นวัตกรรมสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเคลือบกระดาษเช็ดมือเพื่อช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันต่อเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคปนเปื้อนบนผิวหนัง

Innovated Fermented Garlic Extract Coated on Hand Towel Tissue to Strengthen Immunity against Pathogenic Microbes Contaminated on the Skin

ดวงฤทัย นิคมรัฐ (หัวหน้าโครงการ)

ภัทริกา สูงสมบัติ

นิภาพร ปัญญา

ภภัสสร สิงหธรรม

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ 2566

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร

นวัตกรรมสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเคลือบกระดาษเช็ดมือเพื่อช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันต่อเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคปนเปื้อนบนผิวหนัง

Innovated Fermented Garlic Extract Coated on Hand Towel Tissue to Strengthen Immunity against Pathogenic Microbes Contaminated on the Skin

ดวงฤทัย นิคมรัฐ (หัวหน้าโครงการ)

ภัทริกา สูงสมบัติ

นิภาพร ปัญญา

ภภัสสร สิงหธรรม

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากงบประมาณเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ 2566

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร

หัวข้อวิจัย นวัตกรรมสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเคลือบกระดาษเช็ดมือเพื่อช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันต่อเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคปนเปื้อนบนผิวหนัง

ชื่อผู้วิจัย ดวงฤทัย นิคมรัฐ ภัทริกา สูงสมบัติ นิภาพร ปัญญา และภภัสสร สิงหธรรม

หน่วยงาน คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร

ปีงบประมาณ 2566

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ต้องการพัฒนาชุดคิทสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเพื่อการสเปร์ยเคลือบกระดาษเช็ดมือ ด้วยหลักการใช้จุลินทรีย์กลุ่มโพรไบโอติกส์เพื่อสุขภาพ ที่คัดแยกจากโยเกิร์ตและคอมบูชาหมัก ด้วยน้ำหมักกระเทียมที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อโรคเมื่อสกัดด้วยเอทานอลร้อยละ 80 แล้วกำจัดเอทานอลออกจนได้สารสกัดน้ำหมักกระเทียมและสารอินทรีย์ที่เกิดขึ้นในน้ำหมักกระเทียม มีประสิทธิภาพในการทำงานทั้งก่อนและหลังจากเคลือบบนกระดาษเช็ดมือ ในการยับยั้งจุลินทรีย์กลุ่มที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อทางผิวหนัง ก่อให้เกิดท้องเสียและกำจัดเชื้อที่เป็นตัวบ่งบอกถึงความไม่สะอาด และก่อให้เกิดอาการไข้ในรูปของเชื้อที่ผสมกัน คือ เชื้อ *Escherichia coli, Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus faecalis* โดยกระดาษเช็ดมือที่เคลือบด้วยสารสกัดกระเทียมหมักสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคทั้งสามชนิดได้ดี โดยส่งเสริมการลดลงอย่างน้อยร้อยละ 50 ของจำนวนแบคทีเรียดังกล่าวทั้งหมดด้วยวิธี Disk Agar Diffusion Method และ (MIC50 ในระยะเวลา 60 วัน) ทั้งยังส่งเสริมการเจริญเติบโตของกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์หรือโพรไบโอติกส์ ให้ยังคงอยู่ด้วยวิธี Serial Dilution เมื่อนำกระดาษเช็ดมือดังกล่าวเก็บไว้ในภาชนะปิด แห้ง ไม่มีแสง สามารถเก็บที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิเย็น 4°C ได้นานอย่างน้อย 60 วัน และนานมากกว่า 180 วัน ตามลำดับ ส่วนสารสกัดน้ำหมักกระเทียมที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 20-200 mg/mL สามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องได้นานมากกว่า 6 เดือนหากน้ำหมักกระเทียมที่ได้มาจากการหมักในอาหารเหลวที่เติมนมสดร้อยละ 50 งานวิจัยที่ได้นี้ชี้ให้เห็นว่าชุดคิทสารสกัดน้ำหมักกระเทียมพร้อมการใช้งานเพื่อใช้ฉีดพ่นบนกระดาษเช็ดมือ มีศักยภาพและสามารถพัฒนาในเชิงพาณิชย์ระดับอุตสาหกรรม ทำให้ได้แนวทางการใช้สมุนไพรต่อยอดเพื่อการป้องกันการปนเปื้อนและแพร่กระจายของเชื้อโรค เป็นแนวทางหนึ่งของเทคโนโลยีสีเขียว ลดการใช้สารเคมีที่เป็นพิษอย่างเหมาะสม มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ ลดปัญหาของสิ่งแวดล้อมและอันตรายจากการใช้สารเคมี

Title Innovated Fermented Garlic Extract Coated on Hand Towel Tissue to Strengthen Immunity against Pathogenic Microbes Contaminated on the Skin

Name Duongruitai Nicomrat, Patarika Soonsombat, Nipaporn Panya, Papatsorn Singhathum

Institute Faculty of Science and Technology, RMUTP

Year 2023

ABSTRACT

This research aims to develop a kit of fermented garlic extract for paper towel disinfection, using the principles of using probiotic bacteria for health, distinct from yogurt and traditional fermentation. The fermented garlic extract has inhibitory properties on disease-causing bacteria when extracted with 80% ethanol, and after removing the ethanol, it yields garlic-extracted broth along with organic compounds produced during the fermentation process. It proved to be effective in both pre- and post-coating on hand wipe paper, inhibiting bacterial groups that cause skin infections, diarrhea, and eliminating indicators of uncleanliness and fever-causing organisms, namely *Escherichia coli, Staphylococcus aureus,* and *Streptococcus faecalis*. Hand wipe paper coated with garlic-extracted water effectively reduced at least 50% of the aforementioned bacteria using the Disk Agar Diffusion Method (providing MIC50 in a 60-day period). It also promoted the growth of beneficial or probiotic bacteria through the Serial Dilution method. When the aforementioned hand wipe paper is stored in a dry, dark, and room-temperature container, it can be preserved for at least 60 days and even longer, more than 180 days, respectively. As for garlic-extracted fermented broth at concentrations ranging from 20-200 mg/mL, it can be stored at room temperature for more than 6 months if the garlic fermented extract comes from fermentation broth containing 50% fresh milk. Therefore, this research indicates that the kit of garlic fermented extract is ready for use to spray on hand wipe paper, and it has potential for commercial industrial development, providing recommendations for herbal use in preventing contamination and disease transmission. It is an eco-friendly technology, reducing the use of toxic chemicals, efficient in inhibiting bacteria, and mitigating environmental concerns and health risks associated with chemical use.

กิติกรรมประกาศ

ในการทำวิจัยเรื่องนี้ ทีมคณะผู้วิจัยขอขอบคุณสำหรับทุนจากงบประมาณรายได้จากคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ที่ได้สนับสนุนงานวิจัยนี้ ให้สามารถทำลุล่วงไปได้จนสำเร็จ และขอขอบคุณนักศึกษาคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สาขาวิทยาการสิ่งแวดล้อมและการจัดการทรัพยากรธรรมชาติ ที่ได้ช่วยในขั้นตอนการเตรียมสารเคมี และการลงเชื้อ ติดตามงาน เก็บ ส่งตัวอย่างเพื่อการวิเคราะห์ และการเก็บผลเพื่อการวิเคราะห์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ก

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... ข

กิตติกรรมประกาศ..... ค

สารบัญ..... ง

สารบัญตาราง..... ฉ

สารบัญภาพ..... ช

บทที่ 1 บทนำ..... 1

1.1. ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย..... 1

1.2. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย..... 3

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย..... 3

1.4. สมมุติฐานของโครงการวิจัยนี้..... 3

1.5. ระยะทำการวิจัย..... 4

1.6. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ..... 5

1.7. แผนการถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย..... 6

บทที่ 2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 7

2.1. เชื้อจุลินทรีย์เกี่ยวข้องกับโรคบนผิวหนัง..... 8

2.2. กระดาษทิชชู..... 9

2.3. แบคทีเรียกรดแลคติก..... 10

2.4. อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์..... 17

2.5 โพรไบโอติก..... 18

2.6 พรีไบโอติก..... 20

2.7. กระเทียม..... 21

2.8. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง..... 24

บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย..... 27

3.1. การหมักกระเทียมและสกัดน้ำหมักกระเทียม..... 27

3.2. การเตรียมกลุ่มจุลินทรีย์ก่อโรคที่ปนเปื้อนในอากาศ 30

3.3 การอ่อนไหวของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Disc agar diffusion method..... 30

3.4. การเตรียมหัวเชื้อแบคทีเรียสร้างกรดแลกติกเพื่อการหมักกระเทียม..... 31

3.5. การหมักกระเทียมด้วยหัวเชื้อแบคที่เรียสร้างกรดแลกติก *Lactobacilli* 31

3.6. การศึกษาอายุการใช้งานของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเคลือบบนกระดาษเช็ดมือ..... 31

3.7. การพัฒนาชุดคิทสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเพื่อฉีดพ่นบนระดาษเช็ดมือ..... 31

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล..... 32

4.1. คุณลักษณะของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเคลือบบนกระดาษเช็ดมือ..... 32

4.2. ความสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคบนผิวหนังของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมก่อนและหลังการเคลือบ... 37

4.3. อายุการใช้งานของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเคลือบบนกระดาษเช็ดมือ..... 44

4.4 ชุดคิทสารสกัดน้ำหมักกระเทียมพร้อมการใช้งานเพื่อใช้ฉีดพ่นบนกระดาษเช็ดมือ..... 52

บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ..... 54

บรรณานุกรม..... 55

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 2.1 :. การเปรียบเทียบคุณสมบัติของกระดาศทิชชู..... 10
ตารางที่ 2.2 :. สารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผลิตจากแลคติกแอสิดแบคทีเรีย..... 16
ตารางที่ 4.1 : กลุ่มจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์ที่พบในโยเกิร์ตและคอมบูชา 33
ตารางที่ 4.2 : การยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคจากการทำการเจือจางในอาหารเหลวชนิด NB 37
ตารางที่ 4.3 : คุณลักษณะทางกายภาพและการสัมผัสของกระดาษเช็ดมือ..... 42
ตารางที่ 4.4 : ความสามารถในการละลายน้ำและการต้านจุลินทรีย์ก่อโรคของกระดาษเช็ดมือ..... 42
ตารางที่ 4.5 : ความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคและส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์
ชนิด Probiotics..... 46

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 4.1 : ตัวอย่างเชื้อโพรไบโอติกส์ที่ผ่านการคัดแยกได้จากการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อในสูตรปรับปรุง..... 33
ภาพที่ 4.2 : ตัวอย่างอาหารที่ใช้ในการเพาะคัดแยกเชื้อโพรไบโอติกส์ชนิด *Lactobacillus* spp. 33
ภาพที่ 4.3 : อาหารเลี้ยงเชื้อโพรไบโอติกส์ที่ปรับสารอาหารและนมสดร้อยละ 50..... 34
ภาพที่ 4.4 : ตัวอย่างลักษณะเชื้อโพรไบโอติกส์กลุ่มสร้างแลกติคในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวที่มี
นมสดร้อยละ 10 36
ภาพที่ 4.5 : ตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียแห้งจากกระบวนการ Freeze drying เพื่อการนำไปเคลือบบน
กระดาษเช็ดมือ 36
ภาพที่ 4.6 : ตัวอย่างกลุ่มเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกส์จากการเพาะเลี้ยงหลังจากกระบวนการ Freeze dry..... 37
ภาพที่ 4.7 : ลักษณะกระดาษเช็ดมือที่ผ่านการพ่นเคลือบด้วยสารสกัดน้ำหมักกระเทียม 38
ภาพที่ 4.8 : กระดาษเช็ดมือทางการค้าที่มีเนื้อกระดาษทิชชู 39
ภาพที่ 4.9 : กระดาษเช็ดมือผสมทำด้วยกระดาษทิชชูผสมกับเส้นใยใบเตย..... 41
ภาพที่ 4.10 : ตัวอย่างกระดาษทิชชูชนิดเหนียวที่ผ่านการสเปรย์สารสกัดน้ำหมักกระเทียม 43
ภาพที่ 4.11 : ตัวอย่างความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อโรค*ชนิด Staphylococcus aureus*..... 44
ภาพที่ 4.12 : ตัวอย่างของการไม่ยับยั้งกลุ่มยีสต์ Saccharomyces cerevisiae..... 44
ภาพที่ 4.13 : ตัวอย่างของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย E. coli 45
ภาพที่ 4.14 : ตัวอย่างความสามารถในการยับยั้งกลุ่มเชื้อรา..... 45
ภาพที่ 4.15 : ผลการส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อ Probiotics Lactobacillus..... 45
ภาพที่ 4.16 : ผลการส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อ Probiotics จากคอมบูชา..... 46
ภาพที่ 4.17 : ตัวอย่างของจุลินทรีย์ Probiotics ที่ก่อประโยชน์ต่อร่างกายมาจากคอมบูชา..... 46
ภาพที่ 4.18 : ความสามารถในการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อประโยชน์..... 48
ภาพที่ 4.19 : กลุ่มเชื้อราที่เจริญเติบโตได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Potato dextrose broth..... 48
ภาพที่ 4.20 : ความสามารถในการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์ Saccharomyces cerevisiae..... 49
ภาพที่ 4.21 : ความสามารถของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมที่เคลือบบนกระดาษเช็ดมือ
ในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์..... 49
ภาพที่ 4.22 : อายุการทำงานของกระดาษเช็ดมือเคลือบสารสกัดกระเทียมหมักในช่วงระยะเวลานาน 180 วัน..... 51
ภาพที่ 4.23 : ตัวอย่างสารสกัดกระเทียมหมักในชุดคิทสารสกัดน้ำหมักกระเทียมที่เก็บไว้นาน 180 วัน..... 51
ภาพที่ 4.24 : ตัวอย่างสูตรสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเพื่อการนำไปใช้ 54
ภาพที่ 4.25 : ตัวอย่างชุดคิทสารสกัดน้ำหมักกระเทียมผสมกับสารสกัดสมุนไพรกานพลู..... 54

บทที่ 1

บทนำ

1.1. ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

ปัจจุบันมีการศึกษาเกี่ยวกับสมุนไพรไทยเพื่อการรักษา ดูแลสุขภาพมากขึ้นเพื่อลดการใช้สารเคมี ซึ่งสารเคมี มีความเป็นพิษสูงและสลายตัวยากทำให้เกิดผลกระทบต่อผู้ใช้และสิ่งแวดล้อม ซึ่งส่งผลให้สมดุลของธรรมชาติสูญเสียไป อีกทั้งสมุนไพรช่วยลดปัญหาของการดื้อยาหากใช้อย่างเหมาะสม จึงได้ถูกเลือกให้เป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ผู้คนส่วนใหญ่หัน มาให้ความสน ใจเพิ่มมากขึ้นและ หลีกเสี่ยงสารเคมีสังเคราะห์ ที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ จากหลายงานวิจัยได้ทำการเปรียบเทียบข้อดีและข้อเสียในการ ใช้สารสกัดจากพืชกับสารเคมีสังเคราะห์ พบว่าสารสกัดจากพืชมีข้อได้เปรียบของธรรมชาติสูญเสียไป สารสกัดจากพืชมีข้อดีเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้กับสารเคมีสังเคราะห์ ด้วยคุณสมบัติคือ 1) เลือกทำลายหรือทำลายเฉพาะเจาะจง 2) มีความเป็นพิษต่ำหรือก่อนข้างต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับสารเคมีที่มีความเป็นพิษมีตั้งแต่ต่ำถึงสูง 3) สลายตัวได้ง่าย 4) ไม่มีอิทธิพลต่อระบบนิเวศน์หรือมีน้อย 5) หาวัตถุดิบได้ยาก แต่หากเลือกสมุนไพรในครัวเรือนจะหาได้ง่าย 6) ราคาถูก 7) มีโอกาสด้านทานหรือดื้อยาน้อย 8) ต้นทุนการผลิตต่ำ 9) ใช้เทคโนโลยีการผลิตที่ง่าย 10) ใช้กับศัตรูในดินให้ประสิทธิภาพสูงกว่า และสารพิษตกค้างต่ำกว่าสารเคมี สมุนไพรจะไม่ส่งผลต่อระบบนิเวศน์มาก สามารถสลายตัวได้ง่ายเมื่อเทียบกับสารเคมีที่มีฤทธิ์ตกค้างในสิ่งมีชีวิตและในธรรมชาติได้นาน ใน 11)ไม่มีลิขสิทธิ์และกฎหมายควบกุมหากไม่ใช่ชนิดสมุนไพรที่อยู่ในควบคุมทางกฎหมาย แต่สารเคมีมีลิขสิทธิ์และกฎหมายควบคุม กระบวนการผลิตมีตั้งแต่ง่ายจนถึงยาก ในขณะที่สารเคมีต้องใช้เทคโนโลยีการผลิตที่ซับซ้อน

ในการทำการสกัดสารสมุนไพรเพื่อการใช้อุปโภคและบริโภคนั้นให้ได้ จำเป็นที่ต้องมีเลือกตัวทำละลายที่มีคุณสมบัติและความสามารถในการสกัดสารที่เหมาะสม มีการออกฤทธิ์การทำงานได้ดี ด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกันของแต่ละชนิดอาจให้สารสกัดออกมาที่แตกต่างกัน แต่อย่างไรจำเป็นต้องคำนึงถึงตวามเหมาะสมชนิดตัวทำละลายกับชนิดของสมุนไพรที่ใช้ด้วย ชนิดสาระสำคัญที่ต้องการนั้นละลายในตัวทำละลายชนิดใด และประเภทการนำไปใช้ของสารสำคัญว่าเพื่อการนำไปใช้บริโภคหรืออุปโภค หรือใช้สำหรับสิ่งมีชีวิต เช่น คน สัตว์ หรือ พืช น้ำซึงในเป็นตัวทำละลายที่นิยมมากที่สุดในบรรดาตัวทำละลายหลายชนิดที่มีขั้วเพื่อการสกัดสารจากพืช เป็นตัวทำละลายที่ละลายสารที่ได้จำกัดชนิด ไม่ละลายสารพื้น ๆ ชนิดอื่น ๆ ที่มีอยู่ในเนื้อเยื่อสมุนไพร แต่เกิด Oxidize ได้ง่าย ราคาถูกสุด การกำจัดออกได้ง่าย ไม่เป็นพิษ แต่สำหรับสารไม่มีขั้วจะเลือกใช้ Chloroform Ether Hexane และ Acetone เป็นตัวทำละลายซึ่งสามารถละลายสารได้จำกัดชนิด ไม่ละลายสารพื้น ๆ ชนิดอื่น

ที่มีอยู่ในเนื้อเยื่อสมุนไพร แต่เกิด Oxidize ได้ง่าย ราคาถูก มีข้อเสีย คือ มีกลิ่นฉุน กำขัดออกได้ยาก และไม่นิยมใช้เนื่องจากรับประทานมากจะสารก่อมะเร็ง แต่ Alcohol เป็นตัวทำละลายที่นิยมใช้สกัดสารที่มีขั้วทีมผู้วิจัยมีความสนใจการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรชนิดกระเทียมด้วยหลักการทั้งใช้ขั้วและไม่มีขั้วของน้ำและแอลกอฮอล์ พร้อมทั้งด้วยการเลือกใช้เอนไซม์ โดยอาศัยหลักการทำงานที่เอนไซม์จากจุลินทรีย์ในกลุ่มที่สามารถสร้างกรดอินทรีย์ที่สามารถสกัดสำคัญเพื่อการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคออกจากกระเทียม และด้วยกระบวนการทำงานของเอนไซม์ อุณหภูมิและระยะเวลาของการหมักทำให้กลิ่นฉุนของกระเทียมหายไป วิธีการเหล่านี้ได้มาจากรายงานวิจัยหลายที่ที่ผ่านมา [18]

ดังนั้นสมุนไพรกระเทียมซึ่งใช้กันมากในครัวเรือน เป็นสมุนไพรอันดับต้นๆ ในบรรดาพืชสมุนไพรที่คนไทยรู้จัก ทั่วไปถึงประโยชน์ต่อสุขภาพมากมาย ไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค มีราคาถูก ได้ถูกเลือกมาทำการสกัดสารสำคัญในการศึกษานี้ เพื่อนำมาใช้ทดแทนยาปฏิชีวนะ มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรียได้ดีและไม่มีผลตกค้างที่เป็นอันตรายแก่ผู้บริโภค ซึ่ง โดยสารประกอบทางเคมีที่พบในกระเทียมมีอยู่รวมกันหลายชนิด โดยมีกำมะถันเป็นองค์ประกอบหลักที่มีคุณสมบัติเด่น ได้แก่ อัลลิสแตติน (Allistatin) อัลลิซิน (Allicin) อัลลิอิน (Alliin) กาลิซิน (Garlicin) และ อะโจอีน (Ajoene) ซึ่งสารประกอบเหล่านี้มีคุณสมบัติเด่นในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรีย เชื้อราและเชื้อไวรัสได้หลายชนิด (จันเพ็ญ, 2553) ด้วยการอาศัยหลักการทำงานของกลุ่มจุลินทรีย์ที่สร้างโพรไบโอติกส์ของกลุ่มจุลินทรีย์สร้างกรดแลคติก จึงได้แนวคิดเลือกการพัฒนากการหมักกระเทียมสด ด้วยเชื้อกลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติก ในสภาวะการหมักที่เหมาะสมให้ได้สาระสำคัญและทำการสกัดน้ำหมักกระเทียมที่ได้ด้วยน้ำและแอลกอฮอล์ ให้ได้ลักษณะคุณสมบัติเฉพาะของสารสกัดที่มีฤทธิ์การต้านจุลินทรีย์ คือสารในกลุ่มอลัลซิน โดยไม่ได้ผ่านการย่อย บด หั่นปกติ ทีมผู้วิจัยต้องการทดสอบดูความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์บนพื้นผิวร่างกาย ในกลุ่มเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus* spp., *Staphylococcus* spp., และ *E. coli*, รวมถึงเชื้อราในกลุ่ม *Aspergillus* spp., *Penicillium* spp., และ *Rhizopus* spp., และเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* และใช้ประโยชน์ของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมที่มีเชื้อกลุ่มจุลินทรีย์กรดแลคติก มีศักยภาพในการช่วยสร้างสารโพรไบโอติกส์ให้กับสารสกัดกระเทียมหมักที่ได้ ในรูปแบบของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมมาเคลือบบนแผ่นกระดาษเช็ดมือได้ถูกเลือกในขั้นต่อมา ด้วยความเข้มข้นในช่วง 6-8 LogUnits ที่เหมาะสมในสารละลายเป็นชุดคิดที่ให้สามารถเติมใส่ในขวดเสปรย์ที่มีตัวทำละลายและสารสำคัญในกลุ่มพรีไบโอติกส์ ซึ่งประกอบด้วยสารลดแรงตึงผิว สารช่วยให้การทำงานของสารสกัดกระเทียมหมักคงตัว และสามารถออกฤทธิ์ได้เหมาะสม และสารในกลุ่มพรีไบโอติกส์เพื่อสุขภาพและกระตุ้นภูมิ ทั้งนี้สารสกัดกระเทียมหมักที่จะได้ที่มีเชื้อจุลินทรีย์พร้อมสารสำคัญที่มีศักยภาพในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันและต้านอนุมูลอิสระ เช่นกรดอินทรีย์ต่าง ๆ อัลดีไฮด์ วิตามินบี 1 2 และ 6 สาร พร้อมทั้งมีกลุ่มสารอัลลิซินช่วยลดและยับยั้งการปนเปื้อนจุลินทรีย์เมื่อนำมาเคลือบบนกระดาษเช็ดมือ ทำให้

บริเวณผิวดังกล่าวลดจำนวนเชื้อก่อโรคลงได้ โดยเฉพาะที่พื้นผิวมือและแขน ด้วยการใช้สมุนไพรในที่นี่คือการใช้สารสกัดเคลือบบนตัวกระดาษที่ใช้เช็ดมือ จึงถือว่าเป็นแนวทางหนึ่งที่สามารถช่วยลดการใช้ ยา สารเคมี ไม่ก่อการระคายเคืองอันมาจากสารเคมี สามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ที่ปนเปื้อนผิวร่างกายที่อาจมาจากการจับต้อง การถือ การสัมผัสวัสดุ อุปกรณ์และพื้นผิว ลดปัญหาของการติดเชื้อต่อการดื้อยาลดการใช้ยาและสารเคมีบนผิวหนังร่างกาย สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันต่อเชื้อโรคทั่วไปได้ดี

1.2. วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1.5.1 เพื่อศึกษาคุณลักษณะของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเคลือบบนกระดาษเช็ดมือ

1.5.2 เพื่อศึกษาความสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคบนผิวหนังของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมก่อนและหลังการเคลือบบนกระดาษเช็ดมือ

1.5.3 เพื่อศึกษาอายุการใช้งานของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเคลือบบนกระดาษเช็ดมือ

1.5.4 เพื่อพัฒนาชุดคิทสารสกัดน้ำหมักกระเทียมพร้อมการใช้งานเพื่อใช้ฉีดพ่นบนกระดาษเช็ดมือ

1.3. ขอบเขตของโครงการวิจัย

วัสดุที่นำมาใช้ในการทดลองคือ กระดาษเช็ดมือทางการค้าและจากเส้นใยพืช สารสกัดหมักกระเทียมได้จากสมุนไพรกระเทียมโทน โดยการทำการสกัดน้ำหมักกระเทียมด้วยวิธีการหมักด้วยกลุ่มแบคทีเรียกรดแล็คติก

ดำเนินการที่ห้องปฏิบัติการสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีสิ่งแวดล้อม คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร ศูนย์พระนครเหนือ

ขอบเขตเนื้อหาคือ การทำสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเคลือบบนกระดาษเช็ดมือ เพื่อลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคบนผิวหนัง

ระยะเวลาดำเนินการวิจัย 10 เดือน ตั้งแต่เดือนธันวาคม 2565 - กันยายน 2566

1.4 สมมุติฐานและกรอบแนวคิดของโครงการวิจัย

สมมุติฐาน

ด้วยหลักการ สารสกัดสมุนไพรทีทีมผู้วิจัยได้คัดเลือกคือสารสกัดที่ได้จากการหมักกระเทียมด้วยกลุ่มจุลินทรีย์กรดแลคติกที่ผ่านการคัดแยกเป็น Mixed cultures ในห้องปฏิบัติการ ด้วยหลักการทำงานของเชื้อแบคทีเนรียกลุ่มนี้ที่สามารถทำงานร่วมกับกลุ่มจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ในสภาวะกรดและช่วยให้เกิดสารในกลุ่มโพรไบโอติก ที่มีศักยภาพในการกำจัด ลด ป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคที่เกิดบนพื้นผิวร่างกายได้ ด้วยกระเทียมสดและกระเทียมหมักทำให้ได้สารสำคัญในกลุ่มอัลลิซินที่มีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์วงกว้าง หลากหลาย

ชนิด ทั้งแบคทีเรีย เชื้อรา ยีสต์ ไวรัสได้ดี ดังนั้นกระดาษเช็ดมือที่เคลือบด้วยสารสกัดน้ำหมักกระเทียมจะสามารถถูกจัดทำเป็นชุดคิท ที่มีสารสกัดน้ำหมักและสารกลุ่มพรีไบโอติกส์ พร้อมใช้ให้ผู้บริโภคพร้อมใช้ เพื่อฉีดบนกระดาษเช็ดมือเลย ทำให้เป็นผลิตภัณฑ์กระดาษเช็ดมือ มีคุณสมบัติการยับยั้งหรือควบคุมแบคที่เรีย ทดแทนหรือเสริมการใช้สารเคมีในการฆ่าเชื้อ เพื่อลดสารตกค้าง ในสิ่งแวดล้อม และเป็นมิตรต่อผู้บริโภค เป็นแนวทางการพัฒนานวัตกรรมจากพืชสมุนไพรเป็นหนึ่งในทางเลือกเพื่อลดโอกาสการดื้อยาของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคบนพื้นผิวได้ทางหนึ่ง

1.5 ระยะเวลาทำการวิจัย และแผนการดำเนินงานตลอดโครงการวิจัย

กิจกรรม/ขั้นตอนการดำเนินงาน	เดือนที่											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1. ศึกษากระบวนการหมักกระเทียมด้วยแบคทีเรียกรดแล็คติก และการทำสารสกัดน้ำหมักกระเทียม	■	■										
2. พัฒนากระบวนการเคลือบสารสกัดน้ำหมักกระเทียมบนกระดาษเช็ดมือ			■									
3. ศึกษาความสามารถของกระดาษเช็ดมือเคลือบด้วยสารสกัดน้ำหมักกระเทียมในการยับยั้งกลุ่มจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนบนผิวหนัง				■	■							
4. ศึกษาอายุการใช้งานของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเคลือบบนกระดาษเช็ดมือ						■	■					
5. พัฒนาชุดคิทสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเพื่อฉีดพ่นบนระดาษเช็ดมือ								■	■			
6. วิเคราะห์ผลการทดลองและสรุปผลงานวิจัย								■	■			
7. ทำรายงานงานวิจัยฉบับสมบูรณ์										■	■	
8. นำเสนอผลงาน												■

1.6. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.6.1 ได้ต้นแบบผลิตภัณฑ์ – ชุดคิทสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเพื่อใช้ฉีดพ่นกระดาษเช็ดมือ ที่สามารถการยับยั้งจุลินทรีย์ปนเปื้อนบนผิวหนังและกระตุ้นภูมิป้องกันการติดเชื้อจุลินทรีย์

1.6.2 ได้องค์ความรู้ใหม่ - ได้กระบวนการสกัดสารน้ำหมักกระเทียมที่สามารถการยับยั้ง จุลินทรีย์ปนเปื้อนบนผิวหนัง

1.7. แผนการถ่ายทอดเทคโนโลยีหรือผลการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย

ผลผลิต	ตัวชี้วัด			
	เชิงปริมาณ	เชิงคุณภาพ	เวลา	ต้นทุน (บาท)
1. นำเสนอผลงานในระดับชาติ/นานาชาติ	1 ครั้ง	งานประชุมระดับชาติ/นานาชาติ	หลังจากจบงานวิจัย	2,000
2. กระบวนการสกัดสารน้ำหมักกระเทียมที่สามารถการยับยั้ง จุลินทรีย์ปนเปื้อนบนผิวหนัง	1 แบบ	เป็นกระบวนการที่สามารถนำไปต่อยอดเชิงพาณิชย์ได้	หลังจากจบงานวิจัย	4,000
3. จัดทำผลงานฉบับสมบูรณ์	1 ฉบับ	เพื่อเผยแพร่เป็นความรู้พื้นฐานเบื้องต้นให้กับผู้สนใจ	1 ฉบับ	1,000

บทที่ 2

เอกสารงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการวิจัยพัฒนาเรื่อง นวัตกรรมสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเคลือบกระดาษเช็ดมือ เพื่อช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันต่อเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคปนเปื้อนบนผิวหนัง ด้วยการเคลือบพ่นสารสกัดน้ำหมักกระเทียมที่พัฒนาได้ลงบนแผ่นกระดาษเช็ดมือ ในการพัฒนาสารสกัดน้ำมันกระเทียมให้มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์และกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ และคุณสมบัติดังกล่าวและอายุการใช้งานของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมภายหลังการเคลือบบนกระดาษเช็ดมือ มีเอกสารวิจัยที่เกี่ยวข้องดังนี้

2.1 เชื้อจุลินทรีย์เกี่ยวข้องกับโรคบนผิวหนัง

2.2 กระดาษทิชชู

2.3 แบคทีเรียกรดแลคติก

2.4 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

2.5 โพรไบโอติก

2.6 พรีไบโอติก

2.7 กระเทียม

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เชื้อจุลินทรีย์เกี่ยวข้องกับโรคบนผิวหนัง

เชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคบนผิวและปนเปื้อนของพื้นผิวที่สัมผัส

การติดเชื้อแบคที่เรีย เชื้อสามารถเข้าสู่ร่างกายได้หลายวิธี เช่น การรับประ ทานอาหารที่มีเชื้อ การหายใจเอาอากาศที่มีเชื้อโรคเข้าไป รวมถึงการ สัมผัส เชื้อโรคจากพื้นผิวต่าง ๆ แล้วนำมาสัมผัสกับร่างกายหรืออาหารแล้วรับประ ทานเข้าไป ก็ทำให้เกิดการติดเชื้อได้ ดังนั้นพื้นผิวสัมผัสต่าง ๆ อาจเป็นแหล่งแพร่เชื้อโรคได้ ซึ่งเชื้อโรคอาจถูกแพร่จากผู้ติดเชื้อโดยตรง หรือนำมาโดยตัวกลางหรือพาหะอื่น 1 เช่น ลม น้ำและแมลง เป็นต้น เชื้อก่อโรคที่มักพบบนพื้นผิวสัมผัสมักพบได้หลายชนิด โดยเฉพาะกลุ่มแบคที่เรียก่อโรคที่มีอยู่ทั่วไปซึ่งมีบนผิวของคนทั่วไป สามารถก่อโรคหรือไม่ก่อโรค ปนเปื้อนบนพื้นผิวสัมผัส แต่มักพบว่าก่อปัญหาของการดื้อยาและการเป็นซ้ำของโรคได้ และก่ออันตรายต่อผู้ป่วยให้มีอาการของโรคอื่น ๆหนักขึ้น โดยเฉพาะก่อเกิดปัญหาของการฉวยโอกาสในการก่อโรค ตัวอย่างเช่น เชื้อแบคทีเรีย *S. aureus, B. cereus, E.coli* และ *P.aeroginosa* เป็นต้น (Nandanlal et al., 2007)

การดูแลและป้องกันการปนเปื้อน ติดเชื้อจากจุลินทรีย์ก่อโรค

จากการปนเปื้อนพื้นผิวสัมผัส ด้วยสถานการณ์ของการแพร่กระจายเชื้อโรคโควิด-19 ที่ยังพบอยู่ในปัจจุบันอันมาจากการสัมผัส และความสามารถในการติดเชื้อโรคอันเนื่องมาจากการสัมผัสบนพื้นผิวที่มีเชื้อก่อโรค เป็นเหตุที่ต้องควรระวัง มีการล้างมือให้สะอาด บ่อยครั้ง มีการเช็ดมือด้วยสารฆ่าเชื้อโรค เช่น แอลกอฮอล์ และมีการใช้กระดาษทิชชูเช็ดมือก่อนให้แห้งแล้วทิ้ง จึงเป็นวิธีการหนึ่งที่ดีในการป้องกันเชื้อโรคแพร่กระจาย ป้องกันการแพร่และรับเชื้อก่อโรคมาที่ร่างกาย

2.2 กระดาษทิชชู

2.2.1 ชนิดกระดาษทิชชู

กระดาษทิชชู กระดาษทิชชูเป็นของใช้อเนกประสงค์มีหลายประเภท กระดาษทิชชูในท้องตลาดมีอยู่ด้วยกันหลายประเภท ซึ่งมีความแตกต่างกันทั้งด้านคุณสมบัติ ขนาด การบรรจุและราคา แต่เดิมกระดาษทิชชูผลิตจากเยื่อกระดาษใหม่ล้วน ต่อมาเมื่อราคาของเยื่อกระดาษที่ใช้เป็นวัตถุดิบสูงขึ้น พร้อมกับค่าใช้จ่ายอย่างอื่นเพิ่มขึ้น รวมทั้งมีการแข่งขันในตลาดกันมากขึ้นด้วย จึงได้มีการนำเศษกระดาษและเยื่อไม้บดมาผสมเพื่อให้สินค้าขายได้ในราคาที่ไม่สูงเกินไป แต่การใช้เศษกระดาษผสมเช่นนี้จะทำให้กระดาษดูสกปรก เขาจึงมักย้อมสีหรือพิมพ์ลวดลายให้สวยงามเพื่อบีดบังร่องรอยของความสกปรก ดังนั้นจึงควรหลีกเลี่ยงการซื้อกระดาษทิชชูที่ย้อมสีเข้มและหากเป็นไปได้ควรเลือกซื้อแต่กระดาษทิชชู สีขาว ทั้งชนิดที่ใช้สำหรับ เช็ดหน้า เช็ดปาก เช็ดมือ หรือกระดาษชำระ ทั้งนี้ด้วยข้อแตกต่างของกระดาษทิชชูที่สำคัญ มาจาก คุณสมบัติที่เป็นตัวกำหนดการใช้งานของกระดาษ

2.2.2. มาตรฐานของกระดาษทิชชู

กระดาษทิชชูตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มี 4 ประเภท ดังนี้

1) กระดาษทิชชูประเภทแรก คือกระดาษเช็ดหน้า ถือว่าเป็นกระดาษทิชชูที่ต้องมีคุณภาพในด้านความอ่อนนุ่ม ความสะอาดสูงกว่ากระดาษทิชชูประเภทอื่น ความสามารถดูดซับน้ำได้ดี ความเป็นกร.-ด่าง มีค่าอยู่ระหว่าง 5.5 ถึง 8.5 นอกจากนี้ยังต้องมีความทนทานต่อแรงดึงในขณะที่แห้งและเบียกน้ำ

2) กระดาษเช็ดปาก กระดาษทิชชูชนิดนี้มีคุณสมบัตทางด้านความอ่อนนุ่ม มีความเป็นกรด-ด่าง ความทนทานต่อแรงดึงทั้งในขณะแห้งและเบียกใกล้เคียงกับกระดาษเช็ดหน้า แต่มีความต้องการด้านความสะอาดรองลงมา

3) กระดาษเช็ดมือ จัดได้ว่าเป็นกระดาษสารพัดประโยชน์ ใช้เช็ดได้ธารพัด เช่น เช็ดมือ เช็ดรถ เช็ดถ้วยชาม หรืออุปกรณ์เครื่องใช้ต่าง ๆ กระดาษเช็ดมือต้องมีความอ่อนนุ่ม ความสามารถดูดซับได้ดี ความสะอาดเพียงพอ ตามลักษณะของการใช้งานพบว่ากระดาษเช็ดมือต้องมีคุณสมบัติทางด้านความทนทานต่อแรงดึง ทั้งในขณะแห้งและเบียกสูงกว่ากระดาษทิชชูประเภทอื่น ๆ โดยทั่วๆ

5) กระดาษชำระ ที่นอกเหนือจากความสามารถดูดซับความอ่อนนุ่ม ไม่มีความเป็นกรด-ด่าง แล้ว คุณสมบัติของกระดาษชำาระที่สำคัญและจำเป็นอย่างยิ่ง คือการกระจายตัวได้ง่ายเมื่อเบียกน้ำ ซึ่งเป็นความต้องการที่ตรงข้ามกับกระดาษเช็ดหน้า กระดาษเช็ดปาก และกระดาษเช็ดมือ จากคุณลักษณะทั้งหมดของชนิดกระดาษทิชชู สามารถแสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 การเปรียบเทียบคุณสมบัติของกระดาศทิชชู

คุณสมบัติ	กระดาษชำระ	กระดาษเช็ดหน้า	กระดาษเช็ดปาก	กระดาษเช็ดมือ	กระดาษอเนกประสงค์
ความสะอาด	✓✓	✓✓✓	✓✓	✓	✓✓✓
ความเหนียว	✓	✓✓✓	✓✓✓	✓✓✓	✓✓✓
ความนุ่ม	✓✓	✓✓✓	✓✓	✓	✓
ความหนา	✓	✓✓	✓✓	✓✓	✓✓✓
ย่อยสลาย	✓✓✓	✓✓	✓	✓	✓
ความทนทาน	✓	✓✓	✓✓	✓✓✓	✓✓✓

2.1.3 ทิชชูเปียก เพื่อเช็ดผิวและมือ

ทิชชูเปียก เป็นทางเลือกใหม่ของการใช้ การทำความสะอาดด้วยทิชชู ทำด้วยผ้าเช็ดทำความสะอาดสูตรอ่อนโยน อาจเรียกว่า ผ้าเช็ดทำความสะอาด ผ้าอเนกประสงค์ ผลิตจากน้ำบริสุทธิ์ผ่านการทดสอบโดยแพทย์ผิวหนัง เช็ดทำความสะอาดผิวได้อย่างมั่นใจช่วยให้ผิวนุ่มรู้สึกสดชื่นดูแลผิวอย่างอ่อนโยน ไม่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์และน้ำหอมที่เป็นสารตกค้างซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดการระคายเคืองผิว สามารถทำความสะอาดได้บ่อยโดยไม่ต้องกังวล ไม่เป็นขุยเมื่อเปียกน้ำ สำหรับเช็ดทำความสะอาดมือ หรือตามร่างกาย เนื้อเหนียวนุ่ม ซึมซับดี ไม่ขาดง่าย ปราศจากสารเคมี ไม่ทำให้ระคายเคืองผิว กระดาษเช็ดมือ ทิชชู่เช็ดมือ หนา 2 ชั้น 1000 แผ่น (แพ็คละ 250 แผ่น รวม 4 แพ็ค) เนื้อเหนียวนุ่ม ซึมซับดี ไม่ขาดง่าย ไม่เป็นขุยเมื่อเปียกน้ำ สำหรับเช็ดทำความสะอาดมือ หรือตามร่างกาย ปราศจากสารเคมี ไม่ทำให้ระคายเคืองผิว 1ซึงในการศึกษานี้ทีมผู้วิจัยต้องการพัฒนาทิชชูเปียกชนิดเคลือบสารสกัดน้ำหมักกระเทียมซึ่งเป็นการพัฒนาต่อจากการใช้ทิชชูเปียกมาเพื่อการซับทำความสะอาดมือและแขน ข้อมือให้สะอาด

2.3 แบคทีเรียกรดแลคติก (Lactic acid bacteria, LAB)

2.3.1 ชนิดของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแล็กทิก

แบคทีเรียที่ผลิตกรดแล็กทิก (lactic acid bacteria) คือ กลุ่มของแบคทีเรียแกรมบวก (Gram positive bacteria) ที่สามารถหมักน้ำตาลกลูโคส (glucose) น้ำตาลแล็กโทส (lactose) ให้เกิดกรดแล็กทิก (lactic acid fermentation) กรดอินทรีย์อื่น ได้แก่ กรดแอซีติก (acetic acid) และกรดโพรพิโอนิก (propionic acid) และสารอื่น เช่น hydrogen peroxide และ diacetyl ซึ่งทำให้เกิดกลิ่นและรสของอาหารหมัก แบคทีเรียแล็กทิก สามารถสร้างแบคทีริโอซิน (bacteriocin) ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่น แบคทีเรียแล็กทิกได้รับการยอมรับว่าเป็นแบคทีเรียที่ปลอดภัย (generally recognized as safe bacteria; GRAS status)แบคทีเรียแล็กติกแอซิด (Lactic acid bacteria: LAB) เป็นกลุ่มแบคทีเรียที่ย้อมติดสีแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ ไม่สร้างเอนไซม์คะตะเลส (Catalase) มีทั้งชนิดที่มีรูปท่อนและรูปกลม ชนิดที่สำคัญในอุตสาหกรรมอาหาร ได้แก่ *Lactobacillus Streptococcus Lactococcus* และ*Leuconostoc* แหล่งที่พบแบคทีเรียแล็กติกแอซิด ได้แก่ เนื้อ ผลิตภัณฑ์นม และอาหารหมักดองต่างๆ

2.3.2 ประโยชน์ของ lactic acid bacteria

1) Lactic acid bacteria ใช้ในการหมัก (fermentation) อาหารLactic acid bacteria นำมาใช้เพื่อการผลิตอาหารหมัก (fermented food) หลายชนิด ผลิตภัณฑ์นมหมัก เช่น โยเกิร์ต (yogurt) นมเปรี้ยว เนยแข็ง (cheese) ผลิตภัณฑ์หมักจากเนื้อสัตว์ เช่น แหนม ไส้กรอกเปรี้ยว ซาลามี (salami) ผลิตภัณฑ์หมักจากผัก และ ผลไม้ เช่น ผักผลไม้ดอง กิมจิ (kimchi) แตงดอง (pickle) ซาวเคราต์ (Sauerkraut) ผลิตภัณฑ์หมักจากถั่วเหลือง (soybean) เช่น ซีอิ้ว (fermented soy sauce) เต้าเจี้ยว (soy paste)

2) Lactic acid bacteria ช่วยในการถนอมอาหาร และทำให้อาหารปลอดภัย กรดแล็กทิก (lactic acid) ที่ lactic acid bacteria ผลิตขึ้นช่วยในการถนอมอาหาร และทำให้อาหารปลอดภัย เพราะกรดที่ได้จากการหมักทำให้ ค่า pH ของอาหารลดลง ช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย โดยเฉพาะแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค (pathogen) รา (mold) ยีสต์ (yeast) เนื่องจาก H^+ จะซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ (cell membrane) เข้าสู่ภายในทำให้ไซโตพลาสซึม (cytoplasm) มีสภาวะภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ เป็นกรดสูง ซึ่งส่งผลให้ electrochemical proton gradient ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์เสียไป เซลล์จึงถูกทำลายและไปยับยั้งการนำเข้ากรดแอมิโน (amino acid uptake) ของเซลล์จุลินทรีย์นอกจากนี้การหมักด้วย lactic acid bacteria ยังได้ hydrogen peroxide และ diacetyl ที่มีฤทธิ์เป็นสารกันเสีย (preservative) อีกด้วย

3) Lactic acid bacteria เป็น probiotic ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ lactic acid bacteria บางชนิด จัดเป็น probiotic ซึ่งเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ของมนุษย์ สามารถผลิต bacteriosin ซึ่งยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค (pathogen) ในสำไส้ใหญ่

2.3.3 ประเภทของการหมักด้วย lactic acid bacteria

1) Homofermentation เป็นการหมัก ด้วยแบคทีเรียที่ใช้น้ำตาลแล้วให้กรดแล็กทิกเพียงอย่างเดียว สามารถใช้น้ำตาลที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์ได้ประมาณ 85-95% เพื่อเปลี่ยนเป็นกรดแล็กทิก ส่วนน้ำตาลที่เหลืออาจใช้เพื่อให้พลังงานและสารระเหยอื่นๆ ตัวอย่างแบคทีเรียกลุ่มนี้เช่น *Streptococcus*, *Pediococcus*

2) Heterofermentation เป็นการหมักที่ใช้น้ำตาลประมาณ 50% ให้เป็นกรดแล็กทิก น้ำตาลที่เหลืออีกประมาณ 20-25% ให้เป็นกรดแอซีติก และเอทิลแอลกอฮอล์ที่เหลืออีก 20-25% ใช้ในการผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ตัวอย่าง เช่น *Leuconoctoc*

2.3.4 แบคที่เรียกรดแลดติกที่เป็นเชื้อตั้งต้นของกระบวนการหมัก เพื่อให้ได้สารประเภทกรดอินทรีย์ เช่น

1) การเป็นเชื้อตั้งต้นในผลิตภัณฑ์นม โดยเชื้อแบคที่เรียกรดแลคติกที่นำมาใช้เป็นเชื้อตั้งต้นในอุตสาหกรรมนมประกอบด้วย 5 สกุล คือ *Streptococcus, Leuconostoc, Lactobacillus, Enterocoecus และ Lactococcus* (นกา, 2534; Cogan and Accolas, 1996)

1.1) เชื้อตั้งต้นสกุล *Streptococcus* เชื้อตั้งต้นสกุล Streptococcus ได้แก่ *Streptococcus lactis* subsp. lactis, *S. lactis* subsp. diacetylaciis และ *S. lactis* subsp. cremoris โดยเฉพาะ *S. lactis* subsp. diacetylactis นอกจากจะเฟอร์เมนต์แลโตสได้กรดแลติกแล้วยังสามารถเมตาบอไลท์ซิเตรทเป็นไดอะซิธิล จึงมักใช้ในรูปเชื้อตั้งต้นแบบผสมเพื่อสร้างสารดังกล่าวอันเป็นกลิ่นเฉพาะของผลิตภัณฑ์ที่เฟอร์เมนต์โดยใช้จุสินทรีย์เหล่านี้ นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถใช้ S. thermophilus ในผลิตภัณฑ์นมหมักอีกหลายชนิด

1.2) เชื้อตั้งต้นสกุล *Leuconostoc* *Leuconostoc* เป็นจุลินทรีย์ที่มีรูปร่างกลม มักพบเชื้อในลักษณะการเรียงตัวของเซลล์เป็นสู่และเป็นสายโซ่ยาว บ่อยครั้งพบเซลล์ที่มีรูปร่างเป็นรูปไข่ซึ่งการจัดเรียงตัว และรูปร่างลักษณะของเซลล์จะมีความคล้ายกลึงกับแบกทีเรียกรดแลติกกลุ่ม lactococci แบคทีเรียสกุลนี้ส่วนใหญ่เจริญในน้ำนมได้ช้ามากจึงไม่เหมาะสำหรับเป็นเชื้อตั้งดันเพื่อการผลิตกรค แต่จากคุณสมบัติของเชื้อสกุลนี้ที่สามารถเมตาบอไลท์ซิเตรทเป็นสารไคอะซิธิล และอะซิโทอิน จึงมีการใช้เชื้อสกุลนี้ร่วมกับเชื้อตั้งต้นชนิดอื่น เช่น *Lactobacillus cremoris* subsp. cirovolun เพื่อผลิตสารที่ให้กลิ่นหอม และใช้ร่วมกับเชื้อที่ผลิตกรดได้ดี เช่น *Streptococcus* spp. หรือ *Lactobacillus* spp.

1.3) เชื้อตั้งต้นสกุล *Lactobacillus* จุลินทรีย์กลุ่มนี้ปรากฏพบทั้งพวก homofermentative และพวก heterofermentative แต่ที่นิยมผลิตเป็นเชื้อตั้งต้นทางการค้าสำหรับใช้ในผลิตภัณฑ์นมหมักเป็นกลุ่ม homofermentative ได้แก่ *Lactobacillus bulgaricus*, *Lb. lactis*, Lb. *helveticus*, *Lb. acidophilus*, และ *Lb. casei* เชื้อที่ใช้เป็นเชื้อตั้งต้นของผลิตภัณฑ์นมหมักส่วนใหญ่ได้แก่

Lb. bulgaricus โคยมักใช้ร่วมกับเชื้อ *S. thermophilus* ซึ่งจัดเป็น thermophilic starter อีกชนิดหนึ่ง เชื้อทั้งสองสปีชีส์ดำเนินกิจกรรมการหมักโดยการทำงานร่วม และส่งเสริมซึ่งกันและกัน (synergistic effect) เช่น ในเชื้อตั้งต้นแบบผสมของโยเกิร์ตประกอบด้วยแบคที่เรียทั้งสองชนิดนี้ ซึ่งพบว่าสามารถผลิตกรดได้เร็วกว่าการใช้เชื้อตั้งต้นเพียงชนิดเดียวเท่านั้น เนื่องจาก *Lb. bugaricus* เมื่อเจริญในน้ำนมพบว่าสามารถสร้างเอนไซม์โปรตีเอสย่อยสลายโปรตีนในน้ำนม ได้กรคอะมิโนหลายชนิด โดยเฉพาะฮีสทีดีนที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของ *S. thermophilus* ในทำนองเดียวกันพบว่า S. thermophilus มีการผลิตกรดฟอร์มิกซึ่งจัดเป็นสารที่ช่วยส่งเสริมการเจริญของ *Lb. bugaricus* เช่นกัน นอกจากนั้นพบว่าLb. bulgaricus มีบทบาทในการผลิตอะเซธัลดีไฮด์ซึ่งเป็นสารสำคัญที่ให้กลิ่นเฉพาะของโยเกิร์ต (Spreer, 1998) นอกจากเชื้อในสกุล *Lb. bugaricus* แล้วยังพบว่า *Lb. acidophilus* และ *Lb. casei* ยังมีบทบาทในนมหมักในชื่อ และลักษณะอื่นๆ ที่มีความแตกต่างกันไป เชื้อสกูล *Lb. acidophilus* พบว่าเป็นเชื้อที่มีบทบาทในการหมักนมเปรี้ยวที่เรียกว่า acidophilus milk เป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ *Lb. acidophilus* เป็นเชื้อตั้งต้นเพียงชนิดเดียวนิยมบริโภคมากในสหภาพโซเวียต ยุโรปตะวันออก และประเทศในแถบสแกนดิเนเวีย (Howells, 1992) ส่วนเชื้อสกุล *Lb. casei* พบได้ในน้ำนมสด, เนย์แข็ง, ผลิตภัณฑ์นมต่างๆ ในโรงงานนม, โดเปรี้ยว (sour dough) เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีผลิตภัณฑ์ที่ใช้เชื้อ *Lb. casei* เป็นเชื้อตั้งต้น เช่น Yakuเ@ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มนมหมักชนิดเหลวของประเทศญี่ปุ่น และ Gefilus@ เป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มนมหมักชนิคเซ็ตที่มีการย่อยน้ำตาลแลตโตสผลิตจากเวย์ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากประเทศฟินแลนด์ (Saloff-Coste, 1995)

1.4) เชื้อตั้งต้นสกุล *Enterococcus* จุลินทรีย์กลุ่มนี้ปรากฏพบในรูปแบบที่เป็นเชื้อตั้งต้นธรรมชาติ (artisanal starter) และพบเพียงสองสายพันธุ์เท่านั้นที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์นมหมัก ได้แก่ *En. faecais* และ *Ent. Faecium* คุณสมบัติสำคัญที่สามารถใช้เป็นเชื้อตั้งต้น ได้แก่ สามารถสร้างกรคได้อย่างรวดเร็ว, ด้านทานกระบวนการแปรรูปเนยแข็งพวกฮาร์คชีส (hard cheese) และสามารถทนต่อความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์ 6.5 % ได้ จุลินทรีย์ทั้งสองสปีชีส์สามารถเจริญได้ที่ 10°C และ 45°C ที่ pH 9.6 (Cogan and Accolas, 1996)

1.5) เชื้อตั้งต้นสกุล *Lactococcus* *Lactococcus* เป็นจุลินหรีย์ที่มีรูปร่างกลม มีทั้งที่พบเป็นเซลล์เดี่ยว อยู่เป็นดู่ หรือต่อกันเป็นสายุโซ่ยาว แต่ที่พบทั่วไปคือการเรียงตัวของเซลล์เป็นรูปสายโซ่ยาว ในบางกรั้งรูปร่างของเซลล์อาคล้ายกับรูปแท่งจนมีลักษณะคล้าย *Lactobacili* ตัวอย่างจุลินทรีย์สายพันธุ์นี้ ได้แก่ Lc. lactis subsp. lactis และ Lc. lactis subsp. hordniae ซึ่งจัดเป็นพวก homofermentative สามารถเฟอร์เมนต์น้ำตาล แล้วสร้าง L-lactate ออกมาเป็นผลิตภัณฑ์ เจริญได้ที่ 10oC แต่ไม่สามารถเจริญได้ที่ 45oC โดยKim et al. (2000) ศึกษาการเจริญของแบคทีเรียกรดแลคติก 4 ชนิด ได้แก่ *Lactobacilus acidophilus* 145, *Lb. casei* 911, *Streptococcus thermophilus* th-116, *Bifidobacterium* sp. BB-12 และ *Bifdobacterium* sp. RD-65 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมจากวัตถุดิบธรรมชาติ เช่น ผัก, สาหร่าย, ธัญ

ชาติต่าง ๆ และพวกพืชกินหัวชนิดต่าง ๆ ปรับ PH เป็น 7.2 โดยใช้ L-cysteine HC! ทำการเลี้ยงที่ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในสภาพไร้ออกซิเจน ผลการวิจัยพบว่าการเลี้ยงแบคที่เรียกรดแลติกทั้ง 4 ชนิด ในน้ำผักชนิดต่าง ๆ ได้ค่าเซลล์มากกว่า 109 cfum1 ส่วนการเลี้ยงในน้ำจากพืชหัวชนิดต่าง ๆ ค่าเซลล์ที่ได้ต่ำกว่า 10^{10} cfu/mL เนื่องจากพบสารประกอบที่สามารถขับยั้งการเจริญของแบคทีเรียกรดแลดูติกในพืชเหล่านี้

2.3.5 ผลิตภัณฑ์ที่ใช้แลคติกแอสิดแบคทีเรีย

1. ผลิตภัณฑ์นม (Dairy products)

ผลิตภัณฑ์นมหมักเตรียมได้จากนมหลายชนิด ลักษณะของการหมักนมเกิดได้ 2 แบบ คือ acid type เป็นการหมักที่ให้กรดเพียงอย่างเดียวกับ kefir type ซึ่งเป็นการหมักที่ให้กรด ก๊าซและมีแอลกอฮอล์เกิดขึ้นเล็กน้อย หลักการของแลคติกแอสิดแบคที่เรียในผลิตภัณฑ์นมหมักคือ การสร้างกรดแลคติกของกล้าเชื้อในระหว่างการหมักทำให้ค่า pH ของผลิตภัณฑ์ลดลงและเกิดการจับตัวของโปรตีนในนมเกิดเป็นเคิร์ด (curd) รสชาติของผลิตภัณฑ์มีรสเปรี้ยว ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์นมที่ใช้แลคติกแอสิดแบคที่เรีย ได้แก่ นมเปรี้ยว โยเกร์ตและเนยแข็ง เชื้อแลคติกแอสิดแบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับการผลิตโยเกิร์ต ได้แก่ *Strep. salivarius* subsp. thermophilus และ *Lb. delbruecki* subsp. bulgaricus ยังมีผลิตภัณฑ์นมหมักที่เรียกว่าคีเฟอร์ (Kefir) เป็นผลิตภัณฑ์นมหมักที่มีรสเปรี้ยวเล็กน้อย เกิดจากการหมักนมกับหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่เรียกว่า คีเฟอร์เกรน (kefir grain) ในคีเฟอร์เกรนประกอบด้วยแลคติกแอสิดแบคทีเรียและยีสต์ที่ยึดเกาะกันด้วยสารที่มีลักษณะเป็นเมือกเหนียวประเภทโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์ *Leuconostoc* spp. การอยู่ร่วมกันของกล้าเชื้อในคีเฟอร์เป็นแบบ symbiotic (นภา โล่ห์ทอง, 2543 คีเฟอร์ยังมีคุณสมบัติเป็นเครื่องดื่มโปรไบโอติก มีประโยชน์ในการสดการเจริญของเซลล์มะเร็ง ใช้เป็นอาหารของทารกได้ และยังมีผลกระตุ้นภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย (Guzel Seydim et al, 2000)

2. ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ (Meat products)

ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่ใช้แลคติกแอสิดแบคทีเรียในการผลิตส่วนใหญ่เป็นผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก เช่น แหนม รวมทั้งไส้กรอกแห้งและไส้กรอกกึ่งแห้ง เช่น ซาลามิ เป็ปเปอโรมิ เป็นต้น จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการหมัก ได้แก่ *Streptococcus* sp. และ *Lactobacillus* sp. ซึ่งจะผลิตกรดอินทรีย์ออกมาทำให้ pH ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่นแลคติกแอสิดแบคที่เรียที่เกี่ยวข้องกับการหมักแหนมและไส้กรอก ได้แก่ *Lactobacillus* sp และ *Pediococcus* sp. ซึ่งทั้งสองสายพันธุ์ใช้เป็นกล้าเชื้อในทางการค้าของผลิตภัณฑ์เนื้อหมักในต่งประเทศ นอกจากนั้นบางผลิตภัณฑ์ยังใช้ *Micrococcus* sp. ซึ่งเป็นแบคที่เรียที่รีดิวซีไนเทรต (Nitrate) เป็นนไทรต์ (Nitrite) มีผลทำให้สีของผลิตภัณฑ์มีความคงทนยิ่งขึ้น นอกจากนี้แลคติกแอสิดแบคทีเรียยังทำให้การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนรวมถึงจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคลดลงด้วย ซึ่งผลการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์เกิดขึ้นเกิดจากกรดอินทรีย์และสารในกลุ่มแบคเทอริโอซิน โดยจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นหัวเชื้อนี้ช่วยให้แหนมมีความปลอดภัยต่อการบริโภคและเก็บไว้ได้นานขึ้น

3. ผลิตภัณฑ์ปลาหมัก (Fermented fish products)

ผลิตภัณฑ์ปลาหมักหลายชนิดในแถบเอเชียและเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ที่เกี่ยวข้องกับแลคติกแอสิดแบคทีเรีย ได้แก่ ปลาร้า ปลาจ่า ปลาสัม และส้มฟัก ซึ่งผลิตภัณฑ์กลุ่มนี้จัดอยู่ในชนิด fermented fish/salt/carbohydrate products และยังมีผลิตภัณฑ์ชนิด fish sauce เช่น น้ำปลา และกะปิ ซึ่งส่วนผสมหลักในการผลิตประกอบด้วย ปลา เกลือ แลคติกแอสิดแบคทีเรียที่พบในผลิตภัณฑ์ปลาหมัก ได้แก่ *Lb. farciminis, Lb. pentosus, Lb. plantarum, Lactobacillus* sp. และ *Leuconostoc* sp. (Tanasupawat, Okada and Komagata, 1998) จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักน้ำปลาเป็นกลุ่มที่ทนเกลือได้ดี และเจริญได้บ้างเล็กน้อยในระหว่างการหมัก จึงมีส่วนช่วยเสริมรสชาติของอาหารหมักได้เป็นอย่างดี

4. ผลิตภัณฑ์ผักดองเปรี้ยว (Fermented vegetable products)

การทำผักดอง เป็นการแปรรูปผักอีกวิธีหนึ่งที่นำผักสดที่มากเกินการบริโภคมาแปรรูป ทำให้เก็บไว้บริโภคได้นานและยังรวมไปถึงการผลิตผลไม้ดองด้วย การดองส่วนใหญ่เกิดจากกิจกรรมของแลคติก แอสิดแบคทีเรีย ผักที่นิยมนำมาดอง ได้แก่กะหล่ำปลี หอม แตงกวา หน่อไม้ ส่วนผลไม้ที่นิยมนำมาดอง ได้แก่ มะขาม มะม่วง มะกอก เป็นต้น ปัจจุบันการแปรรูปมีทั้งระดับครอบครัวและเป็นอุตสาหกรรมเพื่อการค้าในประเทศไทยผักดองในลักษณะนี้ซึ่งเป็นที่รู้จักกันทั่วไปได้แก่ ผักเสี้ยนดอง หน่อไม้ดอง หอมดอง ผักกาดดอง ซึ่งแลคติกแอสิดแบคทีเรียที่พบในผักเสี้ยนดองได้แก่ *Leu. mesenteroides, Lb. plantarum, Lb. brevis, Lo. buchineri, Lo. fermen*

5. ผลิตภัณฑ์จากถั่วและธัญพืช (Legume and cereal products)

ผลิตภัณฑ์จากพืชที่นอกเหนือจากผักและผลไม้แล้ว ถั่วและธัญพืชนับเป็นอาหารอีกกลุ่มหนึ่งที่มีการศึกษา โดยเป็นการหมักที่ใช้ถั่วและธัญพืชเป็นวัตถุดิบ (substrate/ เชื้อจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องมีหลายกลุ่มด้วยกัน ได้แก่ ยีสต์ รา และแบคทีเรีย ตัวอย่างได้แก่ ซีอิ้ว (soy sauce) ซึ่งวัตถุดิบในการหมักส่วนใหญ่ประกอบด้วยถั่วเหลืองและข้าวสาลี เชื้อจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักได้แก่ *Aspergillus oryzae, P. halophillus* และ *Lb. delbruecki* อาหารหมักชนิดนี่ใช้เป็นเครื่องปรุงรส ในอาหารหมักกลุ่มของ fermented bean เช่น hamanatto, tou shin และ tao-sin ซึ่งเป็นอาหารหมักของญี่ปุ่นใช้ถั่วเหลืองทั้งเมล็ดและแป้งข้าวสาลี เชื้อจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องได้แก่ *Aspergillus sp., Streptococcus sp.* และ *Pediococcus* sp. และ *Pediococcus cerevisiae* (Steinkraus, 1996)

2.3.6 ประโยชน์ของแลคติกแอสิดแบคทีเรียที่มีต่ออาหารหมัก

1. เพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ จากการศึกษาถึงข้อมูลในกลุ่มของธัญพืช พบว่าคุณค่าทางอาหารของผลิตภัณฑ์ที่เพิ่มขึ้นมาจากกิจกรรมการหมักที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการผลิตโดยเฉพาะการเพิ่มองค์ประกอบของกรดอะมิโนที่จำเป็นนอกจากนั้นคุณค่าทางด้านโปรตีนในอาหาร ที่มีส่วนของธัญพืชและถั่วยังเพิ่มขึ้นอีกด้วย องค์ประกอบของวิตามินบางชนิดยังพบได้ในระหว่างการหมัก เพราะมีจุลินทรีย์

บางชนิดสังเคราะห์วิตามินที่จำเป็นต่อการเจริญ จึงทำให้องค์ประกอบของวิตามินในอาหารที่ผ่านการหมักสูงกว่าอาหารที่ไม่ผ่านกระบวนการหมัก เช่น ในเทมเป้ จากข้าวสาลีพบว่าปริมาณของไนอะซิน ไรโบฟลาวิน และไทอะมิน ก่อนการหมักเท่ากับ 46.0, 0.4 และ 3.2 ไมโครกรัมต่อกรัม เพิ่มเป็น 135.0, 3.2 และ 3.2 ไมโครกรัมต่อกรัม ภายหลังการหมัก โดยส่วนใหญ่แล้วปริมาณของวิตามินมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น (Wang and Hesseltin, 1981)

2. การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์

บทบาทของแลคติกแอสิดแบคที่เรียในอาหารหมัก พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความปลอดภัยสูงขึ้นตลอดจนเก็บรักษาได้นานขึ้น โดยปัจจัยหลักที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งคือ การสร้างกรดอินทรีย์และ การลดลงของค่า pH กรดอินทรีย์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเมตะบอลิซึมของแบคทีเรียทั้งกรดแลคติกและกรดอะซิติก นอกจากนั้นยังมีสารประกอบอินทรีย์ชนิดอื่นๆ ที่เกิดขึ้นและมีผลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่น ดังตารางที่ 2.2 เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ แบคเทอริโอซิน ซึ่งเป็นสารอินทรีย์ประเภทโพลีเปปไทด์ โครงสร้างทางเคมีเกิดจากการเรียงตัวของกรดอะมิโนเป็นสายยาว มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของแบคที่เรียกลุ่มที่ใกล้เคียงกัน แบคเทอริโอซินส่วนใหญ่ผลิตจากแลคติกแอสิดแบคทีเรีย โดยแลคติกแอสิดแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์จะให้คุณสมบัติของแบคเทอริโอซินที่แตกต่างกันไป ทั้งคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรียชนิดอื่น น้ำหนักโมเลกุล โครงสร้างโมเลกุลสมบัติทางพันธุกรรมและคุณสมบัติทางชีวเคมี (Klaenhammer, 1988 ; Stiles and Hastings, 1991) ตัวอย่างสารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผลิตจากแลคติกแอสิดแบคที่เรียบางสายพันธุ์ (ตาราง 1) ดังนี้ (De Vuyst and Vandamme, 1994)

ตารางที่ 2.2 สารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผลิตจากแลคติกแอสิดแบคทีเรีย

สารยับยั้งจุลินทรีย์	**สายพันธุ์ของแลคติกแอสิดแบคทีเรียที่ผลิต**
Hydrogen peroxide	*Lactobacillus* sp., *Pediococcus* sp.
Nisin and diplococcin	*Streptococcus* sp.
Lactocin and lactobacillin	*Lactobaciltus plantarum*
Lactobrevin	*Lactobacillus brevis*
Bulgarican	*Lactobacillus bulgaricus*
Acidophilin, lactocidin	**Lactobacillus acidophillus*

3. แลคติกแอสิดแบคที่เรียมีกิจกรรมในการลดปริมาณคอเลสเทอรอลในกระแสเลือด

มีรายงานโดย Adam และ Mos (1995) ว่ากรบริโภคผลิตภัณฑ์นมหมักจะช่วยยับยั้งการเกิดคอเลสเทอรอลได้ นอกจากนั้นยังมีผลในการลดน้ำหนักได้ประมาณ 2.3 - 2.7 กิโลกรัม ภายใน 3 สัปดาห์ ซึ่งจะต้องบริโภคผลิตภัณฑ์พร้อมกับการออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอ นอกจากนั้นในโยเกิร์ตยังมีองค์ประกอบของสารที่ยับยั้งการสังเคราะห์คอเลสเทอรอล ดังนั้นการบริโภคผลิตภัณฑ์นมหมักที่มีเชื้อ *Lb. acidophilus*

จะช่วยให้คอเลสเทอรอลในเลือดลดลงกว่าการบริโภคนมที่ไม่มีเชื้อดังกล่าว (Marvin, 1981) การบริโภคคีเฟอร์ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์นมหมักประเภทหนึ่งมีผลดีต่อสุขภาพหลายประการ เพราะมีคุณค่าทางโภชนาการหลายประการ และยังส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย ช่วยให้ระบบการย่อยอาหารดีขึ้น โดยเฉพาะการย่อยแลคโตส (Hertzler and Clancy, 2003)

4. กิจกรรมในการป้องกันมะเร็ง

แลคติคแอสิดแบคทีเรียโดยเฉพาะ แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องกับมะเร็งในลำไส้ใหญ่ การศึกษาถึงการบริโภคอาหารประเภทเนื้อของเอนไซม์ β Jucuronidase, azoreductase และเอนไซม์ introreductase เพิ่มสูงขึ้นกว่าการบริโภคอาหารประเภทผัก และเอนไซม์เหล่านี้ยังมีความเกี่ยวข้องกับการเพิ่มความเปลี่ยนแปลงของ procarcinogen ไปเป็น carcinogen ในส่วนปลายของลำไส้ ผลของ Lb. acidophilus สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์เหล่านี้ได้ ทำให้โอกาสเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งของผู้บริโภคลดลง (Adam and Moss, 1995 ; Marvin, 1981)

5. ช่วยกระตุ้นภูมิคุ้มกัน มีการศึกษาที่พบว่าแลคติกแอสิดแบคทีเรียเป็นตัวกระตุ้นภูมิคุ้มกัน โดยมีความไวต่อ microphage และ lymcocyte ทำให้เพิ่มระดับของ immunoglobulin (IgA) และผลิต gamma interferon ซึ่งผลดังกล่าวทำให้มีความต้านทานต่อเชื้อก่อโรค และยังมีคุณสมบัติเป็น antitumor โดยเฉพาะ Lb. acidophilus (Adam and Moss, 1995)

2.4 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

LAB จากกระบวนการผลิตหลายชนิดซึ่งสามารถใช้ผลิตเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อแบคที่เรียกรดแลคติกได้ เช่น

2.4.1) น้ำเวย์

น้ำเวย์เป็นผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตเนยแข็งมีลักษณะเป็นของเหลวใส มี สีเขียวอมเหลื่องพบว่าในน้ำเวย์มีปริมาณออกเป็นสองชนิด ชนิดแรกคือ สวีทเวย์หรือชีสเวย์ (sveet whey or cheese whey) เป็นน้ำเวย์ที่เป็นผลพลอยได้จากการผลิตเนยแข็งเกาคา (gouda cheese) และเนยแข็งเชดด1 (cheddar cheese) อีกชนิดคือแอสิคเวย์หรือเคซีนเวย์ (acid whey or casein whey) เป็นน้ำเวย์ที่ได้จากการผลิตเคซีนได้จากการผลิตเนยแข็งคอตเทจ (cottage) น้ำเวย์มีส่วนประกอบสำคัญ คือ 93% น้ำ กรดแลคติกน้อยมากแต่มี 0.1% กรดอะซิติก และ 4.5-5.0% น้ำตาลแลคโตส ค่า pH 6.4-6.2

2.4.2) น้ำมะพร้าว

น้ำมะพร้าวมีลักษณะเป็นของเหลว ใส อยู่ภายในผลมะพร้าว จากงานวิจัยก่อนหน้านั้น Gonzalez (1941) ได้วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลในน้ำมะพร้าวอ่อน และน้ำมะพร้าวแก่ พบว่าในน้ำมะพร้าวอ่อนน้ำตาลส่วนใหญ่เป็น reducing sugar ปริมาณ2.51% (ฟ/w) ส่วนน้ำมะพร้าวแก่มีเพียง 1.45 % (W/) น้ำตาลส่วนใหญ่ที่พบในน้ำมะพร้าวแก่เป็น กลูโคส ในน้ำมะพร้าวอ่อนมีประมาณ 2.5 % (ฟ/v) แต่ในน้ำมะพร้าวแก่มีมากกว่าประมาณ 6 % (W/W) ซึ่ง Gonzalez. สรุปว่าเมื่อผลมะพร้าวอ่อนเจริญเป็นมะพร้าวแก่ ทั้งปริมาณ

และชนิดของน้ำตาลตลอดจนของแข็งทั้งหมดภายในน้ำมะพร้าวต่างมีการเปลี่ยนแปลงไปด้วย นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยเกี่ยวกับส่วนประกอบต่างๆ ภายในน้ำมะพร้าว โดย Vanderbelt (1945) วิเคราะห์น้ำมะพร้าวแก่ พบว่าในน้ำมะพร้าวแก่ 1 มิลลิลิตร ประกอบด้วยวิตามินบีรวม (B-complex) ดังนี้ คือ nicotinic acid 0.64 ไมโครกรัม, pantothenic acid 0.52 ไมโครกรัม, biotin 0.02 ไมโครกรัม, ribdflavin 0.01 ไมโครกรัม และ folic acid 0.003 ไมโครกรัม นอกจากนี้ Child (1964) พบว่าในน้ำมะพร้าวแก่ 10 มิลลิลิตร มีกรดแอสคอร์บิก (วิตามินซี) ประมาณ 0.7-3.7 มิลลิกรัม และยังประกอบไปด้วย สารเคมีซึ่งเป็นสารจำพวกโพแทสเซี่ยมเป็นส่วนใหญ่ ข้อมูลจากงานวิจัยทั้งสามนี้เป็น ไปในทิศทางเดียวกัน แต่ตัวเลขปริมาณส่วนประกอบต่างๆ มีความแตกต่างกันบ้าง น่าจะเกิดจากความแตกต่างกันในด้านของพันธุ์มะพร้าว และแหล่งที่ปลูก

2.5 โพรไบโอติก (Probiotics)

2.5.1 ชนิดของโพรไบโอติกส์

Probiotic หรือ โพรไบโอติก หมายถึง แบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่ของมนุษย์ ซึ่งเป็นแบคทีเรีย ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย ได้แก่ แบคทีเรียที่สร้างกรดแล็กทิก (lactic acid bacteria, LAB) เช่น Lactobacillus และ Bifidobacterium แบคทีเรียกลุ่มนี้พบในผลิตภัณฑ์อาหารหมัก (fermentation) เช่น นมเปรี้ยว แหนม กิมจิ จะช่วย ยบยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค (pathogen) ช่วยย่อยอาหารที่มนุษย์ย่อยไม่ได้ หรือย่อยได้ไม่หมด ช่วยการดูดซึมของสารอาหาร คอเรสเตอรอล และสร้างวิตามินที่เป็นประโยชน์กับร่างกาย อาหารที่แบคทีเรีย กลุ่มโพรไบโอติกนำไปใช้ได้ เรียกว่า พรีไบโอติก (prebiotic) เช่น ใยอาหาร (dietary fiber) ประเภท soluble fiber เช่น เพกทิน กัม และโอลิโกแซ็กคาไรด์ (oligosaccharide) ได้แก่ fructo-oligosaccharide

2.5.2 ประโยชน์ของโพรไบโอติก (probiotic)

แบคทีเรียโพรไบโอติก (probiotic) ผลิตสารที่มีประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์เนื่องจาก

- กรดแล็กทิก (lactic acid) ที่จุลินทรีย์สร้างจะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค (pathogen) เช่น Clostridium perfringens, Salmonella เป็นต้น

- ช่วยลดระดับของคอเลสเตอรอล (cholesterol) ฟอสฟอลิพิด (phospolipid) และไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ในเลือด โดย Lactobacillus acidophilus ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ กลุ่มบิฟิโดแบคทีเรียที่อยู่ในลำไส้จะช่วยย่อยสลายคอเลสเตอรอล (choloesterol) และยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอล ผ่านผนังลำไส้

- ช่วยในการทำงานของลำไส้ ลดอาการท้องผูกได้ เนื่องจากกรดอินทรีย์ที่จุลินทรีย์ บิฟิโดแบคทีเรีย (bifidobacteria) ผลิตขึ้น จะกระตุ้นการบีบตัวของลำไส้ และช่วยเพิ่มความชื้นของอุจจาระ ทำให้สามารถขับถ่ายได้สะดวกมากขึ้น

- ช่วยเพิ่มการดูดซึมแคลเซียมในระบบย่อยอาหาร

- สามารถผลิตวิตามินต่างๆ เช่น Vitamin B1, Vitamin B2, vitamin B6, Vitamin B12, biotin (vitamin H) nicotinic acid และ folic acid ได้

2.5.3 การเตรียมอาหารเลี้ยงโพรไบโอติกส์ (Probiotics) กับผลไม้

โพรไบโอติกส์ (Probiotics) ที่มาจากการหมักคอมบูชาที่มาจากชาเป็นกระบวนการที่มุ่งเน้นการสร้างแบคทีเรียและจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์สำหรับระบบย่อยอาหารและสุขภาพของร่างกายของเรา ซึ่งเริ่มต้นมาอาศัยโพรไบโอติกส์ที่เกิดจากการหมักคอมบูชาที่เลี้ยงด้วยชาดำ หากเลือกคอมบูชาที่ต่อยอดจากน้ำผลไม้จำเป็นต้องมีการล้างและหมักให้เหมาะสม ให้มีคุณภาพสูง เพื่อให้มั่นใจในความสะอาดและมีคุณภาพ แล้วนำหัวเชื้อที่เป็นวุ้น Scopy มาทำการล้างคอมบูชาให้สะอาดด้วยน้ำกลั่นสเตอร์ไรด์ แล้วตัดแบ่งออกเป็นชิ้นเล็ก ๆ ขนาด 1-2 เซนติเมตร จำนวน 200-300 กรัมใส่ในภาชนะแก้วโหลขนาด 5 ลิตร ที่มีความสะอาด ทนความร้อน มีฝาปิด แล้วนำน้ำคอมบูชาและหัวเชื้อ Scopy ที่มีเชื้อจุลินทรีย์โดพรไบโอติกส์ที่ผ่านการหมักน้ำผลไม้และชามาใส่ในปริมาณร้อยละ 50 ในการหมักนี้หากเปลี่ยนชนิดของวัตถุดิบ เช่น ใช้กระเทียม จำเป็นมีการเติมเชื้อยีสต์ *Saccharomyces เ*พื่อให้คอมบูชาเจริญเติบโตให้แข็งแรงมากขึ้น โดยการเพิ่มสภาวะให้เหมาะสมกับการเจริญของเชื้อ Probiotics ทั้งนี้กลุ่มเชื้อจุลินทรีย์จำเป็นต้องปรับตัวเองให้เหมาะสมกับสภาวะที่มีกระเทียมเพิ่มจากชาดำ หรือผลไม้ด้วย

โพรไบโอติกส์จากโยเกิร์ต

โยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์ที่ทำจากนมโดยหมักด้วยแบคทีเรีย *Streptococcos thermophilus* และ *Lactobacillus delbruecki* subsp. bulsaricus ซึ่งจะเปลี่ยนน้ำตาลแลกโทสที่อยู่ในนมเป็นกรดแลคติก โยเกิร์ตมีคุณค่าทางโภชนาการสูง เป็นอาหารสุขภาพซึ่งมีประโยชน์ต่อร่างกายเป็นอย่างมาก เช่น ช่วยในการทำงานของระบบกรย่อยอาหรดกรดในกระเพาะอาหาร มีผลทำให้ระดับคอเลสเตอรอลในเลือดลดลงอกจากนี้โยเกิร์ตยังมีวิตามินบีอยู่มากทำให้มีภูมิคุ้มกันโรคและช่วยในการสร้างเม็ดเลือดอีกด้วย โดยทั่วไปแล้วโยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์ที่ไม่มีการเติมแต่งกลิ่นรส แต่นิยมให้มีกลิ่นรสตามธรรมชาติ ซึ่งอาจทำให้ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตไม่เป็นที่แพร่หลาย ทั้งนี้รสชาติของโยเกิร์ตมีความสำคัญต่อการยอมรับของผู้บริโภคเป็นอย่างมาก ดังนั้นจึงมีการพัฒนาผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตให้มีความหลากหลายมากขึ้นโดยปรุงแต่งรสชาติด้วยการเดิมผักและผลไม้ชนิดต่างๆ ที่มีกลิ่นและมีรสหวาน เช่น มะเขือเทศ สับปะรด ลำไย กล้วยหอม และสะละ เป็นต้น เพื่อเพิ่มรสชาติรวมไปถึงการทำให้เกิดกลิ่นที่ดีแโยเกิร์ต ทำให้น่ารับประทาน และเป็นที่ดึงดูดใจของผู้ซื้อด้วย (ปิยนุสร์ น้อยด้วง และปัทมา คล้ายจันทร์, 2548 ศุภลักษณ์ สารพันธ์ และสุมาพร เพาะผล, 2549) นอกจากนี้งานวิจัยในต่างประทศได้มีกรนำผักและผลไม้ ได้แก่ แครอท กทอง และ สตรอเบอรี่ มาเสริมกลิ่นรสในโยเกิร์ตและสามารถยับยั้งปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดขันได้ด้วย (Mehriz และคณะ, 2013)

2.6 พรีไบโอติก (prebiotic)

2.6.1 ชนิดของพรีไบโอติก (prepiotic) คือ อาหารซึ่งร่างกายมนุษย์ไม่สามารถย่อย และไม่ถูกดูดซึมได้ในระบบทางเดินอาหาร ทั้งกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก แต่จะถูกย่อยด้วยแบคทีเรียบริเวณในลำไส้ใหญ่ โดยจะกระตุ้นการทำงานและส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โปรไบโอติก (probiotic) มีประโยชน์ต่อสุขภาพ จัดเป็นอาหารในกลุ่ม functional food

2.6.2 สารอาหารที่จัดเป็นพรีไบโอติก

1) น้ำตาลแอลกฮอล์ (sugar alcohol) หรือ polyols ได้แก่ maltitol, sorbitol, isomalt, xylitol เป็นต้น เป็นสารให้ความหวาน (sweetener) โดยมีความหวาน (relative sweetness) น้อยกว่าน้ำตาลทราย (sucrose) ประมาณ 3 ใน 4 หรือครึ่งหนึ่ง และยังดูดซับได้ช้าในลำไส้เล็กเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำตาล มีค่า glycemic index ต่ำ จึงทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ

2) โอลิโกแซ็กคาไรด์ (oligosaccharide) เป็นคาร์โบไฮเดรตสายสั้น ประกอบด้วยน้ำตาลตั้งแต่ 3 ถึง 10 หน่วย ได้แก่ raffinose, stachyose, fructo-oligosaccharide, lactulose, galacto-oligosaccharide (GOS), soybean oligosaccharide, lactosucrose, isomalto-oligosaccharide, gluco-oligosaccharides, xylo-oligosaccharides และ palatinose Resistant starch เป็น polysaccharide ซึ่งจะไม่ถูกดูดซับในลำไส้เล็ก ประกอบด้วย amylose ประมาณร้อยละ 20-25

3) พอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ใช่สตาร์ช (Non-starch polysaccharides, NSP) เป็นสารที่ได้รับจากพืช เช่น pectin, cellulose, hemicellulose, guar gum, gum arabic, beta glucan, xylan

4) อินูลิน (inulin) เป็นสาร polysaccharides ที่พืชเก็บสะสมไว้เป็นอาหาร พบในพืชมากกว่า 36,000 ชนิด เช่น Chicory root เห็ด หัวหอม หัวกระเทียม กล้วย เป็นต้น Mucin glycoproteins ถูกสร้างโดย goblet cells ที่อยู่ในเยื่อบุผิวลำไส้และเป็นสารตั้งต้นหลักสำหรับการหมักในลำไส้

5) Related mucopolysaccharides ตัวอย่างเช่น chondroitin sulphate, heparin, pancreatic และ bacterial secretions ซึ่งสารเหล่านี้เป็นสารที่มีไว้สำหรับจุลินทรีย์ในลำไส้

2.6.3 ประโยชน์ของพรีไบโอติกส์ต่อสุขภาพ

สารในกลุ่มพรีไบโอติก จัดเป็นฟังก์ชันนาลฟู้ด (functional food) เพราะมีประโยชน์ต่อสุขภาพ โดยจะกระตุ้นการทำงานและส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โปรไบโอติก (probiotic) เช่น แบคทีเรียในกลุ่ม lactic acid bacteria ได้แก่ แล็กโทบาซิลลัส (lactobacillus) และไบฟิโดแบคทีเรีย (bifidobacteria) พรีไบโอติกและโปรไบโอติกทำงานร่วมกัน จะรวมเรียกว่า ซินไบโอติก (synbiotics) จะเป็นผลดีต่อร่างกายมากช่วยให้ผู้บริโภคมีสุขภาพดีกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์ภายในทางเดินอาหารให้เหมาะสม ทำให้โปรไบโอติกมีการย่อยสลายในระบบนิเวศน์จุลินทรีย์ที่มีการแข่งขันกัน ผลที่ตามมา คือ กรดแล็กทิก (lactic acid) ที่จุลินทรีย์สร้างจะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค (pathogen) และสร้างสารพิษ เช่น

Clostridium perfringens, Salmonella และช่วยป้องกันและลดอาการของโรคติดเชื้อ (infection) ในทางเดินอาหารช่วยลดระดับของคอเลสเตอรอล (cholesterol) ฟอสฟอลิพิด (phospholipid) และไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) ในเลือด โดย *Lactobacillus acidophilus* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์กลุ่มบิฟิโดแบคทีเรียที่อยู่ในลำไส้ที่ช่วยย่อยสลายคอเลสเตอรอล และยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอลผ่านผนังลำไส้ ช่วยการดูดซึมอาหารในลำไส้ให้มีประสิทธิภาพมากขึ้น ลดอาการท้องผูกได้ เนื่องจากกรดอินทรีย์ที่จุลินทรีย์ บิฟิโดแบคทีเรีย (bifidobacteria) ผลิตขึ้น จะกระตุ้นการบีบตัวของลำไส้ และช่วยเพิ่มความชื้นของอุจจาระ ทำให้สามารถขับถ่ายได้ดีขึ้น ช่วยเพิ่มการดูดซึมแคลเซียมในระบบย่อยอาหาร สามารถผลิตวิตามิน vitamin B1, vitamin B2, vitamin B6, vitamin B12, nicotinic acid และ folic acid ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการรักษาภาวะภูมิแพ้ เสริมสร้างการพัฒนาระบบภูมิคุ้มกันได้

2.6.4 แหล่งพรีไบโอติกที่พบในอาหาร

พรีไบโอติก (prebiotic) พบในอาหารหลายชนิด โดยเฉพาะในผัก เช่น รากชิคอรี หัวอาร์ทิโชก กระเทียม หอมหัวใหญ่ หน่อไม้ฝรั่ง ผลไม้ เช่น กล้วย แอปเปิล และเมล็ดธัญพืชบางชนิด

การใช้พรีไบโอติกในอาหาร มีการผสมสารที่เป็นพรีไบโอติกลงในอาหาร ได้แก่ ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ น้ำนม อาหารทารก โยเกิร์ต พาสต้า ขนมอบ ซอส อาหารเช้าธัญพืช (breakfast cereal) ซุป ขนมขบเคี้ยวแบบต่างๆ เป็นต้น

2.7 กระเทียม

2.7.1 กระเทียม (Allium sativum) เป็นพืชสมุนไพรที่รู้จักกันดี ส่วนใหญ่มีกลิ่นและกลิ่นเฉพาะตัว บางชนิดใช้เป็นไม้ประดับหรือเครื่องเทศ มักถูกใช้ในหลายรูปแบบ (เช่น น้ำมัน ผง ฯลฯ) ซึ่งพบได้ในอาหารสำเร็จรูป ซุป และขนมปังจำนวนมากที่ใช้เป็นอาหารประจำวัน เป็นยาสมุนไพรประเภทยาแผนโบราณในหลายประเทศ ในภูมิภาคเอเชีย นอกจากนั้นสายพันธุ์ของกระเทียมชนิดกระเทียมจีน (*A. tuberosum*) เป็นส่วนประกอบสำคัญในอาหารเอเชีย สารประกอบส่วนใหญ่ที่ได้จากสารสกัดกระเทียมสามารถนำไปใช้ประโยชน์ต่าง ๆ ในทางการแพทย์ และทางอาหาร ใช้เป็นสมุนไพรรักษาโรคและโรคต่าง ๆ ในรูปน้ำกระเทียมสกัดและน้ำมันหอมระเหยกระเทียมได้ถูกให้ความสนใจในการทำเป็นนวัตกรรมใหม่ในการรักษาโรค มีการใช้กระเทียมเพื่อป้องกันการติดเชื้อที่บาดแผลและการเน่าเสียของอาหาร สารประกอบออร์กาโนซัลเฟอร์จากสารสกัดจากน้ำกระเทียมที่ละลายในน้ำมันและน้ำ มีหน้าที่ในกลิ่นและรสทั่วไปของกระเทียม มีฤทธิ์การยับยั้งในแบคทีเรียและเชื้อราหลายชนิด ในด้านการเป็นยาต้านจุลชีพซึ่งมีคุณสมบัติฤทธิ์ในการยับยั้งแบบกว้าง สามารถยังยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งแกรมบวกและแกรมลบ และเชื้อราหลายชนิดด้วย

2.7.2 องค์ประกอบทางเคมีของกระเทียม

น้ำมันหอมระเหย ประมาณ 0.1-0.4% มีองค์ประกอบหลักคือ allicin ajoene alliin allyldisulfide diallyldisulfide ซึ่งเป็นสารประกอบกลุ่มกลุ่ม organosulfur สารในกลุ่มนี้ที่พบในกระเทียม เช่น สารกลุ่ม S-(+)-alkyl-L-cysteine sulfoxides , alliin 1% , methiin 0.2% , isoalliin 0.06% และ cycloalliin 0.1% และสารที่ไม่ระเหยคือ สารกลุ่ม gamma-L-glutamyl-S-alkyl-L-cysteines , gamma-glutamyl-S-trans-1-propenylcysteine 0.6% และ gamma-glutamyl-S-allylcysteine รวมประมาณ 82% ของสารกลุ่ม organosulpur ทั้งหมด ส่วนสารกลุ่ม thiosulfinates (allicin) สารกลุ่ม ajoenes (E-ajoene และ Z-ajoene) สารกลุ่ม vinyldithiins (2-vinyl-(4H)-1,3-dithiin , 3-vinyl-(4H)-1,2-dithiin) และสารกลุ่ม sulfides (diallyl disulfide , diallyl trisulfide) ซึ่งเป็นสารที่ไม่ได้พบในธรรมชาติแต่เกิดจากการสลายตัวของสาร allin ซึ่งถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ alliinase หลังจากนั้นจึงเกิดการรวมตัวกันใหม่ได้สาร allicin ซึ่งเป็นสารที่ไม่เสถียร สลายตัวได้สารกลุ่ม sulfides อื่นๆ ดังนั้นกระเทียมที่ผ่านกระบวนการสกัด การกลั่นน้ำมัน หรือความร้อน สารประกอบส่วนใหญ่ที่พบเป็นสารกลุ่ม diallyl sulfide , diallyl disulfide , diallyl trisulfide และ diallyl tetrasulfide ส่วนกระเทียมที่ผ่านกระบวนการหมักในน้ำมัน สารประกอบที่พบส่วนใหญ่เป็น 2-vinyl-(4H)-1,3-dithiin , 3-vinyl-(4H)1,2-dithiin , E-ajoene และ Z-ajoene ปริมาณของ alliin ที่พบในกระเทียมสด ประมาณ 0.25-1.15% สารกลุ่มอื่นๆ ที่พบ เช่น สารเมือก และ albumin, scordinins, saponins 0.07% , beta-sitosterol 0.0015%, steroids, triterpenoids และ flavonoids

สารเคมีที่เป็นองค์ประกอบหลักเของกระเทียมจะมีกำมะถันที่เสถียรและปลอดภัย สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ สารที่ละลาย น้ำได้แก่ S-allylcysteine (SAC) และ Sallylmercaptocysteine (SAMC) และสารที่ ละลายในไขมัน ซึ่งจัดว่าองค์ประกอบทางเคมีที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้แก่ diallyl sulfide (DAS), triallyl sulfide, diallyl disulfide (DADS), diallyl polysulfides SAC และ SAMC ถูกเป็นสารหลักในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ [5] หลายอย่าง เช่น อัลไลอิน อัลลิซิน อัลลิอิเนส เอส-อัลลิลซิสเตอีน และสารประกอบออร์กาโนซัลเฟอร์ในกลุ่มสารพวกโพลิซัลไฟด์ (polysulfide) เช่น ไดอัลลิลซัลไฟด์ (diallyl sulfide), ไดอัลลิลไดซัลไฟด์ (diallyl disulfide), ไดอัลลิลไตรซัลไฟด์ (diallyl trisulfide), ไดทีอิน (dithiins) และ อโจอิน (ajoene)

ในกระเทียมสด แห้ง หรือสารสกัดจากกระเทียม มีองค์ประกอบของสารเคมีหลากหลายที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ และมีคุณสมบัติในการส่งเสริมสุขภาพ แม้ว่ากระเทียมสดเป็นที่นิยมแต่มีหลายคนหลีกเลี่ยงความสด เพราะกระเทียมสดมีกลิ่นฉุนจัด เนื่องจากมีเอนไซม์อัลลิเนส (allinase) เป็นองค์ประกอบด้วยการบดหรือสับกระเทียมเป็นการกระตุ้นให้เอนไซม์ดังกล่าวทำงาน เปลี่ยน S-allylcysteine (allin) ที่เป็นสารตั้งต้นของสารประกอบกำมะถันทำหน้าที่มีกลิ่น ให้กลายเป็นสารเคมีต่าง ๆ

2.7.3 สรรพคุณกระเทียม

ตำรายาไทยใช้หัวกระเทียมเป็นยาขับลม แก้ลมจุกเสียด แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ แก้ธาตุพิการ อาหารไม่ย่อย ขับเสมหะ ขับเหงื่อ ลดไขมัน รักษาปอด แก้ปอดพิการ แก้อุจจาระเป็นมูกเลือด บำรุงธาตุ กระจายโลหิต ขับปัสสาวะ แก้บวมพุพอง ขับพยาธิ แก้ตาปลา แก้ตาแดง น้ำตาไหล ตาฟาง รักษาโรคลักปิดลักเปิด รักษามะเร็งคุด รักษาริดสีดวง แก้ไอ คุมกำเนิด แก้สะอึก บำบัดโรคในอก แก้พรรดึก รักษาฟันเป็นรำมะนาด แก้หูอื้อ แก้อัมพาต ลมเข้าข้อ แก้อาการชักกระตุกของเด็ก พอกหัวเหน่าแก้ขัดเบา รักษาวัณโรค แก้โรคประสาท แก้หืด แก้ปวดมวนในท้อง บำรุงสุขภาพทางกามคุณ ขับโลหิตระดู บำรุงเส้นประสาท แก้ไข้ แก้ฟกช้ำ แก้ปวดกระบอกตา แก้โรคในปาก แก้หวัดคัดจมูก แก้ไข้เพื่อเสมหะ ทำให้ผมเงางาม บำรุงเส้นผมให้ดกดำ ใช้ภายนอก รักษาแผลเรื้อรัง รักษากลากเกลื้อน แก้โรคผิวหนัง ทาภายนอกบรรเทาอาการปวดบวมตามข้อเพราะเป็นยาพอกให้ร้อน ใช้พอกตรงที่ถูกแมลง ตะขาบ แมงป่องต่อยเป็นส่วนประกอบในตำรับยาเหลืองปิดสมุทร(แก้ท้องเสีย), ยาประสะไพล(ขับน้ำคาวปลา ในสตรีหลังคลอด), ยาธาตุบรรจบ (แก้ท้องอืดท้องเฟ้อ ท้องเสีย ใช้กระเทียม 3 กลีบ ทุบชงน้ำร้อน ใช้เป็นน้ำกระสายยา สำหรับยาผง)

• ท้องเสียเนื่องจากกินอาหารทะเล : ใช้กระเทียมต้มน้ำกิน

• เลือดกำเดาออกไม่หยุด : กระเทียม 1 หัว แกะเปลือกออก ตำให้ละเอียด ทำเป็นแผ่นกลมใหญ่และหนาขนาด เหรียญหนึ่งบาท ถ้าเลือดกำเดาออกทางรูจมูกซ้าย ให้แปะบริเวณกลางฝ่าเท้าซ้าย ถ้าเลือดกำเดาออกทางรูจมูกขวา ให้แปะบริเวณกลางฝ่าเท้าขวา ถ้าออกทั้ง 2 รู ก็ให้แปะทั้งสองข้าง

• ตะขาบต่อย : ใช้กระเทียมหัวโทน ตำให้แหลกพอกบริเวณที่ถูกกัด

• กลาก, เกลื้อน : ใช้ไม้ไผ่บางๆ หรือมีดที่สะอาดขูดผิวหนังบริเวณที่เป็น แล้วใช้กระเทียมทา

• ต้านอนุมูลอิสระ สารสกัดกระเทียมและสารประกอบใน กลุ่มออร์แกโนซัลเฟอร์ สามารถกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ที่ช่วยต้านอนุมูล อิสระในตับ เช่น กลูทาไธโอนเปอร์-ออกซิเดส (Glutathione Peroxidase) คะตาเลส (Catalase)ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเตส (Superoxide Dismutase) ซึ่งผลจากการทดลองในสัตว์พบว่า กระเทียมสามารถลดอาการข้างเคียงของยาไซโคลสปอริน ที่มีฤทธิ์กดภูมิคุ้มกันของผู้ปลูกถ่ายอวัยวะ และทำให้เกิดพิษต่อไตและตับ

• ป้องกันไข้หวัด กระเทียมช่วยป้องกันการเกิดไข้หวัดและ ช่วยลดอาการของไข้หวัด จากการศึกษาเปรียบเทียบพบว่า ผู้รับประทานกระเทียมที่มี สารอัลลิซิน 180 มิลลิกรัมต่อวันเป็นเวลานาน 12 สัปดาห์ จะมีจำนวนวันที่เป็นไข้ น้อยกว่าผู้ที่ไม่ได้รับประทานกระเทียม แต่จำนวนวันที่หายขาดจากอาการไข้หวัดนั้น ไม่แตกต่างกัน

• การเทียมกับโรคเบาหวาน กระเทียมรูปแบบต่างๆ เช่น น้ำมันกระเทียม สกัดผงแห้ง และกระเทียมสดต่างก็มีผลต่อการลดระดับน้ำตาลกลูโคส ในเลือด เนื่องจากสาร เอส-อัลลิล-แอล-ซีสเทอีน ในกระเทียมจะช่วย

กระตุ้นการหลั่ง ฮอร์โมนอินซูลินจากตับอ่อนมากขึ้น ซึ่งจะช่วยเพิ่มความสามารถในการควบคุม ระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดได้ดียิ่งขึ้น

• แก้อาการอ่อนล้า อ่อนเพลีย กระเทียมกระตุ้นให้ระบบไหล เวียนโลหิตเพิ่มการขนส่งสารอาหารสู่อวัยวะต่างๆ ที่ทำงานหนักและอ่อนล้า โดย เฉพาะสมอง ปอด กล้ามเนื้อ และหัวใจ โดยกระเทียมช่วยกระตุ้นให้กล้ามเนื้อขจัดของ เสียที่เกิดขึ้นจากใช้งานหนักเป็นเวลานาน ช่วยทำให้กล้ามเนื้อคลายตัว ทำให้ร่างกาย รู้สึกผ่อนคลาย ช่วยฟื้นฟูสภาพร่างกายเมื่อเกิดอาการอ่อนล้า

• ลดความดันโลหิต จากการรวบรวมงายวิจัยพบว่า เมื่อผู้ ป่วยโรคความดันโลหิตสูงรับประทานกระเทียมทั้งในรูปสารสกัดผงแห้ง และน้ำมัน กระเทียม ขนาดตั้งแต่ 600-2,400 มิลลิกรัมต่อวัน ต่อเนื่องอย่างน้อย 12 สัปดาห์ พบ ว่ามีค่าความดันซิสโตลิก (Systolic Blood Pressure) ลดลงเฉลี่ย 8.6 มิลลิเมตร- ปรอท และค่าความดันไดแอสโตลิก (Diatolic Blood Pressure) ลดลงเฉลี่ย 7.3 มิลลิเมตรปรอท เมื่อเทียบกับผู้เป็นโรคความดันโลหิตสูง ที่ไม่ได้รับประทาน กระเทียม

• ลดระดับไขมันในเลือด จากการวิจัยพบว่า การรับประทานกระเทียมติดต่อกันอย่างน้อย 4 สัปดาห์ จะช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลและ ไตรกลีเซอไรด์ในเลือด อย่างไรก็ตาม เพื่อลดระดับคอเลสเตอรอลได้อย่างมีประสิทธิภาพจำเป็นต้องควบคุมอาหารและการออกกำลังกายร่วมกันเป็นประจำ

• ป้องกันการเกาะกลุ่มกันของเกล็ดเลือด เอนไซม์ไซโคล ออกซีจีเนส (Cyclooxygenase) ในกระเทียม ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทใน การสังคราะห์พรอสตาแกลนดิน (Prostaglandin) จะทำหน้าที่กระตุ้นให้เกิดการเกาะกลุ่มกันของเกล็ดเลือด

• กระเทียมกับโฮโมซีสเทอีน หากร่างกายมีระดับโฮโมซี สเทอีน (Homocysteine) ในเลือดที่สูงเกินไปจะเป็นสาเหตุทำให้หลอดเลือดได้รับ ความเสียหายและเกิดก้อนเลือดอุดตันในหลอดเลือด เพิ่มโอกาสเสี่ยงในการเกิดภาวะ หลอดเลือดในสมองแตก (Brain Stroke) ทั้งนี้การรับประทานกระเทียมจะช่วยลด ระดับโฮโมซีสเทอีนในเลือดได้ในภาวะการขาดโฟลิก หากรับประทานกระเทียมเป็น ประจำช่วยชะลอการเกิดภาวะแคลเซียมสะสมในหลอดเลือดหัวใจ ซึ่งภาวะนี้เป็นปัจจัย หนึ่งที่ทำให้หลอดเลือดแดงหัวใจแข็ง

รูปแบบ/วิธีการใช้ ปริมาณการรับประทานกระเทียมที่เหมาะสมต่อวัน ผู้ใหญ่ ควรรับประทานกระเทียมสด 4 กรัมต่อวัน หากเป็นผงกระเทียมแห้งหรือแบบสกัด ควรรับประทานประมาณ 300 มิลลิกรัม เป็นเวลา 2-3 ครั้งต่อวัน

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

กระเทียมจะถูกใช้มาตั้งแต่สมัยโบราณด้วยวัตถุประสงค์ในการรักษาโรค เมื่อไม่นานมานี้ได้พบ organosulfur compounds (OSC) ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่ออกฤทธิ์จากกระเทียม ที่มีหลักที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ทำให้กระเทียมมีกลิ่นฉุน (Omar & Al-Wabel, 2010) สารประกอบ OSC มีกำมะถันมากกว่าสามสิบชนิด ที่มีกลุ่มเคมีหลักสองชนิด ได้แก่ แอล-ซิสเทอีนซัลฟอกไซด์และเปปไทด์ γ-glutamyl-l-cysteine (ยามา

กูจิ & คุมะไก, 2020) และ Alliin (S-allyl-l-cysteine sulfoxide) ซึ่งเป็นสารประกอบกำมะถันที่มีมากที่สุดในกระเทียมสดและแห้ง (10–30 มก./กรัม) (Lawson, 1998) Alliin สามารถเปลี่ยนเป็น allicin (diallyl thiosulfinate) ได้อย่างรวดเร็วโดยเอนไซม์ alliinase เมื่อผ่านการสับ บด บด หรือเคี้ยวกระเทียมสด (รูปที่ 1B) (Borlinghaus et al., 2014; Lawson, 1998) สาร Alliin ไม่เสถียรมากและสามารถย่อยสลายในหลอดทดลองไปเป็น OSC อื่น ๆ รวมถึง diallyl sulfide (DAS), diallyl disulfide (garlicin หรือ DADS), diallyl trisulfide (allitridin หรือ DATS), andajoene และ vinyl-dithiins (Amagase) , 2006; Harris และคณะ, 2001) Allicin สามารถทำปฏิกิริยากับ thiols ในระดับเซลล์ เช่น glutathione และ l-cysteine in-vivo และสร้าง S-allyl-mercapto-glutathione (SAMG) และ S-allyl-mercaptocysteine (SAMC) ตามลำดับ (El-Saber Batiha et คณะ, 2020; Trio et al., 2014). สารประกอบเหล่านี้ทำให้เกิดเปลี่ยนแปลงทำลายโปรตีนของเชื้อโรค (Borlinghaus et al., 2014) ในทางกลับกัน **γ**-glutamyl-l-cysteine เปปไทด์และอนุพันธ์ของไดเปปไทด์เช่น **γ**-glutamyl-S-allyl-l-cysteine, **γ**-glutamyl-methyl-cysteine และ **γ**-glutamyl-propylcysteine เป็นสารประกอบที่ละลายน้ำได้และคงตัวในขณะที่กระเทียมบด (รูปที่ 1A) (Higdon, 2016). Harries et al. พบว่าวิธีการสกัดที่แตกต่างกันสามารถให้ OSC ที่เป็นส่วนประกอบหลักในปริมาณที่แตกต่างกัน (Harris et al., 2001) ทั้งหมดสามารถแสดงให้เห็นจากงานวิจัย RazinaRou et al., (2020)

ในเร็วๆนี้มีงานวิจัยจากภาควิชา Pathology & Laboratory Medicine มหาวิทยาลัยบริติส โคลัมเบีย ประเทศแคนาดา พบว่า ไอระเหยของน้ำมันยูคาลิปตัส (Eucalyptus globulus) มีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดเชื้อไวรัสไข้หวัดใหญ่ (Influenza virus) หลังจากสัมผัสเพียง 10 นาที โดยออกฤทธิ์ได้ดีกว่าน้ำมันหอมระเหยอื่นๆ เช่น น้ำมันเจอร์เรเนี่ยม (Geranium), น้ำมันอบเชยเทศ (Cinnamonum zeylanicum) และน้ำมันตะไคร้ (Cymbopogon flexuosus) นักวิจัยสรุปว่าไอระเหยของน้ำมันยูคาลิปตัสมีประโยชน์มากในการกำจัดเชื้อไวรัสไข้ใหญ่ นอกจากนี้ยังพบว่าไอระเหย (Vapor phase) ของน้ำมันยูคาลิปตัส ออกฤทธิ์กำจัดเชื้อก่อโรคต่างๆ ได้ดีกว่าในรูปแบบของน้ำมัน (Liquid phase) อาจเป็นผลจากการยับยั้งโปรตีนของเชื้อไวรัสที่ชื่อ HA (Hemagglutinin) และ NA (Neuraminidase) จึงทำให้เชื้อไวรัสตายในที่สุด และด้วยผลการทดสอบฤทธิ์กำจัดเชื้อไวรัสของ Activ Polar โดยศูนย์ชันสูตรโรค จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พบว่า น้ำมันยูคาลิปตัสนี้มีประสิทธิภาพสูงในการออกฤทธิ์กำจัดเชื้อไวรัส Influenza Virus (H1N1) ได้ทันทีภายในเวลา 1 นาที นอกจากนี้ยังออกฤทธิ์กำจัดเชื้อแบคทีเรียก่อโรคอื่น ๆ เช่น *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* และ *Proteus mirabilis* ทันทีภายใน 1 นาที เช่นกัน สารสำคัญของน้ำมันยูคาลิปตัสธรรมชาติ คือ 1,8-Cineole ที่ออกฤทธิ์บรรเทาอาการแพ้ (Allergic symptoms) ช่วยลดการอักเสบ(Anti-inflammatory) ช่วยขยายหลอดลม และโดยเฉพาะอย่างยิ่งในช่วงที่อาการภูมิแพ้กำเริบหรือติดเชื้อในทางเดินหายใจส่วนบน ส่วนน้ำมันทีทรีจากธรรมชาติ มีสารสำคัญคือ 4-Terpineol ที่ออกฤทธิ์แอนตี้ฮีสตามีน (antihistamine) ช่วย

บรรเทาอาการแพ้ และลดการอักเสบ (Anti-inflammatory) ได้ใกล้เคียงกันกับน้ำมันยูคาลิปตัส ที่สำคัญยังช่วยกระตุ้นการโบกพัดของขนโบกในทางเดินหายใจ จึงช่วยบรรเทาอาการภูมิแพ้ ช่วยลดอาการคัดจมูกและช่วยให้หายใจโล่งได้ นอกจากนี้ยังพอง ได้ผลดีลดเมือกเหนียวในทางเดินหายใจที่อาจเป็นสาเหตุของการกำเริบของหอบหืด ถุงลมโป่งพอง รวมถึงปัญหาทางเดินหายใจทั้งแบบที่มีการติดเชื้อและไม่ติดเชื้อ เช่น หลอดลมอักเสบ (bronchitis)

เดชา ศิริภัทร (2564) ได้เสนอนำสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด คือ ขมิ้นชัน หอมแดง กระเทียม มาปรุงเป็นยา เพื่อช่วยป้องกันโรคโควิด-19 ที่มาจากเชื้อไวรัสโคโรน่าสายพันธุ์ใหม่ ขมิ้นชัน เสมอด้วยแม่ทัพใหญ่ มีฤทธิ์ช่วยสร้างลิมโฟไซท์ ซึ่งเป็นเม็ดโลหิตขาวสำคัญในระบบน้ำเหลืองที่ต้านเชื้อไวรัส และช่วยบำรุงปอดให้แข็งแรง ช่วยรักษาอาการอักเสบของปอดไม่อันตรายต่อตับ

ไมตรี สุทธจิตต์ คณบดีคณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยพะเยา ได้ทำการสกัดน้ำมันกระเทียม (essential garlic oil) ใช้วิธีกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) โดยกระเทียม 10 กก. จะได้น้ำมันเข้มข้น 4 ซีซี หลังจากนำมาเจือจางแล้วบรรจุได้ถึง 4,000 แคปซูล เป็นการเพิ่มมูลค่า 10-20 เท่า โดยสารสำคัญที่อยู่ในน้ำมันนี้ประกอบด้วย อัลลิซินและอนุพันธ์หลายชนิด มีคุณสมบัติช่วยลดระดับไขมัน คอเลสเตอรอลในเลือด และความรุนแรงในการเกิดโรคหลอดเลือดแข็งตัว อีกทั้งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอันเป็นสาเหตุของการเกิดมะเร็งได้ และยังช่วยบรรเทาอาการไข้หวัด ภูมิแพ้ เสริมภูมิคุ้มกันร่างกายได้ เนื่องจากอัลลิซินในน้ำมันจะช่วยกระตุ้นให้ร่างกายสร้างเม็ดเลือดขาวเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ช่วยบรรเทา ลดภูมิแพ้ได้ และจากคุณสมบัติของกระเทียมที่มีฤทธิ์เสมือนยาปฏิชีวนะที่ช่วยฆ่าเชื้อแบคทีเรีย เชื้อไวรัส เชื้อรา ดังนั้นจึงมีส่วนช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกัน ลดการแพ้ต่างๆ ลดอาการเรื้อรังในระบบทางเดินหายใจ เช่น หวัด หอบหืด ไซนัส หูอักเสบ เป็นต้น

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

การดำเนินงานวิจัยเรื่อง นวัตกรรมสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเคลือบกระดาษเช็ดมือ เพื่อช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันต่อเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคปนเปื้อนบนผิวหนัง มีขั้นตอนการทำงานในรายละเอียดการดังต่อไปนี้

3.1. การหมักกระเทียมและสกัดน้ำหมักกระเทียม

3.2. การเตรียมกลุ่มจุลินทรีย์ก่อโรคที่ปนเปื้อน

3.3. การทดสอบการอ่อนไหวของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่ปนเปื้อน ด้วยวิธี Disc agar diffusion method

3.4. การเคลือบสารสกัดน้ำหมักกระเทียมบนกระดาษเช็ดมือ

3.5 การยับยั้งกลุ่มจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนบนผิวหนังของกระดาษเช็ดมือเคลือบด้วยสารสกัดน้ำหมักกระเทียม

3.6 การศึกษาอายุการใช้งานของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเคลือบบนกระดาษเช็ดมือ

3.7 การพัฒนาชุดคิทสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเพื่อฉีดพ่นบนระดาษเช็ดมือ

3.1. การหมักกระเทียมและสกัดน้ำหมักกระเทียม

3.1.1 การหมักกระเทียม

ในการหมักกระเทียมด้วยโพรไบโอติกส์ที่เลือกมาจากโยเกิร์ตและคอมบูชา

1) การทำโยเกิร์ต

3.2.2 การเตรียมกล้าเชื้อโยเกิร์ต

นำเชื้อผงสำเร็จรูป YC 380 จำนวน 30 เกล็ด ประมาณ 0.2 กรัมผสมกับน้ำนมปริมาณ 500 มิลลิลิตรที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์แล้ว นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 42+2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

จากนั้นนำไปแช่เย็นที่ 4 องศาเซลเซียส

3.2.2 การเตรียมโยเกิร์ต

นำน้ำนมโคมาแบ่งเป็น 5 ส่วนเท่า ๆ กัน โดยส่วนที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุมไม่มีการเติมผลไม้หรือน้ำตาล ส่วนที่ 2เติมน้ำตาลทราย 8% และ 3 ส่วนที่เหลือจะเติมแยมผลไม้แยกกันในแต่ละส่วนอย่างละ 12 กรัม โดยทั้ง 5 สูตรจะใช้น้ำนมโค 150 มิลลิสิตรต่อแก้ว นำส่วนผสมในแต่ละสูตรไปให้ความ

ร้อนที่อุณหภูมิ 70+5°C นาน 15 นาที จากนั้นนำสงจากเตาปล่อยให้เย็นจนกระทั่งอุณหภูมิลดลงเหลือ 42±2°C เติมกล้าเชื้อโยเกิร์ต 18 กรัม คนให้รวมเป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นนำตัวอย่าง 150 กรัม บรรจุลงในถ้วยพลาสติก แล้วนำไปบ่มใน water bath ที่อุณหภูมิ 42+2°C นาน 5 ชั่วโมง จากนั้นนำมาพักเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°C

2) การทำคอมบูชา Kombucha Scoby

ในการทำ Kombucha หลักการทำที่เริ่มตั้งแต่ต้นที่ไม่มีหัวเชื้อจุลินทรีย์เติม เป็นการสร้าง scopy หรือการใช้หัวเชื้อที่มีอยู่แล้วใช้เพื่อ ต้งต้นทำ Scoby ในการคัดเลือกแต่ Scoby และน้ำตั้งต้นที่แข็งแรงจะต้องมี pH ที่เหมาะสม อยู่ในช่วงค่า pH อยู่ที่ 2.57 - 2.8 โดยสูตรเข้มข้น (หมักเสร็จต้องผสมน้ำเพิ่ม) จะใช้ชาดำ 10 กรัม น้ำเปล่า/น้ำแร่ 2 ลิตร น้ำตาล 200 กรัม ผมแนะนำน้ำตาลอ้อยไม่ขัดสีที่มีคุณค่าทางอาหารสูง และจะให้สีที่เข้มขึ้น ที่กรองชาและโหลแก้วขนาด 3 ลิตรขึ้นไป น้ำหัวเชื้อตั้งต้นและ Scoby 500ml และผ้าปิดโหล ควรเป็นผ้าขาวบางตาถี่ ๆ พร้อมยางมัดถุงเส้นใหญ่ แต่สูตรปกติจะแตกต่างกันเล็กน้อย ที่ใช้อัตราส่วนน้ำตั้งต้นต่อชาอยู่ที่ประมาณ 1:7 หรือ น้ำตั้งต้น 500ml ต่อชา 3,300ml (ค่า pH น้ำตั้งต้นที่ใช้หมัก 2.5-2.7) คือ ใช้ชาดำ 15 กรัม น้ำเปล่า/น้ำแร่ 3.3 ลิตร น้ำตาล 200 กรัม ควรใช้น้ำตาลอ้อยไม่ขัดสี ที่กรองชา โหลแก้ว 4 ลิตรขึ้นไป และส่วนที่เหลือจะเหมือนกันคือ ใช้น้ำหัวเชื้อตั้งต้นและ Scoby 500 ml ผ้าปิดโหลพร้อมยางมัดถุงเส้นใหญ่

ในขั้นตอนการทำมีรายละเอียดดังนี้ เตรียมทำความสะอาดโหลที่ต้องใช้ โดยการลวกน้ำร้อนลวก โดยการนำน้ำอุ่นเทลงไปแล้วแกว่งน้ำเพื่อปรับอุณหภูมิก่อนเ เพื่อป้องกันแก้วที่อาจจะแตกจากการช็อคน้ำร้อนได้ ทำวัตถุดิบตามสูตรชาหมัก Kombucha วิธีทำที่เลือก ไม่ว่าจะเป็นสูตรปกติหรือสูตรเข้มข้น ทำการแช่ชาในน้ำร้อนส่วนแรก 500ml เป็นเวลา 10 นาที แล้วกรองใบชาออกจากน้ำชา แล้วค่อยๆเทชาใส่โหลเพื่อให้โหลปรับอุณหภูมิก่อน โหลจะได้ไม่แตก เทน้ำตาล 200 กรัม ลงไปในโหล คนน้ำตาลให้ละลายแล้วเติมน้ำที่เหลือ 1500/2800 ml ตามแต่สูตรลงไป และรอให้น้ำชาที่ได้เย็นลงประมาณอุณหภูมิห้องก่อน นำน้ำตั้งต้นและ Scoby เทลงไปในภาชนะที่เย็นลงแล้ว (*สำคัญ หากคุณใส่น้ำตั้งต้นและ Scooby ลงไปในขณะที่ชายังร้อน ก็อาจจะทำให้เชื้อตายได้หรือทำให้หมักได้ช้า แล้วปิดด้วยผ้า (เลี่ยงการใช้ผ้าขาวบางที่มีช่องห่างๆ เพราะว่าแมลงหวี่อาจจะเข้าไปไข่ได้) ห้ามโดนแสงแดด แต่สามารถโดนแสงไฟในบ้านได้ และปล่อยหมักไว้ 7-21 วัน โดยยิ่งหมักนานยิ่งเปรี้ยว สำหรับผู้ที่ทานคีโตควรหมักนานถึง 21 วัน เพราะน้ำตาลจะเป็นอาหารให้กับจุลินทรีย์ ยิ่งหมักนานน้ำตาลก็ในคอมบูชาจะเหลือน้อย ทดสอบค่า pH ควรจะต่ำกว่า 4 หรือที่ประมาณ 3.3-3.5 อันเป็นค่าที่เหมาะสมเพื่อป้องกันการเกิดรา หากค่า pH สูงเกินกว่า 4 โอกาสเกิดราจะสูงขึ้น

การหมักกระเทียมด้วยเชื้อ Scopy และน้ำหมักจากคอมบูชา

การหมักกระเทียมด้วยคอมบูชาและโยเกิร์ตนั้นเป็นกระบวนที่นำน้ำตั้งต้น (Starter Liquid) และ Scoby นั้นสำคัญที่ความเปรี้ยวและความแข็งแรง โดยยิ่งหมักมานานก็ยิ่งเปรี้ยว ยิ่งแข็งแรงและเข้มข้นมากขึ้น มาสร้างจุลินทรีย์ในกลุ่มที่มีประโยชน์ และสร้างสารสำคัญสำหรับสุขภาพของร่างกาย หลักการทำที่เริ่มตั้งแต่ต้นที่ไม่มีหัวเชื้อจุลินทรีย์เติม เป็นการสร้าง Scopy แล้วใช้หัวเชื้อที่มีอยู่แล้วมาต่อหัวเชื้อจะเป็นการเติมหัวเชื้อจุลินทรีย์ที่มาจากการหมักคอมบูชามาก่อนแล้ว ลงในน้ำหมักใหม่ที่มีกระเทียมประกอบด้วย การเตรียมวัตถุดิบ กระเทียมที่สดและไม่เน่าเพื่อใช้ในกระบวนการหมักปริมาณ 1 กิโลกรัม ที่ผ่านการล้างกระเทียม ทำการใช้มีดเจาะหรือช้อนเล็กเข้าไปในกระเทียมเพื่อทำรูเล็ก ๆ เพื่อให้คอมบูชาและโยเกิร์ตเข้าไปในกระเทียมได้ง่าย ก่อนทำการปิดภาชนะ ในการหมักน้ำหมักกระเทียมต้องเติมน้ำหมักให้เกือบเต็ม แล้วปิดภาชนะให้สนิท เพื่อป้องกันการรั่วไหลและให้กระเทียมตามเวลาที่กำหนด แล้วนำภาชนะที่ได้ไปเก็บไว้ในที่มืดและอุ่นเพื่อให้การหมักมีประสิทธิภาพเป็นเวลานาน 20-25 วัน จะเห็นการเปลี่ยนแปลงของน้ำหมัก

3.1.2 การสกัดน้ำหมักกระเทียม

1) วิธีการสกัดกระเทียมด้วยการกลั่นไอน้ำ (Water- Distillated garlic maceration method)

หั่นกระเทียมสายพันธุ์จีนปริมาณ 200 กรัมสดเป็นชิ้นและสับให้ละเอียดก่อนแช่ในน้ำ ปริมาณ 600 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง กรองด้วยกระดาษกรองแล้วจึงนำสารสกัดกระเทียมที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 10 นาที แล้วนำสารละลายส่วนใสที่ได้ไประเหยในสุญญากาศเพื่อให้ได้ผลผลิตที่เป็นของแข็งก่อนนำมาละลายในน้ำกลั่นปริมาณ 200 มิลิลลิตร โดยการบ่มที่ 25°C ในตู้อบแบบเขย่า (250 รอบต่อนาที) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วกรองให้ได้สารสกัดกระเทียมด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 2 เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°Cจนกระทั่งใช้ในการทดลองต่อไป

2) วิธีการสกัดกระเทียมด้วย น้ำและแอลกอฮอล์ (Hydro-ethanolic extraction method)

นำกระเทียมจีนสด ประมาณ 200 กรัม สดเป็นชิ้นและสับให้ละเอียดก่อนแช่ในน้ำ ปริมาณ 600 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลานาน 48 ชั่วโมง กรองด้วยกระดาษกรองแล้วจึงนำสารสกัดกระเทียมที่ได้ไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลานาน 10 นาที แล้วนำสารละลายส่วนใส ผสมกับกระเทียมสดประมาณ 200 กรัมที่ผ่านการหั่นเป็นแว่นก่อนนำไปแช่ในเอทานอลร้อยละ 20 – 80 ปริมาณ 500 มิลลิลิตรที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 1 สัปดาห์ สองครั้ง แล้วนำสารละลายที่ได้มารวมกัน หลังจากนั้นกรองโดยการกรองด้วยกระดาษกรอง แล้วนำสารสกัดไประเหยในสุญญากาศเพื่อให้ได้ผลผลิตที่เป็นของแข็งก่อนนำมาละลายในน้ำกลั่นปริมาณ 200 มิลิลลิตร โดยการบ่มที่ 25°Cในตู้อบแบบเขย่า (250 รอบต่อนาที) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วกรองให้ได้สารสกัดกระเทียมด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 2 เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

3.2 การเตรียมกลุ่มแบคทีเรียก่อโรคที่ปนเปื้อนในอากาศ

เชื้อราที่ปนเปื้อนในอากาศ ถูกคัดแยกได้ในห้องปฏิบัติการ ด้วยการคัดแยกและสังเกตจากลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ ประกอบด้วยเชื้อรา *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp. และเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการศึกษาได้จากstock สายพันธุ์เชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ได้จากศูนย์ชีววัสดุประเทศไทย จังหวัดปทุมธานี ประกอบด้วย ชนิด *Escherichia coli* *Staphylococcus aureus Streptococcus* sp. จาก Stock culture ที่ได้จาก ที่เก็บในห้องปฏิบัติการและได้ผ่านการตรวจสอบชนิดทางสัณฐานวิทยามาแล้ว เชื้อแบคทีเรียแต่ละชนิดจะถูกทำการเพาะเลี้ยงเพิ่มจำนวนในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง (Solid medium) ชนิด Nutrient Agar (NA) เป็นเวลานาน 18 ชั่วโมง และสำหรับเชื้อราบนอาหารชนิด Potato Dextrose Agar (PDA) เป็นเวลานาน 3 วัน ก่อนการนำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบของเหลวชนิดเดิมเป็นเวลานาน 24 ชั่วโมงก่อนนำมาศึกษาต่อไป

3.3 การอ่อนไหวของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยวิธี Disc agar diffusion method

ในการทดสอบดูความสามารถในการต้านหรือยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ของสารสกัดกระเทียมด้วยการวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสที่เกิดขึ้นรอบแผ่น disc [23] เริ่มด้วยการนำสารสกัดกระเทียมที่เตรียมจากวิธีการสกัด 3 วิธี ปริมาณ 500 มิลลิลิตร มาทำการเจือจางให้ได้สารสกัดที่ความเข้มข้นร้อยละ 100%, 50%, 25%, 12.5% 6.25% และ 3.13% ด้วยน้ำกลั่น แล้วแช่ด้วยแผ่น disc ที่ทำจากกระดาษกรอง Whatman Filter paper no. 2 หรือ กระดาษกรองที่ทำจากเส้นใยใบอ้อย ทำให้มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 5 มิลลิเมตร มาเติมสารสกัดกระเทียมปริมาณ 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปเขย่าที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลานาน 30 นาที ทำการ spread เชื้อบริสุทธิ์ชนิดแบคทีเรีย และเชื้อรา ซึ่งเชื้อแบคทีเรียเป็นชนิด *Escherichia coli* *Staphylococcus aureus Streptococcus* sp. และเส้นใยของเชื้อรา *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., *Rhizopus* sp. แต่ละชนิดลงบนเพลตที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อเดิมชนิดแข็ง (NA หรือ PDA) ที่มีแผ่น disc ที่มีสารสกัดกระเทียมตามความเข้มข้นที่เจือจางไว้ เพลตถูกบ่มในตำแหน่งตั้งตรงที่ 37°C เป็นเวลาอย่างน้อย 24 ชั่วโมง สังเกตวัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของการเกิดวงใส (Clear zone) รอบแผ่น disc บนจานเพาะเชื้อบ่งบอกการยับยั้งถูกวัดเป็นมิลลิเมตรเพื่อบ่งบอกการอ่อนไหว (Sensitivity) ของจุลินทรีย์ทุกวัน เป็นเวลานาน 15 วัน คำนวนประสิทธิภาพของการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ได้ยับยั้งที่มีเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 10 มิลลิเมตรเพื่อถือว่าน้อยมาก และ/หรือไม่มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย

3.4 การเตรียมหัวเชื้อแบคทีเรียสร้างกรดแลกติกเพื่อการหมักกระเทียม

ทำการ streak เชื้อแบคทีเรียสร้างกรดแลกติกบนอาหารแข็ง MRS ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง แล้วแตะหัวเชื้อเชื้อแบคทีเรียสร้างกรดแลกติกใส่ลงอาหารเหลว MRS บ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยเขย่าที่ 200 รอบต่อนาที วัดความขุ่นที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ให้ได้ความเข้มข้นหัวเชื้อเริ่มต้นประมาณ 10^9 CFU/mL

3.5 การหมักกระเทียมด้วยหัวเชื้อแบคที่เรียสร้างกรดแลกติก *Lactobacilli*

นำอาหารเลี่ยงเชื้อ MRS ปริมาณ 5 ลิตร ที่ผ่านการปรับ PH 6.2 และฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 15 นาที เติม Lactobacillus spp. ที่ได้คัดแยกในห้องปฏิบัติการ ที่ความเข้มข้นเริ่มตันเป็น 100 เซลล์ต่อมิลลิลิตร และเตรียมกระเทียมสับปริมาณ 2.5 กิโลกรัม (ประมาณร้อยละ 50 (v/v) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth) ใส่ ในขวดแก้วปิดฝาในสภาวะไม่มีออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลาอย่างน้อย 3-15 วัน สังเกตการเปลี่ยนแปลง ก่อนปั่นแยกสารละลายออกจากตะกอนกระเทียมที่ดวามเร็วรอบการเหวี่ยง 100 รอบต่อนาที

3.6 การศึกษาอายุการใช้งานของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเคลือบบนกระดาษเช็ดมือ

ในการศึกษาอายุการใช้งานของกระดาษเช็ดมือเคลือบด้วยสารสกัดน้ำหมักกระเทียมนั้น จะนำกระดาษเช็ดมือดังกล่าวที่มีสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเคลือบเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลานานตั้งแต่ 1-6 เดือนมาทำการแช่เชย่าเป็นระยะในน้ำกลั่นสเตอร์ไลด์ปริมาณ 5 mL เป็นเวลานาน 30 นาที ก่อนนำมาใช้ในการทดสอบการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกลุ่มที่ก่อโรคและกลุ่มที่สร้างประโยชน์ เพื่อบ่งบอกอายุการใช้งานของกระดาษเช็ดมือที่มีสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเคลือบ

3.7 การพัฒนาชุดคิทสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเพื่อฉีดพ่นบนระดาษเช็ดมือ

จากการเลือกความเข้มข้นของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมที่เหมาะสมในการเคลือบลงบนกระดาษเช็ดมือ และทดสอบอายุการใช้งานที่กระดาษเช็ดมือเคลือบสารสกัดน้ำหมักกระเทียมสามารถทำงานได้แล้ว ต้นแบบของชุดคิทประกอบด้วย การทำ 2 เซท เซทแรกจะเป็นชุดคิทที่มีกระดาษเคลือบด้วยสารสกัดน้ำมันกระเทียมแล้ว โดยการเตรียมกระดาษที่มีขนาด 4.5-5.5 X 11.5-12.0 cm2 ปริมาณ 10 แพ็ค ถูกนำมาวางทีละแผ่นบนตะแกรง แล้วฉีดสเปรย์ด้วยสารสกัดน้ำมันกระเทียมสองครั้ง ปริมาณ 5 mL ปล่อยให้แห้ง แล้วนำมาใส่ถุงซิบล็อค และอีกเซ็ทของชุดคิทจะมีสารสกัดน้ำหมักกระเทียมใส่ในขวดสเปร์ยปริมาณ 50 mL ต่อปริมาณกระดาษเช็ดมือจำนวน 25 แผ่น

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปรายผล

จากการดำเนินงานวิจัยเรื่อง นวัตกรรมสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเคลือบกระดาษเช็ดมือ เพื่อช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันต่อเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคปนเปื้อนบนผิวหนัง ทีมผู้วิจัยได้ทำการศึกษาคุณลักษณะของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเคลือบบนกระดาษเช็ดมือ ศึกษาความสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคบนผิวหนังของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมก่อนและหลังการเคลือบบนกระดาษเช็ดมือ ศึกษาอายุการใช้งานของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเคลือบบนกระดาษเช็ดมือ และพัฒนาชุดคิทสารสกัดน้ำหมักกระเทียมพร้อมการใช้งานเพื่อใช้ฉีดพ่นบนกระดาษเช็ดมือ โดยมีรายละเอียดดังนี้

4.1 คุณลักษณะของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเคลือบบนกระดาษเช็ดมือ

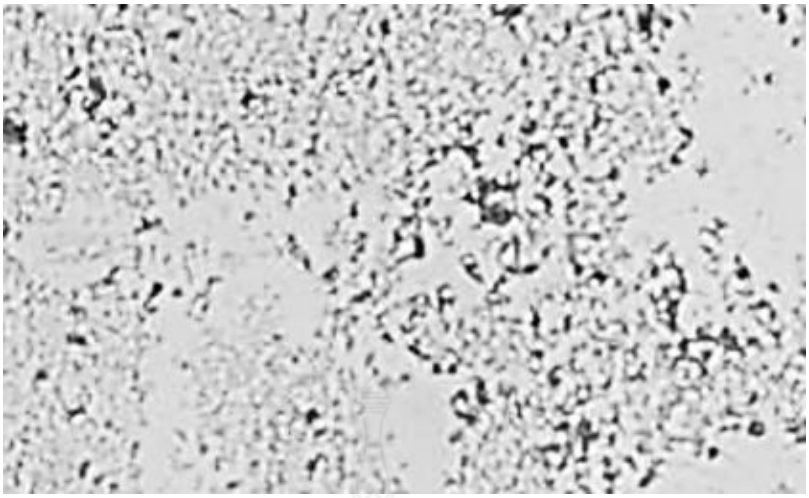
4.2 ความสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคบนผิวหนังของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมก่อนและหลังการเคลือบบนกระดาษเช็ดมือ

4.3 อายุการใช้งานของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเคลือบบนกระดาษเช็ดมือ

4.4 ชุดคิทสารสกัดน้ำหมักกระเทียมพร้อมการใช้งานเพื่อใช้ฉีดพ่นบนกระดาษเช็ดมือ

4.1 คุณลักษณะของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเคลือบบนกระดาษเช็ดมือ

-การเตรียมเชื้อโพรไบโอติกส์กลุ่มแบคทีเรียกรดแล็คติก เพื่อใช้ในกระบวนการหมักกระเทียมด้วย หลังจากการคัดแยกเชื้อโพรไบโอติกส์กลุ่มแบคทีเรียกรดแล็คติก ที่คาดว่าไม่ก่อโทษ เพราะเน้นมาจากอาหารธรรมชาติ ประกอบด้วย นมเปรี้ยว โยเกิร์ต และน้ำหมักผลไม้คอมบูชา เน้นชนิดที่เป็นที่ยอมรับได้ในประเทศไทย ด้วยการ spread plate บนอาหารแข็งชนิด NA + 10-20% whole milk ดังแสดงในภาพที่ 4.1 และ 4.2 และได้กลุ่มแบคทีเรียที่ได้มีลักษณะทาง Morphology ภายในกล้องจุลทรรศน์ ที่มีลักษณะดังนี้คือ เป็นแบคทีเรียรูปร่าง rod / bacilli ย้องติดแกรมบวกให้สีน้ำเงินของสี gram staining



ภาพที่ 4.1 ตัวอย่างเชื้อโพรไบโอติกส์ที่ผ่านการคัดแยกได้จากการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบสูตรปรับปรุง

ภาพที่ 4.2 ตัวอย่างอาหารที่ใช้ในการเพาะคัดแยกเชื้อโพรไบโอติกส์ชนิด *Lactobacillus* spp. ซึ่งได้ปรับสูตรจากอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดแข็ง Solid media ชนิด nutrient agar

หลังจากการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลว ด้วยจากการปรับสูตรเพื่อเลี่ยงเฉพาะเชื้อโพรไบโอติกส์ *Lactobacilli* เน้นสูตรที่คล้ายกันคือมี Beef 0.2% extract, 0.5% Yeast extract, 10-20% whole milk, 1% sucrose (ภาพที่ 3) พบว่าได้เชื้อกลุ่ม *Lactobacilli* ที่อยู่ตามมตฐ อย. ได้

ภาพที่ 4.3 อาหารเลี้ยงเชื้อโพรไบโอติกส์ที่ปรับสารอาหารและนมสดร้อยละ 50

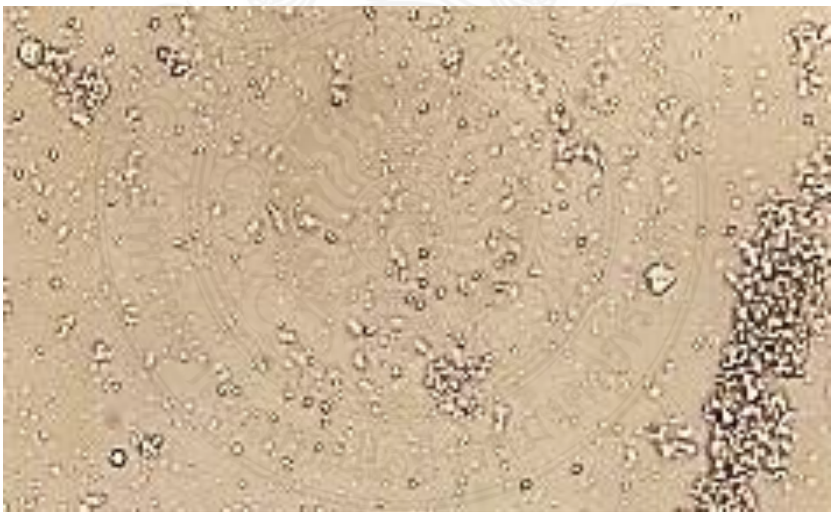
จากคุณสมบัติของกลุ่มอาหารที่สร้างเชื้อจุลินทรีย์กลุ่มเชื้อโพรไบโอติกส์สร้างแลกติคที่ทราบชนิด และไม่ทราบชนิด พร้อมที่จะนำไปทำน้ำหมักกระเทียม

1) คัดแยกเชื้อ *Lactobacilus* spp. ที่คาดว่าไม่ก่อโทษ เพราะเน้นมาจากอาหารธรรมชาติ ประกอบด้วย นมเปรี้ยว โยเกิร์ต และน้ำหมักผลไม้คอมบูชา เน้นชนิดที่เป็นที่ยอมรับได้ในประเทศไทย (ตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.4) ได้เชื้อแบคทีเรียตามที่ต้องการ
2) กลุ่มเชื้อโพรไบโอติกส์พร้อมน้ำหมักที่ได้จากนมเปรี้ยว โยเกิร์ต และจากคอมบูชา มีคุณสมบัติสามารถสร้างกรดอินทรีย์ สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคอื่นได้ ดังแสดงในตารางที่ 4.2 ที่สามารถลดการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคทั่วไป
3) กลุ่มเชื้อโพรไบโอติกส์ที่ได้ ดังกล่าวสามารถทำการเพาะเลี้ยงเพื่อให้จำนวนปริมาณมากได้ และสามารถนำไปทำให้แห้งด้วยกระบวนการ Freeze drying (ภาพที่ 4.5)
4) กลุ่มเชื้อโพรไบโอติกส์ที่ได้ ยังคงมีประสิทธิภาพการอยู่รอดเมื่อเก็บรักษาในสภาพเย็นเป็นเวลานานอย่างน้อย 1 เดือน ภายใต้กล้องจุลทรรศน์หลังจากการ Freeze drying ก่อนการนำไปเก็บไว้ เพื่อการนำมาหมักกับกระเทียมสดต่อไป (ภาพที่ 4.6)

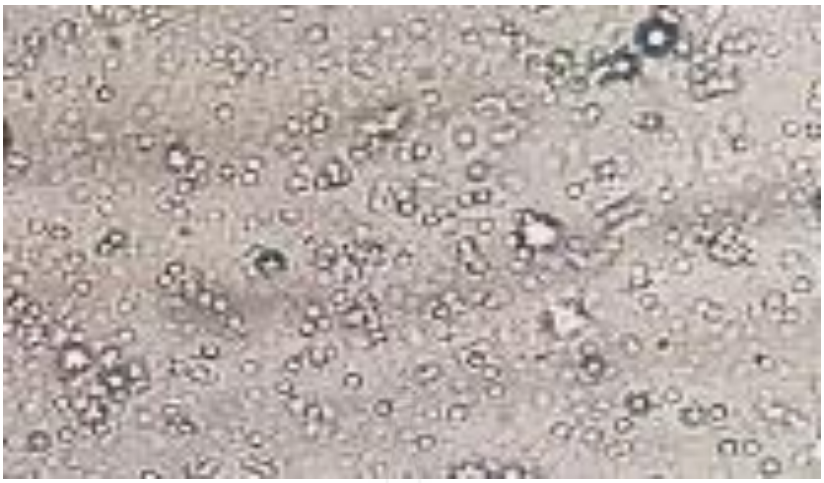
ตารางที่ 4.1 กลุ่มจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์ที่พบในโยเกิร์ตและคอมบูชา เป็นไปตามมาตรฐาน อย. กำหนดให้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้อย่างปลอดภัย (แสดงในรูปของ *)

***Lactobacillus* species**	***Bifidobacterium* species**	**Others**
L. acidophilus	*B. adolescentis*	*Bacillus cereus*
L. amylovorus	*B. anonalis*	*Clostridium botyricum*
L. brevis	*B. breve*	*Enterococcus faecalis*
**L. casei*	* *B. bifidum*	*Enterococcus faecium*
* *L. casei* ssp. *rhamnosus*	*B. infantis*	*Escherichia coli*
L. crispatus	* *B. lactis*	*Lactococcus lactis* ssp. *cremoriss*
L.delbrueckii ssp. *bulgaricus*	*B. longum*	*Lactococcus lactis* ssp. *lactis*
L. fermentum		*Leuconostoc mesenteroides* ssp. *dextranicum*
L. gasseri		* *Pediococcus acidilactis*
L. helveticus		*Propionibacterium freudenrecchii*
L. johnsonii		*Saccharomyces boulardii* *
* *L. lactis*		*Streptococcus salvarius* ssp. *thermophilus*
* *L. paracasei*		
L. plantarum		
* *L. reuteri*		

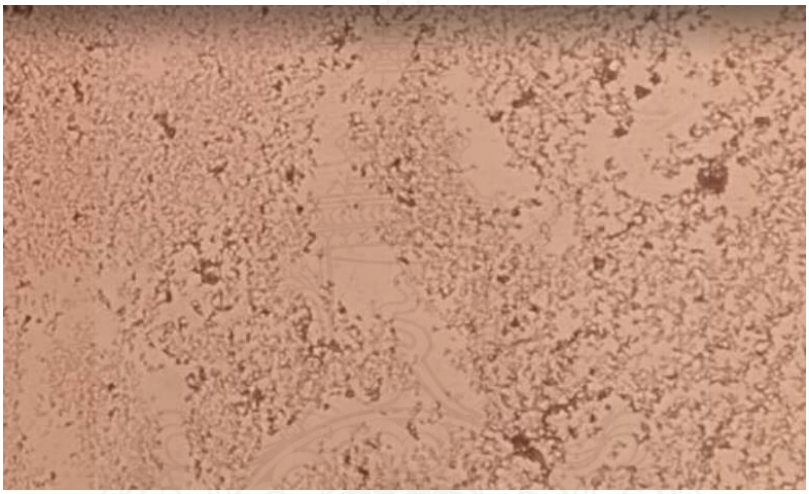
ที่มา : Prado et al, (2008)



(ก)



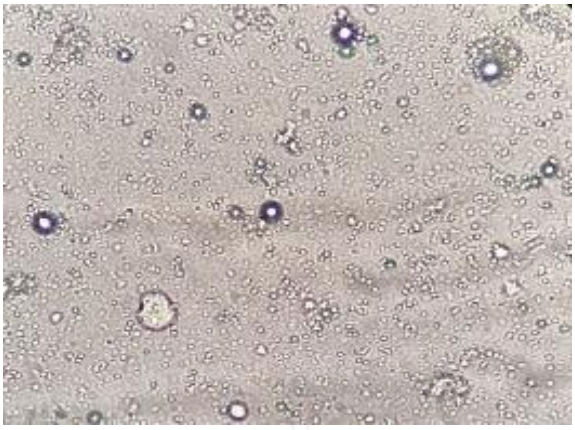
(ข)



(ค)

ภาพที่ 4.4 ตัวอย่างลักษณะเชื้อโพรไบโอติกส์กลุ่มสร้างแลกติคในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวที่มีนมสดร้อยละ 10 (ก) เชื้อแบคทีเรียกลุ่มที่ได้คัดแยกจากนมเปรี้ยว โยเกิร์ตและคอมบูชา และ (ข) เชื้อแบคทีเรียกลุ่มที่ได้คัดแยกจากน้ำหมักผลไม้ และ (ค) เชื้อแบคทีเรียกลุ่มผสมที่ทำการเพิ่มจำนวนและเก็บไว้ใช้ในรูปผงด้วยกระบวนการ Freeze dry

ภาพที่ 4.5 ตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียแห้งจากกระบวนการ Freeze drying เพื่อการนำไปเคลือบบนกระดาษเช็ดมือ



ภาพที่ 4.6 ตัวอย่างกลุ่มเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกส์จากการเพาะเลี้ยง
หลังจากกระบวนการ Freeze dry

4.2 ความสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคบนผิวหนังของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมก่อนและหลังการเคลือบบนกระดาษเช็ดมือ

ความสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคบนผิวหนังของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมก่อนการเคลือบบนกระดาษเช็ดมือ สามารถแสดงในตารางที่ 4.2 จะเห็นได้ว่าสารสกัดน้ำหมักกระเทียมมีคุณลักษณะสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของกลุ่มจุลินทรีย์ก่อโรค ทั้งแบคทีเรียและเชื้อรา

ตารางที่ 4.2 การยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคจากการทำการเจือจางในอาหารเหลวชนิด NB

Dilution	ความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์						ผลที่ได้
	E. coli	Staphylococcus aureus	Streptococcus sp.	Psuedomonas sp.	Aspergillus sp.	Penicillium sp.	
1/10	+++++	+++++	+++++	+++	+++++	+++++	ยับยั้งได้
$1/10^2$	+++++	+++++	+++++	+++	++++	++++	ยับยั้งได้
$1/10^3$	++++	++++	++++	++	++	++++	ยับยั้งได้
$1/10^4$	++++	++++	++++	++++	++	++++	ยับยั้งได้
$1/10^5$	++	++	++	++++	++	+++	ยับยั้งได้
$1/10^6$	++	+	++	++	+	++	ยับยั้งได้น้อย
$1/10^7$	+	-	-	-	+	+	ไม่สามารถยับยั้งได้

+++++ หมายถึง ใส ไม่มีสีเปลี่ยน

++++ หมายถึง ใส แต่มีชิ้นส่วนเกิดตะกอนเล็กน้อย หรือ มีชิ้นส่วนลอยด้านบนไม่มีสีเปลี่ยน

+++ หมายถึง ค่อนข้างใส มีขุ่นเมื่อเขย่า ไม่มีสีเปลี่ยน มีเส้นใยบ้างเล็กน้อย

++ หมายถึง ขุ่นเล็กน้อย สีเปลี่ยนไปหรือไม่เปลี่ยน

+ หมายถึง ค่อนข้างขุ่น มีสีเปลี่ยน อาจมีเส้นใยหรือฝ้าลอยด้านบน

0 หมายถึง ขุ่นมาก มีสีเปลี่ยนจากเริ่มต้น

1) การเคลือบสารสกัดน้ำหมักกระเทียมลงบนกระดาษเช็ดมือ

การเตรียมสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเพื่อการเคลือบบนกระดาษเช็ดมือ

เมื่อนำสารสกัดน้ำหมักกระเทียมมาทำการพ่นลงบนกระดาษเช็ดมือ ในการศึกษาทีมผู้วิจัยได้ปรับปริมาณของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมที่ผ่านการสกัดแยกด้วย 80% ethanol แล้วทำให้ตัวทำละลาย ethanol ระเหยออกด้วยวิธีการ evaporation เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง หลังจากกรองและตกตะกอน แล้วนำส่วนน้ำใสมาทำการสกัดด้วยเอทานอล

การเตรียมตัวอย่างกระดาษเช็ดมือ

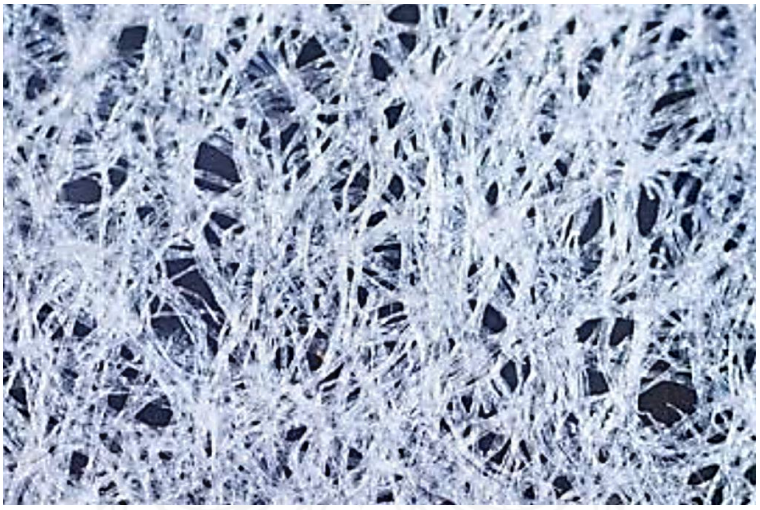
ในการทดลองสเปรย์ลงบนกระดาษเช็ดมือ พบว่า หากปริมาณสารสกัดน้ำหมักกระเทียมมากกว่า 3 mL จะเปียกชุ่มมากจะทำให้กระดาษเปื่อยขาดได้ง่าย และต้องรอเวลานานในการทำให้แห้งที่พอเหมาะ ในการใช้พ่นสารสกัดน้ำหมักกระเทียมลงบนกระดาษเช็ดมือ พบว่าปริมาณของสารสกัดน้ำหมักกระเทียม 2.5 mL / ต่อกระดาษเช็ดมือ 1 แผ่น ขนาด 8X8 cm^2 แล้วพบว่าสามารถปรับเป็นขนาดมาตรฐานที่นิยมใช้กัน คือ 12 X 4.5-5.5 cm^2

ภาพที่ 4.7 ลักษณะกระดาษเช็ดมือที่ผ่านการพ่นเคลือบด้วยสารสกัดน้ำหมักกระเทียม ปริมาณ 2.5 mL ซ้าย : ก่อนการพ่น และ ขวา: หลังการพ่น สารสกัดน้ำหมักกระเทียมลงบนพื้นผิว

จากการศึกษาพบว่ากระดาษเช็ดมือที่มีตัวเนื้อกระดาษบาง ไม่มีความเหนียว ยุ่ยขาดง่ายเมื่อเปียกน้ำ หลังจากการเคลือบทำให้กระดาษขาดง่ายเพิ่มมากขึ้น ทำให้ทีมผู้วิจัยเลือกที่จะเปลี่ยนตัวกระดาษเช็ดมือให้มีคุณภาพดีก่อนการนำไปเคลือบด้วยสารสกัด ทั้งนี้เพราะสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเป็นสารละลายที่มีน้ำเป็นองค์ประกอบหลัก นำมาพัฒนาเป็นกระดาษเช็ดมือชนิดใหม่

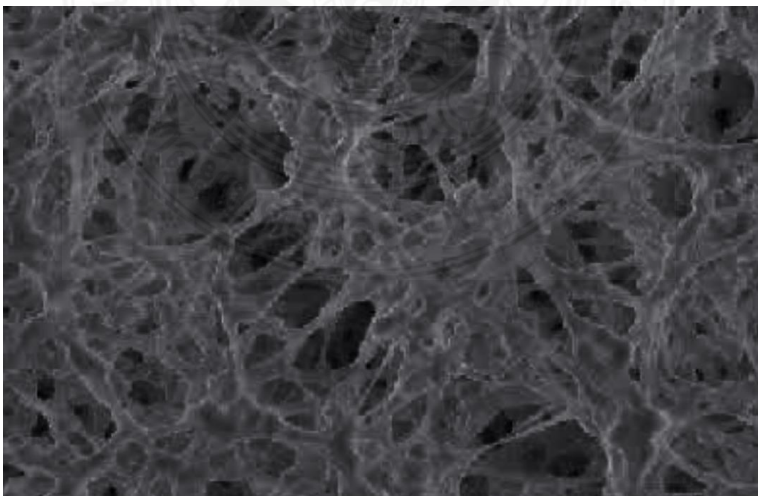
2) การพัฒนาคุณภาพของกระดาษเช็ดมือเพื่อให้มีคุณภาพในการซึมซับ

ทีมผู้วิจัยได้เลือกกระดาษเช็ดมือที่ผลิตจากเยื่อกระดาษบริสุทธิ์แล้วผสมกับเส้นใยพืชอื่น ๆ ดังแสดงในภาพที่ 3 ที่มีส่วนของกระดาษทิชชูผสมกับเส้นใยใบเตยผสมในอัตราส่วนที่เพิ่มขึ้นจาก A-D (A = 8:1, B = 4:1, C = 3:1, และ D = 2: 1) เทียบกับภาพที่ 2 ก และ ข ซึ่งเป็นตัวควบคุมของกระดาษเช็ดมือที่ทำด้วยทิชชู ซึ่งพบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของเส้นใยก่อนและหลังการเคลือบด้วยสารสกัดน้ำหมักกระเทียม กระดาษเช็ดมือผสมด้วยเส้นใยจากใบเตยเป็นพืชที่มีส่วนช่วยให้กระดาษมีความเหนียวมากขึ้น ไม่กระทบต่อคุณสมบัติการดูดซึมของน้ำ แต่ทำให้กระดาษมีความสามารถในการย่อยสลายได้ดีขึ้น และทำให้เกิดการจับตัวกับน้ำและอาจมีส่วนช่วยให้สามารถเข้าถึงจุลินทรีย์ ช่วยยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค โดยไม่มีผลกระทบต่อจุลินทรีท้องถิ่น หรือจุลินทรีย์ชนิดที่ดี ภาพที่ 4.8-4.9 แสดงถึงเส้นใยกระดาษเช็ดมือภายใต้กล้องจุลทรรศน์หลังจากการเคลือบด้วยสารสกัดน้ำหมักกระเทียมที่ผ่านการทำให้แห้งแล้ว จะเห็นได้ว่าสภาพของเส้นใยยังอยู่ในสภาพ



ที่ดี

(ก)



(ข)

ภาพที่ 4.8 กระดาษเช็ดมือทางการค้าที่มีเนื้อกระดาษทิชชู ก่อนการเคลือบด้วยสารสกัดน้ำหมักกระเทียม (ก) และ (ข) หลังการเคลือบด้วยสารสกัดน้ำหมักกระเทียม

(ก)

(ข)

(ค)

(ง)

ภาพที่ 4.9 กระดาษเช็ดมือผสมทำด้วยกระดาษทิชชูผสมกับเส้นใยใบเตย ด้วยอัตราส่วนต่างกัน อัตราส่วนของกระดาษทิชชู: เส้นใยใบเตย 8:1 (ก) , 4:1 (ข), 3: 1 (ค), และ 2:1 (ง)

คุณลักษณะของกระดาษเช็ดมือที่ได้หลังจากการเคลือบมีคุณลักษณะดังแสดงในตารางที่ 4.3 และ 4.4

ตารางที่ 4.3 คุณลักษณะทางกายภาพและการสัมผัสของกระดาษเช็ดมือทำด้วยกระดาษทิชชูผสมเส้นใยใบเตยที่ผ่านการเคลือบด้วยสารสกัดน้ำหมักกระเทียม

ชนิดกระดาษที่พัฒนา	ความสามารถในการอุ้มน้ำ	ลักษณะทางกายภาพและการสัมผัส
ตัวควบคุม = กระดาษเช็ดมือแบบทิชชู	++++++	ลื่นนุ่ม ไม่เหนียว ขาดง่าย
A =กระดาษเช็ดมือแบบทิชชู : เส้นใยพืช 8:1	++++++	ลื่นนุ่มเหนียวขึ้น
A =กระดาษเช็ดมือแบบทิชชู : เส้นใยพืช 4:1	+++++	ไม่รู้สึกถึงความสาก เหนียว
A =กระดาษเช็ดมือแบบทิชชู : เส้นใยพืช 3:1	++++	สากมือเล็กน้อย เหนียว
A =กระดาษเช็ดมือแบบทิชชู : เส้นใยพืช 2:1	+++	สากมือเล็กน้อย เหนียว

ตารางที่ 4.4 ความสามารถในการละลายน้ำและการต้านจุลินทรีย์ก่อโรค ของกระดาษเช็ดมือทำด้วยกระดาษทิชชูผสมเส้นใยใบเตยที่ผ่านการเคลือบด้วยสารสกัดน้ำหมักกระเทียม

ชนิดกระดาษผ่านการเคลือบด้วยสารสกัดน้ำหมักกระเทียม	ความสามารถในการละลายน้ำและย่อยสลาย	คุณสมบัติในการทำงานในการต้านจุลินทรีย์ก่อโรคผสม
ตัวควบคุม = กระดาษเช็ดมือแบบทิชชู	ละลายน้ำได้ดี ไม่ย่อยสลาย	>70%
A =กระดาษเช็ดมือแบบทิชชู : เส้นใยพืช 8:1	ละลายน้ำได้ดี ย่อยสลายได้มากขึ้น	60-70%
B =กระดาษเช็ดมือแบบทิชชู : เส้นใยพืช 4:1	ละลายน้ำได้ดี ย่อยสลายได้ดี	70-75%
C =กระดาษเช็ดมือแบบทิชชู : เส้นใยพืช 3:1	ละลายน้ำได้ดี ย่อยสลายได้ดีมากภายในสามวัน	72-75%
D =กระดาษเช็ดมือแบบทิชชู : เส้นใยพืช 2:1	ละลายน้ำได้ดี ไม่ย่อยสลายได้ดีมากภายในสองวัน	75-78%

3) แนวทางการพัฒนาคุณลักษณะของกระดาษเช็ดมือที่เคลือบด้วยสารสกัดน้ำหมักกระเทียม

กระดาษกระดาษเช็ดมือที่พัฒนาขึ้นเมื่อทำการเคลือบด้วยสารสกัดน้ำหมักกระเทียม พบว่ามีคุณสมบัติของกระดาษที่ดี เหมาะกับการนำไปใช้เช็ด มีความหนาเพิ่มขึ้น แต่พบวามีผิวสัมผัสที่สากขึ้นแต่ยังคงคุณสมบัติในการดูดซับน้ำ ไม่จำเป็นต้องซ้อนกระดาษเพิ่มขึ้นเหมือนกระดาษเช็ดมือที่ทำด้วยกระดาษทิชชู ที่ต้องการซ้อนกระดาษเพิ่มขึ้นอย่างน้อย 1 ชั้น กระดาษผสมที่ได้ยังคงมีความอ่อนนุ่มกับมือ สากเล็กน้อย โดยเฉพาะเพิ่มอัตราส่วนเพิ่มขึ้นของเส้นใยใบเตยในอัตราส่วน 2:1 แต่ยังซึมซับได้ดี สามารถซึมซับน้ำของเหลวปริมาณที่เหมาะสม แล้วทำให้แห้ง ก่อนการพ่นสารสกัดน้ำหมักกระเทียมลงบนพื้นผิว การทดสอบกระดาษผสมเส้นใยหยาบจากเส้นใยพืช ทำให้เกิดแนวทางการนำไปใช้ที่ดีขึ้น คือ เมื่อนำมาใช้เช็ดมือด้วยการดึงกระดาษครั้งละ 1 แผ่น พบว่าสามารถใช้กระดาษเช็ดมือเช็ดหรือซับได้ทันที ทั้งยังสำหรับเช็ดทำความสะอาดทั่วไป กระดาษมีความเหนียวเพิ่มมากขึ้น ในตัวอย่างกระดาษ B-D เมื่อเพิ่มปริมาณของเส้นใยใบเตยมากขึ้น นอกจากนี้กระดาษที่ได้ยังสามารถพับได้ สามารถนำไปเก็บในซองห่อบรรจุภัณฑ์สามารถเปิดใช้งานง่าย สะดวก และเหมาะสมในการใช้งาน และสามารถแตกตัวเมื่อเจอน้ำได้มากขึ้น มีคุณสมบัติเพิ่มที่ดี ด้านที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม เพราะมีคุณสมบัติในการย่อยสลายให้ดีขึ้น กระดาษมีการย่อยสลายได้เองตามธรรมชาติ แต่อย่างไรยังคงไม่เหมาะสมในการนำไปทิ้งลงชักโครก

แต่ทั้งนี้เมื่อนึกถึงการใช้งานในปัจจุบันที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ให้ง่าย สะดวกในครัวเรือน และเป็นการประหยัดค่าใช้จ่าย นอกเหนือจากทางเลือกของการใช้กระดาษเช็ดมือที่พัฒนาขึ้นเองในการศึกษานี้ ทีมผู้วิจัยได้ลองใช้กระดาษเช็ดมือจากกระดาษทิชชูชนิดเหนียวนุ่ม ที่มีขายในท้องตลาด พบว่ามีศักยภาพในการดูดซับสารสกัดน้ำหมักกระเทียมได้ไม่แตกต่างจากกระดาษเช็ดมือที่พัฒนาขึ้น (ภาพที่ 4.10) และนอกจากนั้นยังมีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคและส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ไม่แตกต่างกัน

ภาพที่ 4.10 ตัวอย่างกระดาษทิชชูชนิดเหนียวที่ผ่านการสเปรย์สารสกัดน้ำหมักกระเทียม ที่สามารถใช้ทดแทนกระดาษเช็ดมือที่พัฒนาขึ้นมาได้

4.3 อายุการใช้งานของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเคลือบบนกระดาษเช็ดมือ

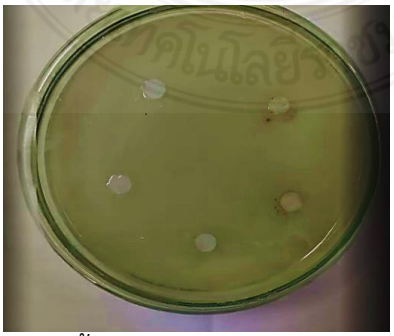
การพัฒนางานชุดคิทของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมพร้อมกระดาษเช็ดมือในรูปแบบการสเปรย์เคลือบเพื่อการใช้งานให้สะดวกเป็นขั้นตอนสุดท้ายของงานวิจัยนี้ ในการศึกษานี้ได้ทำการทดสอบคุณสมบัติการ

ยับยั้งจุลินทรีย์และพัฒนาสูตรสารสกัดน้ำหมักกระเทียมพ่นสเปรย์บนกระดาษเช็ดมือ สารสกัดน้ำหมักกระเทียมได้ถูกทดสอบอายุการใช้งานและทดสอบคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์และคุณสมบัติในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อประโยชน์ ด้วยหลักการทำงานของ Prebiotics ของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมบนกระดาษเช็ดมือ

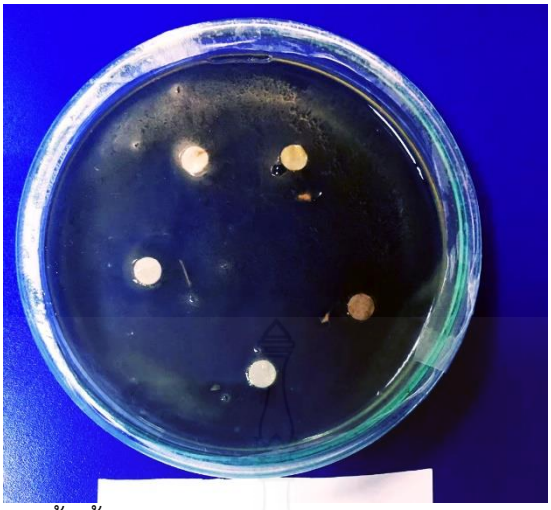
ก. การทดสอบคุณสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์และการส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์

จากการศึกษาพบว่าสารสกัดน้ำหมักกระเทียมที่เคลือบบนกระดาษเช็ดมือ (ภาพที่ 4.11-4.14) มีคุณสมบัติในยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น *Escherichia coli, Staphylococcus aureus, และ Streptococcus faecalis* แต่ไม่มีผลกระทบต่อกลุ่ม Eukaryote (ภาพที่ 4.15-4.16) ในกลุ่มของเชื้อยีสต์ เช่น *Saccharomyces cerevisiae* และต่อกลุ่มของเชื้อรา เช่น รา Penicillium sp., *Aspergillus* sp. และเชื้อเห็ดรากลุ่มเห็ดนางฟ้า แต่ด้วยผลจากการศึกษาในรายละเอียดพบว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลว มีการลดลงน้อยมากของการดูดกลืนของแสงที่ความยาวคลื่น 600 nm

ภาพที่ 4.11 ตัวอย่างความสามารถในการยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อโรคชนิด *Staphylococcus aureus* จากการใช้กระดาษเช็ดมือที่เคลือบด้วยสารสกัดน้ำหมักกระเทียมปริมาณ 50 uL ที่เข้มข้น 100, 200, 400, และ 1000 mg/mL



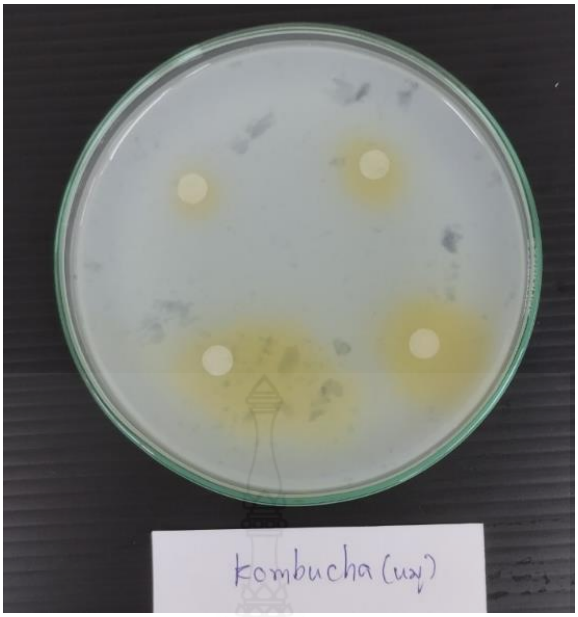
ภาพที่ 4.12 ตัวอย่างของการไม่ยับยั้งกลุ่มยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* จากการใช้กระดาษเช็ดมือที่มีสารสกัดน้ำหมักกระเทียม จากปริมาณ 50 uL ที่ความเข้มข้น 50, 100, 200, 500 mg/mL



ภาพที่ 4.13 ตัวอย่างของการยับยั้งเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* จากการใช้กระดาษเช็ดมือที่มีสารสกัดน้ำหมักกระเทียม จากปริมาณ 50 uL ที่ความเข้มข้น 50, 100, 200, 500 mg/mL

ภาพที่ 4.14 ตัวอย่างของการไม่ยับยั้งกลุ่มเชื้อราจากการใช้กระดาษเช็ดมือที่มีสารสกัดน้ำหมักกระเทียม ชนิดเชื้อเห็ดนางฟ้า *Pleurotus pulmonarius* (ซ้าย) และเชื้อราดำ *Aspergillus* sp. (ขวา)

ภาพที่ 4.15 ผลการส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อ Probiotics *Lactobacillus* จากการใช้กระดาษเช็ดมือที่เคลือบด้วยสารสารสกัดน้ำหมักกระเทียมปริมาณ 50 µL ที่เข้มข้น 100, 200, 400, และ 1000 mg/mL บนนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีนมเป็นองค์ประกอบร้อยละ 50



ภาพที่ 4.16 ผลการส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อ Probiotics จากคอมบูชา ที่มีเชื้อจุลินทรีย์หลากหลายชนิด แบคทีเรีย ยีสต์ และเชื้อรา จากกระดาษเช็ดมือที่เคลือบด้วยสารสารสกัดน้ำหมักกระเทียมตำแหน่งตรงกลาง ที่เข้มข้น (100, 200, 400, 1000 mg/mL) บนนอาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar เป็นองค์ประกอบ

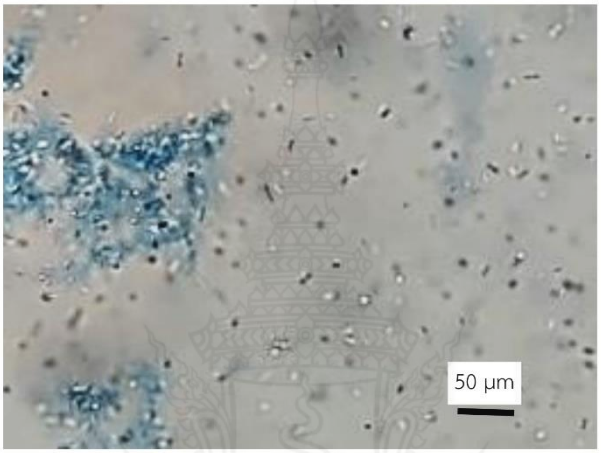
ซึ่งจากการทดสอบทั้งหมดสามารถแสดงสรุปผลในรูปผลโดยรวมในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคและส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิด Probiotics จากแหล่งอาหาร

สารสกัดน้ำหมักกระเทียมเคลือบบนกระดาษเช็ดมือ	**จุลินทรีย์ที่ก่อโรค**							**จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์**	
	แบคทีเรีย			**ยีสต์**	**รา**			*Lactobacilli* **(โยเกิร์ต)**	**จุลินทรีย์หลายกลุ่ม (คอมบูชา)**
	E. coli	*S. aureus*	*St. faecalis*	*S. cerevisiae*	*Aspergillus* sp.	*Penicilium* sp,	*Pleurotus pulmonarius*		
100	+/-	+/-	+/-	-	+	+/-	-	-	-
200	+/-	+	+	-	+	+	-	-	-
400	+	+	+	-	+	+	-	-	-
1,000	+	+	+	-	+	+	-	-	-

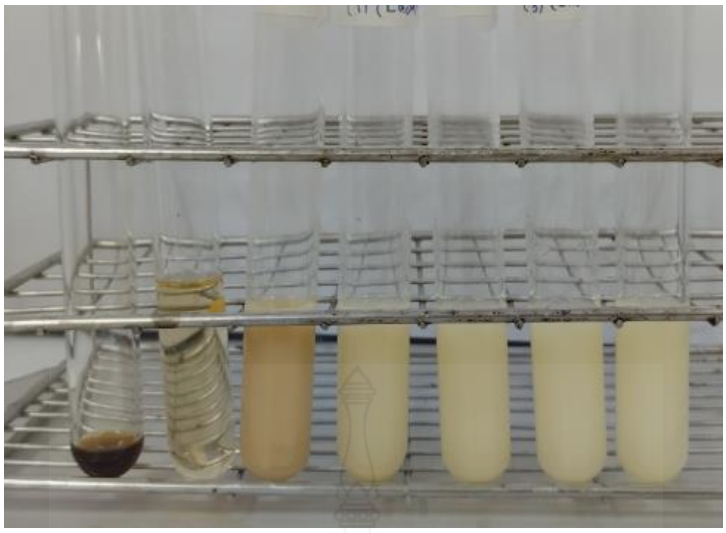
หมายเหตุ + หมายถึง สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ - หมายถึง ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้

จากตารางที่ 4.6 การนำกระดาษเช็ดมือที่มีสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเตรียมตามขนาด 2, 4, 6, 10 mm จำนวน 2 แผ่น มาใส่น้ำกลั่นฆ่าเชื้อโรคปริมาณ 100 uL แล้วเขย่าเป็นเวลานาน 5 นาที ก่อนนำสารละลายที่ได้มาหยดลงในเพลทที่มีกระดาษกรองวางสี่จุดตามตำแหน่งในการทดสอบแบบ disk diffusion method วิธีดังกล่าวสามารถบ่งบอกถึงความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคและการไม่มีการยับยั้งต่อเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ได้ดีทั้งในอาหารเหลวและอาหารแข็ง ซึ่งจากการทดลองเห็นได้ว่าจุลินทรีย์กลุ่ม Lactobacilli ที่มีประโยชน์จะยังคงสามารถเจริญเติบโตได้ดีในสภาวะที่มีน้ำหมักกระเทียมที่ถูกเคลือบบนกระดาษเช็ดมือ (ภาพที่ 4.17) และพบว่าให้ผลไม่แตกต่างจากการทำด้วยการนำกระดาษเช็ดมือที่มีสารสกัดกระเทียมหมักเคลือบและผ่านการทำให้แห้ง และเคลือบสองครั้ง มาทำการทดสอบในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวในหลอดทดลอง

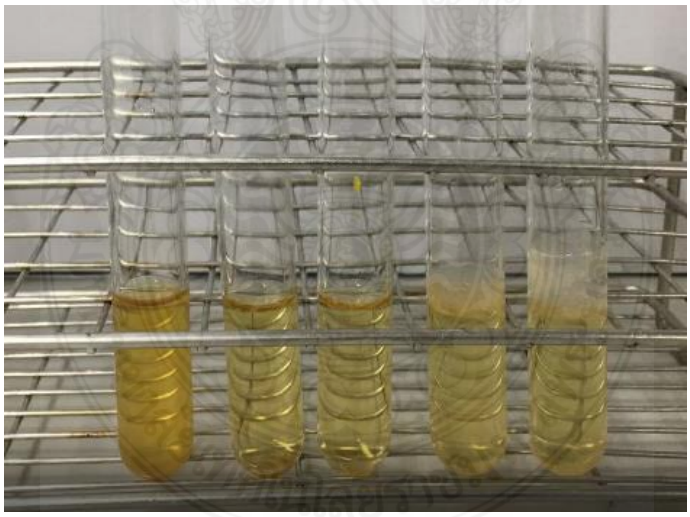


ภาพที่ 4.17 ตัวอย่างของจุลินทรีย์ Probiotics ที่ก่อประโยชน์ต่อร่างกายมาจากคอมบูชา มีการเจริญเติบโตในอาหารเหลวชนิด nutrient broth ที่มีสารสกัดน้ำหมักกระเทียมร้อยละ 10

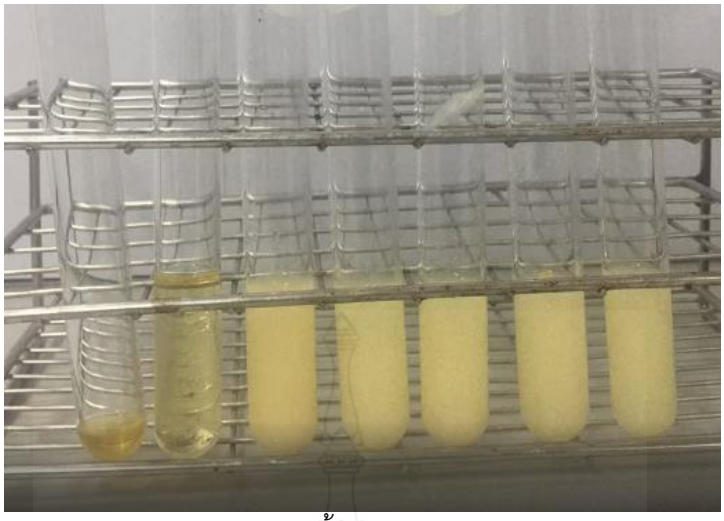
ทั้งนี้พบว่ากระดาษเช็ดมือที่ผ่านการเคลือบด้วยสารสกัดน้ำหมักกระเทียม ยังคงคุณสมบัติในการเช็ดกำจัดคราบสิ่งสกปรกและคราบไขมันได้ตามปรกติ และมีคุณสมบัติที่ดีของการเป็นพรีไบโอติกส์ (Prebiotics) คือส่งเสริมการเจริญเติบโตของกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ ซึ่งหมายถึงรวมถึงจุลินทรีย์กลุ่ม normal flora (ภาพที่ 4.18) บนผิว ในกลุ่มโพรไบโอติกส์ (Probiotics) ได้ด้วย เช่น กลุ่มเชื้อรา (ภาพที่ 4.19) และยีสต์ (ภาพที่ 4.20) ที่สามารถพบทั่วไปในอากาศและบนผิวมนุษย์ นอกจากนี้ยังพบว่าโดยรวมของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 20-200 mg/mL สามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องได้นานมากกว่า 6 เดือน ดังแสดงได้ในภาพที่ 4.21



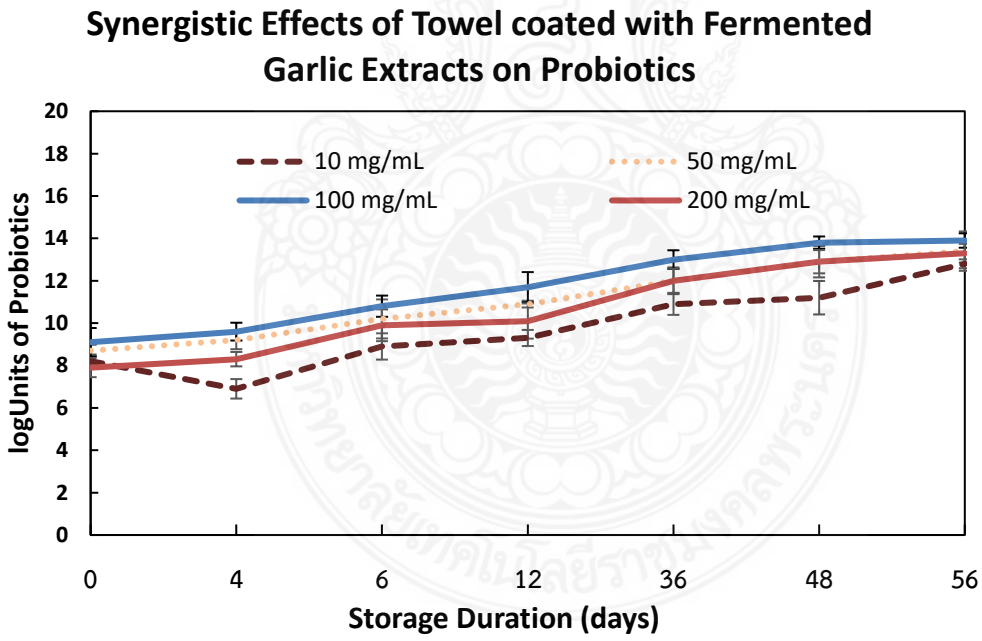
ภาพที่ 4.18 ความสามารถในการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อประโยชน์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวที่มีนมร้อยละ 50 ที่ได้จากคอมบูชา เรียงจากซ้ายไปขวา คือ สารสกัดน้ำหมักกระเทียม และเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด nutrient broth น้ำที่ได้จากการเขย่าแยกกระดาษเช็ดมือที่มีสารสกัดกระเทียมเคลือบ Dilution 1/10 จากหลอดที่ 1 ถึงหลอดที่ 5



ภาพที่ 4.19 กลุ่มเชื้อราที่เจริญเติบโตได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด Potato dextrose broth ที่มีสารสกัดน้ำหมักกระเทียมร้อยละ 10 เรียงจากซ้ายไปขวาแสดง อาหารเลี้ยงเชื้อ ตัวควบคุม น้ำหมักกระเทียมที่มีการเจือจางในความเข้มข้น 1/10 จากหลอดที่ 1 ถึง หลอดที่ 4 ตามลำดับ



ภาพที่ 4.20 ความสามารถในการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเหลวที่มีนมร้อยละ 50 เรียงจากซ้ายไปขวา คือ สารสกัดกระเทียม และเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด nutrient broth น้ำที่ได้จากการเขย่าแยกกระดาษเช็ดมือที่มีสารสกัดกระเทียมเคลือบ Dilution 1/10 จากหลอดที่ 1 ถึงหลอดที่ 5



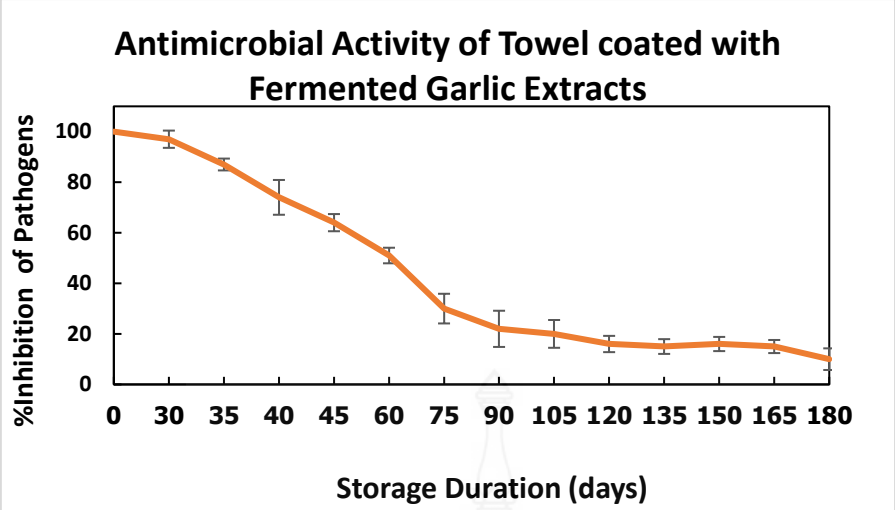
ภาพที่ 4.21 ความสามารถของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมที่เคลือบบนกระดาษเช็ดมือในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์

ข. ศึกษาอายุการใช้งานของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเคลือบบนกระดาษเช็ดมือ มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

จากการพัฒนาสูตรผสมของสารสกัดกระเทียมหมักด้วยการเพิ่มสารสกัดสมุนไพรในครัวเรือนที่มีศักยภาพในการเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์และการกำจัดสิ่งสกปรก และทั้งยังคงคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์และการส่งเสริมการเจริญเติบโตของกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ และเมื่อนำสารสกัดกระเทียมหมักไปเคลือบลงบนกระดาษเช็ดมือ แล้วทำให้แห้ง โดยทำการเคลือบสองครั้ง แล้วนำกระดาษเช็ดมือมาทำการทดสอบในอาหารเลี้นงเชื้อในหลอดพบว่า

1.1) อายุการใช้งานของกระดาษเช็ดมือที่เคลือบด้วยสารสกัดดังกล่าวว่ามีประสิทธิภาพในการทำงาน เน้นด้านการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคโดยรวม ซึ่งในที่นี้ได้เลือกเชื้อผสมของเชื้อแบคทีเรียก่อโรค พบว่ามักก่อให้เกิดการติดเชื้อทางผิวหนัง ก่อให้เกิดท้องเสีย เป็นตัวบ่งบอกถึงความไม่สะอาด และก่อให้เกิดอาการไข้ได้บ่อย ในรูปของเชื้อที่ผสมกัน คือ เชื้อ *Escherichia coli, Staphylococcus aureus* และ *Streptococcus faecalis* ซึ่งพบว่า ในระหว่างระยะเวลานาน 180 วัน ได้มีการนำกระดาษเช็ดมือเคลือบสารสกัดกระเทียมหมักเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำปริมาณ 500 mg มาทดสอบดูประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค ในอาหารเหลวชนิด Nutrient broth แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง แล้วนำไปวัดความเข้มข้นของเซลล์จุลินทรีย์ก่อโรค ที่ลดลงด้วยการวัดการดูดกลืนของแสง ที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร พบว่ากระดาษเช็ดมือที่เคลือบด้วยสารสกัดกระเทียมหมักสามารถส่งเสริมการลดลงของจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดได้ โดยสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคทั้งสามชนิดได้ดีอย่างน้อย 50% ในระยะเวลา 60 วัน (ภาพที่ 4.22) ที่พบว่าสามารถยับยั้ง ซึ่งบ่งบอกค่า MIC เท่ากับ 60 วัน ทำให้ทราบถึงการเก็บรักษากระดาษเช็ดมือในภาชนะปิด แห้ง ไม่มีแสงได้ จะสามารถเก็บได้นานอย่างน้อย 60 วัน และหากเก็บไว้ที่อุณหภูมิเย็นเช่น 4°C คาดว่าน่าจะสามารถเก็บรักษาไว้ได้นานดีขึ้น อาจมากกว่า 180 วัน ซึ่งเหมาะสมกับการนำไปใช้งานในรูปแบบซองกระดาษเช็ดมือแบบแห้ง หรือเปียกก็ได้ (ภาพที่ 4.23) แต่ทั้งนี้จะเหมาะสมในการนำมาเช็ดมือเพื่อลดจำนวนของเชื้อก่อโรค

1.2) ความสามารถในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในกลุ่มที่มีประโยชน์หรือโพรไบโอติกส์ยังคงอยู่จากการนำกระดาษที่เก็บไว้นานมากกว่า 4 เดือนมาใส่ในอาหารเหลวชนิดมีนมร้อยละ 50 พบว่ายังคงสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของโพรไบโอติกส์ได้ดี ไม่ก่อโทษยับยั้งเชื้อดังกล่าว ดังแสดงใน ภาพที่ 13 แสดงถึงการเจริญเติบโตของเชื้อโพรไบโอติกส์ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีอายุเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 4 เดือน



ภาพที่ 4.22 อายุการทำงานของกระดาษเช็ดมือเคลือบสารสกัดกระเทียมหมักในช่วงระยะเวลานาน 180 วัน

ภาพที่ 4.23 ตัวอย่างสารสกัดกระเทียมหมักในชุดคิทสารสกัดน้ำหมักกระเทียมที่เก็บไว้นาน 180 วัน

4.4 ชุดคิทสารสกัดน้ำหมักกระเทียมพร้อมการใช้งานเพื่อใช้ฉีดพ่นบนกระดาษเช็ดมือ

จากการพัฒนาสารสกัดน้ำหมักกระเทียมให้เป็นสูตรสารสกัดน้ำหมักกระเทียมผสมกับสมุนไพรกานพลู มะกรูด หรือ อบเชย ทั้งหมด 3 สูตร (ภาพที่ 4.24) พบว่ามีกลิ่นและประสิทธิภาพของการคงตัวของกลิ่นนานเป็นที่พึงพอใจมากขึ้นจากเดิมที่มีกลิ่นเปรี้ยวอ่อนของผลไม้หมักแม้ว่าไม่มีกลิ่นของกระเทียมรบกวน และเมื่อทดลองนำไปสเปรย์ลงบนกระดาษเช็ดมือ พบว่าสารสกัดน้ำหมักผสมในปริมาณ 10 mL พอเหมาะกับกระดาษเช็ดมือปริมาณ 30 แผ่น (ภาพที่ 4.25) จากชุดคิทลทสารสกัดน้ำหมักกระเทียมพร้อมการใช้งานที่พัฒนาได้สามารถเป็นต้นแบบที่สามารถนำไปพัฒนาปรับปรุงต่อไปได้

ภาพที่ 4.24 ตัวอย่างสูตรสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเพื่อการนำไปใช้ โดยการสเปรย์ลงบนกระดาษเช็ดมือก่อนการนำกระดาษเช็ดมือไปใช้งาน สูตร 1-3 มีสารสกัดสมุนไพรในครัวเรือนเพิ่มลงไป ร้อยละ 3-5 เพื่อเพิ่มกลิ่นและประสิทธิภาพในการทำงาน คือ กานพลู มะกรูด หรือ อบเชย ตามลำดับ

ภาพที่ 4.25 ตัวอย่างชุดคิทสารสกัดน้ำหมักกระเทียมผสมกับสารสกัดสมุนไพรกานพลู

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

การดำเนินงานวิจัยเรื่อง นวัตกรรมสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเคลือบกระดาษเช็ดมือ เพื่อช่วยเสริมสร้างภูมิคุ้มกันต่อเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคปนเปื้อนบนผิวหนัง สามารถสรุปได้ดังนี้

ในการศึกษานี้ทีมผู้วิจัยได้ทำการพัฒนาสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเพื่อใช้เคลือบกระดาษเช็ดมือ โดยการพัฒนาเป็นชุดคิทของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมต้นแบบที่มีทางเลือกคือ กระดาษเช็ดมือที่มีสารสกัดน้ำหมักกระเทียมเคลือบอยู่ หรือเป็นชุดคิทที่มีทั้งสารสกัดน้ำหมักกระเทียมและกระดาษเช็ดมือที่พัฒนาจากการใช้เส้นใยธรรมชาติจากพืช หรือทางเลือกที่ใช้กระดาษเช็ดมือที่มีทั่วไป ทางการค้า ทั้งนี้ในการศึกษาให้ได้มาของสารสกัดน้ำหมักกระเทียม ด้วยคุณสมบัติที่ได้จากการเลือกใช้จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ได้จากนมเปรี้ยว โยเกิร์ต และคอมบูชาผลไม้ที่ผ่านการหมักด้วยกระเทียม สามารถกระตุ้นการเจริญเติบโตของโพรไบโอติกส์ทั่วไปและสามารถยับยั้งจุลินทรีย์กลุ่มที่ก่อโรคได้ ทั้งในรูปแบบสารสกัดน้ำหมักที่เป็นของเหลว และที่เป็นสารสกัดน้ำหมักกระเทียมที่แห้งบนกระดาษเช็ดมือ และด้วยคุณสมบัติดังกล่าวที่มีอายุการใช้ที่ยาวนาน สามารถเก็บรักษาไว้ได้นานมากกว่า 6เดือน ที่ยังคงคุณสมบัติความสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคบนผิวหนังของสารสกัดน้ำหมักกระเทียมก่อนและหลังการเคลือบบนกระดาษเช็ดมือ ชุดคิทสารสกัดน้ำหมักกระเทียมพร้อมการใช้งานเพื่อใช้ฉีดพ่นบนกระดาษเช็ดมือที่ได้ดังกล่าว จะสามารถนำไปสู่การพัฒนาสารสกัดสมุนไพรอื่น ๆ ที่จะเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรคที่มาจากในอากาศและที่ปนเปื้อนบนผิวสัมผัสได้อย่างดี สามารถนำไปพัฒนาในเชิงเชิงพาณิชย์ระดับอุตสาหกรรม ทำให้ได้แนวทางการใช่สมุนไพร เป็นเทคโนโลยีสีเขียวของการลดใช้สารเคมีที่เป็นพิษที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ ลดปัญหาของสิ่งแวดล้อมและอันตรายจากการใช้สารเคมี

บรรณานุกรม

Brace L.D. Cardiovascular benefits of garlic (Allium sativum L) Journal of Cardiovascular Nursing.
2002;16(4):33–49.

Bui Thi Phuong Thuy, Tran Thi Ai My, Nguyen Thi Thanh Hai, et al., Investigation into SARS-CoV-2 Resistance of Compounds in Garlic. Essential Oil. ACS Omega 2020;5(14):8312-8320.

Kozyrovska, N.O., Reva, O. M.,Goginyan, V. B., de Vera, J. P. Kombucha microbiome as a probiotic: a view from the perspective of post-genomics and synthetic ecology. Biopolymers and Cell. 2012; 28(2): 103–113.

Mehrbod P, Amini E, Tavassoti-Kheiri M. Antiviral activity of garlic extract on Influenza virus. Iranian Journal of Virology 2009;3(1): 19-23

Nai-Lan G, Cao-Pei L, Woods GL, Reed E, Gui-Zhen Z, Li-Bi Z, Waldman RH. Demonstration of antiviral activity of garlic extract against human cytomegalovirus in vitro. Chin Med J. 1993;106:93–96.

Razina Rouf, Shaikh Jamal Uddin, Dipto Kumer Sarker, Muhammad Torequl Islam, Eunus S. Ali, Jamil A. Shilpi, Lutfun Nahar, Evelin Tiralongo,g and Satyajit D. Sarker. Antiviral potential of garlic (Allium sativum) and its organosulfur compounds: A systematic update of pre-clinical and clinical data..Trends Food Sci Technol. 2020;104:219–234.

Rees LP, Minney SF, Plummer NT. Assessment of the anti-microbial activity of garlic (*Allium sativum*) World J Microbiol Biotechnol. 1993;9:303–307.

Santos F.C.C., Carvalho N.U.M. Alcoholic tincture of garlic (Allium sativum) on gastrointestinal endoparasites of sheep-short communication. Ciencia Animal Brasileira. 2014;15:115–118.

Sharma VD, Sethi MS, Kumar A, Rarotra JR. Antibacterial property of *Allium sativum* Linn : in vivo & *in vitro* studies. Indian J Exp Biol. 1977;15:466–468.

Staba E.J., Lash L., Staba J.E. A commentary on the effects of garlic extraction and formulation on product composition. Jouranl of Nutritions. 2001;131(3s):1118s–1119s.

Thorakkattu, P., Khanashyam, A. C., Shah, K., Babu, K. S., Mundanat, A. S., Deliephan, A., ... & Nirmal, N. P. (2022). Postbiotics: Current trends in food and Pharmaceutical industry. Foods, 11(19), 3094.

Vimalanathan S, Hudson J, Anti-influenza virus activity of essential oils and vapors. American Journal of Essential Oils and Natural Product s 2014;2(1): 47-53.

Yu T.-H., Wu C.-M. Stability of allicin in garlic juice. Journal of Food Science. 1989;54(4):977–981.

ไม่มีเนื้อหาจากต้นฉบับ

ไม่มีเนื้อหาจากต้นฉบับ