การประชุมวิชาการระดับชาติ ด้านวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
เครือข่ายสถาบันอุดมศึกษาภาคใต้ ครั้งที่ 5 ประจำปี 2563

(The 5th Nation Science and Technology Conference – NSCIC 2020)

วันที่ 6 – 7 กุมภาพันธ์ 2563

ณ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาลัยครูสงขลา

ลำดับ	เวลา	กลุ่ม	รหัส	ชื่อผลงาน	ผู้นำเสนอผลงาน
20	12.30-12.40	1	P10061	ผลของการเสริมเปลือกแตงโมในขอสบาร์บีคิว	เกลิวน ไมหมาด

ลำดับ	เวลา	กลุ่ม	รหัส	ชื่อผลงาน	ผู้นำเสนอผลงาน
1	08.40-08.50	3	P30017	การตัดสินใจปลูกหญ้าหวายข้อในพื้นที่นาข้าวของเกษตรกร ในอำเภอบางแก้ว จังหวัดพัทลุง	ปริยากร สุจิตพันธ์
2	08.50-09.00	3	P30018	ประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ปฏิปักษ์เพื่อการยับยั้งเชื้อสาเหตุโรครากเน่าโคนเน่าในต้นกุเรียนบริเวณพื้นที่ อำเภอธารโต จังหวัดยะลา	ฮากีมะฮ์ เจ๊ะโด
3	09.00-09.10	3	P30019	การคัดแยกแลกติกแอซิดแบคทีเรียที่สามารถผลิตแกมมาอะมิโนบิวทีริกแอซิดจากกุ้งส้ม อำเภอเชียรใหญ่ จังหวัดนครศรีธรรมราช	มณฑกานต์ ทองสม
4	09.10-09.20	3	P30020	ประสิทธิภาพของเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกจากดินบอน้ำร้อนในการยับยั้งเชื้อ *Xanthomonas* sp. สาเหตุโรคแคงเกอร์ที่ขอตระกูลส้ม	วิไลวรรณ ไชยศร
5	09.20-09.30	3	P30021	ผลของปัจจัยสิ่งแวดล้อมบางประการต่อความหลากชนิดของแมลงน้ำ ในลำธารน้ำตกโตนปลิว จังหวัดสงขลา	ศุทาวุธ ไชยเทพ
6	09.30-09.40	3	P30022	การผลิตโปรตีนเซลล์เดียวในน้ำทิ้งสุดท้ายของโรงงานน้ำยางข้น โดยยีสต์ *Candida tropicalis* TISTR 5146	ชุตินุช สุจริต

ลำดับ	เวลา	กลุ่ม	รหัส	ชื่อผลงาน	ผู้นำเสนอผลงาน
7	09.40-09.50	3	P30023	การพัฒนาการแปรรูปผลิตภัณฑ์พลูจากการคัดทิ้งโดยใช้กระบวนการมีส่วนร่วมในชุมชน กรณีศึกษา: ชุมชนนาโอ ตำบลรมเมือง อำเภอเมืองพัทลุง จังหวัดพัทลุง	ณฐวรท บุญรัตนา
8	09.50-10.00	3	P30024	พันธุศาสตร์เซลล์ของปลาวงศ์ปลากระทิง (Family Mastacembelidae) ในจังหวัดมหาสารคาม	ปริญญาศักดิ์ เจียระแม
9	10.00-10.10	3	P30025	การผลิตแอนติบอดีทอลิคอลนอลต่อเชื้อ *Histoplasma capsulatum* ในไก่ไข่	นัชชิน คอลอ
10	10.10-10.20	3	P30026	ฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดหยาบจากดอกกระเจี๊ยบแดงยับยั้งเชื้อ *Staphylococcus aureus* และ *Escherichia coli*	กัลยา บินดุเหล็ม
11	10.20-10.30	3	P30027	ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของแบคทีเรียเอนโดไฟต์ที่คัดแยกได้จากฟองน้ำทะเล	รัตนากร แก้วนิล
12	10.30-10.40	3	P30028	คุณสมบัติของแบคทีเรียทนร้อนที่คัดแยกได้จากบอน้ำร้อนเขาชัยสน จังหวัดพัทลุง	นุชีญา สันสนู่
13	10.40-11.00	3	P30029	การแพร่กระจายของแบคทีเรีย [illegible] ในภูมิ	สุไรญา หมะดอหะ

การคัดแยกแลกติกแอซิดแบคทีเรียที่สามารถผลิตแกมมาอะมิโนบิวทิริกแอซิดจากกุ้งส้ม อำเภอเชียรใหญ่ จังหวัดนครศรีธรรมราช

Isolation of Lactic bacteria producing γ-aminobutyric acid from Kung-Som Chian Yai, Nakorn Si Thammarat

นางสาวมณฑกานต์ ทองสม[1*] นางสาววิไลวรรณ ไชยศร[2*] และนางสาวสิริกุล เพชรหวล[2*]

บทคัดย่อ

กุ้งส้มเป็นอาหารหมักที่ผลิตโดยการผสมกุ้งกับเกลือและน้ำตาลโตนด เก็บตัวอย่างกุ้งส้ม 7 ตัวอย่าง จากจุดจำหน่าย อำเภอเชียรใหญ่ สามารถคัดแยกแบคทีเรียแลกติกจากตัวอย่างกุ้งส้มได้ 48 ไอโซเลท โดยทุกไอโซเลทมีรูปร่างท่อนสั้น ติดสีแกรมบวก และไม่สร้างเอนไซคะตาเลส ความสามารถของแบคทีเรียแลกติกที่แยกได้ในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียโรค (*Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Salmonella enteric* และ *Staphylococcus aureus*) และการประเมินความปลอดภัยถูกทดสอบ พบว่าแบคทีเรียแลกติก 7 ไอโซเลท (L1, L2, L4, L5, L7, L46 และ L47) สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ แบคทีเรียแลกติกเหล่านี้ยังมีความไวต่อยาปฏิชีวนะ ไม่ย่อยสลายเม็ดเลือดแดง และไม่ผลิตสารไบโอจีนิกเอมีน การศึกษาประสิทธิภาพการผลิตแกมมาอะมิโนบิวทิริกแอซิดพบว่าแบคทีเรียแลกติก L2, L4, L5 และ L7 สามารถผลิตแกมมาอะมิโนบิวทิริกแอซิดได้ โดยแบคทีเรียแลกติก L5 มีประสิทธิภาพในการผลิตแกมมาอะมิโนบิวทิริกแอซิดสูงสุด (1.12mg/ml) ไอโซเลท L2, L4, L5 และ L7 ถูกจำแนกด้วยวิธีการทางชีวเคมีพบว่าเป็นแบคทีเรียแลกติกสกุล *Lactobacillus* sp. ซึ่งสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นกล้าเชื้อในอาหารหมักได้

คำสำคัญ : กุ้งส้ม, แบคทีเรียแลกติก, แกมมาอะมิโนบิวทิริกแอซิด

Abstract

Kung-Som is fermented food produced by mixing shrimp with salt and jaggery. Seven samples of Kung-Som were collected from Chian Yai district distribution point. Forty-eight isolates of lactic acid bacteria could be isolated from Kung-Som samples. All isolates were rod shape, gram positive and catalase negative. The ability of isolated lactic acid bacteria to inhibit pathogenic bacteria (*Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Salmonella enteric* and *Staphylococcus aureus*) and safety assessment were investigated. It was found that 7 lactic acid bacteria isolate (L1, L2, L4, L5, L7, L46 and L47) were able to inhibit pathogens. These isolates also showed sensitivity to antibiotics with no hemolysis to red blood cells and no production of biogenic amine. Studies on the efficiency for gamma-amino butyric acid production found that isolate L2, L4, L5 and L7 can produce GABA. Among these isolates, L5 exhibited highest efficiency for GABA production (1.12mg / ml). Isolate of

L2, L4, L5 and L7 were identified using biochemical methods as genus *Lactobacillus sp.* which can be used as a starter in fermented foods.

Keywords: Kung-Som, Lactic bacteria, γ-aminobutyric acid

[1, 2]อาจารย์ประจำสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

*Corresponding author, E-mail: montakarn2008@hotmail.com

บทนำ

อาหารหมัก (Fermented food) เป็นอาหารที่อยู่คู่กับท้องถิ่นชาวใต้ซึ่งจะมีความหลากหลายของการบริโภคอาหารหมักไม่ว่าจะเป็นอาหารหมักจากพืชผัก เช่น หน่อไม้ดอง ผักเสี้ยนดอง ผักกาดดอง ผักหนามดอง อาหารหมักดองจากเนื้อสัตว์ เช่น ปลาส้ม กุ้งส้ม ปลาแป้งแดง หนางหมู หนางวัว ซึ่งล้วนแต่เป็นอาหารหมักที่อาศัยภูมิปัญญาท้องถิ่นในการการผลิต ในกระบวนการหมักนั้นจะต้องอาศัยจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญนันคือแบคทีเรียแลกติกซึ่งเป็นที่ยอมรับในเรื่องความปลอดภัย (Generally recognized as safe bacteria; GRAS status) แบคทีเรียแลกติกเป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลมและท่อน ไม่สร้างสปอร์ ไม่สร้างเอนไซม์คะตาเลส ทนต่อสภาวะเป็นกรดสูง สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนเพียงเล็กน้อย แบคทีเรียแลกติกถูกนำมาใช้ในการผลิตอาหารหมักและการถนอมอาหารจากผลิตผลทางการเกษตรหลายชนิด โดยแบคทีเรียแลกติกอาจมีอยู่ในวัตถุดิบหรืออาจเติมแบคทีเรียแลกติกในรูปเชื้อตั้งต้น (Starter culture) เติมลงในอาหารภายใต้ภาวะควบคุม อย่างไรก็ตามแบคทีเรียแลกติกสามารถเปลี่ยนแปลงลักษณะรสชาติ เนื้อสัมผัสและคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้แบคทีเรียแลกติกมีความสำคัญในการถนอมอาหารทำให้อาหารมีความเป็นกรด-ด่างลดต่ำลงในระหว่างการหมัก นอกจากนี้ยังสามารถสร้างสารแบคเทอริโอซินซึ่งมีคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค แบคทีเรียแลกติกบางสายพันธุ์สามารถเปลี่ยนสารกลูตาเมต (Glutamate) ให้ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายคือแกมมาอะมิโนบิวทิริกแอซิดและคาร์บอนไดออกไซด์ (Cho et al., 2011)

กรดแกมมาอะมิโนบิวไทริก (Gamma aminobutyric acid: GABA) มีสูตรโมเลกุลคือ $C_4 H_9 NO_2$ เป็นกรดอะมิโนประเภท non protein พบมากในระบบประสาทของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม (Cho et al., 2011) ทำหน้าที่เป็นสารสื่อประสาท (Neurotransmitter) ในระบบประสาทส่วนกลางและยังเป็นสารสื่อประสาทประเภทยับยั้ง (Inhibitor) โดยทำหน้าที่รักษาสมดุลในสมอง ช่วยให้สมองผ่อนคลาย นอนหลับสบาย ช่วยกระตุ้นต่อมไร้ท่อ (Anterior Pituitary) ผลิตฮอร์โมนช่วยในการเจริญเติบโต (HGH) เกิดการสร้างเนื้อเยื่อ (Kim and Kim, 2012) จากการศึกษาของKimura (2002) พบว่าการบริโภคแกมมาอะมิโนบิวทิริกแอซิดเป็นประจำในปริมาณ 0.3-300mg/kg จะช่วยลดความดันโลหิต สารแกมมาอะมิโนบิวทิริกแอซิดเป็นที่รู้จักกันมานานแล้วในหลายประเทศซึ่งสามารถพบได้ทั่วไปตามธรรมชาติในอาหารหลายประเภททั้งในพืช ผัก ผลไม้ รวมถึง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการหมักเช่น เต้าหู้ กิมจิ (Cho et al., 2011; Kim and Kim, 2012) สารแกมมาอะมิโนบิวทิริกแอซิดในธรรมชาติมีปริมาณไม่คงที่

และอาจไม่เพียงพอต่อความต้องการที่จะทำให้เกิดผลตามที่ผู้บริโภคคาดหวังได้ ดังนั้นจึงมีการเติมแกมมาอะมิโนบิวทิริกแอซิดลงใน ผลิตภัณฑ์อาหารชนิดต่าง ๆ เพื่อให้ผู้บริโภคได้รับในปริมาณที่เพียงพอ (กาญจนา, 2555) ซึ่งในปัจจุบันมีการนำเอาแกมมาอะมิโนบิวทิริกแอซิดมาเติมลงในอาหารเพื่อคุณค่า มูลค่าให้แก่อาหาร มีรายงานวิจัยหลายฉบับที่ใช้แบคทีเรียแลกติกที่สามารถผลิตกาบาได้เป็นเชื้อตั้งต้นในการผลิต โดยแบคทีเรียแลกติกที่สามารถผลิตแกมมาอะมิโนบิวทิริกแอซิดจากโมโนโซเดียมกลูตาเมต ได้แก่ *Lactobacillus plantarum, L. Brevis* และ *L. lactis* ด้วยภูมิศาสตร์ของจังหวัดนครศรีธรรมราชเป็นจังหวัดที่อยู่ติดกับทะเลมีภูมิปัญญาท้องถิ่นในการถนอมอาหารจากทะเล โดยนำกุ้งมาผลิตเป็นกุ้งส้มโดยเฉพาะพื้นที่เขาพระบาท อำเภอเชียรกุ้งใหญ่ มีการจำหน่ายกุ้งส้มเป็นอาชีพของคนในท้องถิ่น

ดังนั้นทางผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะคัดแยกแบคทีเรียแลกติกที่สามารถผลิตแกมมาอะมิโนบิวทิริกแอซิดจากตัวอย่างกุ้งส้มที่จำหน่ายใน ตำบลเขาพระบาท อำเภอเชียรใหญ่ จังหวัดนครศรีธรรมราช

วิธีดำเนินการวิจัย

1.การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างกุ้งส้มจากจุดจำหน่ายกุ้งส้มบริเวณเขาพระบาท อำเภอเชียรใหญ่ จังหวัดนครศรีธรรมราช

2. การคัดแยกแบคทีเรียแลกติก

นำตัวอย่างกุ้งส้ม 20 g มาผสมกับ 180 ml ของ 0.85% NaCl ปั่นเป็นเนื้อเดียวกันด้วย Stomacher Lab-Blender ทำการเจือจางลำดับส่วน (10^{-1}–10^{-6}) นำมา pour-plated บนอาหาร De Man, Rogosa and Sharpe (MRS agar ที่เติม 1% แคลเซียมคาร์บอเนต และ 1.5% โซเดียมคลอไรด์) บ่มที่อุณหภูมิ 35°C เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง เลือกโคโลนีเดี่ยวๆที่มีลักษณะเป็นกระสวยฝังในเนื้อวุ้น มาตรวจสอบคุณสมบัติเบื้องต้นโดยทดสอบการติดสีแกรม และทดสอบการผลิตเอนไซม์คะตะเลสได้ หลังจากนั้นเก็บเชื้อใน 20% กลีเซอรอล เก็บที่อุณหภูมิ -20°C ไว้เป็น stock

3. การทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียโดยวิธี agar well diffusion method

ทดสอบฤทธิ์ต้านแบคทีเรียก่อโรคโดยใช้แบคทีเรียในกลุ่ม enteric pathogen ได้แก่ *Escherichia coli, Bacillus cereus, Salmonella enteric* และ *Staphylococcus aureus* โดยทำการเพาะเชื้อแบคทีเรียแลกติกในอาหารเหลว MRS ที่เติม 1.5% NaCl บ่มที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง ที่ 10,000 g เป็นเวลา 10 นาที ที่ 4°C นำส่วนใสด้านบนไปกรองด้วย membrane filter (0.22mm) ปรับ pH ของน้ำเลี้ยงเชื้อให้เป็นกลางหลังจากนั้นนำน้ำเลี้ยงเซลล์ไปหยดลงในหลุมของอาหาร TSA ที่ทำการเกลี่ยเชื้อแบคทีเรียทดสอบ (10^6 CFU/ml) ไว้ก่อนแล้ว นำไปบ่มที่ 37°C 24 ชั่วโมง วัดผลโดยการวัด inhibition zone

4. การทดสอบความปลอดภัยของแบคทีเรียแลกติก

4.1 ทดสอบการย่อยสลายเม็ดเลือดแดง (Hemolytic activity)

นำแบคทีเรียแลกติกที่แยกได้ streak ลงบนจานอาหาร Columbia agar ที่ผสม 5% human blood บ่มที่อุณหภูมิ 37°C 48 ชั่วโมง สังเกตปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นบนอาหารว่ามีการแตกสลายของเม็ดเลือดแดงหรือไม่ หากมีการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงแบบสมบูรณ์ (Beta-hemolysis) เกิดวงใสสีเหลืองรอบโคโลนี (Alpha-hemolysis) เกิดวงใสเขียวรอบโคโลนี (Gramma-hemolysis) โคโลนีของเชื้อไม่เปลี่ยนแปลง