



การผลิตโพรไบโอติกส์จากเปลือกกระเทียมจีนหมักด้วยโพรไบโอติกส์แลคโตบาซิลลัส
เพื่อใช้ประโยชน์ด้านการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในอาหาร

Production of Postbiotics from Fermented Chinese Garlic Peels with
Lactobacillus Probiotics for Antimicrobial Application in Foods

ดวงฤทัย นิคมรัฐ
ภัทริกา สูงสมบัติ
นิภาพร ปัญญา

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณรายได้ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ 2567
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร



การผลิตโพรไบโอติกส์จากเปลือกกระเทียมจีนหมักด้วยโพรไบโอติกส์แลคโตบาซิลลัส
เพื่อใช้ประโยชน์ด้านการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในอาหาร

Production of Postbiotics from Fermented Chinese Garlic Peels with
Lactobacillus Probiotics for Antimicrobial Application in Foods

ดวงฤทัย นิคมรัฐ
ภัทริกา สูงสมบัติ
นิภาพร ปัญญา

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณรายได้ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ 2567
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร

หัวข้อวิจัย การผลิตโพรไบโอติกส์จากเปลือกกระเทียมจีนหมักด้วยโพรไบโอติกส์แลคโตบาซิลลัส เพื่อใช้ประโยชน์ด้านการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในอาหาร

ชื่อผู้วิจัย ดวงฤทัย นิคมรัฐ ภัทริกา สูงสมบัติ และ นิภาพร ปัญญา

หน่วยงาน คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร

ปีงบประมาณ 2567

บทคัดย่อ

โพรไบโอติกส์ (Postbiotics) ซึ่งเป็นผลผลิตจากการหมักจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์มากมาย ช่วยเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกัน และสามารถนำไปใช้ในการควบคุมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเน่าเสียในผักและผลไม้ระหว่างการเก็บเกี่ยวและขนส่งได้ งานวิจัยนี้มุ่งเน้นพัฒนานวัตกรรมของผลิตภัณฑ์สารชีวภาพเพื่อช่วยลดปัญหาการเน่าเสียของผักและผลไม้ จากการใช้สารละลายคอมบูซาซาร์สกัดเปลือกกระเทียมเพื่อยืดอายุมะเขือเทศ ซึ่งส่วนใหญ่ประสบปัญหาเน่าและเสื่อมสภาพในช่วงการเก็บรักษาและขนส่ง จากการศึกษพบว่า ผลิตภัณฑ์คอมบูซาซาร์สกัดเปลือกกระเทียมสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคทั่วไปและยับยั้งเชื้อก่อโรคในมะเขือเทศชนิด *Pseudomonas* sp. และ *E. coli* มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคเพราะมีความเป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดแดงหนูดำ (ความเข้มข้นต่ำกว่า 200 มก./มล.) พบว่าไม่เปลี่ยนแปลงขนาดและรูปร่างของเซลล์เม็ดเลือดแดง มีคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระสูงด้วยค่าปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (TFC) และฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) สูงกว่าคอมบูซาซาร์ธรรมชาติอย่างมีนัยสำคัญ (TPC สูงถึง 90.55 ± 10.1 มก. GAE/100 มล. และ TFC 55.97 ± 8.5 มก. RE/100 มล ตามลำดับ) และสามารถยืดอายุการเก็บรักษามะเขือเทศเมื่อฉีดพ่นสารละลายคอมบูซาซาร์สกัดเปลือกกระเทียมบนผิวมะเขือเทศ ทั้งนี้การฉีดพ่นตัวอย่างสารละลายคอมบูซาซาร์สกัดเปลือกกระเทียมสามารถช่วยลดการสูญเสียน้ำหนักและชะลอกระบวนการสุกได้อย่างมีนัยสำคัญ สามารถในการคงคุณภาพของมะเขือเทศได้ดี เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ด้วยการลดความเป็นกรด (TA) และทำให้การเพิ่มปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) เมื่อมีการสุกช้า จากผลการศึกษาดังกล่าวชี้ให้เห็นว่า นวัตกรรมผลิตภัณฑ์คอมบูซาซาร์สกัดเปลือกกระเทียมสามารถนำไปพัฒนาต่อเพื่อใช้ยืดอายุผลไม้ประเภทอื่น ๆ ได้ในอนาคต และเป็นทางเลือกที่เป็นมิตรต่อผู้บริโภคและต่อสิ่งแวดล้อมได้อย่างยั่งยืน

คำสำคัญ : คอมบูซาซาร์ สกัดเปลือกกระเทียม การยืดอายุ การต้านอนุมูลอิสระ มิตรต่อสิ่งแวดล้อม

Title Production of Postbiotics from Fermented Chinese Garlic Peels with *Lactobacillus* Probiotics for Antimicrobial Application in Foods

Name Duongruitai Nicomrat, Patarika Soongsombat, Nipaporn Panya

Institute Faculty of Science and Technology, RMUTP

Year 2024

ABSTRACT

Postbiotics are beneficial byproducts from microbial fermentation that enhance the immune system and can be utilized to control the growth of spoilage microorganisms in fruits and vegetables during harvesting and transport. This research focuses on developing an innovative bioproduct to mitigate spoilage issues in fruits and vegetables using kombucha fermented with garlic peel extract to extend the shelf life of tomatoes, which often face spoilage and degradation during storage and transport. The study found that kombucha fermented with garlic peel extract can inhibit common pathogenic microorganisms and spoilage pathogens in tomatoes, specifically *Pseudomonas* sp. and *E. coli*. It is safe for consumers due to its low toxicity to pig red blood cells (at concentrations below 200 mg/mL), showing no changes in the size and shape of red blood cells. The product exhibits high antioxidant properties, with total flavonoid content (TFC) and total phenolic content (TPC) significantly higher than those of regular kombucha, with TPC reaching 90.55 ± 10.1 mg GAE/100 mL and TFC at 55.97 ± 8.5 mg RE/100 mL. Spraying a solution of kombucha fermented with garlic peel extract on the surface of tomatoes effectively extends their shelf life by significantly reducing weight loss and slowing down the ripening process, thereby maintaining the quality of the tomatoes when compared to the control group. This is indicated by a decrease in acidity (TA) and a slower increase in total soluble solids (TSS) during ripening. The findings suggest that the innovative product of kombucha fermented with garlic peel extract has potential for further development to extend the shelf life of other types of fruits in the future, providing a sustainable and consumer-friendly alternative that is also environmentally friendly.

Keywords: Kombucha, Garlic peel extract, Extend shelf life, Antioxidation, Environmentally friendly

กิตติกรรมประกาศ

ในการทำวิจัยเรื่องนี้ ทีมคณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำหรับทุนจากงบประมาณรายได้จากคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ที่ได้สนับสนุนงานวิจัยนี้ ให้สามารถทำลุล่วงไปได้จนสำเร็จ และขอขอบคุณนักศึกษาคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สาขาวิทยาการสิ่งแวดล้อมและการจัดการทรัพยากรธรรมชาติ ที่ได้ช่วยในขั้นตอนการเตรียมสารเคมี และการลงเชื้อ ติดตามงาน เก็บ ส่ง ตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ และการเก็บผลเพื่อการวิเคราะห์



สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญภาพ.....	ช
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1. ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย.....	1
1.2. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย.....	3
1.3. ขอบเขตของโครงการวิจัย.....	3
1.4. สมมติฐานของโครงการวิจัยนี้.....	4
1.5. ระยะทำการวิจัย.....	4
1.6. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	5
1.7. แผนการถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย.....	5
บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	6
2.1. กระเทียมและเปลือกกระเทียม.....	6
2.2. เชื้อจุลินทรีย์กลุ่มสร้างกรด.....	7
2.3. โปรไบโอติกส์ โพรไบโอติกส์ และโพสไบโอติกส์.....	10
2.4. คอมบูชา.....	13
2.5. การยืดอายุผักและผลไม้.....	15
2.6. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	16
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	20
3.1. การเตรียมสารสกัดจากเปลือกกระเทียม.....	20
3.2. การหมักคอมบูชาด้วยสารสกัดเปลือกกระเทียม.....	21
3.3. การวัดปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด	21
3.4. การวัดปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด	22
3.5. การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของน้ำคอมบูชาด้วยวิธี Agar diffusion method.....	22
3.6. การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์.....	22
3.7. ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ.....	23

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.8. การยืดอายุการเน่าเสียของมะเขือเทศ.....	23
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล.....	25
4.1. การคัดเลือกและพัฒนาเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มโพรไบโอติกส์ให้มีประสิทธิภาพ.....	25
4.2. การศึกษาพัฒนากระบวนการหมักเปลือกกระเทียมด้วยเชื้อโพรไบโอติกส์.....	29
4.3. การศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพด้านการยับยั้งจุลินทรีย์และการป้องกันการเน่าเสียในอาหาร.....	32
บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ.....	38
บรรณานุกรม.....	40



สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 4.1 : คุณสมบัติด้านอนุโมลีสระของคอมพิวเตอร์สกริปต์เปลี่ยนกระเทียม.....	31
ตารางที่ 4.2 : คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของคอมพิวเตอร์สกริปต์เปลี่ยนกระเทียม.....	33



สารบัญภาพ

	หน้า
ภาพที่ 4.1 : ตัวอย่างของเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม Bacilli จากกิมจิ (strain 1, KM-43).....	26
ภาพที่ 4.2 : ตัวอย่างของเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม Bifidobacteria จากแหล่งอาหารเสริม Probiotics (strain 3, Gt-37).....	27
ภาพที่ 4.3 : ตัวอย่างของเชื้อแบคทีเรีย (strain 3) (ก) และยีสต์ (ข) จากข้าวหมาก (RF-18).....	27
ภาพที่ 4.4 : การเจริญเติบโตของ Probiotic 3 สายพันธุ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่มีและไม่มีกลูโคส.....	28
ภาพที่ 4.5 : สภาวะของการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียสร้างกรดบรืสุทธ์.....	28
ภาพที่ 4.6 : ค่ามาตรฐานของความเข้มข้น Gallic acid เพื่อใช้ในการศึกษา Phenolic compound.....	30
ภาพที่ 4.7 : ค่ามาตรฐานของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจาก ascorbic acid	30
ภาพที่ 4.8 : ความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคของคอมบูชาหมักสารสกัดเปลือกกระเทียม.....	33
ภาพที่ 4.9 : ความเป็นพิษของคอมบูชาต่อเม็ดเลือดแดง.....	34
ภาพที่ 4.10 : ความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเน่า.....	35
ภาพที่ 4.11 : ลักษณะทางกายภาพของมะเชื้อเทศผ่านการ treatment ด้วยคอมบูชาหมักสารสกัดเปลือกกระเทียม.....	36



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ในปัจจุบัน ตลาดมีแนวโน้มในการใช้โพรไบโอติกส์ (probiotics) ในอาหารเพื่อสุขภาพเติบโตสูงขึ้น อาหารที่มีโพรไบโอติกส์เป็นส่วนแบ่งส่วนใหญ่ของตลาดอาหารฟังก์ชันทั้งหมด และมีแนวโน้มเติบโตสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง เนื่องจากเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคผู้สนใจในการดูแลสุขภาพและต้องการเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายสูงขึ้น โพรไบโอติกส์พบในผลิตภัณฑ์อาหารและผลิตภัณฑ์อาหารเสริม เช่น ผลิตภัณฑ์นม โยเกิร์ต และคีเฟอร์ โพรไบโอติกส์เป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีชีวิต และประโยชน์ของโพรไบโอติกส์จะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์แบคทีเรียที่ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียกรดแลคติก (LAB) ชนิด *Lactobacilli* เช่น *Lactobacillus* spp. และ *Bifidobacterium bifidum* การได้รับจุลินทรีย์ดังกล่าวในปริมาณที่เหมาะสม จะทำให้มีประโยชน์ต่อสุขภาพในทางเดินอาหาร (GIT) ช่วยลดโอกาสเกี่ยวข้องกับโรคลำไส้อักเสบ จนถึงปัจจุบันมีงานวิจัยมากมายเกี่ยวกับการประยุกต์ใช้โพรไบโอติกส์และพัฒนาหาจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ที่มีสายพันธุ์ที่เป็นประโยชน์และสามารถสร้างผลดีต่อระบบทางเดินอาหารและระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ความเข้าใจเกี่ยวกับความสัมพันธ์ที่เป็นประโยชน์ของ LAB กับเจ้าบ้านมนุษย์ การพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องกับโพรไบโอติกส์ (probiotics) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพผลดีต่อสุขภาพของผู้บริโภค การส่งเสริมให้โพรไบโอติกส์มีศักยภาพสูงในการดูแลรักษาความสมดุลการทำงานในระบบทางเดินอาหาร การศึกษาการเจริญเติบโตและการอยู่รอดของโพรไบโอติกส์ในระบบทางเดินอาหาร การศึกษากิจกรรมการทำงาน กลไกการเกาะอยู่เฉพาะของโพรไบโอติกส์ในส่วนของพื้นผิวของลำไส้ การส่งเสริมปัจจัยที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต การอยู่รอดของโพรไบโอติกส์ ความเป็นกรด-ด่าง รวมถึงการพัฒนาสูตรพรีไบโอติกส์เพื่อเสริมสารอาหารที่จำเป็นต่อประชากรกลุ่มจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์ ยังพบว่างานวิจัยด้านการพัฒนานำผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกส์ในรูปของนมหมักคีเฟอร์ และโยเกิร์ตมาเพื่อการปรับตัวของลำไส้ โดยสายพันธุ์โพรไบโอติกส์จากสิ่งมีชีวิตที่รอดจากการผ่านลำไส้และส่งผลบวกในทางเดินอาหารมาจากตัวจุลินทรีย์เอง งานวิจัยด้านการใช้โพรไบโอติกส์ในอาหารเพื่อสุขภาพที่เพิ่มมากขึ้น ส่วนใหญ่เป็นด้านการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารหมักหลากหลายมากขึ้น เช่น เนื้อสัตว์ น้ำ ผัก และผลไม้ที่เสริมโพรไบโอติกส์ นอกจากนี้ยังมีการพัฒนาเพิ่มโพรไบโอติกส์ในรูปแบบเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการเป็นอาหารเสริม เช่น แคปซูลโพรไบโอติกส์ และพัฒนาจากอาหารหมักที่เสริมแบคทีเรียที่มีประโยชน์แล้วทำการสกัดเป็นผลิตภัณฑ์แปรรูป รวมถึงพัฒนาในรูปของยาและผลิตภัณฑ์ทางเภสัชกรรม เช่น แคปซูลหรือในสูตรที่ห่อหุ้มด้วยไมโครแคปซูล โพรไบโอติกส์ที่ได้มาจากกระบวนการย่อยสลายพรีไบโอติกส์ด้วยจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์ที่เกิดขึ้นในอาหารมีประโยชน์หลัก โดยเฉพาะอาหารที่มีการหมักหรือการใช้จุลินทรีย์เชื้อสาเหตุการหมักในกระบวนการผลิตด้านการป้องกันการเน่าเสียในอาหาร ด้วยโพรไบโอติกส์สามารถช่วยควบคุมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เป็นสาเหตุการเน่าเสียในอาหาร ในบางชนิดของโพรไบโอติกส์ที่ได้จะทำให้อาหารมีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนานขึ้น สามารถทดแทนการใช้สารกันบูดในอาหารได้ โดยให้ความคงทน และความปลอดภัยในระยะเวลานานขึ้น ทั้งยังช่วยรสชาติอาหาร ช่วยเพิ่มรสชาติและกลิ่นของอาหาร เช่น กรดอินทรีย์ ที่ให้ความหวานที่ไม่สูงมากเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำตาล และกรดแลคติกที่สามารถเพิ่มความหวานและความกรุบกรอบใน

อาหารได้ ช่วยบำรุงสุขภาพ การบริโภคอาหารที่มีโพลีไบโอติกส์สามารถส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย ช่วยป้องกันการเกิดอาการอักเสบและโรคเรื้อรัง และสร้างสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมสำหรับจุลินทรีย์ดีในลำไส้ ดังนั้นโพลีไบโอติกส์ที่พบส่วนใหญ่เป็นกรดแลคติก (Lactic acid) จากกระบวนการหมักด้วยเชื้อโพรไบโอติกส์ และยังได้กรดอินทรีย์ โพลีเปปไทด์ และโพลีแซคคาไรด์ ด้วยคุณสมบัติของโพลีไบโอติกส์ด้านชีวภาพของการยับยั้งจุลินทรีย์และป้องกันการเน่าเสียในอาหาร จึงเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจนำไปพัฒนาเพื่อใช้เป็นสารทดแทนการใช้สารกันบูดในอาหาร เพื่อช่วยยืดความคงทนและความปลอดภัยของอาหารในระยะเวลาอันยาวนานขึ้น สามารถพัฒนาต่อยอดทางอุตสาหกรรมด้านอาหารที่ต้องการการปรับปรุงคุณภาพและความปลอดภัย

สารสำคัญในคอมบูชาที่เป็นไบโอฟิล์ม (Scopy) มีลักษณะลอยตัว และมีรสเปรี้ยว ประกอบด้วยกรด อะซิติก กรดกลูโคนิก และเอทานอล สารเคมีในคอมบูชาที่เปลี่ยนจากน้ำตาลและชาให้ฟองเล็กน้อย รสเปรี้ยวอ่อน และหวานเล็กน้อยภายใน 7-10 วัน ผลิตภัณฑ์สุดท้ายจะมีความกรดอ่อน ไม่หวาน และเกิดวิตามิน เอนไซม์ไฮโดรไลติก และกรดอะมิโนต่าง ๆ (Hardinsyah et al., 2023) ลักษณะของคอมบูชาสามารถระบุกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์พวกแบคทีเรียกรดอะซิติก (AAB) แบคทีเรียกรดแลคติก (LAB) และยีสต์ (Morales, 2020) ในงานวิจัยพบว่า ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของคอมบูชาชาดำที่เพิ่มขึ้นสามารถทำได้โดยการพัฒนาระบวนการหมักบ่ม (Afati et al., 2020) สารเคมีฟีนอลิกที่ซับซ้อนในคอมบูชาจะสามารถสลายหรือเปลี่ยนเป็นโมเลกุลชีวภาพขนาดเล็กได้โดยการหมักในสภาวะที่เป็นกรด หรือเอนไซม์จากแบคทีเรียและยีสต์ (Su et al., 2023) Ivanišová et al. (2020) พบว่า ในกระบวนการหมักสามารถสลายสารประกอบฟีนอลิกที่ซับซ้อนให้เป็นโมเลกุลเล็กลง ทำให้ ฟีนอลทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ในคอมบูชามีความเข้มข้นสูงขึ้น Yuliana และคณะ (2023) รายงานว่าการหมักคอมบูชาผสมน้ำผึ้งโกโก้ให้ผลผลิตสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในปริมาณมาก ซึ่งได้จากปัจจัยของแหล่งคาร์บอน ระดับน้ำตาล และจำนวนประชากรจุลินทรีย์ทั้งหมด ส่งผลให้เกิดไบโอฟิล์ม คอมบูชาน้ำผึ้งช็อกโกแลตปริมาณมากและมีปริมาณฟีนอลทั้งหมดสูงกว่าคอมบูชาชาดำและคอมบูชาชาเขียวจากทีมวิจัย Cardoso และคณะ (2020) นอกจากนี้ ปริมาณฟลาโวนอยด์ของตัวอย่างคอมบูชาน้ำผึ้งโกโก้อยู่ที่ประมาณ 1.15 ถึง 1.17 มก. มล.-1 ซึ่งใกล้เคียงกับที่รายงานในคอมบูชาหมักชา 7 วัน (Jakubczyk et al., 2020) คอมบูชาสามารถพบว่า เป็นแหล่งของสารประกอบฟีนอล โดยทั่วไปแล้วกระบวนการเกิดคอมบูชาเกี่ยวข้องกับการทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์ เอนไซม์ และความร้อนชื้น เกิดสารประกอบอัลดีไฮด์ กรด คีโตน และสารอื่น ๆ (Villarreal-Soto et al., 2020) ผลพลอยได้หลักจากการหมักชาคอมบูชา ประกอบด้วย เอทานอล กรดกลูโคนิก และกรดอะซิติก (Suffys et al., 2023) และมีการสังเคราะห์สารประกอบระเหยและมีกลิ่นหอมที่แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับความแตกต่างของอุณหภูมิการหมักและส่วนประกอบของชา

กระเทียมจัดเป็นสมุนไพรไทย ที่มีการใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารไทยมายาวนาน คนส่วนใหญ่จะแยกส่วนเนื้อกระเทียมและทิ้งเปลือกกระเทียมซึ่งเป็นส่วนที่ห่อหุ้มเมล็ดกระเทียมภายนอก ส่วนนี้มีสีขาวและสีแดงอมน้ำตาลมีกลิ่นหอม จากงานวิจัยพบว่าสารสำคัญในกระเทียม คือ แอลลิซิน (Allicin) ที่มีประโยชน์และ

คุณสมบัติต้านเชื้อราและแบคทีเรีย นอกจากนี้ยังมีสารฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) และมีฤทธิ์ต้านอักเสบ รวมถึงสารไซโตสเทอรอล (Sulfur compounds) ซึ่งเป็นสารที่ช่วยให้กระเทียมมีกลิ่นและรสเปรี้ยว เมื่อกระเทียมถูกย่อยสลายจะทำให้ได้ไฮโดรไลซ์เป็นกลูโคสและฟรุกโตส จากนั้นจะถูกใช้ต่อโดยจุลินทรีย์ ทำให้ได้เอทานอลและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Morales, 2020) จุลินทรีย์ในคอมบูชาประกอบด้วยหลายกลุ่มที่มีความสัมพันธ์แบบซิมไบโอซิส ซึ่งส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียกรดแอซิติก (AAB) แบคทีเรียกรดแลคติก (LAB) และยีสต์ (Morales, 2020) กลุ่มจุลินทรีย์เหล่านี้มีความสัมพันธ์แบบพึ่งพากันในการสร้างเมตาบอไลต์ในระหว่างการหมักและสามารถเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระในระบบอาหารที่หลากหลาย (Khubber et al., 2022) ยีสต์ที่พบในคอมบูชาได้แก่ *Candida*, *Saccharomyces* และ *Pichia* ขณะที่แบคทีเรียส่วนใหญ่เป็นสมาชิกของตระกูล *Acetobacteraceae* ซึ่งรวมถึงแบคทีเรียสร้างกรดแอซิติก เช่น *Acetobacter xylinum*, *A. aceti*, *A. xylinoides*, *Bacterium gluconicum*, *A. pasteurianus* และอื่นๆ

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นการพัฒนาการผลิตโพลีไบโอติกส์จากการหมักกระเทียมและเปลือกกระเทียมด้วยเชื้อโพรไบโอติกส์กลุ่มสร้างกรดแลคติก โดยขั้นแรกคือการคัดเลือกและเตรียมเชื้อโพรไบโอติกส์ที่มีคุณสมบัติในการสร้างโพลีไบโอติกส์ที่มีประสิทธิภาพสูง ซึ่งประกอบด้วยกรดอินทรีย์ พอลิฟีนอล และเอนไซม์ จากนั้นจะทดสอบคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค และการป้องกันการเน่าเสียในอาหาร เพื่อลดการใช้สารกันบูดและเพิ่มอายุการเก็บรักษาอาหาร กระบวนการผลิตโพลีไบโอติกส์นี้จะได้รับการปรับปรุงเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพและคุณภาพสูงสุดในการยับยั้งจุลินทรีย์ พร้อมทั้งทำการศึกษาคุณสมบัติด้านความเป็นพิษต่อเซลล์ยูคาริโอต เพื่อให้แน่ใจว่าสารโพลีไบโอติกส์ที่ได้มีความปลอดภัยต่อการบริโภค และสามารถนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารได้โดยไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค งานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นการประยุกต์ใช้โพลีไบโอติกส์ที่มาจากหมักของเหลือทิ้งจากเปลือกกระเทียม เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับของเหลือทิ้ง และเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการในอาหาร

1.2. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาคัดเลือกและพัฒนาเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มโพรไบโอติกส์ให้มีประสิทธิภาพในการผลิตสารโพลีไบโอติกส์ และสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค เพื่อใช้ในกระบวนการหมักเปลือกกระเทียม

1.2.2 เพื่อศึกษาพัฒนากระบวนการหมักเปลือกกระเทียมด้วยเชื้อโพรไบโอติกส์ให้ได้สารโพลีไบโอติกส์ที่มีประสิทธิภาพ

1.2.3 เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพด้านการยับยั้งจุลินทรีย์และการป้องกันการเน่าเสียในอาหารของสารโพลีไบโอติกส์ที่ได้จากกระบวนการหมักกระเทียมด้วยเชื้อโพรไบโอติกส์

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

1.3.1 วัตถุดิบและอุปกรณ์

เชื้อจุลินทรีย์: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus* sp., *E. coli*, *Pseudomonas* sp., *Saccharomyces cerevisiae*, *Bacillus* sp., และ *Lactobacilli* ได้จากการคัดเชื้อในห้องปฏิบัติการ

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.6.1 ได้ผลิตภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพ เพราะโพลีโอดีคส์จากการหมักเปลือกกระเทียมจีน สามารถช่วยต้านการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุของการเน่าเสียหรือปนเปื้อนในอาหาร ซึ่งเป็นทางเลือกใหม่ในการรักษาความสะอาดและยืดอายุการเก็บรักษาของอาหาร

1.6.2 เป็นแนวทางการใช้วัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตรให้เกิดประโยชน์ เนื่องจากเปลือกกระเทียมจีนซึ่งเป็นของเสียทางการเกษตรที่ไม่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจมากนัก สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตโพลีโอดีคส์ ทำให้เกิดการใช้ทรัพยากรอย่างคุ้มค่าและลดขยะทางการเกษตร

1.6.3 เป็นการส่งเสริมการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกส์เพื่อสุขภาพ ด้วยเชื้อโพรไบโอติกส์กลุ่มแลคโตบาซิลลัสเป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ โดยเฉพาะในเรื่องการย่อยอาหารและการสร้างสมดุลในระบบทางเดินอาหาร การนำโพรไบโอติกส์มาใช้ในการกระบวนการหมักเพื่อผลิตโพลีโอดีคส์ยังช่วยเสริมสร้างสุขภาพและเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้กับผลิตภัณฑ์

1.6.4 เป็นแนวทางการใช้ประโยชน์ที่เป็นมิตรต่อผู้บริโภคและต่อสิ่งแวดล้อม ด้วยการลดการใช้สารเคมีในกระบวนการผลิตอาหาร โพลีโอดีคส์ที่ได้จากการหมักสามารถนำมาใช้เป็นสารต้านจุลินทรีย์ตามธรรมชาติ จะเป็นแนวทางการช่วยลดความจำเป็นในการใช้สารเคมีหรือสารกันบูดที่อาจมีผลข้างเคียงต่อผู้บริโภค ทำให้อาหารปลอดภัยและเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมากขึ้น

1.7 แผนการถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย

ผลงานที่คาดว่าจะได้รับ	รายละเอียดของผลผลิต	จำนวนนำส่ง/หน่วยนับ	ปีที่นำส่งผลผลิต	ผลลัพธ์ที่คาดว่าจะได้รับ	ผลกระทบที่คาดว่าจะได้รับ
2. ต้นฉบับบทความวิจัย (Manuscript) - 2.1 Proceeding ระดับชาติ	โพรไบโอติกส์กลุ่มจุลินทรีย์สร้างกรดแลคติกที่ได้จากการหมักเปลือกกระเทียมด้วย	1 เรื่อง	2568	ผลงานวิจัยได้รับการตีพิมพ์ใน Proceedings ระดับชาติ	ทำให้เกิดเผยแพร่ผลงานให้เกิดประโยชน์ต่อสาธารณะ ทราบถึงแนวทางที่คุ้มค่าและประโยชน์
4. ต้นแบบผลิตภัณฑ์หรือเทคโนโลยี/กระบวนการใหม่ หรือนวัตกรรมทางสังคม – ต้นแบบผลิตภัณฑ์ระดับปฏิบัติการ	กระบวนการหมักเปลือกกระเทียมด้วยโพรไบโอติกส์	1 เรื่อง	2568	ต้นแบบกระบวนการหมักเปลือกกระเทียมด้วยโพรไบโอติกส์ ซึ่งจัดแนวทางหนึ่งส่งเสริมด้าน Functional Ingredients, Functional Food, Novel Food ให้เกิดมูลค่าทางเศรษฐกิจสูง และไทยเป็นศูนย์กลางการผลิตและส่งออกชั้นนำของโลก	ก่อให้เกิดเป็นผลิตภัณฑ์ด้าน Functional Ingredients, Functional Food, Novel Food ที่มีประเทศไทยเป็นศูนย์กลางการผลิตและส่งออกชั้นนำของโลก ที่มีมูลค่าทางเศรษฐกิจสูง

บทที่ 2

เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การศึกษาวิจัยพัฒนาเรื่อง การผลิตโพลีโอดิกส์จากเปลือกกระเทียมจีนหมักด้วยโพรไบโอติกส์แลคโตบาซิลลัส เพื่อใช้ประโยชน์ด้านการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในอาหาร ทีมผู้วิจัยได้ศึกษาค้นคว้าเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง โดยกำหนดหัวข้อดังนี้

- 2.1 กระเทียมและเปลือกกระเทียม
- 2.2 เชื้อจุลินทรีย์กลุ่มสร้างกรด
- 2.3 โพรไบโอติกส์ โพรไบโอติกส์ และโพลีโอดิกส์
- 2.4 คอมบูชา
- 2.5 การยืดอายุผักและผลไม้
- 2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 กระเทียมและเปลือกกระเทียม

กระเทียมและเปลือกกระเทียม

กระเทียม (*Allium sativum*) มีความสำคัญเป็นส่วนประกอบอาหารที่รู้จักกันมายาวนานหลายศตวรรษ และมีคุณสมบัติในการป้องกันและรักษาโรค จึงถูกใช้ในทางการแพทย์ในหลายวัฒนธรรม กระเทียมถูกใช้เป็นเครื่องเทศ เครื่องปรุงรส และการรักษาคุณสมบัติหลักของกระเทียมมาจากสารประกอบออร์แกนอสัลเฟอร์ โดยทั่วไปแล้ว กระเทียมจะถูกบริโภคในรูปแบบดิบหรือแบบแปรรูป เช่น กระเทียมแห้ง ต้ม นึ่ง หรือเป็นผงกระเทียม เม็ดหรือแคปซูลหมัก ผลิตภัณฑ์จากกระเทียมมีหลายวิธีในการเตรียม โดยเฉพาะอย่างยิ่งการหมักกระเทียมในน้ำหรือสารละลายเกลือ ซึ่งเรียกว่า AGE และเก็บไว้นานกว่า 10 เดือน กระเทียมยังนิยมใช้เป็นส่วนผสมในอาหารพวกผัก ผลไม้ เนื้อสัตว์ดอง โดยมีส่วนในน้ำส้มสายชูหมัก ซึ่งมักเรียกว่า "กระเทียมอายุ 7 ปี" ในประเทศอิหร่าน โดยการแช่กระเทียมในไวน์แดงหรือน้ำส้มสายชูของุ่นและเก็บไว้นานหลายปี การหมักกระเทียมในน้ำส้มสายชูจะเปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาล และเมื่อมีการหมักนานขึ้น สีน้ำตาลจะเข้มขึ้น กระเทียมที่หมักแล้วจะมีกลิ่นสดชื่น ผลกระทบที่อาจเกิดขึ้นจากการบริโภคกระเทียมและคอมบูชา ได้แก่ การลดน้ำหนัก การป้องกันมะเร็ง และการรักษาโรคเอดส์ ทำให้ความสนใจในคอมบูชาเพิ่มขึ้น โดยการบริโภค คอมบูชาเป็นประจำสามารถช่วยยืดอายุการใช้งานของผลิตภัณฑ์ได้

เปลือกกระเทียมเป็นส่วนที่ห่อหุ้มเมล็ดกระเทียมภายนอก มีสีขาและออกกลิ่นหอม สารสำคัญที่พบในเปลือก กระเทียมได้แก่ แอลลิอิน (Allicin): เป็นสารสำคัญที่ถูกสร้างขึ้นเมื่อเปลือกกระเทียมถูกทำลาย แอลลิอินมีคุณสมบัติต้าน เชื้อราและแบคทีเรีย และมีส่วนช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ สารฟลาโวนอยด์

(Flavonoids): เป็น กลุ่มของสารชนิดหนึ่งที่พบในเปลือกกระเทียม ฟลาโวนอยด์มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) และมีฤทธิ์ต้าน อักเสบ สารไซโตสเทอรอล (Sulfur compounds): เป็นสารที่ช่วยให้กระเทียม มีกลิ่นและรสเปรี้ยว สารไซโตสเทอรอลมี ส่วนช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งบางชนิด

สารสำคัญจากการหมักกระเทียมและเปลือกกระเทียม

การหมักกระเทียมและเปลือกกระเทียมด้วย *Lactobacilli* เพื่อผลิตโอสไบโอติกส์ ในสถานะที่มี ีกระบวนการหมักที่ควบคุมได้อย่างเหมาะสม มีสารโอสไบโอติกส์ที่มาจากการทำงานของเชื้อกลุ่ม *Lactobacilli* คือ

1. กรดอินทรีย์ (Organic acids): เช่น กรดแลคติก (lactic acid) และกรดอื่น ๆ สารเหล่านี้มีคุณสมบัติทางกรดช่วยป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อโรคและกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย
2. โพลีฟีนอล (Polyphenols): สารนี้พบในพืช มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและช่วยลดการอักเสบ ส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกัน
3. เอนไซม์ (Enzymes): เช่น เอนไซม์ไลเปส (lipase) และเอนไซม์อะไมเลส (amylase) ที่ช่วยในกระบวนการย่อยอาหาร

2.2 เชื้อจุลินทรีย์กลุ่มสร้างกรด

แบคทีเรียสร้างกรดแลคติก

แบคทีเรียสร้างกรดแลคติก (Lactic acid bacteria หรือ LAB) มีลักษณะเป็นจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลคติกใน กระบวนการหมักอาหารถูกนิยมนำมาใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์ที่ใช้ธัญพืชเป็นวัตถุดิบ การหมักกรดแลคติก มีประโยชน์ ด้วยมี คุณภาพของผลิตภัณฑ์ เช่น รสชาติ เก็บรักษาคุณสมบัติ ความปลอดภัย และภาพรวมของ ผลิตภัณฑ์ การหมักกรดแลคติกที่เกิดขึ้นและถูกใช้ในการเตรียมอาหารเบสิกในหลายๆ อาหารหลักของชาวเขตร้อน การนำ LAB ไปใช้มีหลายวิธี โดยทั่วไป LAB มีบทบาทสำคัญในการผลิตผลิตภัณฑ์ที่ใช้ข้าวฟ่าง การหมักกรดแลคติกมีผลต่อเทคโนโลยีการผลิตและ คุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ได้ เช่น ส่งมอบรสชาติที่ดี ช่วยเก็บรักษาคุณสมบัติ ปลอดภัย และเสริมภาพรวมของผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ การหมักกรดแลคติกเป็นส่วนสำคัญในการเตรียมอาหารพื้นบ้านหลายชนิด เช่น อาหารพื้นบ้านในเขตร้อน ประโยชน์ของ LAB ในการหมักกรดแลคติกเกี่ยวข้องกับทางเดินอาหารและสุขภาพที่ดี ซึ่งได้รับการยอมรับอย่าง แพร่หลาย การหมักกรดแลคติก น่าจะเป็นกระบวนการที่เกิดขึ้นมาาก่อนที่สุดและได้รับการยอมรับอย่างดีในกลุ่มคนใน ทวีปแอฟริกา และเป็น กระบวนการที่มักจะหาที่บ้านในทวีปแอฟริกา อาหารที่ผ่านกระบวนการหมักกรดแลคติกที่มี ชื่อเสียงและ ได้รับความนิยมคือ มาเฮวู ซึ่งเป็นเมล็ดข้าวโพดที่ผ่านกระบวนการหมักกรดแลคติกแบบบิสสุทธ์ และมีความ นิยมอย่างสูงในภาคใต้ของแอฟริกา ในแอฟริกา มันสาปะหลังเป็นพืชหลักที่ผ่านกระบวนการหมักกรดแลคติก โดยให้ ผลิตภัณฑ์ที่ปลอดภัยหลากหลาย เช่น การ์รี พูฟู และลาฟีนหรือโกคอนเต้กต์ที่เป็นที่นิยมในภาค ตะวันตกของแอฟริกา และคิววุนเดและชิงวาคะในภาคตะวันออกของแอฟริกา

การหมักกรดแลคติกของผักชนิดต่าง ๆ ให้ประโยชน์ที่ดีกว่าการกินแต่ผัก LAB อาจช่วยป้องกันมะเร็งลำไส้ใหญ่โดยการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของจุลินทรีย์ในลำไส้ การผูกและย่อยสลายสารเคมีเป็นตัวก่อให้เกิด การกลายพันธุ์กรรมและการเติบโตของเซลล์ที่เป็นตัวก่อให้เกิดมะเร็งได้ การผลิตสารป้องกันการกลายพันธุ์กรรมและการเป็นเนื้องอกเนื้องอกได้ โดย LAB ช่วยเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันเจ้าบ้าน และกระตุ้นสารป้องกันและยับยั้งเนื้องอกอื่น ๆ กลุ่มหลักของ LAB ที่พบในแตงกวาที่หมักด้วยเกลือคือ *Lactobacillus* และ *Leuconostoc* และ *Pediococcus* LAB ที่ได้จากผลิตภัณฑ์นมมีความสามารถแตกต่างกันไปและได้รับความสนใจในการใช้เป็นโพรไบโอติกส์น้อยมาก การศึกษาคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่ได้จากผักหมักได้มีการนำมาใช้ประโยชน์ ผักที่ผ่านกระบวนการหมักจะมีสารชีวภาพและมีกรดแลคติกที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้ (Bogdan et al., 2018) นอกจากนี้ผลิตภัณฑ์หมักผักยังมีสารชีวภาพและสารประโยชน์ที่หลากหลาย เช่น LAB จากการหมักผักกิมจิเพื่อสุขภาพ ช่วยเสริมการรักษาคุณภาพของอาหาร ทำให้อาหารอายุการเก็บรักษาที่ยาวนานและรสชาติที่ดี ส่วนใหญ่สารชีวภาพที่ได้จากผลิตภัณฑ์ LAB ระหว่างการหมักผักเป็นกรดอินทรีย์ชนิดกรดแลคติก

การนำกระเทียมหมักไปใส่ในคอมบูชา ส่วนใหญ่เป็นกลุ่มจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์ ที่สามารถสร้างกรดโดยมีการอยู่ร่วมกันของแบคทีเรียและยีสต์ในสภาวะกรด โดยมีกรดอะซิติกเป็นหลัก แบคทีเรียที่พบ ได้แก่ *Acetobacter* (*A. xylinum*, *A. xylinoides*), *Gluconobacter* (*B. gluconicum*, *A. aceti* และ *A. pasteurianus*) รวมถึงยีสต์ เช่น *Schizosaccharomyces* (*S. ludwigii*), *Kloeckera* (*K. apiculata*), *Saccharomyces* (*S. cerevisiae*), *Zygosaccharomyces* (*Z. bailii*) และ *Torulaspora* (*T. delbrueckii*) (Liu et al., 2014)

อาหารและเครื่องดื่มหมักที่มีแบคทีเรียสร้างกรดแลคติก

เครื่องดื่มหมักกรดแลคติกที่มีชื่อเสียงที่มาจากนมและนับว่าเป็นเครื่องดื่มที่นิยมทั่วโลกในปัจจุบัน คือ คีเฟอร์ ซึ่งทำจากนมและมีคุณสมบัติที่ดีต่อสุขภาพ เนื่องจากมี LAB ที่ผลิตกรดแลคติกเป็นส่วนประกอบหลัก กระบวนการหมักนมทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสารอาหารที่มีประโยชน์ เช่น วิตามินและกรดอะมิโนที่สำคัญสำหรับร่างกาย และมีสารอาหารอื่นๆมากมาย ที่ช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันและช่วยปรับสภาพของระบบทางเดินอาหาร และรวมถึงส่วนเครื่องดื่มอื่น ๆ ที่มาจากการหมักผัก ผลไม้ ทำให้เกิดกรดแลคติก เช่น คอมบูชาในญี่ปุ่น ข้าวเก่าในเวียดนาม และเบียร์เทรตในเยอรมนี ในกระบวนการหมักกรดแลคติกทำให้เครื่องดื่มเหล่านี้มีรสชาติเปรี้ยวอมหวานและสร้างสารชีวภาพที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย การผลิตกรดแลคติกโดย LAB จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในค่า pH ซึ่งเป็นส่วนสำคัญในการเกิดโครงสร้างที่เป็นเนื้อเจลและรสกรด

อาหารที่ผ่านการหมักกรดแลคติก ได้แก่ เนื้อสัตว์และปลาหมักที่มีกรดแลคติกหลากหลายประเภท กระบวนการหมักกรดแลคติกช่วยเพิ่มคุณค่าทางอาหารและสร้างรสชาติที่เป็นเอกลักษณ์ ตัวอย่างของเนื้อสัตว์ที่ผ่านการหมักกรดแลคติก ได้แก่ แฮมหมู (Ham) และแฮมไก่ (Chicken Ham) ซึ่งถูกหมักในน้ำมันสมุนไพรและเกลือ ทำให้ได้รสชาติเปรี้ยวกลมกล่อม ในอาหารไทยหลายชนิดที่ใช้การหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์สร้างกรด เช่น กะปิ (Grilled shrimp paste) ซึ่งเป็นเชื้อจุลินทรีย์ในกุ้งที่ถูกหมักในเกลือและน้ำตาล โดยส่วนใหญ่เป็น

เชื้อจุลินทรีย์ประเภท *Bacillus* ในกระบวนการหมัก กระป๋ปเป็นส่วนสำคัญในอาหารไทยเพื่อเพิ่มรสชาติให้กับเมนูต่าง ๆ เช่น น้ำพริกเผา แกงเผ็ด และส้มตำ การหมักกรดแลคติกให้กับเนื้อสัตว์และปลาเป็นการเพิ่มคุณค่าทางอาหารและสร้างรสชาติที่มีเอกลักษณ์ อีกตัวอย่างหนึ่งคือ ซาลาเปา (Salapao) ซึ่งเป็นขนมปังเหนียวที่ผ่านการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus* เชื้อจุลินทรีย์สร้างกรดทำให้ซาลาเปามีลักษณะนุ่มรสชาติเปรี้ยวอมหวาน และมีกลิ่นหอมน่าตื่นตาตื่นใจ นอกจากนี้ ยังมีอาหารอื่น ๆ ที่ใช้การหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์สร้างกรด เช่น แกงจืด (Clear soup) ที่หมักด้วยเชื้อ *Lactobacillus* และเครื่องดื่มต่าง ๆ เพื่อเพิ่มรสชาติเปรี้ยวและหอม รวมถึงโปรตุเกส (Prodtest) ซึ่งเป็นผลไม้หรือผักที่หมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์สร้างกรดเพื่อเพิ่มรสชาติตัวอย่างอาหารเนื้อสัตว์หมัก เช่น การหมักแหนมและปลาหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์สร้างกรดมีคุณค่าทางโภชนาการที่สำคัญ และแสดงถึงความหลากหลายของอาหารไทย เช่น แหนมและปลาหมัก ซึ่งเกิดจากการกระบวนการหมักด้วยเชื้อ LAB (Lactic Acid Bacteria) การหมักแหนมและปลาหมักช่วยเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ ช่วยในการย่อยโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตในเนื้อและปลา เสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย ปรับสมดุลในระบบทางเดินอาหาร และช่วยลดความเสี่ยงของภาวะท้องผูก เชื้อ LAB ยังมีความสามารถในการป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อโรคและช่วยให้มีอายุการเก็บรักษาที่ยาวนานขึ้น โดยการเปลี่ยนสารอาหารให้เป็นกรดอินทรีย์ เช่น กรดแลคติก ทำให้อาหารย่อยง่ายขึ้นและดูดซึมได้ดีขึ้น การบริโภคแหนมและปลาหมักที่หมักด้วย LAB ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ ช่วยปรับสมดุลในระบบทางเดินอาหาร และทำให้ระบบทางเดินอาหารทำงานได้อย่างเป็นปกติ การหมักแหนมและปลาหมักด้วย LAB มีประโยชน์ทั้งในแง่ของรสชาติและสุขภาพ เช่น ช่วยย่อยอาหาร ป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อโรค ปรับสมดุลในระบบเอนไซม์ในลำไส้ และส่งเสริมสุขภาพในระบบทางเดินอาหาร

แบคทีเรียสร้างกรดในนม (Probiotics) กับการดูแลสุขภาพ

แบคทีเรียกรดนม (Lactic Acid Bacteria) ถูกใช้ในการดูแลสุขภาพโดยการบริโภคอาหารที่มีโพรไบโอติกส์และโอสไบโอติกส์ การบริโภคแบคทีเรียกรดนมสามารถช่วยส่งเสริมสุขภาพลำไส้และร่างกายโดยรวม ตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียกรดนมที่เป็นโพรไบโอติกส์ ได้แก่ *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* ซึ่งช่วยปรับสภาพแวดล้อมในลำไส้ ทำให้เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อ การบริโภคอาหารที่มีโพรไบโอติกส์จะช่วยให้สุขภาพลำไส้ที่ดี ลดการเจริญเติบโตของเชื้อที่เป็นอันตราย (Delzenne et al., 2011) โดยพบว่า

1. **ช่วยเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกัน:** แบคทีเรียกรดนมโพรไบโอติกส์กระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน เพิ่มประสิทธิภาพของเซลล์ภูมิคุ้มกัน และลดอัตราการติดเชื้อ
2. **ส่งเสริมสุขภาพทั่วไป:** การบริโภคอาหารที่มีโพรไบโอติกส์ เช่น โยเกิร์ต และอาหารหมัก ช่วยลดอัตราการอักเสบในร่างกาย ลดความเสี่ยงต่อโรคเส้นเลือด และกระตุ้นกระบวนการเมตาบอลิซึมที่ดีต่อสุขภาพ

2.3 พรไบโอติกส์ โพรไบโอติกส์ และโพสไบโอติกส์ (Delzenne et al., 2011)

พรไบโอติกส์ (Prebiotics)

พรไบโอติกส์และพอลิโอลิโกแซคคาไรด์ (Polyoligosaccharides) มาจากแหล่งอาหารพืช เช่น ผลไม้ ผัก และธัญพืช เช่น มันฝรั่ง ข้าวโอ๊ต และข้าวสาลี ภายในพืชเหล่านี้มีเซลลูโลสเป็นส่วนสำคัญ และมีไฟเบอร์ช่วยลดความเสี่ยงของภาวะท้องผูก และสนับสนุนการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ดีในลำไส้ ตัวอย่างของสารอาหารเหล่านี้จะช่วยสร้างสภาวะเหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ดีในลำไส้และส่งเสริมสุขภาพในระบบทางเดินอาหาร เพิ่มปริมาณภูมิคุ้มกัน และลดความเสี่ยงของภาวะท้องผูก (Quigley, 2010) แหล่งอาหารพรไบโอติกส์ เป็นสารอาหารที่ไม่สามารถย่อยได้โดยเอนไซม์ในลำไส้ของเรา แต่เป็นอาหารสำหรับเชื้อพรไบโอติกส์ในลำไส้ สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโต หรือกระตุ้นกิจกรรมของแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ในลำไส้ โพรไบโอติกส์มักพบในอาหารที่ธรรมชาติเช่นธัญพืชเต็ม รูปและผลไม้ หรือสามารถเพิ่มเติมเป็นส่วนผสมทางอาหารในอาหารแปรรูป ในปัจจุบัน โพรไบโอติกส์ ถูกใช้ในการเสริม ความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์อาหารหลากหลายประเภท เช่น ผลิตภัณฑ์นม, เบเกอรี่, และสูตรอาหารเสริมสำหรับทารก อนาคตอาจมีโอกาพัฒนาพรไบโอติกส์ ใหม่ที่มีความสามารถด้านความเข้มข้นและส่วนประกอบที่เพิ่มประสิทธิภาพ และสำรวจโอกาสในการใช้งานในหมวดหมู่อาหารที่หลากหลายกว่านี้ เมื่อเชื้อพรไบโอติกส์ได้รับสารพรไบโอติกส์เหล่านี้ เชื้อจะสามารถเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนได้ เพื่อส่งเสริมการใช้งานที่ดีขึ้นและให้ประสิทธิภาพสูงสุด

พรไบโอติกส์ (Prebiotics) (Roberfroid, 2000) ประกอบด้วย

1. **ใยอาหาร (Dietary fiber)** ซึ่งเป็นแหล่งอาหารพรไบโอติกส์ที่สำคัญ ซึ่งพบได้ในผักใบเขียวและผลไม้ เช่น กะหล่ำปลี ผักบุ้ง ฟักทอง แอปเปิ้ล และกล้วย เป็นต้น ใยอาหารช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อพรไบโอติกส์ในลำไส้
2. **เซลลูโลส** ซึ่งเป็นแหล่งอาหารพรไบโอติกส์ที่มีอยู่ในอาหารที่มีการหมักเช่น โยเกิร์ต ชีส และเบเกอรี่ ซึ่งเซลลูโลสช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อพรไบโอติกส์ในลำไส้ และช่วยปรับสมดุลของเชื้อแบคทีเรียในลำไส้
3. **อาหารที่มีความหนาแน่นใยสูง** เช่น ข้าวโอ๊ต ข้าวกล้อง ซึ่งเป็นอาหารที่มีส่วนประกอบของใยอาหารสูง สามารถสร้างสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมสำหรับเชื้อพรไบโอติกส์ในลำไส้
4. **การใช้เอนไซม์ที่สามารถเร่งระบบสร้างสารในเชื้อพรไบโอติกส์** เป็นวิธีการที่สามารถเพิ่มประสิทธิภาพของการสร้างโพสไบโอติกส์ได้ ตัวอย่างเอนไซม์ที่ใช้เร่งระบบสร้างสารในเชื้อพรไบโอติกส์ เช่น เอนไซม์ละลายเซลลูโลส (Fructooligosaccharides, FOS)

นอกจากนี้ สารที่ส่วนใหญ่พบในน้ำหมัก คือ เอนไซม์เพอร์มีเอส (Permeases) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ช่วยเพิ่มความเป็นไปได้ในการดูดซึมสารอาหารพรไบโอติกส์เข้าสู่เซลล์ของเชื้อพรไบโอติกส์ สามารถช่วยเร่งระบบสร้างสารในเชื้อพรไบโอติกส์ได้ เอนไซม์เหล่านี้ช่วยต่อยอดการสร้างโพสไบโอติกส์จากเชื้อพรไบโอติกส์ การศึกษาและใช้งานเพื่อพัฒนาวิธีการให้มีประสิทธิภาพ เพื่อให้ได้ผลลัพธ์ที่ดีในการสร้างโพสไบโอติกส์ อย่างไรก็ตาม การใช้เอนไซม์ต้องดำเนินการในขั้นตอนที่เหมาะสมและคำแนะนำจากผู้เชี่ยวชาญ

ตัวอย่างพรีไบโอติกส์ เช่น:

- อินูลิน (Inulin): มีอยู่ในหัวกะทิ, หัวกระเทียม, และรากชนิดต่างๆ เช่น ขาวแคริบ, ดอกแคริบ, และอัลลิกี่ต่างๆ
- แลคโตโออลิโกส (Lactulose): ช่วยลดความเสี่ยงของภาวะท้องผูก สร้างจากการสะสมของน้ำตาลที่อยู่ในนมและผลิตภัณฑ์นม
- รีซิสแทนออลิโกส (Resistant Starch): ช่วยเพิ่มปริมาณไฟเบอร์ในอาหาร, ส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ดีในลำไส้, และสร้างความอึดที่ยาวนาน พบได้ในอาหารเช่น กากูโคส, มันเทศ และข้าวสาลี
- กาแลกโตออลิโกส (Galactooligosaccharides): ช่วยสร้างสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมสำหรับจุลินทรีย์ดีในลำไส้, เพิ่มปริมาณภูมิคุ้มกัน, และลดการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่เป็นพิษ มีอยู่ในนมและผลิตภัณฑ์นม, เช่น นมผง, และน้ำตาลนม
- แลคโทออลิโกส (Lactitol): ได้มาจากการกระบวนการสังเคราะห์ของน้ำตาลในนม
- ไอโซมัลโตแอลกาโลส (Isomalto-Oligosaccharides, IMO): ได้มาจากการสะสมของน้ำตาลในอาหารที่มีกลูโคส
- ฟรุคโตออลิโกส (Fructooligosaccharides, FOS): พบได้ในผลไม้และผักบางชนิด เช่น กัลย, ถั่วเขียว, และหัวหอมใหญ่
- แล็คโตแอลโลส (Lacto-Allulose) ที่เรียกว่าแอลลูโลส (Allulose) เป็นน้ำตาลโมโนแซ็กคาไรด์ที่พบได้ในปริมาณน้อยในธรรมชาติ โดยจะพบในผลไม้บางชนิด เช่น มะเดื่อ, ลูกเกด, และข้าวโพด ทั้งนี้ แอลลูโลสจัดอยู่ในกลุ่มน้ำตาลหายาก (rare sugars) เนื่องจากมีความหวานคล้ายน้ำตาลทั่วไป แต่ให้พลังงานต่ำกว่าน้ำตาลทรายมาก
- กลูโคออลิโกส (Gluco-Oligosaccharides, GOS) มีอยู่ในนมและผลิตภัณฑ์นม เช่น นมผงและน้ำตาลนม
- แมนโนออลิโกส (Mannooligosaccharides, MOS) ช่วยลดการอักเสบในลำไส้ สนับสนุนระบบภูมิคุ้มกัน และเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ดีในลำไส้ มีอยู่ในผลไม้และผักบางชนิด เช่น มะม่วง หัวหอม และกระเทียม

พรีไบโอติกส์

พรีไบโอติกส์ในอาหารเพื่อสุขภาพมีประโยชน์ต่อผู้บริโภค เพราะพรีไบโอติกส์สามารถช่วยในการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ที่อยู่ในระบบทางเดินอาหาร ส่งผลให้ระบบทางเดินอาหารทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ และพรีไบโอติกส์ยังสามารถช่วยเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย โดยเพิ่มประสิทธิภาพของระบบภูมิคุ้มกันและช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดอาการภูมิแพ้และโรคเรื้อรังได้ พบว่ามีการใช้พรีไบโอติกส์ในอาหารเพื่อสุขภาพในหลายประเภทของผลิตภัณฑ์ แบบพื้นฐานคือผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตและนมที่เสริมพรีไบโอ

ดิกส์ เช่น โยเกิร์ตและนมที่มีแบคทีเรียดีที่สุดสำหรับระบบทางเดินอาหาร นอกจากนี้ยังมีอาหารเสริมที่เพิ่มโพรไบโอติกส์เข้าไป เช่น แคปซูลโพรไบโอติกส์และอาหารหมักที่เสริมแบคทีเรียที่มีประโยชน์ (Krasaekoopt et al., 2003; Rajam and Subramanian, 2022) ในการลดความเสี่ยงอันตรายจากเชื้อโรคในลำไส้ การใช้โพรไบโอติกส์มีกลไกหลายอย่างที่เกี่ยวข้อง ได้แก่

1. จุลินทรีย์ทำหน้าที่เสริมสร้างสภาพแวดล้อมในลำไส้ ด้วยโพรไบโอติกส์ที่เป็นแบคทีเรียที่มีประโยชน์ เช่น *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* สามารถสร้างสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมสำหรับเชื้อเพื่อประโยชน์ในลำไส้ โดยการควบคุมความเป็นกรดในลำไส้และการผลิตสารต้านออกซิเดชัน
2. สภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมสำหรับเชื้อโรคสามารถลดลง ทำให้เชื้อโรคมีความยากที่จะเจริญเติบโตและติดต่อแพร่ที่แข็งแรงของลำไส้
3. เชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์สามารถเกาะคลุมพื้นผิวในลำไส้ ช่วยป้องกันการเจริญเติบโตของเชื้อโรคบนผิวลำไส้ และลดโอกาสในการติดเชื้อในตำแหน่งที่มีการเกาะอยู่
4. โพรไบโอติกส์มีความสามารถแข่งขันกับเชื้อโรคเพื่อพื้นที่และทรัพยากรในลำไส้ โดยเชื้อโรคต้องแข่งขันเพื่ออาหารและพื้นที่ในการเจริญเติบโต
5. ในบางกรณี โพรไบโอติกส์อาจผลิตสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันหรือสารอื่น ๆ ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อโรคได้
6. โพรไบโอติกส์สามารถกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน โดยเพิ่มประสิทธิภาพของเซลล์ภูมิคุ้มกันและลดอัตราการเกิดการติดเชื้อ
7. บางโพรไบโอติกส์ยังสามารถสร้างสารที่มีฤทธิ์ต้านอักเสบ ซึ่งช่วยลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคเส้นเลือดและโรคเรื้อรังอื่น ๆ

โพรไบโอติกส์

โพรไบโอติกส์ คือสารที่จุลินทรีย์โพรไบโอติกส์สร้างขึ้นหลังจากเกิดการหมักด้วยการใช้โพรไบโอติกส์ สารโพรไบโอติกส์มีประโยชน์ต่อผู้บริโภค ช่วยทำหน้าที่ปรับปรุงสภาพลำไส้และปรับสมดุลภูมิคุ้มกัน ซึ่งส่งผลต่อสุขภาพลำไส้ที่ดีขึ้นและกระตุ้น ก่อให้ระบบภูมิคุ้มกันแข็งแรง ระบบภูมิคุ้มกันซึ่งเป็นส่วนสำคัญของร่างกาย ช่วยในการต่อต้านการติดเชื้อโรค ช่วยลดความเสี่ยงต่อโรคเส้นเลือดและโรคเมตาบอลิก โดยทั้งนี้ควรเลือกใช้ทั้งโพรไบโอติกส์และโพรไบโอติกส์ ซึ่งจะมีส่วนในการลดความเสี่ยงต่อโรคเส้นเลือด เช่น ลดระดับไขมันเลือดที่ไม่ดี ลดความดันโลหิตสูง และเสริมสร้างระบบการต้านออกซิเดชันภายในร่างกาย นอกจากนี้ด้วยองค์ประกอบต่าง ๆ ในโพรไบโอติกส์และโพรไบโอติกส์จะเสริมฤทธิ์การต้านการอักเสบและกระตุ้นกระบวนการเมตาบอลิกในร่างกาย ช่วยควบคุมน้ำหนักและการป้องกันโรคเบาหวาน แต่อย่างไรก็ตามจำเป็นต้องมีการทดสอบความปลอดภัยสำหรับการบริโภค โดยมีผลยืนยันการต้านทานทางชีวภาพเพื่อให้ทราบผลกระทบความเป็นพิษที่อาจเกิดต่อผู้บริโภคและสัดส่วนที่เหมาะสมในการนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป (Thorakkattu et al., 2022)

2.4 คอมบูชา

คอมบูชาเป็นเครื่องดื่มสุขภาพที่จัดอยู่ในกลุ่มโพรไบโอติกส์ ซึ่งมีประโยชน์ต่อการเสริมสร้างการทำงานของระบบย่อยอาหารและระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายอย่างมาก จุลินทรีย์ในคอมบูชา เช่น แบคทีเรียกรดแอซิติก (AAB) และแบคทีเรียกรดแลคติก (LAB) มีบทบาทสำคัญในการเสริมสร้างความแข็งแรงของลำไส้ ปรับสมดุลจุลินทรีย์ในลำไส้ และลดการเกาะติดของเชื้อโรค การบริโภคโพรไบโอติกในคอมบูชาเป็นประจำยังช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันและเพิ่มการผลิตสารต้านจุลชีพ ซึ่งมีบทบาทในการลดการเจริญเติบโตของเชื้อโรคและยับยั้งการติดเชื้อ (Leal et al., 2018) ตัวอย่างของโพรไบโอติกในคอมบูชา เช่น *Saccharomyces boulardii* และ *Saccharomyces cerevisiae* พบว่าสามารถช่วยป้องกันการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรคในลำไส้ โดยสร้างสารต้านแบคทีเรียในกลุ่มแบคทีเรียโอซิน ซึ่งช่วยลดการพึ่งพาการใช้ยาปฏิชีวนะและแก้ปัญหาการดื้อยาของจุลินทรีย์ (Kozyrovska et al., 2012) นอกจากนี้ ผลพลอยได้จากกระบวนการหมัก เช่น กรดอินทรีย์ เปปไทด์ และกรดแลคติก ยังมีการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมยาและเครื่องสำอางในฐานะสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่เป็นอันตราย (Leal et al., 2018) คอมบูชามีสารต้านอนุมูลอิสระในระดับสูง โดยเฉพาะสารฟีนอลและฟลาโวนอยด์ ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ (Afati et al., 2020; Reyes-Flores et al., 2023) กระบวนการหมักในคอมบูชายังช่วยเพิ่มความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากการย่อยสลายสารประกอบฟีนอลิกเป็นโมเลกุลชีวภาพขนาดเล็ก ซึ่งช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคเรื้อรังได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Su et al., 2023)

ปัจจุบัน คอมบูชาถูกกระจายไปทั่วโลกในฐานะเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพที่มีประโยชน์ ส่วนใหญ่ทำจากใบชาดำหรือชาเขียว (*Camellia sinensis*) (da Silva Júnior et al., 2022; Sumner, 2019) โดยกระบวนการผลิตใช้ส่วนผสมอย่างชา น้ำตาล หัวเชื้อ และ SCOBY คอมบูชาเป็นเครื่องดื่มที่ใช้กระบวนการหมักแบบดั้งเดิมที่ใช้ซูโครส 5-10% ขั้นตอนของการหมักเริ่มจากการนำใบชาที่ผ่านการชงด้วยน้ำร้อนและปล่อยให้เย็น ใส่ในน้ำหมักเพื่อเกิดแผ่นฟิล์ม SCOBY (Symbiotic Community of Bacteria and Yeast) หลังจากผ่านกระบวนการหมักในที่มีดนาน 10-14 วัน จุลินทรีย์จะใช้น้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน ทำให้ถูกไฮโดรไลซ์เป็นกลูโคสและฟรุกโตส จากนั้นจะถูกใช้ต่อโดยจุลินทรีย์ ทำให้ได้เอทานอลและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (Morales, 2020) จุลินทรีย์ในคอมบูชาประกอบด้วยหลายกลุ่มที่มีความสัมพันธ์แบบซิมไบโอซิส ซึ่งส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียกรดแอซิติก (AAB) แบคทีเรียกรดแลคติก (LAB) และยีสต์ (Morales, 2020) กลุ่มจุลินทรีย์เหล่านี้มีความสัมพันธ์แบบพึ่งพากันในการสร้างเมตาบอไลต์ในระหว่างกระบวนการหมักและสามารถเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระในระบบอาหารที่หลากหลาย (Khubber et al., 2022) ยีสต์ที่พบในคอมบูชาได้แก่ *Candida*, *Saccharomyces* และ *Pichia* ขณะที่แบคทีเรียส่วนใหญ่เป็นสมาชิกของตระกูล *Acetobacteraceae* ซึ่งรวมถึงแบคทีเรียสร้างกรดแอซิติก เช่น *Acetobacter xylinum*, *A. aceti*, *A. xylinoides*, *Bacterium gluconicum*, *A. pasteurianus* และอื่นๆ

เชื้อจุลินทรีย์หลักของคอมบูชาคือ ไบโอฟิล์ม (Scopy) ซึ่งมีลักษณะการลอยตัวและมีรสเปรี้ยว ประกอบด้วยกรดอะซิติก กรดกลูโคนิก และเอทานอล สารเคมีในคอมบูชาที่เปลี่ยนจากน้ำตาลและชาให้ฟองเล็กน้อย รสเปรี้ยวอ่อน ๆ และหวานเล็กน้อยภายใน 7-10 วัน ผลิตภัณฑ์สุดท้ายจะมีความกรดอ่อน ไม่หวาน และเกิดวิตามิน เอนไซม์ไฮโดรไลติก และกรดอะมิโนต่าง ๆ (Hardinsyah et al., 2023) ลักษณะของคอมบูชาสามารถระบุกลุ่มเชื้อจุลินทรีย์พวกแบคทีเรียกรดอะซิติก (AAB) แบคทีเรียกรดแลคติก (LAB) และยีสต์ (Morales, 2020) ในงานวิจัยพบว่า ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของคอมบูชาชาดำที่เพิ่มขึ้นสามารถทำได้โดยการพัฒนาระบวนการหมักบ่ม (Afati et al., 2020) สารเคมีฟีนอลิกที่ซับซ้อนในคอมบูชาจะสามารถสลายหรือเปลี่ยนเป็นโมเลกุลชีวภาพขนาดเล็กได้โดยการหมักในสภาวะที่เป็นกรด หรือเอนไซม์จากแบคทีเรียและยีสต์ (Su et al., 2023) Ivanišová et al. (2020) พบว่า ในกระบวนการหมักสามารถสลายสารประกอบฟีนอลิกที่ซับซ้อนให้เป็นโมเลกุลเล็กลง ทำให้ ฟีนอลทั้งหมดและฟลาโวนอยด์ในคอมบูชามีความเข้มข้นสูงขึ้น Yuliana และคณะ (2023) รายงานว่าการหมักคอมบูชาผสมน้ำผึ้งโกโก้ให้ผลผลิตสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในปริมาณมาก ซึ่งได้จากปัจจัยของแหล่งคาร์บอน ระดับน้ำตาล และจำนวนประชากรจุลินทรีย์ทั้งหมด ส่งผลให้เกิดไบโอฟิล์ม คอมบูชาน้ำผึ้งช็อกโกแลตปริมาณมากและมีปริมาณฟีนอลทั้งหมดสูงกว่าคอมบูชาชาดำและคอมบูชาชาเขียวจากที่วิจัย Cardoso และคณะ (2020) นอกจากนี้ ปริมาณฟลาโวนอยด์ของตัวอย่างคอมบูชาน้ำผึ้งโกโก้อยู่ที่ประมาณ 1.15 ถึง 1.17 มก./มล. ซึ่งใกล้เคียงกับที่รายงานในคอมบูชาหมักชา 7 วัน (Jakubczyk et al., 2020) คอมบูชาสามารถพบว่า เป็นแหล่งของสารประกอบฟีนอลโดยทั่วไปแล้วกระบวนการเกิดคอมบูชาเกี่ยวข้องกับการทำงานร่วมกันของจุลินทรีย์ เอนไซม์ และความร้อนขึ้น เกิดสารประกอบอัลดีไฮด์ กรด คีโตน และสารอื่น ๆ (Villarreal-Soto et al., 2020) ผลพลอยได้หลักจากการหมักชาคอมบูชา ประกอบด้วย เอทานอล กรดกลูโคนิก และกรดอะซิติก (Suffys et al., 2023) และมีการสังเคราะห์สารประกอบระเหยและมีกลิ่นหอมที่แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับความแตกต่างของอุณหภูมิการหมักและส่วนประกอบของชา

การพัฒนาเทคนิคการเก็บรักษามะเขือเทศด้วยการใช้คอมบูชา คาดว่าเป็นวิธีที่น่าสนใจและเป็นมิตรต่อผู้บริโภคและสิ่งแวดล้อม ทั้งนี้คอมบูชาเป็นเครื่องดื่มที่เกิดจากการหมักชาด้วยกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ ซึ่งสามารถช่วยเพิ่มอายุการเก็บรักษาและลดการเน่าเสียของมะเขือเทศได้ อีกทั้งยังประกอบด้วยสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถรักษาคุณภาพของมะเขือเทศได้ยาวนานขึ้น การผสมผสานคอมบูชากับมะเขือเทศไม่เพียงช่วยยืดอายุการเก็บรักษา แต่ยังสามารถพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มสุขภาพใหม่ที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยกระบวนการหมักในคอมบูชาสร้างสารสำคัญต่างๆ เช่น กรดอินทรีย์และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ซึ่งสามารถควบคุมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคและช่วยรักษาความสดของมะเขือเทศได้นานขึ้น มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum* Mill.) เป็นพืชในตระกูล Solanaceae ที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ประกอบด้วยวิตามิน A, C, E ไลโคปีน และเส้นใยอาหาร ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการลดความเสี่ยงของโรคมะเร็งและโรคหัวใจ (Giovannucci, 2002; Sesso et al., 2003) อย่างไรก็ตาม มะเขือเทศเป็นพืชที่มีอายุการเก็บรักษาสั้นเพียง 2-3 สัปดาห์ และการเน่าเสียมักเกิดจากจุลินทรีย์ที่ทำให้คุณภาพของผลผลิตลดลง (Abrol and Kumar, 2019; Giovannoni, 2002) ความสูญเสียหลังการเก็บเกี่ยวไม่เพียงลดปริมาณผลผลิต แต่ยังส่งผล

กระทบต่อความมั่นคงทางอาหารในประเทศกำลังพัฒนา

2.5 การยืดอายุผักและผลไม้

แนวทาง Green Technology เพื่อยืดอายุผักและผลไม้

ในยุคที่วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีกำลังพัฒนาอย่างรวดเร็ว ปัญหาการสูญเสียผักและผลไม้ที่เกิดจากการเน่าเสียหลังการเก็บเกี่ยว จึงกลายเป็นเรื่องที่มีความสำคัญและจำเป็นต้องมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่อง หนึ่งในแนวทางการจัดการที่เป็นแบบ Green Technology ได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้ เพื่อยืดอายุผักและผลไม้ ซึ่งจะช่วยลดการสูญเสียทรัพยากรอาหาร และเป็นการส่งเสริมความยั่งยืนในระบบการเกษตรและการบริโภคอย่างยั่งยืนในอนาคต เช่น

1. **การใช้สารชีวภาพในการป้องกันการเน่าเสียโดยสารชีวภาพ** เช่น สารสกัดจากพืชหรือจุลินทรีย์ จะช่วยลดการเจริญเติบโตของเชื้อโรคและแบคทีเรีย ซึ่งเป็นสาเหตุหลักที่ทำให้ผักและผลไม้เสื่อมคุณภาพ การศึกษาโดยนักวิจัยแสดงให้เห็นว่าการใช้สารฆ่าเชื้อจากธรรมชาติสามารถลดการเสื่อมสภาพของผลไม้ได้ถึง 30% เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีทั่วไป

2. **เทคโนโลยีการบรรจุภัณฑ์ชนิดที่มีการปรับสภาพบรรยากาศ (Modified Atmosphere Packaging: MAP)** ยังเป็นอีกหนึ่งแนวทางที่มีประสิทธิภาพในการหีบห่อและเก็บรักษาผักและผลไม้ โดยการปรับสภาพอากาศภายในบรรจุภัณฑ์ให้เหมาะสม จะช่วยยืดอายุการเก็บรักษาได้มากถึง 50% เทคโนโลยีนี้ทำให้สามารถควบคุมระดับออกซิเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งมีผลโดยตรงต่อกระบวนการหายใจของผลไม้

3. **การใช้เทคโนโลยีการควบคุมอุณหภูมิอย่างแม่นยำ** โดยการใช้ระบบการจัดเก็บที่สามารถปรับอุณหภูมิและความชื้นได้อย่างมีประสิทธิภาพ ช่วยทำให้ผักและผลไม้ไม่เกิดการเน่าเสียในระยะยาว โดยข้อมูลจากการศึกษาแสดงให้เห็นว่า การควบคุมอุณหภูมิในช่วง 0-5 องศาเซลเซียส สามารถยืดอายุของผลไม้บางชนิดได้ถึง 2 เท่า

นอกจากการใช้สารทางชีวภาพที่กล่าวถึงไปแล้ว ยังมีวิธีอื่นที่สามารถช่วยยืดอายุของผักและผลไม้ได้ เช่น:

1. การควบคุมอุณหภูมิ

การเก็บรักษาผักและผลไม้ในที่เย็นสามารถช่วยยืดอายุการเก็บรักษาได้ อุณหภูมิที่ต่ำจะช่วยลดการเติบโตของจุลินทรีย์และกระบวนการทางเคมีที่ทำให้ผลไม้เสื่อมสภาพ

2. การใช้บรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสม

การใช้บรรจุภัณฑ์ที่เหมาะสม เช่น ถุงที่มีฟิล์มชั้นผสม หรือบรรจุภัณฑ์ที่สามารถระบายอากาศได้ จะช่วยลดการสัมผัสกับออกซิเจนและชะลอการสูญเสียน้ำ

3. การใช้เทคโนโลยีการดอง

การดองผักด้วยเกลือหรือ vinegar (น้ำส้มสายชู) เป็นวิธีที่ช่วยในการยืดอายุโดยการเก็บรักษาผักในสภาพที่มีความเป็นกรดสูง หรือองศาการป้องกันจากจุลินทรีย์

4. การใช้เทคนิคการแช่แข็ง

การแช่แข็งเป็นวิธีที่ดีในการยืดอายุผักและผลไม้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อทำการล้างและเตรียมให้พร้อมก่อนการแช่แข็ง ซึ่งจะช่วยรักษาคุณค่าทางโภชนาการได้ดี

5. การกระตุ้นด้วยเทคโนโลยีการทำความเย็นที่ควบคุมได้ (Modified Atmosphere Packaging - MAP)

การเปลี่ยนบรรยากาศภายในบรรจุภัณฑ์เป็นการควบคุมอัตราส่วนของก๊าซ เช่น การเพิ่ม CO₂ หรือการลด O₂ ภายในบรรจุภัณฑ์ สามารถช่วยลดการเสื่อมสภาพของสินค้าหรือการสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการ

6. การใช้สารกันบูดธรรมชาติ

การใช้สารกันบูดจากธรรมชาติ เช่น วิตามิน C (กรดแอสคอร์บิก) หรือกรดซิตริก ที่มีคุณสมบัติในการป้องกันการเกิดออกซิเดชัน และช่วยยืดอายุการเก็บรักษา

7. การดูแลและเก็บรักษาอย่างถูกวิธี

สิ่งนี้รวมถึงการจัดเรียงผักผลไม้ในตู้เย็นในลักษณะที่ไม่ทำให้เกิดแรงกดทับ และการหลีกเลี่ยงการเก็บผักผลไม้ที่กลั่นแรงใกล้เคียงกัน เพราะอาจทำให้เกิดการเน่าเสียเร็วขึ้น

8. การใช้เทคโนโลยีเกษตรกรรมที่ทันสมัย

เทคนิคการเพาะปลูกที่ทันสมัย เช่น การใช้ระบบไฮโดรโปนิคส์ หรือการใช้เทคโนโลยี LED ในการปลูกพืช ยังช่วยเพิ่มคุณภาพและยืดอายุของผลิตภัณฑ์ การใช้วิธีการหลากหลายนี้ร่วมกันจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการยืดอายุของผักและผลไม้ได้อย่างมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การใช้ประโยชน์จากกระเทียม

กระเทียมมีคุณสมบัติในการป้องกันและยับยั้งการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ รวมถึงมีประโยชน์ต่อสุขภาพ เช่น การปกป้องหัวใจ ฤทธิ์ต้านจุลชีพ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ต้านไวรัส และฤทธิ์ชะลอวัย (Borek, 2001) กระเทียมถูกนำมาใช้เป็นเครื่องเทศ ให้รสชาติ และยารักษาโรค โดยคุณสมบัติทางชีวภาพที่สำคัญของกระเทียมมาจากสารประกอบออร์กาโนซัลเฟอร์ ซึ่งรวมถึงอัลลิอิน เทอร์ฟีนอยด์ และสารประกอบฟีนอลิก (Willson และ Demmig-Adams, 2007; Hussein et al., 2017) ในระหว่างการคัดแยกส่วนเนื้อกระเทียมเพื่อการนำไปใช้ จะมีส่วนเปลือกเหลือทิ้งที่จัดเป็นของเสียจากการแปรรูปกระเทียมในเชิงอุตสาหกรรม ซึ่งไม่ได้รับการนำมาใช้ประโยชน์อย่างจริงจัง การเน่าเสียที่เกิดจากการทิ้งเปลือกกระเทียมนี้ก่อให้เกิดการสูญเสียมูลค่าทางเศรษฐกิจ ทั้งที่สามารถพัฒนาให้เกิดประโยชน์เพื่อแก้ปัญหาด้านสิ่งแวดล้อมและเพิ่มมูลค่าได้ เนื่องจากเปลือกกระเทียมมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับเนื้อกระเทียม และคิดเป็นประมาณ 24% ของน้ำหนักรวมของกระเทียมทั้งหมด อย่างไรก็ตาม เปลือกกระเทียมมักถูกทิ้งและยังไม่มีมีการพัฒนามาใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลาย (Khubber et al., 2022) จากงานวิจัยที่พบว่าเปลือกกระเทียมที่ถูกใช้ร่วมกับเนื้อกระเทียมเป็นส่วนประกอบในอาหาร เช่น ในการเพิ่มกลิ่นหอมในอาหารประเภทหมัก ทอด และผัด มี

สารสำคัญที่มีประโยชน์ไม่แตกต่างจากส่วนเนื้อกระเทียมนอกจากนี้ ยังมีงานวิจัยเกี่ยวกับการพัฒนาการสกัดสารจากเปลือกกระเทียม โดยศึกษาความสามารถในการต้านจุลชีพ (Ifesan et al., 2014) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ การประยุกต์ใช้สารสกัดเปลือกกระเทียมเพื่อปรับปรุงฤทธิ์ต้านจุลชีพของฟิล์มและการเคลือบที่ใช้บริโภคได้ (Kim et al., 2011; Kim et al., 2012) อีกทั้งยังพบว่าสารสกัดจากเปลือกกระเทียมมีศักยภาพในการต้านเชื้อราที่ก่อให้เกิดโรคพืช อย่างไรก็ตาม การศึกษาส่วนใหญ่ยังเป็นการทดลองในสิ่งมีชีวิตเบื้องต้นและยังไม่ผ่านการประเมินในระดับสูง (Ryu and Kang, 2007)

ความสัมพันธ์ของพรีไบโอติกส์ โพรไบโอติกส์ และโพสไบโอติกส์ในการส่งเสริมสุขภาพในลำไส้และร่างกาย

โพรไบโอติกส์ (Probiotics) และพรีไบโอติกส์ (Prebiotics) และโพสไบโอติกส์ (Postbiotics) มีความเกี่ยวข้องกับระบบจุลินทรีย์ในลำไส้และมีการใช้งานในอุตสาหกรรมอาหารเป็นส่วนผสมทางอาหาร โดยเป็นที่ทราบกันว่า โพรไบโอติกส์ (Probiotics) คือจุลินทรีย์สดที่ถูกบริโภคในปริมาณที่เพียงพอ และมีประโยชน์ต่อสุขภาพของเจ้าบ้าน พบว่าโพรไบโอติกส์ส่วนใหญ่พบได้ในอาหารที่ผ่านกระบวนการหมัก เช่น โยเกิร์ต คีเฟอร์ และซาวเคราท์ โพรไบโอติกส์ช่วยปรับปรุงสุขภาพลำไส้ โดยกระตุ้นการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ และยับยั้งแบคทีเรียที่เป็นอันตราย ในปัจจุบันโพรไบโอติกส์ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารอย่างกว้างขวางโดยเฉพาะในผลิตภัณฑ์นมและผลิตภัณฑ์จากนม ในอนาคตอาจมีโอกาพัฒนาสายพันธุ์โพรไบโอติกส์ใหม่ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพเฉพาะด้าน แต่อาจทำให้ขยายการใช้งานไปสู่หลากหลายผลิตภัณฑ์อาหาร (Maguire and Maguire, 2019) ทั้งนี้การเลือกหมักเปลือกกระเทียมด้วย *Lactobacillus* เพื่อผลิตสารโพสไบโอติกส์ จะเป็นวิธีการที่น่าสนใจเพื่อให้ได้รับประโยชน์ จากเปลือกกระเทียมอย่างเต็มที่ โดยโพสไบโอติกส์ เป็นสารที่เกิดจากกระบวนการของจุลินทรีย์ที่เลี้ยงด้วยเนื้ออาหาร (*Lactobacillus*) โดยไม่จำเป็นต้องมีจุลินทรีย์มากับสารนั้น

การใช้ประโยชน์จากโพสไบโอติกส์ (Postbiotics) ในรูปของสารสกัดหรือสารที่เกิดจากกระบวนการของจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์ ในขณะที่เกิดการหมักทำให้ได้ กรดอินทรีย์, เอนไซม์, โพลีเพปไทด์ และสารอื่น ๆ ที่มีประโยชน์ โพสไบโอติกส์ได้รับความสนใจเนื่องจากความสามารถในการส่งเสริมสุขภาพ เช่น ปรับปรุงระบบภูมิคุ้มกัน ลดการอักเสบ และเสริมสร้างการทำงานของเส้นเลือดในลำไส้ ในปัจจุบัน โพสไบโอติกส์กำลังถูกสำรวจในหลายๆ แ่งมุมในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น เป็นสารกันเสียธรรมชาติ สารเพิ่มรสชาติ และส่วนผสมทางอาหารเชิงฟังก์ชัน อนาคตอาจมีการวิจัยเพิ่มเติมเพื่อตรวจสอบ และระบุโพสไบโอติกส์ที่เฉพาะเจาะจงและรูปแบบการทำงานของพวกเขา รวมถึงการพัฒนาวิธีใหม่ในการผสมผสานในผลิตภัณฑ์อาหาร (Păcularu-Burada and Bahrin, 2021)

โดยรวมโพรไบโอติกส์, โพรไบโอติกส์ และ โพสไบโอติกส์ มีโอกาสสำคัญในอุตสาหกรรมอาหารในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ อาหารที่เป็นประโยชน์และเพื่อสุขภาพ การวิจัยและนวัตกรรมต่อไปอาจนำไปสู่การค้นพบสายพันธุ์ใหม่ วิธีการส่งมอบที่ดีขึ้นและการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารใหม่เพื่อส่งเสริมสุขภาพลำไส้และสุขภาพทั่วไปในอนาคต งานวิจัยที่ควรมีการพัฒนาจะเกี่ยวข้องกับการหาทางที่มีประสิทธิภาพในการผลิต

โพรไบโอติกส์ให้ปริมาณที่เหมาะสม โพรไบโอติกส์ ที่พบ1 ความสัมพันธ์ของพรีไบโอติกส์ โพรไบโอติกส์ และ โพรไบโอติกส์ในการส่งเสริมสุขภาพในลำไส้และร่างกาย Maguire and Maguire, 2019)

โพรไบโอติกส์ (Probiotics) และพรีไบโอติกส์ (Prebiotics) และโพสโตไบโอติกส์ (Postbiotics) มีความเกี่ยวข้องกับระบบจุลินทรีย์ในลำไส้และมีการใช้งานในอุตสาหกรรมอาหารเป็นส่วนผสมทางอาหาร โดยโพรไบโอติกส์คือจุลินทรีย์สดที่ถูกบริโภคในปริมาณที่เพียงพอและมีประโยชน์ต่อสุขภาพของเจ้าของ โดยส่วนใหญ่พบได้ในอาหารที่ผ่านกระบวนการหมัก เช่น โยเกิร์ต กีเฟอร์ และซาวเกรทท์ โพรไบโอติกส์ช่วยปรับปรุงสุขภาพลำไส้โดยกระตุ้นการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์และยับยั้งแบคทีเรียที่เป็นอันตราย ปัจจุบันโพรไบโอติกส์ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารอย่างกว้างขวาง โดยเฉพาะในผลิตภัณฑ์นมและผลิตภัณฑ์จากนม อนาคตอาจมีโอกาพัฒนาสายพันธุ์โพรไบโอติกส์ใหม่ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพเฉพาะเป้าหมายและขยายการใช้งานไปสู่ผลิตภัณฑ์อาหารหลากหลาย ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระเทียมหมักเปลือกกระเทียมด้วย *Lactobacillus* เพื่อผลิตสารโพสโตไบโอติกส์เป็นวิธีการที่น่าสนใจเพื่อให้ได้รับประโยชน์จากเปลือกกระเทียมอย่างเต็มที่โดยทำให้ได้โพสโตไบโอติกส์จากกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์ (*Lactobacillus*) เพื่อการใช้ประโยชน์อย่างจริงจัง (Moradi et al., 2021) โดยไม่จำเป็นต้องมีจุลินทรีย์มากับสารนั้น โดยรวมโพรไบโอติกส์, โพรไบโอติกส์ และ โพสโตไบโอติกส์ จัดเป็นส่วนสำคัญในอาหารที่เป็นประโยชน์และเพื่อสุขภาพ การวิจัยและนวัตกรรมต่อไปอาจนำไปสู่การค้นพบสายพันธุ์ใหม่ การนำไปและการประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารใหม่เพื่อส่งเสริมสุขภาพลำไส้และสุขภาพทั่วไป (Bogdan et al., 2018; Nataraj et al., 2020; Quigley, 2010)

พรีไบโอติกส์ เป็นสารอาหารที่ไม่สามารถย่อยด้วยเอนไซม์ในลำไส้ได้ แต่สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตหรือกระตุ้นกิจกรรมของแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ในลำไส้ ซึ่งมักพบในอาหารธรรมชาติ เช่น ธัญพืชเต็มรูปแบบและผลไม้ หรือสามารถเพิ่มเติมเป็นส่วนผสมทางอาหารในอาหารแปรรูป ปัจจุบันพรีไบโอติกส์ถูกใช้ในการเสริมความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์อาหารหลากหลายประเภท เช่น ผลิตภัณฑ์นม เบเกอรี่ และสูตรอาหารเสริมสำหรับทารก อนาคตอาจมีโอกาพัฒนาโพรไบโอติกส์ใหม่ที่มีความสามารถด้านความเข้มข้นและส่วนประกอบที่เพิ่มประสิทธิภาพ รวมถึงสำรวจโอกาสในการใช้งานในหมวดหมู่อาหารที่หลากหลายกว่านี้

โพรไบโอติกส์ เป็นสารอาหารที่ไม่สามารถย่อยด้วยเอนไซม์ในลำไส้ได้ แต่สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโต หรือกระตุ้นกิจกรรมของแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ในลำไส้ โพรไบโอติกส์มักพบในอาหารธรรมชาติเช่นธัญพืชเต็มรูปแบบและผลไม้ หรือสามารถเพิ่มเติมเป็นส่วนผสมทางอาหารในอาหารแปรรูป ในปัจจุบัน โพรไบโอติกส์ ถูกใช้ในการเสริม ความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์อาหารหลากหลายประเภท เช่น ผลิตภัณฑ์นม, เบเกอรี่, และสูตรอาหารเสริมสำหรับทารก อนาคตอาจมีโอกาพัฒนาโพรไบโอติกส์ ใหม่ที่มีความสามารถด้านความเข้มข้นและส่วนประกอบที่เพิ่มประสิทธิภาพ และสำรวจโอกาสในการใช้งานในหมวดหมู่อาหารที่หลากหลายกว่านี้

โพสโตไบโอติกส์ เป็นสารสกัดหรือสารที่เกิดจากกระบวนการของจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์ ในขณะที่เกิดการหมักสารเหล่านี้ประกอบด้วย กรดอินทรีย์, เอนไซม์, โพลีเพปไทด์ และสารอื่น ๆ ที่มีประโยชน์ โพสโตไบโอติกส์

ได้รับ ความสนใจเนื่องจากความสามารถในการส่งเสริมสุขภาพ เช่น ปรับปรุงระบบภูมิคุ้มกัน ลดการอักเสบ และเสริมสร้างการ ทำงานของเส้นเลือดในลำไส้ ในปัจจุบัน โปสโตไบโอติกส์กำลังถูกสำรวจในหลายๆ แง่มุมใน อุตสาหกรรมอาหาร เช่น เป็น สารกันเสียธรรมชาติ สารเพิ่มรสชาติ และส่วนผสมทางอาหารเชิงฟังก์ชัน อนาคตอาจมีการวิจัยเพิ่มเติมเพื่อตรวจสอบ และระบุโอสโตไบโอติกส์ที่เฉพาะเจาะจงและรูปแบบการทำงาน ของพวกเขา รวมถึงการพัฒนาวิธีใหม่ในการผสมผสานใน ผลิตภัณฑ์อาหาร



บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

ในการวิจัยพัฒนาเรื่อง การผลิตโพลีไบโอดีคส์จากเปลือกกระเทียมจีนหมักด้วยโพรไบโอติกส์แลคโตบาซิลลัส เพื่อใช้ประโยชน์ด้านการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในอาหาร มีวิธีการดำเนินการตามขั้นตอนต่อไปนี้

- 3.1 การเตรียมสารสกัดจากเปลือกกระเทียม
- 3.2 การหมักคอมบูชาด้วยสารสกัดเปลือกกระเทียม
- 3.3 การวัดปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด
- 3.4 การวัดปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด
- 3.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของน้ำคอมบูชาด้วยวิธี Agar Diffusion Method
- 3.6 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์
- 3.7 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ
- 3.8 การยืดยอายุการเน่าเสียของมะเขือเทศ

3.1 การเตรียมสารสกัดจากเปลือกกระเทียม

1) การเตรียมเปลือกกระเทียม

ในการเตรียมสารสกัดจากเปลือกกระเทียมเพื่อช่วยในการสกัดสารสำคัญออกจากเปลือกกระเทียมได้มากขึ้น กระเทียมมาล้างทำความสะอาดด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ จากนั้นปล่อยให้แห้งในอุณหภูมิห้อง แยกส่วนเปลือกกระเทียมมาทำการล้างด้วยน้ำกลั่นเพื่อกำจัดสิ่งสกปรกที่ปนเปื้อนก่อน แล้วทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 40°C นำเปลือกกระเทียมแห้ง 60 กรัม มาอบที่อุณหภูมิและความดันสูงสำหรับด้วยไอน้ำความร้อนที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 15 นาที อบต่อที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำเปลือกกระเทียมที่แห้งมาบดแล้วร่อนด้วยตะแกรงขนาด 2 มม. ก่อนเก็บในภาชนะแก้วในที่มืดเพื่อใช้ในขั้นตอนต่อไป

2) การเตรียมสารสกัดเปลือกกระเทียม

การสกัดสารจากเปลือกกระเทียม เริ่มด้วยการนำเปลือกกระเทียมบดประมาณ 20 กรัมในการสกัดแช่ในเอทานอล ร้อยละ 80 (w/v) 100 มิลลิลิตร ทำการเขย่ากวนที่ 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง แล้วนำส่วนสารละลายกรองผ่านผ้ากรองที่ผ่านการฆ่าเชื้อหลายชั้น นำไปทำให้แห้งด้วยการแช่ในไอน้ำความร้อนที่ 60°C แล้วปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 5000 รอบต่อนาที นำสารสกัดเปลือกกระเทียมกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 4 แล้วทำการระเหยตัวอย่างสารสกัดเปลือกกระเทียมให้แห้งด้วยเครื่องระเหยแบบหมุน และทำให้เจือจางด้วย 0.2% Tween 80 น้ำกลั่นผสมให้ได้ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จากนั้นนำสารสกัดกระเทียมหมักคอมบูชา เพื่อการศึกษาการต้านจุลินทรีย์ และการต้านอนุมูลอิสระต่อไป

3.2 การหมักคอมบูชาด้วยสารสกัดเปลือกกระเทียม (Jakubczyk et al., 2000)

เริ่มต้นด้วยการนำ SCOBY ที่ได้จากการหมักคอมบูชาชาดำ ถูกล้างมาเพื่อใช้ในการหมักคอมบูชาที่มีการปรับเปลี่ยนขั้นตอนการหมัก โดยการใส่เปลือกกระเทียมที่ผ่านการอบด้วยไอน้ำ โดยเปลือกกระเทียมจำนวน 10-20 กรัม ที่ถูกหั่นและปั่น ซึ่งถูกแช่ลงใน 20% (w/v) น้ำตาลซูโครส 100 มิลลิลิตร และเติมหัวเชื้อ SCOBY ร้อยละ 0.5-1.0 ของสารละลายกระเทียมและ SCOBY ระหว่างการหมักคอมบูชา ขวดจะถูกปิดด้วยผ้าขาวบาง ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ $35 \pm 2^{\circ}\text{C}$ วัดปริมาณฟีนอลทั้งหมด (TPC) และปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (TFC) ทำซ้ำสามครั้ง

3.3 การวัดปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (Total Phenolic Content, TPC)

การวัดปริมาณ TPC ใช้วิธีตามที่ Olukemi และคณะ (2019) โดยการเตรียมสารละลายตัวอย่างที่เจือจางปริมาณ 0.5 mL และสารละลายรีเอเจนต์ Folin-Ciocalteu ที่ความเข้มข้น 10% ปริมาณ 2.5 mL ลงไปในและผสมให้เข้ากัน ก่อนเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต 7.5% ปริมาณ 2 mL และผสมให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน หลังจากนั้นทิ้งส่วนผสมไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที ก่อนทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-1800, Shimadzu, Japan) ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เมื่อเปรียบเทียบกับสมการมาตรฐานของกรดแกลลิก (gallic acid) เพื่อคำนวณหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด โดยผลลัพธ์แสดงในหน่วยมิลลิกรัมเทียบเท่ากรดแกลลิกต่อ 100 มิลลิลิตร (mg GAE/ 100 mL)

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Gallic acid

การบ่งบอกการเกิดปฏิกิริยาของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยการเทียบกับสารละลายมาตรฐาน Gallic acid ที่ได้จากการวัดค่า มาทำการหามาตรฐานกรดแกลลิก โดยเตรียมกรดแกลลิกที่เข้มข้น 100, 50, 25 และ 0 $\mu\text{g/mL}$ มาผสมกับ 10% Folin-Ciocalteu reagent 100 ไมโครลิตร จากนั้นเติมโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3 เข้มข้น 7% (w/v) 80 ไมโครลิตร สำหรับตัวควบคุมได้จากการเตรียมสารละลายที่ไม่มีสารสกัดฟีนอลิกเข้มข้นเป็นสารละลาย blank (น้ำกลั่น 20 ไมโครลิตร 10% Folin-Ciocalteu reagent 100 ไมโครลิตร โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) เข้มข้น 7% (w/v) 80 ไมโครลิตร) แล้วนำสารผสมที่เตรียมได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงในเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 750 nm ด้วยการทำให้เป็นค่า zero ด้วยการใส่ blank ก่อน เพื่อเป็นตัวเปรียบเทียบ

การเปรียบเทียบและคำนวณปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic compounds)

ทีมผู้วิจัยได้ดัดแปลงวิธีตามที่มีอยู่ให้เหมาะสม คือ เตรียมสารละลายที่ได้จากการหมักเปลือกกระเทียมที่เจือจาง 1:50 มาเติมสารละลาย 10% Folin-Ciocalteu reagent 100 ไมโครลิตร และเติมโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) เข้มข้น 7% (w/v) 80 ไมโครลิตร สารละลายที่ไม่มีสารสกัดฟีนอลิกเข้มข้นเป็น blank ประกอบด้วย น้ำกลั่น 20 ไมโครลิตร 10% Folin-Ciocalteu reagent 100 ไมโครลิตร และโซเดียม

คาร์บอเนต (Na_2CO_3) เข้มข้น 7% (w/v) 80 ไมโครลิตร) ก่อนการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 740 nm คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลในหน่วย mg gallic acid equivalent (GAE)/ g dry weight โดยทำการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรด gallic acid ซึ่งค่าฟีนอลิกทั้งหมดจะใช้เพื่อบ่งบอกการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเปรียบเทียบกับค่าฟีนอลิกจากกระเทียมทั้งหมด ทั้งนี้สารสกัดที่ได้จากการหมักและสกัดด้วยเอทานอลจะทำให้ได้สารสกัดทั้งหมดที่มีสารสำคัญหลากหลาย แต่ในตัวอย่างกระเทียมสดเพื่อใช้เป็นตัวควบคุมจะผ่านการการแช่ maceration ในตัวทำละลายคือน้ำกลั่น สารละลายที่ได้จากการสกัดด้วยการต้มที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ซึ่งทำให้ผลการทดลองที่ได้มาเปรียบเทียบกัน

3.4 การวัดปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total Flavonoid Content, TFC)

การวัดปริมาณ TFC ใช้วิธีตามที่ Tang และคณะ (2019) โดยทำการดูดสารละลายคอมบูชาปริมาณ 250 μL แล้วเติมสารละลายโซเดียมไนไตรท์เข้มข้น 5% ปริมาตร 75 μL และผสมให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 นาที แล้วเติมสารละลายอะลูมิเนียมไนเตรดเข้มข้น 10% ปริมาตร 150 μL และทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอีก 6 นาที ก่อนเติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 โมลาร์ (M) ปริมาตร 500 μL และเติมน้ำกลั่นปริมาตร 1.525 mL หลังจากนั้นทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-1800, Shimadzu, Japan) ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้เปรียบเทียบกับสมการมาตรฐานของรูติน (rutin) เพื่อคำนวณปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด โดยผลลัพธ์จะรายงานในหน่วยมิลลิกรัมเทียบเท่ารูตินต่อ 100 มิลลิลิตร (mgRE/100 mL)

3.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของน้ำคอมบูชาด้วยวิธี Agar Diffusion Method

ในการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของน้ำคอมบูชา จะนำตัวอย่างน้ำคอมบูชาที่มาจากการหมักคอมบูชาและเปลือกกระเทียม และเปรียบเทียบกับตัวอย่างน้ำคอมบูชาอย่างเดียวหรือผสมกับสารสกัดจากเปลือกกระเทียม สำหรับการทดสอบเชื้อจุลินทรีย์บนจานเพาะเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ชนิดแข็ง คือ ใช้ Nutrient Agar สำหรับแบคทีเรีย สำหรับเชื้อยีสต์ที่มีความเข้มข้น 10^7 CFU/mL และ สำหรับแบคทีเรีย ที่ 7.3×10^3 CFU/mL โดยเชื้อที่เตรียมไว้จะถูกนำมาใส่ในรูที่เจาะในวุ้นขนาด 10 มม. บนจานเพาะเชื้อ แล้วทำการหยดน้ำคอมบูชาที่เตรียมไว้ 100 ไมโครลิตรลงในหลุมที่เจาะ หลังจากนั้นปล่อยให้ น้ำคอมบูชากระจายตัวเข้าสู่วุ้นในจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ก่อนทำการบ่มและวิเคราะห์การยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ 30°C และ 37°C สำหรับเชื้อยีสต์และเชื้อแบคทีเรียตามลำดับ

3.6 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ที่เป็นแบคทีเรียและยีสต์ที่ถูกเลือกใช้ในการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ ประกอบด้วย แบคทีเรียแกรมลบและแกรมบวก เชื้อแกรมลบ คือ *Escherichia coli* เชื้อแกรมบวก คือ *Pseudomonas* sp. *Staphylococcus* sp. *Streptococcus* sp. และ *Bacillus* sp. ส่วนเชื้อยีสต์ที่ใช้ทดสอบ คือ *Saccharomyces cerevisiae* EC1118 ได้จากการคัดเชื้อและเก็บรักษาในห้องปฏิบัติการ แล้วนำมากระตุ้นเพาะเลี้ยงใหม่ เริ่มจากการนำจุลินทรีย์ที่ถูกเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -70°C มาเพาะเลี้ยงใหม่ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม อาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อสำหรับกลุ่มเชื้อแบคทีเรีย *E. coli*, *Bacillus* spp., และ *Staphylococcus aureus* ในอาหารชนิด Nutrient broth แล้วทำการบ่มที่อุณหภูมิ $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง ส่วนเชื้อยีสต์เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Broth (PDB) ที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ ก่อนการนำไปศึกษาต่อไป

3.7 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Ivanisová et al., 2020)

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระถูกประเมินโดยการยับยั้งอนุมูลอิสระ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH) (Queiroz et al., 2009) นำสารสกัดกระเทียมหมักคอมบูชาปริมาณ 1 มิลลิลิตรผสมกับสารละลาย DPPH (0.004%) จำนวน 1 มิลลิลิตร และตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดนาน 30 นาที จากนั้นวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรด้วยเครื่อง Spectrophotometer UV-Vis ผลลัพธ์แสดงเป็นมิลลิกรัมของ Trolox ต่อน้ำหนักตัวอย่างแห้ง โดยใช้กราฟมาตรฐานของ Trolox

การทดลองหาเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ (% Inhibitor) ด้วยวิธี DPPH

ทั้งนี้หากต้องการเปรียบเทียบจากตัวอย่างและตัวควบคุมจะปรับขั้นตอนการดำเนินงานนี้ ใช้สารละลาย DPPH 0.6 M จากการชั่งสาร DPPH (MW 394.33 g/mol) 0.002 g ละลายด้วย เอทานอล 5 mL และเตรียมสารละลาย A₀ โดยใช้ DPPH 0.3 mL + Ethanol 15 ไมโครลิตร แล้วเตรียมสารละลาย A₁ โดยใช้สารสกัดตัวอย่าง (เนื้อมะเขือเทศปั่นเป็น 2 หลอดการทดลอง) 15 ไมโครลิตร + Ethanol 15 ไมโครลิตร พร้อมกับการเตรียมสารละลาย A₂ โดยใช้ สารสกัดตัวอย่างที่ได้ปริมาตร 15 ไมโครลิตร + DPPH 0.3 mL ทำการบ่มเพื่อให้เกิดปฏิกิริยา ด้วยการนำสารละลายทั้งหมดตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาทีและวัดค่าการดูดกลืนแสงในเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 517 nm แล้วคำนวณ % Inhibition

3.8 การยีสต์อายุการเน่าเสียของมะเขือเทศ

1) การเตรียมคอมบูชาหมักสารสกัดเปลือกกระเทียมเพื่อฉีดพ่นมะเขือเทศ

สารละลายคอมบูชาหมักด้วยสารสกัดเปลือกกระเทียมที่ความเข้มข้น 100 mg/mL นำมาเจือจางโดยการผสมกับน้ำกลั่นในร้อยละ 2, 4, และ 6 (ปริมาณ 2 4 และ 6 mL) แล้วเติม Tween 20 ในอัตราส่วนร้อยละ 0.2 นำที่ได้ไปฉีดพ่นบนผิวผลมะเขือเทศจำนวน 5 ผลให้ทั่ว แล้วปล่อยให้แห้งก่อนนำผลมะเขือเทศไปทดสอบคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ (physico-chemical analysis)

2) การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีกายภาพ (Rangana, 1986; Rathore et al., 2007)

การสูญเสียน้ำหนักตามสรีรวิทยา (Physiological Loss in Weight; PLW):

การสูญเสียน้ำหนักตามสรีรวิทยาของมะเขือเทศถูกคำนวณหลังจากการเก็บทุก 3 วันตลอดระยะเวลา 21 วัน และแสดงผลเป็นเปอร์เซ็นต์ตามสูตรที่ใช้จาก AOAC (2000) ดังนี้

$$PLW (\%) = \frac{\text{น้ำหนักเริ่มต้น} - \text{น้ำหนักสุดท้าย}}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น}} \times 100$$

ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total Soluble Solids; TSS)

TSS ของตัวอย่างมะเขือเทศสดและแห้ง (หลังจากการคั้นสภาพ) ถูกวัดโดยใช้เครื่องหักเหแสง (Refractometer) ของ Erma Hand โดยผลลัพธ์ถูกแสดงเป็น Brix (°B) และมีการปรับแก้ค่าเพื่อชดเชยความผันแปรของอุณหภูมิตามมาตรฐาน AOAC (2000)

ความเป็นกรด (Titratable Acidity; TA)

TA ถูกวัดโดยการไทเทรตตัวอย่างด้วยสารละลาย NaOH 0.1 N โดยใช้ phenolphthalein เป็นสารบ่งชี้จนถึงจุดสิ้นสุด (end point) ซึ่งเปลี่ยนเป็นสีชมพู ผลการวิเคราะห์จะแสดงเป็นเปอร์เซ็นต์ของกรดมาลิก (malic acid) ตามสูตร:

$$\text{Titratable Acidity (\%)} = \frac{\text{ปริมาตร NaOH} \times \text{Normality} \times \text{น้ำหนักสมมุติของกรด}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (Total Sugars)

ปริมาณน้ำตาลในตัวอย่างถูกวัดโดยใช้วิธี Phenol-Sulphuric acid (Sadasivam and Manickam, 1991) โดยการสกัดตัวอย่างด้วยเอทานอล 80% จากนั้นทำการวัดความหนาแน่นของสารละลายที่ได้โดยใช้เครื่อง Spectronic-20 ที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร

การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ทางสถิติ ($\alpha = 0.05$) ถูกดำเนินการโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA)

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

จากการดำเนินงานวิจัยเรื่อง การผลิตโพรไบโอติกส์จากเปลือกกระเทียมจีนหมักด้วยโพรไบโอติกส์แลคโตบาซิลลัส เพื่อใช้ประโยชน์ด้านการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในอาหาร ทีมผู้วิจัยได้ทำการศึกษาโดยมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

- 4.1 การคัดเลือกและพัฒนาเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มโพรไบโอติกส์ให้มีประสิทธิภาพ
- 4.2 การศึกษาพัฒนากระบวนการหมักเปลือกกระเทียมด้วยเชื้อโพรไบโอติกส์
- 4.3 การศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพด้านการยับยั้งจุลินทรีย์และการป้องกันการเน่าเสียในอาหาร

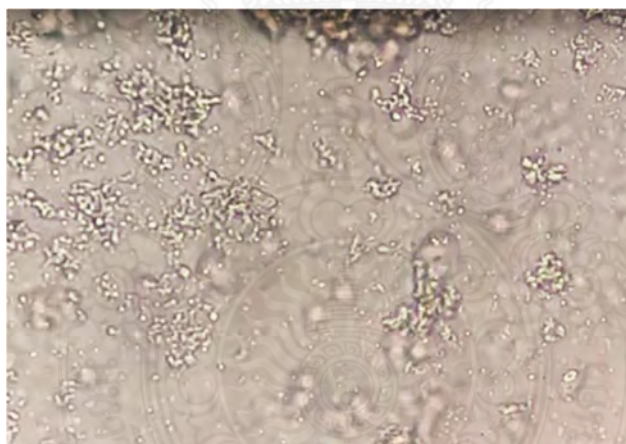
ในการพัฒนาศักยภาพกระบวนการหมักของเชื้อโพรไบโอติกส์ชนิดสร้างกรดแลคติกให้ย่อยสลายวัตถุดิบเปลือก กระเทียม (การควบคุมเงื่อนไขที่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรดต่าง และเวลาที่เหมาะสม เพื่อสร้าง สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม เช่น การเพิ่มเติมสารอาหาร สร้างสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโต แล้วทำการหมักเพื่อสร้างโพรไบโอติกส์และแยกสารโพรไบโอติกส์ตามสภาวะที่เหมาะสม เพื่อให้ได้โพรไบโอติกในปริมาณมาก งานการวิจัยนี้ได้ทำการหมักสารสกัดกระเทียมในคอมบูชาด้วยกระบวนการที่พัฒนาในห้องปฏิบัติการ (ไม่แสดงผลในการศึกษานี้) คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีที่ได้จากน้ำคอมบูชาไม่แตกต่างจากคอมบูชาที่หมักด้วยน้ำชาตัวควบคุม แต่มีคุณสมบัติทางชีวภาพที่แตกต่างไปจากคอมบูชา โดยมีผลการศึกษาดังนี้

4.1 การคัดเลือกและพัฒนาเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มโพรไบโอติกส์ให้มีประสิทธิภาพ

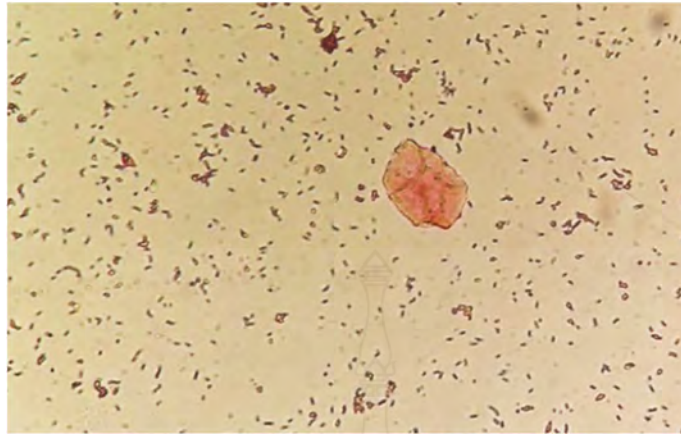
การคัดเลือกและพัฒนาเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มโพรไบโอติกส์ เพื่อให้มีประสิทธิภาพในการผลิตสารโพรไบโอติกส์ และสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค จากการเตรียมเชื้อโพรไบโอติกส์ชนิดสร้างกรดแลคติก (Lactic acid bacteria) จากแหล่งกิมจิ แหล่งข้าวหมาก และเครื่องดื่มประเภทอาหารเสริมทางการค้าที่มีการเสริมด้วยโพรไบโอติกส์ที่เหมาะสม เพื่อที่สามารถบ่งบอกคุณสมบัติการเป็น probiotics และความสามารถในการเจริญเติบโตในอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ที่มีวัตถุดิบเปลือกกระเทียมได้ จากผลการทดลองพบว่า สามารถเพาะเลี้ยงได้ กลุ่มจุลินทรีย์ที่มีลักษณะท่อน และกลม ดังแสดงได้ในภาพที่ 4.1—4.3 บ่งบอกการเจริญเติบโตของเชื้อโพรไบโอติกส์ที่ได้จากการมีกระเทียมและเปลือกกระเทียมในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่จำเป็นต้องมีการเติม 0.5% glucose ช่วยเร่งการเจริญเติบโตได้ดี และภายใน 10-12 ชั่วโมง ที่ 32-35°C มีผลแสดงในรูปแบบและผลกราฟการเจริญเติบโต

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของโพรไบโอติก 3 สายพันธุ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่มีและไม่มี glucose 0.5% (ภาพที่ 4.4—4.5) ทั้งสามสายพันธุ์ 1, 2, และ 3 ในสภาวะที่มี MRS ที่มีและไม่มี glucose

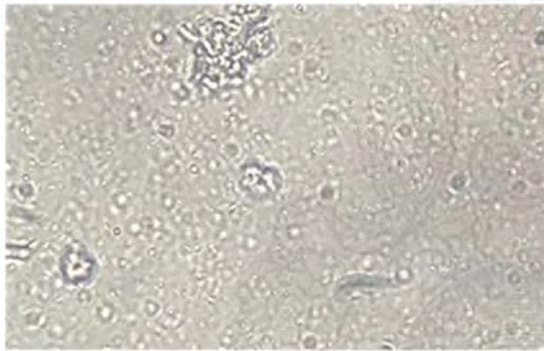
พบว่า สายพันธุ์ 2 (สีส้ม) มีการเจริญเติบโตสูงสุดในสภาวะที่มี MRS กับ 0.5% glucose โดย optical density ขึ้นสูงสุดประมาณ 2 ที่ชั่วโมงที่ 5 และ สายพันธุ์ 3 (สีฟ้าอ่อน) และ สายพันธุ์ 1 (สีฟ้าเข้ม) มีการเจริญเติบโตค่อนข้างคงที่ที่ค่า OD ประมาณ 0.5 ไม่ว่าจะ เป็นสภาวะที่มีหรือไม่มี glucose ผลจากการ treat ด้วย MRS without glucose (สีเขียว) แสดงการเจริญเติบโตที่ช้าลงในทุกสายพันธุ์ ผลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่า สายพันธุ์ 2 มีความไวต่อการเพิ่มขึ้นของ glucose และสามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วในสภาวะที่มีอาหารเสริมดังกล่าว ในขณะที่ สายพันธุ์ 1 และ 3 ไม่ได้แสดงการเติบโตมากนักในสภาวะทั้งที่มีและไม่มี glucose ซึ่งอาจแสดงถึงข้อจำกัดในการใช้ประโยชน์จาก glucose ในการเจริญเติบโต สภาวะ MRS without glucose ส่งผลให้การเจริญเติบโตของทุกสายพันธุ์ลดลงอย่างชัดเจน เนื่องจากการขาดแหล่งพลังงานสำคัญจากภาพ 4-5 จะเห็นได้ว่า จุลินทรีย์แบคทีเรียชนิดสายพันธุ์ 1 และ 2 มีการเจริญเติบโตที่ตอบสนองต่อสภาพแวดล้อมต่างกัน โดยสายพันธุ์ 1 เจริญเติบโตได้ดีในสภาวะที่มี glucose 1.5% ในขณะที่สายพันธุ์ 2 ตอบสนองดีในสภาวะที่มี MRS กับ glucose 0.5% แต่สายพันธุ์ 3 ค่อนข้างทนในทุกสภาวะ โดยมีผลการตอบสนองที่น้อยในทุกสภาวะ ง่ายในการนำไปใช้พัฒนาต่อไป



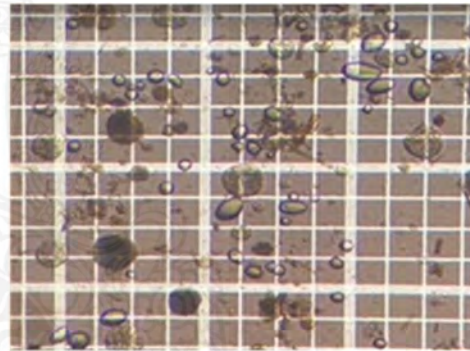
ภาพที่ 4.1 ตัวอย่างของเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Bacilli* จากกิมจิ (strain 1, KM-43)



ภาพที่ 4.2 ตัวอย่างของเชื้อแบคทีเรียกลุ่ม *Bifidobacteria* จากแหล่งอาหารเสริม Probiotics (strain 3, Gt-37)

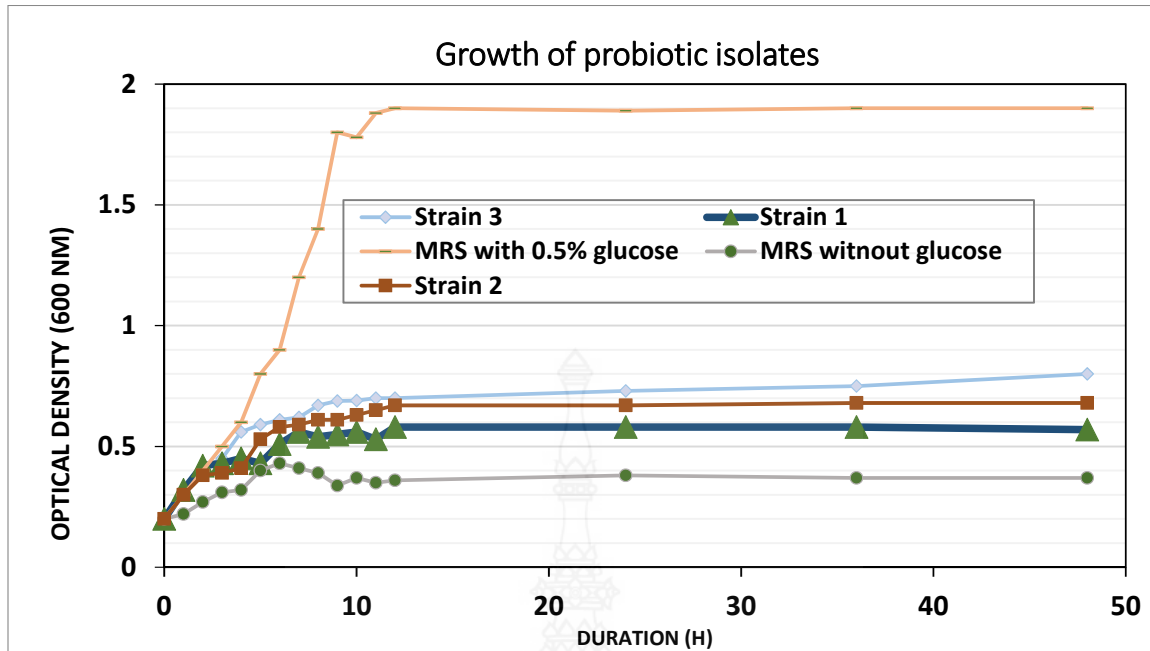


(ก)

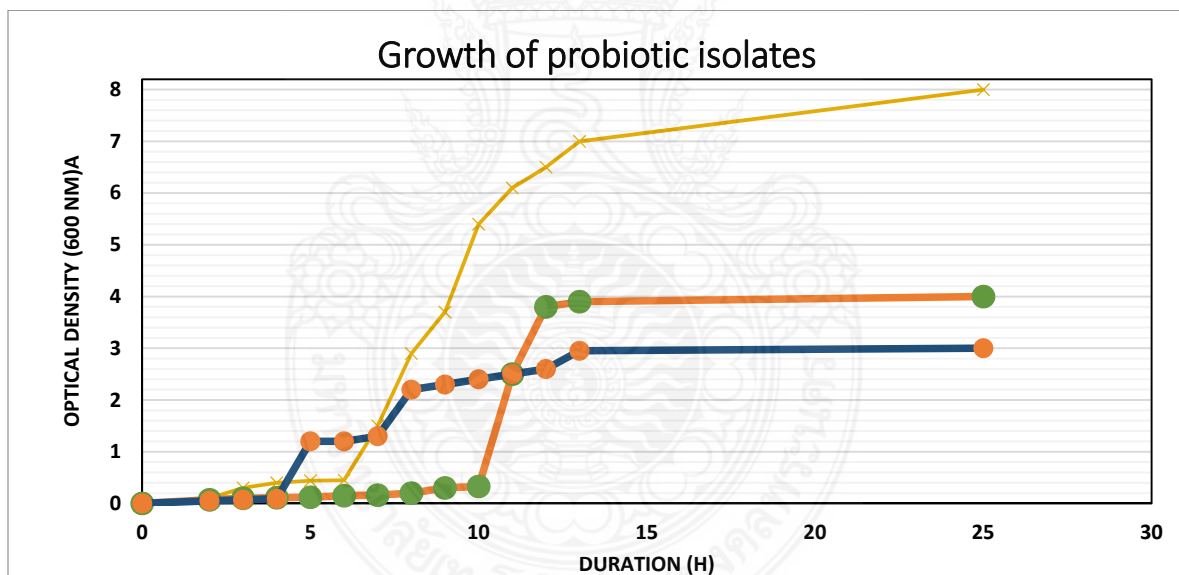


(ข)

ภาพที่ 4.3 ตัวอย่างของเชื้อแบคทีเรีย (strain 3) (ก) และยีสต์ (ข) จากข้าวหมาก (RF-18)



ภาพที่ 4.4 การเจริญเติบโตของ Probiotic 3 สายพันธุ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่มีและไม่มีกลูโคส



ภาพที่ 4.5 สภาวะของการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียสร้างกรดบรืสุทธิ จากอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่มีเปลือกกระเทียมและเนื้อกระเทียมร้อยละ 1.5 ในสภาวะมีและไม่มี glucose (เส้นสีม่วง สีแดง และสีเขียว คือ strain 1, 3, และ 2 ตามลำดับ)

4.2 การศึกษาพัฒนากระบวนการหมักเปลือกกระเทียมด้วยเชื้อโพรไบโอติกส์ให้ได้สารโพลีโอบีโติกส์ที่มีประสิทธิภาพ

การศึกษาคุณสมบัติการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ

ในกระเทียมและเปลือกมีสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นสารประกอบ phenols ด้วยคุณสมบัติการสร้างสารฟีนอลจากเปลือกกระเทียม จะเป็นส่วนสำคัญ เพราะช่วยบ่งบอกคุณสมบัติที่ดีของการต้านอนุมูลอิสระที่มาจากเปลือกกระเทียมที่ส่งผลเพิ่มในกระบวนการหมักprobiotics ทำให้ส่วนใหญ่ของสารสำคัญที่ผลิตจากเชื้อprobiotics ช่วยกันสร้างสารชนิด Postbiotics สารที่ได้เป็นสารประกอบมากมายหลายชนิด ที่มาจากสารที่ถูกย่อยแล้วเปลี่ยนแปลงไป

ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic compounds) ในเปลือกกระเทียมหมัก

จากการศึกษานี้ทีมผู้วิจัยได้ดัดแปลงวิธีตามที่มีอยู่ให้เหมาะสม เมื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 740 nm คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลในหน่วย mg gallic acid equivalent (GAE)/ g dry weight จากการเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรด gallic acid ซึ่งค่าฟีนอลิกทั้งหมดจะใช้เพื่อบ่งบอกการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเปรียบเทียบกับค่าฟีนอลิกจากกระเทียมทั้งหมด ทั้งนี้สารสกัดที่ได้จากการหมักและสกัดด้วยเอทานอลจะทำให้ได้สารสกัดทั้งหมดที่มีสารสำคัญหลากหลาย แต่ในตัวอย่างกระเทียมสดเพื่อใช้เป็นตัวควบคุมจะผ่านการการแช่ maceration ในตัวทำละลายคือ น้ำกลั่น สารละลายที่ได้จากการสกัดด้วยการต้มที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ซึ่งทำให้ผลการทดลองที่ได้มาเปรียบเทียบกับกัน

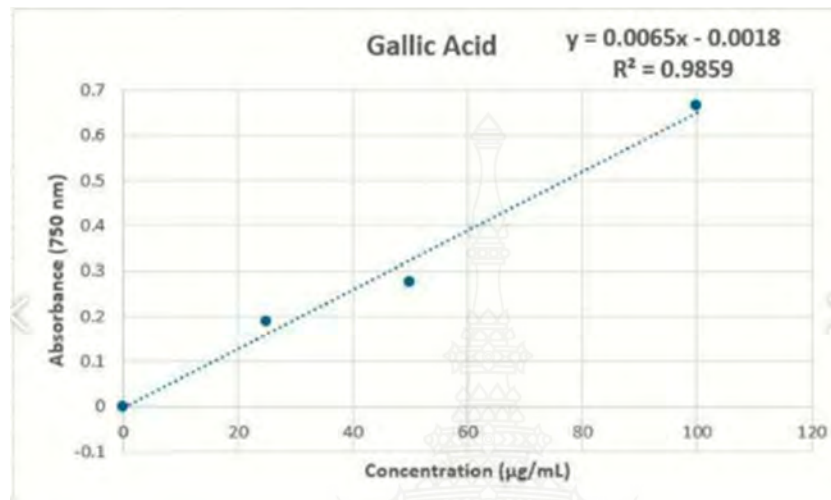
การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ DPPH

ในกระบวนการหมักเปลือกกระเทียมจีนนี้ ได้เลือกวิธีที่สามารถใช้บ่งบอกการต้านอนุมูลอิสระ ด้วยการวิเคราะห์ DPPH radical scavenging activity การออกฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่มาจากการสกัดเปลือกกระเทียมที่ผ่านการหมัก สารต้านอนุมูลอิสระตามแหล่งที่มา คือ ได้จากธรรมชาติของเปลือกกระเทียมเองและรวมถึง สารพวกวิตามิน และสารที่มาจากจุลินทรีย์ที่อยู่ในกระบวนการหมักและการเปลี่ยนสารธรรมชาติให้สารที่มีคุณภาพในกลุ่ม phenol เพิ่มมากขึ้น หรือคงอยู่โดยไม่เสื่อมสลายไปในระหว่างกระบวนการหมัก

นอกจากนั้น ทีมผู้วิจัยยังได้ทำการศึกษาสารเคมีองค์ประกอบหลักที่ได้ เช่น วิตามินซี วิตามินอี และรวมถึงสารที่ไม่มีคุณค่าทางโภชนาการ (non-nutrient) ที่มีโครงสร้างเป็นสารประกอบ phenolic พวก Polyphenols พวก Flavonoids ที่มีหมู่ aromatic hydroxyl และมี functional group ที่ทำหน้าที่ดักจับอนุมูลอิสระ ยับยั้งไม่ให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ยับยั้งการเกิดอนุมูล OH. ในปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาของสารประกอบเชิงซ้อน ระหว่างโลหะทรานซิชัน ชนิด ที่ Fe^{2+} และ Cu^{2+} เป็นตัวเหนี่ยวนำ

การเตรียมสารละลายมาตรฐาน Gallic acid เพื่อคำนวณหาปริมาณ total gallic acid

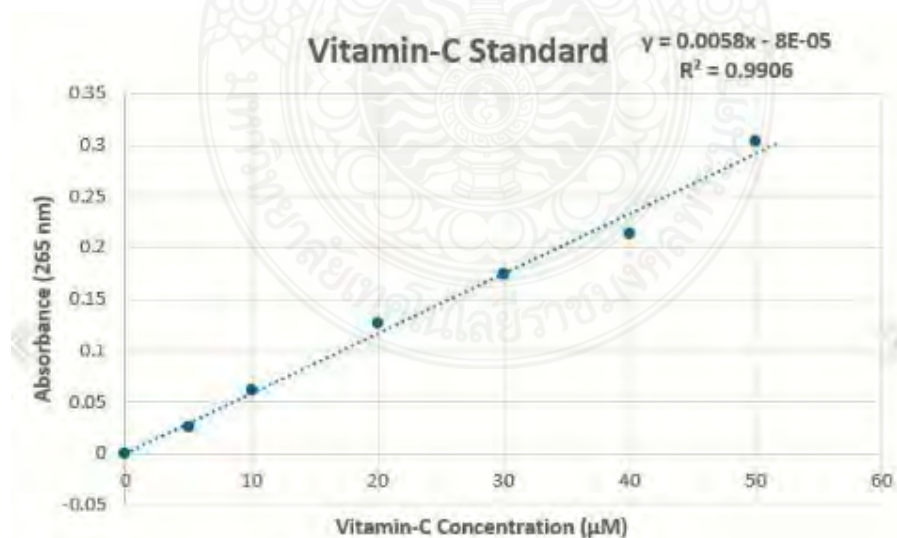
ในการศึกษานี้ ทีมผู้วิจัยได้ทำการบ่งบอกการเกิดปฏิกิริยาของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยการเทียบกับสารละลายมาตรฐาน Gallic acid ที่ได้จากการวัดค่า มาทำกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก จากการศึกษาดังกล่าวนี้จะเห็นได้ว่า กราฟสารละลายมาตรฐาน gallic acid ที่แสดงได้ดังภาพที่ 4.6



ภาพที่ 4.6 ค่ามาตรฐานของความเข้มข้น Gallic acid เพื่อใช้ในการศึกษา Phenolic compound

ปริมาณการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) จากปริมาณของวิตามินซี Ascorbic acid

จากการทดสอบ standard ปริมาณการต้านอนุมูลอิสระ ที่มีวิตามินซีอยู่ แล้วเปรียบเทียบกับกราฟของสารละลายมาตรฐานวิตามินซี จากเปลือกกระเทียมที่ได้ จากภาพที่ 4.7



ภาพที่ 4.7 ค่ามาตรฐานของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจาก ascorbic acid เพื่อใช้ศึกษาความสามารถต้านอนุมูลอิสระของเปลือกกระเทียม

การทดลองหาเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ (% Inhibitor) ด้วยวิธี DPPH

คุณสมบัติของเปลือกกระเทียมในการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกรวม (TPC) ถูกประเมินโดยใช้สารสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 80 พร้อมกับ ทดสอบด้วย 2,2-ไดเฟนิล-1-พิกริลไฮดราซิล (DPPH), การทดสอบ Folin–Ciocalteu (FC) ตามลำดับ ด้วยการใช้แกลลิก (gallic acid, GA) เป็นมาตรฐาน ปริมาณ TPC และคุณสมบัติด้านการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดเปลือกกระเทียมจากการหมักด้วยแบคทีเรีย *Lactobacilli* ให้ผลดังนี้ คือ ค่า gallic acid อยู่ในช่วง 9.49 - 22.5 มิลลิกรัม GAE/กรัม (DM) และ 15.95% ถึง 35.55% ตามลำดับ ซึ่งบ่งบอกถึงปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟีนอลิกรวม สูงกว่าส่วนเนื้อกระเทียมจีนเล็กน้อย (7.58 - 11.09 GAE/กรัม (DM) และ 10.88% – 29.71%)

คุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของคอมบูชาหมักสารสกัดเปลือกกระเทียม

จากผลการทดลองจากตารางผลการศึกษาแสดงจากตารางที่ 4.1 แสดงถึงคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของคอมบูชาและคอมบูชาหมักสารสกัดเปลือกกระเทียม พบว่าปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) ของคอมบูชาผสมกระเทียม (90.55 ± 10.1 mg GAE/100 mL) มีค่าสูงกว่าคอมบูชาธรรมดา (89.43 ± 12.0 mg GAE/100 mL) เพียงเล็กน้อย ซึ่งแสดงให้เห็นว่าการเติมกระเทียมไม่ได้ส่งผลต่อปริมาณสารฟีนอลิกที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (TFC) ของคอมบูชาผสมกระเทียม (55.97 ± 8.5 mg RE/100 mL) มีค่าสูงกว่าคอมบูชาธรรมดา (48.80 ± 7.8 mg RE/100 mL) อย่างชัดเจน ซึ่งแสดงว่าการมีสารสกัดเปลือกกระเทียมในสูตรผสมทำให้คอมบูชาที่มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 4.1 คุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของคอมบูชาผสมสารสกัดเปลือกกระเทียม (Total phenolic content และ Total Flavonoid content)

Sample Types	Total Phenolic Content (mg GAE/100 mL)	Total Flavonoid Content (mg RE/100 mL)
Kombucha	89.43 ± 12.0	48.80 ± 7.8
Kombucha + garlic	90.55 ± 10.1	55.97 ± 8.5

ผลการทดสอบเบื้องต้นดังกล่าว จากกระบวนการหมักเปลือกกระเทียมเพื่อให้ได้สารสกัดในกลุ่มโอสไบโอติกส์ (postbiotics) แสดงให้เห็นถึงคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีที่มีความสำคัญ เปลือกกระเทียมซึ่งมักถูกทิ้งเป็นขยะในระหว่างการเตรียมอาหาร เป็นแหล่งสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบกลุ่มฟีนอลิก เมื่อทำการหมักในสภาพกรดแบบไม่ใช้ออกซิเจนด้วยเชื้อ Lactic acid bacteria (กลุ่ม Probiotics) พบว่ามีการผลิตสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณที่สูงขึ้น โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารในกลุ่มโอสไบโอติกส์ที่มีคุณสมบัติใน

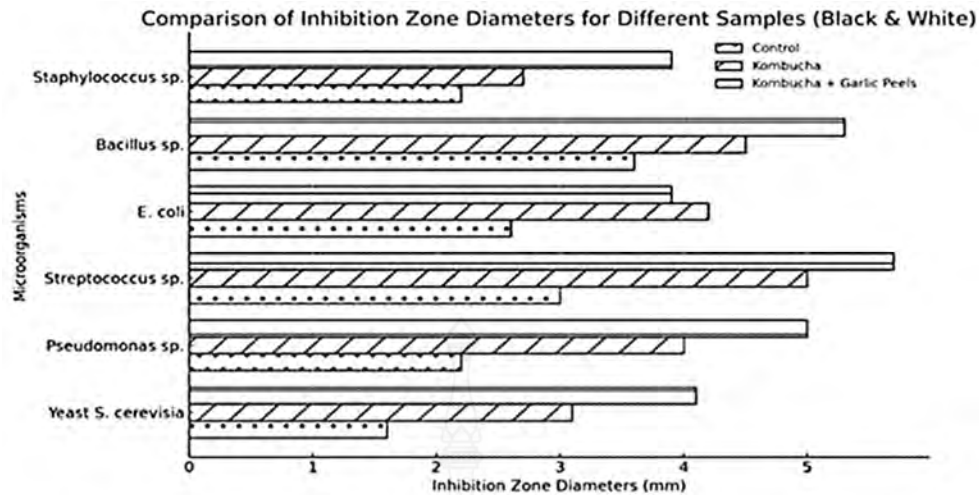
การต้านการออกซิเดชัน นอกจากนี้ สารสกัดจากเปลือกกระเทียมหลังการหมักยังมีปริมาณสารโพลีฟีนอลสูง โดยสารสำคัญเช่น กรดแกลลิก คาเตคิน เอพิกาเตคิน และเคอร์เซติน ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่ามีประสิทธิภาพสูง ในการต้านอนุมูลอิสระ และจากการทดสอบการต้านการออกซิเดชันด้วยสารเคมี DPPH (2,2'-ไดเฟนิล-1-พิกะริลไฮดราซิล) พบว่าสารสกัดจากเปลือกกระเทียมมีประสิทธิภาพสูงกว่าการใช้เนื้อกระเทียม ในขณะที่การเลือกใช้วิธี ABTS (2,2'-อะซีโน-บิส(3-เอทิลเบนโซอิล-6-ซัลฟอนิกแอซิด) ไม่ได้ถูกนำมาใช้ในการทดสอบ ครั้งนี้ นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยสนับสนุนว่า สารโพลีฟีนอลจากเปลือกกระเทียมสามารถยับยั้งเอนไซม์ไลพิดเพอออกซิเดชันของไขมันได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งช่วยลดความเสียหายของเซลล์และป้องกันการเกิดโรคต่าง ๆ เปลือกกระเทียมเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระและสารต้านการออกซิเดชันที่มีศักยภาพ แม้ว่าปริมาณของสารเหล่านี้อาจไม่แตกต่างจากเนื้อกระเทียมมากนัก แต่ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของเปลือกกระเทียมสามารถเพิ่มขึ้นได้ตามเทคนิคการหมักและวิธีการประมวลผล

ทั้งนี้สารสกัดจากเปลือกกระเทียมที่ได้มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและมีประสิทธิภาพในการต้านการออกซิเดชัน ทั้งยังมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับกรดแอสคอร์บิก (ascorbic acid) ซึ่งเกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมัก ผลลัพธ์นี้ชี้ให้เห็นถึงศักยภาพของสารสกัดในการเป็นสารต้านจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ สำหรับขั้นตอนต่อไปคือการหมักคอมบูชาและเติมเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้พร้อมทั้งการใช้สารสกัดเปลือกกระเทียมที่ได้ถูกขยายสู่ระดับการผลิตแบบ large scale เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตีนและน้ำตาลที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมัก เพื่อพัฒนานำไปใช้เป็นสารสำคัญในการต้านจุลินทรีย์ก่อโรคในผลิตภัณฑ์อาหารต่อไป

4.3 การศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพด้านการยับยั้งจุลินทรีย์และการป้องกันการเน่าเสียในอาหารของสารโพลีโบโอติกส์ที่ได้จากกระบวนการหมักกระเทียมด้วยเชื้อโพรไบโอติกส์

4.3.1 คุณสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค

จากการเปรียบเทียบขนาดของโซนยับยั้งจุลินทรีย์แบคทีเรียในกลุ่มแกรมลบ แกรมบวกและเชื้อยีสต์ ซึ่งเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่พบทั่วไปในธรรมชาติ จากกราฟภาพที่ 4.8 แสดงได้ว่าคอมบูชาผสมกระเทียมมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ (*Pseudomonas* sp. และ *E. coli*) ได้ดีกว่าคอมบูชาปกติ โดยมีขนาด zone of inhibition ประมาณ 4.5-5 มม. ในขณะที่แบคทีเรียแกรมบวก (*Staphylococcus* sp., *Bacillus* sp., *Streptococcus* sp.) ถูกยับยั้งที่ไม่แตกต่างกันในตัวอย่างคอมบูชาทั้งสองแบบ แต่ทั้งนี้คอมบูชาผสมกระเทียมยังมียุทธินภาพที่สูงกว่าเล็กน้อย โดยเฉพาะใน *Streptococcus* sp. ที่มี zone of inhibition ประมาณ 4.2 มม. เมื่อเทียบกับ 3 มม. ของคอมบูชาปกติ ส่วนในกรณียีสต์ (*S. cerevisiae*) การยับยั้งมีขนาดเล็กที่สุด โดยคอมบูชาผสมกระเทียมมีขนาด zone of inhibition ประมาณ 1.5 มม. ซึ่งเห็นได้ว่าคอมบูชาผสมกระเทียมมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียและยีสต์หลายชนิด



ภาพที่ 4.8 ความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคของคอมบูชาหมักสารสกัดเปลือกกระเทียม

จากผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.2 แสดงถึงคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของคอมบูชาหมักเปลือกกระเทียม โดยชี้ให้เห็นว่าการฉีดพ่นสารละลายคอมบูชาหมักด้วยสารสกัดเปลือกกระเทียม สามารถช่วยยืดอายุการเก็บรักษามะเขือเทศและชะลอการเสื่อมคุณภาพได้อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับการฉีดพ่น การลดลงของความเป็นกรด (TA) ในกลุ่มที่ฉีดพ่นเกิดขึ้นอย่างช้า ๆ แสดงให้เห็นว่าการฉีดพ่นสารละลายคอมบูชาช่วยชะลอกระบวนการสุกและเสื่อมสภาพของมะเขือเทศได้ดี นอกจากนี้ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) และปริมาณน้ำตาลที่เพิ่มขึ้นในกลุ่มที่ฉีดพ่นน้อยกว่ากลุ่มควบคุม ที่บ่งบอกถึงการคงคุณภาพของผลมะเขือเทศในช่วงการเก็บรักษา

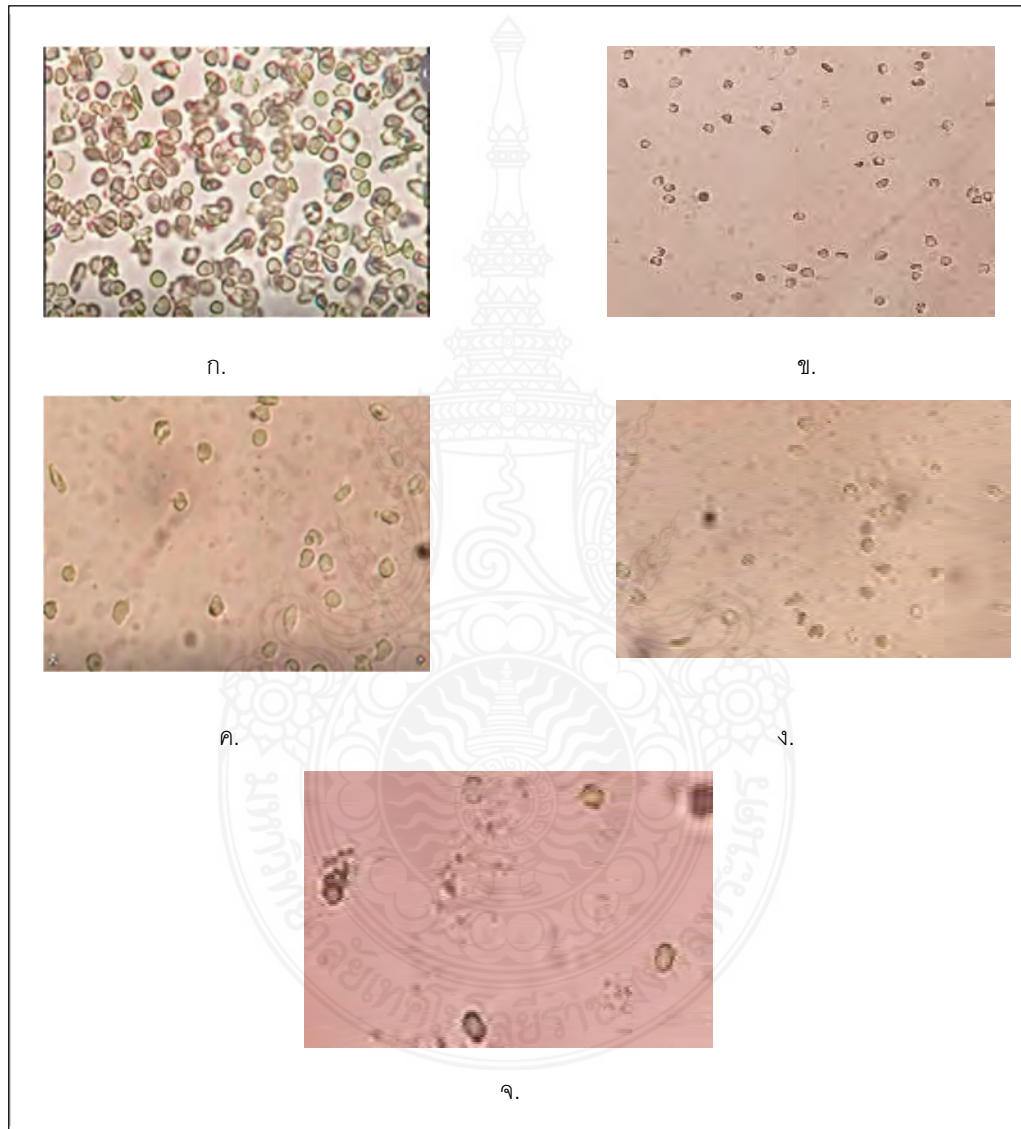
ตารางที่ 4.2 คุณสมบัติทางกายภาพและเคมีของคอมบูชาหมักเปลือกกระเทียม

	TSS (°Brix)		Titrate acidity (%)		Total sugars (%)		Ascorbic acid (mg/100 g)	
Storage day	Control	Kb+Garlic Peels	Control	Kb+Garlic Peels	Control	Kb+Garlic Peels	Control	Kb+Garlic Peels
0	4.1	3.8	0.604	0.763	1.7	1.76	14.44	14.4
3	4.3	3.2	0.764	0.734	1.86	1.79	13.28	14.62
6	3.9	3.2	0.651	0.754	1.99	1.88	11.76	12.78
9	4.2	3.9	0.607	0.634	2.11	1.92	12.04	13.41
12	4.9	4.5	0.432	0.592	2.25	2.07	9.88	10.76
15	4.8	4	0.372	0.406	2.32	2.09	8.64	10.61
18	5.7	5	0.346	0.444	2.52	2.16	8.42	9.02
21	4.5	4.3	0.3	0.402	2.58	2.28	7.65	8.76

Kb+Garlic Peels หมายถึง คอมบูชาหมักสารสกัดเปลือกกระเทียม

4.3.2 ความเป็นพิษต่อเม็ดเลือดแดง

จากการทดสอบความเป็นพิษของคอมบูชาหมักสารสกัดเปลือกกระเทียมที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 50-200 mg/mL เมื่อสังเกตผ่านไดกล้องจุลทรรศน์ light compound microscope พบว่า เม็ดเลือดแดงหมูเมื่อผสมกับคอมบูชาหมักสารสกัดเปลือกกระเทียมที่ความเข้มข้นสูงถึง 200 mg/mL จะเริ่มมีการบวม แตกภายใน 30 min ภาพที่ 4.9ข.-ง. แต่ที่ความเข้มข้นน้อยกว่านี้ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของขนาดและรูปร่างของเซลล์เม็ดเลือดแดง

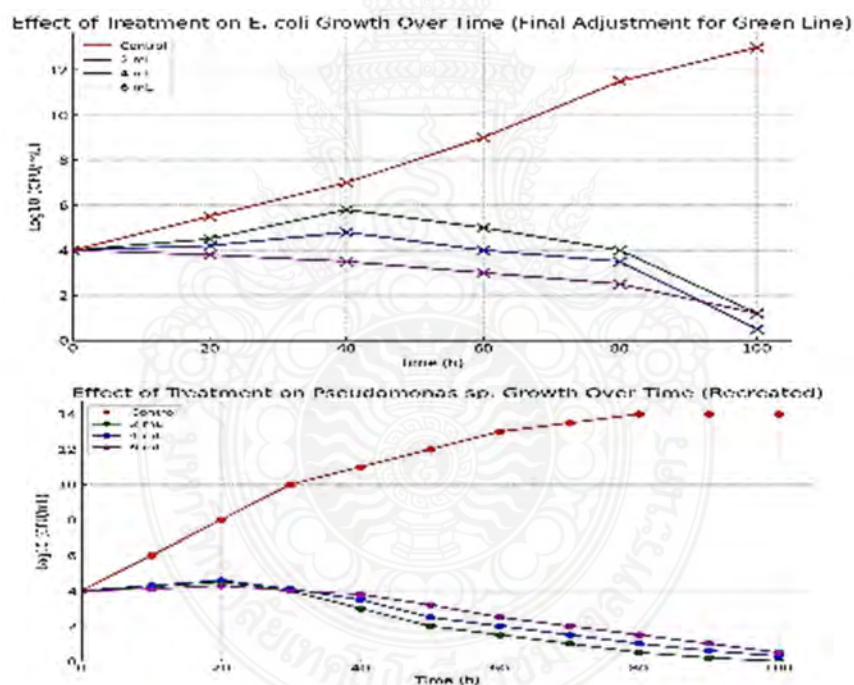


ภาพที่ 4.9 ความเป็นพิษของคอมบูชาต่อเม็ดเลือดแดงหมูที่ความเข้มข้น 200 mg/ mL ก. ตัวควบคุม เม็ดเลือดแดงที่ไม่ผ่านการ treatment (ก) ผ่านการ treatment 5 min ที่กำลังขยาย 100 X (ข) treatment 10 min ที่กำลังขยาย 400 X (ค) treatment 30 min ที่กำลังขยาย 400 X (ง) และ ที่ความเข้มข้น 50 mg/mL treatment 30 min

4.3.3 การยับยั้งการก่อโรคเน่าของมะเขือเทศ

ในการประยุกต์ใช้คอมบูชาหมักด้วยสารสกัดเปลือกกระเทียมในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย ที่เป็นสาเหตุการเน่าเสียของผลไม้มะเขือเทศ จากผลการทดลองแสดงในภาพที่ 10 แสดงว่า คอมบูชาหมักสารสกัดเปลือกกระเทียม ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ มีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Pseudomonas* sp. และ *E. coli* ซึ่งเป็นเชื้อหลักก่อโรคที่ทำให้เกิดการเน่าเสียหลังการเก็บเกี่ยว โดยกลุ่มควบคุมมะเขือเทศตัวควบคุมไม่ได้มีการฉีดยาด้วยคอมบูชาพบว่าการเจริญเติบโตของเชื้อเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว มีความเข้มข้นของเชื้อดังกล่าวในระดับ Log 10 CFU/mL สูงถึง 14 ภายใน 100 ชั่วโมง (ไม่เกิน 3 วัน) ในขณะที่กลุ่มทดลองมะเขือเทศที่ได้รับการฉีดยาด้วย คอมบูชาหมักสารสกัดเปลือกกระเทียม ในปริมาณ 2 มิลลิตร, 4 มิลลิตร และ 6 มิลลิตร สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้ออย่างมีนัยสำคัญ โดยเฉพาะกลุ่มที่ใช้ คอมบูชาหมักสารสกัดเปลือกกระเทียม 6 มิลลิตรหรือประมาณ 600 mg ของน้ำหนักแห้งของคอมบูชาหมักกระเทียม สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงสุด ด้วยความสามารถลดจำนวนของเชื้อ *Pseudomonas* จนเหลือระดับต่ำสุดภายในช่วง 40-60 ชั่วโมงของการทดลอง และสำหรับ *E. coli* ภายใน 100 ชั่วโมง

ก.



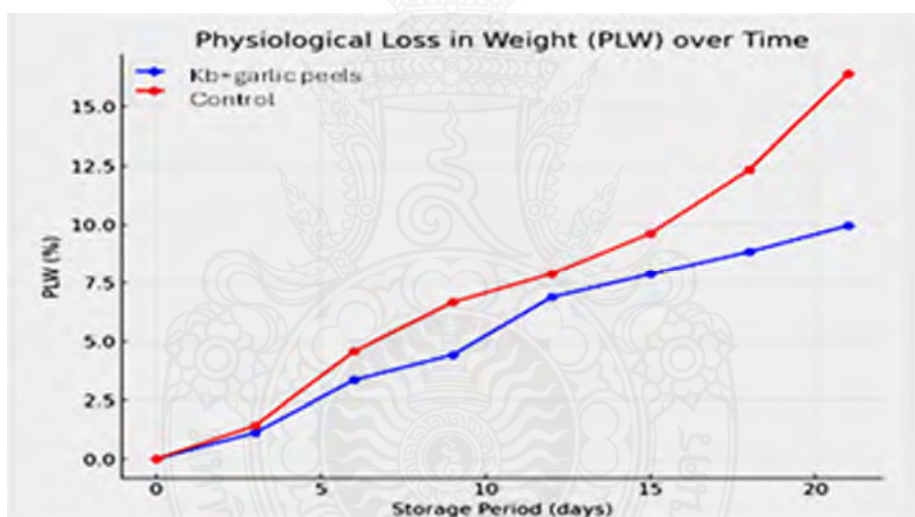
ข.

ภาพที่ 4.10 ความสามารถในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคเน่า *Psuedomonas* sp. (ก) และ *E. coli* (ข)

4.3.4 การชะลอการเสื่อมสภาพทางกายภาพของมะเขือเทศ (Physiological Loss in Weight หรือ PLW)

ในการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพของมะเขือเทศหลังจากการฉีดยาด้วย คอมบูชาหมักสารสกัดเปลือกกระเทียม (Kb+garlic peels) เพื่อบ่งบอกความสามารถในการชะลอการเสื่อมสภาพทางกายภาพของมะเขือเทศ ผลจากการเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มมะเขือเทศที่ฉีดยาและกลุ่มมะเขือเทศควบคุมดังแสดงกราฟภาพที่ 4.11 เห็นได้ว่า มะเขือเทศควบคุม (เส้นสีแดง) มีการสูญเสียน้ำหนัก (PLW) เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วเมื่อเทียบกับกลุ่มที่ใช้สารคอมบูชาหมักสารสกัดเปลือกกระเทียม (เส้นสีน้ำเงิน) โดยเฉพาะหลังจากช่วง 10 วันไปแล้ว กลุ่มควบคุมมีค่า PLW สูงกว่าอย่างชัดเจน ซึ่งบ่งบอกว่าเกิดการเสื่อมสภาพของมะเขือเทศมากขึ้นในกลุ่มนี้ ในขณะที่มะเขือเทศที่ใช้คอมบูชาหมักกระเทียมมีการสูญเสียน้ำหนักต่ำกว่า แสดงให้เห็นว่าการใช้คอมบูชาผสมสารสกัดเปลือกกระเทียมสามารถชะลอการเสื่อมสภาพและลดการสูญเสียน้ำหนักในผลมะเขือเทศได้ ซึ่งบ่งบอกถึงศักยภาพในการยืดอายุการเก็บรักษาและรักษาคุณภาพของมะเขือเทศได้

ภาพที่ 4.11 ลักษณะทางกายภาพของมะเขือเทศผ่านการ treatment ด้วยคอมบูชาหมักสารสกัดเปลือกกระเทียม



จากผลการศึกษาทั้งหมดจากการหมักสารสกัดเปลือกกระเทียมด้วยคอมบูชาเพื่อพัฒนาโพลีไบโอติกส์ แสดงให้เห็นถึงศักยภาพของสารสกัดที่ได้ในด้านการต้านอนุมูลอิสระและการออกซิเดชัน กระบวนการหมักโดยใช้คอมบูชา ซึ่งเป็นแหล่งของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ ช่วยกระตุ้นการผลิตสารโพลีไบโอติกส์จากเปลือกกระเทียม และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระและช่วยป้องกันการเกิดโรคที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมสภาพของเซลล์ ดังนั้นทางเลือกของการใช้โพลีไบโอติกส์จากการหมักสารสกัดเปลือกกระเทียม ด้วยการหมักคอมบูชาผสมสารสกัดเปลือกกระเทียมและการเติมเชื้อจุลินทรีย์ สามารถช่วยเสริมคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ มีศักยภาพในการยืดอายุการเก็บรักษามะเขือเทศและรักษาคุณภาพในระยะยาว ด้วยคุณสมบัติต้านจุลินทรีย์ซึ่งจะช่วยลดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์กลุ่มที่เป็นสาเหตุหลักของการเน่าเสีย ช่วยรักษาคุณภาพของมะเขือเทศในด้านกายภาพและเคมีโดยรวม นอกจากนี้ การฉีดยาผสมสารละลายคอมบูชาหมักสารสกัดเปลือกกระเทียมยังคงศักยภาพในการยืดอายุการเก็บรักษาและรักษาคุณภาพของมะเขือเทศได้อย่างมีประสิทธิภาพ

โดยการนำโพลีไบโอติกส์มาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารจะเป็นทางเลือกที่น่าสนใจในการพัฒนาอาหารและผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพในอนาคต



บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

การดำเนินงานวิจัยเรื่อง การผลิตโพรไบโอติกส์จากเปลือกกระเทียมจีนหมักด้วยโพรไบโอติกส์แลคโตบาซิลลัส เพื่อใช้ประโยชน์ด้านการปนเปื้อนจุลินทรีย์ในอาหาร สามารถเห็นได้ว่าโพรไบโอติกส์ที่มีอยู่ในคอมบูชาหมักสารสกัดจากเปลือกกระเทียม มีศักยภาพและประสิทธิภาพ จากการพัฒนาเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มโพรไบโอติกส์ที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค รวมถึงการเสริมสร้างคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ การยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร และความเป็นพิษต่อเซลล์เม็ดเลือดแดงที่ต้องคำนึงถึงในการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ สรุปได้ว่าโพรไบโอติกส์ที่มีอยู่ในคอมบูชาหมักสารสกัดจากเปลือกกระเทียมมีศักยภาพที่จะนำไปใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารที่มีคุณภาพสูงต่อไปในอนาคต โดยมีรายละเอียดที่สามารถสรุป ได้ดังนี้

1. การเลือกใช้เปลือกกระเทียมสามารถส่งเสริมการพัฒนาเชื้อจุลินทรีย์

การเสริมด้วยการใช้เชื้อจุลินทรีย์กลุ่มโพรไบโอติกส์จากแหล่งต่าง ๆ สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตสารโพรไบโอติกส์ สามารถช่วยยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคได้ โพรไบโอติกส์สามารถเจริญเติบโตได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเปลือกกระเทียม

2. โพรไบโอติกส์มีปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์สูง

ด้วยคอมบูชาหมักสารสกัดเปลือกกระเทียมมีปริมาณสารฟีนอลทั้งหมด (TPC) ที่สูงกว่าคอมบูชาธรรมดาเล็กน้อย ในขณะที่ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (TFC) สูงกว่าชัดเจน ซึ่งชี้ให้เห็นว่าการเติมกระเทียมเพิ่มสารฟลาโวนอยด์ในสูตรผสมอย่างมีนัยสำคัญ

3. โพรไบโอติกส์มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง

ด้วยคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของเปลือกกระเทียมจากการหมักด้วย *Lactobacilli* พบว่ามีค่า gallic acid สูงกว่าส่วนเนื้อกระเทียมจีนเล็กน้อย ซึ่งแสดงถึงความสามารถในการให้สารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพ

4. โพรไบโอติกส์มีคุณสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค คอมบูชาหมักสารสกัดเปลือกกระเทียมมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ (*Pseudomonas* sp. และ *E. coli*) โดยมีขนาด zone of inhibition ประมาณ 4.5-5 มม. ในขณะที่แบคทีเรียแกรมบวกและยีสต์ถูกยับยั้งในขนาดที่ใกล้เคียงกัน แต่คอมบูชาหมักมีประสิทธิภาพที่สูงกว่าเล็กน้อยในบางกรณี โดยเฉพาะ *Streptococcus* sp.

5. โฟสดีไบโอติกส์ความเป็นพิษต่อเม็ดเลือดแดงต่ำ บ่งบอกความเป็นพิษต่อยูคาริโอตต่ำแนวโน้มจะปลอดภัยต่อผู้บริโภค การทดสอบความเป็นพิษของคอมบูชาหมักสารสกัดเปลือกกระเทียมที่ความเข้มข้นระหว่าง 50-200 mg/mL พบว่า เม็ดเลือดแดงหนูเริ่มมีการบวมและแตกเมื่อผสมกับคอมบูชาหมักที่ความเข้มข้นสูงถึง 200 mg/mL ภายในเวลา 30 นาที ในขณะที่ความเข้มข้นต่ำกว่านั้นไม่มีผลต่อขนาดและรูปร่างของเซลล์เม็ดเลือดแดง

6. โฟสดีไบโอติกส์มีความสามารถในการยืดอายุในการเก็บรักษามะเขือเทศ ด้วยการฉีดพ่นสารละลายคอมบูชาหมักด้วยสารสกัดเปลือกกระเทียม ช่วยยืดอายุการเก็บรักษามะเขือเทศได้อย่างมีนัยสำคัญ โดยลดความเป็นกรด (TA) ช้ากว่ากลุ่มควบคุม และแสดงให้เห็นว่าปริมาณแข็งที่ละลายได้ (TSS) และน้ำตาลที่เพิ่มขึ้นในกลุ่มที่ฉีดพ่นน้อยกว่ากลุ่มควบคุม



เอกสารอ้างอิง

- [1] Abrol, G. S., & Kumar, S. (2019). Effect of garlic extract coating on storage behaviour of tomato fruit. *Journal of Postharvest Technology*, 7(4), 1-5.
- [2] Afiati, F., Setyoningrum, F., Priadi, G., & Handoyo, C. H. (2020). Characteristics of solo black garlic fermented in kombucha black tea. *IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science*, 439, Article 012053. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/439/1/012053>
- [3] Borek, C. (2001). Antioxidant health effects of aged garlic extract. *The Journal of Nutrition*, 131(3), 1010S–1015S.
- [4] Bogdan, M., Justine, S., Filofteia, D. C., Petruta, C. C., Gabriela, L. U. T. A., Roxana, U. E., ... & Gabriela, L. (2018). Lactic acid bacteria strains isolated from Kombucha with potential probiotic effect. *Romanian Biotechnological Letters*, 23(3), 13592-13598.
- [5] Cardoso, R. R., Neto, R. O., dos Santos D'Almeida, C. T., do Nascimento, T. P., Pressete, C. G., Azevedo, L., Martino, H. S. D., Cameron, L. C., Ferreira, M. S. L., & de Barros, F. A. R. (2020). Kombuchas from green and black teas have different phenolic profile, which impacts their antioxidant capacities, antibacterial, and antiproliferative activities. *Food Research International*, 128, Article 108782. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108782>
- [6] Drywien, M., Frackiewicz, J., Górnicka, M., Gadek, J., & Jalsosinska, M. (2015). Effect of probiotic and storage time of thiamine and riboflavin content in the milk drinks fermented by *Lactobacillus casei* KNE-1. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*, 66(4).
- [7] da Silva Júnior, J. C., Mafaldo, T. M., de Lima Brito, I., & de Magalhães Cordeiro, A. M. T. (2022). Kombucha: Formulation, chemical composition, and therapeutic potentialities. *Current Research in Food Science*, 5, 360–365. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2022.01.023>
- [8] Delzenne, N. M., Neyrinck, A. M., Bäckhed, F., & Cani, P. D. (2011). Targeting gut microbiota in obesity: effects of prebiotics and probiotics. *Nature Reviews Endocrinology*, 7(11), 639-646.
- [9] Giovannucci, E., Rimm, E. B., Liu, Y., Stampfer, M. J., & Willett, W. C. (2002). A prospective study of tomato products, lycopene, and prostate cancer risk. *Journal of the National Cancer Institute*, 94(5), 391–398.

- [10] Hardinsyah, H., Gunawan, W. B., Nurkolis, F., Alisaputra, D., Kurniawan, R., Mayulu, N., Taslim, N. A., & Tallei, T. E. (2023). Antiobesity potential of major metabolites from *Clitoria ternatea* kombucha: Untargeted metabolomic profiling and molecular docking simulations. *Current Research in Food Science*, 6(100464), 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.crfs.2023.100464>
- [11] Hussein, H. J., Hameed, I. H., & Hadi, M. Y. (2017). A review: Anti-microbial, anti-inflammatory effect and cardiovascular effects of garlic: *Allium sativum*. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 10(11), 4069-4078.
- [12] Ifesan, B. O. T., Fadipe, E. A., & Ifesan, B. T. (2014). Investigation of antioxidant and antimicrobial properties of garlic peel extract (*Allium sativum*) and its use as a natural food additive in cooked beef. *Journal of Scientific Research and Reports*, 3(5), 711-721.
- [13] Ivanišová, E., Měnhartová, K., Terentjeva, M., Harangozo, L., Kántor, A., & Kačániová, M. (2020). The evaluation of chemical, antioxidant, antimicrobial and sensory properties of kombucha tea beverage. *Journal of Food Science and Technology*, 57(5), 1840-1846. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-04217-3>
- [14] Jakubczyk, K., Kalduńska, J., Kochman, J., & Janda, K. (2020). Chemical profile and antioxidant activity of the kombucha beverage derived from white, green, black and red tea. *Antioxidants*, 9(5), 447-462. <https://doi.org/10.3390/antiox9050447>
- [15] Khubber, S., Marti-Quijal, F. J., Tomasevic, I., Remize, F., & Barba, F. J. (2022). Lactic acid fermentation as a useful strategy to recover antimicrobial and antioxidant compounds from food and by-products. *Current Opinion in Food Science*, 43, 189-198. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.11.013>
- [16] Kozyrovska, N. O., Reva, O. M., Goginyan, V. B., & De Vera, J. P. (2012). Kombucha microbiome as a probiotic: a view from the perspective of post-genomics and synthetic ecology. *Biopolymers and Cell*.
- [17] Krasaekoopt, W., Bhandari, B., & Deeth, H. (2003). Evaluation of encapsulation techniques of probiotics for yoghurt. *International dairy journal*, 13(1), 3-13.
- [18] Kim, J. H., Nam, S. H., Rico, C. W., & Mi Young Kang, M. Y. (2012). A comparative study on the antioxidative and anti-allergic activities of fresh and aged black garlic extracts. *International Journal of Food Science and Technology*, 47(6), 1176–1182. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2012.02957>

- [19] Kim, N. Y., Park, M. H., & Jang, E. Y. (2011). Volatile distribution in garlic (*Allium sativum* L.) by solid phase microextraction (SPME) with different processing conditions. *Food Science and Biotechnology*, 20, 775–782. <https://doi.org/10.1007/s10068-011-0108-4>
- [20] Leal, J. M., Suárez, L. V., Jayabalan, R., Oros, J. H., & Escalante-Aburto, A. (2018). A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites. *CYTA–Journal of Food*, 16, 390-399. <https://doi.org/10.1080/19476337.2017.1410499>
- [21] Liu, W., Pang, H., Zhang, H., & Cai, Y. (2014). Biodiversity of lactic acid bacteria. *Lactic acid bacteria: Fundamentals and practice*, 103-203.
- [22] Maguire, M., & Maguire, G. (2019). Gut dysbiosis, leaky gut, and intestinal epithelial proliferation in neurological disorders: towards the development of a new therapeutic using amino acids, prebiotics, probiotics, and postbiotics. *Reviews in the Neurosciences*, 30(2), 179-201.
- [23] Matto, A. K., Murata, T., Pantastico, E. B., Chachin, K., Ogata, K., & Phan, C. T. (1975). Chemical changes during ripening and senescence, in postharvest physiology, handling and utilization of tropical and subtropical fruit and vegetables. AVI Publishing, Westport, CT, pp. 13-15.
- [24] Martyniak, A., Medyńska-Przęczek, A., Wędrychowicz, A., Skoczko, S., & Tomasik, P. J. (2021). Prebiotics, probiotics, synbiotics, paraprobiotics and postbiotic compounds in IBD. *Biomolecules*, 11(12), 1903.
- [25] Moradi, M., Molaei, R., & Guimarães, J. T. (2021). A review on preparation and chemical analysis of postbiotics from lactic acid bacteria. *Enzyme and Microbial Technology*, 143, 109722.
- [26] Morales, D. (2020). Biological activities of kombucha beverages: The need of clinical evidence. *Trends in Food Science and Technology*, 105, 323–333. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.09.025>
- [27] Nataraj, B. H., Ali, S. A., Behare, P. V., & Yadav, H. (2020). Postbiotics-parabiotics: The new horizons in microbial biotherapy and functional foods. *Microbial cell factories*, 19(1), 1-22.
- [28] Olukemi, O., Fadaka, A., Adewale, O., Oluloye, O., Ojo, O., Ajiboye, B., Adewumi, D., & Kuku, A. (2019). In vitro anthelmintic and antioxidant activities of the leaf extracts of *Theobroma cacao* L. *AIMS Agriculture and Food*, 4(3), 568-577. <https://doi.org/10.3934/agrfood.2019.3.568>

- [29] Păcularu-Burada, B., & Bahrim, G. E. (2021). Extraction and antioxidant activity assessment of postbiotic exopolysaccharides produced by selected lactic acid bacteria. *Innovative Romanian Food Biotechnology*, (20).
- [30] Queiroz, Y. S., Ishimoto, E. Y., Bastos, D. H., Sampaio, G. R., & Torres, E. A. (2009). Garlic (*Allium sativum* L.) and ready-to-eat garlic products: In vitro antioxidant activity. *Food Chemistry*, 115(1), 371–374. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.12.041>
- [31] Quigley, E. M. (2010). Prebiotics and probiotics; modifying and mining the microbiota. *Pharmacological research*, 61(3), 213-218.
- [32] Rajam, R., & Subramanian, P. (2022). Encapsulation of probiotics: Past, present and future. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 11(1), 1-18.
- [33] Rangana, S. (1986). *Handbook of analysis and quality control for fruit and vegetable products*. McGraw Hill, New Delhi.
- [34] Rathore, H. A., Masud, T., Sammi, S., & Soomro, A. H. (2007). Effect of storage on physico-chemical composition and sensory properties of mango (*Mangifera indica* L.) variety Daeshari. *Pakistan Journal of Nutrition*, 6(2), 143-148.
- [35] Reyes-Flores, S., Pereira, T. S. S., & Ramírez-Rodrigues, M. M. (2023). Optimization of hempseed-added kombucha for increasing the antioxidant capacity, protein concentration, and total phenolic content. *Beverages*, 9(2), 50. <https://doi.org/10.3390/beverages9020050>
- [36] Ryu, J. H., & Kang, D. (2017). Physicochemical properties, biological activity, health benefits, and general limitations of aged black garlic: A review. *Molecules*, 22(6), 1–14. <https://doi.org/10.3390/molecules22060919>
- [37] Sadasivam, S., & Manickam, A. (1991). *Biochemical methods*. New Age International Ltd., New Delhi.
- [38] Sesso, H. D., Liu, S. M., Gaziano, J. M., & Buring, J. E. (2003). Dietary lycopene, tomato-based food products, and cardiovascular disease in women. *The Journal of Nutrition*, 133(2), 399-404.
- [39] Sharma, S., Sharma, R. K., & Sharma, A. (2021). Pharmacological effects of garlic: A review. *European Journal of Medicinal Plants*, 32(6), 25-37. <https://doi.org/10.9734/ejmp/2021/v32i630416>

- [40] Simon, P. W. (1995). Breeding vegetables without genetic engineering. *Horticultural Reviews*, 17, 1-40.
- [41] Thorakkattu, P., Khanashyam, A. C., Shah, K., Babu, K. S., Mundanat, A. S., Deliephan, A., ... & Nirmal, N. P. (2022). Postbiotics: Current trends in food and Pharmaceutical industry. *Foods*, 11(19), 3094.
- [42] Wang, H., Zhu, C., Chen, W., & Zhang, Y. (2019). Anti-inflammatory effects of fermented garlic extract. *Journal of Ethnopharmacology*, 241, Article 111898. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.111898>
- [43] Yeganeh, F., Khodabakhsh, M. M., Dehnavi, A., & Moosavi-Movahedi, A. A. (2020). Effect of fermentation on bioactive compounds of kombucha: A comprehensive review. *Trends in Food Science & Technology*, 105, 319–322. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.08.016>



ไม่มีเนื้อหาจากต้นฉบับ



ไม่มีเนื้อหาจากต้นฉบับ

