

บทที่ 4

ผลการวิจัย

1. ผลการรวบรวมและแยกเชื้อจุลินทรีย์

การแยกเชื้อจุลินทรีย์

จากการแยกเชื้อจุลินทรีย์ในนมพาสเจอร์ไรซ์ และโยเกิร์ต จำนวน 30 ผลึกภัณฑ์ ที่วางจำหน่ายตามร้านค้าต่าง ๆ โดยแบ่งเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ ผลึกภัณฑ์ที่ยังไม่หมดอายุ ที่หมดอายุแล้ว และที่เปิดตั้งทิ้งไว้ โดยวิธี dilution pour plate ที่ระดับความเจือจาง 10^{-1} ถึง 10^{-10} บนอาหาร NA และ PDA พบว่าในผลึกภัณฑ์ที่ยังไม่หมดอายุ ส่วนใหญ่ไม่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์เลย และบางส่วนมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์เพียงเล็กน้อยซึ่งอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน ส่วนในผลึกภัณฑ์ที่หมดอายุแล้ว และที่เปิดตั้งทิ้งไว้ พบว่ามีจุลินทรีย์เจริญเติบโตเป็นจำนวนมาก (รูป 17 และ ตาราง 10)



รูป 17 โคโลนีของจุลินทรีย์ที่แยกได้จากนมพาสเจอร์ไรซ์และ โยเกิร์ต บนอาหาร NA

ตาราง 10 จำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์ที่แยกได้จากนมพาสเจอร์ไรซ์และโยเกิร์ต แบบที่ไม่หมักอายุ
หมักอายุแล้ว และที่เป็ดตั้งทิ้งไว้บนอาหาร NA โดยวิธี dilution pour plate

ผลิตภัณฑ์	ค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนี (CFU / ml)		
	กลุ่มผลิตภัณฑ์		
	A	B	C
นมพาสเจอร์ไรซ์ ตราโฟรโมสต์			
นมสด	1.2×10	6.4×10^5	1.5×10^{11}
นมสดไขมันต่ำ	1.8×10	7.1×10^5	1.5×10^{12}
นมรสหวาน	1.4×10	1.2×10^6	5.8×10^{11}
นมรสช็อกโกแลต	-	1.4×10^5	1.2×10^{11}
นมรสกล้วยหอม	1.1×10	1.1×10^3	1.6×10^{10}
นมรสสตอเบอรี่	1.8×10	1.2×10^5	1.4×10^{11}
นมรสกาแฟ	-	2.4×10^3	3.6×10^{10}
นมรสใบเตย	-	2.8×10^4	2.2×10^{10}
นมพาสเจอร์ไรซ์ ตราสหกรณ์ เชียงใหม่			
นมสด	4.8×10	3.6×10^8	5.8×10^{13}
นมรสหวาน	6.5×10	8.2×10^8	8.2×10^{13}
นมรสช็อกโกแลต	3.2×10	5.5×10^6	1.8×10^{11}
นมรสสตอเบอรี่	6.1×10	3.7×10^8	3.6×10^{12}
นมพาสเจอร์ไรซ์ ตราเมจิ			
นมสด	1.1×10	2.3×10^3	9.6×10^{10}
นมสดแคลเซียมสูง-ไขมันต่ำ	1.2×10	3.7×10^4	2.4×10^8
นมรสหวาน	-	3.3×10^3	1.4×10^9
นมรสโกโก้	1.7×10	2.1×10^3	1.6×10^{11}
นมรสช็อกโกแลต-มอลต์	1.2×10	4.2×10^3	1.8×10^{11}
นมสดขาดมันเนย	1.6×10	1.2×10^4	3.2×10^{10}
นมรสกาแฟ	-	2.4×10^3	2.7×10^{12}
นมรสสตอเบอรี่	1.3×10	1.1×10^3	8.2×10^{10}

ตาราง 10 (ต่อ)

ผลิตภัณฑ์	ค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนี (CFU / ml)		
	กลุ่มผลิตภัณฑ์		
	A	B	C
โยเกิร์ตพร้อมดื่ม ตราคัมมิลล์			
รสตรอเบอร์รี่	2.2×10	1.1×10^3	1.2×10^8
รสส้ม	2.1×10	4.7×10^4	7.2×10^9
รสบลูเบอร์รี่	2.2×10	3.8×10^4	2.0×10^9
รสผลไม้รวม	3.1×10	3.5×10^4	8.9×10^9
รสผสมวันมะพร้าว	3.2×10	3.1×10^4	1.4×10^{10}
โยเกิร์ตพร้อมดื่ม ตราโฟรโมสต์			
รสตรอเบอร์รี่	2.1×10	2.1×10^3	2.8×10^9
รสส้ม	2.4×10	6.5×10^3	7.2×10^{10}
รสผลไม้รวม	2.4×10	1.3×10^4	1.4×10^9
รสมิคซ์เบอร์รี่	3.3×10	5.2×10^3	1.9×10^{10}
รสบลูเบอร์รี่	3.1×10	4.3×10^3	2.2×10^{10}

หมายเหตุ A = ยังไม่หมดอายุ B = หมดอายุแล้ว C = เปิดตั้งทิ้งไว้

การคัดเลือกและรวบรวมเชื้อจุลินทรีย์

จากการแยกเชื้อจุลินทรีย์ในนมพาสเจอร์ไรซ์และ โยเกิร์ต พบจุลินทรีย์จำนวนมากในผลิตภัณฑ์ที่หมดอายุแล้ว และที่เปิดตั้งทิ้งไว้ จึงคัดเลือกโคโลนีของจุลินทรีย์ที่พบมากที่สุดไปแยกทำให้เชื้อบริสุทธิ์ จำนวน 93 ไอโซเลต และรวบรวมจาก stock culture ของจุลินทรีย์ก่อปัญหาในน้ำนมที่ทราบชนิดแล้วอีก 7 ไอโซเลต (ตาราง 11 และ รูป 18) และเก็บรักษาไว้เป็น stock culture เพื่อใช้ในการทดสอบขั้นต่อไป โดยเก็บแบคทีเรียและยีสต์ในขวด vial ที่มีอาหาร tryptose broth (20% glycerol) และเก็บราในขวด vial ที่มีน้ำกลั่นฆ่าเชื้อ นำจุลินทรีย์ทั้งหมดไปเก็บไว้ในตู้เย็น ที่อุณหภูมิ 4-10 °C

ตาราง 11 จำนวนไอโซเลทของจุลินทรีย์ที่คัดเลือกจากนมพาสเจอร์ไรซ์ โยเกิร์ต และ stock culture
บนอาหาร NA และ PDA

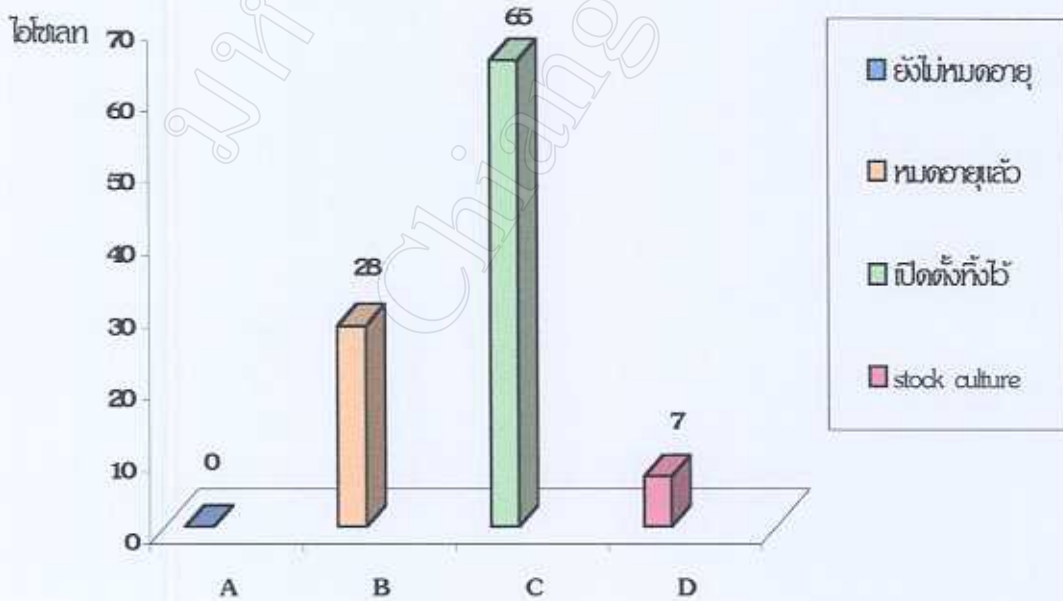
ผลิตภัณฑ์	จำนวนไอโซเลทที่คัดเลือก			รวม
	A	B	C	
นมพาสเจอร์ไรซ์ คราฟโร โมสต์				
นมสด	0	1	1	2
นมสดไขมันต่ำ	0	3	3	6
นมรสหวาน	0	2	2	4
นมรสช็อกโกแลต	0	0	0	0
นมรสกล้วยหอม	0	0	2	2
นมรสสตอเบอรี่	0	4	2	6
นมรสกาแฟ	0	0	0	0
นมรสใบเตย	0	0	0	0
นมพาสเจอร์ไรซ์ คราสทกรม เชียงใหม่				
นมสด	0	6	7	13
นมรสหวาน	0	2	9	11
นมรสช็อกโกแลต	0	0	0	0
นมรสสตอเบอรี่	0	0	0	0
นมพาสเจอร์ไรซ์ คราเมจิ				
นมสด	0	0	2	2
นมสดแคลเซียมสูง-ไขมันต่ำ	0	0	2	2
นมรสหวาน	0	0	1	1
นมรสโกโก้	0	0	3	3
นมรสช็อกโกแลต-มอลต์	0	0	2	2
นมสดขาดมันเนย	0	0	2	2
นมรสกาแฟ	0	0	3	3
นมรสสตอเบอรี่	0	0	2	2
โยเกิร์ตพร้อมดื่ม คราดัชมิลล์				
รสสตอเบอรี่	0	0	2	2

ตาราง 11 (ต่อ)

ผลิตภัณฑ์	จำนวนไอโซเลทที่คัดเลือก			รวม
	A	B	C	
รสส้ม	0	1	1	2
รสบลูเบอร์รี่	0	4	3	7
รสผลไม้รวม	0	1	3	4
รสผสมวันมะพร้าว	0	2	2	4
โยเกิร์ตพร้อมดื่ม ตราโฟรโมสต์				
รสสตรอเบอร์รี่	0	0	0	0
รสส้ม	0	1	3	4
รสผลไม้รวม	0	0	2	2
รสมิสกีเบอร์รี่	0	1	6	7
รสบลูเบอร์รี่	0	0	0	0
Stock culture	-	-	-	7
รวม	0	28	65	100

หมายเหตุ

A = ยังไม่หมักอายุ B = หมักอายุแล้ว C = เปิดตั้งทิ้งไว้



รูป 18 จำนวนไอโซเลทของจุลินทรีย์ที่รวบรวมจากนมพาสเจอร์ไรส์ โยเกิร์ต และ stock culture

การให้รหัสไอโซเลทของเชื้อจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์ที่บริสุทธิ์แล้ว จำนวน 100 ไอโซเลท นำมากำหนดรหัสก่อนเก็บรักษาไว้เป็น stock culture เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป (ตาราง 12)

ตาราง 12 รหัสไอโซเลทของจุลินทรีย์ที่รวบรวมจากนมพาสเจอร์ไรซ์ โยเกิร์ต และ stock culture

ผลิตภัณฑ์	รหัสไอโซเลทของจุลินทรีย์ (code)
นมพาสเจอร์ไรซ์ ตราโฟรโมสต์	
นมสด	PF P e1 , PF P o1
นมสดไขมันต่ำ	PFLFe1 , PFLFe2 , PFLFe5 , PFLFo1 , PFLFo2 , PFLFo3
นมรสหวาน	PF W e1 , PF W e2 , PF W o1 , PF W o2
นมรสช็อกโกแลต	-
นมรสกล้วยหอม	PF B 01 , PF B o2
นมรสตรอเบอร์รี่	PF SB e1 , PF SB e2 , PF SB e3 , PF SB e4 , PF SB o1 , PF SB o2
นมรสกาแฟ	-
นมรสใบเตย	-
นมพาสเจอร์ไรซ์ ตราสหกรณ์ เชียงใหม่	
นมสด	PS P e1 , PS P e2 , PS P e3 , PS P e4 , PS P e6 , PS P e7 , PSPo1 , PSPo2 , PSPo3 , PSPo4 , PSPo5 , PSPo6 , PSPo7
นมรสหวาน	PS W e1 , PS W e2 , PS W o1 , PS W o2 , PS W o3 , PS W o4 , PS W o5 , PS W o6 , PS W o7 , PS W o8 , PS W o9
นมรสช็อกโกแลต	-
นมรสตรอเบอร์รี่	-
นมพาสเจอร์ไรซ์ ตราเมจิ	
นมสด	PM P o1 , PM P o2
นมสดแคลเซียมสูง-ไขมันต่ำ	PM HL o1 , PM HL o2
นมรสหวาน	PM W o1
นมรสโกโก้	PM K o1 , PM K o2 , PM K o3
นมรสช็อกโกแลต-มอลต์	PM CH o1 , PM CH o2

ตาราง 12 (ต่อ)

ผลิตภัณฑ์	รหัสไอโซเลทของจุลินทรีย์ (code)
นมสดขาดมันเนย	PM NF o1 , PM NF o2
นมรสกาแฟ	PM CO o1 , PM CO o2 , PM CO o3
นมรสสตอเบอรี่	PM SB o1 , PM SB o2
โยเกิร์ตพร้อมดื่ม คราตซ์มิลล์	
รสสตอเบอรี่	YD SB o1 , YD SB o2
รสส้ม	YD O e1 , YD O o1
รสบลูเบอรี่	YD BB e1 , YD BB e2 , YD BB e3 , YD BB e4 , YD BB o1 , YD BB o2 , YD BB o3
รสผลไม้รวม	YD M e1 , YD M o1 , YD M o2 , YD M o3
รสผสมวันมะพร้าว	YD C e2 , YD C e5 , YD C o1 , YD C o3
โยเกิร์ตพร้อมดื่ม คราโฟรโมสต์	
รสสตอเบอรี่	-
รสส้ม	YF O e1 , YF O o1 , YF O o2 , YF O o3
รสผลไม้รวม	YF M o1 , YF M o2
รสมิคซ์เบอรี่	YF MB e1 , YF MB o1 , YF MB o2 , YF MB o3 , YF MB o4 , YF MB o5 , YF MB o6
รสบลูเบอรี่	-
Stock culture	<i>B. cereus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>E.coli</i> , <i>Ent. aerogenes</i> , <i>M. luteus</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Salmonella</i> sp.

หมายเหตุ รหัสไอโซเลทของจุลินทรีย์จะกำหนดด้วยตัวอักษรและตัวเลข ดังนี้

* กลุ่มแรก มี 2 ตัวอักษร ให้ตัวแรกเป็นประเภทผลิตภัณฑ์ และตัวสองเป็นตรา

P = นมพาสเจอร์ไรซ์

Y = โยเกิร์ต

F = โฟรโมสต์

S = สหกรณ์ เชียงใหม่

M = เมจิ

D = คัชมิลล์

* กลุ่มสอง แทนชนิดของนม

P = นมสด

W = นมรสหวาน

B = นมรสกล้วยหอม

K = นมรสโกโก้

O = นมรสส้ม

M = นมรสผลไม้รวม

C = นมผสมวุ้นมะพร้าว

CH = นมรสช็อกโกแลต

LF = นมสดไขมันต่ำ

SB = นมรสสตอเบอรี่

HL = นมสดแคลเซียมสูง - ไขมันต่ำ

CM = นมรสช็อกโกแลต - มอลต์

NF = นมสดขาดมันเนช

CO = นมรสกาแฟ

BB = นมรสบลูเบอรี่

MB = นมรสมิคซ์เบอรี่

* กลุ่มสาม ให้ตัวอักษรแทนกลุ่มที่แยกเชื้อได้ และตัวเลขแทนลำดับไอโซเลท

e = ผลิตภัณฑ์ที่หมดอายุ

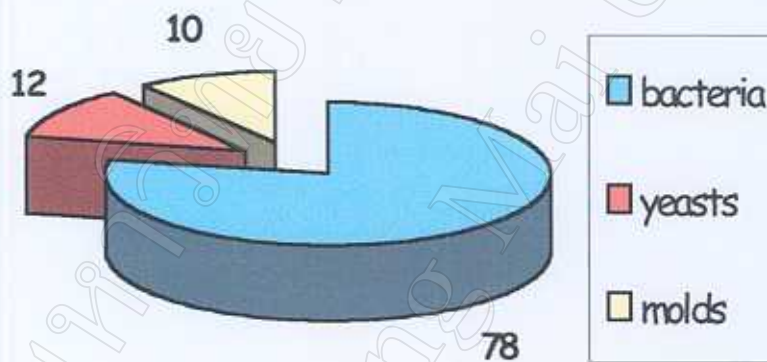
o = ผลิตภัณฑ์ที่เปิดตั้งทิ้งไว้

1, 2, 3, = ลำดับไอโซเลท

2. ผลการจัดจำแนกชนิดของจุลินทรีย์

เชื้อจุลินทรีย์บริสุทธิ์ที่ได้จากการรวบรวมและแยกจากนมพาสเจอร์ไรซ์และโยเกิร์ต นำมา กำหนดรหัส จากนั้นศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาขั้นพื้นฐานเพื่อแยกคร่าว ๆ ว่าเป็นแบคทีเรีย ยีสต์ หรือรา โดยการศึกษาด้วยตาเปล่า เปรียบเทียบรูปร่าง สี ขนาดของโคโลนี ลักษณะการเจริญ บนอาหารวุ้น และศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์จากการย้อมสีแบบกรัม เพื่อสังเกตรูปร่าง ขนาด และการจัดเรียงตัวของเซลล์ ผลจากการศึกษาพบว่าเป็น แบคทีเรีย 78 ไอโซเลท ยีสต์ 12 ไอโซเลท และรา 10 ไอโซเลท (ตาราง 13 และ รูป 19)

เมื่อนำเชื้อแต่ละไอโซเลทมาจัดจำแนกชนิด โดยแบคทีเรียและยีสต์นำมาทดสอบปฏิกิริยาชีวเคมี ส่วนรานำมาศึกษาส่วนประกอบและ โครงสร้างได้กล้องจุลทรรศน์ด้วยเทคนิค slide culture พบว่าเป็นแบคทีเรีย 39 ชนิด ยีสต์ 3 ชนิด และรา 6 ชนิด (ภาคผนวก ข)



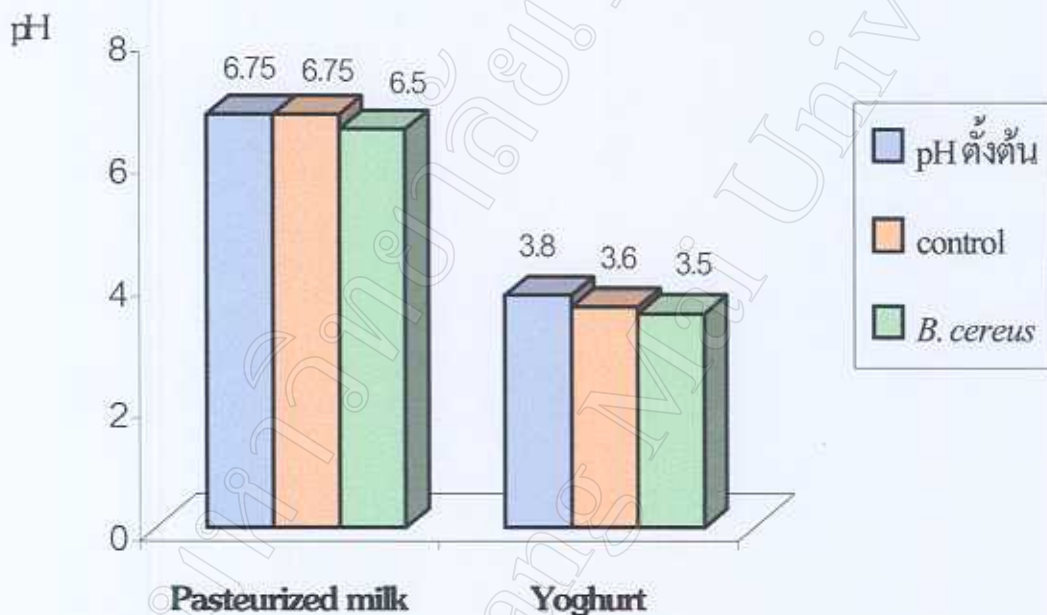
รูป 19 จำนวนไอโซเลทของจุลินทรีย์แต่ละชนิด ที่รวบรวมจากนมพาสเจอร์ไรซ์และโยเกิร์ต

ตาราง 13 ชนิดของจุลินทรีย์ที่รวบรวมจากนมพาสเจอร์ไรซ์ โยเกิร์ต และ stock culture

จุลินทรีย์			Code
Molds	<i>Aspergillus</i>	1	YD C o1 , PS W o8 , PS P o6
	<i>Aspergillus</i>	2	YD C o3 , PF LF o3
	<i>Penicillium</i>	1	PS P o1
	<i>Penicillium</i>	2	PM HL o2 , PS P o7
	<i>Cladosporium</i>	1	PF P o1
	<i>Cladosporium</i>	2	PS W o9
Yeasts	yeast 1		PS P e3 , PS P e6
	Yeast 2		PS W e2 , PS W o6
	Yeast 3		YF O o1 , YF O o3 , YF MB o1 , YF MB o2 , YF MB o4 , YD BB o1 , YD BB o2 , YF M o1
Bacteria	G ⁺ cocci		PF LF e1 , PF LF e5 , PF LF o2 , PF LF e2 , PF SB e3 , PF W e1 , PF SB e1 , PS W o5 , YD M o1 , YD M o3 , YD SB o2 , YD BB e1 , <i>M. luteus</i> , <i>S. aureus</i>
	G ⁺ rod		YD C e2 , YD C e5 , PF P e1 , PS P o3 , YF O o2 , YF MB o6 , YD BB o4 , YD SB o1 , YD BB e2 , YD O e1 , YF MB e1 , YF O e1 , PS P e2 , PS P e4 , PS P e7 , PF SB e4 , PF W o2 , PF SB e2 , PS P o2 , PS W o7 , PS P o4 , PS P o5 , PF SB o1 , PS W o2 , YD M e1 , PF SB o2 , PF W o1 , PF B o1 , PF B o2 , PS W o4 , PM HL o1 , PM CO o1 , PM CO o2 , PM CO o3 , PMCH o1 , PMCH o2 , PMK o1 , PMK o2 , PMK o3 , PMNF o1 , PMSB o2 , PMNF o2 , PMP o1 , PMP o2 , PMSB o1 , YF MB o3 , YF MB o5 , PMW o1 , YD BB o3 , YD M o2 , YD O o1 , YF M o2 , YD BB e3 , <i>B. cereus</i> , <i>B. subtilis</i>
	G ⁻ cocci		PS P e1 , PF W e2 , PF LF o1
	G ⁻ rod		PS W e2 , PS W o1 , PS W o3 , <i>E. coli</i> , <i>Ent. Aerogenes</i> , <i>salmonella</i> sp.

3. ผลการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่ก่อปัญหาและเพิ่มจำนวนได้ในนมพาสเจอร์ไรซ์และโยเกิร์ต

จากการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่ก่อปัญหาและเพิ่มจำนวนได้ในนมพาสเจอร์ไรซ์และโยเกิร์ต โดยเฉพาะเชื้อลงในตัวแทนผลิตภัณฑ์นมพาสเจอร์ไรซ์และโยเกิร์ตที่ยังไม่หมดอายุ แล้วบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นดูการเปลี่ยนแปลงของ สี กลิ่น pH (รูป 20) และการเพิ่มจำนวน พบว่าทุกไอโซเลททำให้สีและกลิ่นของนมพาสเจอร์ไรซ์เปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย (ตาราง 14 และ 15) แต่ทำให้ pH ลดลง และสามารถเพิ่มจำนวนได้ ส่วนในโยเกิร์ต พบว่าทุกชนิดไม่ทำให้สีและกลิ่นเปลี่ยนแปลง แต่ทำให้ pH ลดลง และเพิ่มจำนวนได้เพียงเล็กน้อย (ตาราง 16 และ 17)



รูป 20 การเปลี่ยนแปลง pH ในนมพาสเจอร์ไรซ์และโยเกิร์ต โดยเชื้อ *B. cereus*

ตาราง 14 ผลการเปลี่ยนแปลงจำนวนของจุลินทรีย์ในตัวแทนมพาสเจอไรซ์ หลังบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากจำนวนเชื้อตั้งต้น 1.5×10^3 CFU / ml

จำนวนจุลินทรีย์ (CFU / ml)	Code
$\geq 1.5 \times 10^3$	PS P e3, PS W e1, PS W o6, PS W o7, PM W o1, YF O o1, YF O o3, YF MB o1, YF MB o2, YF MB o4, YD BB o1, YD BB o2, YF M o1, YF M o2, YD BB e3, YD O e1, YD M e1, YF MB e1, YF O e1, <i>E. coli</i> , <i>Ent. aerogenes</i>
$> 10^6 - 10^8$	PFLF e1, PFLF e4, PFLF e5, YD C e2, YD C e5, PF P e1, PF SB e3, PS P e1, PS P e4, PS P e6, PS P e7, PF W e2, PF SB e4, PF SB e2, PS P o2, PS P o3, PS P o4, PS P o5, PF SB o1, PF SB o2, PF W o1, PF W o2, PF LF o2, PF B o2, PS W o1, PS W o2, PM HL o1, PM CO o1, PM CO o2, PM CO o3, PM CH o1, PM CH o2, PM P o1, PM P o2, PM SB o1, YF O o2, YF MB o3, YF MB o5, YF MB o6, YD BB o3, YD BB o4, YD M o1, YD M o2, YD M o3, YD O o1, YD SB o1, YD SB o2, YD BB e1, YD BB e2, <i>B. cereus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>Salmonella</i> sp.
$> 10^8 - 10^{10}$	PF W e1, PS P e2, PF SB e1, PS W e2, PF LF o1, PF B o1, PS W o3, PS W o4, PS W o5, PM K o1, PM K o2, PM K o3, PM NF o1, PM NF o2, PM SB o2, YD C o1, YD C o3, <i>M. luteus</i> , <i>S. aureus</i>
$> 10^{10}$	PF P o1, PFLF o3, PS P o1, PM HL o2, PS W o8, PS W o9, PS P o6, PS P o7

หมายเหตุ รายละเอียดของจำนวนจุลินทรีย์แสดงในภาคผนวก ฉ

ตาราง 15 ผลการเปลี่ยนแปลงจำนวนของจุลินทรีย์ในตัวแทน โยเกิร์ต หลังบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากจำนวนเชื้อตั้งต้น 1.5×10^3 CFU / ml

จำนวนจุลินทรีย์ (CFU / ml)	Code
$\leq 10^4$	PF LF e1 , PF LF e4 , YD C e5 , YD C e2 , YD C e5 , PF P e1 , PF SB e3 , PF W e1 , PS P e1 , PS P e2 , PS P e4 , PS P e6 , PS P e7 , PF W e2 , PF SB e4 , PF SB e1 , PF SB e2 , PS W e2 , PS P o2 , PS P o3 , PS P o4 , PS P o5 , PF SB o1 , PF SB o2 , PF W o1 , PF W o2 , PF LF o1 , PF LF o2 , PF B o1 , PF B o2 , PS W o1 , PS W o2 , PS W o3 , PS W o4 , PS W o5 , PM HL o1 , PM CO o1 , PM CO o2 , PM CO o3 , PM CH o1 , PM CH o2 , PM K o1 , PM K o2 , PM NF o1 , PM P o1 , PM P o2 , PM SB o1 , PM SB o2 , PM W o1 , <i>B. cereus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>M. luteus</i> , <i>S. aureus</i>
$> 10^4 - 10^6$	PM K o3 , PM NF o2 , YF O o2 , YF MB o3 , YF MB o5 , YF MB o6 , YD BB o3 , YD BB o4 , YD M o1 , YD M o2 , YD M o3 , YF M o2 , YD O o1 , YD SB o1 , YD SB o2 , YD BB e1 , YD BB e2 , YD O e1 , YD M e1 , YF MB e1 , YF O e1 , <i>E. coli</i> , <i>Ent. aerogenes</i> , <i>Salmonella</i> sp.
$> 10^6 - 10^8$	PS P e3 , PS W e1 , PS W o6 , PS W o7 , YF O o1 , YF O o3 , YF MB o1 , YF MB o2 , YF MB o4 , YD BB o1 , YD BB o2 , YF M o1 , YD BB e3
$> 10^8$	YD C o1 , YD C o3 , PF P o1 , PF LF o3 , PS P o1 , PM HL o2 , PS W o8 , PS W o9 , PS P o6 , PS P o7

หมายเหตุ รายละเอียดของจำนวนจุลินทรีย์แสดงในภาคผนวก ฉ

ตาราง 16 ผลการเปลี่ยนแปลง pH ในตัวแทนนมพาสเจอร์ไรซ์ หลังจากเพาะจุลินทรีย์ และบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (pH ตั้งต้นที่ 6.75)

ค่าความเป็นกรดค่า (pH)	Code
≥ 6.5	YD C e2 , YD C e5 , PF W e1 , PS P e2 , PS W e2 , PS P o3 , PS P o4 , PF SB o1 , PS W o1 , PM HL o1 , PM CO o2 , PM CO o3 , PM CH o1 , PM CH o2 , PM NF o1 , PM SB o2 , YF O o2 , YF MB o6 , YD BB o1 , YD BB o4 , YD M o2 , YD SB o1 , YD BB e2 , YD O e1 , YF MB e1 , YF O e1 , YD C o1 , YD C o3 , PF P o1 , PF LF o3 , PS P o1 , PM HL o2 , PS W o8 , PS W o9 , PS P o6 , PS P o7 , <i>B. cereus</i> , <i>M. luteus</i>
$> 6.0 - 6.5$	PFLF e1 , PFLF e4 , PFLF e5 , PF P e1 , PF SB e3 , PS P e1 , PS P e3 , PS P e4 , PS P e6 , PS P e7 , PF W e2 , PF SB e4 , PF SB e1 , PF SB e2 , PS P o2 , PS P o5 , PF SB o2 , PF W o2 , PFLF o1 , PFLF o2 , PF B o1 , PF B o2 , PS W o2 , PS W o4 , PS W o7 , PM CO o1 , PM K o1 , PM K o2 , PM K o3 , PM NF o2 , PM P o1 , PM P o2 , PM SB o1 , PM W o1 , YF O o1 , YF O o3 , YF MB o1 , YF MB o2 , YF MB o3 , YF MB o4 , YF MB o5 , YD BB o2 , YD BB o3 , YD M o1 , YD M o3 , YF M o1 , YF M o2 , YD O o1 , YD SB o2 , YD BB e1 , YD BB e3 , YD M e1 , <i>B. subtilis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Salmonella</i> sp.
$> 5.5 - 6.0$	PS W e1 , PS W o5 , PS W o6 , <i>Ent. aerogenes</i>
< 5.5	PF W o1 , PS W o3 , <i>E. coli</i>

หมายเหตุ รายละเอียดของการเปลี่ยนแปลง pH แสดงในภาคผนวก ฅ

ตาราง 17 ผลการเปลี่ยนแปลง pH ในตัวแทนโยเกิร์ต หลังจากเพาะจุลินทรีย์ และบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (pH ตั้งต้นที่ 3.6)

ค่าความเป็นกรดค่า (pH)	Code
≥ 3.6	PF LF e1 , PF P o1 , PF LF o3 , PS W o9 , PS P o6
$> 3.5 - 3.6$	PF LF e4 , PF LF e5 , YD C e2 , YD C e5 , PF P e1 , PF SB e3 , PF W e1 , PS P e1 , PS P e2 , PS P e3 , PS P e6 , PS P e7 , PS W e1 , PF W e2 , PF SB e2 , PS P o3 , PS P o4 , PF SB o1 , PF SB o2 , PF W o2 , PF LF o2 , PS W o2 , PS W o4 , PS W o5 , PS W o6 , PS W o7 , PM HL o1 , PM CO o1 , PM CO o2 , PM CH o1 , PM K o1 , PM K o3 , PM NF o2 , PM P o1 , PM P o2 , PM SB o1 , PM SB o2 , PM W o1 , YF O o2 , YF O o3 , YF MB o1 , YF MB o4 , YF MB o5 , YF MB o6 , YD BB o2 , YD BB o3 , YD BB o4 , YD M o1 , YD M o2 , YF M o1 , YF M o2 , YD O o1 , YD SB o2 , YD BB e3 , YD O e1 , YD M e1 , YF MB e1 , YF O e1 , YD C o1 , YD C o3 , PS P o1 , PM HL o2 , PS W o8 , PS P o7 , <i>B. cereus</i> , <i>B. subtilis</i>
$> 3.4 - 3.5$	PS P e4 , PF SB e4 , PF SB e1 , PS W e2 , PS P o2 , PS P o5 , PF W o1 , PF LF o1 , PF B o1 , PS W o1 , PS W o3 , PM CO o3 , PM CH o2 , PM K o2 , PM NF o1 , YF O o1 , YF MB o2 , YF MB o3 , YD BB o1 , YD M o3 , YD SB o1 , YD BB e1 , YD BB e2 , <i>E. coli</i> , <i>Ent. aerogenes</i> , <i>M. luteus</i> , <i>S. aureus</i> , <i>Salmonella</i> sp.
< 3.4	PF B o2

หมายเหตุ รายละเอียดของการเปลี่ยนแปลง pH แสดงในภาคผนวก ฅ

4. ผลของรอยัลเซลล์ต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยวิธี paper disc diffusion

จากการทดสอบผลของรอยัลเซลล์ต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ก่อปัญหาในนมพาสเจอร์ไรซ์และโยเกิร์ต โดยวิธี paper disc diffusion (รูป 21) โดยใช้รอยัลเซลล์จากผึ้งพันธุ์ ที่กินน้ำหวานของดอกไมยราบยักษ์เป็นหลัก จำนวน 3 รูปแบบ คือ แบบสด แบบแช่แข็ง และแบบแคปซูล ที่ระดับความเข้มข้น 200 mg / ml พบว่ารอยัลเซลล์แบบสดและแบบแช่แข็งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียจำนวน 70 ไอโซเลต โดยมีขนาด clear zone ใกล้เคียงกัน แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์และราได้เลย ส่วนแบบแคปซูล สามารถยับยั้งเชื้อได้ในปริมาณน้อยมาก (ตาราง 18) และเมื่อนำมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ พบว่ารอยัลเซลล์ทั้ง 3 รูปแบบ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยแบบสดสามารถยับยั้งเชื้อได้มากที่สุด รองลงมาคือแบบแช่เยือกแข็ง และแบบแคปซูล ตามลำดับ จึงเลือกใช้แบบสด และแบบแช่เยือกแข็งในการทดลองขั้นต่อไป เนื่องจากค่าเฉลี่ยเส้นผ่าศูนย์กลางของ clear zone มีขนาดใกล้เคียงกัน คือ 10.28 และ 8.93 มิลลิเมตร



B. subtilis

M. luteus

รูป 21 วงใส (clear zone) ของรอยัลเซลล์แบบสด แบบแช่เยือกแข็ง และแบบแคปซูล ในการยับยั้ง *B. subtilis* และ *M. luteus*

ตาราง 18 ผลของรอยัลเซลล์ 3 รูปแบบ ที่ระดับความเข้มข้นที่ 200 mg / ml ต่อเชื้อจุลินทรีย์ จำนวน 100 ไอโซเลท โดยวิธี paper disc diffusion

ชนิดรอยัลเซลล์	จำนวนไอโซเลทที่ยับยั้งได้		
	Mold	Yeast	Bacteria
RJ 1	-	-	70
RJ 2	-	-	67
RJ 3	-	-	44

หมายเหตุ รายละเอียดขนาด clear zone ของเชื้อแต่ละไอโซเลท แสดงในภาคผนวก ญ

RJ 1 = รอยัลเซลล์แบบสด

RJ 2 = รอยัลเซลล์แบบแช่เยือกแข็ง

RJ 3 = รอยัลเซลล์แบบแคปซูล

5. ผลการหาปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดของรอยัลเซลล์ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (minimum inhibition concentration, MIC)

จากการหาปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดของรอยัลเซลล์ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ (Minimum Inhibitory Concentration, MIC) โดยวิธี dilution susceptibility พบว่าแบคทีเรียทั้ง 33 ชนิด ถูกยับยั้งได้ที่ความเข้มข้นของรอยัลเซลล์ ระหว่าง 2 - 80 mg / ml (ตาราง 19) และเมื่อนำมาวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งจุลินทรีย์ของรอยัลเซลล์แบบสด และแบบแช่เยือกแข็ง พบว่ารอยัลเซลล์ทั้ง 2 รูปแบบ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตาราง 19 ปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดของรอกซ์เซลลีที่ยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย (MIC)
ในนมพาสเจอร์ไรซ์และโยเกิร์ต

No	แบคทีเรีย	ค่า MIC (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	
		รูปแบบรอกซ์เซลลี	
		RJ 1	RJ 2
1	<i>Bacillus cereus</i>	36	41
2	<i>Bacillus subtilis</i>	4	8
3	<i>Bacillus</i> sp. 1	52	55
4	<i>Bacillus</i> sp. 2	2	4
5	<i>Bacillus</i> sp. 3	16	20
6	<i>Bacillus</i> sp. 4	2	4
7	<i>Bacillus</i> sp. 5	20	21
8	<i>Bacillus</i> sp. 6	16	20
9	<i>Bacillus</i> sp. 7	16	20
10	<i>Bacillus</i> sp. 8	20	21
11	<i>Bacillus</i> sp. 9	40	45
12	<i>Bacillus</i> sp. 10	2	4
13	<i>Bacillus</i> sp. 11	36	40
14	<i>Bacillus</i> sp. 12	2	4
15	<i>Bacillus</i> sp. 13	16	21
16	<i>Bacillus</i> sp. 14	8	10
17	<i>Bacillus</i> sp. 15	42	45
18	<i>Bacillus</i> sp. 16	72	80
19	<i>Bacillus</i> sp. 17	41	45
20	<i>Bacillus</i> sp. 18	45	50
21	<i>Micrococcus luteus</i>	2	4
22	<i>Micrococcus varians</i>	8	10
23	<i>Micrococcus kristinae</i>	4	5
24	<i>Micrococcus roseus</i>	2	4

ตาราง 19 (ต่อ)

No	แบคทีเรีย	ค่า MIC (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	
		รูปแบบรอยัลเซลล์	
		RJ 1	RJ 2
25	<i>Micrococcus</i> sp.	18	20
26	<i>Streptococcus</i> sp. 1	10	12
27	<i>Streptococcus</i> sp. 2	8	10
28	<i>Staphylococcus aureus</i>	14	20
29	<i>Staphylococcus</i> sp.	38	42
30	<i>E. coli</i>	75	80
31	<i>Ent. aerogenes</i>	78	80
32	<i>Salmonella</i> sp.	78	80
33	Unknown (G ⁻ cocci)	2	4

หมายเหตุ R 1 = รอยัลเซลล์แบบสด

R 2 = รอยัลเซลล์แบบแช่เยือกแข็ง

6. ผลการหาปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดของรอยัลเซลล์ที่ใสในนมพาสเจอร์ไรซ์และโยเกิร์ตที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ (minimum inhibitory concentration, MIC)

จากผลการหาปริมาณความเข้มข้นต่ำสุดของรอยัลเซลล์ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ในขั้นต้น นำค่า MIC สูงสุดที่ใช้มาทดสอบในตัวนมนพาสเจอร์ไรซ์และโยเกิร์ตที่ยังไม่หมักอายุ โดยใช้วิธี dilution susceptibility พบว่าความเข้มข้นของรอยัลเซลล์ที่ระดับ 80 mg / ml สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ทั้ง 33 ชนิด