

ชุดโครงการวิจัย: การวิจัยและพัฒนาการเพิ่มมูลค่าผลผลิต

โครงการวิจัย: การใช้จุลินทรีย์ในการแปรรูปผลิตผลทางการเกษตรเป็นอาหาร

กิจกรรมที่ 2: จุลินทรีย์เพื่อสุขภาพและการใช้ประโยชน์

ชื่อการทดลอง: การผลิต GABA จากกระบวนการหมัก Lactic Acid Bacteria

หัวหน้าการทดลอง:	นางสาวศุภมาศ กลิ่นขจร	สังกัด	สวป.
ผู้ร่วมงาน:	นางพัชรี ลิ้มปิยะฐียร	สังกัด	สวป.
	นางสาวสุปรียา ศุขเกษม	สังกัด	สวป.

---

### Abstract

GABA production by Lactic Acid Bacteria Fermentation was conducted at Postharvest and Processing Research and Development office during 2553-2555. The objective of this research was to study the optimal conditions for the synthesis of GABA by Lactic Acid Bacteria. The ability of the GABA synthesized by Lactic Acid Bacteria in various species, *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014, *Lactobacillus brevis* NCIMB 947 and *Lactococcus lactis* NCIMB 701007, was studied. The results showed that Lactic acid bacteria which had the highest ability to synthesis GABA was *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014. It could synthesize GABA as 162.10 mg/100g when the MSG changes from 0 % to 0.1 % and then applied. *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 to increase GABA production into food products by fermented the mushroom because it contained high amount of glutamic acid which was the precursor substance of GABA. The results showed that although mushrooms consisted high content of Glutamic acid but Lactic acid bacteria could not used as precursors in the synthesis of GABA, When GABA was determined in fermented mushroom, it showed small amount in the product. It could estimate that Lactic acid bacteria could not used the glutamic acid as the form occurring in mushroom. Therefore, the application GABA fermentation was performed in Chinese cabbage fermented to produce products with high GABA as the sandwich spread. Consuming 100 grams of Chinese cabbage sandwich spread contained GABA 93.2 mg and also gained 213.18 kcal of energy.

## บทคัดย่อ

การผลิต GABA จากกระบวนการหมัก Lactic Acid Bacteria ดำเนินการทดลองที่สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตผลเกษตร ระหว่างปี 2553-2555 โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการสังเคราะห์ GABA โดย Lactic Acid Bacteria โดยการทดลองเริ่มจากศึกษาความสามารถของการสังเคราะห์ GABA โดย Lactic Acid Bacteria สายพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ ได้แก่ *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014, *Lactobacillus brevis* NCIMB 947 และ *Lactococcus lactis* NCIMB 701007 ผลจากการทดลองพบว่า Lactic acid bacteria ที่มีความสามารถในการสังเคราะห์ GABA สูงที่สุดคือ *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 ซึ่งสามารถสังเคราะห์ GABA ได้เพิ่มสูงขึ้นถึง 162.10 mg/100g เมื่อปริมาณ MSG เปลี่ยนแปลงจาก 0% เป็น 0.1% จากนั้นทำการประยุกต์ใช้ *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 ในการเพิ่ม GABA ในผลิตภัณฑ์อาหารโดยทำการผลิตแทนที่เห็ดนางฟ้า ผลจากการทดลองพบว่าถึงแม้เห็ดนางฟ้าจะมีปริมาณ Glutamic acid สูงซึ่ง Lactic acid bacteria จะใช้เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ GABA แต่เมื่อวิเคราะห์ปริมาณ GABA ในเห็ดนางฟ้าพบว่ามีปริมาณที่ค่อนข้างต่ำ ซึ่งแสดงให้เห็นว่า Lactic acid bacteria ไม่สามารถใช้ glutamic acid ในเห็ดนางฟ้าได้ ดังนั้นจึงทำการประยุกต์ใช้ผักกาดขาวดองในการผลิตผลิตภัณฑ์ที่มี GABA สูง ซึ่งคือ แชนวิชสเปรด โดยการบริโภค 100 กรัมของผลิตภัณฑ์ แชนวิชสเปรดผักกาดขาวจะได้รับ GABA 93.2 มิลลิกรัม และได้รับพลังงาน 213.8 กิโลแคลอรี

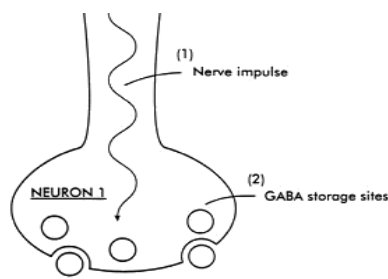
## คำนำ

เนื่องจากวิถีชีวิตและการบริโภคอาหารของคนไทยที่เปลี่ยนแปลงไป ประกอบกับความเครียดทำให้อัตราการป่วยและตายจากโรคความดันโลหิตสูง โรคหัวใจและหลอดเลือดเพิ่มขึ้น โดยข้อมูลจากสำนักโรคไม่ติดต่อ กระทรวงสาธารณสุข ปี 2550 พบคนไทยมีอัตราตายต่อประชากร 1 แสนคน โดยป่วยเป็นหัวใจและหลอดเลือด 55 คน โรคความดันโลหิตสูง 3.6 คน ซึ่งโรคเหล่านี้สามารถป้องกันได้ด้วยการลดพฤติกรรมเสี่ยงทั้งการสูบบุหรี่ การดื่มสุรา สารเสพติด ความเครียดและการขาดการออกกำลังกาย (สำนักนิเทศ, 2552) และอีกหนึ่งทางเลือกสำหรับการป้องกันโรคเหล่านี้คือการบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพที่มีฤทธิ์ในการรักษาโรคต่างๆ (Nutraceutical food) โดยอาหารที่ได้รับความนิยมในกลุ่มนี้คืออาหารที่มี GABA หรือ  $\gamma$ -Aminobutyric acid เป็นองค์ประกอบ

### $\gamma$ -Aminobutyric acid (GABA)

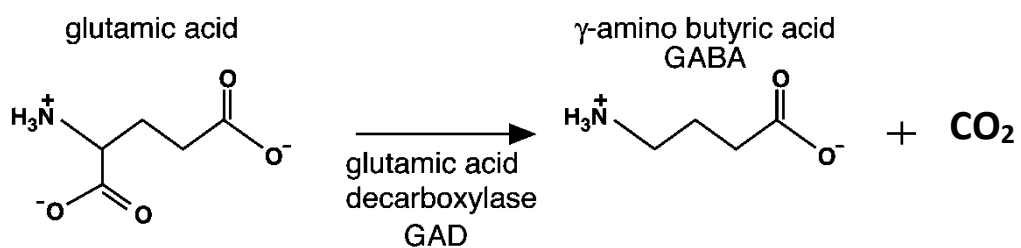
$\gamma$ -Aminobutyric Acid (GABA) ซึ่งเป็นสารสื่อประสาทชนิดยับยั้ง (Inhibitory neurotransmitter) มีหน้าที่เข้าไปจับกับบริเวณส่วนรับสัญญาณประสาท (Nerve Receptor Site) ที่เกี่ยวกับสัญญาณประสาทที่ก่อให้เกิดความกังวลและความเครียด ในร่างกายมนุษย์ปกติจะพบ GABA ประมาณ 30-40% ในเซลล์ประสาททั้งหมดในสมอง โดยมีหน้าที่ที่สำคัญคือ

- ลดความดันโลหิตแบบซิสโตลิก (Vemulapalli and Barletta, 1987)
- เพิ่มความสามารถในการเรียนรู้เพื่อแยกแยะความแตกต่าง (Ishikawa and Saito, 1984)
- บรรเทาอาการต่างที่เกิดขึ้นในวัยทองเช่นนอนไม่หลับ ซึมเศร้า และระบบประสาทอัตโนมัติผิดปกติ (Okada et al., 2000)



ที่มา: [www.benzo.org.uk/manual/bzcha01.htm](http://www.benzo.org.uk/manual/bzcha01.htm) (Ashton, 2011)

GABA สามารถสังเคราะห์ในพืชและจุลินทรีย์โดยกระบวนการทางชีวภาพผ่านปฏิกิริยา Decarboxylation ของ กรดกลูตามิกและเกลือของกรดกลูตามิกโดยเอนไซม์ Glutamic Acid Decarboxylase (GAD) ดังนี้



ที่มา: เอกสารประกอบการฝึกอบรม Food Processing and Preservation Technology III (JAICA และ Hiroshima Prefectural Food Research Center, 2007)

GABA เป็นสารที่มีผลงานวิจัยทางการแพทย์ระบุไว้ว่าเป็นสารช่วยในการบำบัดอาการต่างๆเช่น ลดความดันโลหิตแบบซิสโตลิก เพิ่มความสามารถในการเรียนรู้เพื่อแยกแยะความแตกต่าง บรรเทาอาการต่างๆที่เกิดขึ้นในวัยทอง และบรรเทาอาการต่างๆที่เกิดจากระบบประสาทอัตโนมัติผิดปกติ ซึ่งควรบริโภค GABA 250-500 mg/ครั้ง 3 ครั้งต่อวัน และเพื่อบำบัดอาการนอนไม่หลับต้องบริโภค GABA ปริมาณ 750 mg ก่อนนอน

([www.vitalhealthzone.com/nutrition/amino-acids/gaba.html](http://www.vitalhealthzone.com/nutrition/amino-acids/gaba.html), วันที่ 27 มีนาคม 2553) จึงมีการผลิตอาหารที่มี GABA เป็นองค์ประกอบตัวอย่างเช่น ชาเขียวที่มี GABA สูง (Garbaron Tea) โดยการหมักชาในภาวะไม่มีอากาศ (Ohmori et al., 1987) การเพิ่มปริมาณ GABA ในจมูกข้าวโดยการแช่น้ำ (Saikusa et al., 1994) งานวิจัยที่เกี่ยวกับ GABA ส่วนใหญ่จะเป็นการทำให้เกิด GABA จากการงอกของข้าวหรือ ธัญพืชต่างๆโดยอาศัยสารตั้งต้น (Glutamic Acid) ในการเกิดปฏิกิริยา Carboxylation จากวัตถุดิบตั้งต้น เช่น การศึกษาผลของกระบวนการแช่และกระบวนการงอกของข้าวกล้อง (หอมมะลิ 105) นอกจากนี้การใช้เชื้อจุลินทรีย์ Lactic Acid Bacteria (LAB) บางชนิดสามารถสร้าง GABA ได้ โดย Lactic Acid Bacteria (LAB) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างเอนไซม์แคตาเลส ไม่ต้องการอากาศ ลักษณะสัณฐานวิทยาพบว่า มีทั้งรูปร่างแท่งและรูปร่างกลม การจัดเรียงกลุ่มแบคทีเรียแลคติกในสกุลต่างๆ ขึ้นอยู่กับรูปร่าง ลักษณะรูปแบบของการหมักน้ำตาลกลูโคส การใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ และการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ การผลิตเกลือแลคติกเจริญในที่ที่มีเกลือความเข้มข้นสูง และการทนต่อกรดหรือด่าง ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากกระบวนการหมักบอกลีซิมของแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้จากการใช้น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลแลคโตส เป็นแหล่งคาร์บอนได้ผลิตภัณฑ์หลักเป็นกรดแลคติกได้แก่ *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, (Wood and Holzapfel, 1997)

## วิธีดำเนินการ

### อุปกรณ์

1. Lactic acid bacteria สายพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014, *Lactobacillus brevis* NCIMB 947 และ *Lactococcus lactis* NCIMB 701007
2. อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS
3. อาหารเลี้ยงเชื้อ Blood Sheep agar
4. ผักกาดขาว

### วิธีการ

1. ทดสอบความสามารถในการสังเคราะห์ GABA เบื้องต้น

ทดสอบความสามารถในการสังเคราะห์ GABA โดย Lactic Acid Bacteria ทำการเลี้ยงเชื้อ Lactic Acid ทั้ง 3 สายพันธุ์ได้แก่ *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014, *Lactobacillus brevis* NCIMB 947 และ *Lactococcus lactis* NCIMB 701007 ใน MRS broth ที่มีการเติม Monosodium glutamate 0.1% และใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 1.0% ทำการหมักภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 48 ชั่วโมง จากนั้นตรวจวัด GABA ที่ผลิตได้โดยวิธี GABAase test (Spectrophotometric method) เพื่อดูความสามารถในการผลิต GABA ของ Lactic Acid Bacteria

## 2. ศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ Glutamic Acid Decarboxylase (GAD) ในการสังเคราะห์ GABA โดย Lactic Acid Bacteria

ทำการคัดเลือกคัดเลือกสายพันธุ์ของ Lactic acid bacteria ที่สามารถสังเคราะห์ GABA ได้สูงสุดโดยใช้วิธีการ Pickle pickling test รวมทั้งทำการศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการสังเคราะห์ GABA โดยจุลินทรีย์ Lactic Acid Bacteria โดยปัจจัยที่ทำการศึกษาได้แก่ ปริมาณกรดกลูตามิก และปริมาณเกลือ ในการทำปฏิกิริยาที่เหมาะสมโดยแปรระดับสภาวะต่างๆดังนี้

- ปริมาณกรดกลูตามิก: 0% ,0.25% และ 0.50% โดยน้ำหนัก
- ปริมาณเกลือ: 0%, 0.5% และ 1.0% โดยน้ำหนัก

จากนั้นติดตามการเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาการหมักโดยการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพดังนี้

- ค่าความเป็นกรดต่าง
- ปริมาณ Lactic Acid Bacteria ที่มีชีวิต

## 3. คัดเลือก Lactic Acid Bacteria ที่มีความสามารถสูงสุดในการสังเคราะห์ GABA

ทำการคัดเลือก Lactic Acid Bacteria ที่มีความสามารถสูงสุดในการสังเคราะห์ GABA จาก 3 สายพันธุ์คือ *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014, *Lactobacillus brevis* NCIMB 947 และ *Lactococcus lactis* NCIMB 701007 ด้วยวิธีการ Pickle pickling test โดยใช้ปริมาณเกลือ และ MSG ที่ได้จากข้อ 2

## 4. ประยุกต์ใช้สภาวะของการหมักเพื่อผลิตผลิตภัณฑ์ที่มี GABA สูง

ประยุกต์ใช้สภาวะของการหมักที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มปริมาณ GABA ในผลิตภัณฑ์ รวมทั้งทำการทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ ได้แก่ สี ความชุ่ม รสชาติ รวมทั้งกลิ่นรสต่างๆ ของผลิตภัณฑ์ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่น รสชาติ และลักษณะปรากฏที่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคโดยใช้วิธีการวิเคราะห์เชิงพรรณนา (Descriptive Analysis) จากนั้นศึกษาคุณลักษณะทางเคมีและกายภาพของผลิตภัณฑ์ ได้แก่

- สี (L a b)

- ค่าความเป็นกรดต่าง
- ปริมาณ GABA
- ปริมาณกรดกลูตามิก

5. วิเคราะห์คุณค่าโภชนาการของผลิตภัณฑ์ที่ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคตั้งรายการต่อไปนี้ พลังงาน พลังงานจากไขมัน ไขมันทั้งหมด โซเดียม คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด โยอาหาร น้ำตาล โปรตีน วิตามิน B1 วิตามิน B2 แคลเซียม เหล็ก และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ( $\mu$  mol TE, Trolox Equivalent)

เวลาและสถานที่: ตุลาคม 2553- กันยายน 2556

สำนักวิจัยและพัฒนาวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยวและแปรรูปผลิตเกษตร

### ผลการทดลองและวิจารณ์

#### 1. ทดสอบความสามารถในการสังเคราะห์ GABA เบื้องต้น

จากการศึกษาความสามารถของ Lactic acid bacteria ในสังเคราะห์ GABA ทำการศึกษาเบื้องต้นใน 3 สายพันธุ์ คือ *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 , *Lactobacillus brevis* NCIMB 947 และ *Lactococcus lactis* NCIMB 701007 ผลจากการตรวจสอบการสังเคราะห์ GABA ของ Lactic Acid Bacteria โดยการเลี้ยงเชื้อใน MRS broth ที่มีการเติม Glutamic Acid 0.1% ทำการหมักภายใต้อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และทำการตรวจวัด GABA โดยดัดแปลงวิธีการวิเคราะห์ GABA จากปฏิกิริยาของเอนไซม์  $\gamma$ -Aminobutyric Glutamic Transaminase (GABGT) และ Succinic Semialdehyde Dinucleotide Phosphate ทำการตรวจวัดปริมาณ GABA ที่จุลินทรีย์สังเคราะห์ได้โดยตรวจวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 340 nm และคำนวณกลับมาเป็นปริมาณ GABA ที่มีอยู่ในตัวอย่าง พบว่า *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014, *Lactococcus lactis* NCIMB 701007 และ *Lactobacillus brevis* NCIMB 947 มีความสามารถในการสังเคราะห์ GABA จาก Monosodium glutamate โดย *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 มีความสามารถในการเปลี่ยน MSG เป็น GABA ได้สูงที่สุด จากนั้นจึงนำเชื้อ Lactic Acid ทุกสายพันธุ์ไปทดสอบความสามารถในการหมักและการสังเคราะห์ GABA ด้วยวิธี Pickle pickling test เพื่อคัดเลือก Lactic acid bacteria ที่มีความสามารถสูงที่สุดในการเปลี่ยน Monosodium glutamate เป็น GABA ต่อไป

#### 2. ศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ Glutamic Acid Decarboxylase (GAD) ในการสังเคราะห์ GABA โดย Lactic Acid Bacteria

ทำการทดสอบความสามารถในการสังเคราะห์ GABA ของ Lactic acid bacteria ทั้ง 3 สายพันธุ์ โดยการทดสอบ Pickle Pickling Test และใช้วัตถุดิบเป็นผักกาดขาว เพื่อคัดเลือก Lactic Acid Bacteria ที่สามารถสังเคราะห์ GABA และเติม Monosodium glutamate 3 ระดับคือ 0% 0.25% และ 0.50% โดยน้ำหนัก และเกลือที่ระดับ 0% 0.5% และ 1% โดยน้ำหนัก ทำการหมักภายใต้สภาวะ Anaerobic condition นาน 48 ชั่วโมง และตรวจวัดการเจริญของ Lactic acid bacteria ทั้งสามสายพันธุ์ ได้ผลดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณของ Lactic acid bacteria ทั้ง 3 สายพันธุ์หลังจากการหมักที่ 37 °C 48 ชั่วโมง

MSG \ เกลือ	0%	0.5%	1.0%
0%	-	++	+
0.1%	-	++	+

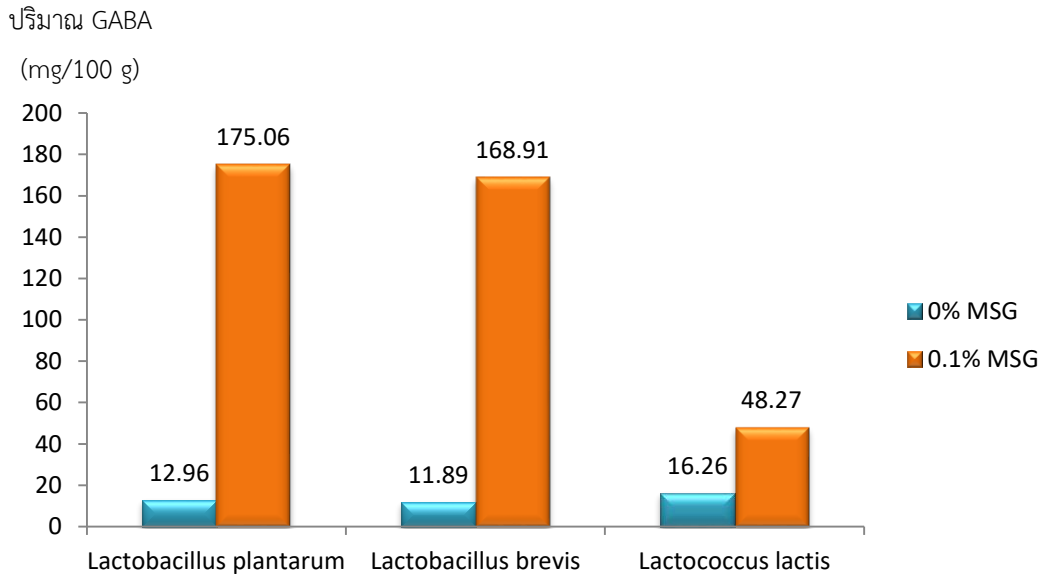
- หมายถึง ไม่พบการเจริญของ Lactic acid bacteria
- + หมายถึง พบการเจริญของ Lactic acid bacteria มากกว่า  $10^3$  CFU
- ++ หมายถึง พบการเจริญของ Lactic acid bacteria มากกว่า  $10^7$  CFU

จากตาราง พบว่า Lactic acid bacteria ไม่สามารถเจริญได้ในการทำ Pickle pickling test ที่มีปริมาณเกลือ 0% ทั้ง 2 ระดับความเข้มข้นของ Monosodium glutamate โดยจะเกิดการเน่าเสียก่อนครบเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อปริมาณเกลือเพิ่มขึ้นเป็น 0.5% Lactic acid bacteria จะสามารถเจริญได้ดีขึ้น แต่เมื่อปริมาณเกลือเพิ่มขึ้นถึง 1.0% โดยน้ำหนัก การเจริญเติบโตของ lactic acid bacteria จะลดลง ทั้งนี้เนื่องจากเกลือมีผลต่อการลดน้ำในผลิตภัณฑ์และทำให้แรงดันออสโมติก (osmotic pressure) ของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนไป ค่าน้ำอิสระที่ลดลงจึงส่งผลกระทบต่อที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสีย ดังนั้นปริมาณเกลือที่เหมาะสมสำหรับ Lactic acid bacteria คือ 0.5% โดยน้ำหนัก และปริมาณ MSG ที่ 0.1% โดยน้ำหนัก

### 3. คัดเลือก Lactic Acid Bacteria ที่มีความสามารถสูงสุดในการสังเคราะห์ GABA

จากการทดลองทำ Pickle pickling test กับเชื้อ Lactic acid Bacteria ทั้ง 3 ชนิดคือ *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014, *Lactobacillus brevis* NCIMB 947 และ *Lactococcus lactis* NCIMB 701007 โดยใช้ผักกาดขาวเป็นวัตถุดิบ กำหนดปริมาณเกลือที่ใช้เป็น 0.5% โดยน้ำหนัก และกำหนดปริมาณ MSG เป็น 0 และ 0.1% โดยน้ำหนัก





ภาพที่ 1 ความสามารถในการสังเคราะห์ GABA ของ *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014, *Lactobacillus brevis* NCIMB 947 และ *Lactococcus lactis* NCIMB 701007 ที่ MSG 0% และ 0.1% โดยน้ำหนัก

ผลจากการทดลองพบว่า Lactic acid bacteria ที่มีความสามารถในการสังเคราะห์ GABA สูงที่สุดคือ *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 ซึ่งสามารถสังเคราะห์ GABA ได้เพิ่มสูงขึ้นถึง 162.10 mg/100g เมื่อปริมาณ MSG เปลี่ยนแปลงจาก 0% เป็น 0.1% โดยน้ำหนัก รองลงมาคือ *Lactobacillus brevis* NCIMB 947 และ *Lactococcus lactis* NCIMB 701007 ซึ่งมีความสามารถในการสังเคราะห์ GABA ได้เพิ่มสูงขึ้น 157.02 และ 32.01 mg/100g ตามลำดับ เมื่อปริมาณ MSG เปลี่ยนแปลงจาก 0% เป็น 0.1% โดยน้ำหนัก ดังนั้น Lactic acid bacteria ที่มีความสามารถสูงสุดในการสังเคราะห์ GABA คือ *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 จึงเลือก Lactic acid bacteria ชนิดนี้เพื่อทดลองในขั้นต่อไป

#### 4. ประยุกต์ใช้สภาวะของการหมักเพื่อผลิตผลิตภัณฑ์ที่มี GABA สูง

จากสภาวะในการสังเคราะห์ GABA ที่เหมาะสมในข้อ 3 จึงทำการทดลองประยุกต์ใช้สภาวะของการสังเคราะห์ GABA โดยใช้ *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 และเปลี่ยนชนิดของวัตถุดิบเริ่มต้นจากผักกาดขาวเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณกลูตามิกเริ่มต้นสูงได้แก่ เห็ดชนิดต่างๆ คือ เห็ดนางฟ้า เห็ดฟาง และเห็ดภูฐาน ผลจากการวิเคราะห์ปริมาณกลูตามิกเริ่มต้นในรูปของ L-glutamic acid และ ปริมาณ GABA เริ่มต้น ได้ผลดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ปริมาณ Glutamic acid และ GABA เริ่มต้นในเห็ดนางฟ้า เห็ดฟาง และเห็ดภูฐานอบแห้ง

ชนิดของเห็ด	ปริมาณ Glutamic acid (mg/100 g)
เห็ดนางฟ้า	5,044
เห็ดฟาง	4,109
เห็ดภูฐาน	3,742

ผลจากการตรวจวิเคราะห์ปริมาณ Glutamic acid ในเห็ดทั้ง 3 ชนิด พบว่า เห็ดที่มีปริมาณ Glutamic acid สูงที่สุดคือ เห็ดนางฟ้า รองมาคือ เห็ดฟางและ เห็ดภูฐาน โดยปริมาณ Glutamic acid ที่ตรวจวัดได้เป็น 5,044 4,109 และ 3,742 กรัม ตามลำดับ ดังนั้นจึงเลือกเห็ดนางฟ้าเป็นวัตถุดิบในการประยุกต์ใช้สภาวะของการสังเคราะห์ GABA โดยใช้ *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 ต่อไป

จากทดลองประยุกต์ใช้สภาวะของการสังเคราะห์ GABA โดยใช้ *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 ในการผลิตเป็นแหนมเห็ดนางฟ้า โดยมีส่วนประกอบดังนี้

ส่วนประกอบ (กรัม)	สูตรที่ 1	สูตรที่ 2	สูตรที่ 3	สูตรที่ 4
เห็ดนี้้ง	750	750	750	750
กระเทียม	30	30	30	30
ข้าวเหนียว	100	100	100	100
ผงชูรส	2.75	0	2.75	0
เกลือ	17.6	17.6	26.4	26.4
<i>L.plantarum</i> ATCC 8014	3	3	3	3

หลังจาก 24 ชั่วโมงของการหมักแหนมเห็ดนางฟ้าในทุกทริทเมนต์ที่ 35-37 °C พบว่า *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 ได้เพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็วโดยมีปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตสูงกว่า  $10^8$  CFU/กรัม ส่งผลให้ pH ของแหนมเห็ดลดลงต่ำกว่า 4.5 และเมื่อตรวจวัดปริมาณกรดแลคติกในผลิตภัณฑ์จะอยู่ระหว่าง 0.3-0.23% โดยน้ำหนัก จากนั้นจึงทำการวิเคราะห์ปริมาณ GABA ในผลิตภัณฑ์แหนมเห็ด พบว่าในทุกทริทเมนต์มีปริมาณ GABA ในระดับที่ต่ำคือ 1.42-1.56 mg/100 g แสดงให้เห็นว่าผลิตผลเกษตรที่มีปริมาณ L-glutamic acid เริ่มต้นในวัตถุดิบที่สูง แต่อาจจะอยู่ในรูปที่ Lactic acid bacteria ไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ จึงทำให้ไม่เกิดการเพิ่มขึ้นของ GABA ในผลิตภัณฑ์สุดท้ายได้

ดังนั้นผักกาดขาวจึงเป็น วัสดุดิบที่เหมาะสมที่สุดในการ สังเคราะห์ GABA โดย *Lactobacillus plantarum* ATCC จากนั้นนำผักกาดขาวดองที่ได้มาผลิตเป็นแซนวิชสเปรด ซึ่งมีส่วนประกอบดังนี้ เต้าหู้ขาว น้ำมันพืช น้ำตาล เกลือ น้ำส้มสายชู และผักกาดขาวดอง GABA สูง เมื่อศึกษาคุณค่าทางโภชนาการพบว่าแซนวิชสเปรดผักกาดขาวดองมีคุณค่าทางโภชนาการดังนี้

ตารางที่ 4 แสดงคุณค่าทางโภชนาการของแซนวิชสเปรด GABA สูงที่

คุณค่าทางโภชนาการของแซนวิชสเปรดผักกาดขาว (100 กรัมของส่วนที่บริโภคได้)	
พลังงานทั้งหมด	213.18 กิโลแคลอรี
พลังงานจากไขมัน	133.02 กิโลแคลอรี
ไขมันทั้งหมด	14.78 กรัม
ไขมันอิ่มตัว	2.56 กรัม
โคเลสเตอรอล	0.00 มิลลิกรัม
โปรตีน	2.86 กรัม
คาร์โบไฮเดรตทั้งหมด	17.18 กรัม
ใยอาหาร	2.76 กรัม
น้ำตาล	6.01 กรัม
โซเดียม	647.87 มิลลิกรัม
วิตามิน A	-
วิตามิน B1	0.08 มิลลิกรัม
วิตามิน B2	0.00 มิลลิกรัม
แคลเซียม	11.98 มิลลิกรัม
เหล็ก	0.78 มิลลิกรัม
GABA	93.2 มิลลิกรัม

จากตารางพบว่าการบริโภคแซนวิชสเปรดผักกาดขาว 100 กรัมจะได้รับพลังงาน 213.8 กิโลแคลอรี คิดเป็นพลังงานจากไขมัน 133.2 กิโลแคลอรี โดยการบริโภคแซนวิชสเปรดผักกาดขาว 100 กรัมจะได้รับ GABA 93.2 mg ซึ่งถือว่าการได้รับ GABA ในปริมาณที่สูงเมื่อเทียบกับการบริโภคอาหารอื่นในปริมาณที่เท่ากัน

Food Item	GABA Content (mg/100g)
ใบชาแห้ง	100-200
แตงเมลอน	74.5
มะเขือเทศ	62.6
กิมจิ	59.4
ซ็อกโกแลต	14.5
ข้าวกล้องงอก	10.0
ฟักทอง	9.7
เต้าหู้	6.4

ภาพที่ 2 ปริมาณ GABA ในผลิตภัณฑ์อาหารต่าง ๆ (Matsumoto et al. 1997)

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. จากการทดลองสังเคราะห์ GABA โดย Lactic acid bacteria ทั้ง 3 สายพันธุ์คือ *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014, *Lactobacillus brevis* NCIMB 947 และ *Lactococcus lactis* NCIMB 701007 พบว่า *Lactobacillus plantarum* ATCC 8014 มีความสามารถในการสังเคราะห์ GABA ได้สูงที่สุด
2. ในการสังเคราะห์ GABA โดย Lactic acid bacteria ไม่สามารถตัดสินได้จากปริมาณ Glutamic acid เริ่มต้นที่มีอยู่ในวัตถุดิบได้ การทำ pickle pickling test เริ่มต้น จะเป็นการทดสอบความสามารถในการสังเคราะห์ GABA ในเบื้องต้น
3. Lactic acid bacteria แต่ละสายพันธุ์จะเหมาะกับวัตถุดิบเริ่มต้นที่ไม่เหมือนกัน ดังนั้นหากต้องการใช้วัตถุดิบอื่นๆ ในการเพิ่มปริมาณ GABA จะต้องมีการศึกษาถึงสายพันธุ์ที่เหมาะสมด้วย

การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

ในการเพิ่มปริมาณ GABA โดยการใช้ Lactic acid bacteria สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูปต่างๆ ที่มีการใช้ Lactic acid bacteria อยู่แล้ว เช่น ผักดอง กิมจิ โยเกิร์ต หรือ แหนม แต่อาจต้องมีการศึกษาถึงสายพันธุ์ที่เหมาะสมเพื่อให้เกิดการเพิ่มขึ้นของ GABA สูงสุด

### เอกสารอ้างอิง

- สำนักนิเทศ. 2552. สธ.จัด 152 หมู่บ้านนำร่องทำหมู่บ้านต้นแบบลดโรคเรื้อรัง หวังลดอัตราการป่วยและเสียชีวิตของประชาชน จาก [www.moph.go.th/show\\_hotnew.php?idHot\\_new=22869](http://www.moph.go.th/show_hotnew.php?idHot_new=22869). กระทรวงสาธารณสุข, กรุงเทพฯ.
- Ishikawa, K., and Saito, S. 1978. Effect of intraventricular  $\gamma$ -aminobutyric acid (GABA) on discrimination learning in rats. *Psychopharmacology*. 56:127-132.
- JAICA and Hiroshima Prefectural Food Research Center. 2007. เอกสารประกอบการฝึกอบรม Food Processing and Preservation Technology III.
- Okada, T., Sugishita, T. Murakami. T., Murai, H., Saikusa, T., Horino, T., Onoda, A., Kajimoto, O., Takahashi, R. and Takahashi, T. 2000. Effect of the defatted rice germ enriched with GABA for sleeplessness, depression, autonomic Disorder by oral administration. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*.47:596-603
- Vermulapalli, S. and Barletta, M. 1984. The role of the sympathetic nervous system in the cardiovascular effects of systemically administered  $\gamma$ -aminobutyric acid. *Arch. Int. Pharmacodyn*. 267:46-58.
- Yueng, D., L., and Laquata, I. 2003. New Horizons in nutrition. Heinz Handbook of Nutrition, 9<sup>th</sup> edition. Heinz Corporation Research Center, H.J. Heinz company. 266p.
- Matsumoto Y, Ohno K, and Hiraoka Y. 1977. Studies on the utilization of functional food materials containing high levels of gamma-aminobutyric acid (Part1). *Ehime Kougi Kenkyu Houkoku*. 35:97-100.
- Wood, B.J.B. and Holzapfel, W.H. 1997. The Lactic bacteria: The Genera of lactic acid bacteria. Blackie Academic & Professional, New York. pp.7-15.