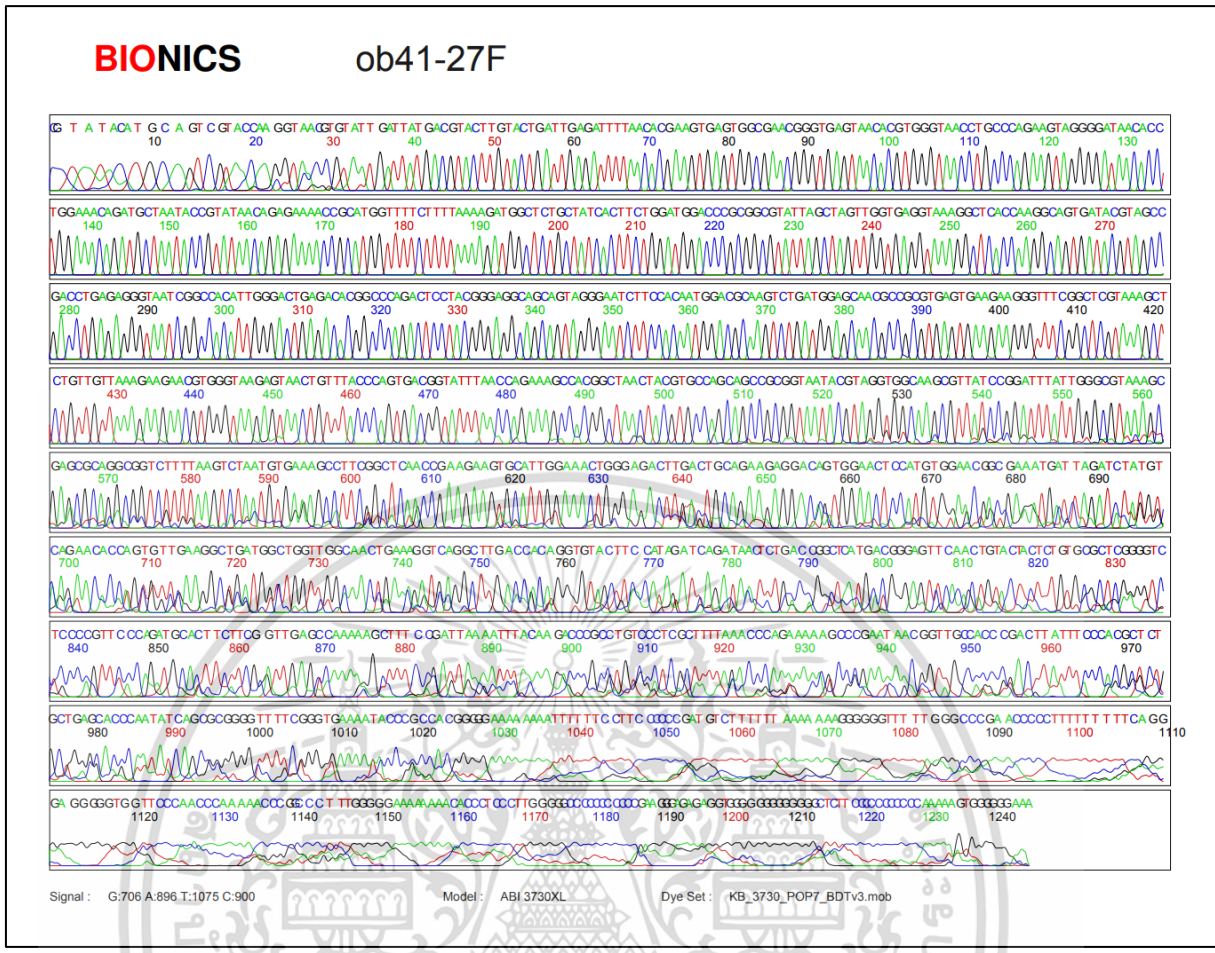
ภาพที่ 4.3 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ของไอโซเลท OB4 (Forward)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



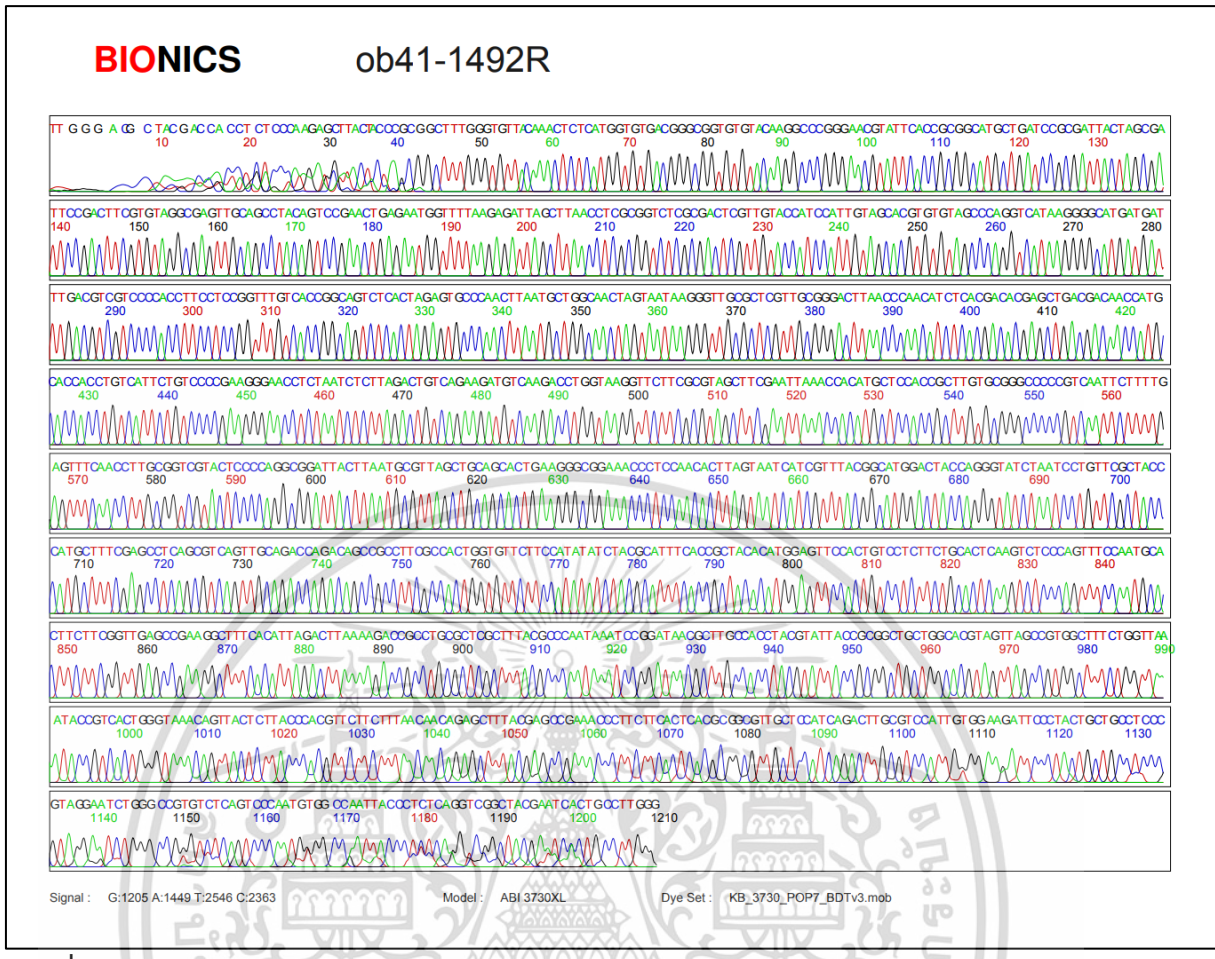
ภาพที่ 4.4 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ของไอโซเลท OB4 (Reverse)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



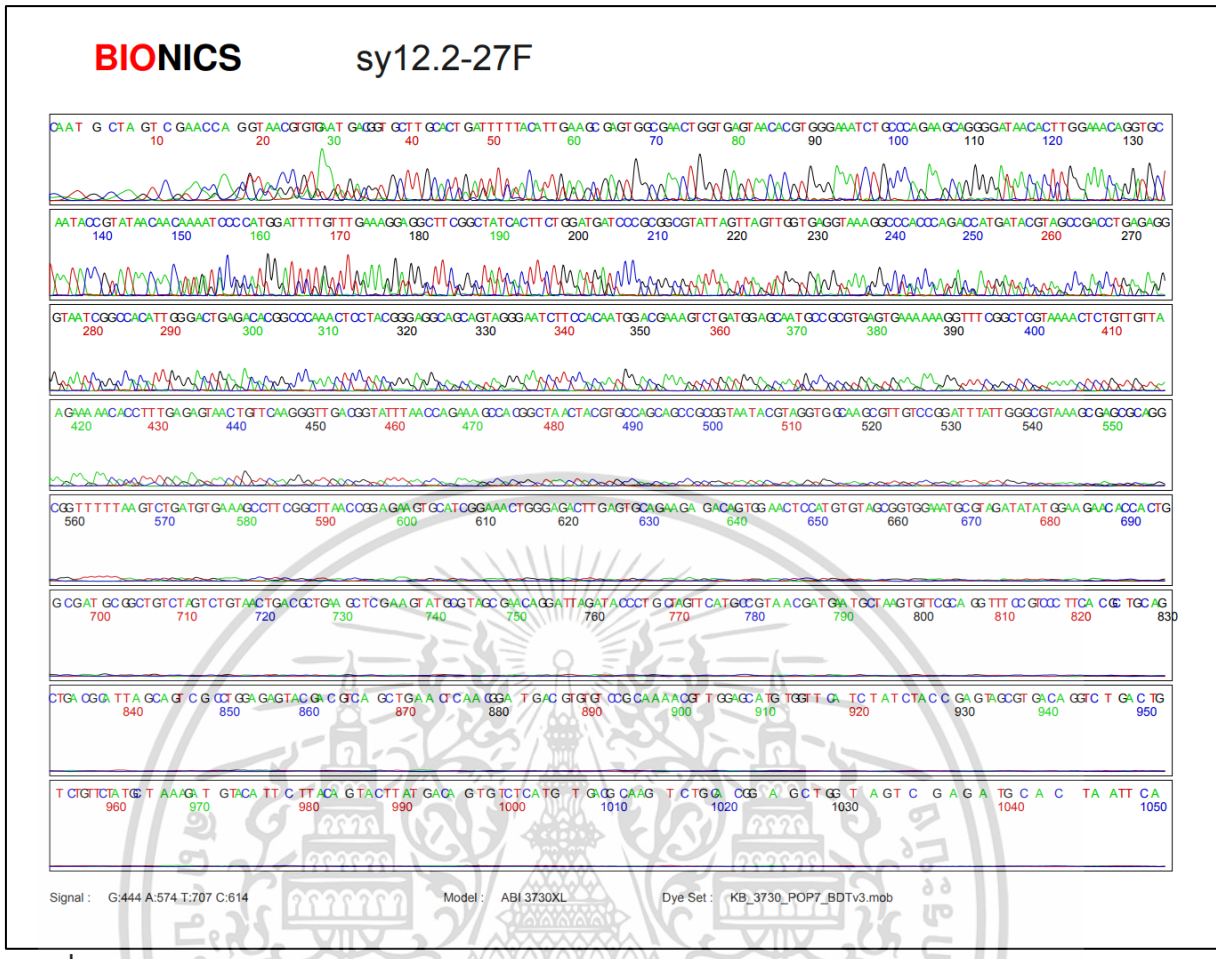
ภาพที่ 4.5 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ของไอโซเลท OB41 (Forward)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



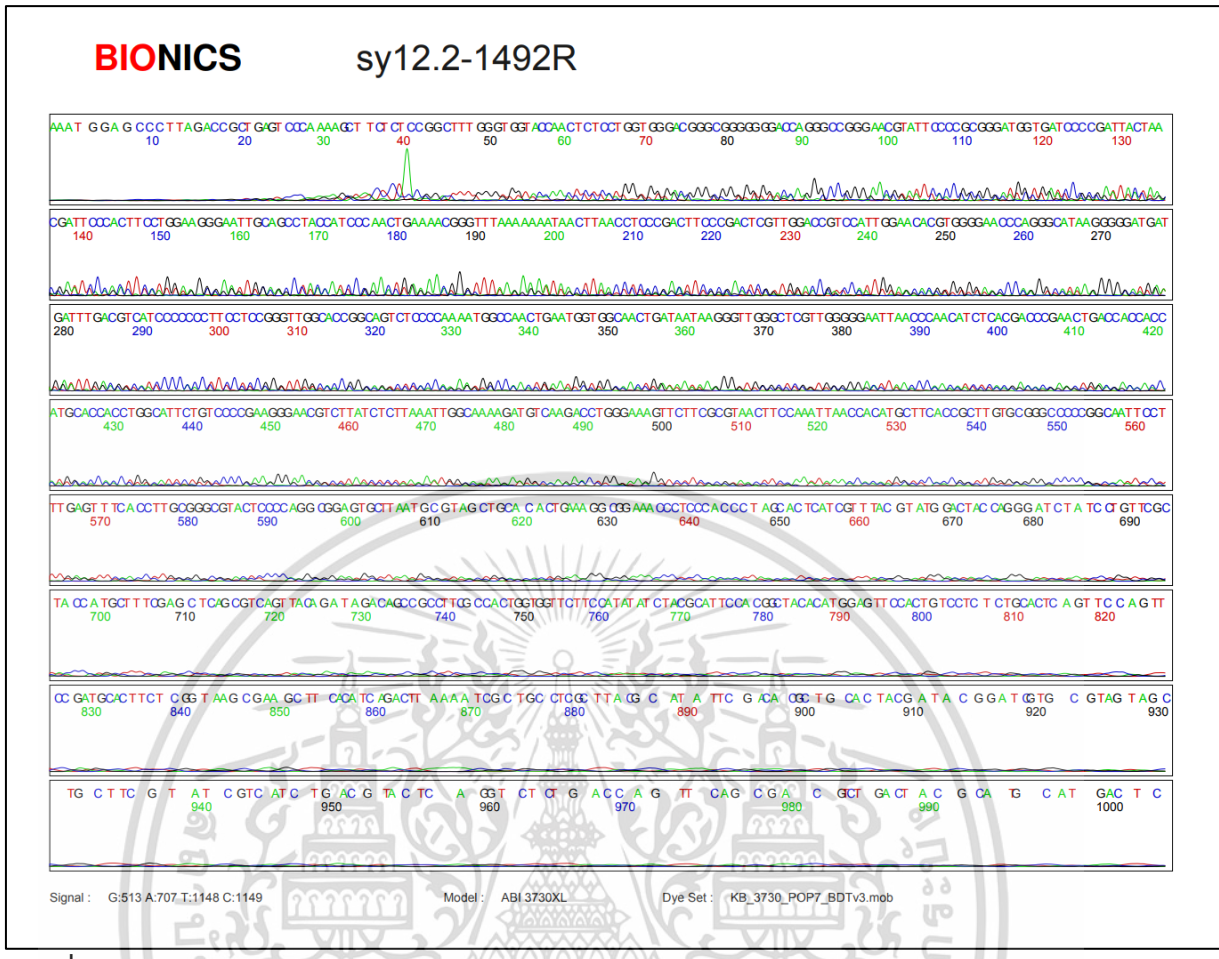
ภาพที่ 4.6 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ของไอโซเลท OB41 (Reverse)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



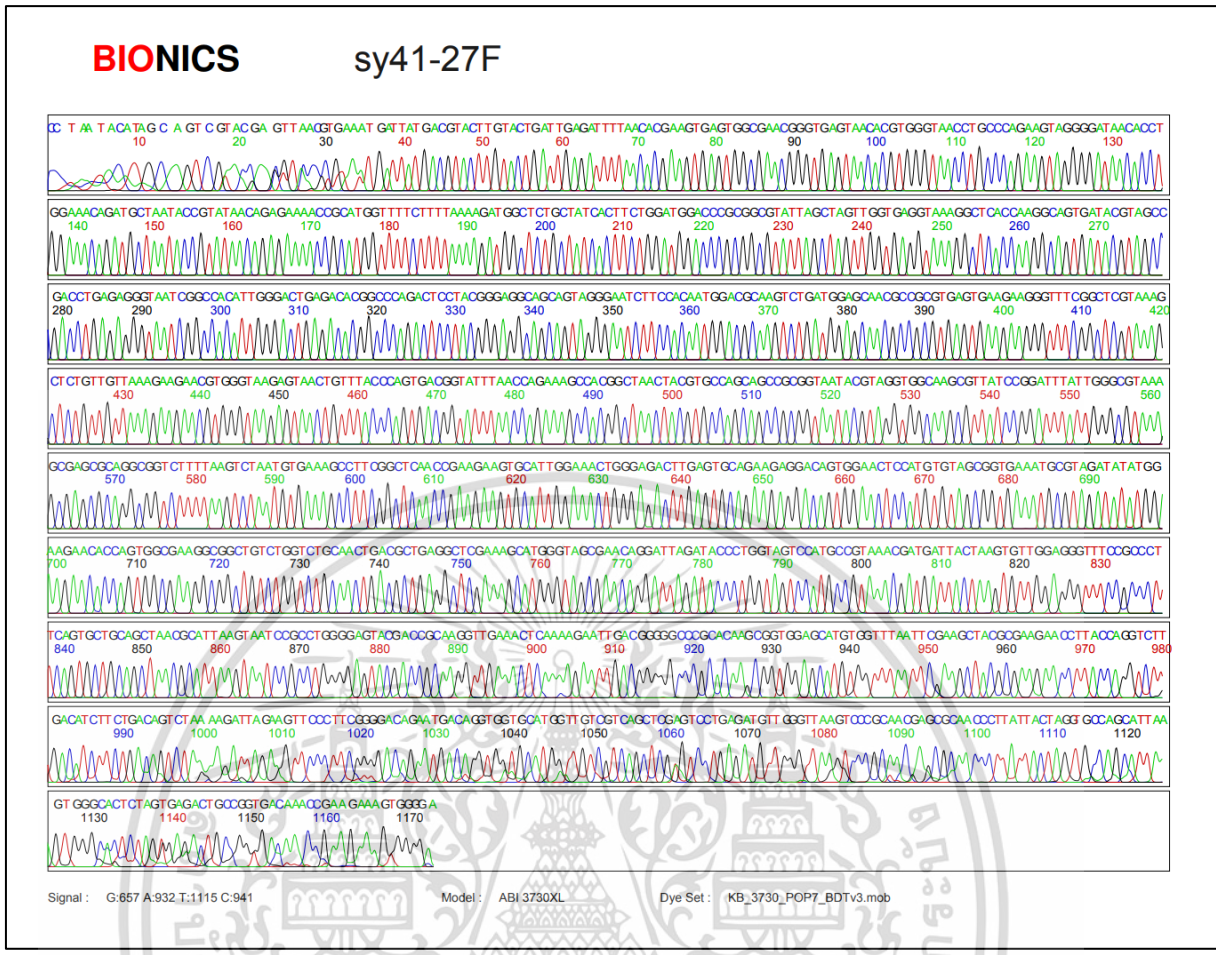
ภาพที่ 4.7 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ของไอโซเลท SY12.2 (Forward)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



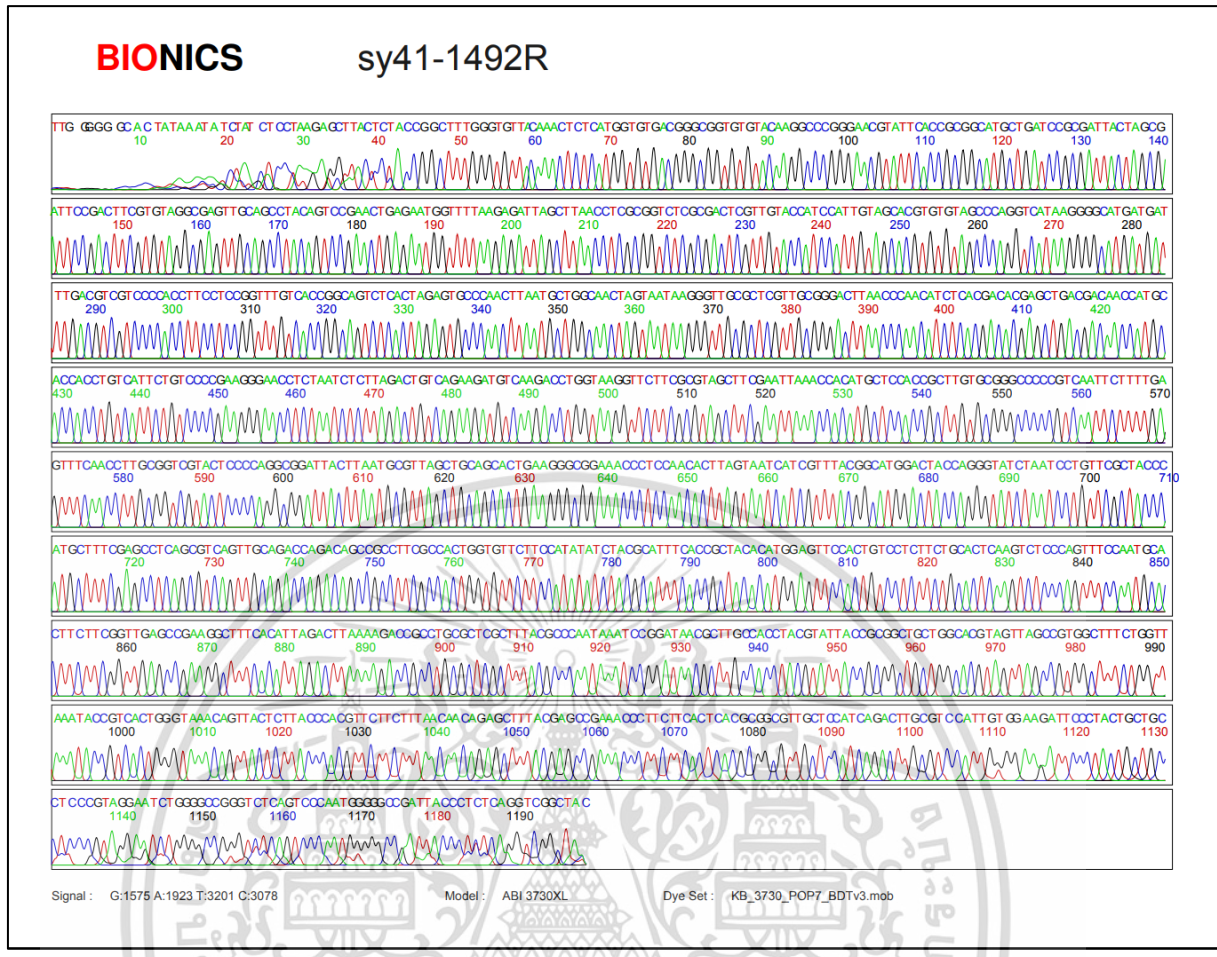
ภาพที่ 4.8 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ของไอโซเลท SY12.2 (Reverse)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.9 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ของไอโซเลท SY41 (Forward)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.10 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16S rRNA ของไอโซเลท SY41 (Reverse)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผล

จากการคัดแยกแบคทีเรียกรดแลคติกจากกิมจิ ทั้ง 3 แหล่ง สามารถคัดแยกได้ทั้งหมด 62 ไอโซเลท และเมื่อนำไปทดสอบการสร้างแคตะเลส พบว่ามีเพียง 61 ไอโซเลท ที่ไม่สร้างแคตะเลส และนำมาพิสูจน์เอกลักษณ์ด้วยวิธีโคโลนี PCR โดยทพการตรวจวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ที่บริเวณชิ้นส่วนของยีน 16S rRNA พบว่า จำแนกเชื้อได้ 3 สายพันธุ์ ดังนี้ ไอโซเลท OB4 คือ *Lactobacillus plantarum* ไอโซเลท OB41 และ SY41 คือ *Pediococcus pentosaceus* และไอโซเลท SY12.2 คือ *Lactobacillus brevis* จึงได้นำมาทดสอบคุณสมบัติความเป็นโพรไบโอติก โดยนำไปทดสอบความสามารถในการทนกรด พบว่า *Lactobacillus brevis* SY12.2 มีอัตราการอยู่รอดสูงที่สุดที่สภาวะกรด และในการทดสอบความสามารถในการทนเกลือน้ำดี พบว่า *Lactobacillus plantarum* OB4 อัตราการอยู่รอดสูงที่สุดที่สภาวะเกลือน้ำดี หลังการบ่ม 5 ชั่วโมง และนำไปทดสอบความสามารถในการผลิตกรดแลคติก พบว่า *Pediococcus pentosaceus* OB41 สามารถผลิตกรดแลคติกได้สูงถึง 3.80 g/L และนำไปทดสอบการศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *E. coli* 1070 พบว่า *Pediococcus pentosaceus* OB41 มีบริเวณการยับยั้งการเจริญสูงที่สุด

สรุปได้ว่า มีเชื้อ LAB จำนวน 3 ไอโซเลท ที่สามารถทนต่อสภาวะกรด และเกลือน้ำดี สามารถผลิตกรดแลคติกได้สูงสุด และมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญแบคทีเรียก่อโรคได้ จึงเหมาะแก่การนำไปพัฒนาเป็นผลิพตภัณฑ์เยลลี่คาราจีแนนเสริมสุขภาพ

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 พัฒนาการผลิตเยลลี่เสริมแบคทีเรียกรดแลคติกที่ได้รับอนุญาตจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา โดยควรมีจุลินทรีย์ที่ยังมีชีวิตอยู่คงเหลืออยู่ไม่น้อยกว่า 10^6 CFU ต่ออาหาร 1 กรัม

5.2.2 ศึกษาวิธีการทดสอบหาคุณสมบัติของโพรไบโอติกที่นอกเหนือจากที่ทำในวิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กองวิทยาศาสตรชีวภาพ. (2531) เยลลี่ผลไม้ : งานถนอมอาหารและเทคโนโลยีอาหาร. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์กรมวิทยาศาสตร์บริการ กระทรวงวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและพลังงาน.

กิติมา เหมวงษา. การพัฒนาการผลิตผงสีจากแครอทและการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2549.

จุฑามาศ พีรพัชระ, ชนิดา ประจักษ์จิตร, ศทิญาภัช สุชาเจริญสุข และผุสดีสุชาเจริญสุข. (2554). ความรู้เรื่องเยลลี่. วันที่ค้นข้อมูล 14 ธันวาคม 2559, เข้าถึงได้จาก http://www.clinictech.most.go.th/online/techlist/attachFile/ 20122141354261.pdf

ณิชาภัทร สมบูรณ์. (2556). สมบัติของเจลผสมระหว่างวุ้นกับเจลาตินปลา. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ทิพย์ธิดา แก้วตาทิพย์. “การใช้ประโยชน์สารให้กลิ่นทางอาหาร”, วารสารอาหาร Food Joural (Thailand). 45(2): 29-36; เมษายน-มิถุนายน, 2558.

ปาริฉัตร หงสประภาส. (2545). เคมีกายภาพของอาหาร คอลลอยด์ อิมัลชัน และเจล. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปาริชาติ พุ่มขจร และ พงศ์ศักดิ์ รัตนชัยกุลโสภณ. 2562. การตรวจแยกแล็กติกแอซิดแบคทีเรียที่มีศักยภาพเป็นโพรไบโอติกจากอาหารหมัก. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. 39: 207.

ปาริชาติ พุ่มขจร, & พงศ์ศักดิ์ รัตนชัยกุล โสภณ. (2020). การตรวจแยกแล็กติกแอซิด แบคทีเรียที่มีศักยภาพเป็นโพรไบโอติกจากอาหารหมัก. Journal of Science & Technology MSU, 39(2).

รัชฎาพร อุ่นศิวิไลย์. 2556. รายงานการวิจัยการแยกเชื้อโพรไบโอติกจากกากมันสำปะหลัง. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร. สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน. (2547). มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนเยลลี่และมาร์มาเลด. กรุงเทพฯ: วารสารสถาบันอาหาร.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. (2521). มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมแยม เยลลี่และ มาร์มาเลด. กรุงเทพฯ: สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม.

สุภัสสร วันสุทะ. 2561. การคัดเลือกแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสำหรับผลิตภัณฑ์นมถั่วเหลืองและนมอัลมอนด์หมัก. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สาขาเภสัชศาสตร์ชีวภาพ. คณะเภสัชศาสตร์. มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุรัตน์ วังพิกุล และ ปริยาภรณ์ อิศรานุวัฒน์. 2564. การแยกและคัดเลือกแลคติกแอซิดแบคทีเรียมีศักยภาพเป็นโปรไบโอติก จากผลิตภัณฑ์ผักดองพื้นบ้านของไทย. วารสารวิชาการ มทร. สุวรรณภูมิ. 9(2): 150-163

ไอ.เอ็น.เอ็น ไลฟ์สไตล์. 2021. กิมจิ คืออะไร มาจากไหน ทำไมถึงได้รับความนิยม. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: https://www.innnews.co.th/lifestyle/news_68492/ . 11 พฤศจิกายน 2565.

Boland, A. B., et al. "Influence of gelatin, starch, pectin and artificial saliva on the release of 11 flavour compounds from model gel systems", Food chemistry. 86(3): 401-411; July, 2004.

Di Cagno, R., Surico, R. F., Siragusa, S., De Angelis, M., Paradiso, A., Minervini, F., De Gara, L., & Gobbetti, M. (2008). Selection and use of autochthonous mixed starter for lactic acid fermentation of carrots, French beans or marrows. International Journal of Food Microbiology, 127(3), 220-228.

Dominique Dupagne. 2022. โพรไบโอติก (Probiotics) จุลินทรีย์มีประโยชน์. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: https://www.pobpad.com/probiotics. 11 พฤศจิกายน 2565.

Griffiths, J. C. "Coloring foods & beverages", Food technology. 59(5): 38-44; May, 2005.

Hayashi, L., et al. "The effects of selected cultivation conditions on the carrageenan characteristics of Kappaphycus alvarezii (Rhodophyta, Solieriaceae) in Ubatuba Bay, São Paulo, Brazil", Journal of Applied Phycology. 19(5): 505; March, 2007.

Johnston-Banks, F. “Gelatine”, Food gels. 233-289; Springer, 1990.

Martins, N., et al. "Food colorants: Challenges, opportunities and current desires of agro-industries to ensure consumer expectations and regulatory practices," Trends in Food Science & Technology. 52: 1-15; June, 2016.

Phupaboon S, Pudpai N, Punyauppa-path S,Phumkhachorn P, Rattanachaikunsopon P. Isolationof lactic acid bacteria from fermented foods to be developed as DNA delivery vehicles, J Sci Technol UBU 2016;18(1):21-29.

Ruttanasutja, P., & Thongdee, U. (2020). The isolation of cellulase producing bacteria from paddy field soil samples in Phra Nakhon Si Ayutthaya province. RMUTSB Academic Journal, 8(2), 165-175. (in Thai)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อ

ก.1 วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 อาหาร De Man Rogosa and Sharpe (MRS) agar ประกอบด้วย

Peptone	10.00 กรัม
Beef extract	10.00 กรัม
Yeast extract	5.00 กรัม
Dextrose	20.00 กรัม
Ammonium citrate	2.00 กรัม
Polysorbate 80	1.00 กรัม
Sodium acetate	5.00 กรัม
Magnesium sulphate	0.10 กรัม
Manganese sulphate	0.05 กรัม
Dipotassium phosphate	2.00 กรัม
Agar	20.00 กรัม

ชั่งอาหาร MRS 55.15 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร เติม Agar 20.00 กรัม นำไปให้ความร้อนจนวุ้นละลาย และนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

1.2 อาหาร Nutrient agar (NA) ประกอบไปด้วย

Peptone	5.00 กรัม
Sodium chloride	5.00 กรัม
HM peptone B	1.50 กรัม
Yeast extract	1.50 กรัม
Agar	15.00 กรัม
Polysorbate 80	1.00 กรัม

ชั่งอาหาร NB 13 กรัม และผงวุ้น 15 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนและคนผสมให้เข้ากัน นำอาหารเลี้ยงเชื้อไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เทลงในจานเพาะเชื้อ รอให้วุ้นแข็งตัว และเก็บเข้าตู้เย็นเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 อาหาร Nutrient broth (NB) ประกอบไปด้วย

Peptone	5.00 กรัม
Sodium chloride	5.00 กรัม
HM peptone B	1.50 กรัม
Yeast extract	1.50 กรัม

ชั่งอาหาร NB 13 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อน และคนผสมให้เข้ากัน แบ่งใส่หลอดทดลอง และนำอาหารเลี้ยงเชื้อไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ก.2 วิธีการเตรียมสารเคมี

2.1 1M NaCl

NaCl	85.44 กรัม
น้ำกลั่น	100.00 กรัม

2.2 1M HCl

HCl	36.00 กรัม
น้ำกลั่น	100.00 มิลลิลิตร

2.3 กลีเซอรอล 50%

กลีเซอรอล	50.00 กรัม
น้ำกลั่น	50.00 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ลำดับนิวคลีโอไทด์ของแบคทีเรียกรดแลคติกที่คัดแยกจากกิมจิ

ข.1 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนบริเวณ 16S rRNA ของไอโซเลท OB4

GCTTGCATCATGATTTACATTTGAGTGAGTGGCGAACTGGTGAGTAACACGTGGGAAACCTGCCCAGAAGCG
GGGGATAACACCTGGAAACAGATGCTAATACCGCATAACAACTTGGACCGCATGGTCCGAGCTTGAAAGATG
GCTTCGGCTATCACTTTTGGATGGTCCCGCGGCGTATTAGCTAGATGGTGGGGTAACGGCTCACCATGGCAA
TGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACTCCTACGGGAGG
CAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCG
GCTCGTAAAACTCTGTTGTTAAAGAAGAACATATCTGAGAGTAACTGTTCAGGTATTGACGGTATTTAACCA
GAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGG
GCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTTTTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAAGAAGTGCATCGG
AAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGG
AAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGTAACTGACGCTGAGGCTCGAAAGTATGGGTAGCAAAC
AGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATACCGTAAACGATGAATGCTAAGTGTTGGAGGGTTTCCGCCCTTCAGT
GCTGCAGCTAACGCATTAAGCATTCCGCCTGGGGAGTACGGCCGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACGG
GGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATA
CTATGCAAATCTAAGAGATTAGACGTTCCCTTCGGGGACATGGATACAGGTGGTGCATGGTTGTCGTCAGCT
CGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTATCAGTTGCCAGCATTAAGTTGG
GCACTCTGGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATG
ACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTTGCGAACTCGCGAGAGTAAGCTAATCTCTTA
AAGCCATTCTCAGTTCGGATTGTAGGCTGCAACTCGCCTACATGAAGTCGGAATCGCTAGTAATCGCGGATC
AGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAGTTTGTAACACCC
AAAGTCGGTGAGGAGTAACGCTCTTAGGAACCAGCCGCTAGAAGCGTACCCTAAAGG

ข.2 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนบริเวณ 16S rRNA ของไอโซเลท OB41

GATTATGACGTACTTGTACTGATTGAGATTTTAACACGAAGTGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGT
AACCTGCCCAGAAGTAGGGGATAACACCTGGAAACAGATGCTAATACCGTATAACAGAGAAAACCGCATGGT
TTTCTTTTAAAAGATGGCTCTGCTATCACTTCTGGATGGACCCGCGGCGTATTAGCTAGTTGGTGAGGTAAA
GGCTCACCAAGGCAGTGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCA
GACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAG
TGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAGCTCTGTTGTTAAAGAAGAACGTGGGTAAGAGTAACTGTTTACCCAGT
GACGGTATTTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTT
ATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTCTTTTAAGTCTAATGTGAAAGCCTTCGGCTCAACC
GAAGAAGTGCATTGGAAACTGGGAGACTTGACTGCAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGAAA
TGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGCAACTGACGCTGAGGCTCGAAA
GCATGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAAACGATGATTACTAAGTGTTGGAGGG
TTTCCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGTAATCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACT
CAAAAGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTA
CCAGGTCTTGACATCTTCTGACAGTCTAAGAGATTAGAGGTTCCCTTCGGGGACAGAATGACAGGTGGTGCA
TGGTTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTACTAGTTG
CCAGCATTAAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAATC
ATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTCGCGAGACCGCGAGGT
TAAGCTAATCTCTTAAAACCATTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCCTACACGAAGTCGGAATCGC
TAGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGA
GAGTTTGTAACACCCAAAGCCGCG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ ห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.3 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนบริเวณ 16S rRNA ของไอโซเลท SY12.2

CAATGCTAGTCGAACCAGGTAACGTGTGAATGACGGTGCTTGCACTGATTTTTACATTGAAGCGAGTGGCGA
ACTGGTGAGTAACACGTGGGAAATCTGCCCAGAAGCAGGGGATAACACTTGGAAACAGGTGCTAATACCGTA
TAACAACAAAATCCCCATGGATTTTGTTTGAAAGGAGGCTTCGGCTATCACTTCTGGATGATCCCGCGGCGT
ATTAGTTAGTTGGTGAGGTAAAGGCCCACCCAGACCATGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCAC
ATTGGGACTGAGACACGGCCCAAACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGAAAGTC
TGATGGAGCAATGCCGCGTGAGTGAAAAAAGGTTTCGGCTCGTAAAACTCTGTTGTTAAAGAAAAACACCTT
TGAGAGTAACTGTTCAAGGGTTGACGGTATTTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGG
TAATACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGGCGGTTTTTAAGTCTGATGTGAA
AGCCTTCGGCTTAACCGGAGAAGTGCATCGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGACAGTGGAACTCCA
TGTGTAGCGGTGGAAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCACTGGCGATGCGGCTGTCTAGTCTGTAACTGA
CGCTGAAGCTCGAAGTATGCGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGCTAGTTCATGCCGTAACGATGAATGCT
AAGTGTTCGCAGGTTTCCGTCCCTTCACGCTGCAGCTGACGCATTAGCAGTCGCCTGGAGAGTACGACGTCA
GCTGAACTCAACGGATGACGTGTGTCCGCAAAACGTTGGAGCATGTGGTTCATCTATCTACCGAGTAGCGTG
ACAGGTCTGACTGTCTGTTCTATGCTAAAGATGTACATTCTTACAGTACTTATGACAGTGTCTCATGTGACG
CAAGTCTGCACGGAGCTGGTAGTCGAGATGCACTAATTCATCTAGATAATTCCCACCTGTGCACTCAGTTAC
CG

ข.4 ลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีนบริเวณ 16S rRNA ของไอโซเลท SY41

TATGACGTACTTGTACTGATTGAGATTTTAACACGAAGTGAGTGGCGAACGGGTGAGTAACACGTGGGTAAC
CTGCCCAGAAGTAGGGGATAACACCTGGAAACAGATGCTAATACCGTATAACAGAGAAAACCGCATGGTTTT
CTTTTAAAAGATGGCTCTGCTATCACTTCTGGATGGACCCGCGGCGTATTAGCTAGTTGGTGAGGTAAAGGC
TCACCAAGGCAGTGATACGTAGCCGACCTGAGAGGGTAATCGGCCACATTGGGACTGAGACACGGCCCAGAC
TCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGACGCAAGTCTGATGGAGCAACGCCGCGTGAGTGA
AGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAGCTCTGTTGTTAAAGAAGAACGTGGGTAAGAGTAACTGTTTACCCAGTGAC
GGTATTTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATC
CGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTCTTTTAAGTCTAATGTGAAAGCCTTCGGCTCAACCGAA
GAAGTGCATTGGAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGACAGTGGAACTCCATGTGTAGCGGTGAAATGC
GTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTGTCTGGTCTGCAACTGACGCTGAGGCTCGAAAGCA
TGGGTAGCGAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCATGCCGTAAACGATGATTACTAAGTGTTGGAGGGTTT
CCGCCCTTCAGTGCTGCAGCTAACGCATTAAGTAATCCGCCTGGGGAGTACGACCGCAAGGTTGAAACTCAA
AAGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCTACGCGAAGAACCTTACCA
GGTCTTGACATCTTCTGACAGTCTAAGAGATTAGAGGTTCCCTTCGGGGACAGAATGACAGGTGGTGCATGG
TTGTCGTCAGCTCGTGTCGTGAGATGTTGGGTTAAGTCCCGCAACGAGCGCAACCCTTATTACTAGTTGCCA
GCATTAAGTTGGGCACTCTAGTGAGACTGCCGGTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGACGACGTCAAATCATC
ATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGATGGTACAACGAGTCGCGAGACCGCGAGGTTAA
GCTAATCTCTTAAAACCATTCTCAGTTCGGACTGTAGGCTGCAACTCGCCTACACGAAGTCGGAATCGCTAG
TAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCCGTCACACCATGAGAG
TTTGTAACACCCAAAGCCGGTAGAGTAAGCTCTTAGGAGATAGATATTTATAGTGCCCCCCAA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
วิธีวิเคราะห์

ค.1 วิธีการทดสอบคุณสมบัติทางสัณฐานวิทยา

การย้อมสีแบบแกรม (Gram's staining)

วิธีการย้อมสีแบบแกรม (Gram's staining) เริ่มจากทำความสะอาดสไลด์ และทำให้แห้ง โดยวิธีการผ่านไฟหรือเช็ดด้วยกระดาษหรือผ้าสะอาด และ Smear เชื้อที่ต้องการจากเชื้อที่เพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง โดยใช้ Loop จุ่มน้ำ และแตะบนสไลด์ แล้วใช้ Loop ที่ฆ่าเชื้อ เขี่ยเชื้อมาเพียงเล็กน้อย แตะเชื้อลงบนหยดน้ำ แล้วเกลี่ยเชื้อให้กระจาย ทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นทำการตรึง (Fixing of the smear) เพื่อทำให้เซลล์แบคทีเรียติดแน่นกับสไลด์ โดยการนำสไลด์ลนผ่านเปลวไฟอย่างรวดเร็ว 2-3 ครั้ง และหยดสีย้อม Crystal violet ให้ท่วมรอย Smear ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 นาที เทสีที่เหลือค้างบนสไลด์ลงในอ่างน้ำ และทำการชะด้วยสารละลายไอโอดีน โดยหยดสารละลายไอโอดีนให้ท่วมรอย Smear ทิ้งไว้เป็นเวลา 1 นาที หลังจากนั้นเทสารละลายไอโอดีนทิ้ง แล้วชะด้วยแอลกอฮอล์ 95% นาน 15 วินาที หลังจากนั้นล้างผ่านน้ำไหลเบา ๆ ซับด้วยกระดาษซับ แล้วย้อมทับด้วยการหยดสีย้อมซาฟลานินโอ ให้ท่วมรอย Smear ทิ้งไว้นาน 1 นาที เทสีทิ้ง ล้างด้วยน้ำ และซับด้วยกระดาษซับ ทิ้งไว้ให้แห้ง นำไปตรวจดูลักษณะการติดสี รูปร่าง และการเรียงตัวของแบคทีเรีย

ค.2 วิธีการศึกษาคุณสมบัติทางด้านชีวเคมี (Biological Characteristic)

การทดสอบแคตะเลส (Catalase test)

วิธีทดสอบ

1. หยด H_2O_2 ที่มีความเข้มข้น 3% 1 หยด ลงบนสไลด์
2. ใช้ Loop เขี่ยเชื้ออายุ 24 ชั่วโมงจากอาหารแข็ง เขี่ยเชื้อลงไป และทำการเกลี่ยเชื้อให้เข้ากันบนสไลด์
    - ผลบวก เกิดฟองแก๊ส
    - ผลลบ ไม่เกิดฟองแก๊ส

ค.3 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ที่ปรับ pH1.5 ,pH2 และ pH2.5

เตรียม MRS broth ปรับพีเอชด้วยกรดไฮโดคลอริก ความเข้มข้น 1 M และวัดพีเอชด้วยเครื่อง pH meter แบ่งใส่หลอด และนำนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.4 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ที่ใส่ Ox bile powder 0.3 0.6 และ 0.9 % (มวล/ปริมาตร)

เตรียม MRS broth ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แบ่งใส่หลอดทดลอง จากนั้นใส่ Ox bile powder ละลายให้เข้ากัน และกรองผ่านฟิลเตอร์ 0.45 ไมโครเมตร ใส่อีกหลอดทดลองหนึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	วริศรา โชติวาณี
วัน เดือน ปี เกิด	4 กรกฎาคม 2544
ประวัติการศึกษา	จบการศึกษาจากโรงเรียนนวมินทราชินูทิศ บดินทรเดชา จังหวัดกรุงเทพมหานคร ปัจจุบันกำลังศึกษาในคณะอุตสาหกรรมอาหาร หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรมอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประสบการณ์การทำงาน และผลงานวิจัย	การคัดแยกจุลินทรีย์โพรไบโอติกจากกิมจิเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เยลลี่คาราจีแนนเสริมสุขภาพ
รางวัลที่เคยได้รับ	Best Presentation Award (Project Day)

ชื่อ-นามสกุล	ศศิกาญจน์ สุริยมงคล
วัน เดือน ปี เกิด	30 กันยายน 2543
ประวัติการศึกษา	จบการศึกษาจากโรงเรียนเบญจมราชรังสฤษฎ์ จังหวัดฉะเชิงเทรา ปัจจุบันกำลังศึกษาในคณะอุตสาหกรรมอาหาร หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรมอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประสบการณ์การทำงาน และผลงานวิจัย	การคัดแยกจุลินทรีย์โพรไบโอติกจากกิมจิเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เยลลี่คาราจีแนนเสริมสุขภาพ
รางวัลที่เคยได้รับ	Best Presentation Award (Project Day)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้