ผลของแหล่งคาร์บอนจากสาหร่ายพวงองุ่นต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแลคติกในโยเกิร์ต

EFFECT OF CARBON SOURCE FROM SEA GRAPES TO GROWTH OF LACTIC ACID BACTERIA IN YOGHURT

วนิดา ธัญญานนท์
อารยา อาลี

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม
คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2562

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

ผลของแหล่งคาร์บอนจากสาหร่ายพวงองุ่นต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแลคติกในโยเกิร์ต

EFFECT OF CARBON SOURCE FROM SEA GRAPES TO GROWTH OF LACTIC ACID BACTERIA IN YOGHURT

จัดทำโดย

วนิดา ธัญญานนท์ รหัสนักศึกษา 58080132

อารยา อาลี รหัสนักศึกษา 58080145

ได้รับการพิจารณาจาก

..... 18 / กค / 2562

(ดร. อุมาพร ฉัตรศรีสุวรรณ)

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อปัญหาพิเศษ	ผลของแหล่งคาร์บอนจากสาหร่ายพวงองุ่นต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแลคติกในโยเกิร์ต
ชื่อนักศึกษา	วนิดา ธัญญานนท์ รหัสนักศึกษา 58080132
	อารยา อาลี รหัสนักศึกษา 58080145
หลักสูตร	วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม
พ.ศ.	2562
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร.อุมาพร ฉัตรศรีสุวรรณ

บทคัดย่อ

สาหร่ายพวงองุ่น เป็นส่วนประกอบในอาหารที่นิยม และยังถูกสกัดเป็นอาหารเสริม ซึ่งสาหร่ายมีประโยชน์ต่อสุขภาพ เช่น ช่วยลดความอ้วน หรือต้านมะเร็ง เป็นต้น ทั้งนี้สาหร่ายยังมีส่วนประกอบของสารโพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharides) และไฟเบอร์ซึ่งจะมีความต้านทานเอนไซม์ในกระเพาะของมนุษย์และยังถือว่าเป็นพรีไบโอติก (Prebiotic) ที่มนุษย์ย่อยไม่ได้มากไปกว่านั้นคือ พรีไบโอติกสามารถหมักได้โดยแบคทีเรียในลำไส้มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์ ดังนั้นสาหร่ายพวงองุ่นจึงถูกนำมาศึกษาความเป็นพรีไบโอติก จากผลการสกัดจากสาหร่ายพวงองุ่นด้วยน้ำที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง จากนั้นนำมาวิเคราะห์หาน้ำตาลทั้งหมด และน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่ามีความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมดของสาหร่ายพวงองุ่นต่อน้ำที่ 1:20 มากที่สุดคือ 27.68±0.17 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และน้ำตาลรีดิวซ์คือ 11.25±0.89 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จากนั้นนำสารสกัดไปทดสอบความเป็นพรีไบโอติกโดยนำสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นไปเป็นแหล่งคาร์บอนเลี้ยงเชื้อ *Streptococcus thermophillus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophillus*, *Bifidobacterium animalis* โดยนำสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นผสมกับอาหาร Basal mediam ที่ความเข้มข้นของสารสกัด 1.5%, 2.5% และ3.5% เมื่อศึกษาการเจริญของเชื้อ *L. acidophilus, L. casei, S. thermophillus* และ *B. animalis* ด้วยวิธีการวัดค่า pH และนับจำนวนเชื้อในหน่วย Log (CFU/mL) พบว่าแหล่งคาร์บอนสาหร่ายพวงองุ่นที่มีการเจริญของเชื้อดีที่สุดอยู่ที่ความเข้มข้น 3.5% ซึ่งมีเชื้อ *L. casei*, *L. acidophilus, S. thermophillus* และ *B. animalis* คือ 4.92±0.04, 4.15±0.21, 4.49±0.28 Log (CFU/mL) และมีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก จากนั้นนำสาหร่ายมาเพิ่มมูลค่าโดยนำมาทำเป็นโยเกิร์ตผสมสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น 5%, 10%, 15%, และ 20% แล้วตรวจอายุการเก็บรักษาทุกๆ 7 วันจนครบ 28 วันพบว่าที่ 5% มีการเจริญของเชื้อ *L. casei*, *L. acidophilus, S. thermophillus* และ *B. animalis* คือ 8.26±0.02, 8.03±0.03 และ 6.97±0.13 Log (CFU/mL) ที่ 10% มีการเจริญของเชื้อ *L. casei*, *L. acidophilus, S. thermophillus* และ *B. animalis* คือ 7.25±0.06, 7.45±0.02, 6.86±0.07 Log (CFU/mL) ที่ 15% มีการเจริญของเชื้อ *L. casei*, *L. acidophilus, S. thermophillus* และ *B. animalis* คือ 7.41±0.05, 7.93±0.03, 7.13±0.07 Log (CFU/mL) และที่ 20% ได้ทำการศึกษาการเจริญของเชื้อเพียง 7 วัน เนื่องจากโยเกิร์ตผสมสารสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาหร่ายพวงองุ่นมีลักษณะปรากฏที่แยกชั้นกันอย่างชัดเจนซึ่งการเจริญของเชื้อ *L. casei*, *L. acidophilus*, *S. thermophillus* และ *B. animalis* คือ 7.49±0.20, 8.90±0.06, 8.16±0.03 Log (CFU/mL)

คำสำคัญ: สาหร่ายพวงองุ่น พรีไบโอติก *Lactobacillus acidophilus* *Lactobacillus casei* *Streptococcus thermophillus* *Bifidobacterium animalis* *Escherichia coli*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special problem title	Effect of carbon source from sea grapes to growth of lactic Acid bacteria in yoghurt	
Student name	WANIDA THANYANON	Student ID 58080132
	ARAYA ALEE	Student ID 58080145
Program	Bachelor of Science in Industrial Fermentation Technology	
Year	2019	
Advisor	Dr. Umarphorn Chadseesuwan	

ABSTRACT

Sea grapes seaweed are popular for cooking and supplement. That sea grapes seaweed has benefit for health such as dieting, inhibit cancer and etc. The algae also contained components of polysaccharide and fiber those are prebiotic and also can resistant to enzyme of human stomach moreover prebiotic are feed of probiotic. So that sea grape seaweed are therefore being studied for prebiotic properties by extraction carbohydrate in sea grapes seaweed suitable condition are 75°C water for 1 hour, after that, brought the sea grapes seaweed extract to check the total of sugar and reducing sugar suitable condition sea grapes seaweed extract per water are 1:20 more than other condition total sugar content are 27.68±0.17 milligram/milliliter and reducing sugar are 11.25±0.89 milligram/milliliter. And then, bring sea grapes seaweed extract to check prebiotic properties. Use sea grapes seaweed extract as carbon source to feed lactic acid bacteria (*S. thermophillus, L. casei, L. acidophilus, B. animalis*) by mixed sea grapes seaweed extract and Basal medium at 1.5%, 2.5%, and 3.5% concentration. When studied the growth of lactic acid bacteria by pH rate and plate count in the unit Log (CFU/ml). the result shoe that the sea grapes seaweed extract at 3.5% which has the growth of lactic acid bacteria (*L. casei, L. acidophilus, S. thermophillus* and *B. animalis*) are 4.92±0.04, 4.15±0.21, 4.49±0.28 Log (CFU/mL) more than other and has prebiotic properties. Brought add value by mixed Sea grapes seaweed extract with yogurt at 5%, 10%, 15% and 20% concentration of sea grapes seaweed extract and check shelf life 7, 14, 21 and 28 days. the result shoe that sea grapes seaweed extract at 5% concentration has the growth of lactic acid bacteria are 8.26±0.02, 8.03±0.03 and 6.97±0.13 Log (CFU/mL), Sea grapes seaweed extract at 10% concentration has the growth of lactic acid bacteria are 7.45±0.02, 6.86±0.07 Log (CFU/mL), Sea grapes seaweed extract at 15% concentration has the growth of lactic acid bacteria are 7.41±0.05, 7.93±0.03, 7.13±0.07 Log (CFU/mL) and Sea grapes seaweed extract at 20% has

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

study the growth of lactic acid bacteria 7 days since yogurt add sea grapes seaweed has the phesical are distinct which the growth of lactic acid bacteria are 7.49±0.20, 8.90±0.06, 8.16±0.03 Log (CFU/mL)

Keywords: *Caulerpa lentillifera* Prebiotic *Lactobacillus acidophilus* *Lactobacillus casei* *Streptococcus thermophillus* *Bifidobacterium animalis* *Escherichia coli*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความช่วยเหลือ และสนับสนุนจากหลายฝ่าย ผู้วิจัยขอขอบพระคุณอาจารย์ที่ปรึกษา ดร.อุมาพร ฉัตรศรีสุวรรณ ที่คอยให้คำปรึกษา แนะนำ สนับสนุน รวมถึงให้กำลังใจในการทำงานวิจัยครั้งนี้ ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ภาวินี ดีแท้ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่คอยให้คำแนะนำ และสนับสนุน ผู้ทำวิจัยรู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาของอาจารย์ทั้งสองท่านเป็นอย่างยิ่ง

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อคุณแม่ ที่คอยให้กำลังใจ ช่วยเหลือ และสนับสนุน ขอบคุณเพื่อนๆทุกคนที่คอยช่วยเหลือ และให้กำลังใจ ขอบคุณนางสาววนิดา ธัญญานนท์ นางสาวอารยา อาลี ที่ร่วมกันทำงานอดทน เป็นกำลังใจให้กัน และพยายามทำวิจัยครั้งนี้จนสำเร็จไปได้ด้วยดี ขอขอบพระคุณทุกคนที่มีส่วนร่วมให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี

คณะผู้ทำวิจัยหวังว่างานวิจัยฉบับนี้จะมีประโยชน์ต่อผู้อื่นไม่มากก็น้อย สำหรับข้อบกพร่องต่างๆ ที่อาจเกิดขึ้นนั้น ผู้วิจัยน้อมรับผิดเพียงผู้เดียว และยินดีรับฟังคำแนะนำจากทุกท่านที่ได้ศึกษา เพื่อเป็นประโยชน์ในการพัฒนางานวิจัยต่อไป

วนิดา ธัญญานนท์
อารยา อาลี
20 พฤษภาคม 2562

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... VI- VI

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... VI- VI

กิตติกรรมประกาศ..... VI

สารบัญ..... VI- VI

สารบัญตาราง..... VI

สารบัญภาพ..... VI

บทที่ 1 บทนำ..... 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา..... 2

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 2

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 3

2.1 สาหร่าย..... 3

2.2 พรีไบโอติก..... 4-5

2.3 โพรไบโอติก..... 5

2.4 เชื้อจุลินทรีย์..... 5-7

2.5 โยเกิร์ต..... 7-8

2.6 งานวิจัยที่เกียวข้อง..... 8-9

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง..... 10

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี..... 10

3.2 อุปกรณ์..... 11-12

3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง..... 12-14

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์..... 15

4.1 การศึกษาการสกัดน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และ DP ของสาหร่ายพวงองุ่น..... 15-16

4.2 การศึกษาการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ผงและเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคจากแหล่งคาร์บอนที่ต่างกัน..... 16-21

4.3 ศึกษาค่า Prebiotic activity score ของสาหร่ายพวงองุ่น..... 21-22

4.4 ทดสอบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในโยเกิร์ตที่มีแหล่งคาร์บอนจากสาหร่ายพวงองุ่น 23-27

4.5 ทดสอบอายุการเก็บรักษาของโยเกิร์ตผสมสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น..... 28-30

บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ..... 31

บรรณานุกรม..... 32-33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

ภาคผนวก 34

ภาคผนวก ก สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ 35-37

ภาคผนวก ข วิธีการเตรียมสารเคมี 38

ภาคผนวก ค วิธีการวิเคราะห์ 39-40

ภาคผนวก ง วิธีการคำนวณ 41-46

ประวัติผู้เขียน 47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

4.1 ควาเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และ DP ของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นที่อัตรส่วนความเข้มข้นต่างกัน..... 15

4.2 การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *S. thermophillus, L. casei, L. acidophillus, B. Animalis* โดยแหล่งคาร์บอนกลูโคส..... 18

4.3 การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *S. thermophillus, L. casei, L. acidophillus, B. Animalis* โดยแหล่งคาร์บอนฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์..... 19

4.4 การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *S. thermophillus, L. casei, L. acidophillus, B. Animalis* โดยแหล่งคาร์บอนสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นที่ความเข้มข้นต่างกัน..... 20

4.5 การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* โดยแหล่งคาร์บอนฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์..... 21

4.6 ค่า Prebiotic activity score ที่ได้จากสาหร่ายพวงองุ่น (*L. casei, L. acidophilus*)..... 22

4.7 ค่า Prebiotic activity score ที่ได้จากสาหร่ายพวงองุ่น (*B. animalis*)..... 22

4.8 ค่า Prebiotic activity score ที่ได้จากฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (*L. casei, L. acidophilus*) 22

4.9 ค่า Prebiotic activity score ที่ได้จากฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (*B. animalis*)..... 22

4.10 การเจริญของเชื้อ *L. casei, L. acidophilus* ของโยเกิร์ตน้ำเชื่อมสารสกัดจากสาหร่ายพวงองุ่น 1%..... 24

4.11 การเจริญของเชื้อ *L. casei, L. acidophilus, S. thermophillus* และ *B. animalis* ของโยเกิร์ตน้ำเชื่อมสารสกัดจากสาหร่ายพวงองุ่น 10%..... 25

4.12 การเจริญของเชื้อ *L. casei, L. acidophilus, S. thermophillus* และ *B. animalis* ของโยเกิร์ตสารสกัดจากสาหร่ายพวงองุ่น 5%..... 27

4.13 ค่าpHของโยเกิร์ตผสมสารสกัดจากสาหร่าย..... 28

4.14 การเจริญของเชื้อ *L. casei, L. acidophilus* ของโยเกิร์ตผสมสารสกัดจากสาหร่าย..... 29

4.15 การเจริญของเชื้อ *S. thermophillus* ของโยเกิร์ตผสมสารสกัดจากสาหร่าย..... 29

4.16 การเจริญของเชื้อ *B. animalis* ของโยเกิร์ตผสมสารสกัดจากสาหร่าย..... 30

ง1.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของสาหร่ายพวงองุ่น..... 41

ง1.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของสาหร่ายพวงองุ่น..... 42

ง1.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของสาหร่ายพวงองุ่นลวก..... 42

ง1.4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของสาหร่ายพวงองุ่นด้วยวิธีล้างกรด..... 43

ง1.5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของสาหร่ายพวงองุ่นด้วยวิธีล้างกรด..... 43

ง1.6 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของสาหร่ายพวงองุ่นด้วยวิธีลวก..... 44

ง1.7 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของสาหร่ายพวงองุ่นด้วยวิธีล้างกรด..... 44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

2.1 สาหร่ายพวงองุ่น..... 3

2.2 *Lactobacillus*..... 5

2.3 *S. thermophillus*..... 6

2.4 *Bifidobacterium*..... 6

2.5 *Escherichia coli*..... 7

2.6 โยเกิร์ต..... 8

4.1 แผนภูมิแท่งแสดงความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และ DP ของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นที่อัตราส่วนความเข้มข้นต่างกัน..... 16

4.2 แผนภูมิแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่าจำนวนเซลล์ Log (CFU/mL) และเวลาของแหล่งคาร์บอนกลูโคส..... 18

4.3 แผนภูมิแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ Log (CFU/mL) และเวลาของแหล่งคาร์บอนฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์..... 19

4.4 แผนภูมิแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ Log (CFU/mL) และเวลาของแหล่งคาร์บอนสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น..... 20

4.5 แผนภูมิแท่งแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ Log (CFU/mL) ของ *E.coli* และเวลาของแหล่งคาร์บอนฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์..... 21

4.6 แผนภูมิแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ Log (CFU/mL) และเวลาโยเกิร์ตน้ำเชื่อมสารสกัดจากสาหร่ายพวงองุ่น 1%..... 24

4.7 แผนภูมิแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ Log (CFU/mL) และเวลาโยเกิร์ตน้ำเชื่อมสารสกัดจากสาหร่ายพวงองุ่น 10%..... 26

4.8 แผนภูมิแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ Log (CFU/mL) และเวลาโยเกิร์ตสารสกัดจากสาหร่ายพวงองุ่น 5%..... 27

4.9 แผนภูมิแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ Log (CFU/mL) และเวลาโยเกิร์ตสารสกัดจากสาหร่ายพวงองุ่นที่ความเข้มข้นต่างกัน..... 30

ค.1 กราฟมาตรฐานน้ำตาลทั้งหมดโดยวิธีฟีนอล-กรดซัลฟิวริก..... 39

ค2. กราฟมาตรฐาน DNS..... 40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สาหร่ายเป็นส่วนประกอบในอาหารยอดนิยมอย่างเช่น ซูชิ ต้มจืด ขนมกินเล่น และยังถูกสกัดเป็นอาหารเสริม ซึ่งสาหร่ายมีประโยชน์ต่อสุขภาพเช่น ช่วยลดความอ้วน หรือต้านมะเร็ง เป็นต้น ทั้งนี้สาหร่ายยังมีส่วนประกอบของสารโพลีแซคคาไรด์ และไฟเบอร์ซึ่งมีความต้านทานเอนไซม์ในกระเพาะของมนุษย์และยังถือว่าเป็นพรีไบโอติก ที่มนุษย์ย่อยไม่ได้ นอกจากนี้พรีไบโอติกสามารถหมักด้วยแบคทีเรียในลำไส้ ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์ (O'Sullivan และคณะ 2553) ไม่นานมานี้มีการศึกษาเกี่ยวกับสารสกัดสาหร่ายว่าโพลีแซคคาไรด์ และโอลิโกแซคคาไรด์ เช่น น้ำตาลราฟฟิโนส โดยพบว่าโพรไบโอติกในลำไส้รวมไปถึงการหมักสามารถย่อยดูดซึม ยับยั้งการก่อให้เกิดโรคและหลีกเหลี่ยงการเกิดโรคลำไส้อักเสบ นอกจากนี้มีสารโพลีฟีนอลในสาหร่าย โดยส่วนมากดูดซึมได้ยากรวมไปถึงมีสารฟีนอลลิกมีฤทธิ์ทางชีวภาพ (Cardona และคณะ 2556) นอกจากนี้สาหร่ายยังช่วยให้รู้สึกอิ่มท้อง ช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด และกระตุ้นร่างกายให้ไวต่ออินซูลิน ซึ่งอาจเป็นประโยชน์ต่อการรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวาน สาหร่ายยังอุดมไปด้วยกากใยอาหาร สารอาหารและแร่ธาตุต่างๆมากมาย สาหร่ายดีต่อสุขภาพ และป้องกันโรคต่างๆได้ เช่น โรคมะเร็งลำไส้ โดยมีงานวิจัยที่ศึกษาสารสกัดต่างๆ จากสาหร่ายทะเลหลากหลายชนิดพบว่าสารเหล่านั้นอาจทำลายและชะลอการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งได้ โดยเฉพาะสารฟูคอยแดนที่สกัดจากสาหร่ายทะเลสีน้ำตาลที่อาจมีฤทธิ์ต้านมะเร็งลำไส้ได้

ผลิตภัณฑ์นมมีมากมายซึ่งโยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์หนึ่งที่ผู้คนนิยมบริโภค เนื่องจากมีประโยชน์ต่อร่างกาย โยเกิร์ต เป็นผลิตภัณฑ์นม จัดอยู่ในกลุ่มนม หมายถึง นมเปรี้ยวที่ได้จากการหมัก ด้วยแบคทีเรียกลุ่มที่ผลิตกรดแลคติกได้แก่ *S. thermophilus* และ *L. subsp. bulgaricus* (พิมพ์เพ็ญ 2553) ซึ่งแบคทีเรียแลคติกนี้จะทำให้เกิดตะกอนเป็นเคิร์ด และมีรสเปรี้ยวโยเกิร์ตจึงเหมาะสำหรับผู้ที่มีอาการแพ้น้ำตาลแลคโตสในนมเนื่องจากร่างกายไม่สามารถย่อยแลคโตสได้เกิดจากสภาวะการขาดเอนไซม์แลคเตส สามารถบริโภคโยเกิร์ตได้โดยไม่เกิดอาการท้องเสียท้องร่วง และยังช่วยให้ลำไส้เกิดการเคลื่อนตัวช้าลง ทำให้การดูดซึมอาหารต่างๆดีขึ้น ช่วยลดความเสี่ยงจากการเป็นโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่

จากงานวิจัยต่างๆพบว่าสาหร่ายจุลภาค และสาร่ายมหาภาคเป็นสาหร่ายที่มีคุณค่าทางอาหารสูง โดยสาหร่ายมีสารกลุ่มโพลีแซคคาไรด์ซึ่งจัดเป็นองค์ประกอบหลักที่พบได้มากในผนังเซลล์ของสาหร่าย และสามารถสกัดออกมาได้โดยมีคุณสมบัติในการเป็นพรีไบโอติกที่เป็นอาหารของจุลินทรีย์ที่เป็นโพรไบโอติก เพื่อให้สาหร่ายของไทยเป็นที่ยอมรับมากขึ้น และมีการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมมากขึ้น จึงได้มีการศึกษาการเจริญของเชื้อโพรไบโอติกและคุณสมบัติความเป็นพรีไบโอติกของสาหร่ายในประเทศไทย โดยให้เชื้อโพรไบโอติกใช้แหล่งอาหารจากสาหร่าย เพื่อดูอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อโพรไบโอติกจากแหล่งคาร์บอนจากสาหร่ายหลากหลายสายพันธุ์ รวมถึงคุณสบัติความเป็นพรีไบโอติกของสาหร่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาผลของแหล่งคาร์บอนจากสาหร่ายพวงองุ่นที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของโพรไบโอติก

1.2.2 เพื่อศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อผงทางการค้า (*L. acidophilus, L. casei, S. thermophillus, B. animalis)* และคุณสมบัติความเป็นพรีไบโอติกของสาหร่ายพวงองุ่นเมื่อเทียบกับเชื้อก่อโรค (*E. coli*)

1.2.3 เพื่อศึกษาการเจริญของเชื้อผง (*L. acidophilus, L. casei, S. thermophillus, B. animalis)* ในโยเกิร์ตที่มีสารสกัดของสาหร่ายพวงองุ่นที่ความเข้มข้นต่างกัน และอายุการเก็บรักษาของโยเกิร์ตที่มีสารสกัดจากสาหร่ายพวงองุ่น

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 ทราบความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมที่สุดในการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

1.3.2 สามารถพัฒนาผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ใช้สาหร่ายเป็นแหล่งคาร์บอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สาหร่าย

สาหร่าย (Privalle และ Laura, 2555) เป็นกลุ่มของสิ่งมีชีวิตที่พบแพร่กระจายอยู่ทั่วไปตามธรรมชาติ สามรถดำรงชีวิตอยู่ได้หลายรูปแบบ ไม่ว่าจะเป็นแพลงก์ตอน ล่องลอยอยู่ในมวลน้ำเรียกว่า แพลงก์ตอนพืช และดำรงชีวิตแบบยึดติดกับพื้นทะเลหรือวัสดุอื่น ๆ เช่น กลุ่มของสาหร่ายหลายเซลล์ที่เรียกรวมว่า สาหร่ายทะเล นอกจากนี้ยังสามารถพบสาหร่ายในสภาพแวดล้อมอื่นๆ อีก เช่น ในดิน หิมะ น้ำพุร้อน และสาหร่ายที่ใช้ชีวิตอยู่ร่วมกับสิ่งมีชีวิตอื่น ๆ ในลักษณะความสัมพันธ์แบบพึ่งพาได้แก่ ไลเคน ซึ่งเป็นการดำรงชีวิตอยู่ร่วมกันระหว่างสาหร่ายกับรา และสาหร่าย Zooxanthellae ที่อาศัยอยู่ในเนื้อเยื่อของปะการังและหอยมือเสือ เป็นต้น

2.1.2 สาหร่ายพวงองุ่น

สาหร่ายพวงองุ่น เป็นสาหร่ายทะเลสีเขียว (green algae) ชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Caulerpa lentillifera J. Agardh* อยู่ในสกุล Caulerpaceae หรือมีชื่อสามัญว่า องุ่นทะเล (Sea Grapes) หรือไข่ปลาคาร์เวียร์สีเขียว (Green Caviar) เนื่องจากมีเม็ดกลม และเป็นช่อคล้ายพวงองุ่น หรือคล้ายไข่ปลาคาร์เวียร์ นอกจากนี้ยังมีชื่อเรียกว่า ลาโตะ ชาวญี่ปุ่นเรียกสาหร่ายชนิดนี้ว่า อุมิบู เป็นสาหร่ายที่มีการแพร่กระจายอยู่ในเขตร้อน และเขตร้อนชื้น พบได้ในประเทศอินโดนีเซีย ฟิลิปปินส์ ไทย เวียดนาม และญี่ปุ่น นอกจากนี้ยังแพร่กระจายไปเขตร้อนได้แก่ เคนยา มาดากัสการ์ มอริเชียส โมแซมบิก โซมาเลีย อาฟ-ริกาใต้ แทนซาเนีย และปาปัวนิวกินี ซึ่งเจริญเติบโตได้ดีในน้ำที่มีสารอาหารบริบูรณ์ และแสงแดด มีคุณค่าทางอาหารสูง มีการเลี้ยงจากธรรมชาติ และการเลี้ยงในบ่อดิน โดยการเลี้ยงแบบเชิงพาณิชย์ในจังหวัดโอกินา เริ่มต้นในปี 1986 (Trono and Toma, 1993)

สาหร่ายพวงองุ่นเป็นหนึ่งในสาหร่ายที่รับประทานได้ของประเทศไทย (กาญจนภาชน์, 1978) สาหร่ายชนิดนี้อุดมด้วยแร่ธาตุ และวิตามินหลายชนิด ทั้งกรดไขมัน Polyunsaturated fatty acids (PUFA) วิตามินบี 2 วิตามินอี และเกลือแร่ได้แก่ I, P, Zn, Ca, Mg, Se, Fe, Mn, Co ชาวโอกินาว่าเชื่อว่าการรับประทานสาหร่ายทะเล ช่วยให้หายป่วยได้เร็วขึ้น เนื่องจากมีวิตามินเอ วิตามินซี และเกลือแร่สูง เป็นแหล่งสำคัญของแมกนีเซียม ที่ช่วยลดความดันโลหิต และป้องกันโรคหัวใจล้มเหลว ช่วยต้านมะเร็ง ไอโอดีนสูงจึงช่วยผู้ป่วยที่เป็นโรค ไทรอยด์

ภาพที่ 2.1 สาหร่ายพวงองุ่น

ที่มา: ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 พรีไบโอติก

พิมเพ็ญ และนิธิยา (2553) ได้ให้คำจำกัดความของพรีไบโอติก (prepiotic) คืออาหารที่ร่างกายมนุษย์ไม่สามารถย่อย และไม่ถูกดูดซึมได้ในระบบทางเดินอาหาร ทั้งกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กแต่จะถูกย่อยด้วยแบคทีเรียบริเวณในลำไส้ใหญ่ โดยจะกระตุ้นการทำงานและส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติก (probiotic) มีประโยชน์ต่อสุขภาพ จัดเป็นอาหารในกลุ่มเพื่อสุขภาพ

2.2.1 อาหารที่มีพรีไบโอติก

น้ำตาลแอลกอฮอล์ (Sugar alcohol) หรือ โพลีออล (Polyols) เป็นสารให้ความหวาน (Sweetener) โดยมีความหวานน้อยกว่าน้ำตาลทรายประมาณ 3 ใน 4 หรือครึ่งหนึ่ง และยังดูดซึมได้ช้าในลำไส้เล็กเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำตาล มีค่าดัชนีน้ำตาลต่ำ จึงทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆโอลิโกแซคคาไรด์ (Oligosaccharide) เป็นคาร์โบไฮเดรตสายสั้นประกอบด้วยน้ำตาลตั้งแต่ 3 ถึง 10 หน่วย ได้แก่ราฟฟิโนส (Raffinose) สตาร์ชคีโอส (Starchyose) ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS) แลคตูโลสกาแลคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (GOS) แป้งที่ย่อยไม่ได้ไม่ใช่โพลีแซคคาไรด์จะไม่ถูกดูดซับในลำไส้เล็กประกอบด้วย อะไมโลส (Amylose) ประมาณร้อยละ 20-25 โมเลกุลโพลิแซคคาไรด์ที่ไม่ใช่แป้ง (Non-starch polysaccharides, NSP) เป็นสารที่ได้รับจากพืชเช่น เพคติน เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส กัวร์กัม กัมอาราบิค เบต้ากลูแคนอินูลิน เป็นสารโพลีแซคคาไรด์ ที่พืชเก็บสะสมไว้เป็นอาหาร พบได้ในพืชมากกว่า 36,000 ชนิด มิวซินไกลโคโปรตีน (Mucinglycoprotein) ถูกสร้างโดยเซลล์ที่อยู่ในเยื่อบุผิวลำไส้และเป็นสารตั้งต้นหลักสำหรับการหมักในลำไส้มิวโคโพลีแซคคาไรด์ (Mucopolysaccharide) ซึ่งสารเหล่านี้เป็นสารที่มีไว้สำหรับจุลินทรีย์ในลำไส้โปรตีน และ เปปไทด์ สารเหล่านี้สร้างขึ้นในอาหารสร้างโดยการหลั่งจากตับอ่อนหรือสร้างโดยแบคทีเรียแต่จะมีปริมาณน้อยกว่าพวกคาร์โบไฮเดรต

2.2.2 ประโยชน์ของพรีไบโอติก

สารในกลุ่มพรีไบโอติกจัดเป็นอาหารเพื่อสุขภาพ เพราะมีประโยชน์ต่อสุขภาพโดยจะกระตุ้นการทำงานและส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โพรไบโอติก เช่น แบคทีเรียที่เป็นแบคทีเรียแลคติก ได้แก่ *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* พรีไบโอติกและโพรไบโอติกทำงานร่วมกัน จะเรียกว่า ซินไบโอติก เป็นผลดีต่อร่างกายมาก ช่วยให้ผู้บริโภคมีสุขภาพดีกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์ภายในทางเดินอาหารให้เหมาะสม ทำให้โพรไบโอติกมีการย่อยสลายในระบบนิเวศน์จุลินทรีย์ที่มีการแข่งขันกัน ผลที่ตามมา คือกรดแลคทิกที่จุลินทรีย์สร้างจะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อโรค และสร้างสารพิษเช่น *Clostridium perfringens*, *Salmonella* และช่วยป้องกันและลดอาการของโรคติดเชื้อในทางเดินอาหารช่วยลดระดับของคอเลสเตอรอล ฟอสโฟลิพิด และไตรกลีเซอไรด์ในเลือด โดย *L. acidophilus* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่สร้างกรด แลคติกที่อยู่ในลำไส้จะช่วยย่อยสลายคอเลสเตอรอล และยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลผ่านผนังลำไส้ ช่วยการดูดซึมอาหารในลำไส้ให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น ลดอาการท้องผูกได้ เนื่องจากกรดอินทรีย์ที่แบคทีเรีย *Bifidobacterium* ผลิตขึ้นจะกระตุ้นการบีบตัวของลำไส้ และช่วยเพิ่มความชื้นของอุจจาระ ทำให้สามารถขับถ่ายได้ดีขึ้น ช่วยเพิ่มการดูดซึมแคลเซียมในระบบย่อยอาหาร สามารถผลิตวิตามินเช่น วิตามิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บี1, วิตามินบี2, วิตามินบี6, วิตามินบี12, กรดไนโคทินิกและกรดโฟลิก ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการรักษาภาวะภูมิแพ้เสริมสร้างการพัฒนาระบบภูมิคุ้มกันได้

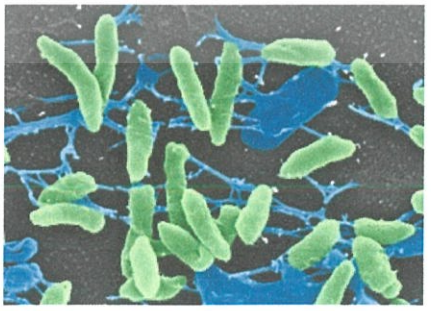
2.3 โพรไบโอติก

พิมเพ็ญ และนิธิยา (2553) ได้ให้คำจำกัดความของโพรไบโอติก หมายถึงแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ของมนุษย์ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีประโยชน์ต่อร่างกายได้แก่ แบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติก เช่น *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* ซึ่งพบในผลิตภัณฑ์อาหารหมักเช่น นมเปรี้ยว แหนม กิมจิ จะช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อโรคช่วยย่อยอาหารที่มนุษย์ย่อยไม่ได้หรือย่อยได้ไม่หมด ช่วยในการดูดซึมของสารอาหาร และสร้างวิตามินที่เป็นประโยชน์กับร่างกาย อาหารที่แบคทีเรียกลุ่มโพรไบโอติกนำไปใช้ได้เรียกว่า พรีไบโอติก เช่น ใยอาหารประเภทกากใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ เช่น เพกทิน กัมและโอลิโกแซคคาไรด์

2.4 เชื้อจุลินทรีย์

2.4.1 เชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* (พิมเพ็ญ, 2553)

Lactobacillus เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปร่างเป็นท่อนเดี่ยว หรือต่อกันเป็นสายสั้นไม่สร้างสปอร์ สามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนชอบเจริญที่อุณหภูมิปานกลางบางชนิดชอบเจริญที่อุณหภูมิต่ำ ไม่เคลื่อนที่จัดอยู่ในกลุ่ม lactic acid bacteria ที่สามารถหมักน้ำตาลกลูโคส น้ำตาลแล็กโทสให้เกิดกรดแล็กทิก มักพบร่วมกับ *Leuconostoc* โดย *Lactobacillus* เป็นแบคทีเรียที่สำคัญในอาหารมีบทบาทที่สำคัญคือถนอมอาหารด้วยการหมักใช้เพื่อการผลิตอาหารหมักหลายประเภท ได้แก่ ผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากน้ำนม เช่น โยเกิร์ต น้ำนมเปรี้ยว ผลิตภัณฑ์หมักจากเนื้อสัตว์ ผลิตภัณฑ์หมักจากผักผลไม้ และ *Lactobacillus* ที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารคือ *L. bulgaricus*, *L. acidophilus* ใช้ในการหมักโยเกิร์ต และ *L. casei* ใช้ในการผลิตยาคูลท์โดยเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 40 - 45 องศาเซลเซียส สามารถผลิตแอซีทาลดีไฮด์ซึ่งเป็นสารให้กลิ่นรสของน้ำนมหมัก และสร้างเอนไซม์โปรติเอส ย่อยโปรตีนในน้ำนมให้ได้กรดอะมิโน โดยเฉพาะฮิสทิดีนซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่กระตุ้นการเจริญของ *S. thermophilus*

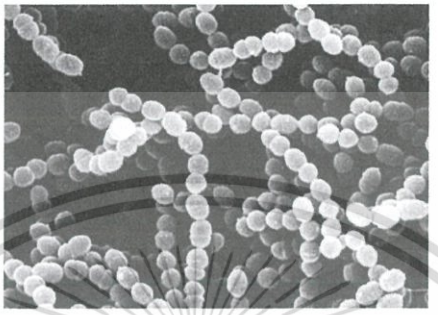


ภาพที่ 2.2 *Lactobacillus*
ที่มา: Wikipedia, 2010

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 เชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus thermophilus* (พิมเพ็ญ, 2553)

S. thermophilus เป็นแบคทีเรียในสกุล Streptococcus ที่สร้างกรดแลคติก สามารถเจริญในสภาพที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำ หรือไม่มีออกซิเจนเป็นแบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิสูง (thermophilic bacteria) ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากน้ำนม จะเปลี่ยนน้ำตาลแลคโทส น้ำนมเป็นกรดแลกทิก และสร้างกรดฟอร์มิก ส่งเสริมการเจริญของ *Lactobacillus* sp.



ภาพที่ 2.3 *S. thermophillus*

ที่มา: Wikipedia, 2008

2.4.3 เชื้อแบคทีเรีย *Bifidobacterium* (พิมเพ็ญ, 2553)

โพรไบโอติกแบคทีเรีย คือแบคทีเรียที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพโดยช่วยทำให้เกิดภาวะสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารเช่น *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* ซึ่ง *Bifidobacterium* เป็นโพรไบโอติกและเป็นแบคทีเรียที่ไม่ก่อโรคที่อยู่ตามธรรมชาติภายในทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์ โดยมีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก *Bifidobacterium* ถือเป็นแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์เนื่องจากมีภูมิต้านทานเฉพาะกระบวนการส่งเสริมสุขภาพภายในโฮสต์ โพรไบโอติกที่พบมากที่สุดภายในร่างกายของสัตว์ที่เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมรวมทั้งมนุษย์พบได้ในลำไส้ และบริเวณช่องคลอดของผู้หญิง

ภาพที่ 2.4 *Bifidobacterium*

ที่มา: Wikipedia, 2010

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.4 เชื้อก่อโรค *Escherichia coli*

พิมเพ็ญ และนิธิยา (2553) เขียนย่อว่า *E. coli* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria) รูปร่างเป็นแท่ง (rod shape) ไม่สร้างสปอร์เป็น facultative anaerobe เจริญได้ทั้งที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน อยู่ในวงศ์ Enterobacteriaceae และเป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ในกลุ่มโคลิฟอร์ม (coliform) ประเภท fecal coliform ซึ่งเป็นโคลิฟอร์มที่พบในอุจจาระของมนุษย์และสัตว์เลือดอุ่น จึงใช้เป็นดัชนีบ่งชี้สุขลักษณะของอาหารและน้ำ *E.coli* ส่วนใหญ่ไม่ใช่จุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen) แต่บางชนิดที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ (food poisoning)

หรือเรียกว่า Enterovirulent *Escherichia coli* group (EEC group) มี 4 ประเภทคือ

- Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC)
- Enteropathogenic *E. coli* (EPEC)
- Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC) หรือ *E. coli* 0157:H7
- Enteroinvasive *E. coli* (EIEC)

ภาพที่ 2.5 *Escherichia coli*

ที่มา: คณาจารย์คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล (2015)

2.5 โยเกิร์ต

พิมเพ็ญ และนิธิยา (2553) ได้ให้คำกำจัดความของโยเกิร์ตว่าจัดเป็นนมเปรี้ยว (Fermented milk) ชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์นมที่ได้จากน้ำนมสัตว์ที่นำมาบริโภค หรือน้ำนมที่ผ่านกระบวนการทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคแล้ว โดยหมักด้วยแบคทีเรียแลคติกได้แก่ *S. thermophilus* และ *L.subsp. bulgaricus* จึงทำให้ผลิตภัณฑ์มีรสเปรี้ยว ซึ่งมีค่าความเป็นกรดต่ำจึงส่งผลให้โปรตีนเสียสภาพและจับตัวกันตกตะกอนเป็นเคิร์ดโยเกิร์ตจึงเหมาะสำหรับผู้ที่แพ้น้ำตาลแลคโตสในนมเนื่องจากร่างกายไม่สามารถย่อยแลคโตสได้ เพราะขาดเอนไซม์แลคเตสผู้ที่แพ้น้ำตาลแลคโตสจึงสามารถบริโภคโยเกิร์ตได้โดยไม่เกิดอาการท้องเสียท้องร่วง ช่วยให้ดูดซึมอาหารต่างๆได้ดีขึ้น และช่วยลดความเสี่ยงจากการเป็นโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 2.6 โยเกิร์ต

ที่มา: https://allabout-japan.com/th (2015)

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สุภณิดา พัฒนาธร และ พิมพรรณ เทียนพูล (2559) ได้ศึกษาซอร์เบทเสริมแก่นตะวันผงที่มีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติก *L. casei* TISTR 1463 และโพรไบโอติกศึกษาอายุการเก็บรักษาซอร์เบทที่มีการเสริมแก่นตะวันผง พบว่าแก่นตะวันผงมีสมบัติในการสนับสนุนการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแลคติก *L. casei* TISTR 1463 โดยพบว่าการเสริมแก่นตะวันผงลงในอาหารเลี้ยงเชื้อร้อยละ 7 จะมีค่าการสนับสนุนการเจริญเติบโตของเชื้อ *L. casei* TISTR 1463 ร้อยละ 59.57 และร้อยละ 14 จะมีค่าการสนับสนุนการเจริญเติบโตของเชื้อ *L. casei* TISTR 1463 ร้อยละ 121.08 ซึ่งการเสริมแก่นตะวันผงลงไปร้อยละ 14 นั้นส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียแลคติก *L. casei* TISTR 1463 และโพรไบโอติก ได้มากกว่าร้อยละ 7 ซึ่งแสดงให้เห็นว่าแก่นตะวันผงมีผลต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติก *L.casei* TISTR 1463 และโพรไบโอติก การเตรียมซอร์เบทมิกซ์มาผ่านการบ่มเป็นระยะเวลา 2-10 ชั่วโมง พบว่า ชั่วโมงที่ 6 เหมาะสมต่อการเตรียมซอร์เบท โปรไบโอติกเนื่องจากทำให้มีปริมาณแบคทีเรียแลคติก *L.casei* TISTR 1463 สูงที่สุด และการเสริมแก่นตะวันผงในซอร์เบทมิกซ์ทำให้หลังการบ่มมีปริมาณแบคทีเรียแลคติก *L. casei* TISTR 1463 เพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณแก่นตะวันเพิ่มขึ้น เมื่อศึกษาผลของการเก็บรักษาซอร์เบทเสริมแก่นตะวันผงที่อุณหภูมิ –40 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 21 วันปริมาณ *L.casei* TISTR 1463 ลดลง อีกทั้งพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณแก่นตะวันผงจากร้อยละ 7 – 21 ลงในซอร์เบทโปรไบโอติกมีผลให้ปริมาณแบคทีเรียแลคติก *L. casei* TISTR 1463 ที่คงเหลือเพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา (อุณหภูมิ -40 องศาเซลเซียส)

สุวิมล เจริญสิทธิ และคณะ (2559) ได้ศึกษาคุณสมบัติความเป็นพรีไบโอติกของสาหร่ายสีน้ำตาลโดยใช้วิธีการสกัดสาหร่ายที่ต่างกัน ทำการสกัดโดยเอนไซม์ในการสกัดจะใช้เอ็นไซม์เซลลูเลสและอัลคาเลสใช้กรดในการสกัดได้แก่ กรดไฮโดรคลอริกและโซเดียมไฮดรอกไซด์ และใช้น้ำ และนำสารสกัดไปทดสอบความเป็นพรีไบโอติกด้วยแบบจำลองในลำไส้มนุษย์โดยใช้อุจจาระมนุษย์ทำการหมักในสภาวะไร้อากาศโดยใช้อุจจาระเป็นเชื้อตั้งต้น ในการสกัดพบว่าการสกัดด้วยกรดนั้นได้ปริมาณกากใยอาหารและน้ำตาลสูงที่สุด ซึ่งกากใยอาหารและน้ำตาลช่วยกระตุ้นการเจริญและการหมักเพื่อให้ได้กรดบิวทิริกของแบคทีเรียในลำไส้ซึ่งกรดบิวทิริกจะไปช่วยกระตุ้นการซ่อมแซมของลำไส้ แต่การสกัดด้วยเอนไซม์เซลลูเลสนั้นจะช่วยไปเปลี่ยน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงสร้างที่ซับซ้อนของกากใยอาหารและสารสกัดที่ย่อยไม่ได้ของสาหร่ายให้เป็นโครงสร้างที่ง่ายต่อการย่อยจึงทำให้หมักแล้วได้กรดบิวทิริกสูงที่สุดและกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียพวก *Bifidobacterium* และ *Lactobacillus* ซึ่งสาหร่ายสีน้ำตาลเป็นสาหร่ายที่มีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก

ณัฏวลินคล เศรฐปราโมทย์ และคณะ (2559) ได้ศึกษาการเพิ่มมูลค่าให้สาหร่ายเตา โดยพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตสาหร่ายเตา โดยศึกษาอัตรส่วนของสาหร่ายเตาต่อน้ำเชื่อมที่อัตราส่วนต่างๆ พบว่าสาหร่ายเตาต่อน้ำเชื่อม 1:30 มีลักษณะปรากฏที่ดีที่สุด และการใส่สาหร่ายเตาไปร้อยละ 30 ทำให้มีเนื้อสัมผัส กลิ่น และรสชาติดีที่สุด สรุปได้ว่าสาหร่ายเตาเหมาะสมที่จะนำมาทำเป็นโยเกิร์ตสาหร่ายเตาเพื่อสุขภาพของผู้บริโภค

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

สาหร่ายพวงองุ่น (*Caulerpa lentillifera*)

เชื้อทางการค้า (*L. acidophilus, L. casei, S. thermophillus, B. animalis*), Sacco, Italy

เชื้อ *Escherichia coli* TISTR 073

3.1.2 สารเคมี

Agar, TMMEDIA, India

Beef Extract Powder, HIMEDIA, India

Yeast Extract, HIMEDIA, India

Peptone, Bacto, Indonesia

EMB Agar, Levine, HIMEDIA, India

Lactobacillus MRS Agar, HIMEDIA, India

M17 Agar, HIMEDIA, India

Bifidobacterium Agar, HIMEDIA, India

NaCl, CARLO, Italy

3,5- Dinitrosalicylic acid (DNS), Sigma, China

Phenol, Merck, Germany

Sulfuric acid, Carlo Erba Reagent

KH_2PO_4 , Ajax Finechem, Australia

K_2HPO_4 , Ajax Finechem, Australia

$(NH_4)_2SO_4$, Eisen-Golden, California

$MgSO_4$, Eisen-Golden, California

Glucose, Merck KGaA, Germany

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 อุปกรณ์

3.2.1 กระบอกตวงขนาด 100, 500 และ 1000 มิลลิลิตร (Cylinder)

3.2.2 บีกเกอร์ขนาด 500 และ 1000 มิลลิลิตร (Beaker)

3.2.3 ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร (Flask)

3.2.4 ขวดเอ็มพร้อมฝา (M bottle)

3.2.5 ขวดปรับปริมาตร 100 และ 1000 มิลลิลิตร (Volume flask)

3.2.6 แท่งแก้วขนาด 6 นิ้ว (Stirring rod)

3.2.7 คิวเวตแก้ว (Cuvette)

3.2.8 ปิเปตขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร (Pipette)

3.2.9 ไมโครปิเปต (Micropipette)

3.2.10 จานเพาะเชื้อ (Plate)

3.2.11 หลอดทดลองขนาด 16×150

3.2.12 หลอดทดลองฝาเกลียวขนาด 16×150

3.2.13 หลอดปั่นเหวี่ยง

3.2.14 หลอดฉีดยา

3.2.15 กระบอกน้ำกลั่น

3.2.16 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.2.17 ช้อนตักสาร

3.2.18 ที่คีบ (Forceps)

3.2.19 แผ่นกระดาษกรอง

3.2.20 ผ้าขาวบาง

3.2.21 กรวยแก้ว (Funnel)

3.2.22 พาราฟิล์ม (Parafilm M)

3.2.23 กระดาษฟอยล์

3.2.24 ลูปเขี่ยเชื้อ (Loop)

3.2.25 ลูกยางสีแดงขนาดใหญ่

3.2.26 ไฟแช็ก

3.2.27 อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)

3.2.28 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)

3.2.29 เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง

3.2.30 เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter)

3.2.31 เครื่องกลั่นระเหยสูญญากาศ (Evaporator)

3.2.32 ขวด Evaporator

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.33 ขวดรับสาร Evaporator

3.2.34 ขวดรับปั๊ม Evaporator

3.2.35 ที่หนีบ Evaporator

3.2.36 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge)

3.2.37 เครื่องปั่นของแห้ง

3.2.38 เครื่องปั่นบดละเอียด (Pin mill)

3.2.39 เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer)

3.2.40 เครื่องตีปั่น (Stomacher)

3.2.41 เครื่องกรองสูญญากาศ (Vacuum pump)

3.2.42 หม้อนึ่งอัดไอน้ำ (Autoclave)

3.2.43 ไมโครเวฟ

3.2.44 ตู้ดูดควัน

3.2.45 ตู้ปลอดเชื้อ (Larminar flow Clean Bench)

3.2.46 ตู้บ่มเชื้อจุลินทรีย์

3.2.47 ตู้แช่เยือกแข็ง

3.2.48 ตู้เย็น

3.2 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

3.2.1 การสกัดคาร์โบไฮเดรตจากสาหร่ายพวงองุ่นด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส

นำตัวอย่างสาหร่ายพวงองุ่นแบบผงมาผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1:10, 1:20, 1:30 เพื่อเปรียบเทียบอัตราส่วน จากนั้นนำไปต้มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และนำไปกรองด้วยผ้าขาวบาง และนำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อตกตะกอน เมื่อสารสกัดจากสาหร่ายพวงองุ่นปราศจากตะกอนจะนำเข้าเครื่องปั่นระเหยสารแบบหมุน (Evaporator Rotary) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

3.2.2 การวิเคราะห์ทางเคมี

3.2.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (บุญเทียม, 2546)

การวิเคราะห์ด้วยวิธีฟีนอล-กรดซัลฟิวริก ต้องเตรียมสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส โดยละลายกลูโคส 0.04 กรัม ในขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นจนถึงปริมาตร สารละลายมาตรฐานจะได้ความเข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0, 10, 20, 40, 60, 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานกลูโคส 1.0 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง และเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5.0 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน เติมสารละลายฟีนอล 5 เปอร์เซ็น 1.0 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน โดยปล่อยให้กรดซัลฟิวริกไหลลงบนผิวของสารละลายในหลอดทดลองโดยตรงเพื่อให้เกิดปฏิกิริยาที่ดี และรวดเร็ว อย่าปล่อยให้กรดซัลฟิวริกไหลลงตามข้างหลอด จากนั้นตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที และนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นาโนเมตร วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่างทำเช่นเดียวกันกับกับการทำกราฟมาตรฐานที่ได้กล่าวไปข้างต้น และสำหรับตัวควบคุม (Blank) ให้เตรียมโดยใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายตัวอย่าง

3.2.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (บุญเทียม, 2546)

การวิเคราะห์ด้วยวิธีกรด 3, 5- ไดไนโตรซาลิซาลิก ต้องเตรียมสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส โดยละลายกลูโคส 0.1 กรัม ในขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นจนถึงปริมาตร สารละลายมาตรฐานจะได้ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายมาตรฐานกลูโคส 1.0 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง และเติมกรด 3, 5- ไดไนโตรซาลิซาลิก หลอดละ 1.0 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที และหยุดปฏิกิริยาโดยนำไปแช่น้ำเย็นเป็นเวลา 5 นาที จึงเติมน้ำกลั่นหลอดละ 10.0 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง และเขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร วิธีการวิเคราะห์ตัวอย่างทำเช่นเดียวกันกับกับการทำกราฟมาตรฐานที่ได้กล่าวไปข้างต้น และสำหรับตัวควบคุม (Blank) ให้เตรียมโดยใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายตัวอย่าง

3.2.3 การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

3.2.3.1 การศึกษาคุณสมบัติพรีไบโอติก

ศึกษาการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ 4 สายพันธุ์ คือ *S. thermophillus*, *L. casei*, *L. acidophillus*, *B. animalis* และ *E. coli* โดยเลี้ยงในสูตรอาหาร Basal medium ที่มีแหล่งคาร์บอนที่มีความเข้มข้น 1.5, 2.5 และ 3.5 เปอร์เซ็น (W/V) ของแหล่งคาร์บอนสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น กลูโคส ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ และปราศจากแหล่งคาร์บอน โดยนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสในสภาวะไร้อากาศ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นทำการตรวจสอบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนต่างกัน โดยนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร วัดค่า pH และตรวจนับการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการนับจำนวนโคโลนีในหน่วย CFU/mL ด้วยวิธี Pour plate ซึ่งตรวจสอบการเจริญด้วยอาหาร M17 สำหรับ *S. thermophillus* อาหาร MRS สำหรับ *L. acidophilus*, *L. casei* อาหาร Bifidobacterium medium สำหรับ *B. animalis* และอาหาร EMB Agar ด้วยวิธี Spread plate สำหรับ *E. coli* ซึ่งทำการเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ที่เวลา 0, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง

3.2.3.1.1 การคำนวณ Prebiotic activity score (Huebner et al., 2007)

การศึกษาค่า Prebiotic activity score โดยการเลี้ยงเชื้อ *L. casei*, *L. acidophilus*, *S. thermophillus*, *B. animalis* ใช้ในการศึกษาค่า Prebiotic activity score โดยทำการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนคือ น้ำตาลกลูโคส และอาหารพรีไบโอติก นำจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่ได้ (log CFU/mL) จากการเลี้ยงเชื้อที่ต้องการศึกษามาคำนวณดังสมการต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{Prebiotic activity score} = \left[\frac{(\text{probiotic logCFU/mL on the prebiotic at 24 h} - \text{probiotic logCFU/mL on the prebiotic at 0 h})}{(\text{probiotic log CFU/mL on glucose at 24 h} - \text{probiotic log CFU/mL on glucose at 0 h})}\right] - \left[\frac{(\text{enteric log CFU/mL on the prebiotic at 24 h} - \text{enteric log CFU/mL on the prebiotic at 0 h})}{(\text{enteric log CFU/mL on glucose at 24 h} - \text{enteric log CFU/mL on glucose at 0 h})}\right]$$

3.2.4 วิธีการทำโยเกิร์ตพร้อมดื่มผสมสารกสัดสาหร่าย

เตรียมนมพาสเจอร์ไรซ์ 1000 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำตาล 5 เปอร์เซ็นต์ ผสมนมผง 3 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นต้มที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที คนตลอดเพื่อไม่ให้นมเกิดการไหม้ เมื่อครบเวลาตั้งทิ้งไว้จนอุณหภูมิลดลงเหลือประมาณ 40 องศาเซลเซียส ก่อนเติมผงเชื้อโยเกิร์ตลงไป 0.09 กรัมคนให้เข้ากันก่อนนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส จนกระทั่งค่าพีเอชลดลงถึง 4.5 ก่อนนำมาผสมสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นที่เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น 5, 10, 15 และ 20 เปอร์เซ็นต์ แบ่งใส่ขวดขวดละ 150 มิลลิลิตร เพื่อสะดวกต่อการตรวจวิเคราะห์ นำโยเกิร์ตไปแช่ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ส่วนการเพิ่มน้ำเชื่อมผสมสารสกัดสาหร่ายในกระบวนการหมักโยเกิร์ตแบ่งเป็นใส่ก่อน และใส่หลัง ซึ่งมีน้ำเชื่อมที่ความเข้มข้น 1% และ 10% โดยมีวิธีการทำน้ำเชื่อมคือ อัตราส่วนของสารสกัดสาหร่าย : น้ำตาล : ซิตริก (1:1:0.1)

3.2.4.1 ทดสอบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในโยเกิร์ตที่มีแหล่งคาร์บอนจากสาหร่ายพวงองุ่น

ศึกษาเชื้อจุลินทรีย์ในโยเกิร์ตที่มีแหล่งคาร์บอนจากสาหร่ายพวงองุ่น โดยตรวจสอบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *S. thermophillus, L. acidophilus, L. casei, B. animalis* ด้วยการวัดค่า pH และตรวจนับการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธีการนับโคโลนีในหน่วย CFU/mL ด้วยวิธี Pour plate ซึ่งตรวจสอบการเจริญด้วยอาหาร M17 สำหรับ *S. thermophillus* อาหาร MRS สำหรับ *L. acidophilus, L. casei* และอาหาร Bifidobacterium medium สำหรับ *B. animalis* โดยเก็บวิเคราะห์ตัวอย่างทุก 1 ชั่วโมง

3.2.4.2 ทดสอบอายุการเก็บรักษาของโยเกิร์ตพร้อมดื่มผสมสารสกัดสาหร่ายพวออองุ่น

ศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตโดยเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงโดยการวัดค่า pH ด้วยเครื่องวัดค่า pH และตรวจสอบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *S. thermophillus, L. casei, L. acidophilus* และ *B. animalis* โดยเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ 3 ซ้ำ ทุก 7, 14, 21, 28 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การศึกษาการสกัดน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และ DP ของสาหร่ายพวงองุ่น

จากการศึกษาและวิเคราะห์ความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และ DP ของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น โดยการสกัดคาร์โบไฮเดรตด้วยน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อัตราส่วนความเข้มข้น 1:20, 1:30, 1:40 และ 1:50 ดังแสดงในตารางที่ 4.1 ความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมดพบมากที่สุดที่อัตราส่วนความเข้มข้น 1:20 คือ 27.68±0.17 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร, 1:40 คือ 27.57±0.15 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร, 1:50 คือ 27.17±1.62 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ 1:30 คือ 20.14±1.00 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์พบมากที่สุดที่อัตราความเข้มข้น 1:20 คือ 11.25±0.89 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร, 1:30 คือ 10.86±0.73 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร, 1:40 คือ 2.24±0.14 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร, 1:50 คือ 1.87±0.023 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ

ดังนั้นจากการวิเคราะห์ความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และ DP จากสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นที่อัตราความเข้นข้นต่างกันดังแสดงในตารางที่ 4.1 ทำให้ทราบว่าการสกัดสาหร่ายพวงองุ่นที่อัตราความเข้นข้น 1:20 มีความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมด และน้ำตาลรีดิซ์สูงที่สุดจึงเลือก และนำไปใช้ต่อไป

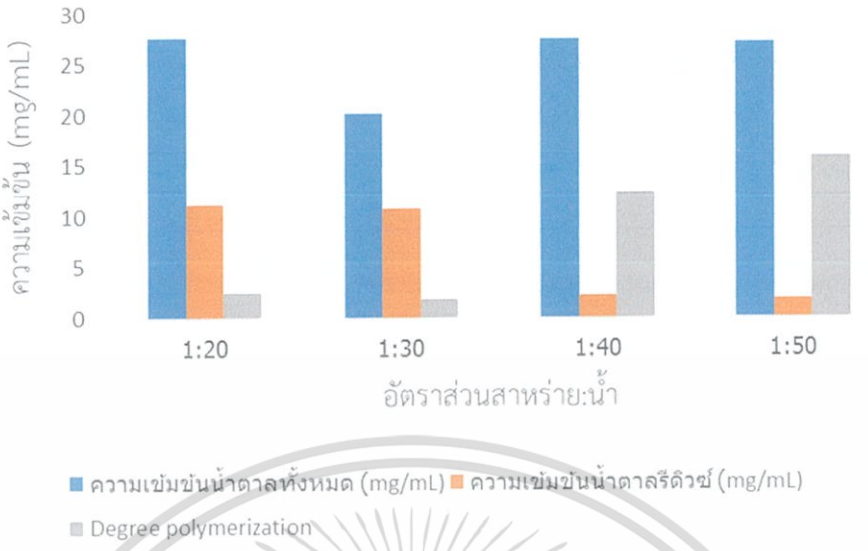
ผลการวิเคราะห์ความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และ DP จากสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นที่อัตรความเข้นข้นต่างกัน โดยใช้การวิเคราะห์ทางสถิติ การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว พบว่าอัตราส่วนความเข้นข้นมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกัน ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.1 ความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และ DP ของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นที่อัตราส่วนความเข้มข้นต่างกัน

อัตราส่วนความเข้มข้น	ความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมด (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	ความเข้มข้นน้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)	Degree polymerization (DP)
1:20	27.68±0.17[b]	11.25±0.89[b]	2.46±0.00
1:30	20.14±1.00[a]	10.86±0.73[b]	1.85±0.00
1:40	27.57±0.15 [b]	2.24±0.14[a]	12.30±0.00
1:50	27.17±1.62 [b]	1.87±0.023[a]	15.87±0.00

หมายเหตุ: [a, b] ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.1 แผนภูมิแท่งแสดงความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และ DP ของสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นที่อัตราส่วนความเข้มข้นต่างกัน

4.2 การศึกษาการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ผงและเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคจากแหล่งคาร์บอนที่ต่างกัน

การศึกษาการเจริญของเชื้อผง (*S. thermophillus, L. casei, L. acidophillus, B. animalis)* และเชื้อก่อโรค *E. coli* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยแหล่งคาร์บอนที่ต่างกัน ได้แก่ สาหร่ายพวงองุ่น น้ำตาลกลูโคล น้ำตาลฟรุกโตโอลิโกแซ็คคาไรด์ โดยเก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 36 ชั่วโมง

จากการศึกษาการเจริญของเชื้อผง (*S. thermophillus, L. casei, L. acidophillus, B. animalis)* จากแหล่งคาร์บอนที่ต่างกันจากตารางที่ 4.2, ตารางที่ 4.3 และตารางที่ 4.5 พบว่าค่า pH และค่าการดูดกลืนแสงมีการเปลี่ยนแปลง โดยค่า pH จะลดลงซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีค่าความเป็นกรดมากขึ้น และค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีความขุ่นเพิ่มขึ้น เนื่องจากจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น และเมื่อศึกษาการเจริญของเชื้อ *L. casei, L. acidophilus, S. thermophillus* และ *B. animalis* ในแหล่งคาร์บอนกลูโคสพบว่ามีการเจริญของเชื้อดีสุดที่ความเข้มข้น 3.5%, 2.5%, 1.5% และปราศจากแหล่งคาร์บอนตามลำดับดังแสดงในภาพที่ 4.2 เนื่องจากที่ความเข้มข้นมากสุดมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่มากสุด แสดงว่าเชื้อจุลินทรีย์ได้ใช้แหล่งคาร์บอนกลูโคสในการเจริญได้นานกว่าความเข้นข้นน้อย และเมื่อเวลาผ่านไปความเข้มข้นที่มากกว่ายังมีแหล่งคาร์บอนหลงเหลือให้จุลินทรีย์ได้ใช้ในการเจริญได้ การเจริญของเชื้อ *L. casei, L. acidophilus, S. thermophillus* และ *B. animalis* ในแหล่งคาร์บอนฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS) พบว่ามีการเจริญของเชื้อดีสุดที่ความเข้มข้น 1.5%, 2.5% และ 3.5% ตามลำดับดังแสดงในภาพที่ 4.3 ซึ่งการเจริญของเชื้อได้สวนททางกับแหล่งคาร์บอนอื่นๆ เนื่องจากแหล่งคาร์บอนฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS) (ชนัญฑิตา, 2557) มีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก ที่สามารถเป็นอาหารของจุลินทรีย์ชนิดดีในลำไส้ของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มนุษย์ ซึ่งสามารถแตกตัว และถูกใช้ในกระบวนการหมักด้วย ซึ่งจุลินทรีย์นำไปใช้ได้ง่ายกว่า การเจริญของเชื้อ *L. casei, L. acidophilus*, *S. thermophillus* และ *B. animalis* ในแหล่งคาร์บอนสาหร่ายพวงองุ่น พบว่ามีการเจริญของดีสุดที่ความเข้มข้น 3.5%, 2.5% และ 1.5% ตามลำดับดังแสดงในภาพที่ 4.3 และ *E. coli* ในแหล่งคาร์บอนฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS) 2.5% มีการเจริญมากที่สุดคือ 6.45±0.00 Log (CFU/mL)

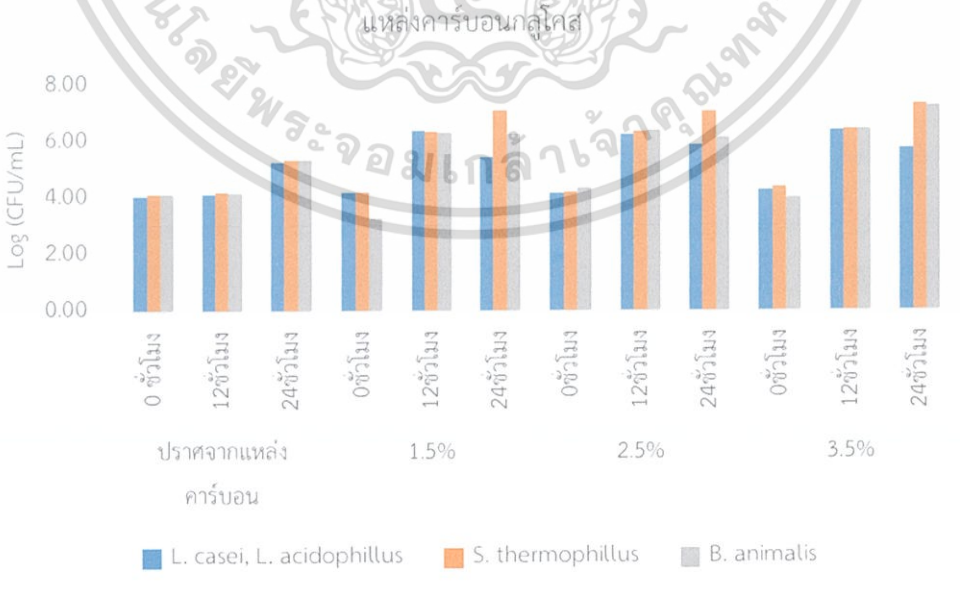
ผลการวิเคราะห์การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ผง (*S. thermophillus*, *L. casei, L. acidophillus*, *B. animalis)* และเชื้อก่อโรค *E. coli* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยแหล่งคาร์บอนที่ต่างกัน โดยใช้การวิเคราะห์ทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ค่า pH, การดูดกลืนแสง และLog (CFU/mL) มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกัน ($P \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *S. thermophillus, L. casei, L. acidophillus, B. animalis* โดยแหล่งคาร์บอนกลูโคส

ความเข้มข้น (mg/mL)	เวลา (ชม.)	pH	การดูดกลืนแสง	Log (CFU/mL)		
				L. casei, L. acidophillus	*S. thermophillus*	*B. animalis*
ปราศจากแหล่งคาร์บอน	0	5.17^{c}	0.64±0.03^{a}	4.0767±0.04^{a}	4.1467±0.01^{a}	4.1200±0.01^{a}
	12	4.91^{b}	0.69±0.01 ^{a}	4.1467±0.01^{b}	4.2200±0.02^{b}	4.1867±0.01^{b}
	24	4.80^{a}	0.90±0.16 ^{a}	5.2833±0.01^{c}	5.3643±0.01^{c}	5.3340±0.02^{c}
น้ำตาลกลูโคส 1.5%	0	6.63^{c}	0.56±0.00^{a}	4.2033±0.01^{a}	4.1960±0.01^{a}	3.2767±0.01^{a}
	12	4.11^{b}	0.65±0.01^{b}	6.3733±0.01^{c}	6.3333±0.01^{b}	6.3300±0.02^{b}
	24	3.96^{a}	0.81±0.03^{c}	5.4633±0.11^{b}	7.1033±0.18^{c}	6.2767±0.17^{b}
น้ำตาลกลูโคส 2.5%	0	6.87^{c}	0.67±0.00^{ab}	4.1833±0.01^{a}	4.2167±0.01^{a}	4.3333±0.06^{a}
	12	4.11^{b}	0.69±0.04^{b}	6.2500±0.00^{c}	6.3333±0.01^{b}	6.3733±0.02^{c}
	24	3.93^{a}	0.76±0.05^{c}	5.8900±0.15^{b}	7.0467±0.22^{c}	6.1400±0.17^{b}
น้ำตาลกลูโคส 3.5%	0	6.13^{c}	0.67±0.04^{a}	4.2900±0.01^{a}	4.4020±0.02^{a}	4.0033±0.02^{a}
	12	4.08^{b}	1.01±0.16^{b}	6.3767±0.01^{c}	6.4333±0.01^{b}	6.4200±0.00^{b}
	24	3.06^{a}	1.07±0.08^{b}	5.7600±0.15^{b}	7.2967±0.08^{c}	7.2533±0.09^{c}

หมายเหตุ: $^{a-f}$ ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



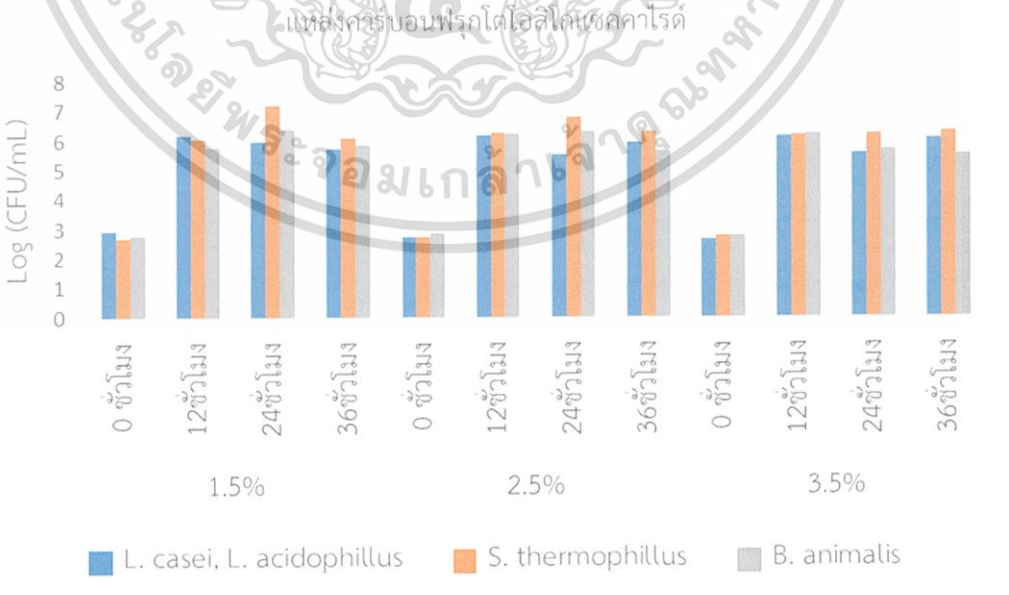
ภาพที่ 4.2 แผนภูมิแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ Log(CFU/mL) และเวลาของแหล่งคาร์บอนกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *S. thermophillus, L. casei, L. acidophillus, B. animalis* โดยแหล่งคาร์บอนฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์

ความเข้มข้น (mg/mL)	เวลา (ชั่วโมง)	pH	Log (CFU/mL)		
			L. casei, L. acidophillus	*S. thermophillus*	*B. animalis*
FOS 1.5%	0	6.83^{d}	2.9080±0.6^{a}	2.6750±0.07^{a}	2.7577±0.04^{a}
	12	4.12^{c}	6.1637±0.01^{b}	6.0360±0.04^{b}	5.7480±0.58^{b}
	24	3.94^{b}	5.9623±0.07^{b}	7.1833±0.07^{c}	6.3863±0.01^{c}
	36	3.76^{a}	5.7147±0.47^{b}	6.0953±0.02^{b}	5.8413±0.17b^{c}
FOS 2.5%	0	5.77^{b}	2.7337±0.02^{a}	2.7090±0.02^{a}	2.8587±0.04^{a}
	12	4.08^{a}	6.1547±0.01^{d}	6.2323±0.02^{b}	6.2067±0.01^{c}
	24	3.87^{a}	5.4907±0.01^{b}	6.7903±0.04^{d}	6.2997±0.03^{c}
	36	3.78^{a}	5.9180±0.06^{c}	6.2809±0.02^{c}	5.6445±0.22^{b}
FOS 3.5%	0	6.04^{d}	2.6417±0.07^{a}	2.7617±0.03^{a}	2.7443±0.04^{a}
	12	4.06^{c}	6.1233±0.01^{c}	6.1735±0.01^{b}	6.2133±0.01^{d}
	24	3.86^{b}	5.5433±0.05^{b}	6.2075±0.07^{b}	5.6700±0.02^{c}
	36	3.75^{a}	6.0493±0.05^{c}	6.2927±0.04^{c}	5.5073±0.03^{b}

หมายเหตุ: $^{a-d}$ ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



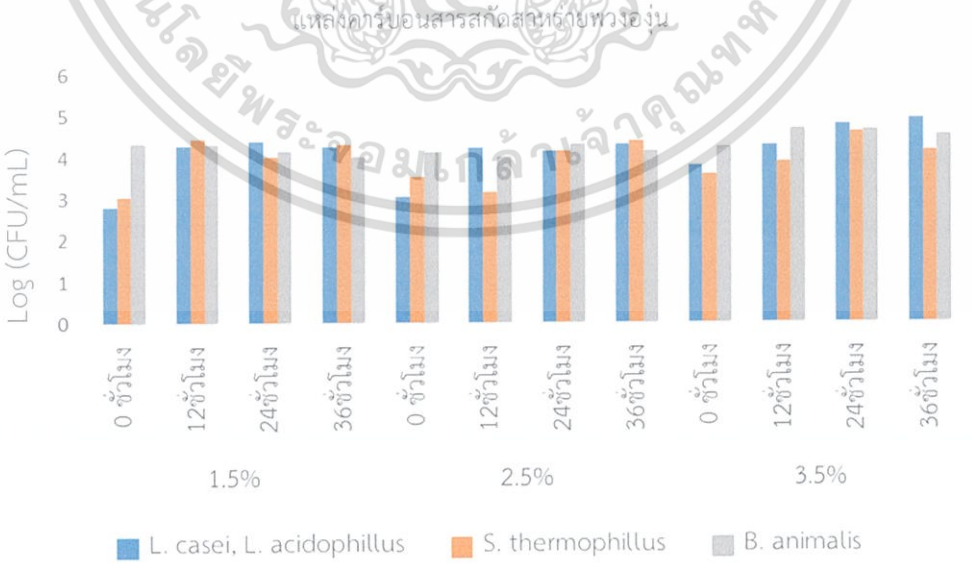
ภาพที่ 4.3 แผนภูมิแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ Log(CFU/mL) และเวลาของแหล่งคาร์บอนฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *S. thermophillus, L. casei, L. acidophillus, B. animalis* โดยแหล่งคาร์บอนสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นที่ความเข้มข้นต่างกัน

ความเข้มข้น (mg/mL)	เวลา (ชั่วโมง)	pH	Log (CFU/mL)		
			L. casei, L. acidophillus	*S. thermophillus*	*B. animalis*
1.5%	0	5.82^{c}	2.8011±0.14^{a}	3.0300±0.11^{a}	4.3335±0.07^{b}
	12	4.80^{a}	4.2685±0.13^{b}	4.4220±0.04^{c}	4.2990±0.03^{ab}
	24	4.87^{ab}	4.3735±0.10^{b}	4.0000±0.00^{b}	4.1500±0.21^{ab}
	36	4.97^{b}	4.2385±0.34^{b}	4.3000±0.00^{c}	4.0000±0.00^{a}
2.5%	0	5.80^{d}	3.0395±0.06^{a}	3.5330±0.03^{a}	4.1000±0.07^{a}
	12	4.24^{a}	4.2060±0.04^{b}	3.1500±0.21^{a}	3.9950±0.06^{a}
	24	4.41^{c}	4.1500±0.21^{b}	4.1500±0.21^{b}	4.3000±0.00^{a}
	36	4.37^{b}	4.3000±0.42^{b}	4.3885±0.13^{b}	4.1500±0.21^{a}
3.5%	0	5.70^{c}	3.7885±0.01^{a}	3.5805±0.01^{a}	4.2485±0.01^{a}
	12	4.75^{b}	4.2620±0.08^{b}	3.8640±0.12^{ab}	4.6745±0.03^{b}
	24	3.98^{a}	4.7720±0.10^{c}	4.5880±0.16^{c}	4.6495±0.07^{ab}
	36	3.97^{a}	4.9250±0.04^{c}	4.1500±0.21^{c}	4.4995±0.28^{ab}

หมายเหตุ: $^{a-d}$ ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 4.4 แผนภูมิแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ Log(CFU/mL) และเวลาของแหล่งคาร์บอนสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ *E. coli* โดยแหล่งคาร์บอนฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS)

ความเข้มข้น (mg/mL)	เวลา (ชั่วโมง)	pH	Log (CFU/mL)
2.5%	0	6.59[c]	4.2683±0.1[a]
	12	4.92[a]	5.3567±0.04[b]
	24	4.98[b]	6.4500±0.00[c]

หมายเหตุ: [a-c] ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ภาพที่ 4.5 แผนภูมิแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ Log(CFU/mL) ของ *E.coli* และเวลาของแหล่งคาร์บอนฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์

4.3 ศึกษาค่า Prebiotic activity score ของสาหร่ายพวงองุ่น

การศึกษาค่าการทำงานของพรีไบโอติกเมื่อคำนวณหาค่า Prebiotic activity score ที่ได้จากสาหร่ายพวงองุ่นโดยเชื้อ *L. casei, L. acidophilus* และ *B. animalis* มีค่าคือ 0.3435 และ 0.4278 และค่า Prebiotic activity score ที่ได้จากฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์โดยเชื้อ *L. casei, L. acidophilus* และ *B. animalis* มีค่าคือ 0.5695 และ 1.6998 โดยวิธีของ Huebner et al, 2007 ค่า Log (CFU/mL) จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ *S. thermophillus, L. casei, L. acidophilus* และ *B. animalis* หรือเชื้อ *E. coli*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ค่า Prebiotic activity score ที่ได้จากสาหร่ายพวงองุ่น (*L. casei, L. acidophilus*)

โพรไบโอติก Log (CFU/mL)				เชื้อก่อโรค Log (CFU/mL)				Prebiotic activity score
สาหร่ายพวงองุ่น		น้ำตาลกลูโคส		สาหร่ายพวงองุ่น		น้ำตาลกลูโคส		
0 ชม.	24 ชม.	0 ชม.	24 ชม.	0 ชม.	24 ชม.	0 ชม.	24 ชม.	0.3435
3.0395	4.1500	4.2900	5.7600	4.7782	5.0792	4.9031	6.9956	

ตารางที่ 4.7 ค่า Prebiotic activity score ที่ได้จากสาหร่ายพวงองุ่น (*B. animalis*)

โพรไบโอติก Log (CFU/mL)				เชื้อก่อโรค Log (CFU/mL)				Prebiotic activity score
สาหร่ายพวงองุ่น		น้ำตาลกลูโคส		สาหร่ายพวงองุ่น		น้ำตาลกลูโคส		
0 ชม.	24 ชม.	0 ชม.	24 ชม.	0 ชม.	24 ชม.	0 ชม.	24 ชม.	0.4278
4.1000	4.3000	4.0033	7.2533	4.7782	5.0792	4.9031	6.9956	

ตารางที่ 4.8 ค่า Prebiotic activity score ที่ได้จากฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (*L. casei, L. acidophilus*)

โพรไบโอติก Log (CFU/mL)				เชื้อก่อโรค Log (CFU/mL)				Prebiotic activity score
ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์		น้ำตาลกลูโคส		ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์		น้ำตาลกลูโคส		
0 ชม.	24 ชม.	0 ชม.	24 ชม.	0 ชม.	24 ชม.	0 ชม.	24 ชม.	0.5695
2.7337	5.4907	4.1837	5.8939	4.2683	6.4500	4.9031	6.9956	

ตารางที่ 4.9 ค่า Prebiotic activity score ที่ได้จากฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (*B. animalis*)

โพรไบโอติก Log (CFU/mL)				เชื้อก่อโรค Log (CFU/mL)				Prebiotic activity score
ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์		น้ำตาลกลูโคส		ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์		น้ำตาลกลูโคส		
0 ชม.	24 ชม.	0 ชม.	24 ชม.	0 ชม.	24 ชม.	0 ชม.	24 ชม.	1.6998
2.8587	6.2997	4.3303	6.2719	4.2683	6.4500	4.9031	6.9956	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ทดสอบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในโยเกิร์ตที่มีแหล่งคาร์บอนจากสาหร่ายพวงองุ่น

การทดสอบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในโยเกิร์ตที่มีแหล่งคาร์บอนจากสาหร่ายพวงองุ่นระหว่างกระบวนการหมักโยเกิร์ตของเชื้อโยเกิร์ต 4 สายพันธุ์ได้แก่ *S. thermophillus*, *L. casei, L. acidophilus* และ *B. animalis* พบว่าค่า pH มีค่าลดลงจากเดิมเมื่อเวลาผ่านไป การศึกษาการเจริญของเชื้อผง *(S. thermophillus, L. casei, L. acidophillus, B. animalis)* ในโยเกิร์ตที่ผสมสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น โดยเก็บตัวอย่างทุก 1 ชั่วโมง เมื่อโยเกิร์ตน้ำเชื่อมผสมสารสกัดจากสาหร่ายพวงองุ่น 1% จากตารางที่ 4.10 เมื่อเวลาผ่านไปพบว่าเชื้อ *L. casei, L. acidophilus, S. thermophillus* และ *B. animalis* มีจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดที่เวลา 6 ชั่วโมง ซึ่งโยเกิร์ตที่มีน้ำเชื่อมผสมสารสกัดสาหร่าย 1% มีการเจริญของเชื่อมากกว่าโยเกิร์ต control ดังแสดงในรูปภาพที่ 4.6 โดยมีการเจริญของเชื้อ *L. casei, L. acidophilus, S. thermophillus* และ *B. animalis* คือ 8.0750±0.01, 9.0450±0.01 และ8.4550±0.05 Log (CFU/mL) เมื่อศึกษาโยเกิร์ตที่มีน้ำเชื่อมผสมสารสกัดสาหร่าย 10% จากตารางที่ 4.11 มีการเจริญของเชื่อเพิ่มขึ้นทุกชั่วโมงจนกระทั่งชั่วโมงที่ 5 พบว่าโยเกิร์ตที่ใส่น้ำเชื่อมผสมสารสกัดสาหร่ายก่อนกระบวนการหมักจะมีการเจริญเชื้อ *L. casei, L. acidophilus, S. thermophillus* และ *B. animalis* ได้ดีกว่าคือ 9.0400±0.02, 8.4200±0.01 และ 8.2550±0.01 Log (CFU/mL) แต่ถ้าศึกษาจำนวนจุลินทรีย์ที่ 7 วันจากภาพที่ 4.7 พบว่าโยเกิร์ตที่ใส่น้ำเชื่อมผสมสารสกัดสาหร่ายหลังกระบวนการหมักมีจำนวนเชื้อ *L. casei, L. acidophilus, S. thermophillus* และ *B. animalis* ได้ดีกว่าคือ 10.0746±0.02, 10.4250±0.01 และ 10.2550±0.01 Log (CFU/mL) และเมื่อศึกษาโยเกิร์ตที่ผสมสารกัด 5% โดยเปรียบเทียบจำนวนของเชื่อระหว่างใส่ก่อน และหลังกระบวนการหมัก จากภาพที่ 4.8 พบว่าโยเกิร์ตที่ใส่สารสกัดสาหร่ายหลังกระบวนการหมักเมื่อครบ 7 วัน ดังแสดงในตารางที่ 4.12 มีจำนวนเชื้อ *L. casei, L. acidophilus, S. thermophillus* และ *B. animalis* มากกว่าคือ 9.2750±0.01, 9.2300±0.01 และ 9.1950±0.01 Log (CFU/mL) จากผลการศึกษาการเจริญของเชื้อในโยเกิร์ตที่วิธีการใส่แหล่งคาร์บอนต่างกัน พบว่าการใส่สารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นหลังกระบวนการหมักโยเกิร์ตมีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์มากกว่าการใส่ก่อนกระบวนการหมักเมื่อเปรียบเทียบกัน เนื่องจากการใส่แหล่งคาร์บอนหลังกระบวนการหมักทำให้แหล่งคาร์บอนมีมากกว่าซึ่งส่งผลให้เชื้อจุลินทรีย์มีแหล่งคาร์บอนที่สามารถนำไปใช้ได้นานกว่าใส่ก่อนกระบวนการหมัก เนื่องจากการใส่แหล่งคาร์บอนก่อนกระบวนการหมักท้ำให้เชื้อนำแหล่งคาร์บอนไปใช้ในระว่างกระบวนการหมักซึ่งส่วผลให้เมื่อสิ้นสุดการหมักแล้วมีแหล่งคาร์บอนเหลือน้อยจึงทำให้เชื้อจุลินทรีย์มีแหล่งคาร์บอนที่นำไปใช้ได้น้อยและเมื่อเวลาผ่านไปแหล่งคาร์บอนจะถูกใช้หมดก่อนการใส่แหล่งคาร์บอนหลังกระบวนการหมัก และเมื่อศึกษาการเจริญของเชื้อ *L. casei, L. acidophillus, S. thermophillus, B. animalis* ที่ใส่สารสกัดก่อนกระบวนการหมัก พบว่าที่ความเข้มข้นดีสุดคือ 10% รองลงมาคือ 5% และสุดท้ายคือ 1% แต่การใส่สารหลังกระบวนการหมัก พบว่าที่ความเข้มข้นดีสุดคือ 10% รองลงมาคือ 5%

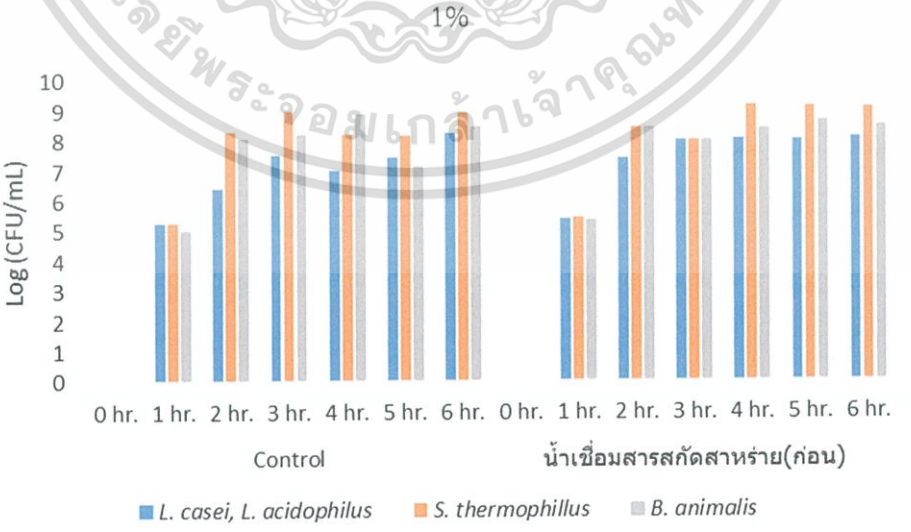
ผลการวิเคราะห์การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ผง (*S. thermophillus, L. casei, L. acidophillus, B. animalis)* ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มผสมสารสกัดสาหร่ายโดยใช้การวิเคราะห์ทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ค่า pH และLog (CFU/mL) มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกัน ($P \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 การเจริญของเชื้อ *L. casei, L. acidophilus, S. thermophillus* และ *B. animalis* ของโยเกิร์ตน้ำเชื่อมสารสกัดจากสาหร่ายพวงองุ่น 1%

ตัวอย่าง	เวลา (ชม.)	pH	*L. casei, L. acidophilus*	*S. thermophillus*	*B. animalis*
Control	0	6.57^{g}	-	-	-
	1	6.27^{e}	5.2525±0.00^{a}	5.2550±0.01^{a}	5.0050±0.01^{a}
	2	6.40^{f}	6.4100±0.01^{b}	8.2400±0.06^{b}	8.0750±0.01^{c}
	3	4.96^{d}	7.5150±0.01^{e}	8.9400±0.07^{c}	8.2050±0.01^{d}
	4	4.40^{c}	7.0050±0.01^{c}	8.1500±0.07^{b}	8.9050±0.01^{f}
	5	4.39^{b}	7.3800±0.07^{d}	8.1650±0.02^{b}	7.1139±0.01^{b}
	6	4.35^{a}	8.2150±0.02^{f}	8.9100±0.01^{c}	8.4750±0.01^{e}
น้ำเชื่อมสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น (ก่อน)	0	6.47^{g}	-	-	-
	1	5.99^{f}	5.3935±0.00^{a}	5.4150±0.01^{a}	5.3350±0.01^{a}
	2	5.22^{e}	7.3800±0.00^{b}	8.4250±0.01^{c}	8.4150±0.02^{d}
	3	4.75^{d}	8.0000±0.00^{c}	8.0050±0.01^{b}	8.0050±0.01^{b}
	4	4.47^{c}	8.0350±0.01^{d}	9.1450±0.01^{f}	8.3750±001^{c}
	5	4.32^{b}	8.0050±0.01^{c}	9.1050±0.01^{e}	8.6350±0.01^{f}
	6	4.30^{a}	8.0750±0.01^{e}	9.0450±0.01^{d}	8.4550±0.05^{e}

หมายเหตุ: $^{a-g}$ ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 4.6 แผนภูมิแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ Log(CFU/mL) และเวลาโยเกิร์ตน้ำเชื่อมสารสกัดจากสาหร่ายพวงองุ่น 1%

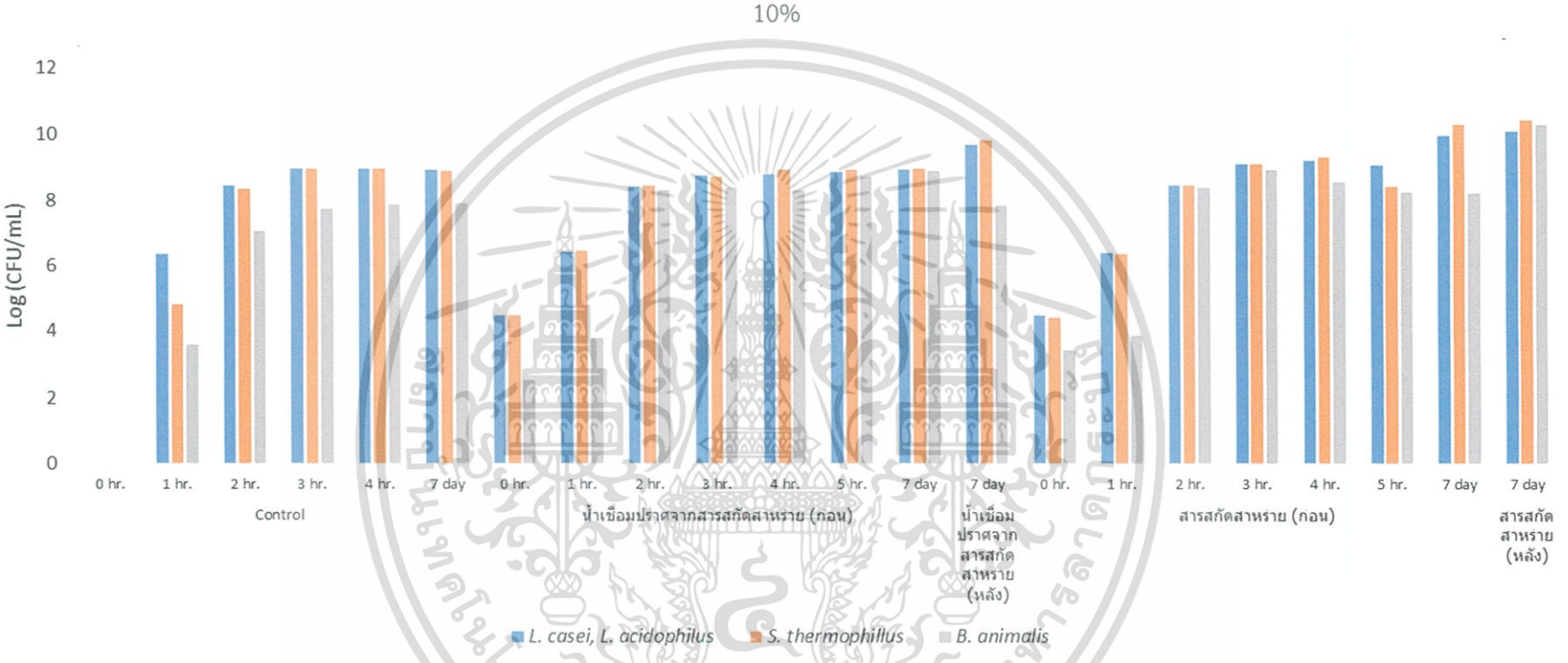
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 การเจริญของเชื้อ *L. casei, L. acidophilus, S. thermophillus* และ *B. animalis* ของโยเกิร์ตน้ำเชื่อมสารสกัดจากสาหร่ายพวงองุ่น 10%

ตัวอย่าง	เวลา (ชม.)	pH	*L. casei, L. acidophilus*	*S. thermophillus*	*B. animalis*
Control	0	6.32^{f}	-	-	-
	1	6.06^{e}	6.3550 ± 0.01^{a}	4.7945 ± 0.01^{a}	3.6050 ± 0.01^{a}
	2	5.18^{d}	8.4500 ± 0.00^{b}	8.3400 ± 0.00^{b}	7.0800 ± 0.00^{b}
	3	4.77^{c}	8.9450 ± 0.01^{d}	8.9500 ± 0.00^{d}	7.7450 ± 0.01^{c}
	4	4.44^{b}	8.9450 ± 0.01^{d}	8.9500 ± 0.02^{d}	7.890 ± 0.00^{d}
	7 วัน	3.97^{a}	8.9300 ± 0.00^{c}	8.8935 ± 0.00^{c}	7.9150 ± 0.01^{e}
น้ำเชื่อมปราศจากสารสกัด (ก่อน)	0	6.30^{f}	4.4600 ± 0.00^{a}	4.4600 ± 0.00^{a}	2.5300 ± 0.00^{a}
	1	6.05^{e}	6.4200 ± 0.00^{b}	6.4600 ± 0.02^{b}	3.7800 ± 0.01^{b}
	2	5.15^{d}	8.4150 ± 0.01^{c}	8.4600 ± 0.01^{c}	8.3250 ± 0.01^{d}
	3	4.63^{d}	8.7400 ± 0.01^{d}	8.7150 ± 0.01^{d}	8.3800 ± 0.01^{e}
	4	4.41^{c}	8.7650 ± 0.00^{e}	8.9100 ± 0.00^{e}	8.3150 ± 0.00^{c}
	5	4.38^{b}	8.8400 ± 0.02^{f}	8.9200 ± 0.00^{f}	8.7300 ± 0.00^{f}
	7 วัน	3.99^{a}	8.9050 ± 0.01^{g}	8.9450 ± 0.01^{g}	8.8935 ± 0.01^{g}
น้ำเชื่อมปราศจากสารสกัด (หลัง)	7 วัน	3.89^{a}	9.6812 ± 0.01^{g}	9.7993 ± 0.01^{g}	7.8451 ± 0.01^{e}
น้ำเชื่อมใส่สารสกัดสาหร่าย (ก่อน)	0	6.61^{g}	4.4600 ± 0.00^{a}	4.3935 ± 0.01^{a}	3.4200 ± 0.00^{a}
	1	5.85^{f}	6.3935 ± 0.00^{b}	6.3600 ± 0.00^{b}	3.8800 ± 0.02^{b}
	2	5.11^{e}	8.4600 ± 0.01^{c}	8.4600 ± 0.00^{d}	8.3935 ± 0.00^{e}
	3	4.71^{d}	9.0790 ± 0.01^{e}	9.0750 ± 0.01^{e}	8.9200 ± 0.01^{g}
	4	4.38^{c}	9.1750 ± 0.00^{f}	9.3000 ± 0.01^{f}	8.5400 ± 0.01^{f}
	5	4.31^{b}	9.0400 ± 0.02^{d}	8.4200 ± 0.01^{c}	8.2550 ± 0.01^{d}
	7 วัน	3.88^{a}	9.9450 ± 0.01^{g}	10.2750 ± 0.01^{g}	8.2050 ± 0.00^{c}
น้ำเชื่อมใส่สารสกัดสาหร่าย (หลัง)	7 วัน	3.87^{a}	10.0746 ± 0.02^{g}	10.4250 ± 0.01^{g}	10.2550 ± 0.01^{g}

หมายเหตุ: $^{a-g}$ ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

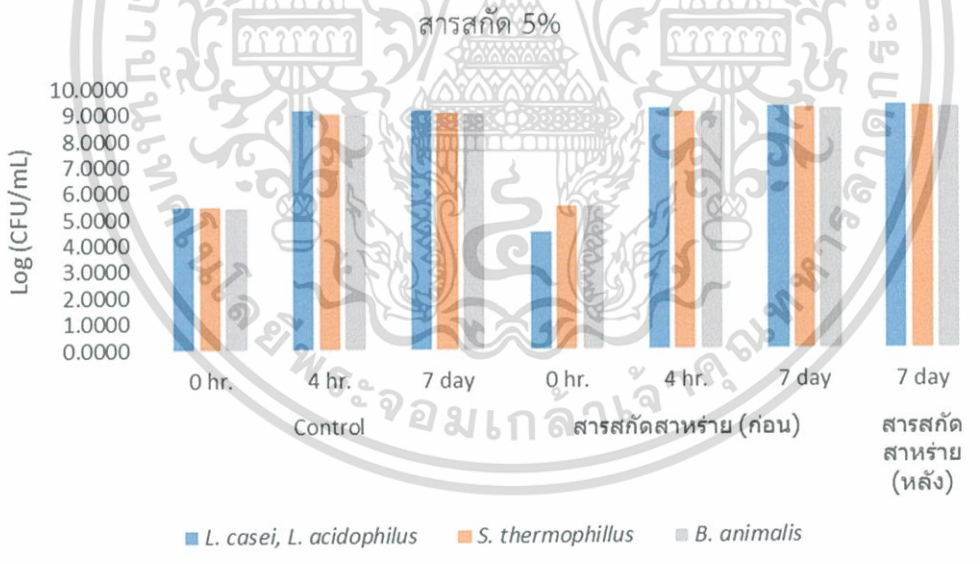


ภาพที่ 4.7 แผนภูมิแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ Log(CFU/mL) และเวลาโยเกิร์ตน้ำเชื่อมสารสกัดจากสาหร่ายพวงองุ่น

ตารางที่ 4.12 การเจริญของเชื้อ *L. casei, L. acidophilus, S. thermophillus* และ *B. animalis* ของโยเกิร์ตผสมสารสกัดจากสาหร่ายพวงองุ่น 5%

ตัวอย่าง	เวลา (ชม.)	pH	*L. casei, L. acidophilus*	*S. thermophillus*	*B. animalis*
Control	0	6.35^{c}	5.4650±0.01^{a}	5.4350±0.01^{a}	5.4150±0.01^{a}
	4	4.41^{b}	9.1050±0.01^{b}	8.9750±0.01^{b}	8.9450±0.01^{b}
	7 วัน	3.99^{a}	9.1100±0.00^{b}	9.0450±0.01^{c}	9.0000±0.00^{c}
สารสกัดสาหร่าย (ก่อน)	0	6.31^{c}	4.4750±0.01^{a}	5.4450±0.01^{a}	5.4350±0.01^{a}
	4	4.11^{b}	9.1750±0.01^{b}	9.0400±0.01^{b}	9.0400±0.00^{b}
	7 วัน	3.78^{a}	9.2300±0.00^{c}	9.1700±0.00^{c}	9.1150±0.01^{c}
สารสกัดสาหร่าย (หลัง)	7 วัน	3.69^{a}	9.2750±0.01^{c}	9.2300±0.01^{c}	9.1950±0.01^{c}

หมายเหตุ: $^{a-c}$ ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 4.8 แผนภูมิแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ Log(CFU/mL) และเวลาโยเกิร์ตสารสกัดจากสาหร่ายพวงองุ่น 5%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 ทดสอบอายุการเก็บรักษาของโยเกิร์ตผสมสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น

การทดสอบการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในโยเกิร์ตที่มีแหล่งคาร์บอนจากสาหร่ายพวงองุ่นระหว่างกระบวนการหมักโยเกิร์ตของเชื้อโยเกิร์ต 4 สายพันธุ์ได้แก่ *S. thermophillus*, *L. casei, L. acidophilus* และ *B. animalis* พบว่าค่า pH มีค่าลดลงจากเดิมเมื่อเวลาผ่านไป การศึกษาการเจริญของเชื้อผง (*S. thermophillus*, *L. casei, L. acidophillus*, *B. animalis)* ในโยเกิร์ตที่ผสมสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น 5%, 10%, 15% และ 20% โดยเก็บตัวอย่างทุก 1, 7, 14, 21, 28 วัน เมื่อเวลาผ่านไปพบว่าเชื้อ *L. casei, L. acidophilus* ลดลงอย่างเห็นได้ชัดเมื่อระยะเวลา 14 วัน ส่วนเชื้อ *S. thermophillus* เจริญได้มากที่สุดในระยะเวลา 7 วัน ส่วนเชื้อ *B. animalis* มีจำนวนจุลินทรีย์ลดลงอย่างเห็นได้ชัดในวันที่ 14 และเมื่อศึกษาจำนวนจุลินทรีย์ *L. casei, L. acidophillus* ที่มีสารสกัด 5%, 10%, 15% และไม่มีสารสกัดสาหร่ายเมื่อครบ 28 วัน เหลือจำนวนจุลินทรีย์คือ 5.9390±0.16, 5.8800±0.24, 6.3758±0.10, 5.6920±0.21 Log (CFU/mL) จำนวนจุลินทรีย์ *S. thermophillus* ที่สารสกัด 5%, 10%, 15% และไม่มีสารสกัดสาหร่ายเมื่อครบ 28 วัน เหลือจำนวนจุลินทรีย์คือ 8.4033±0.12, 8.4733±0.01, 8.4033±0.06 และ 8.3187±0.16 Log (CFU/mL) จำนวนจุลินทรีย์ *B. animalis* ที่สารสกัด 5%, 10%, 15% และไม่มีสารสกัดสาหร่ายเมื่อครบ 28 วัน เหลือจำนวนจุลินทรีย์คือ 8.0600±0.17, 7.9653±0.02, 7.8500±0.13 และ 7.8867±0.03 Log (CFU/mL) เมื่อศึกษาการเก็บรักษาโยเกิร์ตพบว่าที่สารสกัด 5% ดีสุด เนื่องจากเมื่อครบ 28 วันยังเหลือจำนวนเชื่อจุลินทรีย์ที่มากสุดเมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นอื่นแสดงให้เห็นว่ามีจำนวนจุลินทรีย์เหมาะสมจนกระทั่งถึงผู้บริโภค

ผลการวิเคราะห์การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ผง (*S. thermophillus*, *L. casei, L. acidophillus*, *B. animalis)* ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มผสมสารสกัดสาหร่ายโดยใช้การวิเคราะห์ทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ค่า pH และLog (CFU/mL) มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญกัน ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.13 ค่าpHของโยเกิร์ตผสมสารสกัดจากสาหร่าย

	ตัวอย่าง				
เวลาการเก็บรักษา	Control	สารสกัด 5%	สารสกัด 10%	สารสกัด 25%	สารสกัด 20%
1 วัน	0.66±0.01^{a}	0.67±0^{a}	0.64±0.01^{b}	0.68±0.02^{a}	0.63±0.02^{b}
7 วัน	0.77±0.04^{a}	0.83±0.01^{b}	0.84±0.01^{b}	0.74±0.01^{a}	0.77±0.01^{a}
14 วัน	0.89±0.03^{a}	0.94±0.02^{b}	0.88±0.01^{a}	0.87±0.03^{a}	-
21 วัน	0.83±0.04^{a}	0.9±0.01^{b}	0.9±0.02^{b}	0.85±0.02^{ab}	-
28 วัน	0.88±0.03^{a}	0.84±0.02^{b}	0.89±0.01^{a}	0.81±0.01^{c}	-

หมายเหตุ: $^{a-c}$ ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.14 การเจริญของเชื้อ *L. casei, L. acidophilus* ของโยเกิร์ตผสมสารสกัดจากสาหร่าย

อายุการเก็บรักษา	ตัวอย่าง				
	control	สารสกัด 5%	สารสกัด 10%	สารสกัด 15%	สารสกัด 20%
1 วัน	8.4033±0.07^{d}	8.3600±0.11^{b}	8.3400±0.03^{e}	8.1733±0.13^{c}	8.3767±0.07^{b}
7 วัน	8.0500±0.06^{ab}	8.000±0.19^{a}	7.5400±0.08^{b}	8.0333±0.08^{b}	7.4930±0.20^{a}
14 วัน	8.2700±0.01^{c}	8.3633±0.06^{b}	8.1500±0.02^{d}	8.0133±0.08^{b}	-
21 วัน	8.1533±0.09^{b}	8.2467±0.02^{b}	7.9700±0.03^{c}	7.9667±0.04^{b}	-
28 วัน	8.0167±0.03^{a}	8.2667±0.02^{b}	7.2533±0.06^{a}	7.4133±0.05^{a}	-

หมายเหตุ: $^{a-e}$ ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 4.15 การเจริญของเชื้อ *S. thermophillus* ของโยเกิร์ตผสมสารสกัดจากสาหร่าย

อายุการเก็บรักษา	ตัวอย่าง				
	control	สารสกัด 5%	สารสกัด 10%	สารสกัด 15%	สารสกัด 20%
1 วัน	8.9690±0.02d	8.9343±0.07^{c}	9.0333±0.02^{d}	8.9733±0.03^{d}	8.9267±0.02^{a}
7 วัน	8.7567±0.06^{c}	10.4467±0.01^{d}	10.4767±0.01^{e}	10.4533±0.01^{e}	8.9033±0.06^{a}
14 วัน	8.9690±0.02^{a}	8.3967±0.07^{b}	8.4533±0.02^{c}	8.0533±0.03^{b}	-
21 วัน	8.7567±0.06^{b}	8.3933±0.03^{b}	8.3567±0.02^{b}	8.2733±0.02^{c}	-
28 วัน	8.0633±0.04^{a}	8.0317±0.03^{a}	7.4500±0.02^{a}	7.9300±0.03^{a}	-

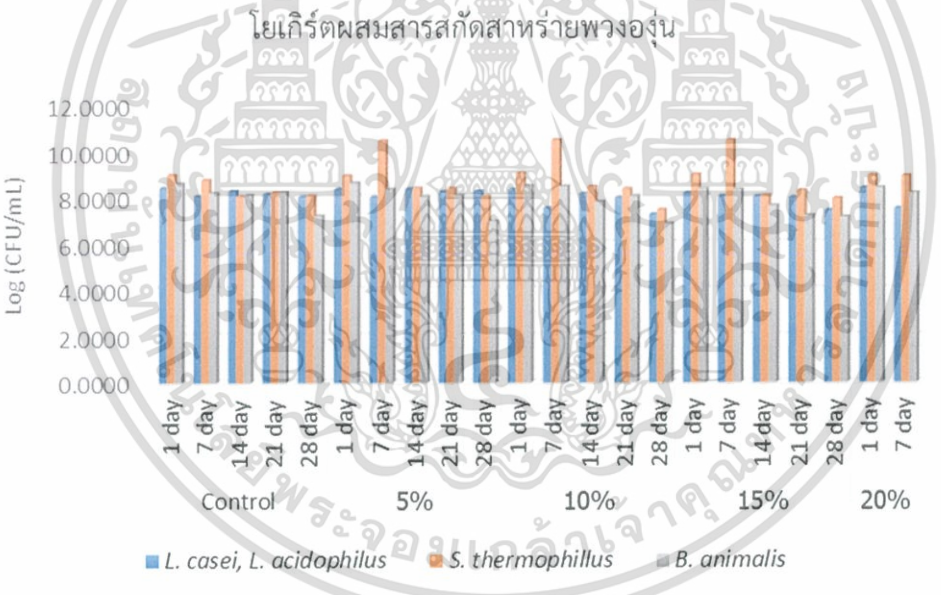
หมายเหตุ: $^{a-e}$ ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.16 การเจริญของเชื้อ *B. animalis* ของโยเกิร์ตผสมสารสกัดจากสาหร่าย

	ตัวอย่าง				
Self life	control	สารสกัด 5%	สารสกัด 10%	สารสกัด 15%	สารสกัด 20%
1 day	8.6000±0.16^{c}	8.6300±0.14^{d}	8.4833±0.01^{d}	8.3500±0.09^{c}	8.3900±0.21
7 day	8.1900±0.07^{b}	8.5333±0.06^{c}	8.4667±0.02^{d}	8.3200±0.03^{c}	8.1667±0.03
14 day	8.1000±0.16^{b}	8.0267±0.02^{b}	7.8100±0.02^{b}	7.6267±0.13^{b}	-
21 day	8.2233±0.02^{b}	8.0800±0.03^{b}	8.4667±0.02^{c}	7.1967±0.02^{a}	-
28 day	7.2033±0.09^{a}	6.9733±0.13^{a}	6.8667±0.07^{a}	7.1333±0.07^{a}	-

หมายเหตุ: $^{a-c}$ ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยที่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



ภาพที่ 4.9 แผนภูมิแท่งแสดงความสัมพันธ์ระหว่างจำนวนเซลล์ Log(CFU/mL) และเวลาโยเกิร์ตสารสกัดจากสาหร่ายพวงองุ่นที่ความเข้มข้นต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผล

จากผลการทดลองผลของแหล่งคาร์บอนจากสาหร่ายพวงองุ่นต่อการเจริญของแบคทีเรียแลคติกและแบคทีเรียก่อโรคสามารถสรุปได้ว่าในการสกัดแหล่งคาร์บอนในสาหร่ายพวงองุ่นโดยการใช้ตัวทำละลายคือน้ำที่ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมงในอัตราสาหร่าย 1 ต่อน้ำ 20 เหมาะสมที่จะเป็นแหล่งคาร์บอนเนื่องจากปริมาณน้ำตาลทั้งหมด น้ำตาลรีดิวซ์ และ DP มากที่สุด เมื่อนำมาศึกษาการเจริญของแบคทีเรียแลคติก (*S. thermophillus*, *L. acidophillus*, *L. casei* และ *B.animalis*) ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน ได้แก่ กลูโคส ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (FOS) และสาหร่ายพวงองุ่น เป็นเวลา 36 ชั่วโมง โดยเก็บตัวอย่างทุกๆ 12 ชั่วโมง พบว่าเชื้อจุลินทรีย์เจริญได้ดีในแหล่งคาร์บอนฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ สาหร่ายพวงองุ่น และกลูโคส ทั้งสามแหล่งคาร์บอนจุลินทรีย์แลคติกสามารถเจริญได้ดีใกล้เคียงกันทั้งสามแหล่งคาร์บอนโดยเจริญได้ดีสุดที่ความเข้มข้น 3.5% ส่วนจุลินทรีย์ก่อโรคเจริญได้ดีในแหล่งคาร์บอนกลูโคส และไม่เจริญในแหล่งคาร์บอนสาหร่ายพวงองุ่น และฟรุกโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์เนื่องจากความเข้มข้น 3.5% มีแหล่งคาร์บอนมากที่เชื่อสามารถนำไปใช้ได้ เมื่อนำสาหร่ายพวงองุ่นมาทำเป็นส่วนผสมของน้ำเชื่อมใส่ลงไปในโยเกิร์ตที่ความเข้มข้น 1% และ 10% โดยจะใส่ไซรัปสาหร่ายพวงองุ่นก่อนการหมักโยเกิร์ตและหลังหมักโยเกิร์ต ซึ่งการใส่ไซรัปสาหร่ายพวงองุ่นลงไปหลังหมักโยเกิร์ตทำให้แบคทีเรียแลคติก(*S. thermophillus*, *L. acidophillus*, *L. casei* และ *B. animalis*) เจริญได้ดีกว่าการใส่ไซรัปสาหร่ายพวงองุ่นลงไปก่อนหมักโยเกิร์ต หลังจากนั้นนำสาหร่ายพวงองุ่นมาทำเป็นสารสกัดใส่ลงไปในโยเกิร์ตที่ความเข้มข้น 5%,10%,15% และ 20% โดยจะใส่สารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นลงไปหลังจากหมักโยเกิร์ตเสร็จแล้วซึ่งทำให้แบคทีเรียแลคติก (*S. thermophillus*, *L. acidophillus*, *L. casei* และ *B. animalis*) เจริญได้ดีในโยเกิร์ตที่ผสมสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่น 5%, 10%, 15% และ 20% ตามลำดับ

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อผลได้ของพอลิแซคคาร์ไรด์มากที่สุดคืออุณหภูมิในการสกัด และอัตราส่วนระหว่างสาหร่ายแห่งต่อน้ำ

5.2.3 ความเข้มข้นของสารสกัดมีผลกับการเจริญของแบคทีเรียแลคติก (*S. thermophillus*, *L. acidophillus*, *L. casei* และ *B. animalis*)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

ขวัญเรือน สุวรรณรัตน์. 2545. สาหร่ายขนนก. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.nicaonline.com/Index.php?option=com. 10 พฤศจิกายน 2561.

คณาจารย์คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. 2015. *E.coli*. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: https://pharmacy.mahidol.ac.th/th/knowledge/article. 20 มิถุนายน 2561.

ณัฏวลินคล เศรษฐปราโมทย์. 2559. ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตสาหร่ายเตา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: https://opac.psu.ac.th/BibDetail.aspx?bibno=411787. 25 เมษายน 2562.

นิรนาม. 2015. โยเกิร์ต. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: https://allabout-japan.com/th. 10 ตุลาคม 2561.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปานนท์. 2553. Lactic acid bacteria/แบคทีเรียผลิตกรดแลคทิก. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0782/lactic-acid-bacteria. 10 พฤศจิกายน 2561.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปานนท์. 2553. Prebiotic/พรีไบโอติก. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0781/prebiotic. 10 ตุลาคม 2561.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปานนท์. 2553. Probiotic/โพรไบโอติก. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: https://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0780/probiotic. 10 ตุลาคม 2561.

ภัณฑิลา อุดร. 2556. สไปโรไจรา (เทาน้ำ). [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://biology.ipst.ac.th/?p=971. 11 พฤศจิกายน 2561.

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์สาธารณสุข กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณะสุข. 2557. *E.coli*. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://nih.dmsc.moph.go.th/data/data/fact_sheet/12_57.pdf. 20 มิถุนายน 2561.

สุนทร ตรีนันทวัน. 2553. สาหร่ายไก. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.scimath.org/article-biology/item/586-cladophora-glomerata-kutzing. 13 พฤศจิกายน 2561.

สุนัดดา โยมญาติ. 2557. โยเกิร์ต (Yogurt). [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: https://biology.ipst.ac.th. 19 ตุลาคม 2561.

สุพล ตั่นสุวรรณ และมนทกานติ ท้ามติ้น และสันติภาพ แซ่เฮ้า. 2553. สาหร่าย. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: https://www.fisheries.go.th/cf-coastal_feed/image/stories/pdf. 13 พฤศจิกายน 2561.

สุภนิดา พัฒนาธร และพิมพรรณ เทียนพูล. 2559. ผลของแก่นตะวันต่อแบคทีเรียแลคติกในซอร์เบทโปรไบโอติก. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: https://www.tci-thaijo.org/index.php/vrurdistjournal/article. 20 มิถุนายน 2561.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุวิมล เจริญสิทธิ และคณะ. 2559. คุณสมบัติความเป็นพรีไบโอติกของสาหร่ายสีน้ำตาลโดยใช้วิธีการสกัดสาหร่ายที่ต่างกัน. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: https://research.ku.ac.th/forest/ProjectByPerson.aspx. 25 เมษายน 2562.

ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงชายฝั่ง. 2559. สาหร่ายพวงองุ่น. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: https://www.fisheries.go.th/cf-phetchaburi. 25 เมษายน 2562.

ไทยเกษตรศาสตร์. 2557. ลักษณะของโยเกิร์ตที่ดี. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: https://www.thaikasart.com. 19 ตุลาคม 2561.

Charoensiddhi, S., Conlon, M, L., Vuaran, M, S. and Christopher, F, M. and Zhang, W. 2016. Impact of extraction processes on prebiotic potential of the brown seaweed Ecklonia radiata by in vitro human gut bacteria fermentation, 24, 221-230.

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

ก.1 น้ำเกลือเจือจาง

1. NaCl	8.5	กรัม
2. Distilled water	1	ลิตร

ก.2 Basal Media

1. KH_2PO_4	0.1	กรัม
2. K_2HPO_4	0.3	กรัม
3. Yeast Extract	1.0	กรัม
4. Peptone	5.0	กรัม
5.$MgSo_4$	0.2	กรัม
6. $(NH_4)_2SO_4$	2.5	กรัม
7. Carbon source	10.0	กรัม
8. Distilled Water	1	ลิตร

ละลายส่วนประกอบข้างต้นในน้ำกลั่น 1 ลิตร ปรับ pH 7.0 นำไปฆ่าเชื้อที่หม้อนึ่งความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ก.3 Lactobacillus MRS Agar

1. Proteose peptone	10	กรัม
2. Meat extract	10	กรัม
3. Yeast extract	5	กรัม
4. Dextrose	20	กรัม
5. Polysorbate	1	กรัม
6. Ammonium citrate	2	กรัม
7. Sodium acetate	5	กรัม
8. Magnesium sulphate	0.1	กรัม
9. Manganese sulphate	0.5	กรัม
10. Dipotassium phosphate	2	กรัม
11. Agar	12	กรัม
12. Distrilled water	1	ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่งอาหาร 67.15 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้ความร้อนจนเดือด ปรับพีเอชให้ได้6.5±0.2 นำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ก4. Bifidobacterium Agar

1. Peptone	23	กรัม
2. Sodium chloride	5	กรัม
3. Glucose	5	กรัม
4. Starch,soluble	1	กรัม
5. L-Cysteine hydrochloride	0.3	กรัม
6. Agar	15	กรัม
7. Distrilled water	1	ลิตร

ชั่งอาหาร 49.3 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้ความร้อนจนเดือด ปรับพีเอชให้ได้6.5±0.2 นำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ก5. M17 Agar Base

1. Peptic digest of animal tissue	5	กรัม
2. Peptic digest of soyaben meal	5	กรัม
3. Yeast extract	2.5	กรัม
4. Beef extract	5	กรัม
5. Ascorbic acid	0.5	กรัม
6. Magnesium sulphate	0.25	กรัม
7. Lactose	5	กรัม
8. Agar	10	กรัม
9. Distrilled water	1	ลิตร

ชั่งอาหาร 33.25 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้ความร้อนจนเดือด ปรับพีเอชให้ได้6.5±0.2 นำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก7. EMB Agar, Levine

1. Peptone	10	กรัม
2. Dipotassium Phosphate	2	กรัม
3. Lactose	10	กรัม
4. Eosin-Y	0.4	กรัม
5. Methylene blue	0.065	กรัม
6. Agar	15	กรัม
7. Distilled water	1	ลิตร

ชั่งอาหาร 37.46 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 1 ลิตร ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้ความร้อนจนเดือด ปรับพีเอชให้ได้ 7.1±0.2 นำไปฆ่าเชื้อใน autoclave ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
วิธีการเตรียมสารเคมี

ข1. Dinitrosalicylic reagent (DNS reagent)

1. ละลาย 3,5-dinitrosalicylic 1 กรัม ใน 2 นอร์มอล NaOH 20 มิลลิลิตร
2. เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร จากนั้นเติม Potassium tatrate ลงไป 30 กรัม คนให้ละลาย
3. ปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร

ข2. สารละลายฟีนอล 5 เปอร์เซ็นต์

1. ชั่งฟีนอล 5 กรัม ใส่ในบีกเกอร์
2. เติมน้ำกลั่น 95 กรัม ใช้แท่งแก้วคนให้ละลาย

ข3. สารละลายกลูโคสมาตรฐานสำหรับวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์

1. เตรียมสารละลายกลูโคส 5.0 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร โดยละลายกลูโคส 0.0901 กรัม ในน้ำกลั่น
2. ปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร

ข4. Stock solution สำหรับวิเคราะห์น้ำตาลทั้งหมด

1. เตรียมสารละลายกลูโคส 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยละลายกลูโคส 0.04 กรัม ในน้ำกลั่น
2. ปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร

ข5. สารละลายกรดไฮโดรคลอริก 1 N

1. ปิเปต 37 เปอร์เซ็นต์กรดไฮโดรคลอริก 8.26 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร
2. ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

ข6. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N

1. ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น
2. ปรับปริมาตรในขวดปรับปริมาตรขนาก 500 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
วิธีการวิเคราะห์

ค1. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธีฟีนอล-กรดซัลฟิวริก

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส 0.04 กรัม ในขวดปรับปริมาตรขนาก 100 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นจนถึงปริมาตร ละลายสารละลายกลูโคสที่ได้จะมีความเข้มข้น 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

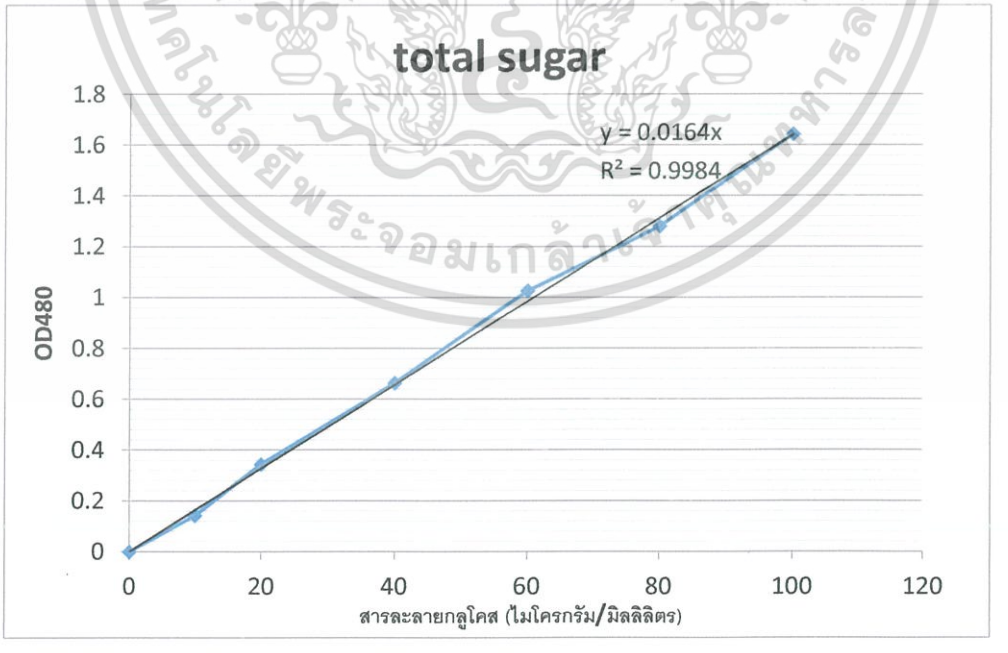
2. เตรียมสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 0, 10, 20, 40, 60 และ 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

3. ปิเปตสารละลายมาตรฐาน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองแล้วเติมสารละลายฟีนอล 5 เปอร์เซ็นต์ 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

4. เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 5 มิลลิลิตร ปล่อยให้กรดซัลฟิวริกไหลลงบนผิวของสารละลายในหลอดทดลองโดยตรงเพื่อให้มีการผสมที่ดีและรวดเร็วอย่าปล่อยให้กรดซัลฟิวริกไหลลงตรงข้างหลอด หลังจากนั้นเขย่าให้เข้ากัน

5. ตั้งหลอดทิ้งไว้ 10 นาทีแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 480 นาโนเมตร

6. วิธีวิเคราะห์ทำเช่นเดียวกับการทำกราฟมาตรฐานที่กล่าวไปและสำหรับตัวควบคุมให้เตรียมโดยใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายตัวอย่าง



ภาพที่ ค. 1 กราฟมาตรฐานน้ำตาลทั้งหมดโดยวิธีฟีนอล-กรดซัลฟิวริก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค2. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี DNS (กรด 3,5-ไดไนโตรซาลิไซลิก) และผลการวิเคราะห์

1 เตรียมสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส 0.1 กรัม ในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นจนถึงปริมาตร สารละลายกลูโคสที่ได้จะมีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2 ปิเปตสารละลายกลูโคสมาตรฐาน 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, และ 1.0 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นโดยให้ปริมาณน้ำกลั่นในแต่ละหลอดเป็น 1 มิลลิลิตร

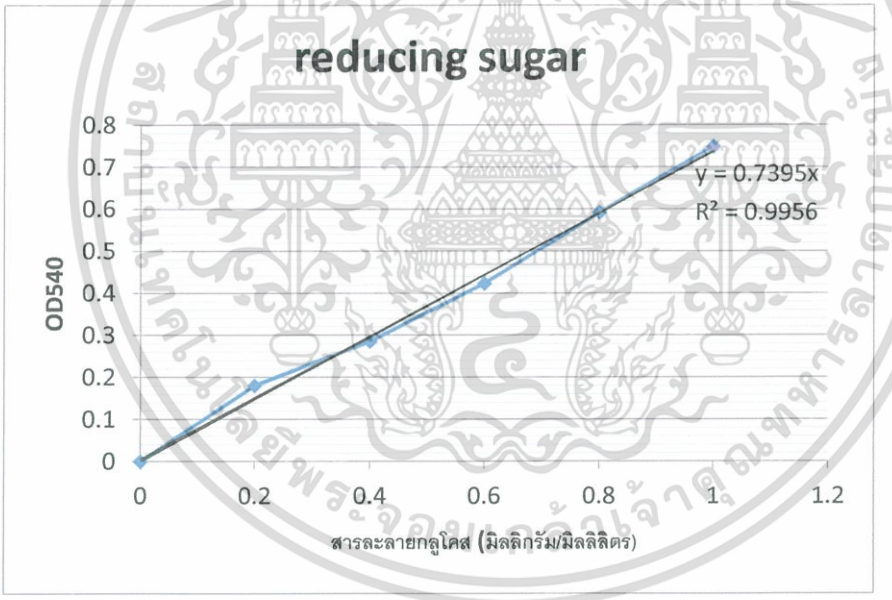
3 เติมกรด 3,5-ไดไนโตรซาลิไซลิก หลอดละ 1.0 มิลลิลิตร

4 แช่หลอดทดลองในน้ำเดือดนาน 5 นาที และนำมาแช่ในน้ำเย็นทันทีนาน 5 นาที

5 เมื่อเย็นถึงอุณหภูมิห้องแล้วให้เติมน้ำกลั่นลงไปในหลอดหลอดละ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

6 นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

7 วิธีวิเคราะห์ทำเช่นเดียวกับการทำกราฟมาตรฐานที่กล่าวไปและสำหรับตัวควบคุมให้เตรียมโดยใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายตัวอย่าง



ภาพที่ ค2. กราฟมาตรฐาน DNS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
วิธีการคำนวณ

ง1. ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

ผลตรวจน้ำตาลในสาหร่ายพวงองุ่น

ตารางที่ ง1.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของสาหร่ายพวงองุ่น

ซ้ำที่	การเจือจาง	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)	แทนในสมการ	เฉลี่ย
1	10^{-1}	3.165	1978.125	1966.042
2	10^{-1}	3.134	1958.750	
3	10^{-1}	3.138	1961.250	
1	10^{-2}	1.621	10131.250	10472.917
2	10^{-2}	1.670	10437.500	
3	10^{-2}	1.736	10850.000	
1	10^{-3}	0.528	33000.000	33187.500
2	10^{-3}	0.506	31625.000	
3	10^{-3}	0.559	34937.500	
1	10^{-4}	0.154	96250.000	93125.000
2	10^{-4}	0.144	90000.000	
3	10^{-4}	0.149	93125.000	
1	10^{-5}	0.129	806250.000	727083.333
2	10^{-5}	0.096	600000.000	
3	10^{-5}	0.124	775000.000	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง1.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของสาหร่ายพวงองุ่น

ซ้ำที่	การเจือจาง	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)	แทนในสมการ	เฉลี่ย
1	10^{-1}	0.335	4.533	4.822
2	10^{-1}	0.379	5.128	
3	10^{-1}	0.355	4.804	
1	10^{-2}	0.016	2.165	1.624
2	10^{-2}	0.012	1.624	
3	10^{-2}	0.008	1.083	
1	10^{-3}	0.000	0	0.451
2	10^{-3}	0.001	1.353	
3	10^{-3}	0.000	0	

ตารางที่ ง1.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของสาหร่ายพวงองุ่นลวก

การเจือจาง	ซ้ำ	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)	แทนในสมการ	เฉลี่ย
ไม่เจือจาง	1	3.348	283.729	283.814
	2	3.354	284.237	
	3	3.345	283.475	
10^{-1}	1	2.654	2249.153	2247.458
	2	2.651	2246.610	
	3	2.651	2246.610	
10^{-2}	1	0.318	2694.915	2697.740
	2	0.320	2711.864	
	3	0.317	2686.4407	
10^{-3}	1	0.026	2203.390	2146.893
	2	0.026	2203.390	
	3	0.024	2033.898	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง1.4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของสาหร่ายพวงองุ่นด้วยวิธีล้างกรด

การเจือจาง	ซ้ำ	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)	แทนในสมการ	เฉลี่ย
ไม่เจือจาง	1	3.462	293.390	293.362
	2	3.460	293.220	
	3	3.463	293.475	
10^{-1}	1	3.014	2554.237	2553.672
	2	3.016	2555.932	
	3	3.010	2550.847	
10^{-2}	1	0.562	4762.712	4765.537
	2	0.565	4788.136	
	3	0.560	4745.763	
10^{-3}	1	0.049	4152.542	4152.542
	2	0.047	3983.051	
	3	0.051	4322.034	

ตารางที่ ง1.5 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของสาหร่ายพวงองุ่นด้วยวิธีล้างกรด

การเจือจาง	ซ้ำ	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)	แทนในสมการ	เฉลี่ย
ไม่เจือจาง	1	3.346	283.559	283.33
	2	3.341	283.136	
	3	3.343	283.305	
10^{-1}	1	2.780	2355.932	2355.085
	2	2.781	2356.780	
	3	2.776	2352.542	
10^{-2}	1	0.353	2991.525	2988.701
	2	0.350	2966.102	
	3	0.355	3008.475	
10^{-3}	1	0.028	2372.881	2146.893
	2	0.025	2118.644	
	3	0.023	1949.153	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง1.6 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของสาหร่ายพวงองุ่นด้วยวิธีลวก

การเจือจาง	ซ้ำ	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)	แทนในสมการ	เฉลี่ย
ไม่เจือจาง	1	0.372	0.503	0.503
	2	0.370	0.500	
	3	0.375	0.507	
1:2	1	0.190	0.257	0.257
	2	0.189	0.256	
	3	0.191	0.258	
10^{-1}	1	0.021	0.028	0.029
	2	0.020	0.027	
	3	0.023	0.031	

ตารางที่ ง1.7 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของสาหร่ายพวงองุ่นด้วยวิธีล้างกรด

การเจือจาง	ซ้ำ	ค่าการดูดกลืนแสง (nm)	แทนในสมการ	เฉลี่ย
ไม่เจือจาง	1	0.390	0.527	0.529
	2	0.392	0.530	
	3	0.391	0.529	
1:2	1	0.175	0.237	0.237
	2	0.173	0.234	
	3	0.177	0.239	
10^{-1}	1	0.026	0.035	0.033
	2	0.025	0.034	
	3	0.023	0.031	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ง2. คำนวณปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในสาหร่ายพวงองุ่นที่อัตรา 1:20

น้ำตาลทั้งหมดจากตารางที่ ง1.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดของสาหร่ายพวงองุ่นคือ 33.187 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ง3. การคำนวณสารสกัดสาหร่ายพวงองุ่นในอาหาร Basal medium

ความเข้มข้น=(ความเข้มข้น×ปริมาตรที่ต้องการทั้งหมด) / ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

ปริมาตรสาหร่าย=ความเข้มข้น/น้ำตาลทั้งหมดของตัวอย่าง

ปริมาตรน้ำกลั่น=ปริมาตรที่ต้องการเตรียม-ปริมาตรสาหร่าย

1.ความเข้มข้นของสาหร่ายพวงองุ่น 150 มิลลิกรัม / 10 มิลลิลิตร

ต้องการเตรียมอาหาร Basal medium ปริมาตร100 มิลลิลิตร

$$\frac{150\times100}{10} = 1500$$

ปริมาตรสาหร่ายพวงองุ่นที่ได้

$$\frac{1500}{33.187} = 45.198 \text{ ml}$$

ปริมาตรน้ำกลั่นที่ได้ 100-45.198=54.800 ml

2. ความเข้มข้นของสากร่ายพวงองุ่น 250 มิลลิกรัม / 10 มิลลิลิตร

ต้องการเตรียมอาหาร Basal medium ปริมาตร100 มิลลิลิตร

$$\frac{250 \times 100}{10} = 2500$$

$$\frac{2500}{33.187} = 75.33$$

ปริมาตรสาหร่ายพวงองุ่นที่ได้

$$\frac{2500}{33.187} = 75.33 \text{ ml}$$

ปริมาตรน้ำกลันที่ได้ 100-75.33=24.67 ml

ง4. คำนวณปริมาณน้ำตาลของสาหร่ายพวงองุ่นในโยเกิร์ต

เปอร์เซ็น×ความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมด

1. โยเกิร์ตสาหร่ายพวงองุ่น 5%

$$\frac{5}{100} \times 33.187 = 1.65$$

ปริมาณน้ำตาลในโยเกิร์สาหร่ายพวงองุ่น 5% =1.65 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. โยเกิร์ตสาหร่ายพวงองุ่น 10%

$$\frac{10}{100} \times 33.187 = 3.32$$

ปริมาณน้ำตาลในโยเกิร์ตสาหร่ายพวงองุ่น 10% =3.32มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3. โยเกิร์ตสาหร่ายพวงองุ่น 15%

$$\frac{15}{100} \times 33.187 = 4.99$$

ปริมาณน้ำตาลในโยเกิร์สาหร่ายพวงองุ่น 15% =4.99มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

4. โยเกิร์ตสาหร่ายพวงองุ่น 20%

$$\frac{20}{100} \times 33.187 = 6.64$$

ปริมาณน้ำตาลในโยเกิร์สาหร่ายพวงองุ่น 20% =6.64มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาววนิดา ธัญญานนท์
วัน เดือน ปี เกิด	12 กรกฎาคม 2539
ประวัติการศึกษา	ปีการศึกษา 2557 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนมัธยมวานรนิวาส แผนการเรียนวิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์ ปีการศึกษา 2561 ระดับการศึกษาระดับปริญญาตรี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง คณะอุตสาหกรรมเกษตร สาขาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม
ประสบการณ์การทำงานและผลงานวิจัย	บริษัท ฟรีสแลนด์ คัมพีน่า (ประเทศไทย) จำกัด (มหาชน) (นักศึกษาฝึกงาน) แผนก production และผลงานวิจัยผลของแหล่งคาร์บอนจากสาหร่ายพวงองุ่นต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแลคติกในโยเกิร์ต
รางวัลที่เคยได้รับ	-

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวอารยา อาลี
วัน เดือน ปี เกิด	28 กุมภาพันธ์ 2540
ประวัติการศึกษา	ปีการศึกษา 2557 มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนหนองจอกพิทยานุสสรณ์มัธยม แผนการเรียนวิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์ ปีการศึกษา 2561 ระดับการศึกษาระดับปริญญาตรี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง คณะอุตสาหกรรมเกษตร สาขาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม
ประสบการณ์การทำงานและผลงานวิจัย	พฤษภาคม 2561 - มิถุนายน 2561 บริษัท นิดา ฟู้ด จำกัด (นักศึกษาฝึกงาน) แผนกฝ่ายควบคุมคุณภาพ ฝ่ายประกันคุณภาพ และผลงานวิจัยผลของแหล่งคาร์บอนจากสาหร่ายพวงองุ่นต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแลคติกในโยเกิร์ต
รางวัลที่เคยได้รับ	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้