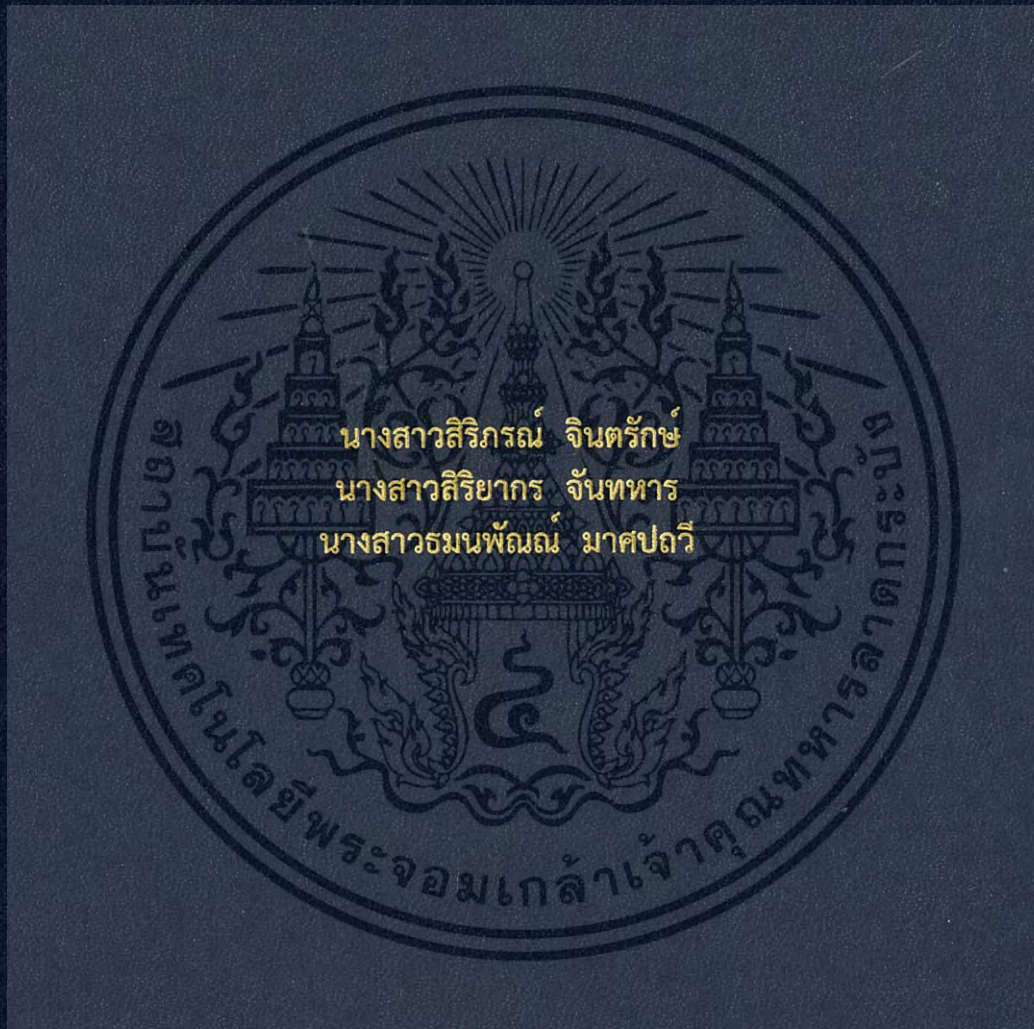


ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโยเกิร์ตถั่วลิสง

Anti-bacterial growth and Anti-oxidation Activity of Peanut Yoghurt



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโยเกิร์ตถั่วลิสง

Anti-bacterial growth and Anti-oxidation Activity of Peanut Yoghurt



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

ภาควิชา ชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Anti-bacterial growth and Anti-oxidation Activity of Peanut Yoghurt



A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE
IN INDUSTRIAL MICROBIOLOGY
DEPARTMENT OF BIOLOGY
FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
ACADEMIC YEAR 2015

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโยเกิร์ตถั่วลิสง

Anti-bacterial growth and Anti-oxidation Activity of Peanut Yoghurt

ชื่อนักศึกษา นางสาวสิริยากร จันทหาร รหัสนักศึกษา 55051406

นางสาวสิริภรณ์ จินตรักษ์ รหัสนักศึกษา 55051405

นางสาวธมนพัฒน์ มาศปถวี รหัสนักศึกษา 55051413

ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

ภาควิชา ชีววิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ธนาวัต ก่ออานันต์

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้ เป็นส่วน
หนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ประจำปีการศึกษา 2558

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ลินจง สุขล้ำภู ประธานกรรมการ	กิริทอง นรสิงห์ ว. ๗
ดร.ดวงกมล เรือนงาม กรรมการ	อภิรักษ์ (สีชมพู)
อ.ธนาวัต ก่ออานันต์ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	เทอดดี ก่ออานันต์

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ ฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโยเกิร์ตถั่วลิสง

Anti-bacterial growth and Anti-oxidation Activity of Peanut Yoghurt

ชื่อนักศึกษา นางสาวสิริยากร จันทหาร รหัสนักศึกษา 55051406

นางสาวสิริภรณ์ จินตรักษ์ รหัสนักศึกษา 55051405

นางสาวমনพัฒน์ มาศปถวี รหัสนักศึกษา 55051413

ปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

ภาควิชา ชีววิทยา

อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์ธนาดี ก่ออานันต์

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีจุดประสงค์เพื่อศึกษาความสามารถของเชื้อแบคทีเรียแลคติกในการผลิตโยเกิร์ตจากถั่วลิสง ด้วยเชื้อ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Leuconostoc mesenteroides*, และเชื้อผสมระหว่าง *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* กับ *S. thermophilus* และทดสอบการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรคในทางเดินอาหาร ได้แก่ *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* และ *Salmonella typhimurium* นอกจากนี้ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH free radical scavenging โดยเริ่มจากเตรียม นํ้านมถั่วลิสง (อัตราส่วนถั่วต่อนํ้า ประมาณ 1:8) เติมนมผงประมาณ 2 % และ 4 % ก่อนนำไปพาสเจอร์ไรส์ แล้วเติมหัวเชื้อที่มีค่า OD ประมาณ 0.5 ลงไป 5 % (v/v) นำไปหมักที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส กระทั่งมีค่าความเป็นกรดประมาณ 4-4.5 และการทดสอบจากเชื้อบริสุทธิ์ได้โดยเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแลคติกในอาหารเหลว MRS และเก็บตัวอย่างทั้งโยเกิร์ตและเชื้อแบคทีเรียแลคติก ที่เวลา 0 - 120 ชั่วโมง ผลการทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียด้วยวิธี agar well diffusion พบว่า โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อผสมระหว่าง *L. bulgaricus* กับ *S. thermophilus* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *S. aureus* และ *S. typhimurium* ได้ดีที่สุด และเชื้อ *L. bulgaricus* สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E. coli* ได้ดีที่สุด ส่วนแบคทีเรียในอาหาร MRS พบว่า *L. bulgaricus* กับ *S. thermophilus* สามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* และ *S. typhimurium* ได้ดีที่สุด และเชื้อ *L. bulgaricus* สามารถยับยั้ง *E. coli* ได้ดีที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าโยเกิร์ตที่ได้จากเชื้อ *L. bulgaricus* มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด

คำสำคัญ: โยเกิร์ต, แบคทีเรียแลคติก, ถั่วลิสง, ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title Anti-bacterial growth and Anti-oxidation Activity of Peanut Yoghurt

Student Ms. Siriporn Jintaruk Student ID. 55051405

Ms. Siriyakorn Juntahan Student ID. 55051406

Ms. Thamonpan Matpathawee Student ID. 55051413

Degree Bachelor of Science (Industrial Microbiology)

Department Biology

Academic Year 2015

Advisor Thanavadee Kor-anan

Abstract

This study interests to determine antibacterial activity of peanut yogurt by *Leuconostoc mesenteroides*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* and mixed-culture of *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *S. thermophilus*. In this study, milk peanut was prepared by peanut was mixed with water (ratio = 1:8) and milk powder (2% and 4 %) before pasteurization. This milk was inoculated with bacterial starter (OD=0.5) about 5% and incubated at 37 °C until pH reduced to 4-4.5. Bacteria were cultured in MRS broth and were collected at 0 to 120 hours. Supernatants were tested the antibacterial activity by agar well diffusion testing against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhimurium* including DPPH free radical scavenging activity. It was found that, mixing of *L. bulgaricus* and *S. thermophilus* in peanut yoghurt has the highest antibacterial activity. Pure culturing of *L. bulgaricus* has highest inhibition of *S. aureus* and *S. typhimurium* growth and *L. bulgaricus* inhibited *E. coli* the best. Moreover, *L. bulgaricus* in yoghurt production has the highest antioxidation activity.

Keywords: Yoghurt, Lactic acid bacteria and peanut

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษเล่มนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา อ.ธนาวดี ก่ออานันต์ ให้คำชี้แนะช่วยเหลือในการแก้ปัญหา ในระหว่างทำโครงการพิเศษและตรวจแก้ไขปริญญานิพนธ์ ตลอดจนให้ความรู้และประสบการณ์ที่ดีแก่ข้าพเจ้า ขอขอบพระคุณ ดร.ดวงกมล เรือนงาม และ ผศ.ลินจง สุขล้ำ กรรมการสอบหัวข้อและโครงร่างวิทยานิพนธ์ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำตลอดจนข้อชี้แนะ จนในที่สุดทำให้โครงการพิเศษฉบับนี้สำเร็จลงได้ขอขอบพระคุณ ภาคชีววิทยา ที่ให้ความอนุเคราะห์อาหารเลี้ยงเชื้อ อุปกรณ์ และสารเคมีต่างๆ ที่ใช้ทดลองในโครงการพิเศษนี้

ขอขอบพระคุณ พ่อ แม่ ด้วยความรักและเคารพยิ่ง ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือในระหว่างจัดทำโครงการพิเศษในครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

นางสาวสิริภรณ์ จินตรักษ์

นางสาวสิริยากร จันทหาร

นางสาวธมนพัฒน์ มาศปถวี



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญรูป	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 ทฤษฎี	3
2.2.1 ถั่วลิสง	3
2.2.2 โยเกิร์ต	5
2.2.3 แบคทีเรียแลคติก	10
- โปรไบโอติก	14
2.2.4 จุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร	16
- <i>Escherichia coli</i>	16
- <i>Staphylococcus aureus</i>	18
- <i>Salmonella</i>	21
2.2.5 อนุมูลอิสระ	22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

บทที่ 3 วิธีการทดลอง	27
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี	27
3.1.1 วัสดุดิบ	27
3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์	27
3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ	27
3.1.4 เครื่องมือ	27
3.1.5 วัสดุและเครื่องแก้ว	28
3.1.6 สารเคมี	29
3.2 วิธีการทดลอง	30
3.2.1 ขั้นตอนการผลิตโยเกิร์ตถั่วลิสง	30
3.2.2 การศึกษาปริมาณแบคทีเรียแลคติกและปริมาณกรดในโยเกิร์ตถั่วลิสง ที่บ่มในระยะเวลาต่างกัน	31
3.2.3 ศึกษาความสามารถของแบคทีเรียแลคติกในการยับยั้งเชื้อก่อโรค ในระบบทางเดินอาหาร	31
3.2.4 ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging	32
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	34
4.1 ลักษณะปรากฏของตัวอย่างโยเกิร์ตถั่วลิสงหลังการบ่ม	34
4.2 ผลการศึกษาปริมาณแบคทีเรียแลคติกและปริมาณกรดในโยเกิร์ตถั่วลิสง ที่บ่มในระยะเวลาต่างกัน	40
4.3 ความสามารถของแบคทีเรียแลคติกในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร	46
4.4 ความสามารถของโยเกิร์ตถั่วลิสงในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร	48
4.5 ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของโยเกิร์ตถั่วลิสง	54
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	56
เอกสารอ้างอิง	57
ภาคผนวก	61
ภาค ก	62
ภาค ข	64
ภาค ค	66

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 สารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ (แบคทีเรียโอซิน)	14
2.2 สมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่นของจุลินทรีย์โปรไบโอติกบางชนิด	15
3.1 การเจือจางส่วนไฮโดรเจลตัวอย่าง	33
4.1 แสดงลักษณะปรากฏของตัวอย่างไฮโดรเจลตัวอย่างหลังการบ่ม	34
4.2 ความเป็นกรดต่าง (พีเอช) ในการหมักไฮโดรเจลตัวอย่าง 2 % ที่บ่มในระยะเวลาต่างกัน	40
4.3 ปริมาณกรดทั้งหมดในการหมักไฮโดรเจลตัวอย่าง 2 % ที่บ่มในระยะเวลาต่างกัน	42
4.4 แสดงปริมาณแบคทีเรียแลคติกในการหมักไฮโดรเจลตัวอย่าง 2 % ที่บ่มในระยะเวลาต่างกัน	43
4.5 ความเป็นกรดต่าง (พีเอช) ในการหมักไฮโดรเจลตัวอย่าง 4 % ที่บ่มในระยะเวลาต่างกัน	46
4.6 ปริมาณกรดทั้งหมดในการหมักไฮโดรเจลตัวอย่าง 4 % ที่บ่มในระยะเวลาต่างกัน	47
4.7 แสดงปริมาณแบคทีเรียแลคติกในการหมักไฮโดรเจลตัวอย่าง 4 % ที่บ่มในระยะเวลาต่างกัน	48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ถั่วลิสง	3
2.2 กรรมวิธีผลิตนมถั่วลิสง	9
2.3 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์	24
4.1 โยเกิร์ตถั่วลิสง 4 % จากเชื้อผสมของ <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> กับ <i>S. thermophilus</i>	36
4.2 โยเกิร์ตถั่วลิสง 2 % จากเชื้อผสมของ <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> กับ <i>S. thermophilus</i>	36
4.3 โยเกิร์ตถั่วลิสง 4 % จากเชื้อ <i>S. thermophilus</i>	36
4.4 โยเกิร์ตถั่วลิสง 2 % จากเชื้อ <i>S. thermophilus</i>	37
4.5 โยเกิร์ตถั่วลิสง 4 % จากเชื้อ <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	37
4.6 โยเกิร์ตถั่วลิสง 2 % จากเชื้อ <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	37
4.7 โยเกิร์ตถั่วลิสง 4% จากเชื้อ <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	38
4.8 โยเกิร์ตถั่วลิสง 2 % จากเชื้อ <i>Leuconostoc mesenteroides</i>	38
4.9 ปริมาณแบคทีเรียแลคติกที่เจริญในช่วงระยะเวลาการหมัก	43
4.10 ความเป็นกรดต่าง (พีเอช) ในการหมักโยเกิร์ตถั่วลิสงในระยะเวลาต่างกัน	44
4.11 แสดงปริมาณกรดแลคติกในการหมักโยเกิร์ตถั่วลิสงที่บ่มในระยะเวลาต่างกัน	44
4.12 ปริมาณแบคทีเรียแลคติกของโยเกิร์ตถั่วลิสงที่บ่มในระยะเวลาต่างกัน	45
4.13 การยับยั้งเชื้อ <i>E. coli</i> โดยสารที่สร้างจากแบคทีเรียแลคติก	46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.14 การยับยั้งเชื้อ <i>S. aureus</i> โดยสารที่สร้างจากแบคทีเรียแลคติก	47
4.15 การยับยั้งเชื้อ <i>Salmonella typhimurium</i> โดยสารที่สร้างจากแบคทีเรียแลคติก	47
4.16 การยับยั้งเชื้อ <i>E. coli</i> โดยโยเกิร์ตถั่วลิสงนมผง 2 %	48
4.17 การยับยั้งเชื้อ <i>E. coli</i> โดยโยเกิร์ตถั่วลิสงนมผง 4 %	49
4.18 การยับยั้งเชื้อ <i>S. aureus</i> โดยโยเกิร์ตถั่วลิสงนมผง 2 %	50
4.19 การยับยั้งเชื้อ <i>S. aureus</i> โดยโยเกิร์ตถั่วลิสงนมผง 4 %	51
4.20 การยับยั้งเชื้อ <i>S. typhimurium</i> โดยโยเกิร์ตถั่วลิสงนมผง 2 %	52
4.21 การยับยั้งเชื้อ <i>S. typhimurium</i> โดยโยเกิร์ตถั่วลิสงนมผง 2 %	53
4.22 ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของโยเกิร์ตถั่วลิสง 2 %	55
4.23 ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของโยเกิร์ตถั่วลิสง 4 %	55

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

โยเกิร์ต (yogurt หรือ yoghurt) เป็นผลิตภัณฑ์นมที่จัดอยู่ในกลุ่มนมเปรี้ยว ที่ได้จากการหมักด้วยแบคทีเรียกลุ่มที่ผลิตกรดแลคติกได้ (lactic acid bacteria) ได้แก่ *Lactobacillus subsp. Bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* เป็นต้น แบคทีเรียกลุ่มนี้ผลิตกรดแลคติกเป็นผลผลิตหลัก จากการย่อยน้ำตาล ทำให้สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคได้ เนื่องจากกรดแลคติกที่แบคทีเรียผลิตขึ้นนี้จะทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคที่ปนเปื้อนมาในอาหาร โดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อโรคในระบบลำไส้ เช่น *E. coli*, *Salmonella typhimurium* และ *Staphylococcus aureus* เป็นต้น

ปกติการผลิตโยเกิร์ตในประเทศบัลแกเรียจะใช้นมวัวหรือนมแพะ ที่มีปริมาณของแข็งในน้ำนมสูง นำมาต้มแล้วเติมนมเปรี้ยวที่มีอยู่แล้วลงไปส่วนหนึ่งในน้ำนมที่มีอุณหภูมิ 40–45 องศาเซลเซียส และบ่มนมไว้เป็นเวลา 8–10 ชั่วโมง โดยนำหม้อบรรจุนมนี้มาหุ้มด้วยขนสัตว์และเก็บไว้ในเตาอบเพื่อให้อุณหภูมิคงที่ กระทั่งน้ำนมตกตะกอนมีลักษณะเป็นลิ่ม มีความหนืดสูงและเรียบ มีส่วนใสที่เป็นหางนมเพียงเล็กน้อย ปัจจุบันนี้มีผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตหลายชนิดตามจำหน่ายตามท้องตลาด และได้รับความนิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลาย ทำให้มีการพัฒนาการผลิตโยเกิร์ตโดยใช้วัตถุดิบที่หาได้ง่ายในท้องถิ่น นำมาดัดแปลงส่วนผสม กลิ่นรส ใหม่ ๆ ขึ้น เช่น โยเกิร์ตจากน้ำนมข้าวโพด โยเกิร์ตผลไม้รวม เป็นต้น

ถั่วลิสง เป็นพืชล้มลุกอยู่ในตระกูลถั่ว เช่นเดียวกับถั่วเหลือง และถั่วเขียว เป็นถั่วเมล็ดแห้งซึ่งมีน้ำมันสูง ถูกจัดอยู่ในกลุ่มพืชน้ำมันที่มีความสำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย และยังมีคุณค่าทางโภชนาการสูง และเป็นแหล่งของอาหารประเภทโปรตีนและพลังงาน นอกจากนี้ในเมล็ดถั่วลิสงยังมีสารต้านอนุมูลอิสระสูง เช่น วิตามินอี ฟีนอลิก และสติลบินส์ เป็นต้น ที่ช่วยป้องกันการเกิดโรค เนื่องจากถั่วลิสงมีองค์ประกอบที่มีสมบัติต้านอนุมูลอิสระสูง

การศึกษานี้จึงสนใจที่ ทดสอบผลิตโยเกิร์ตที่ใช้ถั่วลิสงทดแทนนมวัว และปรับปรุงสภาวะการผลิตให้ได้โยเกิร์ตที่มีสมบัติดีขึ้น กระทั่งใช้ถั่วลิสงทดแทนนมวัวได้ทั้งหมด โดยทดสอบผลิตโยเกิร์ตด้วยแบคทีเรียกลุ่มที่สร้างกรดแลคติกได้หลายชนิด เปรียบเทียบคุณลักษณะของโยเกิร์ตที่ผลิตได้จากแต่ละชนิดแบคทีเรีย และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อโรคในระบบทางเดินอาหารของแต่ละผลิตภัณฑ์

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. เพื่อศึกษากรรมวิธีการผลิตโยเกิร์ตจากถั่วลิสง
2. เพื่อศึกษาการเจริญของแบคทีเรียแลคติกและปริมาณกรดแลคติกในโยเกิร์ตถั่วลิสงที่บ่มในระยะเวลาต่างกัน
3. เพื่อศึกษาความสามารถแบคทีเรียแลคติกในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร
4. เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ผลิตโยเกิร์ตจากถั่วลิสงโดยใช้แบคทีเรีย 4 ชนิด คือ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *S. thermophilus*, *Leuconostoc mesenteroides* และเชื้อผสมระหว่าง *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* กับ *S. thermophilus* แล้วทดสอบการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหารด้วยวิธี agar well diffusion และ ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging ของโยเกิร์ตถั่วลิสงตามลำดับ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตจากถั่วลิสง
2. ได้ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตจากถั่วลิสงที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร
3. ได้ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตจากถั่วลิสงที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ทฤษฎี

2.1.1 ถั่วลิสง

ถั่วลิสงมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Arachis hypogaea* L. และมีชื่อสามัญว่า Peanut หรือ Groundnut มีถิ่นกำเนิดอยู่ในทวีปอเมริกาใต้ บริเวณตอนกลางของประเทศบราซิลแถบเทือกเขา Andes และประเทศโบลิเวียแถบกลุ่มแม่น้ำอะเมซอน สามารถเจริญเติบโตได้ดีในเขตร้อนและเขตอบอุ่นระหว่างละติจูดที่ 40° N – 40° S



รูปที่ 2.1 ถั่วลิสง

ที่มา: <http://frynn.com/ถั่วลิสง/>

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของถั่วลิสง

ส่วนของรากถั่วลิสงจะอยู่ในบริเวณลึกประมาณ 50 เซนติเมตร ซึ่งมักจะมีปม (nodule) ของแบคทีเรียไรโซเบียม (*Rhizobium* spp.) ซึ่งอาศัยอยู่กับถั่วลิสงแบบพึ่งพาอาศัยซึ่งกันและกัน (symbiosis) โดยไรโซเบียมได้รับอาหารพวกแป้งและน้ำตาลจากต้นถั่ว และตรึงไนโตรเจนจากอากาศให้ต้นถั่ว เพื่อสร้างกรดอะมิโนโปรตีนและสารประกอบไนโตรเจนอื่นๆ ที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของต้นถั่ว ทำให้ถั่วลิสงเป็นแหล่งของโปรตีนจากพืชที่สำคัญ ส่วนของใบของถั่วลิสงเป็นประเภทเกิดสลับกัน บนข้อของลำต้น ใบเป็น ใบประกอบแบบ even-pinnate ใบประกอบหนึ่งๆจะมีใบย่อย ประมาณ 2 คู่ ลักษณะใบเป็นรูปไข่ ขอบใบเรียบ มีก้านใบยาว ที่โคนใบมีหูใบประมาณ 2 อัน ซึ่งมีลักษณะแหลมยาวประมาณ 2 เซนติเมตร ส่วนของดอกถั่วลิสง จะมีดอกสีเหลือง ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 0.9-1.4 ซม. ลักษณะดอกเดี่ยวหรือเกิดเป็นกลุ่มๆ ละ 1-5 ดอก มีกลิ่นหอม แต่ทั้งนี้ทั้งนั้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดอก ตามมุมใบบริเวณส่วนโคนของลำต้น ก้านดอกถั่วลิสงจะสั้นบริเวณฐานของก้านดอกมีใบดอก จำนวน 1 อัน และมีใบประดับย่อยจำนวน 2 อัน

คุณค่าทางโภชนาการของถั่วลิสง

ถั่วลิสงเป็นพืชที่ประกอบด้วยสารอาหารสูง เป็นแหล่งของโปรตีนและพลังงาน ประกอบด้วยโปรตีนประมาณ% 25-30 ไขมัน% 45-50 และคาร์โบไฮเดรต% 20 โปรตีนในถั่วลิสงมีปริมาณเทียบเท่ากับถั่วเขียว ถั่วแดง และถั่วดำ แต่ต่ำกว่าถั่วเหลือง และมีกรดอะมิโน lysine, theonine และ methionine ที่จำเป็นต่อร่างกายต่ำกว่าที่ต้องการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อทำให้สุกปริมาณยังน้อยลงอีกประมาณ 15, 11 และ 10 ตามลำดับ

นมถั่วลิสงและผลิตภัณฑ์จากถั่วลิสง

นมถั่วลิสงมีธาตุอาหารใกล้เคียงกับนมวัวในแง่ของโปรตีน ไขมัน วิตามิน และแร่ธาตุบางชนิด สิ่งที่ทำให้เกิดปัญหาของนมถั่วลิสงคือการมีกลิ่นฉุนแรง การกำจัดกลิ่นถั่วทำได้หลายวิธี เช่น การแช่ในสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 0.05 % การใช้กระแสลมร้อน การใช้ไอน้ำการอบที่ 150 องศาเซลเซียส (วันเพ็ญ, 2539) นอกจากนี้ถั่วลิสงอาจมีการปนเปื้อนของ สารพิษที่เกิดจากเชื้อรา *Aspergillus flavus* และ *A. parasiticus* สารพิษนี้มีชื่อว่า สารอะฟลาท็อกซิน (Aflatoxin) ซึ่งต้องทำให้ถั่วสุกก่อนรับประทาน

สภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและให้ผลผลิต (Crop requirement) ของถั่วลิสง

1. สภาพภูมิอากาศ

อุณหภูมิที่เหมาะสม สำหรับการเจริญเติบโตของถั่วลิสง เฉลี่ยอยู่ที่ประมาณ 30 องศาเซลเซียส อุณหภูมิระหว่างกลางคืน กับกลางวันควรอยู่ ระหว่าง 25-35 องศาเซลเซียส ประสิทธิภาพการสังเคราะห์แสงสูงสุดที่ 30 องศาเซลเซียสและชอบแสงแดดจัด

2. สภาพพื้นที่

ถั่วลิสงสามารถปลูกได้ทั้งในเขตร้อนและเขตอบอุ่นสภาพพื้นที่ที่เหมาะสม คือ ที่ราบเชิงเขา ที่ดอน ที่ราบที่มีการระบายน้ำดี ความสูงจากระดับน้ำทะเล ไม่เกิน 800 เมตร และมีความลาดเอียงไม่เกิน 5% แต่มีข้อจำกัดคือ ไม่ทนต่อสภาพที่มีน้ำท่วมขัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. สภาพดิน

ดินที่ใช้ปลูกถั่วลิสง ควรเป็น ดินร่วน ดินร่วนปนทราย ดินร่วนเหนียวปนทราย ความอุดมสมบูรณ์ ปานกลาง มีอินทรีย์วัตถุไม่ต่ำกว่า 1.5 % มีฟอสฟอรัสที่เป็นประโยชน์มากกว่า 10 ส่วนต่อล้านส่วน โพแทสเซียมที่แลกเปลี่ยนได้มากกว่า 80 ส่วนต่อล้านส่วน และแคลเซียมมากกว่า 200 ส่วนต่อล้านส่วน การระบายน้ำและถ่ายเท อากาศดี ดินสามารถอุ้มน้ำได้ดี ระดับหน้าดินลึกประมาณ 30 เซนติเมตร ค่าความเป็นกรดต่าง ระหว่าง 5.5-6.5 และไม่เป็นดินเค็มและดินเหนียวเพราะไม่เหมาะต่อการปลูกถั่วลิสง

4. ความต้องการธาตุอาหาร

ธาตุอาหารหลัก ได้แก่ ไนโตรเจน , ฟอสฟอรัส และ โพแทสเซียม กรณีที่ดินเป็นกรด pH ต่ำกว่า 5.5 ควรมีการใส่ปูนขาวเพื่อปรับสภาพดินก่อน ธาตุอาหารรอง ได้แก่ แคลเซียม , แมกนีเซียม , ซัลเฟอร์ ถั่วลิสง จะใช้ แคลเซียม ในการสร้างเมล็ด การขาด แคลเซียมจะทำให้เมล็ดลีบไม่เต็มฝัก ยอดอ่อนในเมล็ดจะ เปลี่ยนเป็นสีดำ ดินที่มีแคลเซียมเข้มข้นประมาณ 97-178 ppm ควรใส่ปุ๋ยิปซัม อัตรา 50-100 กิโลกรัมต่อไร่ ส่วนแมกนีเซียมเป็นธาตุอาหารรองที่ ควรมีไม่น้อยกว่า 20 ppm และซัลเฟอร์ ดินควรมีธาตุกำมะถันมากกว่า 20 ppm อัตราการใช้ปุ๋ยที่เหมาะสม ประมาณ 2.5 กิโลกรัมของ S ต่อไร่

5. สภาพน้ำ

ควรมีปริมาณน้ำฝน ประมาณ 1,000-1,500 มิลลิเมตรต่อปีและมีการกระจายตัวดี ควรมีแหล่งน้ำ สำรอง สำหรับใช้เมื่อจำเป็น ความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำอยู่ที่ 5.5-6.5 และการขาดน้ำในระยะออกดอกจะ ทำให้ผลผลิตลดลงมาก

2.1.2 โยเกิร์ต (Yogurt)

ลักษณะทั่วไปของโยเกิร์ต

โยเกิร์ตจัดเป็นนมเปรี้ยว (fermented milk) ชนิดหนึ่ง ความหมายของนมเปรี้ยว ตามมาตรฐาน ผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก.) คือ ผลิตภัณฑ์นมที่ได้จากน้ำนมจากสัตว์ที่นำมาบริโภคนได้ หรือส่วนประกอบ ของน้ำนมที่ผ่านการทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคแล้ว หมักด้วยจุลินทรีย์ที่ไม่ทำให้เกิดโรคหรืออันตราย ทำให้ค่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้น และอาจปรุงแต่งกลิ่น, รส, สี, เติมวัตถุเจือปนอาหาร, สารอาหาร หรือ ส่วนประกอบอื่นที่ไม่ใช่น้ำนมด้วย รวมถึงนมเปรี้ยวที่นำมาผ่านการฆ่าเชื้อ การแช่แข็ง หรือการทำให้แห้งด้วย

การผลิตโยเกิร์ต ต้องมีการหมักน้ำนมด้วยแบคทีเรียกลุ่มที่ผลิตกรดแลก ได้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีรส เปรี้ยว ซึ่ง pH ที่ลดลงนี้จะทำให้โปรตีนเสียสภาพและเกิดการจับตัวตกตะกอน (curd) ทำให้ได้โยเกิร์ตที่มี ลักษณะข้น การผลิตโยเกิร์ตโดยทั่วไปจะใช้น้ำนมวัวเป็นวัตถุดิบ แต่สามารถใช้น้ำนมจากสัตว์ชนิดได้เช่นกัน เช่น น้ำนมแพะ, น้ำนมถั่วเหลืองหรือกะทิ แทนน้ำนมวัวได้ (สุนัดดา, 2557)

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิดของโยเกิร์ต (Types of Yogurt) การแบ่งชนิดของโยเกิร์ตอาศัยหลักการต่อไปนี้ (วราวุฒิและรุ่งนภา, 2531)

1. มาตรฐานตามกฎหมาย (legais standards)

มาตรฐานตามกฎหมายของโยเกิร์ต ขึ้นกับองค์ประกอบทางเคมี เช่น เปอร์เซ็นต์ไขมัน (solid non fat หรือ SNF) หรือปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total solid) เกณฑ์ต่างๆ ที่กำหนดขึ้นจะแตกต่างกันตามแต่ละประเทศ เกณฑ์ซึ่งนิยมใช้กันทั่วไปในการแบ่งชนิดโยเกิร์ต คือ ปริมาณไขมัน ที่องค์การอาหารและเกษตร (Food and Agriculture Organization, FAO) และ องค์การอนามัยโลก (World Health Organization, WHO) ปี ค.ศ. 1973 ได้กำหนดไว้ ดังนี้

1. Full fat yogurt มีปริมาณไขมันมากกว่า 3.0 %
2. Medium fat yogurt มีปริมาณไขมันระหว่าง 0.5-3.0 %
3. Low fat yogurt มีปริมาณไขมันต่ำกว่า 0.5 %

บางประเทศ เช่น เนเธอร์แลนด์ เยอรมัน และสหภาพโซเวียต อาจจำแนกชนิดโยเกิร์ต ได้อีกชนิดหนึ่ง คือ Balkan yogurt มีปริมาณไขมันระหว่าง 4.5-10 %

2. กลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ (Flavor)

การเติมกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์ ทำให้ได้โยเกิร์ตต่างชนิดกัน ดังนี้

1. Natural หรือ plain yogurt เป็นโยเกิร์ตที่ไม่มีการเติมสีหรือสารปรุงแต่งกลิ่นรสลงไปหลังจากการหมักเสร็จสิ้น
2. Fruit yogurt เป็นโยเกิร์ตที่มีการเติมผลไม้ และสารให้ความหวานลงไปใน plain yogurt
3. Flavor yogurt ได้จากการเติมสารแต่งกลิ่นและสารให้ความหวานลงไปใน plain yogurt

วิธีการผลิต การผลิตโยเกิร์ตในระดับอุตสาหกรรมจากน้ำนมวัวจะมีอยู่ 2 ชนิด (ดุชนี, 2555)

1. โยเกิร์ตชนิดแข็งตัว (set yoghurt) โดยกระบวนการหมัก และการตกตะกอนจะเกิดขึ้นภายในภาชนะบรรจุเดียวกัน
2. โยเกิร์ตชนิดคน (stirred yoghurt) โดยกระบวนการหมักจะได้ก้อนนมแตกๆ จะเกิดขึ้นภายในถังหมัก และต้องนำมาบรรจุลงในภาชนะอีกทีหนึ่งเพื่อจัดจำหน่าย

โยเกิร์ตทั้งสองชนิดนี้อาจนำมาเติมกลิ่นรสและพาสเจอร์ไรส์ก่อนนำไปจำหน่าย ในประเทศอังกฤษสามารถผลิตโยเกิร์ตได้ทุกชนิด ปกติโยเกิร์ตที่ผลิตได้จะมีแบคทีเรียระหว่างสองร้อยถึงหนึ่งพันล้านตัวต่อโยเกิร์ตใหม่ๆ 1 มิลลิลิตร ปริมาณจุลินทรีย์จะลดลงหลังจากการเก็บรักษา โดยการผลิตโยเกิร์ตชนิดแข็งตัวนั้น จะเป็นการหมักนมด้วยเชื้อที่ต้องการและปล่อยให้หมักมีการแข็งตัวในระหว่างการรอจำหน่ายในร้านค้า ส่วนโยเกิร์ตชนิดคนนั้น เมื่อหมักในถังหมักขนาดใหญ่จนนมตกตะกอน แล้วทำให้ก้อนนมให้แตกและคนให้เข้ากัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก่อนบรรจุลงในภาชนะขนาดเล็กเพื่อรอจำหน่าย หลังจากการบรรจุในภาชนะแล้วโยเกิร์ตทั้งสองชนิดนี้จะนำมาทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส อย่างรวดเร็วก่อนที่จะส่งไปจำหน่ายต่อ

นอกจากนี้ก็ยังมียोगิร์ตชนิดอื่นๆ อีก (Bottazzi, 1983) ได้แก่

1. โยเกิร์ตเหลว (Fluid yoghurt) เป็นโยเกิร์ตที่มีก้อนนมแตกกระจาย มีความหนืดต่ำซึ่งมีการเติมน้ำตาลและโยเกิร์ตที่หมักลงไปในอัตราส่วนเท่าๆกัน
 2. โยเกิร์ตผลไม้ (Fruit yoghurt) เป็นการเติมผลไม้บดหรือแย้มและน้ำตาลลงไป
 3. โยเกิร์ตที่เติมกลิ่นรส (Flavoured yoghurt) เป็นโยเกิร์ตที่มีการเติมกลิ่นรสเทียมและน้ำตาลหรือสารพวกให้ความหวานลงไป
 4. โยเกิร์ตแช่แข็ง (Frozen yoghurt) เป็นโยเกิร์ตที่มีลักษณะคล้ายไอศกรีม ปัจจุบันได้รับความนิยมเนื่องจากใช้รับประทานแทนไอศกรีมได้
 5. โยเกิร์ตแห้ง (dried yoghurt) เป็นการนำโยเกิร์ตมาทำให้แห้งโดยการตากแดด พบในแถบตะวันออกกลางและมักผลิตในฤดูร้อน
 6. โยเกิร์ตที่มีแล็กโทสต่ำ (low lactose yoghurt) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ค่อนข้างใหม่ ได้จากการย่อยแล็กโทส ด้วยเอนไซม์เบต้า-ดี-กาแล็กโตซิเดส (β -D-galactosidase)
 7. โยเกิร์ตที่มีแคลอรีต่ำ (low calorie yoghurt) เป็นโยเกิร์ตที่มีการลดระดับพลังงานจากปกติ 250-300 กิโลจูลต่อ 100 กรัม เป็น 170 กิโลจูลต่อ 100 กรัม
- แบคทีเรียในโยเกิร์ต (Bacteria in yogurt)

เชื้อจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการผลิตโยเกิร์ตมี 2 ชนิดคือ *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus* แบคทีเรียเหล่านี้เป็นพวกที่เจริญที่อุณหภูมิสูงได้ (thermophile) มีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญคือระหว่าง 40 – 45 องศาเซลเซียส โดย *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* มีปฏิกริยาร่วมกัน (protocooperation) มากกว่าจะเป็นแบบภาวะอยู่ร่วมกัน (symbiosis) โดย *S. thermophilus* จะถูกกระตุ้นให้เจริญเนื่องจากได้รับกรดอะมิโนอิสระและเพปไทด์ที่ *L. bulgaricus* ย่อยได้จากโปรตีนในนํ้านม ในขณะที่ *L. bulgaricus* จะถูกกระตุ้นให้ผลิตกรดฟอริกซึ่งเป็นสารประกอบที่สร้างขึ้นโดย *S. thermophilus* ในสภาพที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำ นอกจากนี้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่ปล่อยออกมาโดย *S. thermophilus* มีผลดีต่อการเจริญของ *L. bulgaricus* ด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตโยเกิร์ต

1. น้ํานม : น้ํานมที่ใช้อาจจะเป็นน้ํานมสดหรือนมผง ที่นำมาคืนรูปโดยการผสมน้ํ
2. กล้าเชื้อ : กล้าเชื้อที่นิยมนำมาใช้หมักโยเกิร์ต คือ แบคทีเรียในกลุ่ม Lactic acid bacteria เช่น *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophiles* เป็นต้น
3. ผลไม้, แยม, วุ้นมะพร้าว, เมล็ดธัญพืชและถั่วเมล็ดแห้ง เป็นต้น
4. อิมัลซิไฟเออร์ (Emulsifier)
5. สารที่ทำให้คงตัว เช่น คาราจีแนน, กัวกัม, กัมอาราบิก และเจลาติน เพื่อปรับปรุงเนื้อสัมผัสของโยเกิร์ต ทำให้เนื้อเนียนและคงตัวไม่แยกชั้น
6. สารปรุงแต่งกลิ่นรสและสี

กรรมวิธีการผลิตโยเกิร์ต

1. ขั้นตอนการเตรียมนม

มีการปรับปริมาณไขมัน ปริมาณของแข็งทั้งหมด หรือมีการเติมสารคงตัว เช่นเจลาตินลงไปเพื่อให้ได้ลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ที่ดี

2. การทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน (homogenization)

จุดประสงค์ของขั้นตอนนี้ เพื่อต้องการให้เนื้อสัมผัสของโยเกิร์ตที่หลังการหมักมีเนื้อเนียน มีกลิ่นรสเป็นครีม และช่วยลดการแยกชั้นของน้ําทานนม

3. ขั้นตอนการให้ความร้อน

เพื่อทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค และจุลินทรีย์อื่น ๆ ที่ไม่ต้องการ และช่วยกำจัดอากาศที่มีอยู่ในนม ส่งผลให้เกิดสภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่ม *Lactobacillus* sp.

4. ขั้นตอนการหมัก

มีการเติมจุลินทรีย์ลงในนม ได้แก่ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* จุลินทรีย์ทั้งสองชนิดนี้จะใช้น้ํตาลแล็กโทสในนม เป็นแหล่งพลังงาน และสร้างกรดแล็กติก ให้กลีโนรสออกมา กรดแล็กติกที่เกิดขึ้นจะไปสลายความคงตัวของเคซีน (casein micelle) ทำให้เกิดการรวมตัวกันและตกตะกอนลง นอกจากนี้เคซีนบางส่วนยังไปเกิดปฏิกิริยากับแอลฟา-แลคตาบูมิน (α -lactalbumin) และ บีตา-แลคโตโกลบูลิน (β -lactoglobulin) ซึ่งเป็นโปรตีนที่อยู่ในหางนม ทำให้เกิดเป็นร่างแหองค์ประกอบที่มีความคงตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ขั้นตอนการทำความเย็น

โดยทั่วไปโยเกิร์ตจะถูกเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส

โยเกิร์ตจากนมถั่วลันเตา

1. การเตรียมนมถั่วลันเตา



ประโยชน์ของโยเกิร์ต

โยเกิร์ตเป็นแหล่งของโปรตีนที่มีคุณภาพดี แคลเซียม วิตามินบี และสารอาหารอื่นๆ และแบคทีเรียแลคติกในโยเกิร์ตมีประโยชน์ต่อสุขภาพ ดังนี้

1. ช่วยให้ร่างกายย่อยน้ำตาลแล็กโทสได้ดีขึ้น ปกติในน้ำนมมีน้ำตาลแล็กโทสประมาณ 6% ในร่างกายของผู้ใหญ่มากกว่า 50% ไม่สามารถสร้างเอนไซม์แลกเทสเพื่อย่อยน้ำตาลแล็กโทสได้ แบคทีเรียแลคติกในโยเกิร์ต เช่น *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* , *S. thermophilus* สามารถผลิตเอนไซม์แลกเทส ช่วยย่อยน้ำตาลแล็กโทสในนมให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวชนิดกลูโคสและกาแลคโตส หลังจากนั้นน้ำตาลกลูโคสก็จะถูกนำไปใช้ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปลี่ยนไปเป็นกรดแลคติก ดังนั้นโยเกิร์ตจึงเหมาะสำหรับผู้บริโภคที่ร่างกายไม่สามารถย่อยแลคโทได้ ทำให้เกิดอาการท้องเสียเนื่องจากน้ำตาลแลคโทสที่ไม่ย่อย แล้วผ่านมาที่ลำไส้ใหญ่จุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่มีเมตาบอลิซึมในการหมัก เกิดเป็นกรดไขมันอิสระขนาดเล็กที่สามารถจับตัวกับสารอิเล็กโตรไลต์ ทำให้เกิดอาการท้องเสียได้

2. ช่วยรักษาอาการท้องเสีย เช่น แบคทีเรียโอซิน (Bacteriocin) ช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันให้กับลำไส้

3. ช่วยรักษาแผลในกระเพาะ โยเกิร์ตอุดมไปด้วยสารไขมันธรรมชาติที่มีฤทธิ์คล้ายฮอร์โมนที่เรียกว่าพรอสตาแกลนดินอี 2 (Prostaglandin E2) ที่ช่วยปกป้องผนังกระเพาะจากสารกระตุ้นหลายตัว เช่น แอลกอฮอล์และบุหรี่ ปัจจุบันพรอสตาแกลนดินอี 2 สังเคราะห์จำหน่ายเป็น ยารักษาโรคแผลในกระเพาะอาหาร

4. ช่วยป้องกันและรักษาการอักเสบที่ช่องคลอด เนื่องจากเชื้อยีสต์ชนิด *Candida vaginitis* ถูกยับยั้งการเจริญโดย *L. acidophilus* ได้มาก

5. ช่วยระบบการขับถ่าย โดยทำให้อาหารอยู่ในลำไส้ได้นานขึ้นหรือลดลง ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของแบคทีเรียแลคติกที่ใช้ ตัวอย่างเช่น เชื้อ *B. animalis* ช่วยให้กากอาหารเคลื่อนที่ผ่านลำไส้ได้เร็วขึ้น เป็นการช่วยบรรเทาอาการท้องผูกได้

นอกจากนี้ โยเกิร์ตยังช่วยลดความเสี่ยงจากการเกิดมะเร็งบริเวณเนื้อเยื่อกระดูก ช่วยลดระดับโคเลสเตอรอลและไขมันในเลือด ช่วยบำรุงผิวพรรณ ช่วยไม่ให้ฟุ้งชันและโกรธง่าย ๆ สิ่งที่ต้องระวังคือควรเลือกซื้อเฉพาะโยเกิร์ตที่มีแบคทีเรียแลคติกที่ยังมีชีวิตอยู่ (Live yoghurt) เท่านั้นเนื่องจากว่าในบางประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา ได้อนุญาตให้มีการฆ่าเชื้อโยเกิร์ตได้ ซึ่งทำให้เชื้อแบคทีเรียแลคติกถูกทำลายไป

2.1.3 แบคทีเรียแลคติก

แบคทีเรียแลคติก (Lactic acid bacteria : LAB) เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ย้อมติดสีแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ ไม่สร้างเอนไซม์คะตะเลส (Catalase) มีทั้งชนิดที่มีรูปท่อน และรูปกลม แหล่งที่มักพบแบคทีเรียกรดแลคติกได้แก่ เนื้อและผลิตภัณฑ์ ผลิตภัณฑ์นม และ อาหารหมักดองต่าง ๆ แบคทีเรียกรดแลคติกสามารถย่อยน้ำตาลกลูโคส หรือน้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 อะตอมได้ สามารถแบ่งแบคทีเรียกรดแลคติกออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่ได้แก่

1. กลุ่มฮอโมเฟอร์เมนเททีฟ (Homofermentative) สามารถย่อยน้ำตาลกลูโคสแล้ว จะสร้างกรดแลคติก และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ได้ประมาณ 95 % และ 5 % ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. กลุ่มเฮเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ (Heterofermentative) เป็นแบคทีเรียที่ย่อยน้ำตาลกลูโคสแล้วสร้างกรดแลคติกออกมาได้ประมาณ 50 % อีก 25 % และยังมีกรดอื่นๆ อีกหลายชนิด ได้แก่ กรดแอซีติก กรดฟอร์มิก รวมทั้งสารต่างๆ เช่น อะเซททอลดีไฮด์ และอีก 25 % เป็นแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์

แบคทีเรีย *Lactobacillus* sp.

เป็นแบคทีเรียรูปท่อน หรือเป็นท่อนยาว ไม่สร้างสปอร์ ดิตีส์แกรมบวกและเปลี่ยนสีแกรมลบเมื่อมีอายุมากขึ้นหรือมีการตกตะกอน ไม่สร้างเอนไซม์อะมัยเลส มีลักษณะเด่น คือ ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโตเพียงเล็กน้อย (microaerophile) อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอยู่ในช่วง 30-40 องศาเซลเซียส ชอบกรด มีพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ต่ำกว่าหรือเท่ากับ 5.5-5.8 แลคโตบาซิลลัสพบได้ในธรรมชาติ โดยเฉพาะในสัตว์และผลิตภัณฑ์จากพืช เป็นเชื้อก่อโรคในลำไส้เล็ก และในช่องคลอดของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เช่น เชื้อ *L. brivius* ทำให้กะหล่ำปลีต้องมีการเปรี้ยวเกินไป, *L. plantarum* ทำให้ผลิตภัณฑ์นมเชื้อเทศเน่าเสีย *L. fructivorans* *L. brevis* ทำให้ไวน์ขุ่น และมีรสเปรี้ยวที่เกิดจากการสร้างกรดแลคติกและกรดอะซีติก เป็นต้น แลคโตบาซิลลัสที่มีประโยชน์ โดยก่อให้เกิดอาหารหมักที่มีรสเปรี้ยวหลายชนิด เช่น แหนม ผักกาดดอง และนมเปรี้ยว เป็นต้น

L. acidophilus มีบทบาทในการหมักนมเปรี้ยวชนิดต่างๆ เช่น คิวมิสส์ (Koumiss) ซึ่งเป็นนมม้าหมักที่มีกรดและแอลกอฮอล์ ถิ่นเดิมที่ผลิตคิวมิสส์อยู่ทางตอนใต้ของรัสเซีย

L. bulgaricus ใช้ในการผลิตกรด ใช้ในอุตสาหกรรมลูกอม ลูกกวาด แยม เยลลี่

L. casei สายพันธุ์ shirota มีบทบาทในการหมักยาคูลท์

L. delbrueckii ใช้ในการผลิตกรด ใช้ในอุตสาหกรรมลูกอม ลูกกวาด แยม เยลลี่

Streptococcus

Streptococcus เซลล์จะมีลักษณะกลม อาจเป็นเซลล์เดี่ยว สองเซลล์ หรือหลายเซลล์ติดกันเป็นสาย การเรียงตัวของเซลล์อาจขึ้นอยู่กับชนิดและสภาวะการเติบโต โดยแบคทีเรียชนิดนี้เป็นฮอมอเฟอร์เมนเททีฟ อาจพบหลงเหลืออยู่ในน้ำนมได้หลังจากผ่านการพาสเจอร์ไรส์ เพราะเป็นแบคทีเรียพวกทนอุณหภูมิสูง และเติบโตได้ในช่วงอุณหภูมิกว้างประมาณ 5-50 องศาเซลเซียส อีกทั้งยังสามารถทนเกลือได้ถึง 6.5% หรือสูงกว่า และเติบโตได้ดีที่ pH เท่ากับ 9.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

S. thermophilus พบอยู่ทั่วไปในผลิตภัณฑ์จากนมโดยเฉพาะในโยเกิร์ต เนยแข็ง และในสิ่งแวดล้อมที่มีการผลิตผลิตภัณฑ์เหล่านี้ ลักษณะจะเป็นทรงกลมเกาะกันเป็นคู่ ๆ หรือเป็นสายยาว และเจริญได้ดีในสิ่งแวดล้อมที่มีอุณหภูมิถึง 49 องศาเซลเซียส และทนความร้อนได้สูงมาก ทนอุณหภูมิได้สูงถึง 60 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 30 นาที ซึ่งแตกต่างจากแบคทีเรียในกลุ่ม *Streptococcus* ชนิดอื่นๆ ที่เจริญได้ในอุณหภูมิต่ำกว่า สามารถสร้างกรดได้มากพอที่ทำให้นมตกตะกอนได้ แต่ความสามารถในการทำให้นมเป็นกรดนั้นยังต่ำกว่าแบคทีเรียแลคติกชนิดอื่น *Streptococcus* บางสายพันธุ์สามารถสร้างแคปซูล และเมื่อทำให้มีส่วนทำให้โยเกิร์ตมีเนื้อเรียบและมีความหนืดเพิ่มขึ้น ช่วยให้ชั้นผลไม้ที่เติมลงไปสามารถกระจายตัวได้ดีขึ้น โดยเฉพาะเมื่อจะทำให้โยเกิร์ตยังคงรักษาความคงตัวของก้อนตะกอนโปรตีน ในน้ำนมระหว่างกระบวนการหมักในช่วงที่สองหรือในระหว่างการเก็บรักษาได้

Leuconostoc

Leuconostoc คล้ายกับ *Lactobacilli* และอยู่ในกลุ่มเดียวกับแบคทีเรียแลคติก เป็นแบคทีเรียรูปกลม ติดสีแกรมบวก ไม่สร้างเอนไซม์อะมิโนเอสเตอเรส ไม่เคลื่อนที่ และไม่สร้างสปอร์ เติบโตในอาหารที่มีส่วนประกอบของซูโครส *Leuconostoc* เป็นเชื้อที่มีการหมักน้ำตาลแบบเฮเทอโรเฟอร์เมนเททิฟ สามารถเติบโตได้ในที่มีและไม่มียออกซิเจน อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 20-30 องศาเซลเซียส พบได้ทั่วไปในพืช สัตว์ และในอาหารหลายชนิด เช่น น้ำอ้อย เป็นสาเหตุทำให้ผลิตภัณฑ์ต่างๆ เสีย เช่น *L. mesenteroides* ทำให้ไวน์เกิดเมือก ทำให้ไส้กรอกบวม สำหรับประโยชน์ของเชื้อ *Leuconostoc* มีมากมาย ได้แก่

L. mesenteroides มีบทบาทในการหมักอิดลี (Idli) และ โดซา (Dosa) ซึ่งเป็นขนมแป้งหมักของภาคอินเดียที่มีลักษณะคล้ายแพนเค้ก โดยเชื้อนี้ทำให้อาหารหมักที่มีรสเปรี้ยว

L. fermenti และ *L. mesenteroides* มีบทบาทในการหมักโคโค (Koko) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์แป้งข้าวโพดหมักของประเทศกานา

L. cremoris ช่วยทำให้เกิดกลิ่นที่ดีแก่บัตเตอร์มิลค์

L. citrovorum มีบทบาทในการหมักวิลเลีย (Vilia) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์นมวัวหมัก ที่มีถิ่นกำเนิดในประเทศฟินแลนด์ ซึ่งมีเนื้อเหนียวเป็นสาย

สารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผลิตโดยแบคทีเรียแลคติก

แบคทีเรียแลคติกเป็นกลุ่มจุลินทรีย์ที่นอกจากจะมีบทบาทสำคัญในการผลิตอาหาร หมักดองแล้ว ยังมีบทบาทอื่นๆที่สำคัญ เช่น ความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อื่นๆ ได้แก่เชื้อ *Bacillus subtilis*, *Micrococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus* และ *Pseudomonas* sp. เป็นต้น นอกจากการสร้างกรดแลคติกที่ทำให้ pH ของอาหารลดลง ยังสามารถผลิตสารประกอบต่างๆ ที่มีผลยับยั้งการเจริญของเชื้ออื่น ๆ ด้วย ได้แก่

1. ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (H_2O_2)

สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้หลายชนิด และยังสามารถทำปฏิกิริยากับสารอื่นกลายเป็นสารที่มีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ เช่น ในน้ำนมดิบ ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ที่ได้จากกลุ่มแบคทีเรียสร้างกรดแลคติกสามารถทำปฏิกิริยากับไทโอไซยาเนต โดยมีเอนไซม์แลคโตเพอร์ออกซิเดส เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ได้ผลิตผลที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ และช่วยยืดอายุรักษาน้ำนมดิบได้

2. ไดอะซิติลชนิด 2,3- butanedione

เป็นผลผลิตสุดท้ายที่ได้จากกระบวนการเมแทบอลิซึมของแบคทีเรียกลุ่มสร้างกรดแลคติก ซึ่งสังเคราะห์ขึ้นจากไพรูเวทที่เป็นสารตัวกลาง แบคทีเรียสร้างกรดแลคติกทั้งสกุล *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* และ *Pediococcus* สามารถสังเคราะห์ไดอะซิติลได้ ซึ่งไดอะซิติลจะให้กลิ่นเฉพาะในผลิตภัณฑ์นมหมัก และช่วยยับยั้งจุลินทรีย์ด้วย ไดอะซิติลเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์และแบคทีเรียแกรมลบ ที่ระดับความเข้มข้น 300 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกที่ไม่ใช่แบคทีเรียกรดแลคติกได้ แต่แบคทีเรียกรดแลคติกจะถูกยับยั้งที่ความเข้มข้นสูงกว่า 350 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

3. แบคเทอริโอซิน (Bacteriocin)

เป็นสารโปรตีนโมเลกุลใหญ่ สามารถทำลายแบคทีเรียได้รวดเร็ว ผลิตจากแบคทีเรียหลายชนิด เช่น *Lactobacillus fermentum*, *L. helveticus*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *Pediococcus acidilactici* และ *P. pentosaceus* แบคเทอริโอซิน จะมีผลยับยั้งในการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกหลายชนิดรวมทั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ เช่น เชื้อ *L. monocytogenes* แบคเทอริโอซินจึงเป็นสารที่นำไปใช้เป็นสารกันเสีย ใช้ถนอมอาหาร ในบรรดาแบคเทอริโอซินที่ผลิตจากแบคทีเรียชนิดต่างๆ เช่นสกุล *Lactobacillus* หรือ group N/Streptococci ที่เรียกว่าไนซิน (Nisin ซึ่งมาจากคำว่า group N-inhibiting substance) มีการนำไปใช้ในการถนอมอาหารมากที่สุด ในอาหารสด และอาหารแปรรูปหลายชนิด เช่น เนยแข็งสวิส น้ำมะเขือเทศ ขปข้าวโพด และเบียร์ พบว่าไนซินสามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกได้ทั้งที่อุณหภูมิห้องและที่ต่ำกว่า 4°C นอกจากนี้ ไนซินยังช่วยยับยั้งการเจริญของยีสต์และเชื้อราอีกด้วย ไนซินมีความปลอดภัยสูง ไม่ก่อพิษ และไม่ก่อให้เกิดการแพ้ แต่อาจทำให้เกิดการแพ้ในบางคนได้ ดังนั้น ควรใช้ไนซินอย่างระมัดระวัง และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และป้องกันการรอกของสปอร์ของเชื้อ *Clostridium botulinum* ได้ ไนซินจึงช่วยลดความร้อนที่ต้องใช้ในการฆ่าเชื้อและฆ่าสปอร์ของเชื้อ *C. botulinum* ในอาหารที่ผ่านกระบวนการแปรรูป เช่น อาหารกระป๋อง ไนซินยังสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Listeria monocytogenes* ได้ แต่จะไม่มีผลในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์ และรา

ตารางที่ 2.1 แบคเทอริโอซินที่ได้จากเชื้อจุลินทรีย์ (แบคเทอริโอซิน)

จุลินทรีย์	แบคเทอริโอซิน
<i>Lactobacillus</i>	caseicin , curvacin , brevicin , plantaricin fermentacin , lactacin , lactocin helveticin
<i>Lactococcus</i>	nisin, lactococcins, lacticin , lactostrepcins
<i>Leuconostoc</i>	Carnocin , mesenterocin , leucocin , louconocin
<i>Pediococcus</i>	Pediocin
<i>Bacillus</i>	Subtilisin

ที่มา: วิเชียร (2541a)

4. รูทีริน (Reuterin)

รูทีริน เป็นสารที่ไม่ใช่โปรตีน มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ละลายได้ดีที่พีเอชเป็นกลาง ผลิตโดยแบคทีเรียพวก *Lactobacillus reuteri* รูทีรินสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้หลายชนิดทั้งแบคทีเรียแกรมบวก แกรมลบ ยีสต์ รา โพรโทซัว และจุลินทรีย์ก่อโรคอาหารเป็นพิษได้ เช่น *Salmonella*, *Shigella*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Listeria*, *Candida* และ *Trypanosoma*

โปรไบโอติก

โปรไบโอติก หมายถึง อาหารเสริมที่เป็นจุลชีพเล็กๆ ที่ยังมีชีวิต เมื่อรับประทานเข้าไปแล้วช่วยให้อวัยวะผู้นั้นมีสุขภาพที่ดีขึ้น ซึ่งอาจช่วยป้องกันหรือรักษาโรคต่างๆ ที่จากการเปลี่ยนแปลงของจุลชีพในร่างกาย ส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียที่เคยมีในลำไส้ใหญ่ในสมัยเป็นเด็กทารก

การทำงานของโปรไบโอติก

โปรไบโอติกเป็นจุลชีพที่มีในร่างกายมนุษย์อยู่แล้ว และต้องยังคงสภาพที่มีชีวิต ซึ่งทนต่อสภาพกรดและอยู่ในน้ำได้ดี โดยสามารถไปยึดเกาะกับเนื้อเยื่อบุผนังลำไส้และมีประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์ และไม่ก่อให้เกิดโทษต่อร่างกาย อย่างไรก็ตามควรระวังในการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุณลักษณะที่ดีของโปรไบโอติก

1. เป็นจุลินทรีย์สายพันธุ์เดียวกับที่มีอยู่ในลำไส้มนุษย์
2. ทนต่อน้ำย่อยในกระเพาะอาหารและลำไส้
3. สามารถแบ่งตัวเจริญเติบโตได้เมื่อนำมาผสมกับอาหาร
4. มีชีวิตระยะหนึ่งหลังจากการเก็บรักษา โดยจุลินทรีย์ที่เป็นโปรไบโอติก ได้แก่ จุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติกได้ เช่น *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium*

ผลของโปรไบโอติกในการยับยั้งจุลินทรีย์

ตารางที่ 2.2 สมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่นของจุลินทรีย์โปรไบโอติกบางชนิด

จุลินทรีย์ที่ถูกยับยั้ง	จุลินทรีย์โปรไบโอติก
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Lactococcus</i> , <i>Pediococcus</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Lactobacillus</i> , <i>Lactococcus</i> , <i>Pediococcus</i>
<i>Clostridium botulinum</i>	<i>Lactobacillaceae</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Brevibacterium</i>
	<i>Enterococcus</i> , <i>Micrococcus</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Lactobacillaceae</i> , <i>Lactococcus</i> , <i>Pediococcus</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Lactobacillus</i> sp., <i>Lactococcus</i> sp.
	<i>Leuconostoc</i> , <i>Pediococcus</i> , <i>Lactococcus lactis</i>
<i>Salmonella</i>	<i>Lactococcus</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Leuconostoc</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Lactobacillaceae</i> , <i>Lactococcus</i> , <i>Bacillus</i>
<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Lactococcus</i> , <i>Pediococcus</i>
<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>Lactobacillaceae</i>
<i>Clostridium tyrobutyricum</i>	Lactic acid bacteria
Moulds	<i>Bacillus</i>
Yeasts	<i>Aeromonas</i>

ที่มา: Mossel *et. al*, (1995)

ประโยชน์ของโปรไบโอติกที่มีต่อร่างกาย

เมื่อมนุษย์ได้รับโปรไบโอติกเข้าไปจะทำให้ร่างกายได้รับผลดีหลายประการ (วารุณี, 2548) ดังนี้

1. รักษาสมดุลของปริมาณจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ย่อยแลคโตสทำให้ไม่เกิดอาหารท้องเสีย
3. ยับยั้งปฏิกิริยาการเกิดสารพิษ หรือสารก่อมะเร็ง
4. ช่วยสร้างสารและสังเคราะห์วิตามินที่จำเป็นให้เพียงพอกับความต้องการของร่างกายคนหรือสัตว์
5. ช่วยกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันและลดอาการแพ้
6. ลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด
7. ช่วยลดอาการท้องผูก

2.1.3 จุลินทรีย์ที่ก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร

อาหารเป็นพิษ หมายถึง โรคที่เกิดจากการบริโภคอาหาร ซึ่งส่วนมากมีสาเหตุจากจุลินทรีย์ อาการของโรคอาหารเป็นพิษที่รู้จักโดยทั่วไป คือ ปวดท้อง ท้องเสีย บางครั้งอาจคลื่นไส้ และ/หรือมีไข้โดยทั่วไป เชื้อจุลินทรีย์ที่จะทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ มีสมบัติดังนี้

1. สามารถมีชีวิตอยู่รอดได้หลังจากผ่านกระเพาะอาหารซึ่งมีความเป็นกรดสูง
2. สามารถเกาะติดกับผนังลำไส้ และเพิ่มจำนวนในลำไส้
3. สามารถในการป้องกันตนเอง เพื่อที่จะเอาชนะกลไกการป้องกันตัวของเจ้าบ้าน
4. สามารถแข่งขันกับจุลินทรีย์เจ้าถิ่นได้ดี
5. เมื่อเชื้อโรคอาหารเป็นพิษเกาะติดกับผนังลำไส้แล้วจะปล่อยสารพิษ หรือทำลายเซลล์เจ้าบ้าน ทำให้เจ้าบ้านเกิดโรคอาหารเป็นพิษขึ้น

Escherichia coli

Escherichia coli เป็นเซลล์รูปท่อน แกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ อาจเคลื่อนที่ได้หรือไม่เคลื่อนที่ บางชนิดที่แยกได้จากนกกาลำไส้สร้างแคปซูลได้ ไคโคโลนีเรียบ ไม่มีสี มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2-3 มิลลิเมตรในเวลา 18 ชั่วโมง แต่ถ้าเลี้ยงในอาหาร MacConkey agar โคโลนีมีสีแดงชมพู ขนาดใหญ่ เนื่องจากหมักน้ำตาลแลคโทส หรือเลี้ยงในอาหาร Eosin methylene blue agar (EMB) และ Endo agar โคโลนีมีสีมันวาวคล้ายโลหะ มีบางสายพันธุ์ที่แล็กโตสได้ช้า ถ้าเลี้ยงบนอาหารผสมเลือดบางสายพันธุ์เกิดการย่อยสลายเม็ดเลือดแดงแบบปิตาฮีโมไลซิส เชื้อนี้เจริญได้ในอุณหภูมิช่วงกว้าง (15-45 องศาเซลเซียส) บางสายพันธุ์ทนความร้อน 60 องศาเซลเซียส 15 นาที หรือ 55 องศาเซลเซียส 60 นาที

สมบัติทางชีวเคมีที่สำคัญคือการทดสอบ IMViC ได้ผล ++-- คือสามารถใช้ทริปโตเฟนให้อินโดล และให้ผลบวกกับเมทิลเรด แต่ไม่สร้างอะซิติกเมทิลคาร์บินอล (acetyl methyl carbinol) และไม่ใช้ซิเตรท เป็นแหล่งคาร์บอน นอกจากนี้ยังมีไลซีนดีคาร์บอกซิเลส (lysine decarboxylase) และสามารถใช้อะซิเตทเป็นแหล่งคาร์บอนได้ ที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัจจัยในการทำให้เกิดโรค

E. coli ทำให้เกิดโรคได้เนื่องจากมีไวโรเลนซ์แฟกเตอร์ (virulence factors) หลายชนิดที่ไม่พบใน *E. coli* ที่เป็นเชื้อประจำถิ่น อย่างน้อยที่สุดจะต้องมีปัจจัยอย่างใดอย่างหนึ่ง คือ

1. สามารถที่จะเกาะติดกับเซลล์บางชนิดของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม
2. สามารถที่จะบุกรุกและเข้าไปเจริญในเซลล์ของเยื่อบุผิวลำไส้
3. สามารถในการสร้างเอนเทอโรทอกซิน (enterotoxin) ที่ทำให้ร่างกายสูญเสียน้ำและของเหลว จึงเกิดอาการท้องร่วง การสร้างไซโททอกซิน (cytotoxin) ที่ไปขัดขวางการสังเคราะห์โปรตีน จึงทำให้เกิดการตกเลือดที่ลำไส้ (hemorrhagic colitis)
4. มีแคปซูลที่ป้องกันไม่ให้ถูกเม็ดเลือดขาวจับกิน

การทำให้เกิดโรค

E. coli สายพันธุ์ที่ทำให้เกิดโรค อาจทำให้เกิดโรคดังนี้ คือ ท้องร่วง (gastroenteritis) ทางเดินปัสสาวะ (urinary tract infections) โลหิตเป็นพิษ (septicemia) และ เยื่อหุ้มสมองอักเสบ (neonatal meningitis)

1. ท้องร่วง (Gastroenteritis)

เชื้อ *E. coli* ที่ทำให้เกิดโรคท้องร่วงในคนและสัตว์ คือ

1.1 Enterotoxigenic *E. coli* (ETEC)

ทำให้เกิดโรคท้องร่วงกับเด็กและผู้ใหญ่ เชื้อจะสร้างเอนเทอโรทอกซินซึ่งเป็นเอกโซทอกซินอย่างหนึ่ง ทอกซินที่สร้างมี 2 ชนิด คือ

- ก. ทอกซินชนิดไม่ทนความร้อน (heat-labile enterotoxin, LT)
- ข. ทอกซินชนิดทนความร้อน (heat-stable enterotoxin, STa และ STb)

1.2 Enteropathogenic *E. coli* (EPEC)

ทำให้เกิดโรคท้องร่วงรุนแรงในเด็กแรกเกิดและเด็กทารกจนถึง 2 ขวบ ไม่ทำให้เกิดโรคในผู้ใหญ่ *E. coli* สายพันธุ์นี้ทำให้เกิดท้องร่วงแบบเป็นน้ำ ไม่มีเลือดปน (watery diarrhea) และมีอาการไข้น้ำ คลื่นไส้ อาเจียน

1.3 Enteroinvasive *E. coli* (EIEC)

ทำให้เกิดโรคท้องร่วงคล้ายโรคบิดที่เกิดจาก *Shigella* ถึงแม้ว่า *Shigella* จะมีความรุนแรงมากกว่า เพราะใช้เชื้อน้อยกว่าในการทำให้เกิดอาการ โรคนี้เกิดได้กับทุกวัยทั้งเด็กและผู้ใหญ่

1.4 Enterohemorrhagic *E. coli* (EHEC)

ทำให้เกิดอาการท้องร่วงที่ต่างจากโรคบิดที่เกิดจาก *Shigella* และ EIEC คือทำให้เกิดการตกเลือดที่ลำไส้ (Hemorrhagic colitis) มีอาการท้องเสียและปวดท้องรุนแรง อุจจาระมีน้ำมาก ต่อมาเมื่อมีเลือดปนมากจนถ่ายเป็นเลือด อาเจียน ไม่มีไข้ หรือมีไข้เล็กน้อย นอกจากนั้นยังทำให้เกิดโรค hemolytic uremic syndrome (HUS) ซึ่งพบได้ในคนทุกวัยแต่พบมากในเด็กและทารก และเป็นสาเหตุของไตวายในเด็ก

การรักษาและการป้องกันโรคท้องร่วงจาก *E. coli*

รักษาด้วยซัลโฟนาไมด์หรือแอมพิซิลลิน เพียงพอในรายที่ติดเชื้อทางปัสสาวะเฉียบพลัน แต่ไม่มีโรคแทรกซ้อน ในรายที่เป็นเรื้อรังจึงใช้ยาเมธีนาไมนแมนดีเลท กรดนาลิติซิก ไตรเมโทพริมซัลฟาเมธอกซาโฟลเซฟาเลกซินและคาร์เบนซิลลินในเด็กทารกที่เกิดท้องเดินเนื่องจาก EPEC จะให้ทานนีโอไมซินหรือโคลิสติน นอกจากการรักษาด้วยยาแล้ว ยังต้องรับให้น้ำเกลือและอิเล็กโทรไลต์ เพื่อไปทดแทนส่วนที่สูญเสียไป การป้องกัน ที่ดีที่สุด คือ การหลีกเลี่ยงการได้รับเชื้อจากอาหารและน้ำที่ปนเปื้อน รวมทั้งให้ความรู้เกี่ยวกับสุขอนามัยในการจับต้องหรือปรุงอาหาร

2. ทางเดินปัสสาวะอักเสบเนื่องจาก *E. coli* (*E. coli* Urinary Tract Infection)

E. coli เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคทางเดินปัสสาวะอักเสบได้บ่อยที่สุด (มากกว่า 80 %) ในเพศหญิง กลุ่มที่ก่อให้เกิดโรคได้แก่ ซีโรไทป์ 1, 2, 4, 6, 7, 9, 15, 16, 18 และ 75 การที่เชื้อก่อโรคได้รุนแรงเนื่องจากสร้างฮีโมไลซิน และเกาะติดกับเยื่อผิวของทางเดินปัสสาวะได้ การเกาะติดนี้เกี่ยวข้องกับพิพิไล (P-pili) และแอดฮีซิน (adhesin)

3. เยื่อหุ้มสมองอักเสบในเด็กทารก (Neonatal Meningitis)

E. coli และ *Streptococci* group B เป็นสาเหตุของโรคเยื่อหุ้มสมองอักเสบในเด็กทารกอายุ 1 เดือนแรกมากที่สุด เยื่อหุ้มสมองอักเสบที่เกิดจาก *E. coli* นี้ จะเกิดจากสายพันธุ์ K1 มากที่สุดเกือบ 90 % สายพันธุ์ K1 นี้มี capsular antigen เป็นพอลิแซ็กคาไรด์อยู่ที่ผิวเซลล์ การเกิดโรคเข้าใจว่าทารกได้รับเชื้อจากมารดา โดยผ่านทางนาโซฟาริงหรือลำไส้ หลังจากเชื้อเข้ากระแสเลือด จะถูกนำไปเยื่อหุ้มสมอง

Staphylococcus aureus

Staphylococcus aureus จัดอยู่ในตระกูลไมโครค็อกคาซี (Micrococcaceae) เชื้อมีลักษณะเป็นรูปทรงกลม แกรมบวก ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ เซลล์มีเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 0.5-1.5 ไมโครเมตร เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อ ส่วนใหญ่ในสภาพที่มีออกซิเจนหรือมีออกซิเจนเล็กน้อย เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37°C เอกสารนี้เป็นเอกสารทบทวนเนื้อหาสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องศาเซลเซียส แต่สร้างรงควัตถุได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิห้อง โคลีนบนอาหารแข็งจะมีสีเหลืองทอง ลักษณะกลมเรียบ นูนเล็กน้อย เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1-4 มิลลิเมตร

การทำให้เกิดโรค

1. การติดเชื้อที่ผิวหนัง

การติดเชื้อ *Staphylococcus* ทำให้เกิดฝี อาจเกิดที่ส่วนใดของร่างกายก็ได้ ส่วนใหญ่เกิดที่ผิวหนัง ซึ่งเริ่มต้นจากการติดเชื้อที่ต่อมน้ำมัน บริเวณที่เกิดฝีจะเกิดการอักเสบ มีการสะสมเม็ดเลือดขาว เกิดการตายของเนื้อเยื่อ เมื่อฝีเจริญเต็มที่บริเวณเนื้อเยื่อที่ตายจะเต็มไปด้วยเม็ดเลือดขาวที่ตายแล้ว รวมทั้งแบคทีเรียที่เม็ดเลือดขาวไปกิน และมีไฟบรินมาล้อมรอบ ซึ่งภายในบริเวณนี้จะไม่มีการไหลเวียน

1. โรคปอดบวม (*Staphylococcal pneumonia*)

เป็นโรคที่สำคัญมากเพราะมีอัตราการตายสูง อาจเกิดขึ้นทันทีทันใดหรือติดเชื้อภายหลังจากเป็นโรคอื่นมาก่อน เช่น เมื่อป่วยเป็นไข้หวัดใหญ่ เด็กอายุต่ำกว่า 1 ปี มีความไวต่อโรคนี้นมาก การติดเชื้อมักเกิดในคนไข้ที่ระบบการป้องกันร่างกายบกพร่อง เด็กที่เป็นหัด คนที่เป็นไข้หวัดใหญ่ คนไข้ในโรงพยาบาลที่รักษาด้วยยาปฏิชีวนะและสเตอรอยด์ คนที่กำลังรักษามะเร็งหรือได้รับยากดภูมิคุ้มกัน การติดเชื้อจะมีการตายของเนื้อเยื่อพร้อมกับการเกิดฝีจำนวนมาก โดยเกิดเป็นหย่อมๆ

2. ไชกระดูกอักเสบ (osteomyelitis) และโพรงข้อต่อมีหนอง (pyoarthrosis)

ไชกระดูกอักเสบ (osteomyelitis)

S. aureus เป็นสาเหตุสำคัญของไชกระดูกอักเสบ โรคนี้นักเกิดในเด็กชายอายุต่ำกว่า 12 ปี ส่วนใหญ่เกิดตามหลังเมื่อมีการกระจายของเชื้อเข้ากระดูกเมื่อเกิดบาดแผลหรือฝี เชื้อจะอาศัยอยู่ที่ไดอะไฟซิส (diaphysis) ของกระดูกยาว (long bones) ซึ่งอาจเป็นเพราะการหมุนเวียนเลือดเข้ามาในบริเวณนี้ เมื่อการติดเชื้อเกิดมากขึ้น จะมีการสะสมหนองและมากขึ้นจนไหลขึ้นมาที่ผิวของกระดูก เกิดเป็นหนองใต้เยื่อหุ้มกระดูก อาการของการเกิดไชกระดูกอักเสบจะมีไข้ หนาวสั่น เจ็บปวดที่กระดูก มีการหดเกร็งของกล้ามเนื้อรอบๆบริเวณนั้น เมื่อเกิดการติดเชื้อใกล้กับข้อต่อ จะมีโรคแทรกซ้อนคือโพรงข้อต่อมีหนอง

โพรงข้อต่อมีหนอง (pyoarthrosis)

ประมาณ 50 % ของผู้ป่วยที่เป็นโรคข้ออักเสบจากแบคทีเรีย เกิดจากเชื้อ *S. aureus* โครโพรงข้อต่อมีหนองอาจเกิดจากหลังการทำการศัลยกรรมกระดูก ร่วมกับการเกิดไชกระดูกอักเสบหรือเกิดการติดเชื้อที่ผิวหนังเฉพาะแห่ง หรือเกิดการติดเชื้อในข้อต่อระหว่างการฉีดสารบางชนิดเข้าไปในข้อต่อ โดยเฉพาะในคนไข้ที่เป็นข้ออักเสบรูมาตอยด์ ที่ได้รับสารคอร์ติโคสเตอรอยด์ การติดเชื้อ *Staphylococcus* ในข้อต่อจะทำลายกระดูกอ่อนในข้อต่อ และผลทำให้เกิดความพิการของข้อต่ออย่างถาวรตลอดไป

3. การติดเชื้อแบคทีเรียในกระแสเลือดและเยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ (bacteremia และ endocarditis)

การติดเชื้อแบคทีเรียในกระแสเลือด อาจเกิดขึ้นเนื่องจากการติดเชื้อเฉพาะที่ เช่น ที่ผิวหนัง ทางเดินหายใจ หรือทางเดินระบบสืบพันธุ์และปัสสาวะ และมักพบในคนไข้ที่เป็นโรคเบาหวาน โรคหัวใจและหลอดเลือด เอนกสารนี้เป็นเอนกสารที่สว่นไวสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไมออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เลือด ความผิดปกติของเม็ดเลือดขาวแกรนูโลไซต์ (granulocyte) และภาวะภูมิคุ้มกันบกพร่อง นอกจากนี้สิ่งแปลกปลอมที่เข้าสู่กระแสเลือด เช่น การสวนหัวใจ ก็เป็นสาเหตุให้เชื้อเข้าหลอดเลือดจนเกิดภาวะติดเชื้อในกระแสเลือด

อาการที่เกิดจากการติดเชื้อในกระแสเลือด คือ มีไข้ หนาวสั่น มีภาวะเกิดเป็นพิษ และเกิดโรคแทรกซ้อน เยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ เกิดการทำลายลิ้นหัวใจอย่างเฉียบพลันและร้ายแรงจนถึงตายได้ภายใน 2-3 วัน เยื่อหุ้มหัวใจอักเสบเนื่องจาก *S. aureus* มีอัตราการตายสูงมากตั้งแต่ 40-80 % ขึ้นอยู่กับอายุคนไข้ และขึ้นอยู่กับความต้านทานของเชื้อต่อยาเพนิซิลลินด้วย

4. อาหารเป็นพิษ (food poisoning)

สาเหตุเกิดจากการกินอาหารที่สารพิษจากแบคทีเรีย *S. aureus* สายพันธุ์ที่สร้างเอนเทอโรทอกซิน อาหารนั้นมักถูกปนเปื้อนโดยผู้ประกอบอาหารที่มีเชื้ออยู่ในมือ และอาหารนั้นมักเก็บไว้ในตู้เย็นที่ไม่เย็นพอ จึงทำให้เชื้อเติบโตและสร้างทอกซินได้ อาหารที่มักมีเชื้อปะปน ได้แก่ อาหารพวกคัสตาร์ดหรือขนมปังที่มีครีม อาหารพวกแฮม เนื้อที่ผ่านกรรมวิธีการปรุงแล้ว ไอศกรีม เนยแข็งและสลัดไก่ อาหารที่มีเอนเทอโรทอกซินปะปนมักมีกลิ่น รส และสภาพของอาหารเป็นปกติ ปริมาณทอกซินที่มากพอจะทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ จะสร้างขึ้นภายใน 4-6 ชั่วโมง ที่ 30 องศาเซลเซียส

อาการของโรคจะเกิดภายใน 2-6 ชั่วโมง หลังจากทานอาหารเข้าไป โดยมีอาการเป็นตะคริวรุนแรง ปวดท้อง อาเจียน คลื่นเหียน ท้องร่วง อาจมีอาการเหงื่อแตกและปวดศีรษะ แต่มักไม่มีไข้ อาการของโรคจะหายได้เร็วภายใน 6-8 ชั่วโมง

5. ลำไส้อักเสบ (enterocolitis)

ลำไส้อักเสบเป็นอาการที่รุนแรง มักพบในคนไข้ในโรงพยาบาลที่เชื้อประจำถิ่นในลำไส้ ถูกยับยั้งการเจริญด้วยยาปฏิชีวนะที่ออกฤทธิ์กว้าง ทำให้เชื้อ *S. aureus* (ที่สร้างเอนเทอโรทอกซิน) ที่ดื้อยาเจริญมากเกินไป อย่างไรก็ตามโรคนี้ส่วนใหญ่มักเกิดจาก *Clostridium difficile* ที่สร้างทอกซิน

6. ท็อกซิกช็อก (toxic shock syndrome, TSS)

S. aureus สายพันธุ์ที่สร้างทอกซิน (toxic shock syndrome toxin-1, TSST-1) ทำให้เกิดโรคช็อก TSS ซึ่งมักเกิดในหญิงสาวที่ใช้ผ้าอนามัยแบบสอด อาการของโรค คือ มีไข้ ความดันต่ำ ท้องร่วง เยื่อบุตาอักเสบ ปวดกล้ามเนื้อ และเกิดผื่นแดงของไข้ดำแดง หลังจากนั้นจะมีการลอกของผิวหนังออกเป็นแผ่นหรือสะเก็ด

การป้องกัน

การติดเชื้อ *Staphylococcus* จะไม่สามารถควบคุมได้อย่างสมบูรณ์ เพราะยังมีคนที่เป็พาหะของโรคอยู่ทั่วไป การแพร่กระจายของโรคจะลดลงถ้าทุกคนมีสุขอนามัยที่ดีพอ หรือทิ้งทำลายสิ่งของที่ปนเปื้อนเชื้อ ควรหลีกเลี่ยงการใชยาปฏิชีวนะพร้าเพรื่อ เพื่อป้องกันการแพร่ของเชื้อที่ดีอย่า

Salmonella

Salmonella ดำรงชีวิตแบบแฟคัลเททีฟแอนแอโรบ เป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปท่อน ส่วนใหญ่เคลื่อนที่ได้ด้วยแฟลกเจลลาที่อยู่รอบตัว ยกเว้น *S. pullorum* และ *S. gallinarum* เชื้อนี้ไม่มีแคปซูลและสปอร์ เจริญได้ดีในที่มืดและไม่มีออกซิเจน สามารถเฟอร์เมนต์น้ำตาลกลูโคสและแมนโนสได้กรด บางที่ได้ก๊าซด้วย แต่ไม่สามารถเฟอร์เมนต์น้ำตาลแล็กโทสและซูโครสได้

การทำให้เกิดโรค

เชื้อ *Salmonella* ทำให้เกิดโรคติดเชื้อ 3 ชนิด คือ

1. ไข้เอนเทอริก : ไข้ไทฟอยด์และพาราไทฟอยด์ (Enteric fevers : typhoid and paratyphoid)

เป็นโรคติดเชื้อ *Salmonella* ที่สำคัญที่สุด ไข้ไทฟอยด์มีสาเหตุมาจากเชื้อ *Salmonella typhi* ส่วนพาราไทฟอยด์มีสาเหตุมาจากเชื้อ *S. paratyphi* A, B และ C อาการของโรคจะคล้ายกัน แต่ไข้พาราไทฟอยด์หรือไข้รากสาดเทียมมีความรุนแรงน้อยกว่า และมีอาการอ่อนกว่าไข้ไทฟอยด์ การเกิดโรคเกิดจากการกินอาหารหรือน้ำที่ปนเชื้อเข้าไป ทำให้เกิดการอักเสบของลำไส้ และอาจเข้าสู่กระแสเลือดได้ ทำให้มีไข้ และเกิดอาการรุนแรง เกิดการอักเสบการตายของเนื้อเยื่อและลอกออก จึงมีเลือดปนออกมากับอุจจาระ และอาจทำให้ลำไส้ทะลุด้วย

2. ลำไส้อักเสบ (enterocolitis, gastroenteritis)

เกิดจากเชื้อ *Salmonella* หลายซีโรไทป์ด้วยกัน บางชนิดทำให้เกิดโรคในสัตว์เลือดอุ่นรวมทั้งคน เชื้อสำคัญที่ทำให้เกิดโรค คือ *S. enteritidis* และ *S. typhimurium* อาการของโรค คือ ปวดศรีษะอย่างรุนแรง คลื่นไส้ อาเจียน อุจจาระร่วงรุนแรง ปวดท้อง มีไข้ต่ำ มักเป็นอยู่ 2-5 วัน

3. โลหิตเป็นพิษ (septicemia)

การติดเชื้อ *Salmonella* ในกระแสเลือดมักเกิดจาก *S. choleraesuis* เป็นส่วนใหญ่ เมื่อเข้าสู่ร่างกาย จะไปเจริญในกระแสเลือดเพิ่มจำนวนขึ้น จึงทำให้มีไข้สูง หนาวสั่น เบื่ออาหาร น้ำหนักตัวลดลง จะพบเชื้อในกระแสเลือดเท่านั้น ไม่พบในอุจจาระ โรคนี้จะเป็นอยู่นานจนเรื้อรัง แบคทีเรียในเลือดจะกระจายไปยังส่วนต่างๆของร่างกาย ทำให้เยื่อหุ้มสมองอักเสบ ปอดอักเสบ ไตอักเสบ เยื่อหุ้มหัวใจอักเสบ ไชกระดูกและกระดูกอักเสบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การป้องกันและควบคุมโรค

การป้องกันการติดต่อของโรค

1. กำจัดสิ่งโสโครก สิ่งขับถ่าย และรักษาแหล่งน้ำให้สะอาด
2. เก็บรักษาอาหารในตู้เย็น รวมทั้งน้ำมันและผลิตภัณฑ์นมต้องผ่านกระบวนการพาสเจอร์ไรเซชัน
3. ห้ามผู้เป็นพาหะของโรคสัมผัสหรือประกอบอาหาร
4. ให้ความรู้เกี่ยวกับอนามัยส่วนบุคคล หลีกเลี่ยงการอยู่ในที่ชุมชนแออัดและภาวะทุโภชนาการ
5. รมั้ดระวังการเตรียมอาหารต้องให้สะอาด โดยเฉพาะในสถานรับเลี้ยงเด็กและทารก

2.1.4 อนุมูลอิสระ (Free Radical)

อนุมูลอิสระ หมายถึง สารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (unpaired electrons) ในอะตอม หรือโมเลกุล พบได้ทุกแห่งทั้งในสิ่งแวดล้อมในสิ่งมีชีวิตและในเซลล์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการผลิตพลังงานภายในเซลล์ หรือจากเมแทบอลิซึม โดยมีการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนออกจากโมเลกุลของออกซิเจน ทำให้อิเล็กตรอนในโมเลกุลออกซิเจนไม่สมดุล กลายเป็นอนุมูลอิสระและว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยามากและสามารถดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นมาแทนที่อิเล็กตรอนที่ขาดหายไปเพื่อให้ตัวเองเกิดความสมดุลหรือเสถียร ซึ่งปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ และเกิดขึ้นในเซลล์ ตลอดเวลา (ดังสมการ 1 และ 2)



อนุมูลอิสระสามารถทำลายชีวโมเลกุลทุกประเภท ทั้งในเซลล์และส่วนประกอบของเซลล์สิ่งมีชีวิต เช่น ลิพิด, โปรตีน, เอนไซม์, ดีเอ็นเอ หรือ อาร์เอ็นเอ เป็นต้น เป็นสาเหตุให้เซลล์ตายการเกิดการกลายพันธุ์ของดีเอ็นเอในเซลล์และก่อให้เกิดโรคต่างๆ ได้แก่ โรคชรา (aging) โรคมะเร็ง (cancer) โรคหัวใจขาดเลือด (coronary heart disease) โรคความจำเสื่อม (Alzheimer's disease) โรคข้ออักเสบ (arthritis) โรคภูมิแพ้ (allergies) โรคความดันโลหิต โรคเหงือก โรคเกี่ยวกับสายตา ความผิดปกติของปอดและระบบประสาท โรคเกี่ยวกับทางเดินหายใจ โรคเกี่ยวกับความผิดปกติของผิวหนัง และโรคลำไส้อักเสบ เป็นต้น อนุมูลอิสระนอกจากจะเกิดภายในสิ่งมีชีวิตแล้ว อนุมูลอิสระสามารถเกิดจากภายนอกสิ่งมีชีวิตหรือในสิ่งแวดล้อม ได้แก่ การได้รับเชื้อโรค เช่น การติดเชื้อโรคไวรัสหรือเชื้อแบคทีเรีย โรคเกี่ยวกับภูมิคุ้มกัน เช่น ข้ออักเสบ รูมาตอยด์ เป็นต้น จากรังสี เช่น รังสีอัลตราไวโอเล็ต รังสีเอกซ์รังสีแกมมาจากมลภาวะ เช่น ควันทะกั่ว แก๊สจากท่อไอเสีย เช่น ไนโตรออกไซด์ ไนโตรเจนไดออกไซด์เข้ามาจากเครื่องยนต์ ฝุ่นจากกระบวนการประกอบอาหาร เช่น เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การยางเนื้อสัตว์ที่มีส่วนประกอบของไขมันสูงการนำน้ำมันที่ใชทอดอาหารที่มีอุณหภูมิสูงๆกลับมาใช้อีก การทำให้เกิดอาหารประเภทเกรียมไหมหรือเกิดจากการปิ้งย่าง จากยาบางชนิดเช่น โคโคโรบิซิน, เพนนิซิลลามิน และพาราเซตามอล เป็นต้น

สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ มีความสำคัญต่อกระบวนการออกซิไดซ์อนุมูลอิสระ หรือสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยในสิ่งมีชีวิตจะมีระบบการป้องกันการทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อจากอนุมูลอิสระ ประกอบด้วยสารต้านอนุมูลอิสระมากมายหลายชนิดที่ทำหน้าที่แตกต่างกันไป อาจเป็นเอนไซม์หรือไม่ก็ได้ สารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้มีกลไกการทำงานต้านอนุมูลอิสระด้วยกันหลายแบบ เช่น ดักจับอนุมูลอิสระ (radical scavenging) การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน (singlet oxygen quenching) จับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (metal chelation) หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (chain-breaking) เสริมฤทธิ์(synergism) และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ เป็นต้น

แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระ

แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระมี 2 แหล่ง ได้แก่

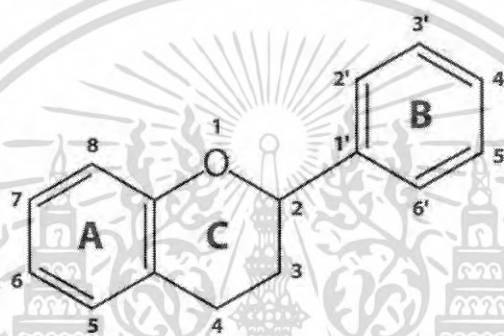
1. สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (Synthetic antioxidants) เกิดจากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมี โดยเป็นสารฟีนอลิก ได้แก่ propylgallate, 2-butylated hydroxyanisole, 3-butylated hydroxyanisole เป็นต้น สารสังเคราะห์ดังกล่าวนิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่เป็นสาเหตุที่ทำให้อาหารมี กลิ่น สี และรสชาติเปลี่ยนแปลงไป
2. สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (Natural antioxidants) สามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ ซึ่งเป็นได้ทั้งเอนไซม์ วิตามิน และสารอื่นๆ

ตัวอย่างของสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นวิตามิน เช่น Vitamin C เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ไฮโดรฟาสซิม , Vitamin E เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่เมมเบรน และ Glutathione เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ป้องกันอันตรายจากอนุมูลอิสระที่ไฮโดรฟาสซิมและเมมเบรน ตัวอย่างของสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นเอนไซม์ เช่น Glutathione peroxidase (GPX), Glutathione reductase และ Glutathione transferase ซึ่งทำหน้าที่ให้โมเลกุลของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เป็นออกซิเจนและน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฟลาโวนอยด์ (flavonoids)

ฟลาโวนอยด์ จัดเป็นสารประกอบในกลุ่ม โพลีฟีนอล และสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่พบได้ในธรรมชาติมีมากกว่า 4,000 ชนิด โดยมีโครงสร้างพื้นฐานเป็นฟีนิลเบนโซไพโรน (phenylbenzopyrone) ซึ่งสามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยตามโครงสร้างเคมีได้ 7 กลุ่ม ได้แก่ ฟลาโวนอล (flavonols) ฟลาโวน (flavones) ฟลาวาโนน (flavanones) ฟลาวานอล (flavanols) ฟลาวาโนนอล (flavanonols) ไอโซฟลาโวน (isoflavones) และ แอนโธไซยานิดิน (anthocyanidins) ฟลาโวนอยด์สามารถ พบได้ในพืช เช่น ผัก ผลไม้ และเครื่องดื่มบางชนิดเช่น ไวน์ ชา เป็นต้น (วิภพ, 2556)



รูปที่ 2.3 โครงสร้างพื้นฐานของฟลาโวนอยด์

ที่มา: วิภพ, (2556)

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยา

นอกจากทำให้ดอกไม้หรือผลไม้มีสีสวยงาม ใช้ล่อแมลงมาผสมเกสรเพื่อแพร่กระจายพันธุ์แล้ว มีรายงานการศึกษาว่าใช้ป้องกันและรักษาโรคต่างๆได้ เช่น โรคเกี่ยวกับหัวใจและหลอดเลือด ฤทธิ์ต้านมะเร็ง การต้านแบคทีเรีย ต้านการอักเสบ ต้านการแพ้ ต้านไวรัส พบว่าคุณสมบัติเหล่านี้สัมพันธ์กับคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

กลไกหลักในการออกฤทธิ์ของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์และกลุ่มโพลีฟีนอลอื่นๆมี 3 กลไก ดังนี้

1. เป็นสารคีเลต (chelating agent) ทำหน้าที่จับพันธะโคออร์ดิเนตกับโลหะหนัก เช่นทองแดงและเหล็ก ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการสร้าง รวมทั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ
2. เป็นสารต้านออกซิเดชันโดยหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ (chain breaking antioxidant) ทำหน้าที่เป็นตัวให้อิโตรเจนแก่อนุมูล หลังจากฟลาโวนอยด์ถูกออกซิไดซ์แล้วจะได้ผลผลิตเป็นฟลาโวนอยด์ฟีนอกซิลที่มีความเสถียรมากกว่า
3. ทำหน้าที่ regenerate วิตามินอีโดยรีดิวซ์อนุมูล α -tocopheroxyl กลับเป็น α -tocopherol เหมือนเดิม ทำให้ทำหน้าที่เป็น antioxidant ได้ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดฟีนอลิก(Phenolic acids)

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารในกลุ่มของกรดฟีนอลิกและเอสเทอร์ของกรดฟีนอลิก ขึ้นอยู่กับจำนวนหมู่แทนที่ไฮดรอกซิลในโมเลกุล คุณสมบัติในการดึงอิเล็กตรอนของหมู่คาร์บอกซิลิกในกรดเบนโซอิกจะส่งผลให้ความสามารถในการให้ไฮโดรเจนของ hydroxybenzoate น้อยลง ดังนั้นจะพบว่า สารกลุ่ม hydroxycinnamic acids มีฤทธิ์ดีกว่า

ความสัมพันธ์ของโครงสร้างและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารกลุ่มไฮดรอกซีซินนามิก

Phenylpropanoids ในพืชที่พบได้มากที่สุด ได้แก่ กรดไฮดรอกซีซินนามิก กรดคูมาริก กรดคาเฟอิก และกรดเฟอร์ูลิก พบว่าการที่สารในกลุ่มนี้มีหมู่แทนที่ที่มีคุณสมบัติเป็นหมู่ให้อิเล็กตรอน เช่น หมู่อัลคิล หรือเมทอกซิล ที่ตำแหน่ง ortho จะเพิ่มความคงตัวของอนุมูล arylloxyl ทำให้มีประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้น

กลไกการออกฤทธิ์

ผลการศึกษาส่วนใหญ่แสดงให้เห็นว่า ฟลาโวนอยด์ในรูปแบบคอนจูเกต หรือรูปแบบอื่น จะสามารถเข้าสู่เซลล์หรือกระแสเลือดและต้านอนุมูลอิสระทั้งที่เป็นอนุมูลของออกซิเจนหรือไนโตรเจน แต่มีประสิทธิภาพน้อยกว่า มีหลักฐานการศึกษาที่ชี้ให้เห็นว่า ฤทธิ์ของฟลาโวนอยด์ต่อเซลล์ อาจเป็นผลมาจากการเกิดอันตรกิริยากับโปรตีนบางชนิดที่กระตุ้นให้เกิดสัญญาณส่งต่อในระดับเซลล์ และมีรายงานว่า ฟลาโวนอยด์มีคุณสมบัติในการป้องกันเซลล์ประสาทจากภาวะถูกออกซิไดซ์โดยมีอนุมูลอิสระเกินสมดุลได้ดีกว่าวิตามินซี แม้ว่าจะใช้ปริมาณวิตามินสูงกว่า 10 เท่าก็ตาม

สารต้านอนุมูลในอุดมคติควรมีคุณสมบัติที่สำคัญดังนี้

- ก. มีความเฉพาะเจาะจงสูงในการเข้าจับอนุมูลอิสระโดยตรง และกำจัดอนุมูลให้หมดไป
- ข. สามารถทำปฏิกิริยาคีเลทกับโลหะได้
- ค. เป็นสารต้านออกซิเดชัน
- ง. ไม่มีผลกระทบต่อการแสดงออกของยีน

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

1. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพ เช่น

1.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารโพลีฟีนอลชนิดต่าง ๆ โดยการทำให้เกิดสี (colorimetric assay) เป็นวิธีการนำสารเคมีชนิดต่างๆ มาทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง และดูสีที่เกิดขึ้น หลังจากการเกิดปฏิกิริยา ต่เช่น วิธี Shinoda test และ วิธี Pew test เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารโพลีฟีนอลด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบชั้น

บาง (thin layer chromatography, TLC) เป็นเทคนิคที่ใช้ในการแยกสารและวิเคราะห์สารโพลีฟีนอลในเชิงคุณภาพ (qualitative analysis) โดยอาศัยหลักการเคลื่อนที่ของสารด้วยตัวทำละลายหรือตัวพา (mobile phase) กับการถูกดูดซับโดยตัวดูดซับ (adsorbent หรือ stationary phase) ซึ่งอัตราการเคลื่อนที่ของสารตัวอย่างบนตัวดูดซับ ขึ้นอยู่กับความสามารถในการละลายของสารตัวอย่างกับตัวทำละลาย และความสามารถในการดูดซับของตัวดูดซับที่มีต่อสารตัวอย่างในแต่ละชนิด สารตัวอย่างที่แตกต่างกันจะถูกละลายและถูกดูดซับได้ไม่เท่ากัน โดยสารที่ละลายในตัวทำละลายได้ดี และถูกดูดซับน้อยจะเคลื่อนที่เร็ว

1.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระชนิดต่าง ๆ โดยใช้เครื่อง high performance liquid chromatography (HPLC) ใช้หลักการคล้ายกับเทคนิคของ TLC โดยเครื่อง HPLC มีส่วนของปั๊มมาช่วยให้ตัวทำละลายหรือเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) และตัวดูดซับหรือเฟสอยู่กับที่ (stationary phase) บรรจุเป็นทรงกลมเล็กๆ หรือเรียกว่าคอลัมน์ โดยสารตัวอย่างแต่ละชนิดจะเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ หรือ stationary phase ได้แตกต่างกัน คอลัมน์ต่างชนิดกันแยกสารได้แตกต่างกัน ซึ่งสารที่ถูกดูดซับได้น้อย จะเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ออกมาก่อน ส่วนสารที่ถูกดูดซับได้ดีจะเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์ออกมาทีหลัง

2. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณ เช่น

2.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay) เป็นการทดสอบด้วยวิธีทางเคมีโดยใช้สารที่มีคุณสมบัติเป็นอนุมูลอิสระในที่นี้ก็คืออนุมูลอิสระดีพีพีเอช (diphenyl-picrylhydrazyl radical) ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่คงตัว และมีสีม่วงสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดโดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เมื่อ DPPH[•] ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายด้วยเอทานอล (สารที่ให้อิเล็กตรอน) จะทำให้สีม่วงจางลงจนเป็นสีเหลือง ซึ่งก่อนนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงต้องตั้งทิ้งไว้ที่มีดเป็นเวลา 30 นาทีเพื่อให้เกิดปฏิกิริยา ทำให้สามารถหาการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณสีที่จางลงของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH

2.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS radical cation decolorization assay) เป็นวิธีการวัดความสามารถในการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส เป็นสารสังเคราะห์ที่มีสีเขียวปนน้ำเงิน สามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร

2.3 การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (Ferric ion reducing antioxidant power (FRAP) assay) วิธีการนี้อาศัยหลักการของสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถถ่ายเทอิเล็กตรอนให้กับสารประกอบเชิงซ้อน และมีความสามารถในการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 539 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 วัสดุดิบ

1. ถั่วลิสงกะเทาะเปลือก ตราไร่ทิพย์
2. นมผงตราดุมิลต์ 4 คอมพลีท แคร่ รสจืด

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์ จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

1. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* TISTR892
2. *Streptococcus thermophilus* TISTR894
3. *Leuconostoc mesenteroides* TISTR473
3. *Staphylococcus aureus* ATCC23
4. *Escherichia coli* TISTR527
5. *Salmonella typhimurium* TISTR1469

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหาร De Man Rogosa and Sharpe (SRL, India)
2. อาหาร Nutrient agar (SRL, India)
3. อาหาร STA

3.1.4 เครื่องมือ

1. ตู้บ่มเชื้อ (MEMMERT, Western Germany)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ตู้แช่แข็ง (FASTER BIO48, Italy)
3. ตู้อบลมร้อน (Astell Hearson, UK)
4. หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (TOMY ES-315, Japan)
5. เครื่องปั่นเหวี่ยง (HERMIE Z36HK, Germany)
6. เครื่องปั่นไฟฟ้า (SHARP EM-ICE, Thailand)
7. เครื่องซังสาร 2 ตำแหน่ง (OHOUS ARC 120, USA)
8. เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (DENVER INSTRUMENT UB-10, USA)
9. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ
10. เครื่องวัดความขุ่น (Spectrophotometer) (UNICO 2800A UV/VIS, USA)
11. อุปกรณ์เจาะผิววุ้น Cork-borers ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.7 เซนติเมตร

3.1.5 วัสดุและเครื่องแก้ว

1. ขวด Duran ขนาด 250 มิลลิลิตร
2. ขวดรูปชมพู่ขนาด 125 และ 250 มิลลิลิตร
3. กระบอกตวงขนาด 500 มิลลิลิตร
4. ขวดปริมาตรขนาด 100 และ 1,000 มิลลิลิตร
5. หลอดทดลองขนาด 16x150 มิลลิลิตร
6. ไมโครปิเปต และทิปขนาด 100 และ 1,000 มิลลิลิตร
7. ปิเปตขนาด 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร
8. บีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร
9. บิวเรตขนาด 50 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10. หลอดไมโครเซนตริฟิวก์พลาสติก

11. แท่งแก้วคนสาร

12. จานอาหารเพาะเชื้อ

13. ที่จับบิวเรต

14. ขาดั่ง

15. หลอดหยดสาร

16. ลูบเขี่ยเชื้อ

17. ตะเกียงแอลกอฮอล์

18. ตะแกรงใส่หลอดทดลอง

19. สำลี

20. ผ้าก๊อซ

21. เทอร์โมมิเตอร์

22. ซ้อนตักสาร

3.1.6.สารเคมี

1. สารละลายฟีนอล์ฟทาไลน์ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์

2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 N

3. โพแทสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลต

4. สารละลายมาตรฐาน McFarland No. 0.5

5. เอทานอลเข้มข้น 70 % และ 95 %

6. เมทานอลเข้มข้น 100 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrozyl (DPPH)

8. กรด Ascorbic

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 ขั้นตอนการผลิตโยเกิร์ตถั่วลิสง

3.2.1.1 ขั้นตอนการผลิตนํ้านมถั่วลิสง

สูตรนํ้านมถั่วลิสง

1. ใช้อัตราส่วนถั่วต่อนํ้าประมาณ 1:8, นมผง 2 %



ถั่วลิสง	150 กรัม
นํ้าสะอาด	1,200 มิลลิลิตร
นมผง	72 กรัม

2. ใช้อัตราส่วนถั่วต่อนํ้าประมาณ 1:8, นมผง 4 % (จุฬามาศและอรอุมา, 2540)

ถั่วลิสง	150 กรัม
นํ้าสะอาด	1,200 มิลลิลิตร
นมผง	144 กรัม

ล้างถั่วลิสงกะเทาะเปลือกให้สะอาด นำถั่วลิสงมาต้มให้สุกโดยใช้ไฟปานกลาง แล้วนำถั่วลิสงที่ต้มสุกมาปั่นด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้า เติมนํ้าในอัตราส่วนที่กำหนด ปั่นจนละเอียดกรองเอากากออก เติมนมผงลงไปนํ้านมถั่วลิสง ผสมให้เข้ากัน โดยนำไปปั่นอีกครั้ง ตวงนํ้านมถั่วลิสงใส่พลาสติกหุ้มฝาขวดขนาด 250 มิลลิลิตร ที่ปราศจากเชื้อ ปริมาตรขวดละ 100 มิลลิลิตร ปิดด้วยจุกสำลีให้แน่น ทำการพาสเจอร์ไรส์นมที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

3.2.1.2 การเตรียมหัวเชื้อโยเกิร์ต

นํ้านมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์แล้ว มาทำให้เย็นลงถึงอุณหภูมิ 43-45 องศาเซลเซียส แล้วถ่ายเชื้อ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *S. thermophilus*, *L. mesenteroides* เชื้อผสมระหว่าง *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* และ *S. thermophilus* เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

delbrueckii subsp. *bulgaricus* กับ *S. thermophilus*, เชื้อผสมระหว่าง อย่างละ 1 โคโลนี นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง

3.2.1.3 ขั้นตอนการทำโยเกิร์ต

นำนมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์แล้ว มาทำให้เย็นลงถึงอุณหภูมิ 43-45 องศาเซลเซียส เติมหัก เชื้อที่เตรียมไว้ จำนวนเซลล์ประมาณ 10^8 CFU/ml ปริมาณ 5 % นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนได้โยเกิร์ตมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 4-4.5

3.2.2 การศึกษาปริมาณแบคทีเรียแลคติกและปริมาณกรดในโยเกิร์ตถั่วลันเตาที่บ่มในระยะเวลาต่างกัน

นำโยเกิร์ตถั่วลันเตาที่บ่มอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มาตรวจสอบการรอดชีวิตของแบคทีเรียแลคติก โดยทำการเก็บตัวอย่างโยเกิร์ตที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12 และ 24 ชั่วโมง เจือจางตามลำดับ (serial dilution) และตรวจหาแบคทีเรียแลคติกที่อยู่รอดโดยวิธี Spread plate บนอาหาร MRS (ทดลอง 3 ซ้ำ) และนำโยเกิร์ตที่เวลา 0, 3, 6, 9, 12 และ 24 ชั่วโมง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร นำมาไทเทรตวิเคราะห์หาปริมาณกรดที่แบคทีเรียแลคติกสร้างขึ้น ใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นสารละลายมาตรฐานในการไทเทรต ใช้สารละลายฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ คำนวณหาปริมาณกรดที่แบคทีเรียแลคติกสร้างขึ้น ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3.2.3 ศึกษาความสามารถของแบคทีเรียแลคติกในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร (ดัดแปลงจากวิธีของ El-Kholy และคณะ, 2014)

3.2.3.1 การเตรียมแบคทีเรียแลคติก และเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหารที่ใช้ในการทดสอบ

3.2.3.1.1 เลี้ยงแบคทีเรีย *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *S. thermophilus* ในอาหารเหลว MRS บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และ *L. mesenteroides* ในอาหารเหลว STA บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24-48 ชั่วโมง จากนั้น นำไปวัดค่าปริมาณความขุ่นโดยใช้เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ให้ได้เท่ากับ 0.5 ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร

3.2.3.1.2 เลี้ยงเชื้อก่อโรค *S. aureus*, *E. coli* และ *S. typhimurium* ลงในอาหารเหลว NB บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวัดค่าความขุ่นให้เท่ากับสารละลายมาตรฐาน McFarland NO.0.5

3.2.3.2 การทดสอบการยับยั้งเชื้อก่อโรคทางเดินอาหารของแบคทีเรียแลคติกที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ด้วยวิธี agar well diffusion

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำแบคทีเรียแลคติกที่เตรียมดังข้อ 3.2.3.1.1 แต่ละชนิด ถ่ายใส่ในขวดรูปชมพู่ที่บรรจุอาหารเหลว MRS และอาหารเหลว STA ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร (5% v/v) บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่าง 5 มิลลิลิตร มาทดสอบโดยเก็บที่เวลา 0, 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง โดยนำมาปเหยียงแยกเชื้อออกที่ความเร็ว 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใส 100 ไมโครลิตร มาทดสอบการยับยั้งการเจริญด้วยวิธีการ agar well diffusion โดยนำจานเพาะเชื้อที่บรรจุอาหาร NA ทำการป้ายเชื้อโรค *S. aureus*, *E. coli* และ *S. typhimurium* ที่เตรียมไว้ดังข้อ 3.2.3.1.2 ทำการเจาะหลุมขนาด 0.7 มิลลิลิตร ด้วยที่เจาะผิววุ้น Cork-borers เพื่อใช้ในการบรรจุส่วนของเหลวที่ต้องการใช้ทดสอบ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นตรวจดูการเกิดบริเวณยับยั้ง (inhibition zone) ที่เกิดขึ้น ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ

3.2.2.3 การทดสอบการยับยั้งเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหารของโยเกิร์ตถั่วลิสงด้วยวิธี agar well diffusion

นำโยเกิร์ตถั่วลิสง ที่บ่มในอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จนผลิตภัณฑ์มีค่าพีเอช อยู่ในช่วง 4-4.5 และนำไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทำการเก็บตัวอย่าง 5 มิลลิลิตร ที่เวลา 0, 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมง โดยนำมาเหยียงแยกเชื้อที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใส 100 ไมโครลิตร มาทำการทดสอบการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียด้วยวิธีการ agar well diffusion โดยนำจานเพาะเชื้อที่บรรจุอาหาร NA ทำการป้ายเชื้อโรค *S. aureus*, *E. coli* และ *S. typhimurium* ที่เตรียมไว้ดังข้อ 3.2.3.1.2 ทำการเจาะหลุมขนาด 0.7 มิลลิลิตร ด้วยที่เจาะผิววุ้น Cork-borers เพื่อใช้ในการบรรจุส่วนของเหลวที่ต้องการใช้ทดสอบ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จากนั้นตรวจดูการเกิดบริเวณยับยั้ง ที่เกิดขึ้น ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ

3.2.4 ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH radical scavenging (ดัดแปลงจากวิธีของ McCue และคณะ, 2005)

เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ ซึ่งสาร DPPH 0.0078 กรัม ละลายในเมทานอล (absolute) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำโยเกิร์ตที่ได้จาก 3.2.1.3 ไปปั่นเหยียงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที และกรองด้วย syring filter แล้วนำส่วนใสมาทำการเจือจางด้วยเมทานอล (absolute) ให้มีความเข้มข้น 1, 0.5 และ 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ตารางที่ 3.1) นำไปบ่มในที่มืดเป็น เวลา 20 นาทีแล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้ Ascorbic acid ความเข้มข้น 1, 0.5 และ 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นตัวควบคุมเชิงบวก และเมทานอลเป็นตัวควบคุมเชิงลบ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 การเจือจางส่วนไฮโกรีตั่วลิสง

ไฮเกริตที่ผลิตจากเชื้อต่างๆ	ความเข้มข้น (µg/ml)	ปริมาตร ตัวอย่าง(µL)	ปริมาตร เมทานอล (µL)	ปริมาตร DPPH (µL)	ความหนาแน่น (mg/ml)
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	0.1	1.9	615.4	365.4	1040
	0.5	9.6	625.0		
	1	19.2	632.7		
<i>S. thermophilus</i>	0.1	1.9	614.7	366	1038
	0.5	9.7	624.4		
	1	19.4	632.1		
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	0.1	1.9	615.4	365.4	1040
	0.5	9.6	625.0		
	1	19.2	632.7		
เชื้อผสมของ <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> กับ <i>S. thermophilus</i>	0.1	1.9	614.7	366	1038
	0.5	9.7	624.4		
	1	19.4	632.1		
Control	0.1	1.9	615.4	365.4	1040
	0.5	9.7	625.0		
	1	19.4	632.7		
Ascorbic acid	0.1	10	534	366	(stock 10 mg/ml)
	0.5	50	584		
	1	100	624		

คำนวณค่า % การต้านอนุมูลอิสระจากสมการ

$$\% \text{ DPPH Inhibition} = \frac{(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}})}{A_{\text{control}}} \times 100$$

โดยที่ A_{control} = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลวิจัยและการอภิปรายผล

4.1 ลักษณะปรากฏของตัวอย่างโยเกิร์ตถั่วลิสงหลังการบ่ม

ลักษณะปรากฏของตัวอย่างโยเกิร์ตถั่วลิสงหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนได้ค่าพีเอช เท่ากับ 4.5 พบว่า โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อผสมระหว่าง *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* กับ *S. thermophilus* จะมีลักษณะของเจลที่แข็งตัว ไม่มีการแยกตัวของน้ำเวย์ และเคิร์ดเรียบเนียน ส่วนสีจะขาวขุ่น หอมกลิ่นถั่วลิสงอ่อนๆ โยเกิร์ตจากเชื้อ *L. acidophilus* จะมีลักษณะของเจลไม่แข็งตัว มีการแยกตัวของน้ำเวย์มาก เคิร์ดจะไม่ค่อยเรียบเนียน สีจะขาวขุ่น กลิ่นจะออกเปรี้ยวมากกว่าหอมถั่วลิสง โยเกิร์ตจากเชื้อ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* เจลไม่แข็งตัว เคิร์ดจะไม่เรียบเนียน สีขาวขุ่น กลิ่นจะหอมถั่วลิสงอ่อนๆ และโยเกิร์ตจากเชื้อ *S. thermophilus* จะมีลักษณะของเจลที่ไม่แข็งตัว เกิดการแยกตัวของน้ำเวย์เล็กน้อย เคิร์ดไม่ค่อยเรียบเนียน สีจะขาวขุ่น กลิ่นจะหอมถั่วลิสงอ่อนๆ (ตารางที่ 4.1)

ตารางที่ 4.1 แสดงลักษณะปรากฏของตัวอย่างโยเกิร์ตถั่วลิสงหลังการบ่ม

โยเกิร์ตที่ผลิตจากเชื้อต่างๆ	ลักษณะปรากฏ		
	สี	กลิ่น	เนื้อสัมผัส
โยเกิร์ตที่ทำจากนมผง 2 เปอร์เซ็นต์			
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	ขาวขุ่น	กลิ่นหอมจากถั่วลิสงอ่อนๆ	เนื้อเนียนเล็กน้อย เจลไม่แข็งตัว
<i>S. thermophilus</i>	ขาวขุ่น	กลิ่นหอมจากถั่วลิสงอ่อนๆ	เนื้อเนียนเล็กน้อย เจลไม่แข็งตัว
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	ขาวขุ่น	กลิ่นเปรี้ยว	เนื้อเนียนเล็กน้อย ค่อนข้างเหลว และมีไขนมลอยอยู่ด้านบน
เชื้อผสมระหว่าง <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> กับ <i>S. thermophilus</i>	ขาวขุ่น	กลิ่นหอมจากถั่วลิสงอ่อนๆ	เนื้อเรียบเนียน เจลแข็งตัวเล็กน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โยเกิร์ตที่ทำจากนมผง 4 เปอร์เซ็นต์			
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	ขาวขุ่น	กลิ่นหอมจากถั่วลิสง อ่อนๆ	เนื้อเนียนเล็กน้อย เจลไม่ แข็งตัว มีความหนืด
<i>S. thermophilus</i>	ขาวขุ่น	กลิ่นหอมจากถั่วลิสง อ่อนๆ	เนื้อเนียนเล็กน้อย เจลไม่ แข็งตัว
<i>Leu. Mesenteroides</i>	ขาวขุ่น	กลิ่นหอมจากถั่วลิสง อ่อนๆ และมีกลิ่นเปรี้ยว อ่อนๆ	เนื้อเนียนเล็กน้อย เจลไม่ แข็งตัว
เชื้อผสมระหว่าง <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> กับ <i>S. thermophiles</i>	ขาวขุ่น	กลิ่นหอมจากถั่วลิสง อ่อนๆ	เคิร์ดเรียบเนียน เจลมี ความแข็งตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 โยเกิร์ตถั่วลิสง 4 % จากเชื้อผสมของ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* กับ *S. thermophilus*

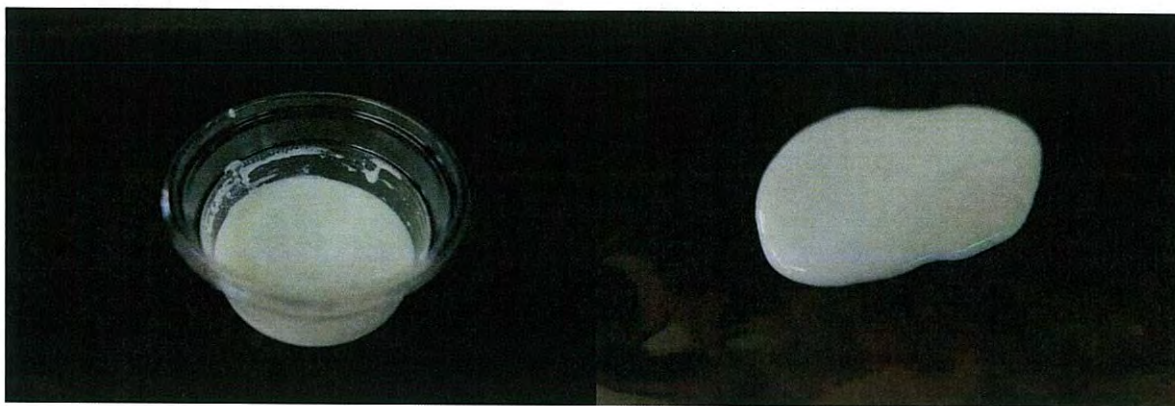


รูปที่ 4.2 โยเกิร์ตถั่วลิสง 2 % จากเชื้อผสมของ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* กับ *S. thermophilus*



รูปที่ 4.3 โยเกิร์ตถั่วลิสง 4 % จากเชื้อ *S. thermophilus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 โยเกิร์ตถั่วลิสง 2 % จากเชื้อ *S. thermophilus*



รูปที่ 4.5 โยเกิร์ตถั่วลิสง 4 % จากเชื้อ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*



รูปที่ 4.6 โยเกิร์ตถั่วลิสง 2 % จากเชื้อ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 โยเกิร์ตถั่วลิสง 4% จากเชื้อ *Leuconostoc mesenteroides*



รูปที่ 4.8 โยเกิร์ตถั่วลิสง 2 % จากเชื้อ *Leuconostoc mesenteroides*

จากตารางที่ 4.1 พบว่าโยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อผสมระหว่าง *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* กับ *S. thermophilus* จะมีกลิ่นรส โครงสร้างเจลและเนื้อสัมผัสที่ดีที่สุด อาจมีสาเหตุมาจากความสัมพันธ์แบบ symbiosis (ชุตินา, 2543) กล่าวว่า ลักษณะการพึ่งพาอาศัยของหัวเชื้อทั้งสองชนิดนี้การสร้างกรดแลคติกซึ่งจะเพิ่มขึ้นในระหว่างการผลิตโยเกิร์ตเมื่อใช้สายพันธุ์ผสมของเชื้อ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* และเชื้อ *S. thermophilus* และจำนวนเซลล์ที่เพิ่มขึ้นต่อหนึ่งหน่วยเวลาของหัวเชื้อสายพันธุ์ผสมจะเพิ่มขึ้นมากเมื่อเปรียบเทียบกับใช้พันธุ์เดียว

นอกจากนี้ยังพบว่า *L. bulgaricus* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส สามารถเปลี่ยนกรดแล็กติกเป็นแอซีทัลดีไฮด์ (acetaldehyde) ซึ่งเป็นสารให้กลิ่นรสของโยเกิร์ต และสร้างเอนไซม์โปรติเอส ซึ่งจะย่อยโปรตีนในน้ำนมให้ได้กรดอะมิโน (amino acid) โดยเฉพาะฮิสทีดีน (histidine) ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่ไม่จำเป็นใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระตุ้นการเจริญของ *S. thermophilus* ทำให้เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในสภาพที่มีปริมาณออกซิเจนต่ำหรือไม่มีออกซิเจน จะเปลี่ยนน้ำตาลแล็กโทสในน้ำนมให้เป็นกรดอินทรีย์ ได้แก่ กรดแล็กติก และยังสามารถฟอร์มิกทำให้ ค่า pH ลดลงมาอยู่ที่ ประมาณ 5.5 ที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียในกลุ่ม *Lactobacillus* ได้ (พิมพ์เพ็ญ, นิธิยา, 2558) ซึ่งผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่ที่ผลิตในประเทศไทยมักใส่โพรไบโอติกส์เพียง 1 ชนิด ส่วนที่มาจากต่างประเทศจะเติมโพรไบโอติกส์ลงไป 1-3 ชนิด (วิมล, 2553)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การศึกษาการเจริญของแบคทีเรียแลคติกและปริมาณกรดในโยเกิร์ตถั่วลิสงที่บ่มในระยะเวลาต่างกัน จากการเตรียมโยเกิร์ตถั่วลิสงโดยใช้หัวเชื้อ 4 ชนิด ที่บ่มที่ตู้บ่มอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อใช้ระยะเวลาในการบ่มนานขึ้นค่าความเป็นกรดต่างจะลดลงโดย

โยเกิร์ตที่ทำจากนมผง 2 %

ชั่วโมงที่ 0 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อทั้ง 4 ชนิด มีความเป็นกรดอยู่ที่ประมาณ 6.80

ชั่วโมงที่ 3 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อ *L. mesenteroides* มีความเป็นกรดน้อยที่สุดคือ 6.78

ชั่วโมงที่ 6 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อผสม มีความเป็นกรดมากที่สุด คือ 6.0

ชั่วโมงที่ 9 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อ *L. bulgaricus* ที่มีความเป็นกรดมากที่สุดคือ 5.67 และโยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อผสม มีความเป็นกรดมากที่สุด คือ 5.54

ชั่วโมงที่ 12 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อผสม มีค่าความเป็นกรดมากที่สุดคือ 5.11 และโยเกิร์ตจากเชื้อ *S. thermophilus* มีค่าความเป็นกรดมากที่สุดคือ 5.2

ชั่วโมงที่ 24 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* มีค่าความเป็นกรดมากที่สุด คือ 4.42 แสดงได้ในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ความเป็นกรดต่าง (พีเอช) ในการหมักโยเกิร์ตถั่วลิสงที่บ่มในระยะเวลาต่างกัน

ระยะเวลาการหมัก (ชั่วโมง)	ความเป็นกรดต่าง(pH) $\pm$ SE			
	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	<i>S. thermophilus</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	เชื้อผสมระหว่าง <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> กับ <i>S. thermophiles</i>
0	6.86 $\pm$ 0.01	6.91 $\pm$ 0.01	6.85 $\pm$ 0.01	6.83 $\pm$ 0.01
3	6.69 $\pm$ 0.01	6.71 $\pm$ 0.01	6.78 $\pm$ 0.01	6.52 $\pm$ 0.01
6	6.54 $\pm$ 0.01	6.31 $\pm$ 0.01	6.64 $\pm$ 0.01	6.00 $\pm$ 0.01
9	5.67 $\pm$ 0.01	5.70 $\pm$ 0.01	6.12 $\pm$ 0.01	5.54 $\pm$ 0.01
12	5.33 $\pm$ 0.01	5.12 $\pm$ 0.01	5.83 $\pm$ 0.01	5.11 $\pm$ 0.01
24	4.42 $\pm$ 0.01	4.51 $\pm$ 0.01	5.16 $\pm$ 0.01	4.62 $\pm$ 0.01

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณกรดทั้งหมดก็จะเพิ่มขึ้น ดังนี้

ชั่วโมงที่ 0 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อทั้ง 4 ชนิด จะมีปริมาณกรดเท่ากันอยู่ที่ 0.06 เปอร์เซ็นต์

ชั่วโมงที่ 3 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อผสม มีปริมาณมากที่สุด คือ 0.07 เปอร์เซ็นต์

ชั่วโมงที่ 6 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อผสม มีปริมาณกรดมากที่สุด คือ 0.08 เปอร์เซ็นต์

ชั่วโมงที่ 9 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อผสม มีปริมาณกรดมากที่สุด คือ 0.09 เปอร์เซ็นต์

ชั่วโมงที่ 12 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อ *S. thermophilus* มีปริมาณกรดมากที่สุดคือ 0.09 และหัวเชื้อผสมมีปริมาณกรดมากที่สุด คือ 0.10 เปอร์เซ็นต์

ชั่วโมงที่ 24 โยเกิร์ตจากเชื้อ *S. thermophilus* มีปริมาณกรดมากที่สุด คือ 0.28 เปอร์เซ็นต์

และเมื่อนำโยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อทั้ง 4 ชนิด ไปทำการ Spread plate พบว่า

ชั่วโมงที่ 0 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อทั้ง 4 ชนิด จะมีจำนวนแบคทีเรียแลคติกเริ่มต้นอยู่ที่ 10^6 CFU/ml

ชั่วโมงที่ 3 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อผสม มีจำนวนแบคทีเรียแลคติกมากที่สุด คือ 6.9×10^6 CFU/ml

ชั่วโมงที่ 6 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* จำนวนแบคทีเรียแลคติกมากที่สุด คือ 1.8×10^7 CFU/ml และหัวเชื้อ *S. thermophilus* จำนวนแบคทีเรียแลคติกมากที่สุด คือ 1.4×10^7 CFU/ml

ชั่วโมงที่ 9 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อ *L. bulgaricus* มีจำนวนแบคทีเรียแลคติกมากที่สุด คือ 1.0×10^8 CFU/ml

ชั่วโมงที่ 12 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อผสม มีจำนวนแบคทีเรียแลคติกมากที่สุด คือ 2.2×10^8 CFU/ml

ชั่วโมงที่ 24 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* มีจำนวนแบคทีเรียแลคติกมากที่สุด คือ 1.2×10^7 CFU/ml แสดงได้ในตารางที่ 4.3

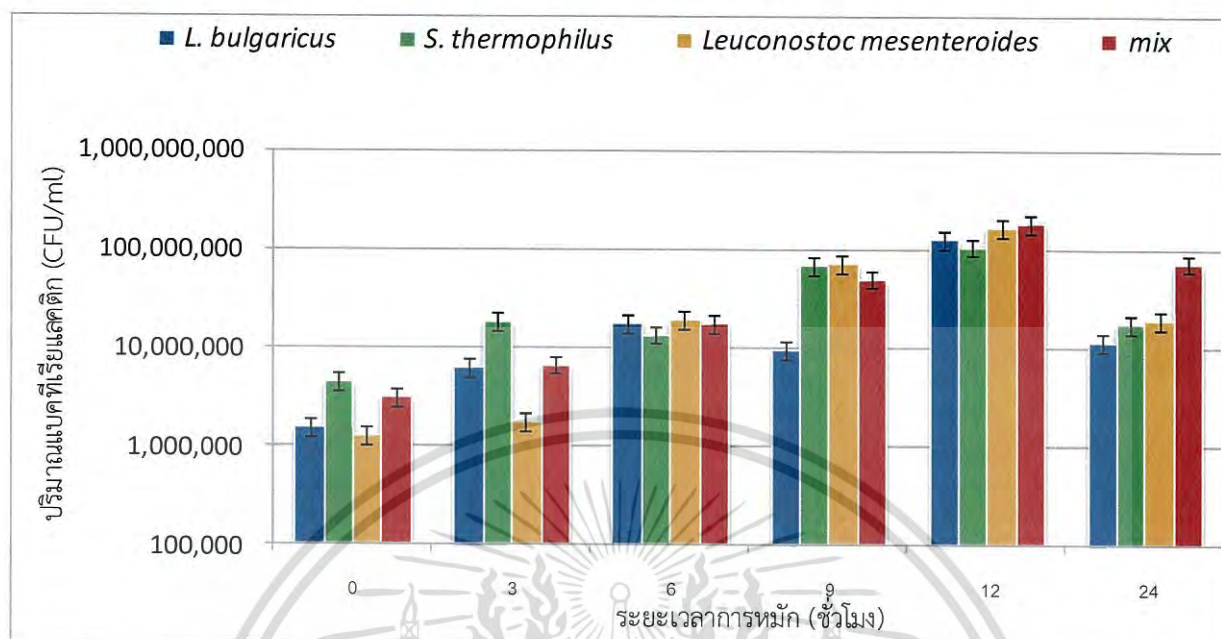
ตารางที่ 4.3 ปริมาณกรดทั้งหมดในการหมักโยเกิร์ตถั่วลันเตาที่บ่มในระยะเวลาต่างกัน

ระยะเวลา การหมัก (ชั่วโมง)	ปริมาณกรดทั้งหมด(%) ±SE			
	<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>Bulgaricus</i>	<i>S.</i> <i>thermophilus</i>	<i>Leuconostoc</i> <i>mesenteroides</i>	เชื้อผสมระหว่าง <i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> กับ <i>S.</i> <i>thermophilus</i>
0	0.064±0.00	0.064±0.00	0.064±0.00	0.064±0.00
3	0.070±0.00	0.074±0.00	0.066±0.00	0.076±0.00
6	0.076±0.00	0.080±0.00	0.074±0.00	0.084±0.00
9	0.082±0.00	0.082±0.00	0.079±0.00	0.090±0.00
12	0.090±0.00	0.092±0.00	0.088±0.00	0.104±0.00
24	0.240±0.00	0.288±0.00	0.112±0.00	0.122±0.00

เมื่อทำการบ่มโยเกิร์ตถั่วลันเตาเป็นระยะเวลาหนึ่ง พบว่าแบคทีเรียแลคติกเจริญเติบโตขึ้น และสร้างกรดแลคติกขึ้น (ตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.9) ทำให้ค่าความเป็นกรดต่างของโยเกิร์ตถั่วลันเตา มีแนวโน้มลดลงจาก pH ประมาณ 6 ในชั่วโมงที่ 0 จนเหลือค่าความเป็นกรดต่างประมาณ 4-4.5 ส่งผลให้ค่าปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะโยเกิร์ตที่ใช้เชื้อผสม *L. bulgaricus* กับ *S. thermophilus* ให้ปริมาณกรดทั้งหมดสูงกว่าโยเกิร์ตชนิดอื่น (Mohanani, 1983) เพราะ *L. bulgaricus* มีเอนไซม์มาย่อยโปรตีนให้แตกตัวเป็นเปปไทด์ เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตของ *S. thermophilus* (Sasaki, 2012) ทำให้ความเป็นกรด-ด่างของโยเกิร์ตต่ำลง

นอกจากนี้ *S. thermophilus* สามารถเปลี่ยนน้ำตาลให้กลายเป็นกรดแลคติกและคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของ *L. bulgaricus* (Angelov และคณะ, 2009) ส่งผลให้มีปริมาณเชื้อมากที่สุดคือ 1.9×10^8 CFU/ml ในชั่วโมงที่ 12 ก่อนจะเข้าสู่ระยะคงตัว เซลล์จะมีปริมาณคงที่และค่อยๆ ลดลงเนื่องจากสารอาหารในโยเกิร์ตถั่วลันเตาน้อยลง มีการสะสมผลผลิตของกระบวนการเมตาบอลิซึมที่เป็นอันตรายต่อเซลล์ (รัฐสรณ์และบรรคักดี, 2012) การใช้เชื้อผสมระหว่าง *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* กับ *S. thermophilus* จะเข้าสู่ระยะต่างๆ ได้เร็วกว่าโยเกิร์ตชนิดอื่นในเวลาเดียวกัน

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 ปริมาณแบคทีเรียแลคติก ที่เจริญช่วงระยะเวลาการหมัก

โยเกิร์ตที่ทำจากนมผง 4 เปอร์เซนต์ (รูปที่ 4.10)

ชั่วโมงที่ 0 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อทั้ง 4 ชนิด มีความเป็นกรดอยู่ที่ประมาณ 6.69

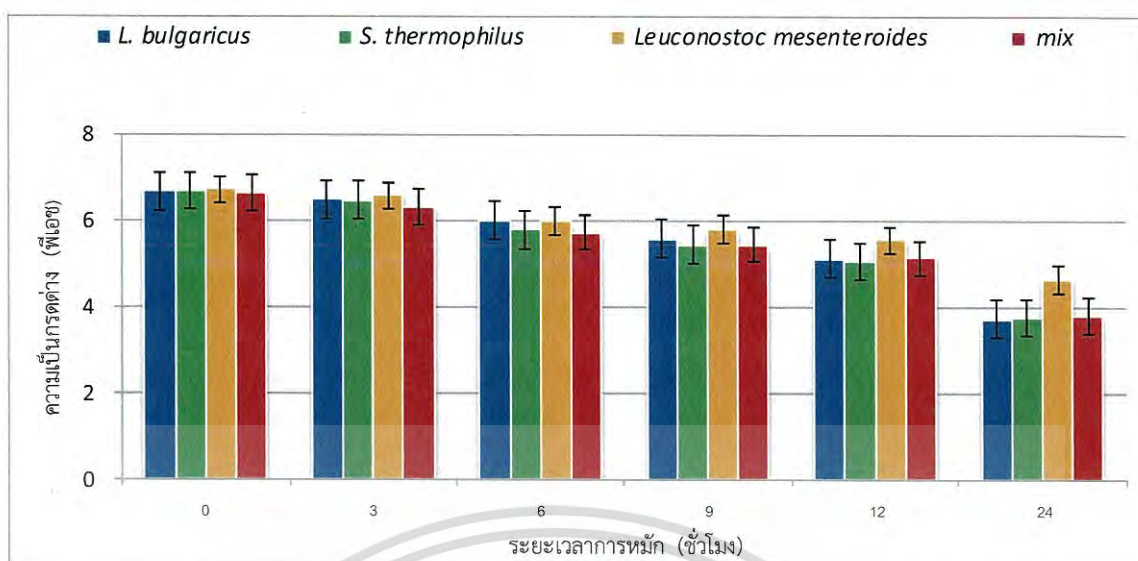
ชั่วโมงที่ 3 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อ *Leuconostoc mesenteroides* มีความเป็นกรดน้อยที่สุดคือ 6.59

ชั่วโมงที่ 6 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อผสม มีความเป็นกรดมากที่สุด คือ 5.74

ชั่วโมงที่ 9 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อ *S. thermophilus* ที่มีความเป็นกรดมากที่สุดคือ 5.45 และโยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อผสม มีความเป็นกรดมากที่สุด คือ 5.46

ชั่วโมงที่ 12 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อผสม มีค่าความเป็นกรดมากที่สุดคือ 5.14 และโยเกิร์ตจากเชื้อ *S. thermophilus* มีค่าความเป็นกรดมากที่สุดคือ 5.12

ชั่วโมงที่ 24 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* มีค่าความเป็นกรดมากที่สุด คือ 3.72



รูปที่ 4.10 ความเป็นกรดต่าง (พีเอช) ในการหมักโยเกิร์ตถั่วลิสงที่บ่มในระยะเวลาต่างกัน

ในขณะที่ค่าปริมาณกรดทั้งหมดก็จะเพิ่มขึ้นเช่นกัน (รูปที่ 4.11)

ชั่วโมงที่ 0 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อทั้ง 4 ชนิด จะมีปริมาณกรดเท่ากับอยู่ที่ 0.07 %

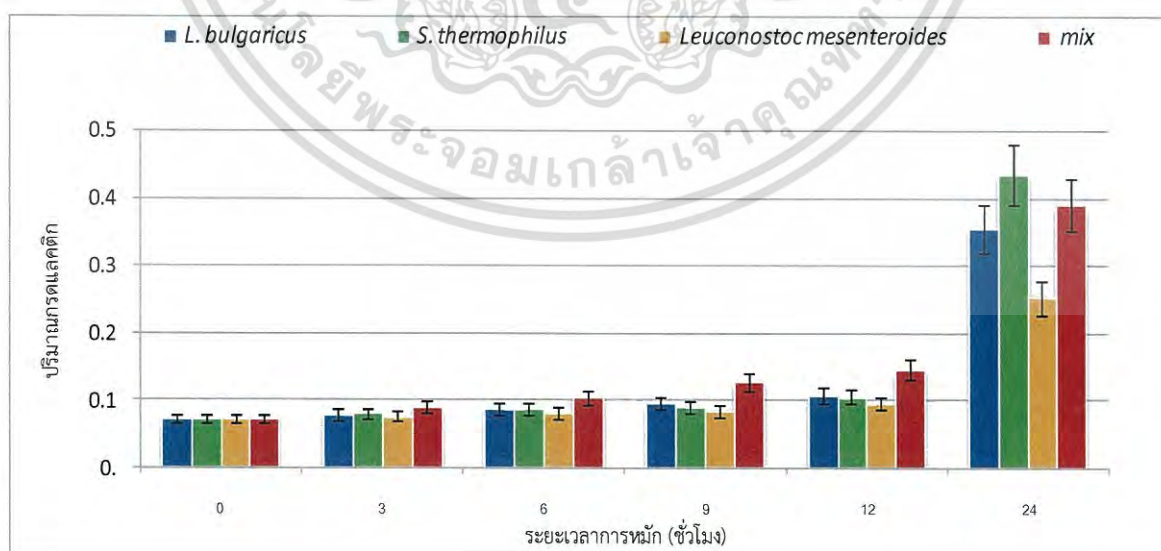
ชั่วโมงที่ 3 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อผสม มีปริมาณมากที่สุด คือ 0.089 %

ชั่วโมงที่ 6 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อผสม มีปริมาณกรดมากที่สุด คือ 0.104 %

ชั่วโมงที่ 9 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อผสม มีปริมาณกรดมากที่สุด คือ 0.128 %

ชั่วโมงที่ 12 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อ *S. thermophilus* มีปริมาณกรดมากที่สุดคือ 0.108 และหัวเชื้อผสม มีปริมาณกรดมากที่สุด คือ 0.146 %

ชั่วโมงที่ 24 โยเกิร์ตจากเชื้อ *S. thermophilus* มีปริมาณกรดมากที่สุด คือ 0.436 %



รูปที่ 4.11 แสดงปริมาณกรดแลคติกในการหมักโยเกิร์ตถั่วลิสงที่บ่มในระยะเวลาต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และเมื่อนำโยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อทั้ง 4 ชนิด ไปทำการ Spread plate พบว่า

ชั่วโมงที่ 0 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อทั้ง 4 ชนิด จะมีจำนวนแบคทีเรียแลคติกเริ่มต้นอยู่ที่ 10^6 CFU/ml

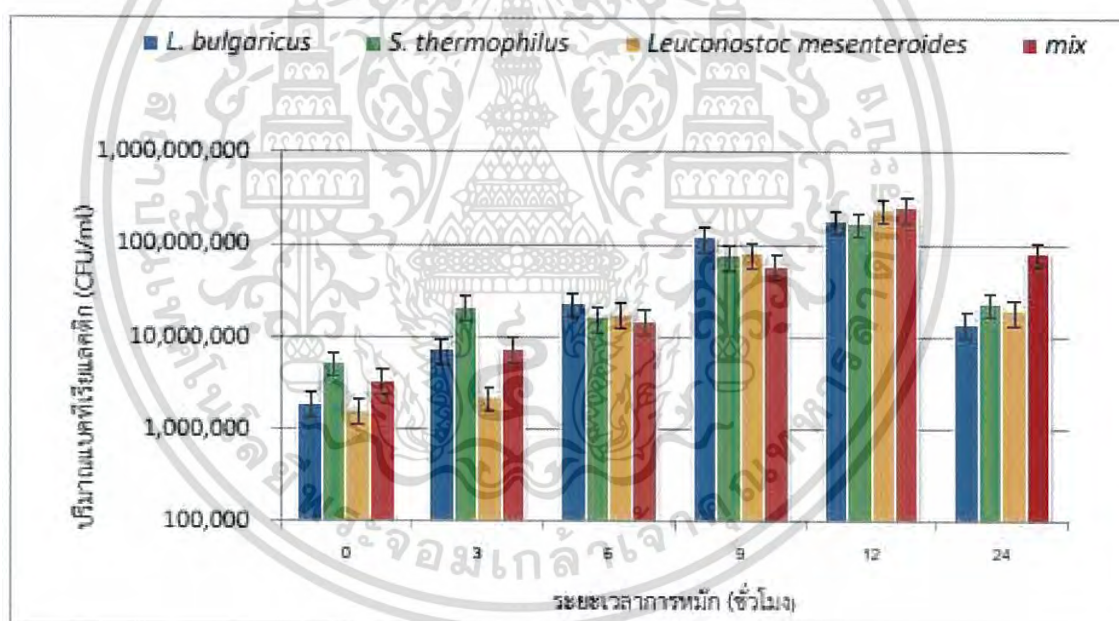
ชั่วโมงที่ 3 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อผสม มีจำนวนแบคทีเรียแลคติกมากที่สุด คือ 7.5×10^6 CFU/ml

ชั่วโมงที่ 6 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* จำนวนแบคทีเรียแลคติกมากที่สุด คือ 2.3×10^7 และหัวเชื้อ *Leuconostoc mesenteroides* จำนวนแบคทีเรียแลคติกมากที่สุด คือ 1.8×10^7 CFU/ml

ชั่วโมงที่ 9 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* มีจำนวนแบคทีเรียแลคติกมากที่สุด คือ 1.2×10^8 CFU/ml

ชั่วโมงที่ 12 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อผสม มีจำนวนแบคทีเรียแลคติกมากที่สุด คือ 2.5×10^8 CFU/ml

ชั่วโมงที่ 24 โยเกิร์ตถั่วลิสงจากเชื้อ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* มีจำนวนแบคทีเรียแลคติกมากที่สุด คือ 1.4×10^7 CFU/ml (รูปที่ 4.12)



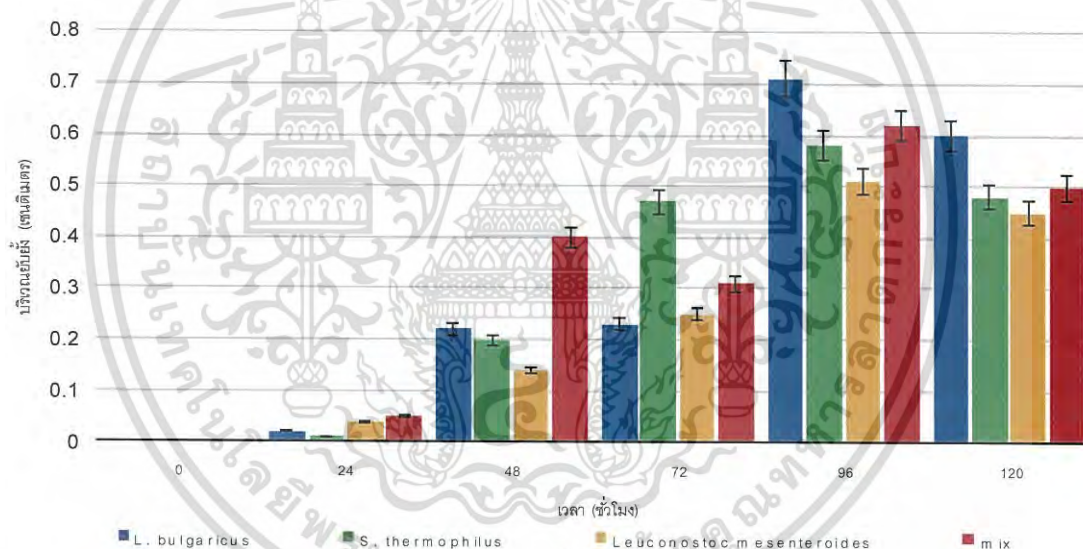
รูปที่ 4.12 ปริมาณแบคทีเรียแลคติกของโยเกิร์ตลิสงที่หมักในระยะเวลาต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การศึกษาความสามารถของแบคทีเรียแลคติกในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร

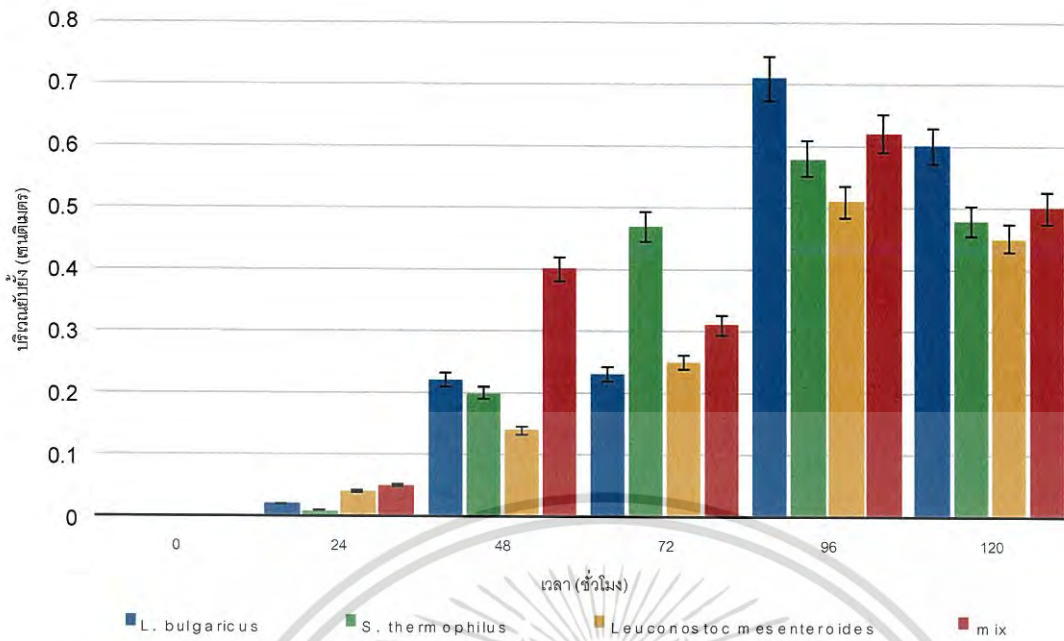
ความสามารถของแบคทีเรียแลคติกในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร ด้วยวิธี agar well diffusion โดยใช้ส่วนของอาหารเหลว MRS ที่ผ่านการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียแลคติก *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, *S. thermophilus*, *L. mesenteroides* และเชื้อผสมระหว่าง *L. bulgaricus* กับ *S. thermophilus* แต่ละชนิดที่เวลา 0 - 120 ชั่วโมง และมีการเปรียบเทียบน้ำมันถั่วลิสงที่ไม่มีการเติมเชื้อแบคทีเรีย ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *E. coli*, *S. aureus* และ *S. typhimurium* แสดงในรูปที่ 4.13 ถึง 4.17

E. coli ถูกยับยั้งได้ดี ที่ 96 ชั่วโมง โดยเชื้อ *L. bulgaricus* มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อ ก่อโรคได้ดีที่สุด ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสประมาณ 0.71 เซนติเมตร และเชื้อ *Leuconostoc mesenteroides* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสประมาณ 0.51 เซนติเมตร น้อยที่สุด (รูปที่ 4.13)



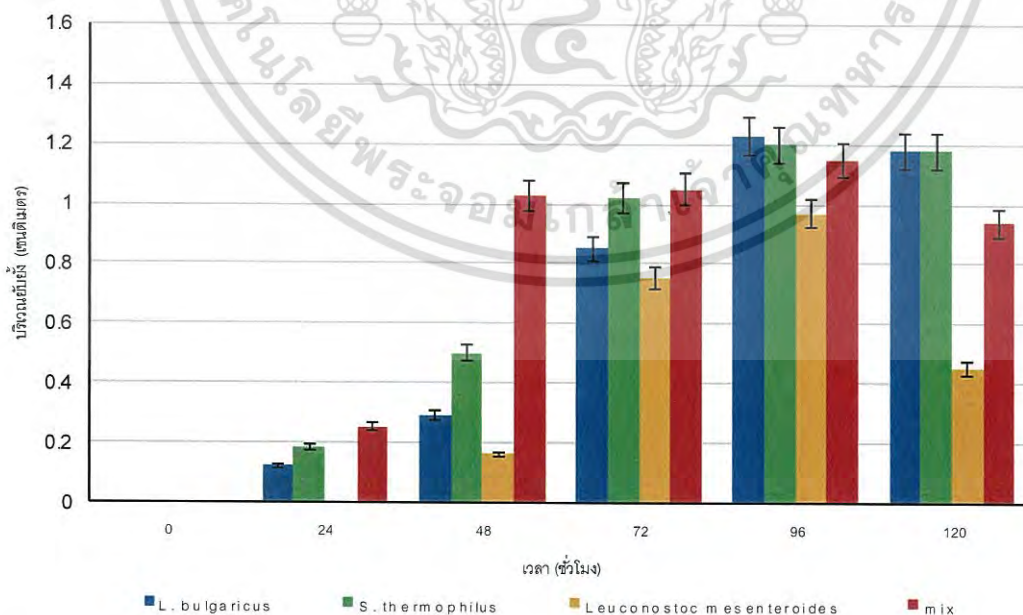
รูปที่ 4.13 การยับยั้งเชื้อ *E. coli* โดยสารที่สร้างจากแบคทีเรียแลคติก *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*, *L. mesenteroides* และเชื้อผสมระหว่าง *L. bulgaricus* กับ *S. thermophile*

แบคทีเรีย *S. aureus* ถูกยับยั้งได้ดีที่ 96 ชั่วโมง คล้ายกับ *E. coli* โดยเชื้อ *L. bulgaricus* มีความสามารถในการยับยั้งได้ดีที่สุด และเชื้อ *L. mesenteroides* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสประมาณ 0.57 เซนติเมตร น้อยที่สุด (รูปที่ 4.14)



รูปที่ 4.14 การยับยั้งเชื้อ *S. aureus* โดยสารที่สร้างจากแบคทีเรียแลคติก *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*, *L. mesenteroides* และเชื้อผสมระหว่าง *L. bulgaricus* กับ *S. thermophilus*

แบคทีเรีย *S. typhimurium* ถูกยับยั้งได้ดีที่ 96 ชั่วโมง โดยเชื้อ *L. bulgaricus* มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ดีที่สุด มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสประมาณ 1.23 เซนติเมตร และเชื้อ *Leuconostoc mesenteroides* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสประมาณ 0.97 เซนติเมตร น้อยที่สุด (รูปที่ 4.15)



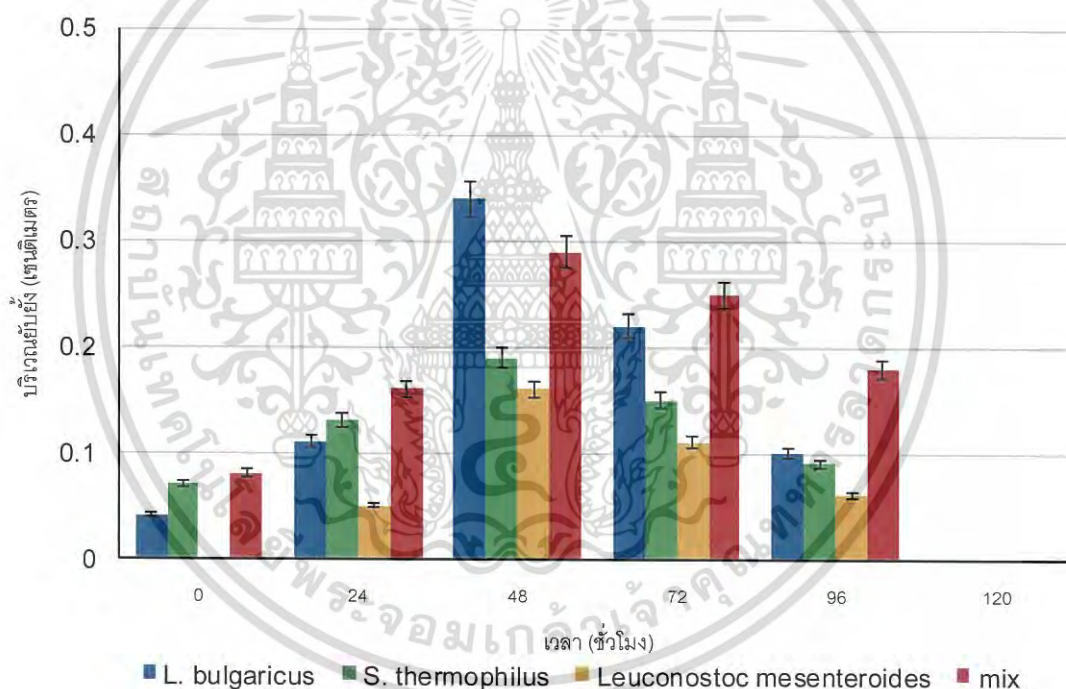
รูปที่ 4.15 การยับยั้งเชื้อ *Salmonella typhimurium* โดยสารที่สร้างจากแบคทีเรียแลคติก *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*, *L. mesenteroides* และเชื้อผสมระหว่าง *L. bulgaricus* กับ *S. thermophilus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ผู้จัดทำเห็นประโยชน์ในการนำเอกสารนี้ไปใช้ ไม่ว่าจะโดยใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การศึกษาความสามารถของโยเกิร์ตถั่วลันเตาในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร

ความสามารถของโยเกิร์ตถั่วลันเตาในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร ด้วยวิธี agar well diffusion โดยใช้ส่วนใสของโยเกิร์ตถั่วลันเตาที่มีความเข้มข้นของนมผง 2 % และ 4 % ที่ผ่านการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียแลคติก *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*, *L. mesenteroides* และเชื้อผสมระหว่าง *L. bulgaricus* กับ *S. thermophilus* แต่ละชนิดที่เวลา 0 - 120 ชั่วโมง มาสารทดสอบการยับยั้งการเจริญของ *E. coli*, *S. aureus* และ *S. typhimurium* พบว่าเกิดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสมีขนาดต่างๆ กัน ดังแสดงในรูปที่ 4.16- ถึง 4.21

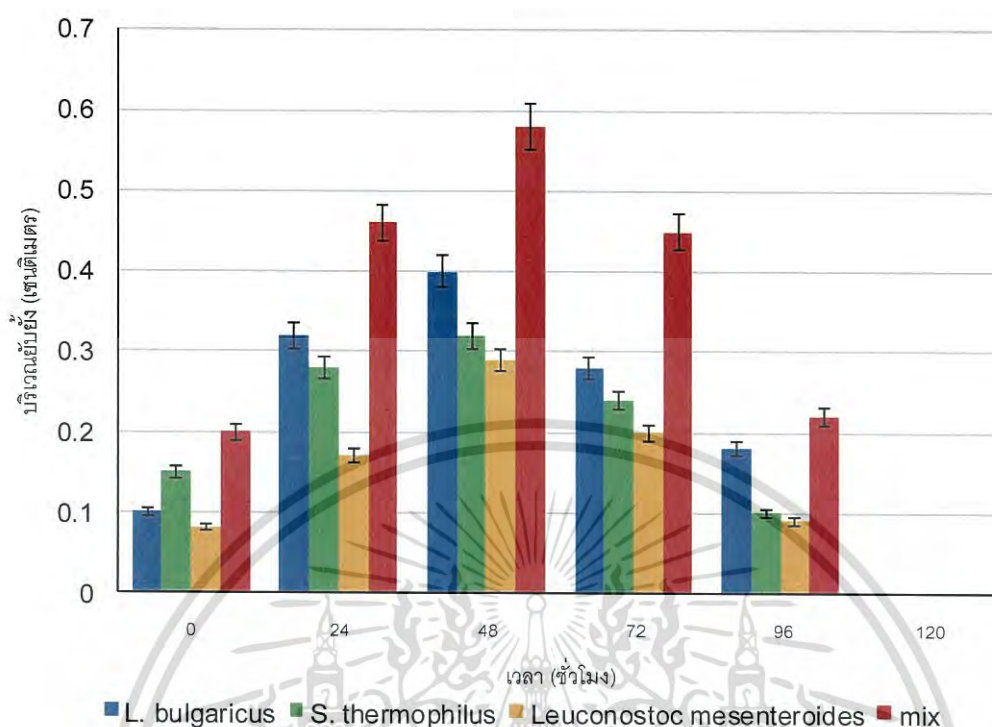
พบว่า *E. coli* ของส่วนใสโยเกิร์ตถั่วลันเตา 2 % พบว่า ถูกยับยั้งได้ดีที่ 48 โดยเชื้อ *L. bulgaricus* มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ดีที่สุด มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสประมาณ 0.29 เซนติเมตร และ *Leuconostoc mesenteroides* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสประมาณ 0.16 เซนติเมตร น้อยที่สุด (ดังรูปที่ 4.16)



รูปที่ 4.16 การยับยั้งเชื้อ *E. coli* โดยโยเกิร์ตถั่วลันเตา 2 % จากเชื้อ *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Leuconostoc mesenteroides* และเชื้อผสมระหว่าง *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* กับ *S. thermophilus*

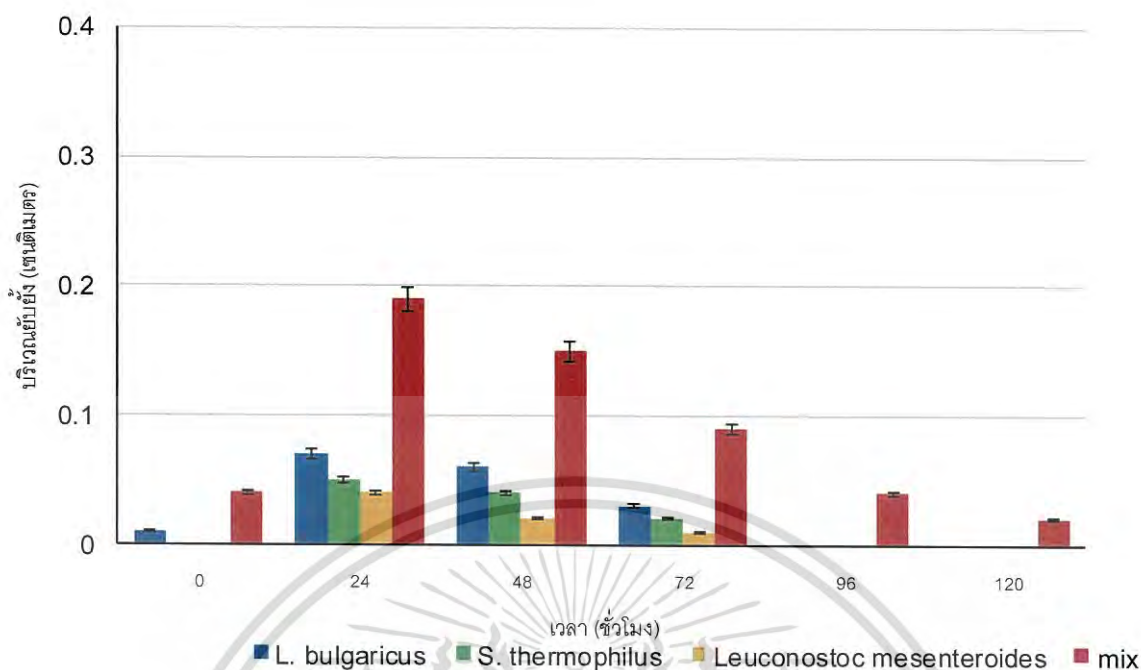
ส่วนแบคทีเรีย *E. coli* ของส่วนใสโยเกิร์ตถั่วลันเตา 4 % ยับยั้งได้มีประสิทธิภาพสูงสุดที่ 48 โดยเชื้อ *L. bulgaricus* กับ *S. thermophile* มีความสามารถในการสร้างสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ดีที่สุด มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสประมาณ 0.58 เซนติเมตร และ *Leuconostoc mesenteroides* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสประมาณ 0.29 เซนติเมตร น้อยที่สุด (ดังรูปที่ 4.17)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



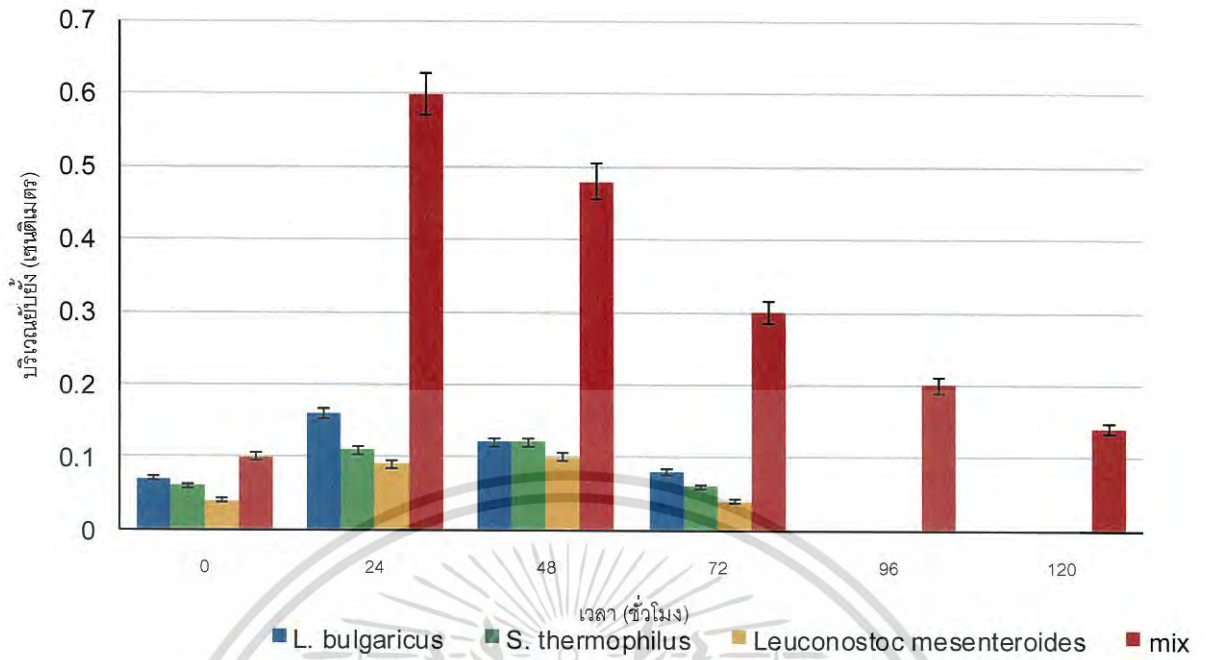
รูปที่ 4.17 การยับยั้งเชื้อ *E. coli* โดยโยเกิร์ตถั่วลิสงนมผง 4 % จากเชื้อ *L. delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Leuconostoc mesenteroides* และเชื้อผสมระหว่าง *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* กับ *S. thermophilus*

S. aureus ของส่วนใสโยเกิร์ตถั่วลิสงนมผง 2 % ถูกยับยั้งได้มีประสิทธิภาพสูงสุดที่ระยะเวลาเดียวกัน คือที่ 24 ชั่วโมง โดยเชื้อผสมของ *L. delbrueckii subsp. Bulgaricus* กับ *S. thermophilus* มีความสามารถในการสร้างสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ดีที่สุด มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสประมาณ 0.19 เซนติเมตร และ *Leuconostoc mesenteroides* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสประมาณ 0.04 เซนติเมตร น้อยที่สุด (ดังรูปที่ 4.18)



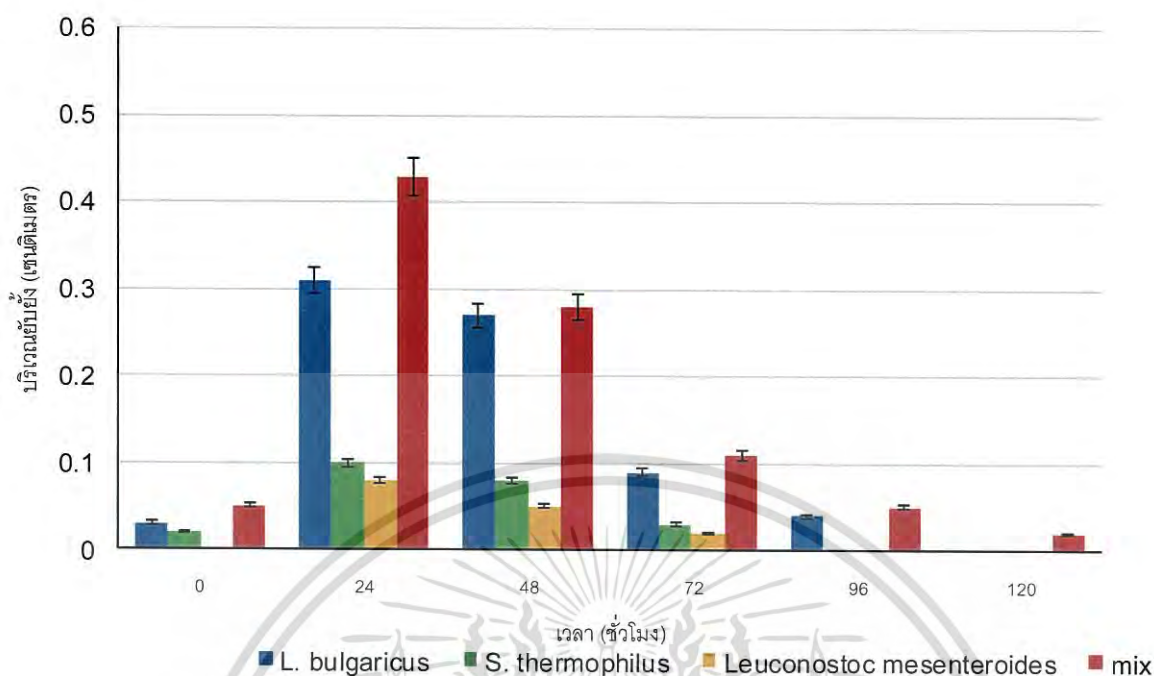
รูปที่ 4.18 การยับยั้งเชื้อ *S. aureus* โดยโยเกิร์ตถั่วลิสงนมผง 2 % จากเชื้อ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Leuconostoc mesenteroides* และเชื้อผสมระหว่าง *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* กับ *S. thermophilus*

S. aureus ของส่วนโยเกิร์ตถั่วลิสงนมผง 4 % ถูกยับยั้งได้ดีที่สุดที่ 24 ชั่วโมง โดยเชื้อผสมของ *L. bulgaricus* กับ *S. thermophilus* มีความสามารถในการสร้างสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ดีที่สุด มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสประมาณ 0.60 เซนติเมตร ซึ่งดีที่สุดในการทดสอบกับเชื้อ *S. aureus* และ *Leuconostoc mesenteroides* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสประมาณ 0.09 เซนติเมตร น้อยที่สุด (ดังรูปที่ 4.19)



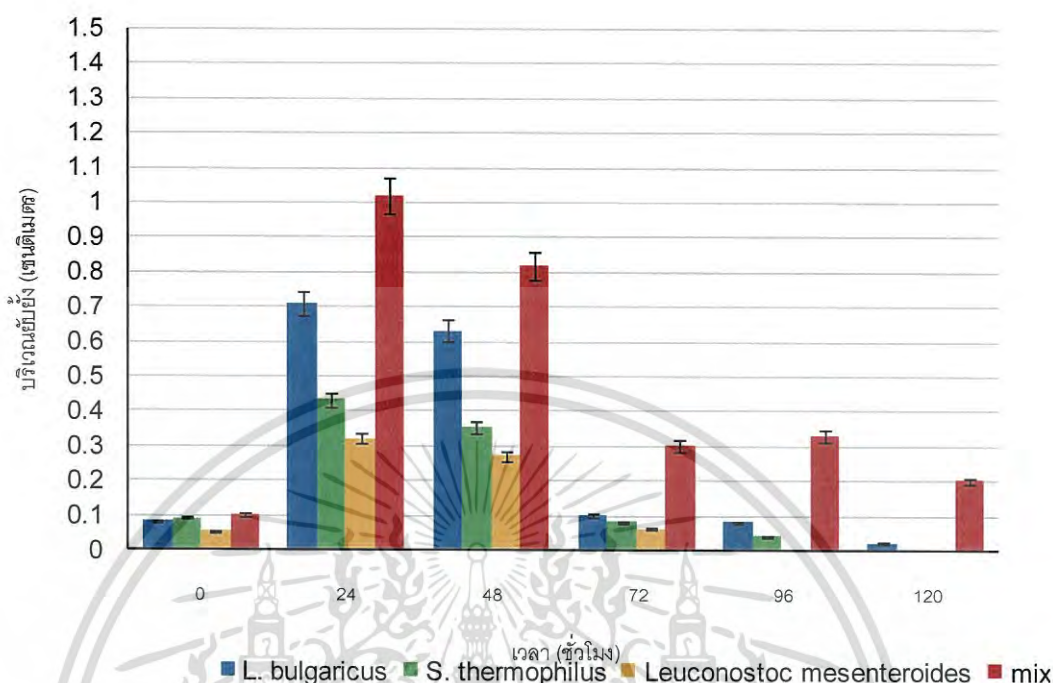
รูปที่ 4.19 การยับยั้งเชื้อ *S. aureus* โดยโยเกิร์ตถั่วลิสงนมผง 4 % จากเชื้อ *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*, *L. mesenteroides* และเชื้อผสมระหว่าง *L. bulgaricus* กับ *S. thermophilus*

S. typhimurium ของส่วนใสโยเกิร์ตถั่วลิสงนมผง 2 % พบว่า ถูกยับยั้งโดยแบคทีเรียผสมของ *L. bulgaricus* กับ *S. thermophilus* ดีที่สุดที่ 24 ชั่วโมง มีความสามารถในการสร้างสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ดีที่สุด มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสประมาณ 1.02 เซนติเมตร และเชื้อ *L. acidophilus* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสประมาณ 0.32 เซนติเมตร น้อยที่สุด (ดังรูปที่ 4.20)



รูปที่ 4.20 การยับยั้งเชื้อ *S. typhimurium* โดยโยเกิร์ตถั่วลิสงนมผง 2 % จากเชื้อ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Leuconostoc mesenteroides* และเชื้อผสมระหว่าง *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* กับ *S. thermophilus*

ผลการทดสอบการยับยั้งเชื้อ *S. typhimurium* ของส่วนโยเกิร์ตถั่วลิสงนมผง 4 % พบว่าแบคทีเรียแลคติกทั้ง 4 ชนิด มีการสร้างสารซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งได้มีประสิทธิภาพสูงสุดที่ระยะเวลาเดียวกันคือชั่วโมงที่ 24 โดยเชื้อผสมของ *L. bulgaricus* กับ *S. thermophilus* มีความสามารถในการสร้างสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ดีที่สุด มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสประมาณ 0.43 เซนติเมตร รองลงมาคือ เชื้อ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสประมาณ 0.32 เซนติเมตร ถัดลงมาก็คือเชื้อ *S. thermophilus* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสประมาณ 0.10 เซนติเมตร และเชื้อ *L. acidophilus* มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสประมาณ 0.08 เซนติเมตร ตามลำดับ (ดังรูปที่ 4.21)



รูปที่ 4.21 การยับยั้งเชื้อ *S. typhimurium* โดยโยเกิร์ตถั่วลิสงนมผง 2 % จากเชื้อ *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*, *L. mesenteroides* และเชื้อผสมระหว่าง *L. bulgaricus* กับ *S. thermophilus*

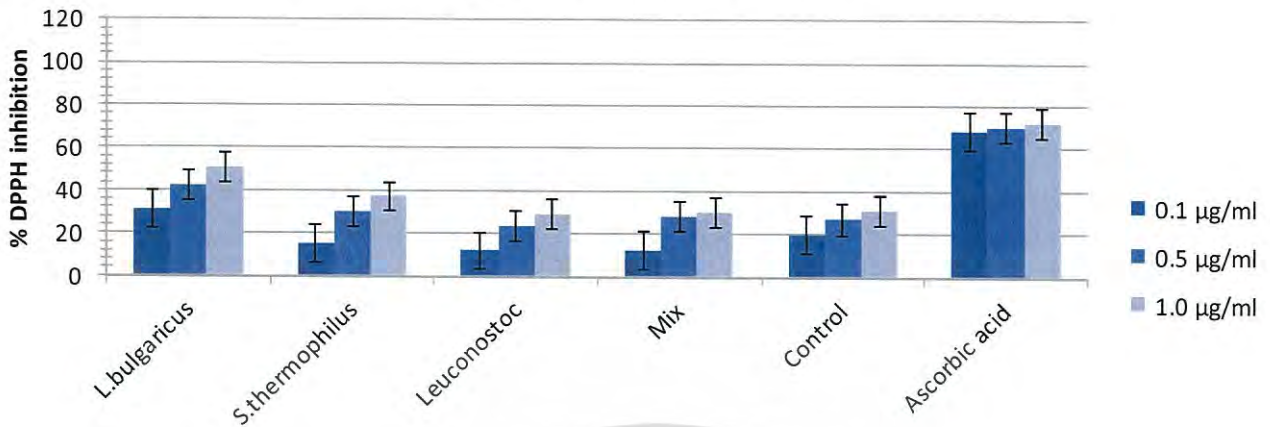
การศึกษาความสามารถของโยเกิร์ตถั่วลิสงในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร ด้วยวิธี agar well diffusion พบว่า เชื้อผสมระหว่าง *L. bulgaricus* กับ *S. thermophilus* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรคที่ทดสอบ ได้แก่ *E. coli*, *S. aureus* และ *S. typhimurium* ดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของกลุ่มขวัญ (2555) ที่พบว่า สามารถสร้างสารยับยั้ง *S. aureus* ได้ดีที่สุด

4.5 ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของโยเกิร์ตถั่วลันเตาโดยวิธี DPPH radical scavenging

การศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของโยเกิร์ตถั่วลันเตาชนิดต่างๆ ทั้ง 2 % และ 4 % จากส่วนใสของโยเกิร์ต *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*, *Leuconostoc mesenteroides*, เชื้อผสมของ *L. bulgaricus* กับ *S. thermophilus* และนมถั่วลันเตา โดยนำส่วนใสของโยเกิร์ต มาเจือจาง ด้วย Absolute methanol ให้มีความเข้มข้น 1, 0.5 และ 0.1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปิเปตส่วนใสที่เจือจางแต่ละความเข้มข้น ปริมาตร 634 ไมโครลิตร มาเติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.2 mM ปริมาตร 366 ไมโครลิตร นำไปบ่มในที่มืดเป็นเวลา 20 นาทีแล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรได้ผลการทดลอง (รูปที่ 4.22 และ 4.23) พบว่าความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างโยเกิร์ตถั่วลันเตา 2 % ที่ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โยเกิร์ตถั่วลันเตาจากเชื้อ *L. bulgaricus* มีค่าการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดคือ 50.76 % ในขณะที่โยเกิร์ตถั่วลันเตาจากเชื้อ *L. mesenteroides* มีค่าการต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด คือ 29.27 % ที่ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างโยเกิร์ตความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โยเกิร์ตถั่วลันเตาจากเชื้อ *L. bulgaricus* มีค่าการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดคือ 42.23 % ซึ่งโยเกิร์ตจากเชื้อผสมของ *L. mesenteroides* มีค่าการต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุดคือ 23.65 % และความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างโยเกิร์ตที่ความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โยเกิร์ตจาก *L. bulgaricus* มีค่าการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดคือ 30.65 % และโยเกิร์ตจากเชื้อผสมระหว่าง *L. mesenteroides* มีค่าการต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุดคือ 11.92 % ส่วนที่ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างโยเกิร์ตถั่วลันเตา 4 % ที่ความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โยเกิร์ตถั่วลันเตาจากเชื้อ *L. bulgaricus* มีค่าการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดคือ 54.48 % ในขณะที่โยเกิร์ตถั่วลันเตาจากเชื้อ *L. mesenteroides* มีค่าการต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด คือ 31.48 % ที่ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างโยเกิร์ตที่ความเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โยเกิร์ตถั่วลันเตาจากเชื้อ *L.* มีค่าการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดคือ 46.85 ซึ่งโยเกิร์ตจากเชื้อผสมของ *L. mesenteroides* มีการต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุดคือ 24.75 และความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างโยเกิร์ตที่ความเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โยเกิร์ตจาก *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* มีค่าการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดคือ 34.63 % และโยเกิร์ตจากเชื้อผสมระหว่าง *L. mesenteroides* มีค่าการต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุดคือ 12.54 % โดยโยเกิร์ตจาก *L. bulgaricus* ทั้ง 2 % และ 4 % มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด ทุกความเข้มข้น จากโยเกิร์ตทั้ง 4 ชนิด และนมถั่วลันเตาที่ไม่มีการเติมเชื้อแบคทีเรียแลคติกก็มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเช่นเดียวกัน แต่จะน้อยกว่าโยเกิร์ตซึ่งมีการเติมแบคทีเรียแลคติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

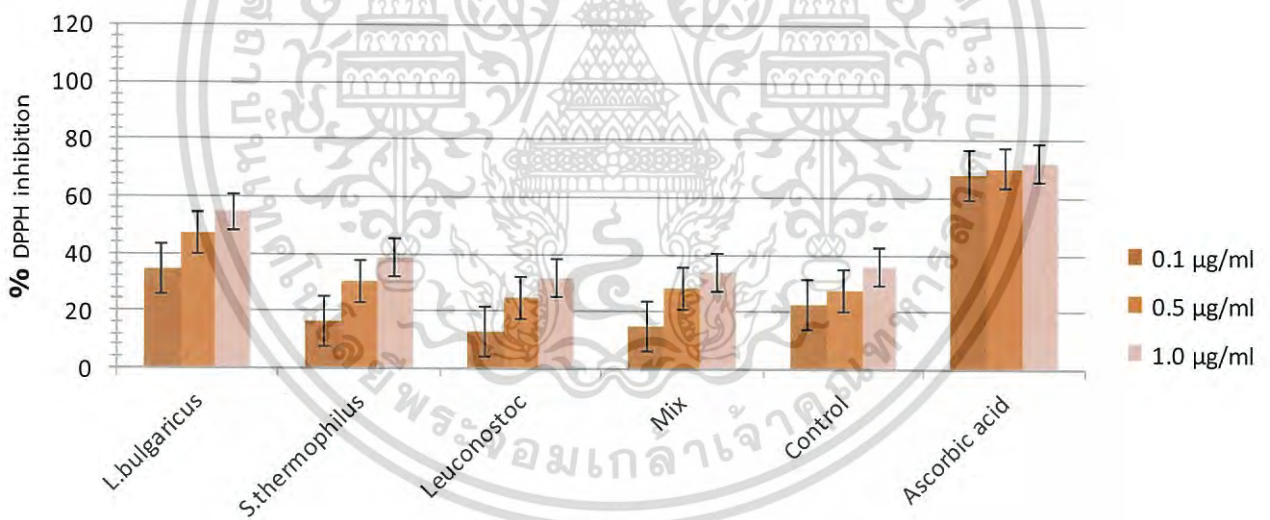
ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของโยเกิร์ตถั่วลิสง 2%



ส่วนโยเกิร์ต

รูปที่ 4.22 ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของโยเกิร์ตถั่วลิสง 2 % ที่สร้างจากแบคทีเรียแลคติก *L. bulgaricus*, *S. thermophiles*, *L. mesenteroides* และเชื้อผสมของ *L. bulgaricus* กับ *S. thermophilus* ที่ระดับความเข้มข้น 0.1, 0.5 และ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร

ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของโยเกิร์ตถั่วลิสง 4%



ส่วนโยเกิร์ต

รูปที่ 4.23 ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของโยเกิร์ตถั่วลิสง 4 % ที่สร้างจากแบคทีเรียแลคติก *L. bulgaricus*, *S. thermophiles*, *L. mesenteroides* และเชื้อผสมของ *L. bulgaricus* กับ *S. thermophilus* ที่ระดับความเข้มข้น 0.1, 0.5, 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิตร

บทที่ 5

สรุปผลวิจัยและข้อเสนอแนะ

โยเกิร์ตถั่วลันเตา สูตรใช้อัตราส่วนถั่วต่อน้ำเท่ากับ 1:8, นมผงทั้ง 2 และ 4 % พบว่าโยเกิร์ตจากเชื้อผสมระหว่าง *L. bulgaricus* กับ *S. thermophilus* จะคุณภาพดีที่สุด โยเกิร์ตจะมีปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นตลอดเวลาการหมักและเริ่มคงที่ เมื่อเวลาการหมักประมาณชั่วโมงที่ 12 โดยโยเกิร์ตถั่วลันเตาจากเชื้อผสมระหว่าง *L. bulgaricus* กับ *S. thermophilus* มีปริมาณเชื้อมากที่สุดคือ 1.9×10^8 CFU/ml และ 2.5×10^8 CFU/ml ตามลำดับ และปริมาณกรดทั้งหมด (TA) จะเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการหมัก ซึ่งจะเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนทุกสามชั่วโมง ในขณะที่ค่าพีเอช จะค่อย ๆ ลดลงทุกสามชั่วโมงจนได้ค่าพีเอช เท่ากับ 4.5

ผลการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร พบว่าเชื้อ *L. bulgaricus* มีความสามารถในการสร้างสารที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งได้ดีที่สุด ในขณะที่ส่วนใสของโยเกิร์ตถั่วลันเตาจากเชื้อผสมระหว่าง *L. bulgaricus* กับ *S. thermophilus* มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ดีที่สุด โดยมีความสามารถในการสร้างสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรียที่ทดสอบสามชนิด ได้แก่ *E. coli*, *S. aureus* และ *S. typhimurium*

โยเกิร์ตถั่วลันเตาจาก *L. bulgaricus* มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด ขณะที่โยเกิร์ตจากเชื้อผสมของ *L. bulgaricus* กับ *S. thermophilus* ได้น้อยที่สุดซึ่งโยเกิร์ตถั่วลันเตาจะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าน้ำนมถั่วลันเตาที่ไม่มีการเติมแบคทีเรียแลคติก

ข้อเสนอแนะ

1. น้ำนมถั่วลันเตาดิบที่จะนำมาใช้ในการผลิตโยเกิร์ตควรเป็นน้ำนมที่ไม่ผ่านการแช่เย็น เพราะอาจจะทำให้น้ำนมสูญเสียคุณภาพ
2. นมถั่วลันเตาเสียสภาพจากความร้อนได้ง่าย ควรฆ่าเชื้อด้วยการพาสเจอร์ไรส์ในอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แทนการใช้อุณหภูมิสูงกว่า 80 องศาเซลเซียส ในการฆ่าเชื้อ
3. ศึกษาการปรุงแต่งกลิ่นรส หรือเติมสารช่วยเพิ่มความคงตัว (stabilization) เช่น คาราจีเนน เจลาติน ลงในน้ำนมถั่วลันเตาเพื่อป้องกันการแยกตัวของน้ำ (syneresis) และเพื่อได้ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตจากน้ำนมถั่วลันเตาที่มีลักษณะปรากฏ ลักษณะเนื้อสัมผัส และกลิ่นรสที่ดียิ่งขึ้น เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคต่อไป
4. การเติมสารพวกษาเขียวลงไปเพื่อให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มขวัญ เชื้อถ้อ. 2555. ประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อก่อโรคในระบบทางเดินอาหารของแบคทีเรียโปรไบโอติก. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

คณะจารย์ภาควิชาพืชไร่นา(จุฬามาศ ร่มแก้ว).พฤกษศาสตร์พืชเศรษฐกิจ; ถั่วลิสง. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, พิมพ์ครั้งที่ 1 2541. กรุงเทพฯ.

คณะจารย์ภาควิชาพืชไร่นา(รังสฤษฎ์ กาวีตะ). พืชเศรษฐกิจ; ถั่วลิสง.คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, พิมพ์ครั้งที่ 1 2542. กรุงเทพฯ.

จุริภรณ์ บุญยวงศ์โรจน์. (2537). เชื้อโรคที่ทำให้เกิดอาหารเป็นพิษ. ความรู้สิ่งเป็นพิษ ตอนที่ 9, 2537, 30 -33. Retrieved from :

http://webdb.dmsc.moph.go.th/ifc_toxic/a_tx_1_001c.asp?info_id=69

ดุชนี ณะบริพัฒน์. 2555. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ: หจก. วิ.เจ.พรินติ้ง.

เดือนจิตต์ สัตยาวิสุทธิ และคณะ. แผลงศัตรูถั่วลิสง; ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับถั่วลิสง. 2539, กรุงเทพฯ.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. 2547. แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับโรค. พิมพ์ครั้งที่3. กรุงเทพฯ : โนเบิลปริ้นท์.

บุษกร อุดรภาติ. (2558). มารูจัก “แบคทีเรียแลคติก” กันเถอะ. วารสารวิทยาศาสตร์ทักษิณ, 2, 19,

บุษกร อุดรภาติ. (2558). มารูจัก “แบคทีเรียแลคติก” กันเถอะ. วารสารวิทยาศาสตร์ทักษิณ.

บุษกร อุดรภาติ. 2552. จุลชีววิทยาทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 4. สงขลา : นำศิลป์โฆษณา.

บุหรัน พันธุ์สวรรค์. (2556). อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ Free radicals, Antioxidants and Antioxidant Activity Determination, วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 21, 276-282.

Retrieved from : http://tstj.research.tu.ac.th/Issue21No3_PDF/paper9.pdf

ประทีป ราชแพทยาคม. 2521. การใช้ถั่วลิสงเป็นอาหาร. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ผลงานวิชาการประจำปี 2544 กรมวิชาการเกษตร. ถั่วลิสง. กรมวิชาการเกษตร, พิมพ์ครั้งที่1, 2545,

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง(ต่อ)

พงศ์เทพ วิไลพันธ์. 2546. แบคทีเรียโอสินจากแบคทีเรียกรดแลคติกในอุตสาหกรรมอาหาร. อาหาร. 33(3) : 173-180.

พัชรวิวรรณ พูนพิพัฒนกุล, พิษณุดา ภัคดี, และลิตา สุดาจันทร์. 2557. การผลิตโยเกิร์ตจากถั่วลิสง.

วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต ภาควิชาชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมวงศ์ และนิธิยา รัตนานนท์. 2558. Probiotic/โพรไบโอติก. [Online]. Available : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0780/probiotic-โพรไบโอติก>

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมวงศ์ และนิธิยา รัตนานนท์. 2558. Yogurt/โยเกิร์ต. [Online]. Available : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1077/yogurt-โยเกิร์ต>

ยุภาวรรณ ทาระศรี, พรทวี พิมพ์วงศ์ และพจณีย์ หล้ามูลชา. n.d.. ถั่วลิสง. วิทยานิพนธ์คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

รัฐสรณ์ ดุลยเกร์ และบวรศักดิ์ สีนานนท์. 2012. การผลิตไอศกรีมเฟร็ดหอกเสริมโพรไบโอติก. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

วารุณี ประดิษฐ์ศรีกุล. 2549. ถั่วหมักอร่อย ว. อาหาร. 36(3) : 189-194.

วิจิตรา แดงปรก และปิยะวรรณ ศุภวิทิตพัฒนา. 2550. โยเกิร์ตน้ำนมข้าวโพดเสริมแคลเซียมจากเปลือกไข่.

รายงานผลการวิจัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

วิเชียร สีสาวขรมาศ. 2541a. โพรไบโอติกส์ : อาหารสุขภาพสำหรับมนุษย์และสัตว์ ตอนที่ 1. ว. จาร์พาร์ . 5(41) : 50-53.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง(ต่อ)

วิเชียร สีสาวัชรมาศ. 2541b. การคัดเลือกจุลินทรีย์เพื่อใช้เป็นโปรไบโอติกส์. ว. จารุพาร์. 45 :

1-5. สุขุมณา วัฒนสินธุ์ . 2545. จุลชีววิทยาทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ :

โรงพิมพ์ มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

วิภพ สุทชนะ. (2556).ฤทธิ์ต้านมะเร็งของปลาไวโนยด์: กลไกการออกฤทธิ์. บทฟื้นฟูวิชาการ, 4, 568.

สุนิดา เมืองโคตร. 2009. จุลินทรีย์โปรไบโอติก 8(2) : 47-58

สุมาลี เหลืองสกุล. 2541. จุลชีววิทยาทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพฯ : ชัยเจริญ.

สุวัฒน์ อีระพงษ์ธนาคาร. เอกสารประกอบการสอน; สารอะฟลาทอกซิน(Aflatoxin)ในถั่วลิสง.

ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

อุทัย แก้วเอียน. (2549). โปรไบโอติกส์. สงขลานครินทร์เวชสาร, 24, 316-319.

โอภา วัชรคุปต์ และคณะ. 2549. สารต้านอนุมูลอิสระ. นนทบุรี: โรงพิมพ์พีเอส.พรินท์.

Angelov, M. Kostov, G. Simova, E. Beshkova, D. & Koprinkova-Hristova P. 2009. Proto cooperation factors in yogurt starter cultures. Revue de genie industriel 3: 4-12.

Bottazzi, V. 1983. Other fermented food. In Biotechnology. Vol 5, pp. 315-321. Edited by H. -J. Rehm and G. Ree. Verlag Chemie, Weinheim.

Cleveland, J., T.J. Montville, I.F. Nes, M.L. Chikindas. 2001. Bacteriocins : Safe, Natural Antimicrobial for Food Preservation. International Journal of Food

Microbiology. 71 : 1-20.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง(ต่อ)

- Daeschel, M.A. 1992. Procedures to detect antimicrobial activities of microorganism. In :
Ray, B. and M. Daeschel. (Eds.). Food Biopreservatives of Microbial Origin. Florida :
CRC press. 57-80.
- Dvorackova, I. 1990. Mycotoxins and human diseases. In Aflatoxins and Human Health, pp.
21-35. CRC Press, Inc., Boca Raton, Fla.
- Fellows, P.J. 1990. Food Processing Technology. Principles and Practice. Ellis Horwood
Limited, Chichester.
- González, B., Arca, P., Mayo, B. & Suárez, J.E. 1994. Detection purification and partial
characterization of plantaricin C, a bacteriocin produced by a *Lactobacillus*
plantarum strain of dairy origin. Applied and Environmental Microbiology. 60: 2158-
2163.
- Goto, T., Wicklow, D.T. and Ito, Y. 1996. Aflatoxin and cyclopiazonic Acid production by a
sclerotium producing *Aspergillus tamarii* strain. Applied and Environmental
Microbiology 62(11), 4036-4038.
- Mohanani, K.R., Shankar P.A. & Laxminarayana H. 1983. Growth and acid production of dahi
starter cultures at sub-optimum temperature. Indian journal of dairy science. 3: 177-
181.
- Sasaki, Y. 2015. [Online]. Available:
http://www.meiji.ac.jp/cip/english/frontline/sasaki_yasuko/index.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient Broth (NB)

Nutrient broth	8.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
pH	6.8 - 7	

การเตรียม: ละลายส่วนผสมให้เข้ากัน ปรับพีเอชด้วย 1N NaOH นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที สำหรับอาหารแข็ง Nutrient agar จะเติมวุ้น 15 กรัม (1.5 %)

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ De Man Rogosa and Sharpe (MRS)

MRS Broth	55.15	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร
pH	6.8 - 7	

การเตรียม: ละลาย ละลายส่วนผสมให้เข้ากัน ปรับพีเอชด้วย 1N NaOH นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที สำหรับอาหารแข็ง MRS agar จะเติมวุ้น 15 กรัม (1.5 %)

การเตรียมสารละลายและบัฟเฟอร์

1. สารละลาย McFarland No. 0.5

สารละลาย McFarland standard No. 0.5 ใช้เปรียบเทียบความขุ่นมาตรฐานของการเพาะเชื้อแบคทีเรีย สารละลาย McFarland standard No. 0.5 เทียบได้กับจำนวนแบคทีเรีย 10^8 CFU/ml

สารเคมี

1. Conc. H_2SO_4

2. $BaCl_2 \cdot 2H_2O$

การเตรียมสารเคมี

1. นำ Conc. H_2SO_4 10 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้เท่ากับ 1 ลิตร เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ชั่ง $BaCl_2$ 1 กรัม ใส่ในขวดปรับปริมาตรและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้เท่ากับ 100 มิลลิลิตร
3. นำสารละลายในข้อ 1 ปริมาตร 995 มิลลิลิตร และสารละลายข้อ 2 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน
4. นำสารละลาย McFarland standard No. 0.5 บรรจุใส่หลอดฝาเกลียวปิดฝาให้สนิทกันการระเหย แล้วเก็บในที่มืด ที่อุณหภูมิ 2- 30 องศาเซลเซียส

2. 0.85% NaCl (normal saline)

NaCl 8.5 กรัม

น้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร

3. การเตรียมละลาย 2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ความเข้มข้น 0.2 mM

DPPH 0.0078 กรัม

เมทานอล

ชั่ง DPPH 0.0078 กรัม ละลายในเมทานอล และปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

4. การเตรียม Ascorbic acid ความเข้มข้น 1 mg/ml

Ascorbic acid 0.01 กรัม

เมทานอล

ชั่ง ascorbic acid 0.01 กรัม ละลายในเมทานอล ปรับปริมาตรให้ได้ 1 มิลลิลิตร และเจือจางให้ได้ระดับความเข้มข้น 1, 0.5, 0.1 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรด้วยเมทานอล

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์ทางเคมี

1. การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด; AOAC (2000)

ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดแลคติกและกรดอะซิติก ซึ่งมีวิธีการวิเคราะห์ดังนี้

สารเคมี

1. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล (N)
2. ฟีนอล์ฟทาลีน (phenolphthalein) ความเข้มข้น 1 %
3. เอทานอล (ethanol) ความเข้มข้น 95 %
4. โพแทสเซียมฟทาเลต (potassium phthalate)

การเตรียมสารเคมี

1. สารละลาย NaOH มาตรฐาน

เตรียมสารละลายมาตรฐาน NaOH 0.1 N (โดยประมาณ) โดยชั่ง NaOH 2 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปหาความเข้มข้นที่แน่นอน ด้วยสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมฟทาเลต ($\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$)

วิธีหาความเข้มข้นที่แน่นอน สารละลาย NaOH ทำโดย

- 1.) ละลาย $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ ที่ผ่านการอบแห้งที่ 120 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง และทำให้เย็นในเดซิเคเตอร์ (desiccator) ปริมาณ 0.6000-0.7000 กรัม ในน้ำกลั่น 75 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่
- 2.) หยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 1 % ในสารละลาย $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ จำนวนสองหยด
- 3.) นำไปไทเทรตกับสารละลาย NaOH ที่บรรจุอยู่ในบิวเรต จนกระทั่งสารละลายปฏิกิริยาเปลี่ยนจากไม่มีสีเป็นสีชมพูอ่อนที่คงตัว โดยทำการไทเทรต 3 ครั้ง บันทึกปริมาตร NaOH ที่ใช้ในการไทเทรต

$$\text{Normality ของ NaOH} = \frac{(\text{จำนวนกรัม KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4 \times 1,000)}{\text{จำนวนมิลลิลิตร NaOH 204.299}}$$

2. สารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 1 %

ละลายฟีนอล์ฟทาลีน 1 กรัม ในเอทานอล 95% 100 มิลลิลิตร

วิธีวิเคราะห์ปริมาณกรด

1. ปิเปตตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

2. เติมน้ำกลั่น 40 มิลลิลิตร หยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 2 หยด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ไทเทรตด้วยสารละลาย NaOH มาตรฐาน จนได้สีชมพูจางๆ คงที่ บันทึกปริมาตรของสารละลาย NaOH ที่ใช้ในการไทเทรต ทำการทดลองซ้ำ 2 ครั้ง

4. คำนวณหาปริมาณกรดทั้งหมด

$$\text{ปริมาณกรด (\%)} = \frac{\text{นอร์มาลิตี (N)} \times \text{ปริมาตร} \times \text{น้ำหนักกรัมสมมูลย์ของกรด} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง} \times 1,000}$$

นอร์มาลิตี (N) = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์

ปริมาตร = จำนวนมิลลิลิตรของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์

น้ำหนักกรัมสมมูลย์ของกรดแลคติก = 60.1

น้ำหนักกรัมสมมูลย์ของกรดอะซิติก = 90.0



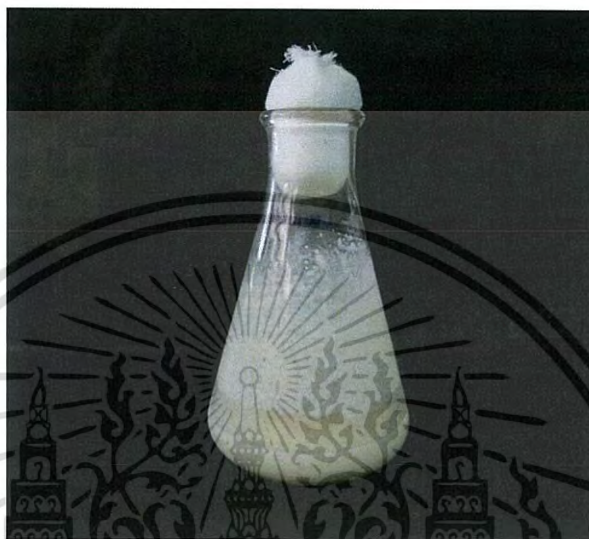
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

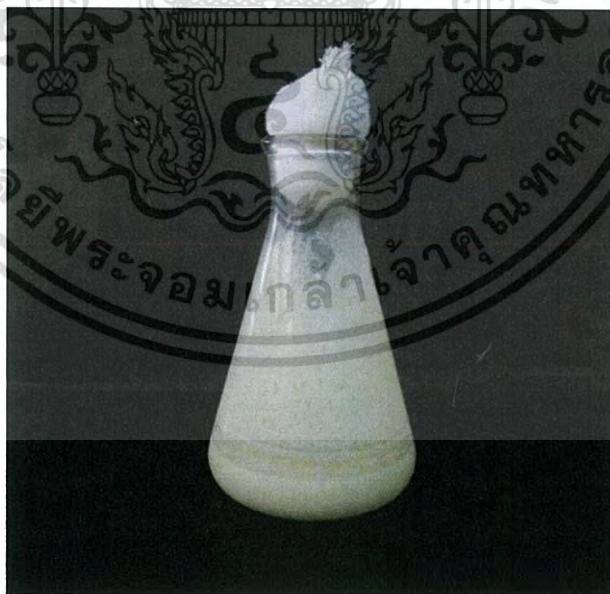
ภาพประกอบการทดลอง

ลักษณะทางกายภาพระหว่างการหมักของโยเกิร์ตแต่ละประเภท

1. โยเกิร์ตจาก *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* เพียงชนิดเดียว

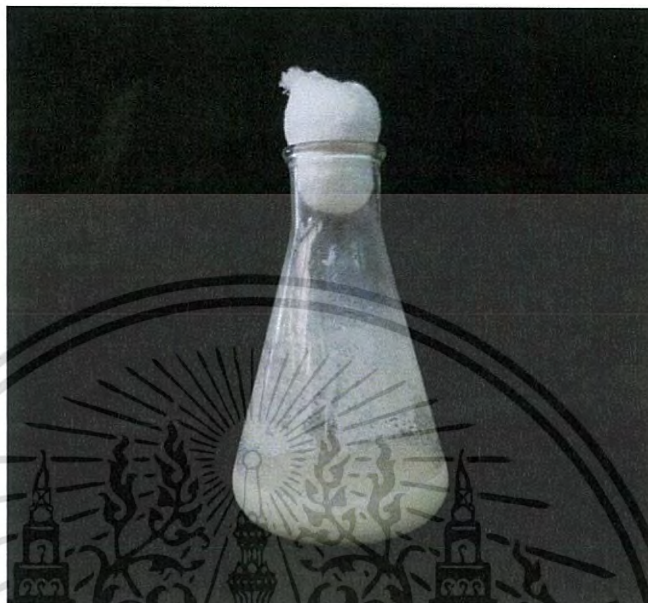


2. โยเกิร์ตจาก *S. thermophilus* เพียงชนิดเดียว

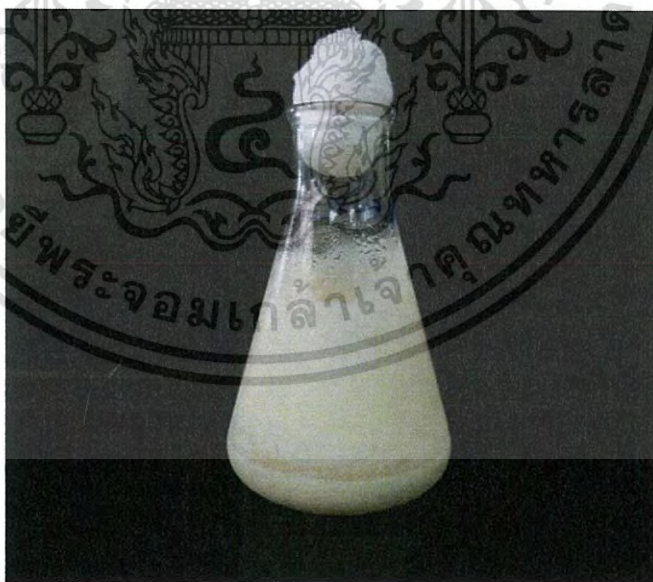


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. โยเกิร์ตจาก *Leu. Mesenteroides* เพียงชนิดเดียว

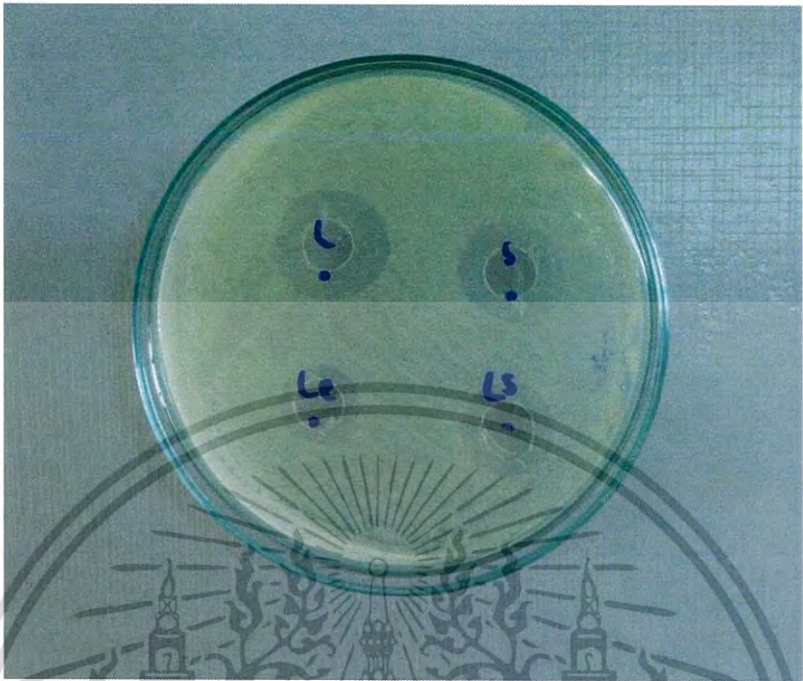


4. โยเกิร์ตเชื้อผสมระหว่าง *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* กับ *S. thermophilus*



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะการยับยั้งของแบคทีเรียแลคติกด้วยวิธี agar well diffusion



ตารางประกอบการทดลอง
ผลการทดลองควบคุมที่ใช้ในการทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรคของแบคทีเรียแลคติก โดยใช้%กรดแลคติกบริสุทธิ์เตรียมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

เชื้อก่อโรค	ขนาดของรัศมี inhibition zone (เซนติเมตร)					
	0.20%	0.70%	1.30%	1.50%	1.60%	1.70%
<i>Bacillus cereus</i>	0	0	0.6	0.7	0.8	0.9
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0.6	0.7	0.9	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0.5	0.6	0.8	0.9

ที่มา: กลุ่มขวัญ, 2555