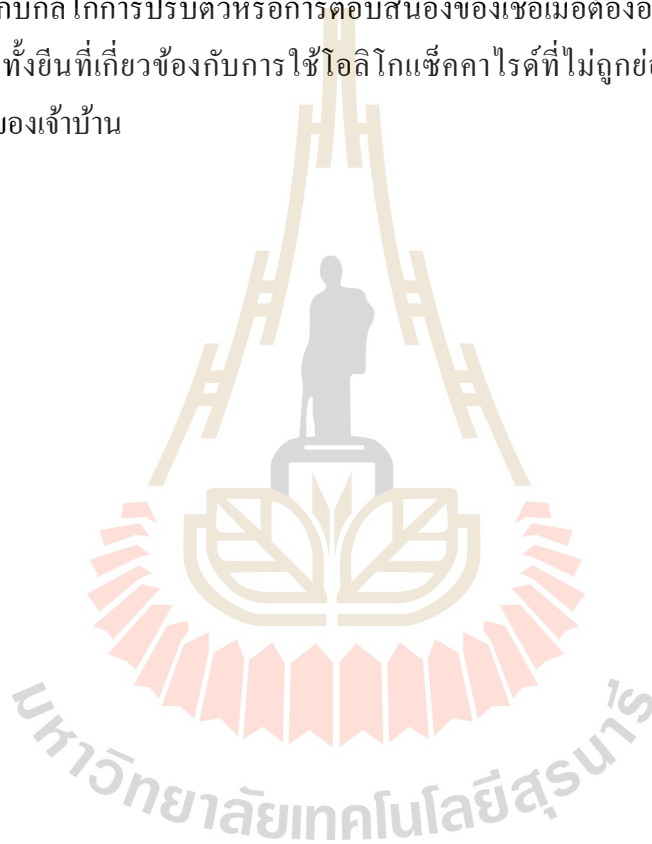


ภัทรา ชาญชัย : การคัดเลือกและศึกษาสมบัติของ *Bifidobacterium* spp. และ *Lactobacillus* spp. เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อ โพรไบโอติก (SELECTION AND CHARACTERIZATION OF *BIFIDOBACTERIUM* SPP. AND *LACTOBACILLUS* SPP. FOR PROBIOTIC STARTER) อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร.เขมวิทย์ จันตะมา, 165 หน้า.

กรรมวิธีในการผลิตในระดับอุตสาหกรรมอาจส่งผลกระทบต่อการใช้ชีวิตรอดและสมบัติในการทำหน้าที่เป็นโพรไบโอติก ส่งผลให้แบคทีเรียลดประสิทธิภาพในการทำหน้าที่ที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์ การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสมบัติของแบคทีเรีย *Bifidobacterium* ที่คัดแยกได้จากอุจจาระของเด็กทารกไทยที่มีสุขภาพดี และ *Lactobacillus* ที่คัดแยกจากอาหารหมักดองท้องถิ่น ผลการศึกษาพบว่า *Bifidobacterium* จำนวน 3 สายพันธุ์ (BF014, BF052 และ BH053) และ *Lactobacilli* จำนวน 4 สายพันธุ์ (LF005, LF022, LF026 และ LB013) มีความทนทานต่อสภาวะจำลองในระบบทางเดินอาหารได้เป็นอย่างดี โดย *Bifidobacterium animalis* BF052 แสดงสมบัติโพรไบโอติกได้ดีที่สุด เมื่อผ่านการทดสอบในระบบทางเดินอาหารจำลองพบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์นี้มีความสามารถในการทนกรด และทนต่อน้ำย่อยจากน้ำดีได้ดี มีความสามารถในการยึดเกาะกับเซลล์เยื่อผนังลำไส้ Caco-2 ได้สูง และสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค เช่น *Salmonella typhimurium* และ *Vibrio cholerae* ดังนั้นแบคทีเรียสายพันธุ์นี้จึงได้รับการคัดเลือกเพื่อนำมาทดสอบความสามารถในการมีชีวิตรอดและสมบัติของโพรไบโอติกเมื่อต้องผ่านกระบวนการผลิตแบบต่อเนื่อง อันได้แก่ กระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์หลังจากทำแห้ง และสามารถในการมีชีวิตรอดในผลิตภัณฑ์อาหารระหว่างการเก็บรักษา พบว่ากระบวนการผลิตไม่ได้ส่งผลกระทบต่อความคงตัวของสมบัติความเป็นโพรไบโอติกของแบคทีเรียสายพันธุ์นี้ โดยพิจารณาจากความสามารถในการทนต่อสภาวะจำลองในระบบทางเดินอาหาร และความสามารถในการยึดเกาะกับเซลล์ Caco-2 จึงแสดงให้เห็นว่า *B. animalis* BF052 ผ่านเกณฑ์อันน่าพอใจที่จะเป็นแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ดีได้ และน่าจะใช้เป็นกล้าเชื้อโพรไบโอติกที่มีประสิทธิภาพในอุตสาหกรรมอาหารได้ และเพื่อพัฒนาอาหารที่ใช้เป็นตัวกลางในการขนส่งแบคทีเรีย *B. animalis* BF052 นั้น จึงได้ทดสอบพฤติกรรมของ *B. animalis* BF052 ในน้ำนมถั่วเหลือง และผลของการใช้จุลินทรีย์ตัวนี้ร่วมกับหัวเชื้อทางการค้า *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus* ระหว่างการหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ผลการทดลองพบว่า *B. animalis* BF052 ที่หมักร่วมกับเชื้อทางการค้านี้มีปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตรอดจำนวนมาก และได้เนื้อสัมผัสของโยเกิร์ตที่มีความคงตัวที่ดีตลอดระยะเวลาการหมัก จากการทดสอบความพึงพอใจของผู้บริโภคพบว่าน้ำนมถั่วเหลืองที่หมักในช่วงเวลา 12-16 ชั่วโมง เป็นผลิตภัณฑ์ที่ผู้บริโภคพึงพอใจมากที่สุด

ทั้งลักษณะปรากฏ กลิ่น เนื้อสัมผัส รสชาติ และระดับการยอมรับโดยรวม ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า *B. animalis* BF052 สามารถใช้เสริมเป็นกล้าเชื้อโพรไบโอติกที่ใช้น้ำนมถั่วเหลืองเป็นสารตั้งต้นในการหมักได้ นอกจากนี้เพื่อให้เกิดความเข้าใจเชิงลึกในการปรับตัวตอบสนองของเชื้อต่อสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมและความสามารถในการใช้สารอาหารในระดับโมเลกุล จึงได้ตรวจวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งจีโนมของ *B. animalis* BF052 พบว่าประกอบด้วยโครโมโซมแบบวงกลมที่มีจำนวนนิวคลีโอไทด์ทั้งหมด 1,938,624 คู่เบส ไม่มีพลาสมิด และได้เก็บข้อมูลนี้ไว้ในธนาคารจีโนมภายใต้เลขทะเบียน CP009045 ผลการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์ทั้งจีโนมพบยีนที่มีความเกี่ยวข้องกับกลไกการปรับตัวหรือการตอบสนองของเชื้อเมื่อต้องอยู่ในสภาวะแวดล้อมที่ไม่เหมาะสม รวมทั้งยีนที่เกี่ยวข้องกับการใช้โอลิโกแซ็กคาไรด์ที่ไม่ถูกย่อยโดยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารของเจ้าบ้าน



PATTRA CHARNCHAI : SELECTION AND CHARACTERIZATION OF
BIFIDOBACTERIUM SPP. AND *LACTOBACILLUS* SPP. FOR PROBIOTIC
STARTER. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF. KAEMWICH JANTAMA,
Ph.D., 165 PP.

PROBIOTICS/BIFIDOBACTERIA/FERMENTED SOYMILK/
WHOLE GENOME SEQUENCING

The viability and functionality of probiotics may be influenced by industrial production processes resulting in a decrease in probiotic efficiency that benefit the health of humans. This study aimed to investigate the probiotic characteristics of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* strains isolated locally from faecal samples of healthy Thai infants, and indigenous fermented foods, respectively. In the present work, three bifidobacterial strains (BF014, BF052, and BH053) and four lactobacilli strains (LF005, LF022, LF026 and LB013) showed a great resistance to conditions simulating the gastrointestinal tract. Among these, *Bifidobacterium animalis* BF052 possessed considerable probiotic properties, including high acid and bile tolerance through an *in vitro* model of gastrointestinal conditions, strong adhesion capability to Caco-2 cells, and inhibitory activity against pathogens including *Salmonella typhimurium* and *Vibrio cholerae*. This strain was thus selected as a promising probiotic strain to determine its viability and functionality throughout food processing processes as well as the freeze-drying process, storage of freeze-dried powders, and incorporation of freeze-dried cells into food matrix on probiotic properties. The results demonstrated that the stability of the probiotic properties of *B. animalis* BF052 was not affected by the food processing chain, especially its resistance under the simulated

gastrointestinal conditions and its adherence ability to Caco-2 cells. It indicates that *B. animalis* BF052 satisfies the criteria as a potential probiotic and may be used as an effective probiotic starter in food applications. To develop a delivery medium for the live probiotic *B. animalis* BF052, the behavior of *B. animalis* BF052 and the effects of this organism as part of the starter cultures along with the conventional starters, *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* were investigated during the fermentation of soymilk for 48 h. It was observed that the behavior of *B. animalis* BF052 prepared with commercial yogurt starters showed high viable cell numbers and high consistency of yogurt texture throughout the fermentation period. Based on the consumers' preferences, soymilk fermented during 12 -16 h was the most preferable products in their overall preferences, including appearance, odor, texture, taste and overall acceptability. This result indicated that *B. animalis* BF052 could be supplemented as a probiotic starter that employs soymilk as the substrate. In addition, to gain insights into its adaptive responses to the environmental stresses and its capability to utilize specific substrates, the complete genome sequence of *B. animalis* BF052 was therefore determined. The *B. animalis* BF052 genome was composed of one circular chromosome of 1,938,624 bp with no plasmid and its sequence was deposited in GenBank under accession number CP009045. The screening of genome sequences revealed genes involved in adaptive responses to industrial and/or environmental stresses. Genes responsible for utilization of non-digestible oligosaccharides for intrinsic adaptation to the intestinal niche were also identified in *B. animalis* BF052 genome.

School of Biotechnology

Student's Signature _____

Academic Year 2016

Advisor's Signature _____