ผลของสมุนไพรต่อกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ องค์ประกอบทางเคมี และคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์

THE EFFECT OF HERBS ON ANTIOXIDANT ACTIVITY CHEMICAL PROPERTIES AND SENSORY CHARACTERISTICS OF KEFIR

จริยา อาจคงหาญ

อารียา ฤกษ์ศิริสุข

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2562

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

ผลของสมุนไพรต่อกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ องค์ประกอบทางเคมี และคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์

THE EFFECT OF HERBS ON ANTIOXIDANT ACTIVITY CHEMICAL PROPERTIES AND SENSORY CHARACTERISTICS OF KEFIR

จัดทำโดย

นางสาวจริยา อาจคงหาญ รหัสนักศึกษา 58080085

นางสาวอารียา ฤกษ์ศิริสุข รหัสนักศึกษา 58080147

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา ..... 25 / กรกฎาคม / 2562

(ผศ.ดร. สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา)

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อปัญหาพิเศษ	ผลของสมุนไพรต่อกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ องค์ประกอบทางเคมี และคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์
ชื่อนักศึกษา	จริยา อาจคงหาญ รหัสนักศึกษา 58080085
	อารียา ฤกษ์ศิริสุข รหัสนักศึกษา 58080147
หลักสูตร	วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม
พ.ศ.	2562
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร. สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา

บทคัดย่อ

คีเฟอร์เป็นเครื่องดื่มนมหมักที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย มีคุณค่าทางโภชนาการสูงผลิตโดยจุลินทรีย์กลุ่มโปรไบโอติก คีเฟอร์มีรสชาติที่ค่อนข้างดื่มยาก และยังไม่เป็นที่รู้จักมากนักในประเทศไทย ในงานวิจัยนี้จึงได้มีการเติมน้ำสมุนไพร โดยทำการคัดเลือกสมุนไพรซึ่งมีขายอยู่ทั่วไป และเป็นที่คุ้นเคยของคนไทยจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ กระเจี๊ยบ มะตูม อัญชัน อีกทั้งยังเป็นการเพิ่มคุณประโยชน์แก่คีเฟอร์ การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเติมสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด ที่มีผลต่อจุลินทรีย์ องค์ประกอบทางเคมี สารต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และการทดสอบทางประสาทสัมผัสตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 21 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยมีอัตราส่วนของน้ำสมุนไพรในรูปน้ำเชื่อมต่อคีเฟอร์ธรรมชาติ ที่ 1:5 ทั้งหมด 3 สูตร ได้แก่ คีเฟอร์กระเจี๊ยบ (GK) คีเฟอร์มะตูม (MK) คีเฟอร์อัญชัน (AK) และมีคีเฟอร์ธรรมชาติ (CK) เป็นคีเฟอร์ควบคุม จากการศึกษาพบว่าจำนวนแบคทีเรียที่รอดชีวิตในคีเฟอร์สมุนไพรมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา (7.71-8.53 Log CFU/ml) คีเฟอร์อัญชัน และคีเฟอร์ธรรมชาติมีจำนวนแบคทีเรียที่รอดชีวิตมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จำนวนยีสต์ที่รอดชีวิตมีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น (6.52-8.29 Log CFU/ml) คีเฟอร์กระเจี๊ยบมีจำนวนยีสต์ที่รอดชีวิตน้อยกว่าตัวอย่างอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ซึ่งสัมพันธ์กับค่าพีเอช ค่าความเป็นกรดโดยคำนวณเป็นเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายในน้ำ ในด้านปริมาณโปรตีน ไขมัน และน้ำหนักแห้งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 21 วัน ปริมาณแอลกอฮอล์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา 14 วัน และลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นเป็น 21 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) สมุนไพรที่เติมมีผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยคำนวณเป็นค่า IC_{50} เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมีแนวโน้มลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(2.50-6.72 mg/ml) คีเฟอร์กระเจี๊ยบมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด (ค่า IC_{50}น้อยที่สุด) ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของตัวอย่างคีเฟอร์สมุนไพรมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อยตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา (56.71–122.22 mg GAE/L) โดยคีเฟอร์กระเจี๊ยบมีปริมาณมากที่สุด ตามด้วยคีเฟอร์อัญชัน และคีเฟอร์มะตูม ซึ่งแตกต่างจากคีเฟอร์ธรรมชาติที่มีปริมาณฟีนอลิคทั้งหมดคงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) การยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบชิมต่อคีเฟอร์ทั้ง 5 ชนิด ในด้านของคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างทั้งหมดเทียบกับคีเฟอร์ที่จำหน่ายในชุมชน (CCK) พบว่าผู้ทดสอบชิมให้คะแนนความชอบแก่คีเฟอร์สมุนไพรมากกว่าคีเฟอร์ธรรมชาติ และคีเฟอร์ที่จำหน่ายในชุมชน โดยเฉพาะด้านกลิ่นและรสชาติ โดยคะแนนความชอบมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่าไม่มีความแตกต่างของคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสในแต่ละตัวอย่าง ตัวอย่างที่ผู้ทดสอบชิมให้คะแนนความชอบโดยรวมสูงที่สุดคือ คีเฟอร์อัญชัญ แต่เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นเป็น 14 และ 21 วัน พบว่าผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบในแต่ละด้านลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการเติมสมุนไพรในคีเฟอร์ช่วยเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดแก่คีเฟอร์ และยังปรับปรุงรสชาติของคีเฟอร์ อย่างไรก็ตามต้องมีการปรับปรุงและพัฒนาให้ได้คีเฟอร์ที่มีคุณภาพคงที่ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา

คำสำคัญ: คีเฟอร์ สมุนไพร สารต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิก การทดสอบทางประสาทสัมผัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special problem title	The effect of herbs on antioxidant activity chemical properties and sensory characteristics of kefir
Student name	Jariya Atkonghan Student ID 58080085
	Areeya Rerksirisuk Student ID 58080147
Program	Bachelor of Science in Industrial Fermentation Technology
Year	2019
Advisor	Assist.Prof.Dr. Soisuda Pornpukdeewattana

ABSTRACT

Kefir is a fermented beverage. It has probiotic, nutritional and therapeutic properties. Kefir has a difficult drinking taste and not very well known in Thailand. In this study We added herbal drink by selecting herbs that are sold in general and familiar with Thai people, namely Roselle, Bael, Butterfly pea and also adds benefits to Kefir.

The aim of this study was to investigate the effect of herbs on microbiological, chemical properties, antioxidant activity, total phenolic content and sensory characteristics of kefir during 21 days of storage at 4 degrees Celsius. The ratio stock of herbal drinks:kefir (1:5) was used in this study. All of herbs kefir had 3 formulas which are roselle kefir (GK), bael kefir (MK) and butterfly pea kefir (AK). Kefir does not supplement with herbs was used for control kefir (CK). Amount of surviving bacteria in each herbal kefirs was slightly increased during storage (7.71-8.53 Log CFU/ml). Butterfly pea kefir and control kefir had highest survival bacteria with statistical significance ($p \leq 0.05$). Amount of survival yeast in herbal kefirs were slightly decreased when the storage time increased (6.52-8.29 Log CFU/ml). Roselle Kefir had lowest survival yeast with statistical significance ($p \leq 0.05$). Amount of survival bacteria and yeast were related to pH values, titrable acidity values (percentage of Lactic acid) and total soluble solid. Protein content, Fat content and Dry matter content were not statistical significance in the storage period ($p > 0.05$). The alcohol content was increased during 14 days of storage and then slightly decreased until the end of storage with statistical significance ($p \leq 0.05$).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

The added herbs had an effect on antioxidant ability by calculating in IC_{50} values. When the storage time increased, the antioxidant ability tended to decrease (2.50-6.72 mg/ml). Roselle Kefir had the highest antioxidant capacity (minimal IC_{50} value). The total phenolic content of herbal kefir samples tends to increase slightly throughout the storage period (56.71–122.22 mg GAE/L). Roselle Kefir had the highest amount of total phenolic. Followed by Butterfly pea Kefir and Bael Kefir, which were different from control kefir with a stable amount of phenolic content throughout the storage period with statistical significance.

In terms of the sensory characteristics of all samples compared with commercial kefir (CCK). The panelist gave preference to herbal kefir rather than control kefir and commercial kefir. Especially odor and taste. The liking score tends to decrease significantly ($p \leq 0.05$). When stored for a period of 7 days, there was no difference in the sensory characteristics in each sample. Butterfly pea Kefir received the highest scores. However, when the storage period increased to 14 and 21 days, it was found that all of sensory attributes were significantly decreased ($p \leq 0.05$). This study shows that added herbs to kefir help increase the amount of antioxidants and the total phenolic content to Kefir and also improve the taste of kefir. However, it must be improved and developed to have a stable quality kefir throughout the storage period.

Keywords: Kefir, Herbs, Antioxidant, Total Phenolic Content, Sensory Characteristics

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ปัญหาพิเศษเรื่องผลของสมุนไพรต่อกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระ องค์ประกอบทางเคมี และคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์ มิอาจสามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีหากขาดบุคคลสำคัญ ได้แก่ ผศ.ดร.สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา คอยแนะแนวทาง แนวคิดและการสนับสนุนตลอดการดำเนินงานให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี รวมทั้ง ดร.อรชร เมฆเกิดชู ผู้เป็นกรรมการร่วมในการตัดสิน เจ้าของเพจเฟสบุ๊ค Kefir at Home (https://www.facebook.com/kefirathome/) และ คุณพรชัย ที่ให้แนวทางและคำปรึกษาเรื่องของคีเฟอร์แก่ข้าพเจ้า

ขอขอบคุณครอบครัว รุ่นพี่ เพื่อนๆ และรุ่นน้องที่คอยให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจตลอดระยะเวลาดำเนินงานอย่างท่วมท้น

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง ที่เอื้อเฟื้อเครื่องมือ อุปกรณ์และสถานที่ในการดำเนินงานให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

จริยา อาจคงหาญ

อารียา ฤกษ์ศิริสุข

11 พฤษภาคม 2562

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	III
กิตติกรรมประกาศ	V
สารบัญ	VI
สารบัญตาราง	VIII
สารบัญภาพ	IX
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	1
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 โปรไบโอติก	3
2.2 นมหมักคีเฟอร์	4
2.3 หัวเชื้อคีเฟอร์	6
2.4 สมุนไพร	10
2.5 อนุมูลอิสระ	13
2.6 สารประกอบฟีนอล	15
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	16
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	19
3.1 วัตถุดิบและสารเคมี	19
3.2 อุปกรณ์	20
3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง	22
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	27
4.1 ผลการติดตามผลของจุลินทรีย์และองค์ประกอบทางเคมีตลอดระยะเวลาการหมักคีเฟอร์	27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.2 ผลการศึกษาอิทธิพลของระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อจุลินทรีย์ และองคประกอบทางเคมีของคีเฟอร์และคีเฟอร์สมุนไพร	33
4.3 สัณฐานวิทยาของเซลล์ รูปร่าง การจัดเรียง และการทดสอบการสร้างเอนไซม์แคตะเลสของแบคทีเรียที่พบในคีเฟอร์และคีเฟอร์สมุนไพร	45
4.4 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและปริมาณฟีนอลิกรวม	47
4.5 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์และคีเฟอร์สมุนไพร	52
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	48
เอกสารอ้างอิง	50
ภาคผนวก	56
ภาคผนวก ก	57
ภาคผนวก ข	58
ภาคผนวก ค	61
ภาคผนวก ง	66
ภาคผนวก จ	78
ภาคผนวก ฉ	80
ประวัติผู้เขียน	81

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
4.1	จำนวนแบคทีเรียและยีสต์ที่มีชีวิตตลอดระยะเวลาการหมัก	27
4.2	ค่าพีเอช เปอร์เซ็นกรดแลคติก และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ตลอดระยะเวลาการหมัก	28
4.3	จำนวนแบคทีเรียที่มีชีวิตตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา	31
4.4	ยีสต์ที่มีชีวิตตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา	32
4.5	ค่าพีเอชตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา	34
4.6	ปริมาณกรดแลคติกตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา	34
4.7	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา	35
4.8	ปริมาณโปรตีนตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา	36
4.9	ปริมาณไขมันตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา	37
4.10	ปริมาณน้ำหนักแห้งตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา	37
4.11	ปริมาณแอลกอฮอล์ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา	38
4.12	สัณฐานวิทยาของเซลล์ รูปร่าง การจัดเรียง และการทดสอบการสร้างเอนไซม์แคตะเลสของแบคทีเรียที่พบในคีเฟอร์และคีเฟอร์สมุนไพร	40
4.13	ฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นระหว่างการเก็บรักษาของตัวอย่างคีเฟอร์	42
4.14	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมระหว่างการเก็บรักษา	44
4.15	การทดสอบทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์ที่หมักในระยะเวลาแตกต่างกัน	45
4.16	การทดสอบทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์และคีเฟอร์สมุนไพรระหว่างการเก็บรักษา	47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ตัวอย่างจุลินทรีย์โปรไบโอติก	3
2.2	ลักษณะของเมล็ดคีเฟอร์	7
2.3	การผลิตกรดแลคติกของแบคทีเรียแลคติกแบบ heterofermentation และ homofermentation	8
2.4	กระบวนการการใช้สารตั้งต้นในสภาวะที่มีอากาศและไม่มีอากาศของยีสต์	9
2.5	กระบวนการการใช้สารตั้งต้นแต่ละชนิดของยีสต์	10
2.6	กระเจี๊ยบแดง	11
2.7	ผลมะตูมและมะตูมตากแห้ง	12
2.8	ดอกอัญชัน	13
2.9	การทำงานของสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	14
2.10	โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกทั่วไป	15
4.1	ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิต ค่าพีเอช ค่าความเป็นกรด และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายในน้ำต่อระยะเวลาการหมัก	29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

คีเฟอร์ (kefir) เป็นเครื่องดื่มที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย มีคุณค่าทางโภชนาการสูง และยังมีแบคทีเรียกลุ่มโปรไบโอติก (probiotic) เมื่อดื่มคีเฟอร์จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์จะไปยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคที่อยู่ในร่างกาย และช่วยปรับสมดุลของลำไส้

สมุนไพรมีประโยชน์ต่อสุขภาพอย่างหลากหลาย รวมทั้งมีผลต่อการลดคอเลสเตอรอล ป้องกันโรคหัวใจ หลอดเลือด และมะเร็ง ประโยชน์ทั้งหมดของสมุนไพรที่ใช้เป็นผลมาจากสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสมุนไพรชนิดนั้นๆ และน้ำที่ได้จากการต้มสมุนไพรยังเป็นเครื่องดื่มที่ได้รับความนิยมมากอีกด้วย

นอกจากนี้คีเฟอร์ยังไม่เป็นที่รู้จักกันในประเทศไทยมากนัก ดังนั้นในปัญหาพิเศษนี้จึงมีการเติมสมุนไพรที่นิยมในหมู่คนทั่วไป และสมุนไพรเหล่านี้ยังอุดมไปด้วยสารประกอบฟีนอลิค และยังมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่สูง ซึ่งได้แก่ กระเจี๊ยบ มะตูม และอัญชัน เป็นการเพิ่มประโยชน์ให้แก่คีเฟอร์อีกทั้งยังเป็นการปรับปรุงรสชาติของคีเฟอร์ให้สามารถดื่มได้ง่ายมากยิ่งขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาระยะเวลาในการเก็บรักษาของคีเฟอร์สมุนไพรที่มีผลในด้านเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม Lactobacill ยีสต์ องค์ประกอบทางเคมี และคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส

1.2.2 เพื่อศึกษาผลของสมุนไพรต่อการต้านอนุมูลอิสระและองค์ประกอบทางเคมีในคีเฟอร์ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา

1.2.3 เพื่อศึกษาผลของสมุนไพรที่มีผลต่อคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์ตลอดระยะเวลาการในเก็บรักษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถเพิ่มคุณประโยชน์แก่คีเฟอร์ โดยการเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระจากสมุนไพรที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย อีกทั้งทำให้รับประทานได้ง่ายกว่าคีเฟอร์ดั้งเดิมและเป็นรสชาติที่แปลกใหม่ เพื่อให้คีเฟอร์เป็นที่นิยมในประเทศไทยมากขึ้น และอาจนำไปศึกษาต่อเพื่อผลิตในระดับอุตสาหกรรมได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 โปรไบโอติก

โปรไบโอติก (probiotic) อาหารเสริมที่เป็นจุลชีพเล็กๆที่ยังมีชีวิต เมื่อรับประทานเข้าไปแล้วช่วยให้ร่างกายผู้นั้นมีสุขภาพที่ดีขึ้น ซึ่งอาจช่วยป้องกันหรือรักษาโรคต่างๆที่เกิดขึ้นเนื่องจากการเปลี่ยนแปลงของจุลชีพในร่างกาย ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียที่เคยมีในลำไส้ใหญ่สมัยเป็นเด็กทารก (อุทัย, 2549)

โปรไบโอติกมีความสามารถในการทนกรดทนด่างในกระเพาะและลำไส้เล็ก แบคทีเรียกลุ่มนี้ ได้แก่ บิฟิโดแบคทีเรีย แลคติดแอซิดแบคทีเรีย (ภาพที่ 2.1) ทำหน้าที่ช่วยย่อยอาหาร ผลิตอาหารที่มีประโยชน์รวมทั้งวิตามินต่างๆ ซึ่งปกติแล้วไม่พบโปรไบโอติกในลำไส้เล็กของคน นอกจากนั้นยังมีประโยชน์อื่นๆอีกหลายประการ เช่น ช่วยลดสารก่อมะเร็งบางชนิด ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด เป็นต้น ปัญหาสุขภาพบางประการ เช่น ท้องผูก เบื่ออาหาร ภูมิต้านทานโรคต่ำ คอเลสเตอรอลในเลือดสูง มักพบแบคทีเรียพวกนี้ได้ในผลิตภัณฑ์พวกโยเกิร์ต คีเฟอร์ และผักที่ทำการหมัก โปรไบโอติกเมื่อผ่านเข้าไปสู่ลำไส้ใหญ่ได้จะทำให้ประชากรแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่เพิ่มขึ้น แบคทีเรียที่มีชีวิตอยู่ในลำไส้ได้จะสามารถเพิ่มขนาดและเพิ่มจำนวนได้ขึ้นอยู่กับอายุ สารอาหารพิเศษ สุขภาพ การได้รับยา และสิ่งที่เติมหรือเสริมลงไป แบคทีเรียจะเจริญได้เพราะสามารถยึดติดกับผนังลำไส้ และใช้อาหารที่ผ่านการย่อยมาบ้างแล้ว (อำพรรณ, 2548)

ภาพที่ 2.1 ตัวอย่างจุลินทรีย์โปรไบโอติก
ที่มา: พนารัตน์ (2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 นมหมักคีเฟอร์

คีเฟอร์ คือ ผลิตภัณฑ์นมหมักที่เกิดจากการหมักระหว่างแบคทีเรียและยีสต์ เป็นเครื่องดื่มนมที่มีกลิ่นยีสต์จางๆและมีรสเปรี้ยว มีคาร์บอนไดออกไซด์และแอลกอฮอลล์เล็กน้อย คีเฟอร์เป็นแหล่งของกรดอะมิโน วิตามิน (B2, B12, K, A, D) แร่ธาตุ (แคลเซียม ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม) และเอนไซม์ คีเฟอร์ช่วยในเรื่องของการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน ยับยั้งการเจริญของเนื้องอก การป้องกันริ้วรอยและอาการแพ้ การลดคอเลสเตอรอล และการรักษาอาการนอนไม่หลับ เชื่อว่ามีสารที่มีประโยชน์จำนวนมากที่พบในคีเฟอร์และมีการตั้งสมมติฐานมาเป็นเวลานานของชาวบอลข่าน ชาวยุโรปตะวันออกและชาวคอเคซัสบางส่วนที่ดื่มนมหมักเป็นประจำ (Gaware และคณะ, 2011)

คีเฟอร์มีสารประกอบหลากหลายชนิดที่มีคุณสมบัติทางชีวภาพเช่น exopolysaccharides และ bioactive peptides ทั้งสองอย่างนี้แสดงถึงกิจกรรมการต้านแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบอย่างมีนัยสำคัญ ลักษณะทางประสาทสัมผัสที่เฉพาะเจาะจงของคีเฟอร์มาจากการมีสารประกอบเป็นสารระเหยบางชนิดเช่น อะเซทัลดีไฮด์ (acetyldehyde) และเอทานอล (ethanol) (Tayyebeh และคณะ, 2017)

การบริโภคน้ำนมหมักคีเฟอร์สามารถต้านทานต่อการเกิดโรคได้หลายชนิด โดยแบคทีเรียกลุ่มโปรไบโอติกที่อยู่ในร่างกายจะเข้าแทรกแซงทำให้แบคทีเรียก่อโรคไม่สามารถเจริญได้ในร่างกาย น้ำนมหมักคีเฟอร์มีความปลอดภัยสูง เป็นการถนอมอาหารโดยวิธีการทางธรรมชาติ มีประวัติการบริโภคที่สอดคล้องกับการส่งเสริมสุขภาพให้แข็งแรง และใช้มาหลายพันปีแล้วในทวีปยุโรปตะวันออก นอกจากนั้นยังแพร่กระจายไปยังหลายประเทศทั่วโลก สามารถบริโภคเป็นอาหารและเครื่องดื่มได้ทุกวัย ตั้งแต่ทารกอายุมากกว่า 6 เดือน ผู้ใหญ่ ผู้สูงอายุ และผู้ป่วย สำหรับหัวเชื้อคีเฟอร์ในประเทศไทย มีการเพาะเลี้ยงกันตามบ้านพักอาศัย ถึงแม้ว่าสภาวะที่ใช้ในการหมักจะไม่ปลอดเชื้อ แต่ก็ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้ออื่นๆในกระบวนการหมัก มีกระบวนการหมักที่สามารถผลิตสารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีต้นทุนการผลิตต่ำ ในทางการแพทย์ใช้รักษาภาวะพร่องเอนไซม์ย่อยน้ำนม กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน ลดระดับคอเลสเตอรอล และป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง (จันทรวรรณ, 2555)

2.2.1 นมที่ใช้ในการหมักคีเฟอร์

ในทางการค้าคีเฟอร์จะผลิตมาจากนมวัว แต่โดยทั่วไปแล้ว คีเฟอร์สามารถผลิตได้จากนมแกะ นมแพะ นมอูฐ และนมกระบือ นอกจากนั้นยังผลิตจากแหล่งอื่นที่ไม่ใช่น้ำนมจากสัตว์ เช่น นมถั่วเหลือง นมมะพร้าว นมพืนัท น้ำผลไม้ น้ำตาล และ กากน้ำตาล (Wojtowski, 2003)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2 ประกาศกระทรวงสาธารณสุขที่เกี่ยวข้องกับคีเฟอร์

ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (2556) เรื่อง นมเปรี้ยว ได้ให้ความหมายของนมเปรี้ยวว่า นมเปรี้ยว (Fermented milk) เป็นผลิตภัณฑ์นมที่ได้จากน้ำนมจากสัตว์ที่นำมาบริโภคได้ หรือส่วนประกอบของน้ำนมที่ผ่านการทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคแล้วหมักด้วยจุลินทรีย์ที่ไม่ทำให้เกิดโรคหรืออันตราย ทำให้ค่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้น และอาจปรุงแต่งกลิ่น รส สี หรือเติมวัตถุเจือปนอาหาร สารอาหาร หรือส่วนประกอบอื่นที่มิใช่นมด้วยก็ได้ ทั้งนี้ให้รวมถึงนมเปรี้ยวที่นำมาผ่านการฆ่าเชื้อ การแช่แข็ง หรือการทำให้แห้งด้วย และยังให้ความหมายของคีเฟอร์ว่า เป็นนมเปรี้ยวที่ได้จากการหมักด้วยแบคทีเรียและยีสต์ ได้แก่ *Lactobacillus kefiri* หรือ *Lactococcus* sp. และ *Acetobacter* sp. และ *Kluyveromyces marxianus* และ *Saccharomyces unisporus* หรือ *Saccharomyces cerevisiae* หรือ *Saccharomyces exiguus* และได้มีการกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานของคีเฟอร์ โดยต้องมีมันเนยน้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนัก มีค่าความเป็นกรด โดยคำนวณเป็นกรดแลคติคไม่น้อยกว่า 0.6 เปอร์เซ็นต์ มีแบคทีเรียไม่น้อยกว่า 10,000,000 โคโลนี และยีสต์ไม่น้อยกว่า 10,000 โคโลนี ต้องเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิไม่เกิน 8 องศาเซลเซียส ตลอดระยะเวลาหลังบรรจุจนถึงผู้บริโภค และระยะเวลาการบริโภคต้องไม่เกิน 30 วัน นับจากวันที่บรรจุในภาชนะพร้อมจำหน่าย

2.2.3 ประโยชน์จากการบริโภคคีเฟอร์

คีเฟอร์ เป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ประกอบไปด้วยสารอาหารหลักจากน้ำนม ได้แก่ โปรตีน และกรดอะมิโนจำเป็น อีกทั้งยังอุดมไปด้วยแร่ธาตุและที่จำเป็นต่อร่างกาย ซึ่งมีรายงานว่ากิจกรรมการย่อยสลายโปรตีน (proteolytic activity) ของจุลินทรีย์กล้าเชื้อใน ระหว่างกระบวนการหมักส่งผลให้ปริมาณกรดอะมิโนอิสระ (free amino acid) ในคีเฟอร์เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเทียบกับปริมาณที่พบในน้ำนมวัตถุดิบ (Simova และคณะ, 2018) อีกทั้งน้ำตาลแลคโตสบางส่วนในน้ำนมจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ β-galactosidase จากจุลินทรีย์ ทำให้ผู้ที่มีภาวะการย่อยแลคโตสผิดปกติ (lactose Intolerance) สามารถบริโภคผลิตภัณฑ์จากนมชนิดนี้ได้ (Hertzler และคณะ, 2003) นอกจากนั้นแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก และยีสต์ที่เป็นองค์ประกอบในเม็ดคีเฟอร์บางสายพันธุ์จัดเป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติก โดยงานวิจัยของ Kim และคณะ (2016) ได้รายงานว่าแบคทีเรียกรดแลคติกในเม็ดคีเฟอร์บางสายพันธุ์สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค (bacteriocin) เช่น *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Listeria* spp., *Salmonella* spp. และ *Staphylococcus* spp. ในอาหารได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คีเฟอร์ถูกจัดให้เป็นผลิตภัณฑ์ในกลุ่มอาหารเชิงหน้าที่ (functional food) ซึ่งให้ประโยชน์หรือคุณสมบัติอื่นๆในด้านการส่งเสริมสุขภาพนอกเหนือจากคุณค่าทางโภชนาการขั้นพื้นฐาน (Shiby และ Mishra, 2013)

2.3 หัวเชื้อคีเฟอร์

น้ำนมหมักคีเฟอร์ได้มาจากกระบวนการหมักของเม็ดคีเฟอร์ (Kefir grains) ภายในเม็ดคีเฟอร์ประกอบด้วยจุลินทรีย์ตามธรรมชาติหลายชนิดอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัยได้รับประโยชน์แบบเกื้อกูลกัน โดยอยู่ในตัวกลางที่ประกอบด้วยโปรตีน ไขมัน และน้ำตาลยึดเกาะกัน มีลักษณะเป็นเมือกเหนียวเหมือนเจลาติน ภายในเมล็ดคีเฟอร์ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียและยีสต์เป็นโครงสร้างที่ซับซ้อน (จันทรวรรณ, 2555) โดยกิจกรรมทางเมตาบอลิซึม (metabolic activity) ของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกและยีสต์ดังกล่าวอาศัยอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพา (symbiosis) ในโครงสร้างที่เกิดจากการรวมตัวของชั้นพอลิแซ็กคาไรด์ที่เชื้อแบคทีเรียสร้างและปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ (exopolysaccharide) ซึ่งประกอบไปด้วยน้ำตาลกลูโคส และกาแลคโตส (อัตราส่วน 1:1) ร่วมกับโปรตีนเคซีน และไขมันนม เรียกว่า คีเฟอราน (kefiran) ซึ่งทำให้จุลินทรีย์กล้าเชื้อผสม (mixed starter cultures) จับตัวเป็นกลุ่มก้อนลักษณะเป็นเม็ดสีขาว (ภาพที่ 2.2) มีความเหนียวและ ยืดหยุ่น (gelatinous biomass) รูปร่างไม่แน่นอน คล้ายดอกกะหล่ำ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 2 ถึง 30 มิลลิเมตร (ศาสน์ และอัญชิสา, 2560)

ลักษณะของหัวเชื้อที่ใช้ในการหมักคีเฟอร์ หรือเม็ดคีเฟอร์ ประกอบไปด้วยเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก (Lactic Acid Bacteria; LAB) ได้แก่ จีนัสแลคโตคอก-ไค (Lactococci) เช่น *Lactococcuslactis* spp. *Lactis*, *Lactococcuslactis* spp. *Cremoris*, *Lactococcuslactis* spp. *Diacetylactis* จีนัสแลคโตบาซิลไล เช่น *Lactobacillus kefir* จีนัสลิวโคนอสตอกส์ (Lcuconostoc) เช่น *Leuconostoc mesenteroides* spp. *Cremoris* และร่วมกับยีสต์กลุ่มที่สามารถหมักน้ำตาลแลคโตส ได้แก่ *Kluyveromyces marxianus* และยีสต์กลุ่มที่ไม่สามารถหมักน้ำตาลแลคโตส ได้แก่ *Saccharomyces unisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* และ *Saccharomyces exiguus* โดยจุลินทรีย์เชื้อผสมการอยู่ร่วมกันระหว่างจุลินทรีย์เหล่านี้ส่งผลให้เกิดการผลิตสารที่เป็นลักษณะเฉพาะทางประสาทสัมผัสต่อคีเฟอร์ (พรผจง, 2553)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 2.2 ลักษณะของเมล็ดคีเฟอร์

ที่มา: Woodward (2017)

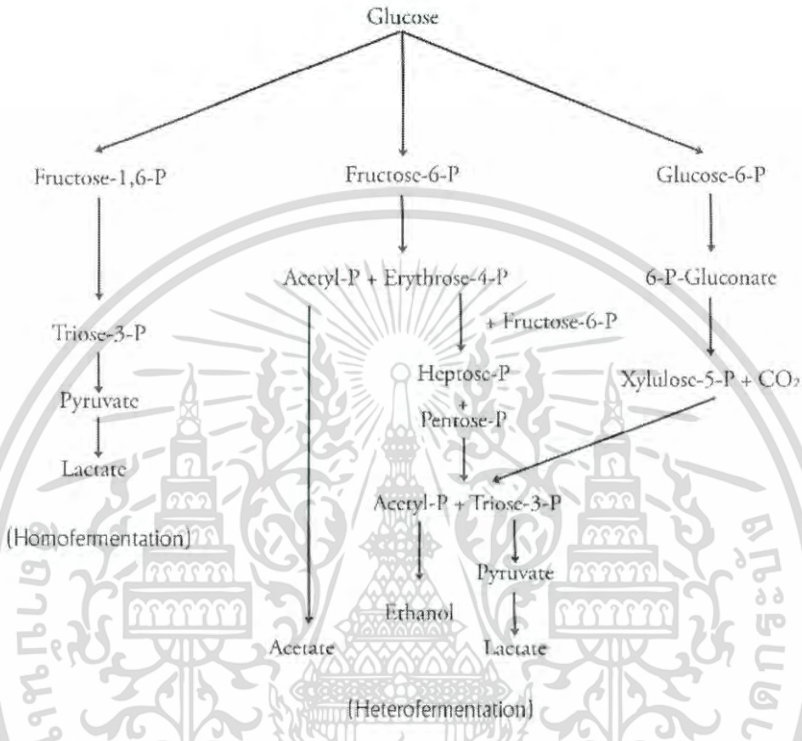
2.3.1 แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก

แบคทีเรียแลคติก (lactic acid bacteria) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่เคลื่อนที่ (nonmotile) ไม่สร้างเอนไซม์แคตาเลส (catalase negative) และไม่สร้างสปอร์(non-spore forming) ลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่ามีทั้งรูปร่างแท่งและรูปร่างกลม การจัดเรียงกลุ่มแบคทีเรียแลคติก ในสกุลต่างๆ ขึ้นอยู่กับรูปร่าง ลักษณะและรูปแบบของการหมักน้ำตาลกลูโคส การใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ และการเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ การผลิตเกลือแลคติก เชื้อเจริญในที่มีเกลือความเข้มข้นสูง และการทนต่อกรดหรือด่าง (Wood และ Holzapfel, 1997) แบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก ซึ่งเป็นสารเมตาบอไลท์ทุติยภูมิ พบในอาหารหลายชนิด โดยเฉพาะในนม ผัก และผลไม้ ส่วนมากแบคทีเรียนี้เป็นแบคทีเรียที่เจริญในสภาวะที่ไม่มีอากาศ แต่ในสภาวะที่มีอากาศก็ไม่ตาย แบคทีเรียแลคติกขาดสารไซโตโครม (cytochromes) และฟอร์ไฟลิน (porphyrins) จึงไม่สามารถเอนไซม์แคตาเลสและออกซิเดส (สุมณฑา, 2545) แบคทีเรียแลคติกสร้างพลังงานจากการหมักคาร์โบไฮเดรต โดยเกิดกรดแลคติกจาก 2 วิถี (ภาพที่ 2.3) คือ วิถีทางที่ได้แลคเตทเพียงอย่างเดียว เรียกว่า โฮโมเฟอร์เมนเททีฟ (homofermentative) และวิถีทางที่ได้แลคเตทร่วมกับสารอื่นในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน เรียกว่า เฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ (heterofermentative) (สมใจ, 2537)

1. โฮโมเฟอร์เมนเตทีฟแบคทีเรีย เป็นแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกได้ในปริมาณ ร้อยละ 85 หรือมากกว่าจากการหมักคาร์โบไฮเดรต ซึ่งพวกนี้จะหมักน้ำตาลกลูโคส 1 โมลเป็น กรดแลคติก 1.8 โมล และได้กรดอะซิติก เอทานอล และ คาร์บอนไดออกไซด์เล็กน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. เฮทเทอโรเฟอร์เมนเตทีฟ เป็นแบคทีเรียที่หมักคาร์โบไฮเดรต เช่น น้ำตาลกลูโคส ให้กรดแลคติก ประมาณ ร้อยละ 50 นอกนั้น ให้ กรดอะซิติก แอลกอฮอล์ คาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งจะหมักน้ำตาลกลูโคส 1 โมล แล้วสร้างกรดแลคติกได้น้อยกว่า 1.8 โมล



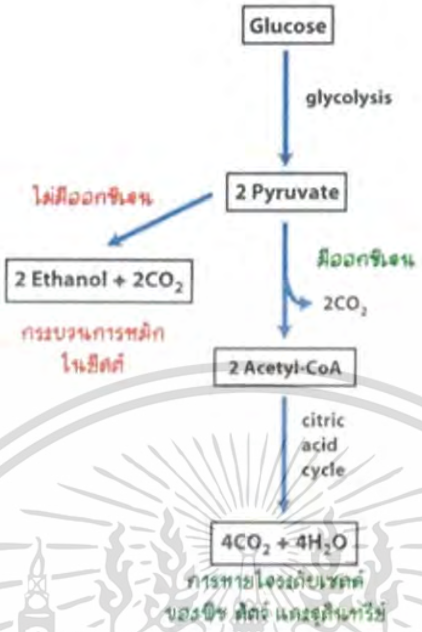
ภาพที่ 2.3 การผลิตกรดแลคติกของแบคทีเรียแลคติกแบบ heterofermentation และ homofermentation

ที่มา: Fábio *et al.* (2015)

2.3.2 ยีสต์

ยีสต์ (yeast) เป็นสิ่งมีชีวิตกลุ่มเห็ดราเซลล์เดียวที่สามารถสลายอาหารทั้งในภาวะที่มีออกซิเจน และไม่มีออกซิเจน (ภาพที่ 2.4) กระบวนการหายใจระดับเซลล์จะเกิดเมื่อเซลล์ได้รับออกซิเจนอย่างเพียงพอโดยสารอินทรีย์ เช่น น้ำตาลที่เป็นสารตั้งต้นของกระบวนการสลายอาหาร จะถูกออกซิไดซ์อย่างสมบูรณ์ และได้ผลิตภัณฑ์สุดท้าย คือ คาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำ ส่วนในภาวะที่มีออกซิเจนไม่เพียงพอยีสต์จะออกซิไดซ์สารตั้งต้นได้ เพียงบางส่วน ผลคือจะได้แอลกอฮอล์ และคาร์บอนไดออกไซด์เป็นผลิตผลสุดท้ายของการหมัก (fermentation) (ภัทรดร และศุภจิตรา, 2561)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

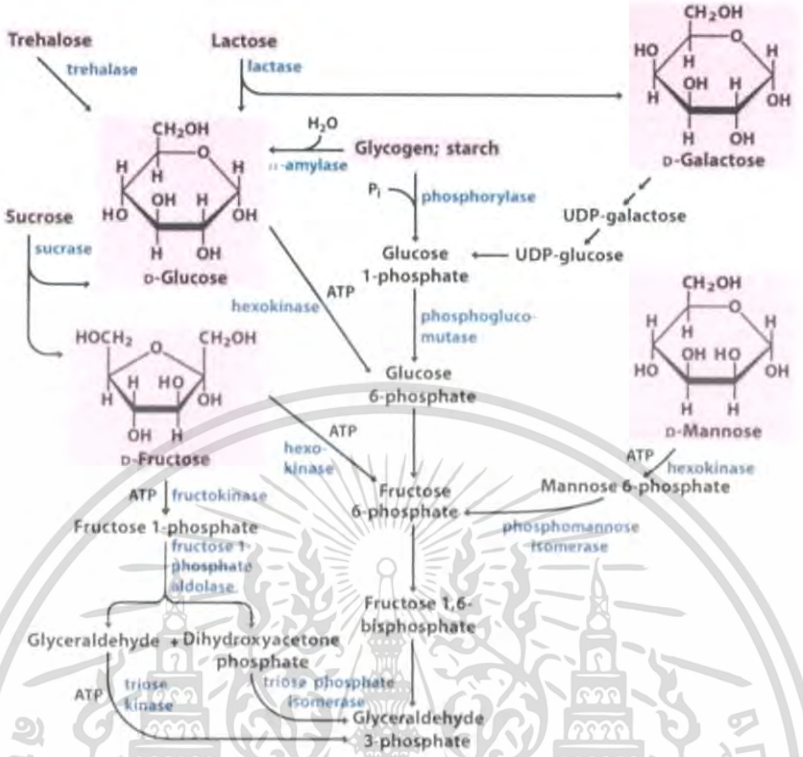


ภาพที่ 2.4 กระบวนการการใช้สารตั้งต้นในสภาวะที่มีอากาศและไม่มีอากาศของยีสต์

ที่มา: ภัทรดร และศุภจิตรา (2561)

ยีสต์ถูกนำไปใช้ในกระบวนการอุตสาหกรรมหลาย ชนิด เช่น กระบวนการหมักเพื่อผลิตแอลฮอล์ การผลิตไวน์ เบียร์ ซีอิ๊ว และขนมปัง เป็นต้น ดังนั้นจะเห็นได้ว่ายีสต์เป็นสิ่งมีชีวิตที่สลายสารอาหารตั้งต้นได้หลากหลาย (ภาพที่ 2.5) แสดงให้เห็นว่าคาร์โบไฮเดรตหลายชนิดสามารถเข้าสู่กระบวนการสลายสารอาหาร ได้ ณ จุดต่างๆกันของวิถีไกลโคไลซิส (glycolysis) และในแต่ละขั้นตอนของกระบวนการสลายสารอาหารจะมีเอนไซม์ช่วยเร่งปฏิกิริยา โดยเซลล์สามารถใช้คาร์โบไฮเดรตหลายชนิดเป็นแหล่งพลังงาน แต่น้ำตาลที่จะเข้าสู่ไกลโคไลซีสได้จะต้องถูกเปลี่ยนเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharide) เสียก่อน น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวแต่ละชนิดจะเข้าสู่ไกลโคไลซีส ณ จุดต่างๆกัน (ภัทรดร และศุภจิตรา, 2561)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.5 กระบวนการการใช้สารตั้งต้นแต่ละชนิดของยีสต์

ที่มา: ภัทรดร และศุภจิตรา (2561)

2.4 สมุนไพร

สมุนไพรจัดเป็นพืชที่มีอิทธิพลต่อการดำรงชีวิตของมนุษย์มากด้วยคุณค่าทางสารอาหาร สมบัติในด้านการป้องกันและรักษาโรคโดยเฉพาะความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สมุนไพรหลายชนิดจึงถูกนำมาบริโภคในรูปของอาหารที่ให้ประโยชน์ต่อร่างกายเพื่อให้สุขภาพร่างกายแข็งแรง นิยมนำมาผลิตเป็นเครื่องดื่มสมุนไพรเพื่อให้สะดวกแก่การบริโภคและได้รสชาติที่แปลกใหม่ กลุ่มของสารต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่ที่พบในสมุนไพรได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก แคโรทีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ และวิตามินต่างๆ โดยประเทศไทยมีสมุนไพรที่นิยมนำมาผลิตเป็นอาหารและเครื่องดื่มหลายชนิด และแต่ละพื้นที่ยังมีความหลากหลายด้านชนิดสมุนไพรซึ่งมีผลต่อคุณค่าทางโภชนาการ สรรพคุณทางยารวมถึงประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ นอกจากมีหน้าที่ในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันในอาหารแล้วยังมีบทบาทในการป้องกันโรคต่างๆ ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกายเช่น โรคหัวใจ โรคหลอดเลือดหัวใจ และโรคมะเร็ง เป็นต้น (อเนก และบุณยกฤต, 2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.1 กระเจี๊ยบแดง (Roselle)

กระเจี๊ยบมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Hibiscus sabdariffa L.* อยู่ในตระกูล Malvaceae เป็นไม้พุ่มสูง 50-180 เซนติเมตร มีหลากหลายสายพันธุ์ ลำต้นสีม่วงแดง ใบเดี่ยว รูปฝ่ามือ 3 หรือ 5 แฉก กว้างและยาวใกล้เคียงกัน 8-15 เซนติเมตร เป็นดอกเดี่ยวออกที่ซอกใบ กลีบดอกสีชมพู หรือเหลืองบริเวณกลางดอกสีม่วงแดง เกสรตัวผู้เชื่อมกันเป็นหลอด ผลเป็นผลแห้ง แตกได้ มีกลีบเลี้ยงสีแดงฉ่ำน้ำหุ้มไว้ (ภาพที่ 2.6)

ภาพที่ 2.6 กระเจี๊ยบแดง

ที่มา: อโรคา108 (2558)

สรรพคุณของกระเจี๊ยบโดยแบ่งตามส่วนต่างๆ

1. กลีบเลี้ยงของดอก ลดความดันโลหิต ทำให้ความเหนียวข้นของเลือดลดลง ช่วยรักษาโรคเส้นโลหิตแข็งเปราะได้ดี มีฤทธิ์ขับปัสสาวะ ช่วยย่อยอาหาร เพิ่มการหลั่งน้ำดีจากตับ
2. ใบ แก้โรคพยาธิตัวจี๊ด ยากัดเสมหะ แก้ไอ ขับเมือกมันในลำคอ ให้ลงสู่ทวารหนัก
3. ดอก แก้โรคนิ่วในไต แก้โรคนิ่วในกระเพาะปัสสาวะ ขัดเบา ละลายไขมันในเส้นเลือด กัดเสมหะ ขับเมือกในลำไส้ให้ลงสู่ทวารหนัก
4. ผล ลดไขมันในเส้นเลือด แก้กระหายน้ำ รักษาแผลในกระเพาะ
5. เมล็ด บำรุงธาตุ บำรุงกำลัง แก้ดีพิการ ขับปัสสาวะ ลดไขมันในเส้นเลือด

ส่วนที่นำมาใช้ทางยา และอาหาร คือกลีบเลี้ยงของดอก และกลีบรองดอกสีแดง มีรงควัตถุในกลุ่มแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ซึ่งละลายได้ในน้ำ สารสำคัญที่พบคือ สารกลุ่ม flavonoid ชื่อ crysanthemin, delphinidin-3-O-sambubioside, myricetin, hibiscitrin และ gossypitrin นอกจากนี้ยังมีสารในกลุ่ม phenylpropanoid ชื่อ ortho-coumaric acid, para-coumaric acid และ ferulic acid พบว่าสารสกัดจากกระเจี๊ยบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) และมีฤทธิ์ต้านเซลล์มะเร็งตับและมะเร็งต่อมลูกหมาก มีฤทธิ์ขับปัสสาวะ ลดความดันโลหิต ลดไขมันในเลือด ลดน้ำตาลในเลือด และมีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรียโดยเฉพาะเชื้อแกรมบวก (Gram positive bacteria) (พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, 2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 มะตูม (Bael)

มะตูมมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Aegle marmelos* อยู่ในวงศ์ Rutaceae เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลาง เป็นใบประกอบ โคนก้านใบใหญ่ ใบออกเรียงเวียน มีใบย่อย 3 ใบ ผลมีลักษณะทรงกลมรี มีผิวเรียบ ผลอ่อนเปลือกจะมีสีเขียว ผลแก่มีสีเขียวอมเหลือง ผลสุกแก่มีสีเหลือง มีเปลือกหนาแข็งไม่แตก ข้างในจะมีเนื้อนุ่ม สีเหลืองหรือสีเหลืองอมส้ม มีเมล็ดเรียงเป็นวงกลมรอบๆแกนผล มียางใสเหนียว จะมีเส้นใยนุ่มหุ้มเมล็ดอยู่ รสชาติหวานหอม มีกลิ่นหอม ใช้รับประทาน (ภาพที่ 2.7) มีถิ่นกำเนิดในทวีปเอเชีย และต่อมาได้มีปลูกในหลายประเทศทั่วโลก ประเทศไทยนั้นจะปลูกทั่วทุกภาคและปลูกได้ทุกฤดู

ภาพที่ 2.7 ผลมะตูมและมะตูมตากแห้ง
ที่มา: Chandran (2018)

มะตูมเป็นสมุนไพรที่มีสารประกอบฟีนอลิก อัลคาลอยด์ คูมาริน ฟลาโวนอยด์ แคโรทีนอยด์ วิตามินซี มีสารช่วยต้านอนุมูลอิสระ ช่วยลดน้ำตาลในเลือด และ ลดความเสี่ยงของโรคเรื้อรังได้ นอกจากนี้ยังมีวิตามินและแร่ธาตุหลายชนิดรวมถึงวิตามินซี วิตามินเอ วิตามินบี ไรโบฟลาวิน ไนอาซิน แคลเซียม และฟอสฟอรัส (Charoensiddhi และ Anprung, 2008)

2.4.3 อัญชัน (Butterfly Pea)

อัญชันมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Clitoria ternatea* เป็นพืชตระกูลถั่ว (Fabaceae) ในวงศ์ Leguminosae เป็นพืชล้มลุก ขึ้นได้ดีในเขตร้อน ลักษณะต้นเป็นไม้เถาเลื้อยขนาดเล็กใบเป็นใบประกอบ ดอกอัญชัน เป็นดอกเดี่ยว มีสีน้ำเงินเข้ม หรือน้ำเงินอมม่วง และสีขาว ดอกชั้นในแบ่งเป็น 5 กลีบกลีบนอกมีสีเขียว มีผลเป็นฝัก ลักษณะแบนคล้ายฝักถั่ว ขนาดยาวประมาณ 5-10 เซนติเมตร ซึ่งมีเมล็ดภายใน 2-3 เมล็ด (ภาพที่ 2.8)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 2.8 ดอกอัญชัน

ที่มา: นิรนาม (2557)

ดอกอัญชันมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของตา เพิ่มความสามารถในการมองเห็น แก้อาการตาฟาง ตามัว ตาเสื่อมจากโรคเบาหวาน โรคต้อหิน โรคต้อกระจก เป็นต้น ดอกอัญชันนั้นยังช่วยยับยั้งการรวมตัวของเกล็ดเลือด ช่วยขับปัสสาวะ และยังช่วยผ่อนคลายกล้ามเนื้อ มีสารกลุ่มของฟลาโวนอยด์ คือ แอนโทไซยานินมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของไขมัน สารแอนโทไซยานินจากดอกอัญชัน เป็นสีที่ละลายได้ในน้ำ แต่ไม่คงตัวในสารละลายที่เป็นกรด ปกติให้สีม่วงคราม แต่ในสภาวะที่เป็นกรดอ่อนจะให้สีม่วงแดง ชะลอการเกิดโรคไขมันอุดตันในหลอดเลือดและโรคหลอดเลือดหัวใจแข็งตัว (พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา, 2562)

2.5 อนุมูลอิสระ

การเกิดอนุมูลอิสระ (Free radical) เป็นกลไกการเกิดขึ้นทางธรรมชาติของสารที่มีการดึงอิเล็กตรอนจากสารอื่นในบริเวณรอบข้างของโมเลกุลหรืออะตอม ทำให้เกิดความเสถียรต่ำ และมีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลของสารอื่นที่อยู่บริเวณรอบๆของสารโดยที่โมเลกุลข้างเคียงจะสูญเสียหรือรับอิเล็กตรอนกลายเป็น อนุมูลอิสระตัวใหม่ เกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (Chain reaction) ซึ่งเป็นปัจจัยเอื้อต่อการเกิดการทำงานที่ผิดปกติของเซลล์ และลุกลามจนเกิดความผิดปกติของเนื้อเยื่อ หรืออวัยวะก่อให้เกิดโรคต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง โรคหลอดเลือดหัวใจ โรคข้ออักเสบ โรคสมองเสื่อม เป็นต้น ปัจจุบันมีการศึกษา ค้นคว้าวิจัยเพื่อหาสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใน สมุนไพร ผัก ผลไม้ หรือผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติ เพื่อนำมาใช้ในการบริโภคหรือใช้ประโยชน์ในการต้านอนุมูลอิสระ (สุวรรณา และคณะ, 2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.1 วิธีการทดสอบสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

วิธีการทดสอบสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ใช้หลักการเปลี่ยนแปลงสี ของ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl:DPPH ซึ่งเป็นสารที่เสถียรในตัวทำละลายเมทานอล (methanol) สารละลายนี้มีสีม่วงซึ่งดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 515-517 นาโนเมตร เมื่อทำปฏิกิริยากับสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสีของสารละลายสีม่วงจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง (ภาพที่ 2.9) โดยเปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูอิสระที่ใช้เป็นมาตรฐาน เช่น Butylated hydroxytoluene: BHT, สารละลายโทรลอกซ์ หรือ สารละลายวิตามิซี เป็นต้น (พรรณี, 2550)

ภาพที่ 2.9 การทำงานของสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ
ที่มา: José Carlos Santos Teixeira (2013)

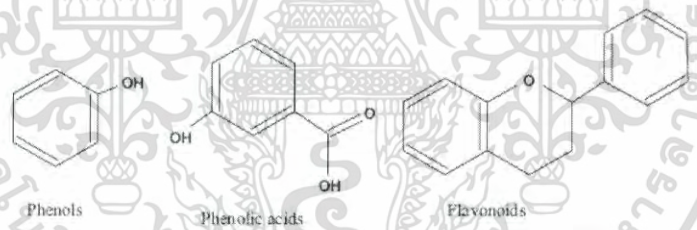
การทดสอบสารประกอบฟีนอลิกมีหลายวิธีในการทดสอบ เช่นการทดสอบด้วย Thin Layer Chromatography: TLC, High Performance Liquid Chromatography:HPLC Online-Coupling- LC-MSMS หรือ Microplate assay วิธีมาตรฐานและนิยมคือ วิธี DPPH Microplate assay ซึ่งมีข้อจำกัดคือ เป็นการวิเคราะห์เชิงสารผสม (Total contents) ไม่สามารถแยกชนิดของสารที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และวิธีอื่นๆมีข้อจำกัด ได้แก่ ราคาของ เครื่องมือสูง ความชำนาญการ ทำให้ต้นทุนในการทดสอบสูง (สุวรรณา และคณะ, 2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 สารประกอบฟีนอล

สารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) หรือสารประกอบฟีนอล เป็นสารที่พบตามธรรมชาติในพืชหลายชนิด เช่น ผัก ผลไม้ เครื่องเทศ สมุนไพร ถั่วเมล็ดแห้ง เมล็ดธัญพืช ซึ่งถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในการเจริญเติบโต สารประกอบฟีนอล มีโภชนเภสัช ซึ่งสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพคือ มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) สามารถละลายได้ในน้ำ (เนตรนภา และเฉลิม, 2557)

สารประกอบฟีนอลที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด และมีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน (ภาพที่ 2.10) ตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก (phenolic acids) ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ เช่น ลิกนิน (lignin) กลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบคือ สารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ (flavonoid) สารประกอบฟีนอลที่พบในพืชมักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycoside) น้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดในโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล คือ น้ำตาลกลูโคส (glucose) และพบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลด้วยกันเอง หรือสารประกอบฟีนอลกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดอินทรีย์ (organic acid) รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีน แอลคาลอยด์ (alkaloid) และเทอร์พนอยด์ (terpenoid) เป็นต้น (เนตรนภา และเฉลิม, 2557)



ภาพที่ 2.10 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกทั่วไป

ที่มา: เนตรนภา และเฉลิม (2557)

ในด้านของประโยชน์ต่อสุขภาพ สารประกอบฟีนอลหลายชนิดมีฤทธิ์เป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันและเป็นสารต้านการกลายพันธุ์ (antimutagrns) มีสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพ สามารถการป้องกันโรคต่างๆ โดยเฉพาะโรคหัวใจขาดเลือด และมะเร็ง โดยสารประกอบฟีนอลจะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระ (free radical) และไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่นๆ โดยใช้ตัวเองเป็นตัวรับอนุมูลอิสระ (free radical) ทำให้ยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ ที่มีอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุ แต่สารต้านอนุมูลอิสระจะถูกทำลายไปด้วย นอกจากนั้นยังใช้เพื่อการถนอมอาหาร โดยใช้เป็นสารกันหืน ป้องกันปฏิกิริยาการออกซิเดชันของลิพิด (lipid oxidation) (เนตรนภา และเฉลิม, 2557)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.1 วิธีการทดสอบสารประกอบฟีนอลิกรวม

วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลรวม (Total phenolic compounds) ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu reagent ซึ่งอาศัยการเกิดปฏิกิริยารีดอกซ์ของโมลิบโดทังสเตตไอออน (Molybdotungstate ion) รีเอเจนท์ประกอบด้วย โซเดียมทังสเตต (Sodium tungstate) โซเดียมโมลิบเดต (Sodium bolybdate) กรดฟอสฟอริก (Phosphoric acid) และ โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate) สังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงของไอออน Mo(VI) ซึ่งมีสีเหลือง เมื่อได้รับอิเล็กตรอนจากสารต้านอนุมูลอิสระจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูป Mo(V) ซึ่งมีสีน้ำเงิน โดยสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร (รววิรรณ และทรงพร, 2549)

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

น้ำนมหมักคีเฟอร์ได้มาจากกระบวนการหมักของเม็ดคีเฟอร์ ภายในเม็ดคีเฟอร์ประกอบด้วยจุลินทรีย์ตามธรรมชาติหลายชนิดอยู่รวมกันแบบพึ่งพาอาศัยได้รับประโยชน์แบบเกื้อกูลกัน โดยอยู่ในตัวกลางที่ประกอบด้วยโปรตีน ไขมัน และน้ำตาล ยึดเกาะกันด้วยสารพอลีแซคคาไรด์มีลักษณะเป็นเมือกเหนียวเหมือนเจลลาติน เป็นเมล็ดอ่อนนุ่มกึ่งแข็ง ทำให้มีรูปร่างคล้ายดอกกะหล่ำ มีสีขาวจนถึงเหลืองอ่อน ขนาด 1-6 มิลลิเมตร ภายในเมล็ดคีเฟอร์ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียและยีสต์เป็นโครงสร้างที่ซับซ้อน และเมื่อนำเชื้อแบคทีเรียมาเลี้ยงแยกกับเชื้อยีสต์ พบว่าเชื้อดังกล่าวไม่สามารถเจริญได้ในน้ำนม หรือมีสารเมตาบอไลท์ที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพลดน้อยลง นอกจากนี้สัดส่วนของเชื้อจุลินทรีย์ในเมล็ดคีเฟอร์มีการเปลี่ยนแปลงตลอดเวลา ขึ้นกับสิ่งแวดล้อมและอาหารที่ใช้เลี้ยง (จันทรวรรณ, 2555)

เมื่อนำเม็ดคีเฟอร์มาบ่มในน้ำนมที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จุลินทรีย์เหล่านี้เจริญเติบโตเพิ่มขึ้นในน้ำนม สร้างเอนไซม์หลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับการหมัก เชื้อยีสต์เปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ต่อมาแบคทีเรียกลุ่มอะซิติก เปลี่ยนแอลกอฮอล์เป็นกรดอะซิติก และยังมีแบคทีเรียกลุ่มแลกติกแอซิด เปลี่ยนน้ำตาลเป็นกรดแลกติก ทำให้มีรสเปรี้ยวซึ่งจะช่วยยับยั้งแบคทีเรียที่ปนเปื้อนได้ ดังนั้นน้ำนมหมักคีเฟอร์จึงมีสารอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงกว่าน้ำนมที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก สารอาหารดังกล่าวประกอบด้วย สารคีเฟอรัน กรดแลคติก กรดอะซิติก คาร์บอนไดออกไซด์ แอลกอฮอล์เล็กน้อย (1-2 เปอร์เซ็นต์) วิตามิน (วิตามิน บี 1, วิตามิน บี 12, วิตามิน เค) เกลือแร่ (แคลเซียม) กรดไขมัน กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย และโปรตีนที่สามารถย่อยได้ง่าย คุณสมบัติของน้ำนมหมักคีเฟอร์นั้นแตกต่างจากนมเปรี้ยวโยเกิร์ต คือน้ำนมหมักคีเฟอร์เกิดจากกระบวนการหมักของเชื้อจุลินทรีย์หลายชนิดในเมล็ดคีเฟอร์ และภายหลังกระบวนการหมักเสร็จสิ้นแล้วยังสามารถนำเม็ดคีเฟอร์ไปใช้ในการหมักครั้งต่อๆไปได้ มีจำนวนเมล็ดคีเฟอร์เพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ ในระหว่างขั้นตอนของการหมักจึงสามารถเพาะเลี้ยงได้อย่างต่อเนื่อง (จันทรวรรณ, 2555)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การบริโภคน้ำนมหมักคีเฟอร์สามารถต้านทานต่อการเกิดโรคได้หลายชนิด โดยแบคทีเรียกลุ่มโปรไบโอติคที่อยู่ในร่างกายจะเข้าแทรกแซงทำให้แบคทีเรียก่อโรคไม่สามารถเจริญได้ในร่างกาย น้ำนมหมักคีเฟอร์มีความปลอดภัยสูง เป็นการถนอมอาหารโดยวิธีการทางธรรมชาติ มีประวัติการบริโภคที่สอดคล้องกับการส่งเสริมสุขภาพให้แข็งแรง และใช้มาหลายพันปีแล้วในทวีปยุโรปตะวันออก และได้แพร่กระจายไปยังหลายประเทศทั่วโลก สามารถบริโภคเป็นอาหารและเครื่องดื่มได้ทุกวัยตั้งแต่ ทารกอายุมากกว่า 6 เดือน ผู้ใหญ่ ผู้สูงอายุ และผู้ป่วย สำหรับหัวเชื้อคีเฟอร์ในประเทศไทย มีการเพาะเลี้ยงกันตามบ้านพักอาศัย ถึงแม้ว่าสภาวะที่ใช้ในการหมักจะไม่ปลอดเชื้อ แต่ก็ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้ออื่นๆในกระบวนการหมัก มีกระบวนการหมักที่สามารถผลิตสารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีต้นทุนการผลิตต่ำ ในทางการแพทย์ใช้รักษาภาวะพร่องเอนไซม์ย่อยน้ำนม กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน ลดระดับโคเลสเตอรอล และป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง (จันทรวรรณ, 2555)

สมุนไพรจัดเป็นพืชที่มีอิทธิพลต่อการดำรงชีวิตของมนุษย์มากด้วยคุณค่าทางสารอาหาร สมบัติในด้านการป้องกันและรักษาโรคโดยเฉพาะความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สมุนไพรหลายชนิดจึงถูกนำมาบริโภคในรูปของอาหารที่ให้ประโยชน์ต่อร่างกายเพื่อให้สุขภาพร่างกายแข็งแรง นิยมนำมาผลิตเป็นเครื่องดื่มสมุนไพรเพื่อให้สะดวกแก่การบริโภคและได้รสชาติที่แปลกใหม่ กลุ่มของสารต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่ที่พบในสมุนไพรได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก แคโรทีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ และวิตามินต่างๆ โดยประเทศไทยมีสมุนไพรที่นิยมนำมาผลิตเป็นอาหารและเครื่องดื่มหลายชนิด และแต่ละพื้นที่ยังมีความหลากหลายด้านชนิดสมุนไพรซึ่งมีผลต่อคุณค่าทางโภชนาการ สรรพคุณทางยารวมถึงประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ นอกจากมีหน้าที่ในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันในอาหารแล้วยังมีบทบาทในการป้องกันโรคต่างๆที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกายเช่น โรคหัวใจ โรคหลอดเลือดหัวใจ และโรคมะเร็ง เป็นต้น นอกจากนี้ ฟลาโวนอยด์จัดเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญอีกชนิดหนึ่ง สารกลุ่มดังกล่าวเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติจึงมีความปลอดภัยมากกว่า (อเนก และบุณยถฤต, 2560)

Kangsadalampai และคณะ (2006) ได้ทำการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระในสมุนไพรไทย ในเขตกรุงเทพมหานคร ได้แก่ ขิง ตะไคร้ กระเจี๊ยบ และมะตูมโดยพบว่าพบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในช่วง 59.86-267.22 mg of GAE/g ซึ่งมะตูมและกระเจี๊ยบมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด ส่วนประสิทธิภาพ ในการต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี FRAP อยู่ในช่วง 794.31-2,220 μM โดยกระเจี๊ยบมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองทั้งหมดพบว่าสมุนไพรที่มี แนวโน้มของปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี คือ กระเจี๊ยบ มะตูม กระเพรา สะระแหน่ และโหระพาตามลำดับ ส่วนฟลาโวนอยด์นั้นอัญชัน และกระเจี๊ยบ มีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงใกล้เคียงกันคือ 8.65 และ 7.96 mg of catechin/g ตามลำดับ เนื่องจากมีแนวโน้มปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์และประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสมุนไพรชนิดต่างๆ จากข้อมูลดังกล่าวสามารถนำไปใช้ในการคัดเลือกสมุนไพรมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ อาหารและเครื่องดื่มสมุนไพรต่อไปได้ (อเนก และบุณยกฤต, 2560)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

นมวัวพาสเจอร์ไรซ์ สูตรเต็มมันเนย ตราเมจิ

เม็ดคีเฟอร์ จากเพจ Kefir at home (https://www.facebook.com/kefirathome)

สมุนไพรแห้ง (กระเจี๊ยบ มะตูม และอัญชัน) จากร้านบุญนิยม จังหวัดอุบลราชธานี

3.1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (De Man Rogosa and Sharpe), Hardy Diagnostics USA

อาหารเลี้ยงเชื้อ YM (Yeast Malt mediu), BD Advanced Bioprocessing USA

3.1.3 สารเคมี

แคลเซียมคาร์บอเนต (Calcium Carbonate; $CaCo_3$), Carlo Erba, France

2,2-ไดฟีนิล-1-ไพคริลไฮดราซิล (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; DPPH) ได้รับจากมหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์

กรดแอสคอบิก (Ascorbic acid หรือ L-Ascorbic acid), Carlo Erba, France

สารละลาย Folin-Ciocalteu reagent, Merck KGaA, Darmstadt Germany

โซเดียมไบคาร์บอเนต (Sodium Bicarbonate; Na_2HCO_3), Merck KGaA, Darmstadt Germany

กรดแกลลิก (Gallic acid), Sigma USA

ปิโตรเลียมอีเธอร์ (Petroleum ether), Pathumwan Bangkok, Thailand

เอทิลอีเธอร์ (Ethyl ether), Pathumwan Bangkok, Thailand

แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (Ammonium hydroxide; NH_4OH), Carlo Erba, France

ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein), Merck KGaA, Darmstadt Germany

กรดซัลฟูริก (Sulfuric acid; H_2SO_4), Pathumwan Bangkok, Thailand

คอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulfate; $CuSO_4$), Carlo Erba, France

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โพแทสเซียมซัลเฟต (Potassium sulfate; K_2SO_4), Carlo Erba, France

กรดบอริก (Boric acid; H_3BO_3), Pathumwan Bangkok, Thailand

กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid; HCl), Merck KGaA, Darmstadt Germany

โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH), Merck KGaA, Darmstadt Germany

โพแทสเซียมไอโอไดด์ (Potassium iodide; KI), Carlo Erba, France

แอมโมเนีย ออกซาเลต (Ammonium oxalate; $C_2H_8N_2O_4$), Carlo Erba, France

โพแทสเซียมไดโครเมท (Potassium Dichromate; K_2CrO_4), Merck KGaA, Darmstadt Germany

เฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต (Ammonium Ferrous Sulfate; $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$), Merck KGaA, Darmstadt Germany

โพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต (Potassium hydrogen phthalate; $C_8H_5KO_4$), Merck KGaA, Darmstadt Germany

เปปโตน (peptone), BD Advanced Bioprocessing USA

ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide; H_2O_2), Pharmacy Bangkok, Thailand

เมธิลเรด (Methyl Red)

เมทิลีน บูล (Methylene Blue)

คริสตัลไวโอเลต (Crystal violet)

ซาฟรานิน (Safranin)

ไอโอดีน (Iodine)

1,10 ฟีแนนโทรลีนเฟอร์รัสซัลเฟต (1, 10-Phenantroline ferrus sulfate)

แอลกอฮอล์ 95% (95% Alcohol)

น้ำกลั่น (Distilled water)

3.2 อุปกรณ์

กระดาษกรอง (Filter paper) ประมาณ 40-90 ไมครอน

กรวยแยก (Separatory Funnel)

กระจกสไลด์ (Microscope Slides)

กระชอน (Colander)

กล้องจุลทรรศน์ (Microscope)

กระบอกตวง (Cylinder) ขนาด 25 100 500 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขาตั้งและแคลมป์ (Stand & Clamp)

เข้มเขี่ยเชื้อ (Loop, needle)

ขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 100 500 และ1000 มิลลิลิตร

ขวดรูปชมพู่ (Erlenmayer flask)

ขวดดูแรน (Duran)

ขวดแก้ว (Glass Bottle)

คิวเวท ควอตซ์ (Quartz Cuvette) / คิวเวทแก้ว (Glass Cuvette)

เครื่องชั่ง (Analytical balance) ที่มีความละเอียด 0.0001 กรัม

เครื่องตีบดผสม (Stomacher)

เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer)

เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)

เครื่องกลั่นไนโตรเจน VELP รุ่น UDK129

เครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครเพลท (ELISA Reader) รุ่น Multiskan go

เครื่องย่อยโปรตีน (Protein Digestion Unit)

เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge)

เครื่องวัดพีเอช (pH meter)

เครื่องวัดความหวานแบบส่อง (Hand Refractometer)

จานเพาะเลี้ยงเชื้อ (Petri dish)

ช้อน (Spoon)

ตะแกรงเหล็ก (Test Tube Rack)

ตู้ดูดควัน หรือ ตู้ดูดไอสารเคมี (Laboratory Chemical Fume Hood)

ตู้อบร้อน (Hot air oven)

เตาไฟฟ้า (Hot plate)

โถดูดความชื้น (Desiccator)

ถ้วยอะลูมิเนียมพร้อมฝาปิดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 มิลลิเมตร (Moisture can)

ถ้วยพลาสติก (Plastic cup)

ที่คีบ (Tong)

เทียน (Candle)

แท่งแก้วคนสาร (Stirring Rod)

บิวเรต (Buret)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บีกเกอร์ (Beaker)

ปิเปต (Pipette)

ปี๊บ (Bucket)

ไมโครปิเปต (Micropipette) ขนาด 100-1,000 และขนาด 1000-10000 ไมโครลิตร

ไมโครเวลเพลท (Microwell plate)

ลูกแก้วกันเดือด (Boiling chip)

หม้อ (Pot)

หลอดกลั่น (Distillation tube)

หลอดทดลองพลาสติก (Test tube) ขนาด 5 และ10 มิลลิลิตร

โหลแก้ว (Glass Jar)

อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Waterbath)

3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

3.3.1 การเตรียมเม็ดคีเฟอร์

การผลิตคีเฟอร์จะต้องมีการเตรียมหัวเชื้อก่อนการผลิตเพื่อกระตุ้นให้เชื้อทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยจะนำเม็ดคีเฟอร์ (จากเพจ Kefir at home https://www.facebook.com/kefirathome) ใส่ในขวดโหล ใส่นมวัวพาสเจอร์ไรซ์ สูตรเต็มมันเนย ตราเมจิ ปิดผ้าขวดโหลโดยใช้ผ้าดิบ และใช่หนังยางรัด นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นทำการกรองเม็ดคีเฟอร์โดยใช้ตะแกรงที่ผ่านการฆ่าเชื้อ และนำเม็ด คีเฟอร์ที่ได้ใส่ในนมวัวพาสเจอร์ไรซ์ สูตรเต็มมันเนย ตราเมจิ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำซ้ำไปเรื่อยๆ จนกว่าจะได้เม็ดคีเฟอร์ในปริมาณที่ต้องการ โดยอัตราส่วนของเม็ดคีเฟอร์ต่อนมที่ใช้ควรเป็น 5 กรัม:100 มิลลิลิตร (Gul และคณะ, 2015)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2 การผลิตคีเฟอร์ (Karagozlu และคณะ, 2017)

ใส่นมวัวพาสเจอร์ไรซ์ สูตรเต็มมันเนย ตราเมจิ 100 มิลลิลิตร ใส่โหลแก้วขนาด 250 มิลลิลิตร

↓

ใส่เม็ดคีเฟอร์ 5 กรัม คนผสมให้เข้ากัน

↓

ปิดปากโหลแก้วโดยใช้ผ้าดิบ และใช้หนังยางรัด

↓

นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง

↓

นำนมมากรองผ่านกระชอน เพื่อแยกหัวเชื้อคีเฟอร์ออกมา จากนั้นสามารถนำหัวเชื้อคีเฟอร์ไปเลี้ยงกับนมตามวิธีการขั้นต้นต่อได้ทันที นำนมคีเฟอร์บรรจุใส่ขวดแก้วขนาด 250 มิลลิลิตร เก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส

3.3.3 การเตรียมน้ำสมุนไพร (กระเจี๊ยบ มะตูม และอัญชัน)

เตรียมสมุนไพรในรูปน้ำเชื่อม โดยสมุนไพรที่ใช้เป็นสมุนไพรอบแห้ง (กระเจี๊ยบ มะตูม และอัญชัน) โดยอัตราส่วนของสมุนไพอบแห้งต่อน้ำคือ 1 กรัม:10 มิลลิลิตร ต้มน้ำจนเดือด จากนั้นใส่สมุนไพรลงไปต้มเป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นกรองแยกเอาส่วนกากออก จากนั้นเติมน้ำตาล 25 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร พักให้เย็น (อภิญญา และกุลนาถ, 2537)

3.3.4 การผลิตคีเฟอร์สมุนไพร

การหมักคีเฟอร์ทำโดยใส่นมวัวพาสเจอร์ไรซ์ สูตรเต็มมันเนย ตราเมจิ 100 มิลลิลิตร ใส่โหลแก้วขนาด 250 มิลลิลิตร ใส่เม็ดคีเฟอร์ 5 กรัม คนผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง จากนั้นนำมากรองแยกเม็ดคีเฟอร์ออก และนำคีเฟอร์ที่ได้ไปผสมกับน้ำสมุนไพร ในอัตราส่วน 5 มิลลิลิตร:1 มิลลิลิตร บรรจุใส่ภาชนะขวดแก้วขนาด หรือพลาสติกที่สามารถทนกรดได้ นำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์ค่าทางเคมี และทดสอบทางประสาทสัมผัส (Karagozlu และคณะ, 2017)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.5 การตรวจนับเชื้อและส่องดูลักษณะทางกายภาพ

นำตัวอย่างเม็ดคีเฟอร์ 0.5 กรัมต่อสารละลายเปปโตน (เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์) 49.5 มิลลิลิตร ทำการผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้เครื่องตีบดผสม (Stomacher) เป็นเวลา 1 นาที และนำตัวอย่างคีเฟอร์สมุนไพร 0.1 มิลลิลิตรต่อสารละลายเปปโตน (เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์) 0.9 มิลลิลิตร ทำการผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องเครื่องผสมสารละลาย (Vortexmixer) จากนั้นทำการเจือจางตามระดับการเจือจางที่เหมาะสม โดยเลี้ยงเชื้อกลุ่ม Lactobacilli บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar ที่มีส่วนผสมของแคลเซียมคาร์บอเนต (Calcium Carbonate) แยกเชื้อบริสุทธิ์โดยใช้วิธีทำให้เชื้อกระจายในจานเพาะเชื้อ (Spread plate technique) (ภาคผนวก ข หัวข้อที่ 1) และบ่มที่อุณหภูมิห้องภายใต้สภาวะไร้อากาศเป็นเวลา 3 วัน (ภาคผนวก ข หัวข้อที่ 5) จากนั้นดูลักษณะโคโลนี การสร้างบริเวณใส (Clear zone) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อโดยการย้อมสีแกรม (ภาคผนวก ข หัวข้อที่ 3) และนำไปส่องดูลักษณะด้วยกล้องจุลทรรศน์ และการสร้างเอนไซม์แคตะเลส (ภาคผนวก ข หัวข้อที่ 4) (Garcia และคณะ, 2006) ทำการเลี้ยงยีสต์บนอาหาร YM agar โดยใช้วิธี spot inoculation (ภาคผนวก ข หัวข้อที่ 2) และบ่มที่อุณหภูมิห้องภายใต้สภาวะที่มีอากาศเป็นเวลา 3 วัน (Magra และคณะ, 2012)

3.3.6 การวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธีของ Brand และคณะ (1995) (ภาคผนวก ง หัวข้อที่ 1)

3.3.7 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ดัดแปลงจากวิธีการของ Velioglu และคณะ (1998) (ภาคผนวก ง หัวข้อที่ 2)

3.3.8 วิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ โดยใช้วิธีของ Amerine และ Ough (1980) (ภาคผนวก ง หัวข้อที่ 3)

3.3.9 การวิเคราะห์องค์ประกอบโดยประมาณ (Proximate Analysis)

3.3.9.1 การตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (พีเอช) (AOAC, 1990) (ภาคผนวก ง หัวข้อที่ 4)

3.3.9.2 การวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติก (AOAC, 1990) (ภาคผนวก ง หัวข้อที่ 5)

3.3.9.3 การวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solid; °Brix) (ภาคผนวก ง หัวข้อที่ 6)

3.3.9.4 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (AOAC, 2000) (ภาคผนวก ง หัวข้อที่ 7)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.9.5 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (ISO 1211: 2010 (E)) (ภาคผนวก ง หัวข้อที่ 8)

3.3.9.6 การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำหนักแห้ง (AOAC, 2000) (ภาคผนวก ง หัวข้อที่ 9)

3.3.10 การทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส

ทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์ที่มีการเติมกระเจี๊ยบ มะตูม และอัญชัน ด้วยการให้คะแนนความชอบ โดยวิธี 9-point Hedonic scale ในด้านสี กลิ่น กลิ่นรส และความชอบโดยรวม กับกลุ่มผู้บริโภคทั่วไปที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน (กลุ่มบุคคลทั่วไป และนักศึกษา สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง) (คุณัชญ์สุภชา, 2558)

3.3.11 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ สำหรับการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีประมวลผลข้อมูลที่ได้ด้วยวิธี general linear model ความหลากหลายช่วงของ Duncan และวิเคราะห์คุณลักษณะทางประสาทสัมผัส ประมวลผลข้อมูลที่ได้ด้วยวิธี One way ANOVA ความหลากหลายช่วงของ Duncan โดยโปรแกรม IBM SPSS Statistic 24 ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การเจริญของจุลินทรีย์และการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีตลอดระยะเวลาการหมักคีเฟอร์

จากการติดตามการเจริญของจุลินทรีย์ ได้แก่จำนวนแบคทีเรียและยีสต์ที่มีชีวิต และการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ค่าพีเอช ปริมาณกรดในรูปกรดแลคติก และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ ติดตามผลการหมักตั้งแต่เริ่มต้นจนสิ้นสุดระยะเวลาการหมัก โดยหมักที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 20 ชั่วโมง

4.1.1 การเจริญของจุลินทรีย์ตลอดระยะเวลาการหมัก

4.1.1.1 จำนวนแบคทีเรียที่มีชีวิตในคีเฟอร์และคีเฟอร์เกรน

เมื่อทำการหมักคีเฟอร์ด้วยคีเฟอร์เกรนเป็นเวลา 20 ชั่วโมง และมีการติดตามการเจริญของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกทั้งในคีเฟอร์และคีเฟอร์เกรนโดยเป็นแบคทีเรียที่ยังมีชีวิต พบว่าเมื่อทำการติดตามการเจริญของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติคในชั่วโมงที่ 0, 2, 4, 8, 12, 14, 16, 18 และ 20 โดยใช้เทคนิค spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Agar ตามระดับการเจือจางที่เหมาะสม ส่วนในคีเฟอร์เกรนนำเชื้อไปตีปั่นด้วยเครื่อง Stomacher ก่อนทำการเจือจาง บ่มเชื้อในสภาวะไร้อากาศเป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ได้ผลดังตารางที่ 4.1 พบว่าตลอดระยะเวลาการติดตามการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย มีจำนวนแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติคเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยในคีเฟอร์มีปริมาณเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้นมีจำนวน 5.40 Log CFU/ml และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการหมักมีจำนวนแบคทีเรีย 7.48 Log CFU/ml ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Irigoyen (2005) ที่ได้รายงานจำนวนแบคทีเรียในคีเฟอร์เมื่อสิ้นสุดการหมักในสภาวะเดียวกันว่ามีจำนวนประมาณ 8.00 Log CFU/ml และปริมาณแบคทีเรียสุดท้ายเป็นไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขแห่งประเทศไทย (2556) เรื่องนมเปรี้ยว และในคีเฟอร์เกรนมีปริมาณเชื้อแบคทีเรียเริ่มต้นจำนวน 6.77 Log CFU/ml และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการหมักมีจำนวนแบคทีเรีย 8.97 Log CFU/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.1.2 จำนวนยีสต์ที่มีชีวิตในคีเฟอร์และคีเฟอร์เกรน

เมื่อทำการติดตามการเจริญของยีสต์ในชั่วโมงที่ 0, 2, 4, 8, 12, 14, 16, 18 และ 20 โดยใช้เทคนิค spot plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ YM Agar ตามระดับการเจือจางที่เหมาะสม ส่วนในคีเฟอร์เกรนนำเชื้อไปตีปั่นด้วยเครื่อง Stomacher ก่อนทำการเจือจาง บ่มเชื้อเป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิห้องจากตารางที่ 4.1 พบว่าตลอดระยะเวลาการติดตามการเจริญของเชื้อยีสต์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยในคีเฟอร์มีปริมาณเชื้อยีสต์เริ่มต้นจำนวน 5.39 Log CFU/ml และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการหมักมีจำนวน 7.88 Log CFU/ml ซึ่งใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Rosi (1978) และ Irigoyen และคณะ (2005) ที่ได้รายงานจำนวนยีสต์ในคีเฟอร์เมื่อสิ้นสุดการหมักในสภาวะเดียวกันว่ามีจำนวนประมาณ 5.00 Log CFU/ml และปริมาณยีสต์สุดท้ายเป็นไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขแห่งประเทศไทย (2556) เรื่องนมเปรี้ยว และในคีเฟอร์เกรนมีปริมาณเชื้อยีสต์เริ่มต้นจำนวน 6.20 Log CFU/ml และเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการหมักมีจำนวน 8.15 Log CFU/ml

ตารางที่ 4.1 จำนวนแบคทีเรียและยีสต์ที่มีชีวิตตลอดระยะเวลาการหมัก

Time (hr)	BACTERIA (Log CFU/ml)			YEAST (Log CFU/ml)		
	Kefir	Grain	Total	Kefir	Grain	Total
0	5.39±0.08^{a}	6.77±0.01^{a}	12.15±0.07^{a}	5.40±0.09^{a}	6.20±0.17^{a}	11.60±0.17^{a}
2	6.16±0.09^{b}	6.87±0.04^{ab}	13.02±0.07^{b}	5.48±0.06^{ab}	6.73±0.26^{b}	12.20±0.31^{ab}
4	6.36±0.07^{b}	6.91±0.27^{ab}	13.22±0.27^{b}	5.59±0.06^{b}	7.05±0.13^{bc}	12.64±0.59^{ab}
8	6.98±0.13^{c}	7.33±0.04^{b}	14.31±0.15^{c}	6.45±0.11^{c}	7.19±0.17^{c}	13.64±0.82^{bc}
12	7.02±0.41^{c}	7.20±0.20^{ab}	14.55±0.26^{cd}	7.40±0.08^{d}	7.16±0.13^{c}	14.56±1.14^{cd}
14	7.42±0.08^{d}	7.39±0.08^{b}	14.80±0.01^{d}	7.36±0.15^{d}	7.24±0.13^{c}	14.60±0.43^{cd}
16	7.79±0.17^{de}	8.10±0.31^{c}	16.71±0.47^{e}	6.40±0.09^{c}	7.80±0.04^{d}	14.20±0.05^{cd}
18	7.85±0.08^{de}	8.90±0.11^{d}	17.70±0.05^{f}	7.47±0.08^{d}	7.83±0.30^{d}	15.30±0.29^{d}
20	7.79±0.15^{e}	8.97±0.05^{d}	17.76±0.10^{f}	7.48±0.07^{d}	8.14±0.28^{d}	15.62±0.79^{d}

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันที่ระยะเวลาในการหมักต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2 การเปลี่ยนแปลงของค่าทางเคมีตลอดระยะเวลาการหมัก

ค่าพีเอช (pH) ปริมาณกรดแลคติก (LA) และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ ตลอดการหมักคีเฟอร์เป็นระยะเวลา 20 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แสดงดังตารางที่ 4.2 ค่าพีเอชและปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น โดยค่าพีเอชและปริมาณของแข็งที่ละลายได้เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการหมัก มีค่าเท่ากับ 4.31 และ 5.1 องศาบริกซ์ ตามลำดับ ในขณะเดียวกันปริมาณกรดแลคติกเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น โดยปริมาณกรดแลคติกเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการหมัก มีค่าเท่ากับ 0.78 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ซึ่งเป็นไปตามที่ประกาศกระทรวงสาธารณสุขแห่งประเทศไทย (2556) เรื่องนมเปรี้ยว กำหนด

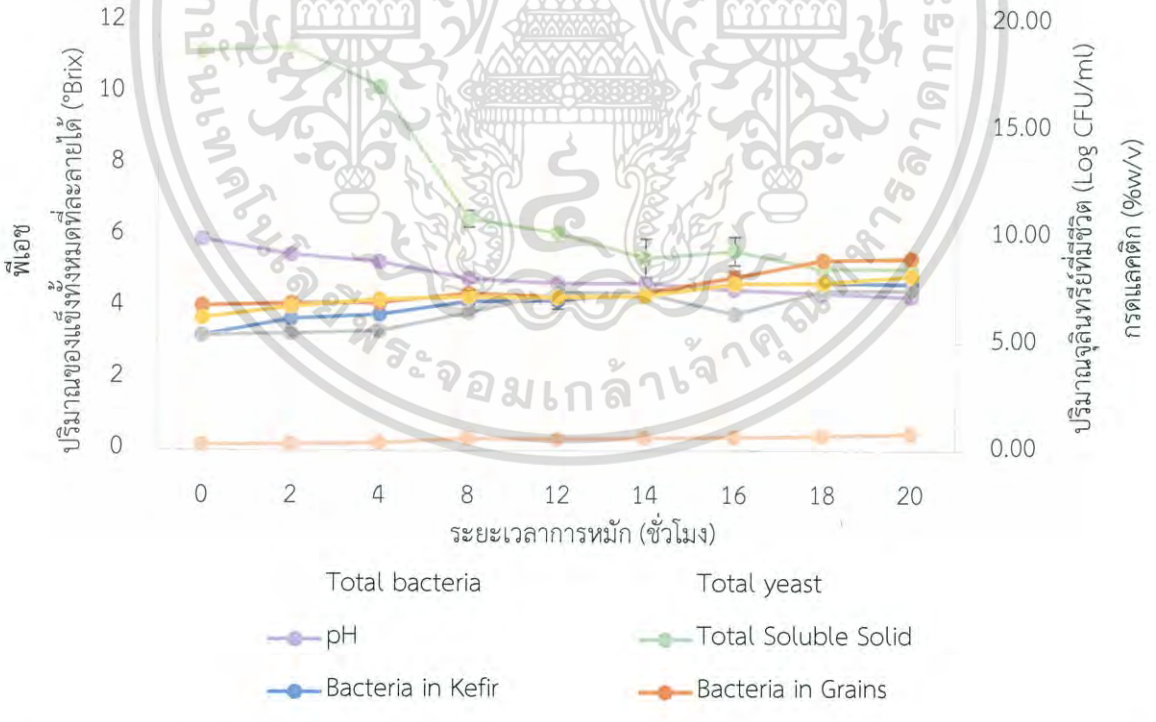
ตารางที่ 4.2 ค่าพีเอช ปริมาณกรดแลคติก และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ตลอดระยะเวลาการหมัก

Time (hr)	pH	LA (%w/v)	TSS (°Brix)
0	5.93±0.05^{a}	0.27±0.00^{a}	11.2±0.00^{a}
2	5.49±0.09^{b}	0.30±0.05^{a}	11.3±0.11^{a}
4	5.29±0.02^{c}	0.36±0.00^{a}	10.2±0.00^{b}
8	4.83±0.09^{d}	0.57±0.10^{bc}	6.5±0.23^{c}
12	4.69±0.11^{d}	0.54±0.09^{b}	6.1±0.11^{c}
14	4.52±0.16^{e}	0.60±0.10^{bc}	5.4±0.52^{de}
16	4.51±0.09^{e}	0.63±0.09^{bc}	5.6±0.40^{d}
18	4.41±0.02^{f}	0.69±0.51^{cd}	5.1±0.30^{de}
20	4.31±0.02^{f}	0.78±0.51^{d}	5.1±0.11^{e}

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันที่ระยะเวลาในการหมักต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณแบคทีเรียละยีสต์ รวมไปถึงปริมาณกรดแลคติก เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงระยะสิ้นสุดการหมัก ในขณะที่ค่าพีเอช และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ลดลงอย่างต่อเนื่อง ซึ่งแสดงดังภาพ 4.1 เป็นผลมาจากเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ใช้น้ำตาลแลคโทสในนมที่ไฮโดรไลซีสเป็นน้ำตาลกลูโคสและกาแลคโทสในการเจริญและผลิตกรด (Sekkal, 2016) โดยมีการใช้น้ำตาลอย่างรวดเร็วในช่วงชั่วโมงที่ 2 จนถึง 8 และลดลงเรื่อยๆ เมื่อใกล้ถึงระยะสิ้นสุดการหมักเป็นผลให้ค่าพีเอชลดต่ำลงและมีปริมาณกรดแลคติกเพิ่มขึ้น ในช่วงท้ายการเจริญของเชื้อเริ่มคงที่ จึงมีการใช้น้ำตาลน้อยกว่าในตอนแรก เป็นผลให้ค่าพีเอชลดลงและปริมาณกรดแลคติกเพิ่มขึ้นเล็กน้อย จากตารางที่ 4.2 ค่าพีเอช ปริมาณกรดแลคติก และปริมาณของแข็งที่ละลายได้อยู่ในช่วง 5.93 ถึง 4.31 0.27 ถึง 0.78 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และ 11.2 ถึง 5.1 องศาบริกซ์ตามลำดับ ซึ่งค่าพีเอชดังกล่าวสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคที่ทนความเป็นกรดส่วนมาก ได้แก่ *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, Salmonellas sp., *Escherichia coli* และ *Bacillus cereus* ซึ่งไม่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่ค่าพีเอชต่ำกว่า 4.2, 4.4, 4.5 และ 4.9 ตามลำดับ ซึ่งเชื้อแบคทีเรีย *Campylobacter jejuni* ที่เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษก็ไม่สามารถเจริญได้ที่ค่าพีเอชต่ำกว่า 5.5 (Sekkal, 2016)



ภาพที่ 4.1 ความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนจุลินทรีย์ที่มีชีวิต ค่าพีเอช ปริมาณกรดแลคติก และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ต่อระยะเวลาการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การเจริญของจุลินทรีย์และการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาของคีเฟอร์และคีเฟอร์สมุนไพร

หลังจากสิ้นสุดกระบวนการหมักคีเฟอร์ และการเติมน้ำสมุนไพรแต่ละชนิดในรูปน้ำเชื่อมตามอัตราส่วนที่กำหนด จากนั้นนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 21 วัน โดยมีการติดตามการเจริญของจุลินทรีย์และการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของคีเฟอร์ และคีเฟอร์สมุนไพร ในวันที่ 0, 1, 7, 14 และ 21 ของการเก็บรักษา

4.2.1 การเจริญของจุลินทรีย์ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

4.2.1.1 จำนวนแบคทีเรียที่มีชีวิตในคีเฟอร์สมุนไพรระหว่างการเก็บรักษา

เก็บตัวอย่างคีเฟอร์สมุนไพรแต่ละชนิดทุกๆวันที่ 0, 1, 7, 14 และ 21 เพื่อตรวจนับการเจริญของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก โดยใช้เทคนิค spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Agar ตามระดับการเจือจางที่เหมาะสม ส่วนในคีเฟอร์เกรน บ่มเชื้อในสภาวะไร้อากาศเป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าจำนวนแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกที่มีชีวิตในระหว่างการเก็บรักษาของคีเฟอร์ และคีเฟอร์สมุนไพรแต่ละชนิดเมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆตั้งแต่วันที่ 1 จนถึงวันที่ 14 ของการเก็บรักษา และเริ่มมีจำนวนคงที่เมื่อถึงระยะเวลาการเก็บรักษา 21 วัน แสดงดังตารางที่ 4.3 โดยจำนวนแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกเริ่มต้นของทุกตัวอย่างมีประมาณ 7.9 Log CFU/ml จากนั้นจะค่อยๆเพิ่มขึ้นเล็กน้อยจนสิ้นสุดระยะเวลาการเก็บรักษา โดย GK มีจำนวนแบคทีเรียที่รอดชีวิตต่างจากตัวอย่างอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาในการเก็บรักษาพบว่าตัวอย่างที่มีจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่มีชีวิตคงเหลือมากที่สุดคือ CK>AK>MK>GK โดยมีจำนวนแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก 8.53, 8.36, 8.24 และ 8.05 Log CFU/ml ตามลำดับ โดยตัวอย่าง AK ไม่แตกต่างกับตัวอย่าง MK และ CK อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ซึ่งจากผลการทดลองพบว่าการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีการเจริญช้าลงเมื่อเทียบกับการเจริญระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดย Guzel และคณะ (2000) ได้สังเกตกิจกรรมของเชื้อกลุ่ม Lactobacilli ที่เก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลา 20 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งเกี่ยวกับธรรมชาติของเชื้อกลุ่มนี้ที่เป็นเชื้อในกลุ่ม mesopholic เจริญได้ที่อุณหภูมิ 10-45 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตคือ 30-40 องศาเซลเซียส เมื่ออยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญอาจทำให้มีประสิทธิภาพลดลงหรือตาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 จำนวนแบคทีเรียที่มีชีวิตตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	GK	MK	AK	CK
0	7.90 ± 0.05^{Aa}	7.93 ± 0.17^{Aa}	7.99 ± 0.07^{Aa}	7.96 ± 0.20^{ABa}
1	7.82 ± 0.03^{ABa}	7.82 ± 0.08^{Aa}	7.83 ± 0.07^{Aa}	7.71 ± 0.14^{Aa}
7	7.94 ± 0.12^{ABCa}	7.97 ± 0.01^{Aa}	7.97 ± 0.04^{Aa}	8.07 ± 0.03^{Ba}
14	7.99 ± 0.03^{BCa}	8.27 ± 0.11^{Bb}	8.32 ± 0.12^{Bb}	8.62 ± 0.20^{Cc}
21	8.05 ± 0.08^{Ca}	8.24 ± 0.23^{Bb}	8.36 ± 0.18^{Bbc}	8.53 ± 0.22^{Cc}

หมายเหตุ : GK คือ คีเฟอร์กระเจี๊ยบ

MK คือ คีเฟอร์มะตูม

AK คือ คีเฟอร์อัญชัน

CK คือ คีเฟอร์ธรรมชาติ

ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันที่ตัวอย่างต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกันที่ระยะเวลาในการเก็บรักษาต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.1.2 จำนวนยีสต์ที่มีชีวิตในคีเฟอร์สมุนไพรระหว่างการเก็บรักษา

เก็บตัวอย่างคีเฟอร์สมุนไพรแต่ละชนิดทุกๆวันที่ 0, 1, 7, 14 และ 21 เพื่อตรวจนับการเจริญของยีสต์ โดยใช้เทคนิค spot plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ YM Agar ตามระดับการเจือจางที่เหมาะสม บ่มเชื้อเป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าจำนวนยีสต์ที่มีชีวิตในคีเฟอร์ และคีเฟอร์สมุนไพรมีจำนวนลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แสดงดังตารางที่ 4.4 เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาในการเก็บรักษาพบว่าตัวอย่างที่มีจำนวนยีสต์ที่มีชีวิตคงเหลือมากที่สุดคือ MK>AK>CK>GK โดยมีจำนวน 7.25, 7.23, 7.16 และ 6.52 Log CFU/ml ตามลำดับ โดย GK มีจำนวนยีสต์ที่มีชีวิตน้อยกว่าตัวอย่างอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ซึ่งการลดลงของจำนวนยีสต์ที่มีชีวิตเป็นผลมาจากสภาพที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ เนื่องจากระยะเวลาในการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้นแบคทีเรียที่มีชีวิตสามารถผลิตกรดแลคติก นอกจากนั้นอาจมีการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของแอลกอฮอล์เป็นกรดอะซิติก ส่งผลให้ค่าพีเอชต่ำลง และปริมาณกรดเพิ่มขึ้น ซึ่งอาจไม่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์ ทำให้ปริมาณของยีสต์ลดลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และ GK มีจำนวนยีสต์น้อยที่สุดเนื่องจากกระเจี๊ยบมีความเป็นกรดมากกว่าสมุนไพรชนิดอื่น โดยค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์อยู่ในช่วง 4.5-5 (Fada, 2017)

ตารางที่ 4.4 จำนวนยีสต์ที่มีชีวิตตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	GK	MK	AK	CK
0	8.22 ± 0.06^{Aa}	8.17 ± 0.06^{Aa}	8.11 ± 0.23^{Aa}	8.29 ± 0.10^{Aa}
1	7.53 ± 0.07^{Ba}	7.43 ± 0.18^{Ba}	7.43 ± 0.04^{BCa}	7.25 ± 0.20^{BCa}
7	7.23 ± 0.21^{Ca}	7.58 ± 0.02^{Bb}	7.57 ± 0.07^{Bb}	7.54 ± 0.47^{CDb}
14	6.80 ± 0.04^{Da}	7.03 ± 0.31^{Ca}	6.95 ± 0.57^{Cab}	7.61 ± 0.45^{Db}
21	6.52 ± 0.24^{Ea}	7.25 ± 0.13^{BCb}	7.23 ± 0.13^{BCb}	7.16 ± 0.26^{Bb}

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันที่ตัวอย่างต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกันที่ระยะเวลาในการเก็บรักษาต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

จากการทดสอบทางเคมีโดยการนำคีเฟอร์และคีเฟอร์สมุนไพร ที่มีระยะเวลาการเก็บรักษา 0, 1, 7, 14 และ 21 วัน มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีซึ่งได้แก่ ค่าพีเอช ปริมาณกรดแลคติก ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ ปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน ปริมาณน้ำหนักแห้ง และเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์

4.2.2.1 ผลของค่าพีเอช ปริมาณกรดแลคติก และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

ค่าพีเอช ปริมาณกรดแลคติก และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ ตลอดการเก็บรักษาคีเฟอร์ และคีเฟอร์สมุนไพรเป็นระยะเวลา 0, 1, 7, 14 และ 21 วัน พบว่าค่าพีเอชของแต่ละตัวอย่างลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แสดงดังตารางที่ 4.5 โดยเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาในการเก็บรักษาพบว่าค่าพีเอชของ CK>MK>AK>GK โดยมีค่า 4.12, 4.09, 4.03 และ 3.83 ตามลำดับ ปริมาณกรดแลคติกเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แสดงดังตารางที่ 4.6 โดยเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาในการเก็บรักษาพบว่าปริมาณกรดแลคติกของ GK>CK>AK>MK โดยมีค่า 1.20, 1.13, 1.00 และ 0.93 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ตามลำดับ และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ของแต่ละตัวอย่างมีแน้วโน้มลดลงเล็กน้อยเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แสดงดังตารางที่ 4.7 โดยเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาในการเก็บรักษาพบว่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ของ GK>MK>AK>CK โดยมีค่า 9.3, 9.0, 8.8 และ 5.8 องศาบริกซ์ ตามลำดับ โดย CK มีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้น้อยกว่าตัวอย่างอื่นเนื่องจากไม่มีการเติมน้ำสมุนไพรในรูปน้ำเชื่อม ค่าพีเอชและปริมาณกรดแลคติกของตัวอย่าง MK AK และ CK ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่แตกต่างกับตัวอย่าง GK ($p \leq 0.05$) เนื่องจากในกระเจี๊ยบมีปริมาณกรดมากกว่าสมุนไพรชนิดอื่น

จากการศึกษาพบว่าค่าพีเอช ปริมาณกรดแลคติก และปริมาณของแข็งทั้งหมดละลายได้มีความสัมพันธ์กัน เนื่องจากขณะทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แบคทีเรียที่มีชีวิตสามารถใช้น้ำตาลเพื่อผลิตกรดแลคติก ซึ่งส่งผลให้ค่าพีเอชลดลง ปริมาณกรดแลคติกเพิ่มขึ้น และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ลดลง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ สุภาพ (2556) ที่ทำการศึกษาระยะเวลาในการเก็บรักษาที่มีผลต่อค่าพีเอช ปริมาณกรดแลคติก และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในโยเกิร์ตที่เก็บรักษาในสภาวะเดียวกัน โดยมีค่าอยู่ช่วง 4.21 ถึง 4.61 0.73 ถึง 0.78 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และ 9.67 ถึง 11.07 องศาบริกซ์ ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ค่าพีเอชตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	pH			
	GK	MK	AK	CK
0	3.75 ± 0.05^{Aa}	4.10 ± 0.02^{Ab}	4.16 ± 0.01^{Ac}	4.14 ± 0.01^{Abc}
1	4.01 ± 0.00^{Ba}	4.33 ± 0.02^{Bb}	4.33 ± 0.07^{Bbc}	4.38 ± 0.04^{Bc}
7	3.96 ± 0.01^{Ca}	4.24 ± 0.01^{Cb}	4.24 ± 0.01^{Cb}	4.25 ± 0.01^{Cb}
14	3.79 ± 0.02^{Da}	4.06 ± 0.02^{Db}	4.10 ± 0.01^{Dc}	4.10 ± 0.01^{Dc}
21	3.83 ± 0.00^{Ea}	4.09 ± 0.03^{ADb}	4.03 ± 0.03^{Eb}	4.12 ± 0.02^{ADb}

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันที่ตัวอย่างต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกันที่ระยะเวลาในการเก็บรักษาต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

ตารางที่ 4.6 ปริมาณกรดแลคติกตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	Lactic acid (%w/v)			
	GK	MK	AK	CK
0	0.75 ± 0.10^{Aa}	0.60 ± 0.05^{Abc}	0.57 ± 0.05^{Ab}	0.60 ± 0.05^{Abc}
1	0.81 ± 0.09^{ABa}	0.66 ± 0.05^{ACb}	0.78 ± 0.05^{Ba}	0.69 ± 0.05^{Aab}
7	0.81 ± 0.00^{ABa}	0.69 ± 0.05^{ACDab}	0.63 ± 0.00^{Ab}	0.72 ± 0.00^{Aab}
14	1.02 ± 0.05^{Ca}	0.81 ± 0.09^{BDb}	1.00 ± 0.10^{Ca}	0.87 ± 0.06^{Bb}
21	1.20 ± 0.05^{Da}	0.93 ± 0.05^{Bb}	1.00 ± 0.10^{Cb}	1.13 ± 0.12^{Ca}

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันที่ตัวอย่างต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกันที่ระยะเวลาในการเก็บรักษาต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.7 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	TS (°Brix)			
	GK	MK	AK	CK
0	10.0 ± 0.10^{Aa}	9.0 ± 0.20^{Ab}	9.0 ± 0.10^{Ab}	5.9 ± 0.10^{Ac}
1	9.9 ± 0.10^{Aa}	9.0 ± 0.10^{Ab}	9.1 ± 0.10^{ABb}	6.0 ± 0.10^{Ac}
7	10.0 ± 0.10^{Aa}	9.0 ± 0.10^{ABb}	9.0 ± 0.10^{ABb}	6.0 ± 0.10^{Ac}
14	9.3 ± 0.10^{Ba}	8.8 ± 0.10^{Bb}	9.0 ± 0.00^{ABb}	5.8 ± 0.20^{Bc}
21	9.3 ± 0.10^{Ba}	9.0 ± 0.00^{ABb}	8.8 ± 0.20^{Bb}	5.8 ± 0.10^{Bc}

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันที่ตัวอย่างต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกันที่ระยะเวลาในการเก็บรักษาต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2.2 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน และปริมาณน้ำหนักแห้งตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา

จากการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน และปริมาณน้ำหนักแห้ง ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาคีเฟอร์ และคีเฟอร์สมุนไพร โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนและไขมันวันที่ 0 และวันที่ 21 พบว่าปริมาณโปรตีน และปริมาณไขมันของทุกตัวอย่างไม่มีการเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ($p>0.05$) ปริมาณโปรตีนมีค่าระหว่าง 3.21-3.33 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยแสดงดังตารางที่ 4.8 ปริมาณไขมันมีค่าระหว่าง 2.98-3.22 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยแสดงดังตารางที่ 4.9 และวิเคราะห์ปริมาณน้ำหนักแห้งวันที่ 0, 1, 7, 14 และ 21 ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา พบว่าปริมาณน้ำหนักแห้งของทุกตัวอย่างไม่มีการเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ($p>0.05$) โดยแสดงดังตารางที่ 4.10 GK MK AK มีปริมาณน้ำหนักแห้งมากกว่า CK เนื่องจากมีการเติมน้ำสมุนไพรในรูปน้ำเชื่อม จากผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่าชนิดของสมุนไพรและระยะเวลาการเก็บรักษาไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน และปริมาณน้ำหนักแห้ง ค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ของ GK MK AK และ CK อยู่ในระดับที่เหมาะสมเป็นไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขแห่งประเทศไทย (ฉบับที่ 353) พ.ศ.2556 เรื่องนมเปรี้ยว และใกล้เคียงกับงานวิจัยของ Otles และ Cagindi (2003) ซึ่งกล่าวไว้ว่าปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน และปริมาณน้ำหนักแห้งของคีเฟอร์มีค่าเท่ากับ 3.3, 3.5 และ 12.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ตามลำดับ

ตารางที่ 4.8 ปริมาณโปรตีนตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	โปรตีน (%w/v)			
	GK	MK	AK	CK
0	3.32 ± 0.08^{Aa}	3.28 ± 0.20^{Aa}	3.33 ± 0.23^{Aa}	3.24 ± 0.15^{Aa}
21	3.30 ± 0.23^{Aa}	3.27 ± 0.24^{Aa}	3.30 ± 0.16^{Aa}	3.21 ± 0.23^{Aa}

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันที่ตัวอย่างต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกันที่ระยะเวลาในการเก็บรักษาต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 ปริมาณไขมันตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	ไขมัน (%w/v)			
	GK	MK	AK	CK
0	3.16 ± 0.25^{Aa}	2.98 ± 0.33^{Aa}	3.07 ± 0.12^{Aa}	3.20 ± 0.27^{Aa}
21	3.18 ± 0.11^{Aa}	3.00 ± 0.05^{Aa}	3.09 ± 0.07^{Aa}	3.22 ± 0.10^{Aa}

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันที่ตัวอย่างต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกันที่ระยะเวลาในการเก็บรักษาต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ตารางที่ 4.10 ปริมาณน้ำหนักแห้งตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	น้ำหนักแห้ง (%w/v)			
	GK	MK	AK	CK
0	13.78 ± 0.03^{Aa}	13.39 ± 0.13^{Aa}	13.64 ± 0.15^{Aa}	11.15 ± 1.10^{Aa}
1	13.72 ± 0.04^{Aa}	13.25 ± 0.20^{Aa}	13.34 ± 0.68^{Aa}	11.62 ± 0.10^{Aa}
7	13.76 ± 0.05^{Aa}	13.52 ± 0.45^{Aa}	13.21 ± 0.73^{Aa}	11.84 ± 0.32^{Aa}
14	13.63 ± 0.03^{Aa}	13.24 ± 0.14^{Aa}	13.30 ± 0.37^{Aa}	11.43 ± 0.35^{Aa}
21	13.47 ± 0.08^{Aa}	13.37 ± 0.19^{Aa}	13.46 ± 0.17^{Aa}	11.50 ± 0.54^{Aa}

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันที่ตัวอย่างต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกันที่ระยะเวลาในการเก็บรักษาต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2.3 ผลการศึกษาปริมาณแอลกอฮอล์ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

วิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ของคีเฟอร์ และคีเฟอร์สมุนไพร โดยทำการวิเคราะห์วันที่ 0, 1, 7, 14 และวันที่ 21 พบว่า ในระหว่างการเก็บรักษาในวันที่ 0 ถึง 7 GK MK และAK มีแนวโน้มไปในทางเดียวกัน โดยปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นเล็กน้อยอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นจนถึงวันที่ 14 ปริมาณแอลกอฮอล์ของ GK MK และ AK เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) ยกเว้นตัวอย่าง CK ที่มีปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) ในวันที่ 7 จากนั้นปริมาณแอลกอฮอล์ของทุกตัวอย่างลดลงเรื่อยๆจนสิ้นสุดระยะเวลาในการเก็บรักษา ซึ่งแสดงดังตาราง 4.11 โดยเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์อยู่ในช่วง 0.48-0.81 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ในระหว่างการเก็บรักษาที่ตัวอย่างมีปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นนั้นเป็นผลมากการเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ยีสต์ที่มีชีวิตสามารถใช้น้ำตาลผลิตแอลกอฮอล์ได้แต่สามารถผลิตได้น้อย และปริมาณแอลกอฮอล์ที่ลดลงอาจเป็นผลมาจากแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกสร้างเอนไซม์ย่อยสลายสารไดอะซิทิลไปเป็นอะซิโทอิน (acetoin) และ 2,3-butylenoglycol (Hugenholtz และ Starrenburg, 1992) หรืออาจเป็นผลมาจาก ออกซิเจนที่อยู่บริเวณเหนือผิวหน้าของผลิตภัณฑ์ (ณัฐดนัย, 2559) จึงเกิดปฏิกิริยาออกซิไดซ์โดยแบคทีเรียอะซิติกเปลี่ยนแอลกอฮอล์บางส่วนเป็นกรดอะซิติกในสภาพที่มีออกเจนเป็นผลให้ค่าพีเอชลดลงระหว่างการเก็บรักษา (วันเพ็ญ และคณะ, 2550)

ตารางที่ 4.11 ปริมาณแอลกอฮอล์ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	แอลกอฮอล์ (%v/v)			
	GK	MK	AK	CK
0	0.60 ± 0.21^{Aa}	0.62 ± 0.14^{Aa}	0.56 ± 0.05^{Aa}	0.59 ± 0.10^{Aa}
1	0.59 ± 0.07^{Aa}	0.56 ± 0.12^{Aa}	0.58 ± 0.07^{Aa}	0.58 ± 0.07^{Aa}
7	0.67 ± 0.07^{ABa}	0.65 ± 0.08^{Aa}	0.62 ± 0.05^{ABa}	0.75 ± 0.05^{BCa}
14	0.76 ± 0.07^{Ba}	0.69 ± 0.10^{Ab}	0.73 ± 0.07^{Bab}	0.81 ± 0.03^{Ba}
21	0.53 ± 0.07^{Aa}	0.55 ± 0.14^{Aa}	0.59 ± 0.10^{ABa}	0.48 ± 0.05^{Aa}

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันที่ตัวอย่างต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

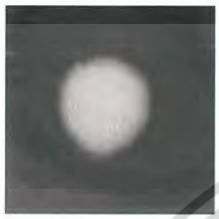
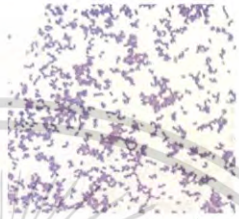
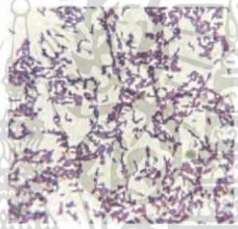
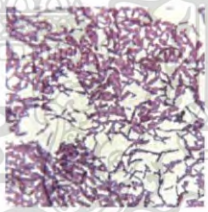
ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกันที่ระยะเวลาในการเก็บรักษาต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.3 สัณฐานวิทยาของเซลล์ รูปร่าง การจัดเรียง และการทดสอบการสร้างเอนไซม์แคตะเลสของแบคทีเรียที่พบในคีเฟอร์และคีเฟอร์สมุนไพร

ทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ รูปร่างและการทดสอบการสร้างเอนไซม์แคตะเลสของแบคทีเรียที่พบในคีเฟอร์และคีเฟอร์สมุนไพรตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา โดยคัดเลือกโคโลนีของแบคทีเรียจากอาหาร MRS Agar ทั้งหมด 53 โคโลนี พบว่ามีโคโลนีที่แตกต่างกัน 4 โคโลนี สามารถจำแนกสัณฐานวิทยารูปร่างและการจัดเรียงตัว การจำแนกแบคทีเรียโดยการย้อมสีแกรม รวมไปถึงการทดสอบการสร้างเอนไซม์แคตะเลสของจุลินทรีย์แต่ละชนิดได้ ดังตารางที่ 4.12 แบคทีเรีย 3 จาก 4 โคโลนี เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ส่วนอีก 1 โคโลนี เป็นแบคทีเรียแกรมลบ แบคทีเรียที่คัดเลือกออกมามีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกัน เมื่อทดสอบการสร้างเอนไซม์แคตะเลส พบว่าทั้ง 4 โคโลนี ไม่ทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งบ่งบอกว่าไม่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์แคตะเลสได้ เนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศในการเจริญ (anaerobe) หรือ ต้องการอากาศเพียงเล็กน้อย (facultative anaerobe) ไม่สามารถหายใจโดยให้ออกซิเจนเป็นตัวรับอีเล็กตรอนตัวสุดท้ายได้ จึงเกิดกระบวนการหมักขึ้น (Acharya, 2013) ดังนั้นแบคทีเรียทั้งสี่ชนิดที่พบจึงสามารถหมักแลคโทสในนมเพื่อผลิตกรดแลคติก และสารอินทรีย์ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน หรือมีออกซิเจนเพียงเล็กน้อยได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.12 สัณฐานวิทยาของเซลล์ รูปร่าง การจัดเรียง และการทดสอบการสร้างเอนไซม์แคตะเลส ของแบคทีเรียที่พบในคีเฟอร์สมุนไพร

ลำดับ	ลักษณะโคโลนี		ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์	การย้อมติดสีแกรม	การสร้างเอนไซม์แคตะเลส
1		มีสีขาวนวล ขอบไม่ชัดเจน	 รูปร่างกลมต่อกันเป็นสาย	+	-
2		มีสีขาวครีม ไม่มีขอบชัดเจน มันวาว	 รูปร่างท่อนต่อกันเป็นสาย	+	-
3		สีขาว โคลีนีกลมนูน มีขอบชัดเจน มันวาว	 ท่อนยาวต่อกันเป็นสาย	+	-
4		สีขาวออกครีม โคลีนีกลมนูน มีขอบชัดเจน มันวาว	ท่อนสั้น อยู่แบบเดี่ยว	-	-

หมายเหตุ : ภาพใต้กล้องจุลทรรศน์พื้นหลังสว่าง กำลังขยาย 100x กำลังขยายทั้งหมด 1000 เท่า

การย้อมติดสีแกรม + คือ แบคทีเรียแกรมบวก

การย้อมติดสีแกรม - คือ แบคทีเรียแกรมลบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.5 การบ่มเชื้อในกลุ่ม Lactobacilli

1. ทำความสะอาดปี๊บโดยเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ให้สะอาด
2. นำเศษกระดาษจุดไฟใส่ลงไปในปี๊บเพื่อเป็นการไล่แอลกอฮอล์
3. นำจานเพาะเชื้อเข้าไปวางเรียงในปี๊บ
4. นำเทียนที่มีถาดรองจุดไฟ และนำไปใส่ในปี๊บ
5. ปิดฝาปี๊บ
6. ใช้น้ำตาเทียนหยดปิดบริเวณขอบฝาปี๊บจนเทียนด้านในปี๊บดับ

ภาพที่ ข.1 การสร้างสภาวะไม่มีออกซิเจนในการบ่มเชื้อกลุ่ม Lactobacilli ด้านบน

ภาพที่ ข.2 การสร้างสภาวะไม่มีออกซิเจนในการบ่มเชื้อกลุ่ม Lactobacilli ด้านหน้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดสอบเอนไซม์แคตะเลส + คือ สร้างเอนไซม์แคตะเลส

ผลการทดสอบเอนไซม์แคตะเลส - คือ ไม่สร้างเอนไซม์แคตะเลส

4.4 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและปริมาณฟีนอลิกรวม

4.4.1 ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นของคีเฟอร์และคีเฟอร์สมุนไพร

วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นด้วยวิธี DPPH ของคีเฟอร์ และคีเฟอร์สมุนไพร โดยทำการวิเคราะห์วันที่ 0, 1, 7, 14 และวันที่ 21 โดยรายงานเป็นค่า IC_{50} ที่แสดงถึงความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่มีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของอนุมูลอิสระ DPPH ลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ จากการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นของทุกตัวอย่าง พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ค่า IC_{50} มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาในการเก็บรักษาพบว่าค่า IC_{50}ของ CK>AK>MK>GK โดยมีค่า 6.72, 6.50, 5.85 และ 4.74 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตัวอย่างที่มีค่า IC_{50} ต่ำแสดงถึงฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระที่ดีกว่าตัวอย่างที่มีค่า IC_{50} สูง โดย Lawin และ Kongbangkerd (2010) ได้รายงานว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นที่น้อยลงเนื่องจากมีค่า IC_{50} ที่สูงขึ้น เป็นผลมาจากระยะเวลาการเก็บรักษาที่นานขึ้นสัมพันธ์กับการสลายตัวของแอนโธไซยานิน และงานวิจัยของ Duangmal และคณะ (2008) ได้ทำการศึกษาการประยุกต์ใช้สารสกัดผงจากกระเจี๊ยบแดงในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มพบว่ามีการสลายตัวของแอนโทไซยานินเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น โดย GK มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นดีที่สุดเนื่องจากมีค่า IC_{50} ต่ำที่สุด รองลงมาคือ MK, AK และCK ตามลำดับ โดยงานวิจัยของ อเนก และบุณยกฤต (2560) ที่ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นโดยใช้วิธี DPPH ตรวจสมุนไพรพื้นบ้านทั้ง 15 ชนิด ซึ่งพบว่ากระเจี๊ยบมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่ามะตูม และอัญชัน ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์โดย GK มีค่า IC_{50} ต่ำที่สุด เนื่องจากเป็นคีเฟอร์ที่เติมน้ำกระเจี๊ยบในรูปน้ำเชื่อม ซึ่งกระเจี๊ยบเป็นพืชที่มีแอนโทไซยานินซึ่งมีคุณสมบัติในต้านออกซิเดชั่นได้ดีกว่าวิตามินซี วิตามินอี และเบต้าแคโรทีน (Chen, 2006) ทำให้กระเจี๊ยบมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นสูงกว่าสมุนไพรชนิดอื่น ตัวอย่าง MK ที่เติมน้ำมะตูมในรูปน้ำเชื่อม ซึ่งมีสารฟลาโวนอยด์ แคโรทีนอยด์ วิตามินซี (Jirumand, 2011) ตัวอย่าง AK เป็นคีเฟอร์ที่เติมน้ำอัญชันในรูปน้ำเชื่อม ซึ่งมีสารกลุ่มแอนโทไซยานิน เนื่องจากแอนโทไซยานินจะพบในพืชที่มีสีแดง สีม่วงและสีน้ำเงินจึงทำให้กระเจี๊ยบ และอัญชันมีสารกลุ่มเดียวกัน แต่ในอัญชันจะมีปริมาณน้อยกว่า (Jirumand, 2011) และตัวอย่าง CK เป็นคีเฟอร์สูตรธรรมชาติไม่ได้มีการเติมสมุนไพรเป็นผลให้มีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชั่นน้อยที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.13 ฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นระหว่างการเก็บรักษาของตัวอย่างคีเฟอร์

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	IC_{50} (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)			
	GK	MK	AK	CK
0	2.50 ± 0.16^{Aa}	2.95 ± 1.37^{Aab}	3.40 ± 0.75^{Aab}	4.14 ± 0.80^{Ab}
1	3.53 ± 0.62^{Ba}	4.31 ± 0.19^{Ba}	4.00 ± 1.41^{ABa}	4.46 ± 0.38^{Aa}
7	4.24 ± 0.35^{Ca}	4.54 ± 0.28^{Ba}	4.95 ± 0.53^{ABCa}	4.93 ± 0.56^{Aa}
14	4.55 ± 0.27^{Ca}	4.56 ± 0.12^{Ba}	5.59 ± 1.28^{BCab}	6.39 ± 0.31^{Bb}
21	4.74 ± 0.32^{Ca}	5.85 ± 0.56^{Cb}	6.50 ± 0.25^{Cb}	6.72 ± 0.68^{Bb}

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันที่ตัวอย่างต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกันที่ระยะเวลาในการเก็บรักษาต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.2 ผลการศึกษาสารประกอบฟีนอลิคของคีเฟอร์และคีเฟอร์สมุนไพร

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของคีเฟอร์ และคีเฟอร์สมุนไพร ด้วยวิธี Folin-Cioculteo โดยทำการวิเคราะห์วันที่ 0, 1, 7, 14 และวันที่ 21 พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของตัวอย่าง GK MK และAK มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ยกเว้นตัวอย่าง CK ที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นแต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แสดงดังตารางที่ 4.14 โดยเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาในการเก็บรักษาพบว่าปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของ GK>AK>MK>CK โดยมีค่า 122.22, 104.44, 69.06 และ 22.97 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อลิตรของตัวอย่าง เป็นผลมาจากตัวอย่าง GK และ AK เป็นคีเฟอร์ที่เติมน้ำกระเจี๊ยบ และน้ำอัญชันในรูปน้ำเชื่อม ซึ่งเป็นสมุนไพรที่มีสารกลุ่มเดียวกันคือแอนโทไซยานิน โดยจัดอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Jirumand และ Srihanam, 2011) MK เป็นคีเฟอร์ที่เติมน้ำมะตูมในรูปน้ำเชื่อม ซึ่งมีสารประกอบฟีนอลิกในกลุ่มแทนนิน อัลคาลอย คูมาริน แคโรทีนอย และฟลาโวนอยด์ (Manjeshwar, 2011) และในตัวอย่าง CK เป็นคีเฟอร์ที่ไม่ได้เติมสมุนไพรจึงทำให้มีสารประกอบฟีนอลิกน้อยที่สุด จะเห็นได้ว่าชนิดของสมุนไพรมีผลต่อปริมาณฟีนอลิกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกในธรรมชาติจะมีปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืช พื้นที่การปลูกรวมถึงสภาพภูมิประเทศ (Vajragupta และคณะ, 2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.14 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	สารประกอบฟีนอลิกรวม (มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อ1ลิตรของตัวอย่าง)			
	GK	MK	AK	CK
0	109.73 ± 3.56^{Aa}	56.71 ± 2.89^{Ab}	83.05 ± 2.12^{Ac}	18.92 ± 1.57^{Ad}
1	105.89 ± 7.54^{Aa}	56.87 ± 5.67^{Ab}	92.59 ± 7.38^{Bc}	18.47 ± 0.60^{Ad}
7	109.08 ± 9.63^{Ba}	61.24 ± 3.01^{Aa}	100.67 ± 9.07^{BCa}	23.11 ± 3.91^{Aa}
14	95.25 ± 6.07^{Ca}	62.75 ± 9.25^{Ab}	108.19 ± 8.58^{Cc}	23.92 ± 1.24^{Ab}
21	122.22 ± 6.40^{Da}	69.06 ± 3.52^{Bb}	104.44 ± 2.58^{Cc}	22.97 ± 1.41^{Ad}

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันที่ตัวอย่างต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกันที่ระยะเวลาในการเก็บรักษาต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์และคีเฟอร์สมุนไพร

ทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์และคีเฟอร์สมุนไพร โดยคุณลักษณะที่ใช้ในการประเมิน ได้แก่ ลักษณะปรากฏ (appearance) สี (color) กลิ่น (odor) รสชาติ (taste) เนื้อสัมผัส (texture) และความชอบโดยรวม (overall acceptable) กับกลุ่มผู้บริโภคทั่วไปที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 30 คน โดยใช้วิธี 9-point hedonic scale ในการทดสอบ

4.4.1 การทดสอบระยะเวลาในการหมักคีเฟอร์

ทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์ที่หมักในระยะเวลาที่แตกต่างกัน โดยหมักคีเฟอร์เป็นระยะเวลา 16, 20 และ 24 ได้ผลดังตารางที่ 4.15 พบว่าผู้บริโภคให้คะแนนความชอบคีเฟอร์ที่หมักเป็นระยะเวลา 20 ชั่วโมงในด้านของลักษณะปรากฏ รสชาติ และเนื้อสัมผัสมากที่สุด ในแง่ของความชอบโดยรวม เวลาที่ใช้ในการหมักคีเฟอร์ที่ 20 ชั่วโมง ได้คะแนนความชอบมากที่สุด ถัดมาคือ 16 และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ ดังนั้นผู้ทดลองจึงเลือกคีเฟอร์ที่ใช้ระยะเวลาในการหมัก 20 ชั่วโมง ในการหมักคีเฟอร์เพื่อนำไปพัฒนาเป็นคีเฟอร์สมุนไพรต่อไป

ตารางที่ 4.15 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์ที่หมักในระยะเวลาแตกต่างกัน

คุณลักษณะ	ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)		
	16	20	24
ลักษณะปรากฏ	5.90±1.64[a]	6.03±1.33[a]	5.83±1.29[a]
สี	6.53±1.20[a]	6.37±1.22[a]	6.33±1.21[a]
กลิ่น	5.57±1.906[a]	5.60±1.73[a]	5.70±1.75[a]
รสชาติ	4.03±1.99[a]	4.20±2.02[a]	4.03±1.847[a]
เนื้อสัมผัส	5.33±1.68[a]	5.57±1.52[a]	5.43±1.66[a]
ความชอบรวม	5.33±1.48[a]	5.43±1.49[a]	5.30±1.51[a]

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันที่ตัวอย่างต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.2 การทดสอบระยะเวลาในการเก็บรักษาของคีเฟอร์และคีเฟอร์สมุนไพร

เมื่อผสมสมุนไพรในรูปน้ำเชื่อมกับคีเฟอร์ในอัตราส่วนที่กำหนด จากนั้นนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสในวันที่ 0, 1, 7, 14 และ 21 ของการเก็บรักษา โดยเปรียบเทียบตัวอย่างทั้งหมดกับคีเฟอร์ที่จำหน่ายในชุมชน (CCK) ผลการศึกษาการทดสอบทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างทั้งหมด พบว่าระยะเวลาในการเก็บรักษามีผลต่อการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบ ($p \leq 0.05$) แสดงดังตารางที่ 4.16 จากตารางพบว่า การยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบชิมต่อคีเฟอร์ทั้ง 4 ชนิด ในด้านของคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างทั้งหมดเทียบกับ CCK พบว่าผู้ทดสอบชิมให้คะแนนความชอบแก่คีเฟอร์สมุนไพร (GK, MK และAK) มากกว่า CK และ CCK โดยเฉพาะด้านกลิ่นและรสชาติ เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ผู้ทดสอบชิมให้คะแนนความชอบลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่าไม่มีความแตกต่างของคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสในแต่ละตัวอย่าง ($p > 0.05$) ตัวอย่างที่ผู้ทดสอบชิมให้คะแนนความชอบโดยรวมสูงที่สุดคือ AK ซึ่งอยู่ในช่วงชอบเล็กน้อยถึงชอบปานกลาง แต่เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นเป็น 14 และ 21 วัน พบว่าผู้ทดสอบชิมให้คะแนนความชอบโดยรวมของแต่ละตัวอย่างลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยคะแนนความชอบของคีเฟอร์สมุนไพรอยู่ในช่วงเฉยๆ CK และ CCK อยู่ในช่วงไม่ชอบเล็กน้อย ผู้ทดสอบชิมได้ให้ข้อเสนอแนะในด้านสีของ GK และ AK ที่อ่อนลง และในด้านรสชาติว่ามีรสเปรี้ยวมากเกินไป ซึ่งแตกต่างจากวันแรกอย่างชัดเจนเป็นผลให้คะแนนความชอบลดลง การยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบชิมต่อตัวอย่างคีเฟอร์ทั้งหมดและคีเฟอร์ที่จำหน่ายในชุมชนมีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นส่วนหนึ่งนั้นเป็นผลมาจากปริมาณแบคทีเรียที่มีการเปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา (สุภาพ, 2556) และการสลายตัวของแอนโทไซยานินซึ่งเป็นสารให้สีธรรมชาติ (สุภาพ, 2556) แก่ GK และ AK จึงส่งผลต่อคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของตัวอย่าง ในด้านการเก็บรักษาที่มีผลต่อคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส Irigoryen และคณะ (2005) ได้แนะนำระยะเวลาในการเก็บรักษาสำหรับการบริโภคคีเฟอร์ว่าควรบริโภคภายใน 14 วัน ในขณะที่ Kilic และคณะ (1999) รายงานว่าควรบริโภคคีเฟอร์ภายใน 3 วัน หลังจากสิ้นสุดกระบวนการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.16 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์และคีเฟอร์สมุนไพรระหว่างการเก็บรักษา

	DAY	RK	MK	AK	CK	CCK
ลักษณะปรากฏ	1	6.00±0.98^{Aa}	6.27±1.38^{Aa}	6.33±1.12^{Aa}	6.27±1.44^{Aa}	6.37±1.56^{Aa}
	7	6.13±1.48^{Aa}	6.33±0.95^{Aa}	6.47±1.59^{Aa}	6.50±1.67^{Aa}	6.20±1.61^{ABa}
	14	5.43±1.35^{Aab}	5.67±1.09^{Bab}	5.07±1.46^{Aa}	5.73±1.38^{Aab}	5.90±1.30^{Bb}
	21	5.67±1.47^{Ab}	5.33±1.56^{Bb}	4.17±1.66^{Ba}	4.90±1.70^{Bab}	5.43±1.38^{Bb}
สี	1	6.93±1.26^{Aa}	6.37±1.56^{Aa}	6.70±1.53^{Aa}	6.47±1.57^{Aa}	6.43±1.43^{Aa}
	7	6.47±1.48^{ABa}	6.13±1.25^{Aa}	6.63±1.67^{Aa}	6.47±1.43^{Aa}	6.30±1.68^{Aa}
	14	6.20±1.34^{ABb}	5.77±1.25^{Aab}	5.07±1.48^{ABa}	5.87±1.54^{ABab}	5.70±1.55^{Aab}
	21	5.97±1.52^{Bb}	5.70±1.15^{Ab}	4.03±1.81^{Ba}	5.53±1.38^{Ab}	5.93±1.46^{Ab}
กลิ่น	1	5.47±1.50^{Aab}	6.20±1.30^{Ab}	6.17±1.17^{Ab}	5.73±1.85^{Aab}	5.57±1.53^{Aa}
	7	5.07±1.48^{ABa}	5.80±1.44^{ABa}	5.57±1.43^{Aa}	5.97±1.81^{Aa}	5.13±1.94^{Aa}
	14	4.63±1.75^{ABa}	5.10±1.58^{BCa}	4.90±1.49^{ABa}	5.00±1.64^{ABa}	4.93±1.87^{Aa}
	21	4.43±1.52^{Ba}	4.87±1.47^{Ca}	4.47±1.61^{Ba}	4.50±1.69^{Ba}	4.23±1.47^{Aa}
รสชาติ	1	5.37±1.79^{Abc}	6.23±1.30^{Ac}	6.30±1.17^{Ac}	4.67±1.86^{Aab}	3.77±1.52^{Aa}
	7	4.53±1.90^{ABab}	5.67±1.78^{ABb}	5.17±1.87^{Aab}	4.87±2.44^{Aab}	4.13±2.24^{Aa}
	14	4.60±2.09^{ABb}	4.77±1.73^{Bb}	4.97±1.50^{ABa}	3.63±1.79^{ABa}	3.63±1.81^{Aa}
	21	4.27±1.61^{Bb}	5.00±1.89^{Bb}	4.27±1.76^{Bb}	3.23±1.85^{Ba}	3.27±1.87^{Aa}
เนื้อสัมผัส	1	5.50±1.12^{Aa}	5.93±1.48^{Aa}	5.97±1.25^{Aa}	5.63±1.52^{Aa}	5.30±1.34^{Aa}
	7	5.50±1.61^{Aa}	5.90±1.21^{Aa}	5.83±1.20^{Aa}	5.83±1.36^{Aa}	5.40±1.47^{Aa}
	14	4.97±1.52^{ABa}	5.57±1.35^{ABa}	4.97±1.47^{Ba}	4.70±1.41^{Ba}	4.63±1.65^{ABa}
	21	4.53±1.32^{Bab}	5.37±1.38^{Bb}	5.17±1.41^{Bb}	4.27±1.79^{Ba}	4.30±1.78^{Ba}
ความชอบรวม	1	5.73±1.43^{Aab}	6.40±1.40^{Aa}	6.50±1.13^{Aa}	5.43±1.71^{Ab}	4.63±1.77^{ABc}
	7	5.5±1.71^{ABab}	6.24±1.32^{Aab}	6.27±1.31^{Ab}	5.60±1.83^{Aab}	5.30±1.98^{Aa}
	14	4.87±1.68^{BCa}	5.53±1.45^{Bb}	4.70±1.44^{Ba}	4.37±1.54^{Ba}	4.50±1.79^{ABa}
	21	4.67±1.52^{Cab}	5.27±1.63^{Bb}	4.57±1.61^{Bab}	4.10±1.72^{Ba}	4.07±1.50^{Ba}

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันที่ตัวอย่างต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกันที่ระยะเวลาในการเก็บรักษาต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผล

จากการศึกษาผลของการเติมสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด ที่มีผลต่อจุลินทรีย์ องค์ประกอบทางเคมี สารต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และการทดสอบทางประสาทสัมผัสตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 21 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยมีอัตราส่วนของน้ำสมุนไพรในรูปน้ำเชื่อมต่อคีเฟอร์ธรรมชาติที่ 1(มิลลิลิตร):5(มิลลิลิตร) ทั้งหมด 3 สูตร ได้แก่ คีเฟอร์กระเจี๊ยบ คีเฟอร์มะตูม คีเฟอร์อัญชัน และมีคีเฟอร์ธรรมชาติเป็นคีเฟอร์ควบคุม พบว่าคีเฟอร์ที่มีการเติมกระเจี๊ยบมีจำนวนแบคทีเรียและยีสต์ที่มีชีวิตต่ำกว่าคีเฟอร์ที่เติมสมุนไพรชนิดอื่นรวมไปถึงคีเฟอร์ควบคุม เนื่องจากในน้ำที่ได้จากการต้มกระเจี๊ยบมีความเป็นกรดสูงกว่าสมุนไพรชนิดอื่น จึงส่งผลต่อค่าพีเอช และปริมาณกรดแลคติก ซึ่งมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ การเติมสมุนไพรแต่ละชนิดไม่มีผลต่อปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน และปริมาณน้ำหนักแห้งตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ($p>0.05$) จำนวนจุลินทรีย์และองค์ประกอบทางเคมีเมื่อสิ้นสุดระยะเวลาในการเก็บรักษาเป็นไปตามมาตรฐานของคีเฟอร์ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขแห่งประเทศไทย (ฉบับ 353) พ.ศ. 2556

ในด้านของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระพบว่าตัวอย่างที่เติมสมุนไพรมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าคีเฟอร์ควบคุม โดยคีเฟอร์ที่เติมกระเจี๊ยบมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดโดยคำนวณเป็นค่า IC_{50} ถัดมาคือคีเฟอร์อัญชัน คีเฟอร์มะตูม และคีเฟอร์ควบคุมตามลำดับ แต่เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของแต่ละตัวอย่างลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) ในด้านของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด คีเฟอร์ที่เติมสมุนไพรมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าคีเฟอร์ควบคุม โดยคีเฟอร์ที่เติมกระเจี๊ยบมีปริมาณฟีนอลิคทั้งหมดสูงที่สุด เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น พบว่าคีเฟอร์ที่เติมสมุนไพรมีปริมาณฟีนอลิกเพิ่มขึ้น ($p\leq0.05$) ในขณะที่คีเฟอร์ควบคุมมีปริมาณฟีนอลิกคงที่ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา ($p>0.05$)

การยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบชิมต่อคีเฟอร์ในด้านของคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างทั้งหมดเทียบกับคีเฟอร์ที่จำหน่ายในชุมชน พบว่าผู้ทดสอบชิมให้คะแนนความชอบแก่คีเฟอร์สมุนไพรมากกว่าคีเฟอร์ควบคุมและคีเฟอร์ที่จำหน่ายในชุมชนโดยเฉพาะด้านกลิ่นและรสชาติ โดยคะแนนความชอบมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในด้านของการเก็บรักษาพบว่าคะแนนความชอบไม่มีความแตกต่างกันเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 7 วัน โดยตัวอย่างที่ได้รับคะแนนความชอบมากที่สุดคือคีเฟอร์อัญชัน ถัดมาคือคีเฟอร์มะตูม คีเฟอร์ควบคุม คีเฟอร์กระเจี๊ยบ และคีเฟอร์ที่จำหน่ายตามชุมชนตามลำดับ โดยคะแนนความชอบอยู่ในช่วงเฉยๆถึงชอบมาก แต่เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นเป็น 14 และ 21 วัน พบว่าผู้ทดสอบให้คะแนนความชอบในแต่ละด้านลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยคะแนนความชอบโดยรวมอยู่ในช่วงไม่ชอบเล็กน้อยถึงเฉยๆ

ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการเติมสมุนไพรในคีเฟอร์ช่วยเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดแก่คีเฟอร์ อีกทั้งยังปรับปรุงรสชาติของคีเฟอร์ อย่างไรก็ตามต้องมีการปรับปรุงและพัฒนาให้ได้คีเฟอร์ที่มีคุณภาพคงที่ตลอดระยะเวลาในการเก็บรักษา การเติมสมุนไพรในคีเฟอร์อาจเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการพัฒนาคีเฟอร์ที่เป็นเครื่องดื่มเชิงหน้าที่ที่อุดมไปด้วยประโยชน์และสารอาหารให้แพร่หลายมากยิ่งขึ้น

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรมีการวิเคราะห์กฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของน้ำสมุนไพรในรูปน้ำเชื่อมก่อนที่จะนำมาผสม

5.2.2 การทดสอบทางประสาทสัมผัสระหว่างการเก็บรักษา ควรทดสอบเทียบกับตัวอย่างในวันที่ 0 เพื่อให้การทดสอบมีความแม่นยำมากยิ่งขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 353) พ.ศ. 2556 เรื่อง นมเปรี้ยว. ราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่มที่ 130, ตอนพิเศษ 87 ง (ลงวันที่ 24 กรกฎาคม 2556).

คุณัชญ์สุภชา กลับคง. 2558. การแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกจากน้ำนมกระบือพันธุ์มูร่าห์และคุณสมบัติในการหมักโยเกิร์ต. กรุงเทพฯ: สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย

จันทรวรรณ แสงแข. 2555. สุขภาพแข็งแรงด้วยน้ำนมหมักคีเฟอร์. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.uniserv.buu.ac.th/forum/topic.asp?TOPIC_ID=5081. 19 พฤศจิกายน 2561.

ณัฐดนัย หาญการสุจริต. 2559. การบรรจุในอุตสาหกรรมอาหาร. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.packaging.oie.go.th. 12 มิถุนายน 2562.

นิรนาม. 2557. มหัศจรรย์ดอกอัญชัน [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: https://costume-manman.blogspot.com2014/07/blog-post.html. 3 มิถุนายน 2562

เนตรนภา เมยกลาง และเฉลิม เรืองวิริยะชัย. 2557. การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในเครื่องดื่มน้ำผลไม้. KKU research journal. 14(4): 69-79

พนารัตน์ มอญใต้. 2555. เรื่องน่ารู้เกี่ยวกับจุลินทรีย์ที่เป็นมิตร:โปรไบโอติก (Probiotics). วารสารกรมวิทยาศาสตร์บริการ. 60(189): 13-15

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. 2550. Roselle / กระเจี๊ยบ. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1676/rosellกระเจี๊ยบแดง. 4 มิถุนายน 2562.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. 2550. Butterfly pea / ดอกอัญชัน. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2975/butterfly-pea-ดอกอัญชัน #disqus thread. 4 มิถุนายน 2562.

พรรณี เด่นรุ่งเรือง. 2550. ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเปลือกต้นวงศ์อบเชย (Lauraceae). สำนักวิจัยการจัดการป่าไม้และผลิตผลป่าไม้. 1(1): 19-26.

พรผจง เลาหวิเชียร. 2553. บทความ Kefir (บัวหิมะ) โดย รองศาสตราจารย์พรผจง เลาหวิเชียร ผู้อำนวยการวิทยาลัยการแพทย์ ทางเลือก. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://topicstock.pantip.com/woman/topicstock/2010/01/Q8746521/Q8746521.html 22 ตุลาคม 2561.

ภัทรดร ภิญโญพิชญ์ และศุภจิตรา ชัชวาล. 2561. การหายใจระดับเซลล์. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.biology.sc.chula.ac.th/2303108/lab2.pdf. 4 มิถุนายน 2562.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รวิวรรณ แก้วอมตะวงศ์ และทรงพร จึงมั่นคง. 2549. ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณสารฟีนอลรวมของสารสกัดพืชสมุนไพรไทยบางชนิด. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 8(2): 76 - 88

วันเชิญ โพธาเจริญ, ภัทรพร (ยุคแผน) รัตนวารี, ทวีศักดิ์ มะลิมาศ และยูโซะ ยามาดะ. 2550. แบคทีเรียผลิตกรดน้ำสมสายชู. รายงานการวิจัยในโครงการ BRT ศูนยพันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแหงชาติ อุทยานวิทยาศาสตรประเทศไทย. หน้า 400-408.

ศานต์ เศรษฐชัยมงคล และอัญชิสา กุลทวีสุข. 2560. นมเปรี้ยวคีเฟอร์: เทคโนโลยีชีวภาพจากมุมมองวิทยาการด้านโอมิกส์. วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม. 13(1): 1-18.

สุภาพ นนทะสันต์. 2556. การประยุกต์ใช้สารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดกระเจี๊ยบแดงในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต. 628-636. ในการประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยมหาสารคามวิจัย ครั้งที่ 9. มหาสารคาม: วิทยาลัยมหาสารคาม.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545. จุลชีววิทยาทางอาหาร = Food microbiology. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

สุวรรณา วรรัตน์ วันชัย อินทรพิทักษ์ และวฐู พรหมพิทยารัตน์. 2560. การเปรียบเทียบวิธีวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยเทคนิคเชิงภาพ กับวิธีไมโครเพลสดีพีพีเอช. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 19(3): 147-153.

สมใจ ศิริโภค. 2535. เทคโนโลยีการหมัก = Fermentation technology. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ: ศูนย์สื่อเสริม กรุงเทพฯ.

อภิญญา วิจิตรเมฆทอง และ กุลนาถ มากบุญะ. 2537. โยเกิร์ตสมุนไพร. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา https://www.pharmacy.mahidol.ac.th/th/service-research-special-abstract.php?num=53&year=2537. 24 พฤศจิกายน 2561.

อโรคา108. 2558. รอบรู้เรื่องสมุนไพร กระเจี๊ยบแดง. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: https://www.aroka108.com/กระเจี๊ยบแดง-2สมุนไพร- ข้อมูลสุขภาพ. 3 มิถุนายน 2562

อุทัย เก้าเฮี้ยน. 2549. โปรไบโอทิคส์.สงขลานครินทร์เวชสาร. 24(1): 315-323.

เอนก หาลี และบุณยกฤต รัตนพันธุ์. 2560. การศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระจากพืชผักสมุนไพรพื้นบ้าน 15 ชนิด. วารสารวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. 40(2): 283-293.

อำพรรณ ชัยกุลเสรีวัฒน์. 2548. โปรไบโอติกและพรีไบโอติกมีประโยชน์ต่อร่างกายคุณอย่างไร. วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม. 2(1): 62-62.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Amerine and Ough. 1980. Errors in the Dichromate Oxidation Alcohol Method Due to Varying Rinse Water Amounts. American Journal of Enology and Viticulture. 1984 35: 54-54

A.O.A.C. 1990. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analysis Chemistry. 15th ed. Arlington, Virginia.: Association of Official Analysis Chemists.

A.O.A.C. 2000. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analysis Chemistry. 14th ed. Washington D.C.: Associaton Official Analytical Chemist.

Brand W., Cuvelier M. and Berset C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. lebensmittel wissenschaft and tech. 28: 25-30.

Karagozlu C., Unal G., Akalin S., Akan E., Kinik O. 2017. The effects of black and green tea on antioxidant activity and sensory characteristics of kefir. Agro Food Industry High Technology. 28(2): 77-80.

Chandran S. 2018. 10 Amazing Benefits Of Bael (Kaitha) [Online]. Available: http://demo.todayindya.com/article/food-health/10-amazing-benefits-of-bael-kaitha-/8780. 4 June 2019.

Charoensiddhi S. and Anprung P. 2008. Bioactive compounds and volatile compounds of Thai bael fruit (Aegle marmelos (L.) Correa) as a valuable source for functional food ingredients. International Food Research Journal. 15(1): 287–295.

Chen, P.N., Kuo, .W.H., Chiang, C.L., Chiou, H.L., Hsieh, Y.S. and Chu, S.C. 2006. Black Rice Anthocyanins Inhibit Cancer Cells Invasion Via Repressions of MMPs and u-PA Expression. Journal of Chemico-Biological Interactions. 163: 218-229.

Fábio F. Oliveira, Raphael H.S. Diniz, Fernanda G. Santos, Fernanda B. Piló, Hygor M., Leso M. Castro and Rogelio L. Brandão. 2015. The Role of Yeast and Lactic Acid Bacteria in the Production of Fermented Beverages in South America. 1(1): 107-135.

Fada S. 2017. Growth Conditions of Yeast [Online]. Available: http://m.th.fadayeast-ar.com/info/growth-conditions-of-yeast-22195904. 10 June 2019

Garcia F., M. C., Martinez S., Franco I. and Carballo J. 2006. Microbiological and chemical changes during the manufacture of Kefir made from cows' milk, using a commercial starter culture. International Dairy Journal. 16: 762-767.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Gaware V., Kotade K., Dolas R., Dhamak K., Somwanshi S., Nikam V., Khadse A., Kashid V. 2011. The magic of kefir. Pharmacologyonline. 1(1): 376-386.

Gul O., Mortas M., Atalar L., Dervisoglu M. and Kahyaoglu T. 2015. Manufacture and characterization of kefir made from cow and buffalo milk, using kefir grain and starter culture. Journal of Dairy Science. 98: 1517-1525.

Hertzler S.R. and Clancy S.M. 2003. Kefir improves lactose digestion and tolerance in adults with lactose maldigestion. Journal of the American Dietetic Association. 103(5): 582-587.

Hugenholtz J., Starrenburg J.C. 1992. Diacetyl production by different strains of *Lactoccus lactis* subsp lactis var diacetylactis and *Leuconostoc* ssp. Applied Microbiology and Biotcehnology. 38(1): 17-22.

Irigoyen A., Arana I., Castiella M., Torre P., Ibanez F.C. 2005. Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. Food Chemistry. 90(1): 613-620

ISO 1211. 2010. Milk-Determination of fat content-Gravimetric method. International Dairy Federation (IDF). Pages: 20-23.

Jirumand J. and Srihanam P. 2011. Oxidants and Antioxdants: Sources andMechanism. 59-70. Acad. Kalasin: Kalasin Rajabhat University.

José Carlos Santos Teixeira. 2013. Hydroxycinnamic Acid Antioxidants [Online]. Available: https://www.researchgate.net/figure/Principle-of-DPPH-radical-scavenging-capacity-assay_fig4_255976992. 5 June 2019.

Kazuma K., Kogawa K., Noda N. 2004. Identification of delphinidin 3-O-(6"-O-malonyl)-beta-glucoside-3'-O-beta-glucoside, a postulated intermediate in the biosynthesis of ternatin C5 in the blue petals of Clitoria ternatea (butterfly pea). Chemistry & Biodiversity. 1(1): 1762-1770.

Kilic S., Uysal H., Akbulut N., Kavas G., Kesenkas H. 1999. Chemical, microbiological and sensory changes in ripening kefirs produced from starters and grains. Journal of Ege University Agricultural Faculty. 36(1): 111–118.

Kim D.H., Jeong D., Kim H., Kang I.B., Chon J.W., Song K.Y. and Seo K.H. 2016. Antimicrobial activity of kefir against various food pathogens and spoilage bacteria. Korean Journal for Food Science of Animal Resources. 36(6): 787-790.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Magra T. I., Antoniou K. A. and Psomas E. I. 2012. Effect of milk fat, kefir grain inoculum and storage time on the flow properties and microbiological characteristics of kefir. Journal of Texture Studies. 43:299–308.

Manjeshwar S.B., Harshith P.B., Nandhini J. and Farhan F. 2011. Phytochemistry and Medicinal Uses of the Beal (Aegle marmelos Correa): A concise Review. Journal of Food Research International. 44: 1768-1775.

Otles S. and Cagindi O. 2003. Kefir a Probiotic dairy-composition nutritional and therapeutic aspects. Pakistan Journal of Nutrition 2 (2): 54-59.

Sekkal N. 2016. Chemical and microbiological composition of Kefir and its natural benefits. Mediterranean Journal of Biosciences. 1(4): 174-183

Shiby V.K. and Mishra H.N. 2013. Fermented milks and milk products as functional foods: A review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 53(5): 482-496.

Simova E., Simov Z., Beshkova D., Frengova G., Dimitrov Z. and Spasov Z. 2006. Amino acid profiles of lactic acid bacteria, isolated from kefir grains and kefir starter made from them. International Journal of Food Microbiology. 107(2): 112-123.

Tankeshwar A. 2013. Catalase test: Principle, Procedure, Results and Applications [Online]. Available: https://microbeonline.com/catalase-test-principle-uses-procedureresults/. 22 June 2018.

Tavarini S., Degl'Innocenti E., Remorini D., Massai R., Guidi L. 2008. Antioxidant capacity. ascorbic acid. total phenols and carotenoids changes during harvest and after storage of Hayward kiwifruit. Food Chemistry. 107: 282–288.

Tayyebeh S., Maryam M., Behrouz A. a., Maryam S. 2017. Effects of starter culture and storage temperature on functional, microbial and sensory characteristics of kefir during Storage. Journal of Pharmaceutical and Health Sciences. 5(1): 23-35.

Vajragupta O., Boonchoong P., Boonyarat C. and Utsintong M. 2006. Redical Scavenging Agents. Bangkok: Chulalong University.

Velioglu Y.S., Mazza G., Gao L., and Oomah B.D. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 46:4113- 4117.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Wojtowski J., Dankow R., Skrzyper R., Fahr RD. 2003. The fatty acid profile in kefirs from sheep goat and cow milk. Milchwissenschaf. 58(1): 633-636.

Wood B.J.B. 1997. Microbiology of Fermented Foods. Blackie Academic and Professional, London.

Woodward K. 2017. The rising popularity of kefir [Online]. Available: https://www.drinks-insight-network.com/features/good-feeling-rising-popularity-kefir/ 22 October 2018.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

วิธีเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ก.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ De Man Rogosa and Sharpe (MRS) Agar ประกอบด้วย

MRS broth	55 กรัม
$CaCO_3$	5 กรัม
Agar	20 กรัม

นำส่วนผสมทั้งหมดไปละลายในน้ำกลั่น คนให้เข้ากันจนเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ ที่แรงดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเทใส่จานเพาะเลี้ยงเชื้อประมาณ 20 มิลลิลิตร

ก.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast malt medium (YM) Agar ประกอบด้วย

Yeast extract	3 กรัม
Malt extract	3 กรัม
Peptone	5 กรัม
Glucose	10 กรัม
Distilled water	1000 มิลลิลิตร
Agar	20 กรัม

นำส่วนผสมทั้งหมดไปละลายในน้ำกลั่น คนให้เข้ากันจนเป็นเนื้อเดียวกัน ปรับพีเอชเป็น 5.5 นำไปฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ ที่แรงดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเทใส่จานเพาะเลี้ยงเชื้อประมาณ 20 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

วิธีการที่ใช้ในการทดสอบเชื้อ

ข.1 Spread plate technique

1. เจือจางตัวอย่างลำดับส่วนแบบ 10 เท่า จนได้ระดับความเจือจางที่ต้องการ โดยทำการเปลี่ยนทิปอันใหม่ทุกครั้งที่เปลี่ยนระดับความเจือจาง พร้อมทั้งเขย่าสารละลายในหลอดทุกครั้งก่อนใช้ไมโครปิเปตดูดเพื่อถ่ายไปยังหลอดต่อไป

2. ใช้ทิปอันใหม่ดูดตัวอย่างที่ระดับความเจือจางที่ต้องการ ปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยหยดลงบนกลางจานอาหาร

3. ใช้แท่งแก้วรูปตัวแอลเกลี่ยตัวอย่างบนผิวหน้าอาหารแข็งให้ตัวอย่างกระจายทั่วทั้งจานอาหารเลี้ยงเชื้อ และทิ้งไว้สักครู่ให้ผิวหน้าอาหารแห้ง

4. นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อวางเรียงใส่ปิ๊บ และสร้างสภาวะไม่มีออกซิเจนนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 3 วัน

5. ตรวจผลปฏิบัติการโดยสังเกตลักษณะของโคโลนี นับจำนวน ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์ และทดสอบการสังเคราะห์เอนไซม์แคตาเลส

ข.2 spot plate technique

1. เจือจางตัวอย่างลำดับส่วนแบบ 10 เท่า จนได้ระดับความเจือจางที่ต้องการ โดยทำการเปลี่ยนทิปอันใหม่ทุกครั้งที่เปลี่ยนระดับความเจือจาง พร้อมทั้งเขย่าสารละลายในหลอดทุกครั้งก่อนใช้ไมโครปิเปตดูดเพื่อถ่ายไปยังหลอดต่อไป

2. ใช้ทิปอันใหม่ดูดตัวอย่างที่ระดับความเจือจางที่ต้องการ ปริมาณ 0.01 มิลลิลิตร โดยหยดเป็นจุดใส่ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ รอให้ตัวอย่างแห้ง

3. นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อใส่ถุงพลาสติกนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 3 วัน

4.. ตรวจผลปฏิบัติการโดยสังเกตลักษณะของโคโลนี และนับจำนวน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.3 เทคนิคการย้อมสีแบคทีเรีย

1. การเตรียมการก่อนการย้อมสี

1.1 การเตรียมสไลด์ โดยการใช้นิ้วจุ่มน้ำให้เปียก แตะน้ำยาล้างจานถูบนสไลด์ให้ทั่วทั้ง 2 ด้าน ทิ้งไว้ให้แห้งพอหมาดๆ แล้วใช้ผ้าแห้งเช็ดให้สะอาด

1.2 การเตรียมสเมียร์จากเชื้อที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็งทำโดยนำลูปจุ่มน้ำแตะลง บนสไลด์ 1-2 ลูป แล้วใช้ลูปเขี่ยเชื้อที่ลนไฟเพื่อฆ่าเชื้ออื่นแล้ว เขี่ยเชื้อที่เจริญบนอาหารแข็ง ให้ติดมาเพียงเล็กน้อย จากนั้นแตะเชื้อลงบนหยดน้ำแล้วละเลงหรือเกลี่ยเชื้อให้กระจาย เป็นวงเล็กๆ ทิ้งไว้ให้รอยสเมียร์แห้งเอง

1.3 การตรึงรอยสเมียร์ ทำโดยนำสไลด์ที่มีรอยสเมียร์ที่แห้งแล้ว มาลนผ่านเหนือเปลวไฟโดยให้เปลวไฟผ่านใต้สไลด์ตรงรอยสเมียร์ โดยลนอย่างรวดเร็ว 2-3 ครั้ง

2. การย้อมสีแกรม

2.1 นำสไลด์ที่ผ่านการเตรียมเชื้อแล้ว มาวางบนที่ย้อม หยดด้วยสีย้อมคริสตัลไวโอเลตให้ท่วมรอยสเมียร์ปล่อยทิ้งไว้นาน 30-60 วินาที

2.2 เทสีออก ล้างด้วยน้ำยาแกรมไอโอดีน และหยดน้ำยาแกรมไอโอดีนไว้นาน 1-2 นาทีเพื่อ ช่วยให้สีติดดีขึ้น

2.3 ล้างด้วยน้ำก๊อกที่ไหลอ่อนๆ สลัดน้ำออกจากสไลด์จนหมด

2.4 ใช้แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ หยดให้ไหลผ่านสไลด์จนน้ำที่หยดผ่านไม่มีสีติดออกมาด้วยขั้นนี้ใช้เวลา 20 วินาทีถึง 1 นาทีขึ้นอยู่กับความหนาบางของเชื้อที่ทาลงบนสไลด์ ระวังอย่าล้างสีออกมากเกินควร เพราะจะทำให้ผลที่ได้ผิดพลาด

2.5 ล้างด้วยน้ำอย่างรวดเร็ว สลัดน้ำออกจากสไลด์จนหมด

2.6 หยดสีย้อมซาฟรานินให้ท่วมรอยสเมียร์ทิ้งไว้นาน 30-60 วินาที

2.7 ล้างออกด้วยน้ำ ซับน้ำออก และปล่อยให้สไลด์แห้ง แล้วดูด้วยกล้องจุลทรรศน์แบคทีเรียที่เป็นแกรมบวกจะติดสีม่วงหรือสีน้ำเงินของคริสตัลไวโอเลต ส่วนพวกแกรมลบจะติดสีแดงหรือสีชมพูของซาฟรานิน

ข.4 การทดสอบการสร้างเอนไซม์แคตะเลส (Catalase test)

1. ใช้ลูปแตะโคโลนีของแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบแตะลงบนแผ่นสไลด์ที่แห้ง

2. หยด 3 เปอร์เซ็นต์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide; H_2O_2)

3. สังเกตการณ์เกิดฟองฟู ถ้าเกิดฟองก๊าซขึ้นแสดงว่าแบคทีเรียสามารถสร้างเอนไซม์แคตะเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การเตรียมสารเคมีและสีย้อม

ค.1 การคำนวณเกี่ยวกับการเตรียมสารละลายสำหรับวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่น DPPH

1. การเตรียมสารละลาย DPPH 0.2 มิลลิโมลาร์

การคำนวณ ความเขมขนของ DPPH ที่ตองการ คือ 0.2 มิลลิโมลาร์ (DPPH มี M.W. = 394.33 กรัมต่อโมล)

จากสูตร

$$\frac{M_1V_1}{1000} = \frac{g}{M.W.}$$

$$g = \frac{M_1V_2 \times M.W.}{1000}$$

$$= \frac{0.2 \times 10^{-3} \times 100 \times 394.33}{1000}$$

$$= 0.0079$$

เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยการชั่ง DPPH 0.0079 กรัม ละลายในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ และปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร แล้วเก็บไว้ในขวดสีชา ควรเตรียมก่อนใช้ สามารถเก็บไว้ที่ 4 องศาเซลเซียสประมาณ 3 วัน

2. การเตรียมสารละลายมาตรฐานวิตามินซี

การเตรียมสารละลายวิตามินซีความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ชั่งวิตามินซี 0.01 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร นำมาเจือจางเพื่อเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิค ความเข้มข้น 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ14 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ดังตารางที่ ง.1) ด้วยการปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 10 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานวิตามินซี

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานวิตามินซี (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ปริมาตรสารละลายมาตรฐานวิตามินซีวามเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (มิลลิลิตร)	น้ำกลั่น (มิลลิลิตร)
0	0	10
2	0.2	9.8
4	0.4	9.6
6	0.6	9.4
8	0.8	9.2
10	1.0	9.0
12	1.2	8.9
14	1.4	8.6

ค.2 การคำนวณเกี่ยวกับการเตรียมสารละลายสำหรับวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก

1. การเตรียมสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต (Sodium Bicarbonate; Na_2HCO_3) เข้มข้น 6 เปอร์เซ็นต์

ชั่งโซเดียมไบคาร์บอเนต (Sodium Bicarbonate; Na_2HCO_3) 60.0 กรัม ใส่ในขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 1,000 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นจนปริมาตรครบ 1,000 มิลลิลิตร จากนั้นผสมให้เข้ากัน

2. การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิค

การเตรียมสารละลายกรดแกลลิกความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ชั่งกรดแกลลิค 0.01 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร นำมาเจือจางเพื่อเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิค ความเข้มข้น 5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากสารละลายมาตรฐานความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ดังตารางที่ ง.2) ด้วยการปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 10 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิค

ความเข้มข้นสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิค (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ปริมาตรสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิคความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (มิลลิลิตร)	น้ำกลั่น (มิลลิลิตร)
5	0.5	9.5
10	1.0	9
15	1.5	8.5
20	2.0	8
25	2.5	7.5

ค.3 การเตรียมสารละลายสำหรับวิเคราะห์แอลกอฮอล์

1. เตรียมสารละลายโพแทสเซียมไดโครเมท (Potassium Dichromate; K_2CrO_4)

เตรียมโดยชั่งโพแทสเซียมไดโครเมท (Potassium Dichromate; K_2CrO_4) 33.77 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 1,000 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 450 มิลลิลิตร จากนั้นค่อยๆ เติมกรดซัลฟูริก (Sulfuric acid; H_2SO_4) เข้มข้น 98 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 325 มิลลิลิตร คนให้ละลาย ทิ้งในเย็น ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น เก็บในขวดสีชา

2. เตรียมสารละลายเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต (Ammonium Ferrous Sulfate; $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$)

เตรียมโดยชั่งเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต (Ammonium Ferrous Sulfate; $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$) 135 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 1,000 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 750 มิลลิลิตร จากนั้นค่อยๆ เติมกรดซัลฟูริก (Sulfuric acid; H_2SO_4) เข้มข้น 98 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร คนให้ละลาย ทิ้งในเย็น ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น เก็บในขวดสีชา

3. เตรียมสารละลาย 1,10 ฟีแนนโทรลีนเฟอร์รัสซัลเฟต (1, 10-Phenantroline ferrus sulfate)

เตรียมโดยชั่งเฟอรัสซัลเฟต (Ferrous sulfate; FeSO4) 0.70 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เติมออโธฟีแนนโทรลีน (o-phenanthroline) 1.49 กรัม คนให้ละลาย จากนั้นปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.4 การเตรียมสารละลายสำหรับวิเคราะห์ปริมาณกรดในรูปกรดแลคติค

1. น้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์

เตรียมน้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์โดยการนำน้ำกลั่นไปต้มให้เดือดเป็นเวลา 20 นาที

2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH) 0.1 นอร์มัล

เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH) 0.1 นอร์มัลได้โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น นำมาหาความเข้มข้นก่อนนำไปใช้

การหาความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH) ก่อนนำไปใช้โดยอบโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต (Potassium hydrogen phthalate; $C_8H_5KO_4$) ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต 0.3 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ 100 มิลลิลิตร หยดสารละลาย ฟีนอฟทาลีน 2-3 หยด ไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) 0.1 นอร์มัล ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์คำนวณได้จากสูตร

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ (นอร์มัล) =

$$\frac{\text{น้ำหนักโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต (กรัม)} \times 1000}{\text{ปริมาตรของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (มิลลิลิตร)} \times 204.229}$$

ค.5 การเตรียมสารละลายสำหรับวิเคราะห์โปรตีน

1. เตรียมโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH) เข้มข้น 45 เปอร์เซ็นต์

เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 45 กรัม ละลายในน้ำกลั่นจากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

2. เตรียมกรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid; HCl) เข้มข้น 0.1 นอร์มัล

เตรียมโดยชั่งสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 36 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่นจากนั้นปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร

3. เตรียมกรดบอริก (Boric acid; H_3BO_3) เข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์

เตรียมโดยต้มน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ให้ร้อนแล้วใส่ผงกรดบอริก 4 กรัมลงไปต้มจนละลาย และทิ้งให้เย็นจากนั้นปรับปริมาตรจนครบ 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.6 การเตรียมสีย้อม

1. คริสตัลไวโอเลต (Crystal violet)

เตรียมสารละลาย A โดยชั่งคริสตัลไวโอเลต 2 กรัม ลงในบีกเกอร์เติมแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ละลายจนหมด และเตรียมสารละลาย B โดยชั่งแอมโมเนีย ออกซาเลต (Ammonium oxalate) 0.8 กรัม ลงในบีกเกอร์เติมน้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร เมื่อได้สารละลาย A และสารละลาย B แล้วนำมาผสมให้เข้ากันทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงก่อนนำมาใช้งาน

2. แกรมไอโอดีน (Gram's Iodine)

เตรียมโดยชั่งไอโอดีน 1 กรัมลงในบีกเกอร์ และชั่งโพแทสเซียมไอโอไดด์ (Potassium iodide) จำนวน 2 กรัม จากนั้นเติมน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เก็บในขวดสีชา

3. ซาฟรานิน (Safranin O)

เตรียมโดยชั่งซาฟรานิน 2.5 กรัม ลงในบีกเกอร์เติมแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้า จากนั้นเติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชา

4. เมทิลเรด (Methyl red) เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์

เตรียมโดยชั่งเมทิลเรด 0.2 กรัม ละลายโดยใช้แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เก็บในขวดสีชา

6. เมทิลีนบูล (Methylene Blue) เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์

เตรียมโดยชั่งเมทิลเรด 0.1 กรัม ละลายโดยใช้แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เก็บในขวดสีชา

ค.7 สารละลายอินดิเคเตอร์

1. 1,10 ฟีแนนโทรลีนเฟอร์รัสซัลเฟต (1, 10-Phenantroline ferrus sulfate)

เตรียมโดยชั่งเฟอรัสซัสเฟต 0.70 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เติมออโธฟีแนนโทรลีน (o-phenanthroline) 1.49 คนให้ละลายจากนั้นปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชา

2. การเตรียมฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein) เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์

เตรียมโดยชั่งฟีนอฟทาลีน 0.1 กรัม ละลายโดยใช้แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้า เก็บในขวดสีชา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

วิธีการวิเคราะห์

ง.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่น DPPH (Brand และคณะ, 1995)

อุปกรณ์

1. ไมโครปิเปต (Micropipette) ขนาด 100-1000 ไมโครลิตร
2. ไมโครเวลเพลท (Microwell plate)
3. เครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครเพลท (ELISA Reader) รุ่น Multiskan go
4. ขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร
5. บีกเกอร์ (Beaker)

สารเคมี

1. 2,2-ไดฟีนิล-1-ไพคริลไฮดราซิล (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; DPPH)เข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์
2. แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์
3. กรดแอสคอบิก (Ascorbic acid หรือ L-Ascorbic acid)

วิธีวิเคราะห์

1. เตรียมตัวอย่างโดยนำคีเฟอร์ไปเหวี่ยงแยกด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที และนำส่วนใสมาทำการวิเคราะห์
2. เจือจางตัวอย่างในอัตราส่วนที่เหมาะสม
3. ใช้ไมโครปิเปตดูดตัวอย่างปริมาตร 100 ไมโครลิตร จากนั้นใช้ไมโครปิเปตอันใหม่ดูดสารละลาย DPPH ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในไมโครเวลเพลท
4. ผสมสารละลายให้เข้ากัน และเก็บไว้ในที่มืดอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที
5. นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ทำตัวควบคุมโดยใช้เอทานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร แทนตัวอย่างคีเฟอร์
6. จากนั้นนำค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้มาคำนวณฤทธิ์ต้านอนุมูล คำนวณเปอร์เซ็นต์คาการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH (% inhibition DPPH) ตามสูตรดังนี้

$$\text{คาการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{Abs_{control} - Abs_{sample}}{Abs_{control}} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อ $Abs_{control}$ = ค่าดูดกลืนแสงของตัวควบคุม (control)

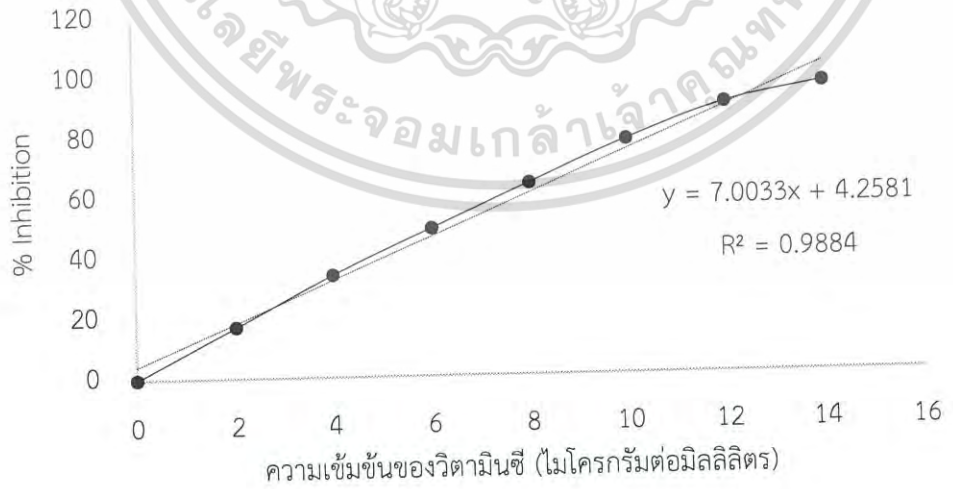
Abs_{sample} = ค่าดูดกลืนแสงของตัวอย่าง (sample)

7. ทำกราฟสารมาตรฐานวิตามินซีที่ความเข้มข้น 2, 4, 6, 8, 10, 12 และ14 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไปทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ DPPH จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร และนำมาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH

8. นำค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ มาสร้างกราฟมาตราฐานวิตามินซี (ดังภาพที่ จ.1) เพื่อคำนวณหาค่า IC_{50}

ตารางที่ ง.1 ค่าความเข้มข้นแสงของสารละลายมาตรฐานวิตามินซีที่การดูดกลืนแสงที่ 725 นาโนเมตร

ระดับความเข้มข้น (µg/ml)	ค่าการดูดกลืนแสง	%Inhibition
0	0	0.00
2	0.2476	17.06
4	0.1970	34.01
6	0.1523	48.98
8	0.1087	63.59
10	0.0670	77.56
12	0.0318	89.36
14	0.0129	95.69



ภาพที่ ง.1 กราฟมาตรฐานของวิตามินซี (ascorbic acid)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง.2 การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก (total phenolic compounds)

อุปกรณ์

1. ไมโครปิเปต (Micropipette) ขนาด 100-1000 ไมโครลิตร
2. ไมโครเวลเพลท (Microwell plate)
3. เครื่องอ่านปฏิกิริยาไมโครเพลท (ELISA Reader) รุ่น Multiskan go
4. ขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร
5. บีกเกอร์ (Beaker)

สารเคมี

1. สารละลาย Folin-Ciocalteu reagent (อัตราส่วนของ Folin-Ciocalteu reagent : น้ำกลั่น คือ 1:9)
2. โซเดียมไบคาร์บอเนต (Sodium Bicarbonate; Na_2HCO_3) เข้มข้น 6 เปอร์เซ็นต์
3. กรดแกลลิก (Gallic acid)

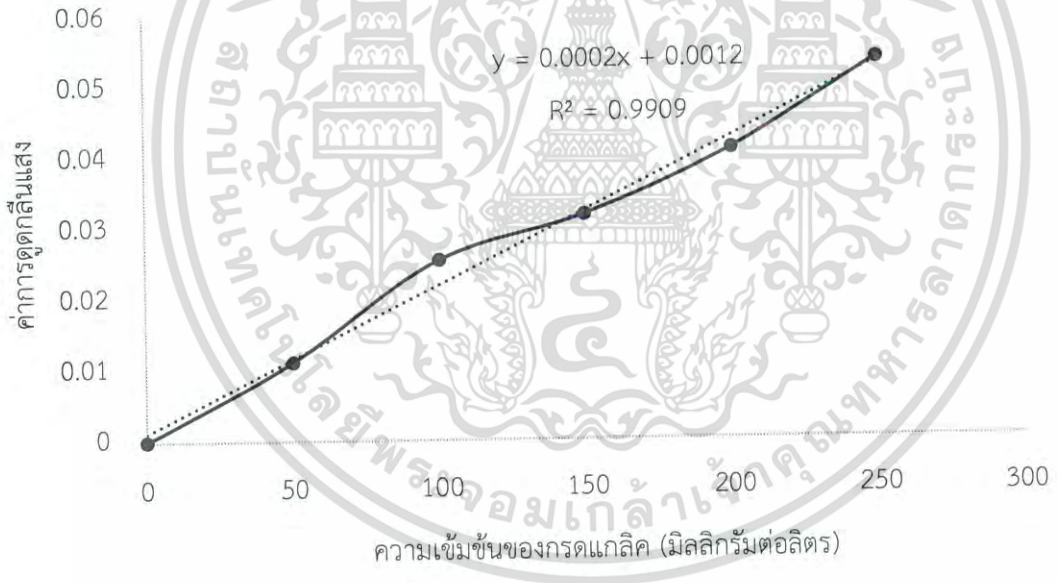
วิธีวิเคราะห์

1. เตรียมตัวอย่างคีเพอร์ไปเหวี่ยงแยกด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที และนำส่วนใสมาทำการวิเคราะห์
2. เจือจางตัวอย่างในอัตราส่วนที่เหมาะสม
3. ใส่ตัวอย่าง 10 ไมโครลิตร ลงในไมโครเวลเพลท
4. เติม Folin-Ciocalteu ปริมาตร 75 ไมโครลิตร
5. ผสมสารละลายให้เข้ากันโดยการเขย่าเป็นเวลา 30 วินาที จากนั้นเก็บในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที
6. เติมโซเดียมไบคาร์บอเนตปริมาตร 75 ไมโครลิตร ผสมสารละลายให้เข้ากัน
7. เก็บในที่มืดอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 90 นาที
8. นั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร และใช้น้ำกลั่นเป็นแบลงค์ คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากสมการ $y = 0.0002x + 0.0012$ ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ หรือค่า $R^2 = 0.9909$ (ตารางที่ จ.2) ซึ่งเป็นกราฟมาตรฐาน (calibration curve) ของ gallic acid ที่ความเข้มข้น 0, 50, 100, 150, 200 และ250 มิลลิกรัมต่อลิตร คำนวณสารประกอบฟีนอลิกในตัวอย่างในหน่วย mg/g extract as gallic acid equivalent

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.2 ค่าความเข้มข้นแสงของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิคที่การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร

ความเข้มข้นของกรดแกลลิค (มิลลิกรัมต่อลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 725 นาโนเมตร
0	0.0000
50	0.0111
100	0.0254
150	0.0317
200	0.0409
250	0.0534



ภาพที่ ง.2 กราฟมาตรฐานของกรดแกลลิค (gallic acid)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง.3 การวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ (Amerine and Ough, 1980)

อุปกรณ์

1. เครื่องกลั่นไนโตรเจน VELP รุ่น UDK129
2. หลอดกลั่น (Distillation tube)
3. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmayer flask)
4. ลูกแก้วกันเดือด (Boiling chip)
5. ปิเปต (Pipette)
6. ไมโครปิเปต (Micropipette) ขนาด 1000-10000 ไมโครลิตร
7. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Waterbath)
8. ตะแกรงเหล็ก (Test Tube Rack)
9. ที่คีบ (Tong)
10. ขาตั้งและแคลมป์ (Stand & Clamp)
11. บิวเรต (buret)
12. บีกเกอร์ (Beaker)

สารเคมี

1.โพแทสเซียมไดโครเมท (Potassium Dichromate; K_2CrO_4)

2. เฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต (Ammonium Ferrous Sulfate; $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$)

3. 1,10 ฟีแนนโทรลีนเฟอร์รัสซัลเฟต (1, 10-Phenantroline ferrus sulfate)

4. น้ำกลั่น (Distilled water)

วิธีวิเคราะห์

1. ใช้ไมโครปิเปตดูดตัวอย่างใส่หลอดกลั่น 1 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ใส่ลูกแก้วกันเดือด

2. ใส่สารละลายโพแทสเซียมไดโครเมท (Potassium chromate) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร

3. นำไปวางไว้ที่ปลายส่วนควบแน่นของเครื่องกลั่นไนโตรเจน โดยให้ปลายของส่วนควบแน่นจุ่มลงในสารละลาย กลั่นจนได้ปริมาตร 40-45 มิลลิลิตร (3นาที) จึงหยุดกลั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. นำฟลาสก์สารละลายที่ได้ไปแช่ไว้ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 60-65 องศาเซลซียส เป็นเวลา 25 นาที

5. นำไปไทเทรตกับสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียซัลเฟต (Ammonium Ferrous Sulfate) จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเขียวใส

6. เติมสารละลาย 1-10 ฟีแนนโทรลีนเฟอร์รัสซัลเฟต (1, 10-Phenantroline ferrus sulfate) ลงไปประมาณ 10 หยด แล้วไทเทรตต่อจนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล

7. ทำแบลงค์โดยใช้น้ำกลั่น 1 มิลลิลิตรแทนตัวอย่าง จดปริมาตรสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียซัลเฟสที่ไทเทรตเพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณแอลกอฮอล์

การคำนวณ ปริมาณแอลกอฮอล์ (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรต่อปริมาตร) = $25 - \frac{(25 \times V_A)}{V_B}$

เมื่อ V_A คือ ปริมาตรสายละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียซัลเฟตที่ใช้ไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

V_B คือ ปริมาตรสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียซัลเฟสที่ไทเทรตกับแบลงค์ (มิลลิลิตร)

ง.4 การวัดพีเอช (AOAC, 1990)

อุปกรณ์

1. เครื่องวัดพีเอช (pH Meter)

วิธีวิเคราะห์

วัดค่าพีเอชของตัวอย่างคีเฟอร์ที่อุณหภูมิห้อง โดยใช้เครื่องพีเอชมิเตอร์ที่มีการสอบเทียบวัดพีเอชโดยการจุ่มหัวโพรบลงในตัวอย่างคีเฟอร์ที่มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน

ง.5 การวิเคราะห์ปริมาณกรดในรูปกรดแลคติค (AOAC, 1990)

อุปกรณ์

1. ขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 1,000 มิลลิลิตร
2. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmayer flask)
3. บิวเรต (Buret)
4. ขาตั้งและแคลมป์ (Stand & Clamp)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารเคมี

1. น้ำกลั่นปลอดคาร์บอนไดออกไซด์
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH) 0.1 นอร์มัล
3. โพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต (Potassium hydrogen phthalate; $C_8H_5KO_4$)
4. ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein)

วิธีวิเคราะห์

1. นำตัวอย่าง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร
2. หยดอินดิเคเตอร์ฟีนอฟทาลีน 3 หยด
3. ไตเตรทตัวอย่างกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) 0.1 นอร์มัล สังเกตสีที่เปลี่ยนและบันทึกปริมาณของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้
4. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก

การคำนวณ ความเข้มข้นกรดแลคติก (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) =

$$\frac{\text{น้ำหนักโมเลกุลของกรดแลคติก} \times \text{ปริมาตร NaOH ที่ใช้ (มิลลิลิตร)} \times \text{ความเข้มข้นของ NaOH (N)} \times 100}{1{,}000 \times \text{ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ (มิลลิลิตร)}}$$

น้ำหนักโมเลกุลของกรดแลคติก ($C_3H_6O_3$) = 90.08

ง.6 การวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble solid; °Brix)

อุปกรณ์

1. เครื่องวัดความหวานแบบส่อง (Hand Refractometer)

วิธีวิเคราะห์

1. หยดน้ำกลั่นลงในเครื่องวัดความหวานแบบส่อง (Hand Refractometer) เพื่อปรับค่ามาตรฐาน
2. ทำการวัดตัวอย่างคีเฟอร์โดยหยดตัวอย่าง 1 หยด อ่านค่าที่ได้
3. ทำการทดลอง 3 ซ้ำแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง.7 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน โดยใช้วิธี Kjeldahl Method (AOAC, 2000)

อุปกรณ์

1. ขวดแก้ววิเคราะห์โปรตีน (Kjeldahl Apparatus)
2. เครื่องย่อยโปรตีน (Protein Digestion Unit)
3. เครื่องกลั่นไนโตรเจน VELP รุ่น UDK129
4. ขาตั้ง (Stand) และบิวเรต (Buret)
5. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร
6. กระบอกตวง (Cylinder) ขนาด 25 และ100 มิลลิลิตร
7. บีกเกอร์ (Beaker)
8. เม็ดกันเดือด (Glass bead)
9. น้ำกลั่น (Distilled water)
10. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (analytical balance)

สารเคมี

1. กรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid; H_2SO_4) เข้มข้น 98 เปอร์เซ็นต์
2. สารเร่งรวม (Mixed Catalyst) สารผสมระหว่างคอปเปอร์ซัลเฟต (Copper sulfate; $CuSO_4$) กับโพแทสเซียมซัลเฟต (Potassium sulfate; K_2SO_4) ในอัตราส่วน 1 : 10
3. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH) เข้มข้น 45 เปอร์เซ็นต์
4. กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid; HCl) เข้มข้น 0.1 นอร์มัล
5. กรดบอริก (Boric acid; H_3BO_3) เข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์
6. อินดิเคเตอร์รวม (Mixed Indicator) โดยใช้ เมทิลเรด (Methylred) เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ และเมทิลีน บูล (Methylene Blue) เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์

วิธีวิเคราะห์

ขั้นตอนการย่อย (digestion)

1. ชั่งตัวอย่าง 1 กรัมลงใน คเจลดาห์ล ฟลาส์ก (Kjeldalh flask)
2. เติมสารเร่งรวม (Catalyst mixture) 10 กรัม และเติมกรดซัลฟิวริก (Sulfuric acid) 25 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ใส่เม็ดกันเดือด (Glass bead) 3 เม็ด

4. นำไปย่อยบนเตาให้ความร้อนแบบหลุม (heating mantle) โดยค่อยเพิ่มอุณหภูมิช้าๆ จนกระทั่งหมดฟอง แล้วค่อยเพิ่มอุณหภูมิจนถึง 380 องศาเซลเซียส ย่อยจนกระทั่งสารละลายใส จากนั้นทิ้งให้เย็น

ขั้นตอนการกลั่น (distillation)

5. นำกรดบอริก (Boric acid) เข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตรใส่ในฟลาส์ก และหยดอินดิเคเตอร์รวม (Mixed Indicator) จากนั้นนำฟลาส์กไปวางไว้ที่ส่วนควบแน่นของเครื่องกลั่นให้ปลายหลอดจุ่มลงในฟลาส์ก

6. นำคเจลดาห์ล ฟลาส์ก ใส่เข้าเครื่องกลั่นเป็นเวลา 1 นาที โดยจะมีการเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) เข้มข้น 45 เปอร์เซ็นต์ และน้ำกลั่น (จนกระทั่งสารละลายมีสีดำ) อัตโนมัติในเครื่องกลั่น

ขั้นตอนการไทเทรต (titration)

7. นำตัวอย่างที่กลั่นเสร็จแล้วไปไทเทรตด้วยกรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid) เข้มข้น 0.1 นอร์มัล จนถึงจุดยุติ จดปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไว้เพื่อใช้ในการคำนวณ

การคำนวณ ปริมาณโปรตีน (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) $= \frac{1.4 \times (A-B) \times N \times F}{W}$

เมื่อ N คือ ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริก (นอร์มัล)

A คือ ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรตกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B คือ ปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ในการไทเทรตกับแบลงค์ (มิลลิลิตร)

F คือ ค่าแฟกเตอร์ของโปรตีน (6.25) W คือ น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

ง.8 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน โดยใช้วิธี Roese-Gottlieb (ISO 1211:2010 (E))

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (electronic analytical balance)
2. ตู้อบร้อน (Hot air oven)
3. เตาไฟฟ้า (hot plate)
4. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmayer flask) ขนาด 125 มิลลิลิตร
5. กรวยแยกสาร (Separtory funnel) ขนาด 500 มิลลิลิตร
6. โถดูดความชื้น (Desiccators)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารเคมี

1. แอมโมเนีย (Ammonia solution; NH_3)
2. ปิโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether)
3. เอทิลอีเธอร์ (Ethyl ether)
4. ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein)
5. แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์

วิธีวิเคราะห์

1. เตรียมขวดรูปชมพู่ (Erlenmayer flask) โดยอบขวดรูปชมพู่ในตู้อบร้อน (Hot air oven) ที่อุณหภูมิ 102 ± 2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-4 ชั่วโมง เอาออกจากตู้อบร้อนทิ้งให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้องในโถดูดความชื้น (Desiccators) จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนัก

2. ทำซ้ำข้อ 1. จนได้ผลต่างกันของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 0.001 – 0.003 กรัม

3. ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม ลงในกรวยแยกสาร (Separtory funnel)

4. เติมฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein) 3 หยด ผสมให้เข้ากัน เติมแอมโมเนีย (Ammonia solution) 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เติมแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

การสกัดไขมันครั้งที่ 1

5. เติมเอทิลอีเธอร์ (Ethyl ether) 25 มิลลิลิตร ปิดจุก เขย่าอย่างแรง 1 นาที

6. เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether) 25 มิลลิลิตร ปิดจุก เขย่าอย่างแรง 1 นาที

7. ตั้งทิ้งให้แยกชั้น 5 นาที โดยไขชั้นสารละลายอินทรีย์ใส่ขวดรูปชมพู่ จากนั้นนำไประเหยบนเครื่องกวนสารให้ความร้อน (hot plate)

การสกัดไขมันครั้งที่ 2

8. เติมแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในกรวยแยกสาร (Separtory funnel) ผสมให้เข้ากัน

9. เติมเอทิลอีเธอร์ (Ethyl ether) 15 มิลลิลิตร ปิดจุก เขย่าอย่างแรง 1 นาที

10. เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether) 15 มิลลิลิตร ปิดจุก เขย่าอย่างแรง 1 นาที

11. ตั้งทิ้งให้แยกชั้น 5 นาที โดยไขชั้นสารละลายอินทรีย์ใส่ขวดรูปชมพู่ใบเดิม จากนั้นนำไประเหยบนเครื่องกวนสารให้ความร้อน (hot plate)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสกัดไขมันครั้งที่ 3

12. เติมเอทิลอีเธอร์ (Ethyl ether) 15 มิลลิลิตร ปิดจุก เขย่าอย่างแรง 1 นาที

13. เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether) 15 มิลลิลิตร ปิดจุก เขย่าอย่างแรง 1 นาที

14. ตั้งทิ้งให้แยกชั้น 5 นาที โดยไขชั้นสารละลายอินทรีย์ใส่ขวดรูปชมพูใบเดิม จากนั้นนำไประเหยบนเครื่องกวนสารให้ความร้อน (hot plate)

15. อบขวดรูปชมพู่ที่มีไขมันในตู้อบที่อุณหภูมิ 102 ± 2 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่

16. วิเคราะห์ Blank โดยใช้น้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร แทนตัวอย่าง

การคำนวณ ปริมาณไขมัน (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) = $\frac{((W_2-W_1)-W_B) \times 100}{W}$

เมื่อ W คือ น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

W_1 คือ น้ำหนักของถ้วยระเหย (กรัม)

W_2 คือ น้ำหนักของถ้วยระเหยที่มีไขมันอยู่ (กรัม)

W_B คือ น้ำหนักของสารที่เหลืออยู่ที่ได้จากการวิเคราะห์แบลงค์ (กรัม)

ง.9 การวิเคราะห์วัตถุแห้ง (Dry matter) (AOAC, 2000)

อุปกรณ์

1. ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
2. โถดูดความชื้น (desiccators)
3. ภาชนะหาความชื้น (moisture can)
4. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (electronic analytical balance)

วิธีวิเคราะห์

1. อบภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบลมร้อน ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วนำออกจากตู้อบ ใส่ไว้ในโถดูดความชื้น ปล่อยทิ้งไว้จนกระทั่งอุณหภูมิของภาชนะลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง แล้วชั่งน้ำหนัก

2. ทำข้อ 1. ซ้ำ จนได้ผลต่างกันของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 0.001 – 0.003 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ชั่งตัวอย่างอาหารที่ต้องการหาน้ำหนักแห้งให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน 3 กรัม ใส่ลงในภาชนะหาความชื้นซึ่งทราบน้ำหนักแน่นอน

4. นำตัวอย่างไปอบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 - 4 ชั่วโมง นำออกจากตู้อบใส่ไว้ในโถดูดความชื้น และนำไปชั่งน้ำหนัก

5. ทำซ้ำข้อ 4. จนได้ผลต่างกันของน้ำหนักที่ชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 0.001 – 0.003 กรัม

6. นำค่านำหนักที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณวัตถุแห้ง

การคำนวณ ปริมาณวัตถุแห้ง (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) = $(W_1-W_2)\times100$

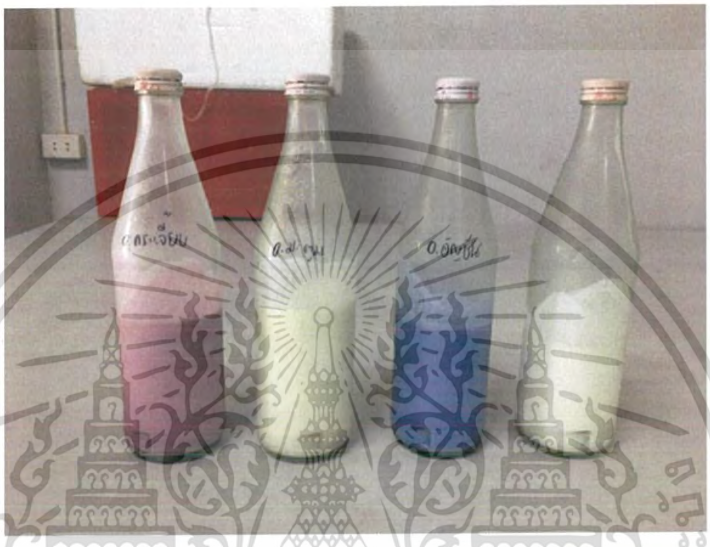
เมื่อ W_1 คือ น้ำหนักถ้วยอบ + น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

W_2 คือ น้ำหนักถ้วยอบ + น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

ลักษณะของคีเฟอร์สมุนไพรระหว่างการเก็บรักษา



ภาพที่ จ.1 คีเฟอร์กระเจี๊ยบ, คีเฟอร์มะตูม, คีเฟอร์อัญชัน และคีเฟอร์ที่ไม่ได้เติมสมุนไพร วันที่0 (เรียงลำดับจากซ้ายไปขวา)

ภาพที่ จ.2 คีเฟอร์กระเจี๊ยบ, คีเฟอร์มะตูม, คีเฟอร์อัญชัน คีเฟอร์ที่ไม่ได้เติมสมุนไพร และคีเฟอร์ซื้อ วันที่7 (เรียงลำดับจากซ้ายไปขวา)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ จ.3 คีเฟอร์ซื้อ, คีเฟอร์กระเจี๊ยบ, คีเฟอร์มะตูม, คีเฟอร์อัญชัน และคีเฟอร์ที่ไม่ได้เติมสมุนไพร วันที่14 (เรียงลำดับจากซ้ายไปขวา)

ภาพที่ จ.4 คีเฟอร์กระเจี๊ยบ, คีเฟอร์มะตูม, คีเฟอร์อัญชัน, คีเฟอร์ที่ไม่ได้เติมสมุนไพร และคีเฟอร์ซื้อ วันที่21 (เรียงลำดับจากซ้ายไปขวา)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ฉ

การทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยวิธีการให้คะแนนแบบ 9-point hedonic scale

ชื่อผู้ทดสอบ.....วันที่.....

<u>คำแนะนำ</u> ทดสอบตัวอย่างอาหารแล้วให้คะแนนความชอบแต่ละคุณลักษณะของคีเฟอร์สมุนไพร และคีเฟอร์ธรรมชาติตามคำอธิบายคะแนนต่อไปนี้และกรุณาบ้วนปากระหว่างตัวอย่าง

1 = ไม่ชอบมากที่สุด
2 = ไม่ชอบมาก
3 = ไม่ชอบปานกลาง
4 = ไม่ชอบเล็กน้อย
5 = เฉยๆ
6 = ชอบเล็กน้อย
7 = ชอบปานกลาง
8 = ชอบมาก
9 = ชอบมากที่สุด

รหัส (Code)	คุณลักษณะของอาหาร					
	ลักษณะปรากฏ (Appearance)	สี (Colour)	กลิ่น (Odor)	รสชาติ (Taste)	เนื้อสัมผัส (Texture)	ความชอบโดยรวม (Overall Acceptance)

<u>ข้อเสนอแนะ</u>

.....

.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	จริยา อาจคงหาญ
วัน เดือน ปี เกิด	11 พฤษภาคม 2540
ประวัติการศึกษา	ปี 2558 จบการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนอู่ทอง แผนการเรียนวิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์
	ปี 2558 เข้าศึกษาต่อระดับปริญญาตรีสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง คณะอุตสาหกรรมเกษตร
ประสบการณ์ทำงาน	ผู้ช่วยวิจัย สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน

ชื่อ-นามสกุล	อารียา ฤกษ์ศิริสุข
วัน เดือน ปี เกิด	30 กรกฎาคม 2540
ประวัติการศึกษา	ปี 2558 จบการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนเทพศิรินทร์ร่มเกล้า แผนการเรียนวิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์
	ปี 2558 เข้าศึกษาต่อระดับปริญญาตรีสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง คณะอุตสาหกรรมเกษตร
ประสบการณ์ทำงาน	ฝ่ายผลิต โครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้