



รายงานการวิจัย

เรื่อง

การหมักดีเฟอรโดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติก
และ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นกล้ำเชื้อ

โดย

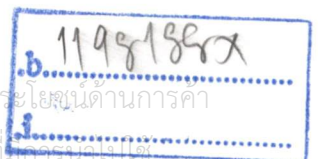
ผศ.ดร. ปิ่นมณี ขวัญเมือง

RCH
TX
380
2/6/87

เลขหาง.....
เลขทะเบียน..... 83684
วัน,เดือน,ปี..... 1.1. ค.ศ. 2551

โครงการวิจัยของภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตรด้วยเงินรายได้
คณะอุตสาหกรรม
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประจำปีงบประมาณ 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่ใช้



ชื่อโครงการวิจัย	การหมักคีเฟอร์โดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ <i>Saccharomeces cerevisiae</i> เป็นก้ำเชื้อ
ผู้ดำเนินการวิจัย	ผศ.ดร. ปิ่นมณี ขวัญเมือง
หน่วยงาน	ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีงบประมาณ	2549

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการศึกษาการหมักคีเฟอร์โดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *Saccharomeces cerevisiae* เป็นก้ำเชื้อ คือ เพื่อแยกและจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก จากตัวอย่างนมในระดับสายพันธุ์ ใช้เป็นก้ำเชื้อและศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักคีเฟอร์ ศึกษาอายุการเก็บรักษาและทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัส ผลการศึกษาพบว่า เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกได้มีจำนวน 8 ไอโซเลต และเมื่อจำแนกในระดับสปีชีส์ได้ 3 สายพันธุ์ คือ *Lc. lactis* subsp. *lactis* จากตัวอย่างนมนมถั่วเหลือง *Lb. pentosus* และ *Lb. fermentum* จากตัวอย่างนมนมโค การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการหมักคีเฟอร์พบว่า การใช้ *Lb. pentosus* ร่วมกับ *S. cerevisiae* เป็นก้ำเชื้อมีกิจกรรมการหมักเกิดได้ดีเมื่อใช้น้ำนมโคและน้ำนมถั่วเหลือง เป็นวัตถุดิบ โดยน้ำนมถั่วเหลืองมีกิจกรรมการหมักเกิดได้ดีกว่าน้ำนมโค สภาวะที่เหมาะสมต่อการหมักคือการหมักในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส หมักเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ค่าพีเอชเท่ากับ 4.5 องศาบริกซ์เท่ากับ 9.0 เเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเท่ากับ 1.046 จำนวนเซลล์แบคทีเรียกรดแลคติกและยีสต์เท่ากับ 10^8 โคโลนี/มิลลิลิตร การเก็บรักษาคีเฟอร์ที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน การเปลี่ยนแปลงขององศาบริกซ์ และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกลดลง จำนวนเซลล์แบคทีเรียกรดแลคติกและยีสต์เพิ่มขึ้น ค่าพีเอชคงที่ การทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์คีเฟอร์น้ำนมถั่วเหลืองโดยผสมน้ำแอปเปิล น้ำแครอท และน้ำองุ่น 20 เเปอร์เซ็นต์ พบว่าคีเฟอร์น้ำนมถั่วเหลืองผสมน้ำองุ่นมีค่าเฉลี่ยของการยอมรับด้านกลิ่น รสชาติ และการยอมรับโดยรวมสูงสุด โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.09 7.14 และ 6.95 ตามลำดับ

Research title Kefir Fermentation by Using Lactic Acid Bacteria and *Saccharomyces cerevisiae* as Starter Culture

Researcher Asst. Prof. Dr. Pinmanee Kwanmuang

Department Agricultural Education, Faculty of Industrial Education,
King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Year 2006

ABSTRACT

The objectives of kefir fermentation by using lactic acid bacteria and *Saccharomyces cerevisiae* as starter culture were : isolate and identify the lactic acid bacteria from milk samples to species; to use as starter culture and study at optimum condition for kefir fermentation; to study the storage time; and to use sensory evaluation test. The results found that the number of isolated lactic acid bacteria were 8 isolates, when identified to species were 3 strains; including *Lc. lactis* subsp. *lactis* from soy milk sample , *Lb. pentosus* and *Lb. fermentum* from pasteurized milk sample .

The result of studied optimum condition for kefir fermentation show that used *Lb. pentosus* together with *S. cerevisiae* as starter culture had good activity when the research used milk and soy milk as raw material for fermentation, but the used of soy milk as raw material had higher activity. The optimum condition for fermentation was fermented with incubator, at the temperature of 37 degree celcius; fermentation period for 12 hours; pH value was 4.5, degree of brix was 9; the percent of lactic acid was 1.046; and the cell numbers of lactic acid bacteria and yeast were 10^8 colony/ml. The storage duration of kefir at temperature of 8 degree celcius for 7 days, the change of degree of brix and percent of lactic acid were decreased, cell numbers of lactic acid bacteria and yeast were increased, the pH value was constant. The sensory evaluation of soy milk kefir mixed 20 percent of apple juice, carrot juice, and grape juice found that soy milk kefir mixed grape juice had highest mean of odor, test, and acceptance were 7.09 7.14 and 6.95 respectively.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่อง การหมักคีเฟอร์โดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นกล้าเชื้อ เป็นงานวิจัยที่ได้รับทุนจากเงินรายได้ คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ประจำปีงบประมาณ 2549 โดยใช้ห้องปฏิบัติการ ค. 140 ของภาควิชาครุศาสตร์เกษตร เป็นสถานที่ทำการทดลอง

งานวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยดีโดยได้รับความร่วมมือจากบุคคลหลายฝ่ายด้วยกัน ได้แก่ คณะบุคลากรภายในคณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ทุกระดับ และทุกหน่วยงาน ที่ให้การสนับสนุน ช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกในการทำวิจัยด้วยดีตลอดมา ขอขอบคุณนักศึกษาระดับปริญญาตรีสาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาครุศาสตร์เกษตรที่ได้ช่วยเหลือในการทำวิจัย ตลอดจนเป็นผู้ทดสอบชิมผลิตภัณฑ์ ซึ่งได้รับจากงานวิจัยครั้งนี้ถือเป็นการศึกษาประสบการณ์ของผู้วิจัยในด้านอาหารหมัก และจะได้นำไปใช้เป็นข้อมูลสำหรับการจัดการเรียนการสอนต่อไป

ผู้วิจัย

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VI
สารบัญภาพ	VIII
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	2
1.3 ขอบเขตการวิจัย	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
1.5 หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์	3
1.6 นิยามศัพท์	4
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	
2.1 ผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวและนมหมัก	6
2.2 คีเฟอร์	9
2.3 คีเฟอร์โกรน	13
2.4 จุลินทรีย์ที่พบในคีเฟอร์	14
2.5 กระบวนการผลิตคีเฟอร์	15
2.6 ประโยชน์ของคีเฟอร์	22
2.7 วัตถุประสงค์ที่ใช้ในการหมักคีเฟอร์	25
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ	
3.1 วัสดุและอุปกรณ์	34
3.2 วิธีดำเนินการ	34
3.3 สถานที่ทำการวิจัย	38
3.4 ระยะเวลาดำเนินการวิจัย	38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทที่ 4 ผลการทดลอง	
4.1 การศึกษาการแยกและการจัดจำแนกแบคทีเรียกรดแลคติก จากตัวอย่างนม	39
4.2 การศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียกรดแลคติกที่เหมาะสม ต่อการหมักคีเฟอร์	42
4.3 การศึกษาการเก็บรักษาคีเฟอร์ที่อุณหภูมิต่ำ	49
4.4 การพัฒนาผลิตภัณฑ์คีเฟอร์และการทดสอบลักษณะทาง ประสาทสัมผัส	51
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง	53
เอกสารอ้างอิง	55
ภาคผนวก	59
ประวัติผู้วิจัย	73

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1. ชนิดของผลิตภัณฑ์นมหมักจำแนกตามกลุ่มของกล้ำเชื้อ	9
2. องค์ประกอบของวิตามินบีที่พบในคีเฟอร์และผลิตภัณฑ์นมหมักบางชนิด	13
3. ชนิดของจุลินทรีย์ที่พบในคีเฟอร์	15
4. องค์ประกอบทางเคมีและคุณค่าทางโภชนาการของคีเฟอร์	23
5. ปริมาณแร่ธาตุในนมและในถ้ำของนมโดยเฉลี่ย	27
6. ปริมาณของวิตามินในนมและผลิตภัณฑ์นมบางชนิด (ต่อน้ำหนักนม 100 กรัม)	28
7. ส่วนประกอบทางโภชนาการของน้ำนมถั่วเหลือง นมแม่ และนมวัว	29
8. ลักษณะของแบคทีเรียกรดแลคติกที่จำแนกได้จากตัวอย่างน้ำนมโคและน้ำนมถั่วเหลือง	39
9. ค่าพีเอช องศาบริกซ์ และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก ในการหมักคีเฟอร์โดยใช้ น้ำนมโคเป็นวัตถุดิบด้วยกล้ำเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 สายพันธุ์ กับ <i>S. cerevisiae</i> ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส	43
10. ค่าพีเอช องศาบริกซ์ และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก ในการหมักคีเฟอร์โดยใช้ น้ำนมถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบด้วยกล้ำเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 สายพันธุ์ กับ <i>S. cerevisiae</i> ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส	44
11. ค่าพีเอช องศาบริกซ์ และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก ในการหมักคีเฟอร์โดยใช้ น้ำนมโคเป็นวัตถุดิบด้วยกล้ำเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 2 สายพันธุ์ กับ <i>S. cerevisiae</i> ที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส	45
12. ค่าพีเอช องศาบริกซ์ และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก ในการหมักคีเฟอร์โดยใช้ น้ำนมถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบด้วยกล้ำเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 2 สายพันธุ์ กับ <i>S. cerevisiae</i> ที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส	46
13. ค่าพีเอช องศาบริกซ์ และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก ในการหมักคีเฟอร์โดยใช้ น้ำนมโคและน้ำนมถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบด้วยกล้ำเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 2 สายพันธุ์ กับ <i>S. cerevisiae</i> ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส	48

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
14. การเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักนํ้านมโคและนํ้านมถั่วเหลืองที่อายุการหมัก 0 3 6 9 และ 12 ชั่วโมง และการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษา ที่อายุ 0-7 วัน	49
15. ผลการทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสเฟอริ่นํ้านมถั่วเหลือง	51



สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1. ลักษณะของคีเฟอร์เกอร์น	14
2. แบบที่เรียกรวดแลคติกในคีเฟอร์เกอร์น	14
3. การผลิตคีเฟอร์แบบ Traditional Process ซึ่งผลิตในครอบครัวและผลิต ในปริมาณมาก	17
4. กระบวนการผลิตคีเฟอร์รูปแบบ Recent Process	17
5. การผลิตคีเฟอร์โดยใช้กล้าเชื้อ	18
6. วิธีการหมักกรดแลคติกและวิธีการหมักเอทานอล	19
7. วิธีการหมักกรดแลคติกแบบไฮโมเฟอเมนเททีฟ	20
8. วิธีการหมักกรดแลคติกแบบเฮทเทอโรเฟอเมนเททีฟ	21
9. วิธีการหมักเอทานอล	22
10. กรรมวิธีการผลิตนํ้านมถั่วเหลืองจากถั่วเหลืองทั้งเมล็ด	30
11. รูปร่างเซลล์ของแบคทีเรียกรดแลคติกที่ย้อมแกรมและถ่ายด้วยกล้อง จุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า	41
12. ลักษณะสีของคีเฟอร์นํ้านมถั่วเหลืองที่ผสมนํ้าแอมป์เปิด นํ้านแครอท และ นํ้าองุ่นเปรียบเทียบกับไม่เติมนํ้าผลไม้	52

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

คีเฟอร์ (Kefir) หรือโยเกิร์ตบัวหิมะ (snow lotus yogurt) เป็นผลิตภัณฑ์นมหมักชนิดหนึ่ง ซึ่งมีลักษณะคล้ายกับโยเกิร์ตแต่มีความแตกต่างกันบ้างบางส่วน เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีต้นกำเนิดจากเทือกเขาคอเคซัส ทิเบต และมองโกเลีย ลักษณะของการบริโภคคีเฟอร์ใช้บริโภคเป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ (Irigoyen, et al., 2005) คีเฟอร์มีความแตกต่างจากโยเกิร์ตทั้งลักษณะของผลิตภัณฑ์และกล้าเชื้อที่ใช้ในการหมัก โดยกล้าเชื้อที่ใช้ในการหมักคีเฟอร์ใช้หัวเชื้อที่เรียกว่าคีเฟอร์เกรน (kefir grain) ซึ่งเป็นกล้าเชื้อผสมที่ประกอบด้วยแบคทีเรียและยีสต์อยู่ร่วมกันในโพลีแซคคาไรด์เมทริกซ์ ซึ่งมีชื่อเรียกว่า คีฟิราน (kefiran) แบคทีเรียที่พบในคีเฟอร์เกรนเป็นกลุ่มของแบคทีเรียกรดแลคติก ได้แก่ *Lactobacilli*, *Lactococci* และ *Leuconostoc* แบคทีเรียที่สร้างกรดแอซิติกและยีสต์ โดยยีสต์ที่สำคัญที่พบในคีเฟอร์เป็นทั้งยีสต์ชนิดที่ใช้น้ำตาลแลคโตสในกระบวนการหมัก (*Kluyveromyces lactis*, *K. marxianus* และ *Torula kefir*) และยีสต์ที่ไม่สามารถใช้น้ำตาลแลคโตส (*Saccharomyces cerevisiae*) (Angulo et al., 1993) ส่วนโยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์นมหมักที่ใช้เฉพาะแบคทีเรียกรดแลคติกเป็นกล้าเชื้อเท่านั้น

คำว่า คีเฟอร์ เป็นคำในภาษาตุรกี มาจากคำว่า "kef" หมายถึงรสชาติซึ่งเป็นที่พอใจ ดังนั้นคีเฟอร์จึงหมายถึงเครื่องดื่มประเภทนมหมักที่มีรสเปรี้ยวและมีแอลกอฮอล์เล็กน้อย เกิดจากการหมักนมกับจุลินทรีย์ที่เรียกว่าคีเฟอร์เกรน ซึ่งลักษณะของคีเฟอร์เกรนเป็นกล้าเชื้อที่มีสีเหลืองหรือสีขาว มีรูปร่างไม่แน่นอน มีลักษณะเป็นเม็ด ๆ คล้ายดอกกะหล่ำ (Güzel-Seydim et al., 2000) ในคีเฟอร์เกรนประกอบด้วยแบคทีเรียกรดแลคติกและยีสต์ที่ยึดเกาะกันด้วยสารที่มีลักษณะเป็นเมือกเหนียวประเภทโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรีย *Leuconostoc* spp. ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสและกาแลคโตส การอยู่ร่วมกันของยีสต์และแบคทีเรียในคีเฟอร์เกรนเป็นแบบพึ่งพากัน หรือที่เรียกว่าซิมไบโอติก (symbiotic) เมื่ออยู่ในน้ำนมคีเฟอร์เกรนสามารถเพิ่มจำนวนได้ การเก็บรักษาคีเฟอร์เกรนไว้ใช้ต่อไปทำได้โดยฝังคีเฟอร์เกรนให้แห้งบนผ้าขาวบางเป็นเวลา 2 วัน จากนั้นเก็บใส่ซองกระดาษและนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำ ซึ่งการเก็บในลักษณะนี้ คีเฟอร์เกรนยังคงมีกิจกรรมอยู่ได้เป็นเวลา 1 ปี หรืออาจมากกว่า การนำคีเฟอร์กลับมาใช้ต้องนำมาแช่ค้างคืน กรองและเติมนมลงไป ปล่อยให้ 1 วัน หรือสังเกตว่าเชื้อมีการเจริญหรือไม่ โดยการ

ดมกลั่น ในกรณีที่มีการทิ้งช่วงการหมักจะต้องเก็บก้อนเชื้อไว้ในที่เย็น (4-8 องศาเซลเซียส) โดยเปลี่ยนน้ำนมเดือนละครั้ง หรือล้างแล้วเก็บในน้ำกลั่น หรือน้ำเกลือ 0.9 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งจะเก็บไว้ได้นาน 8-10 วัน (นภา โสहितอง, 2534)

คีเฟอร์เป็นผลิตภัณฑ์นมหมักที่ใช้เป็นเครื่องดื่ม มีรสเปรี้ยวเล็กน้อย เนื่องจากการสร้างกรดแลคติกของแบคทีเรียกรดแลคติก มีรสข่าเพราะมีองค์ประกอบของคาร์บอนเนตและแอลกอฮอล์ โดยทั่วไปคีเฟอร์มีกรดแลคติกประมาณ 0.8 เปอร์เซ็นต์ มีองค์ประกอบของแอลกอฮอล์ 0.8-1.0 เปอร์เซ็นต์ และมีกลิ่นเฉพาะของคาร์บอนเนต ซึ่งเกิดจากการผสมกันของกรดแลคติก เอทานอล คาร์บอนไดออกไซด์ และกลิ่นอื่น ๆ อีก (Güzel-Seydim et al., 2000) ผลจากการหมักนมของ กล้าเชื้อคีเฟอร์โดยทั่วไปจะได้สารประกอบหลายชนิด เช่น กรดแลคติก คาร์บอนไดออกไซด์ แอลกอฮอล์ปริมาณเล็กน้อย นอกจากนี้ยังได้สารประกอบที่ทำให้เกิดกลิ่นหอมหลายชนิดที่ทำให้เกิดลักษณะเฉพาะของคีเฟอร์ซึ่งทำให้มีความแตกต่างจากโยเกิร์ต

การหมักคีเฟอร์ด้วยกล้าเชื้อคีเฟอร์เกรดไม่จำเป็นต้องใช้เทคนิคปลอดเชื้อเหมือนกับการหมักโยเกิร์ต ทั้งยีสต์และแบคทีเรียกรดแลคติกในคีเฟอร์เกรดทำหน้าที่หมักนมให้เกิดสารประกอบได้หลายอย่าง ได้แก่ กรดแลคติก คาร์บอนไดออกไซด์ และเอทานอลเล็กน้อย สำหรับการพัฒนากีเฟอร์ที่ไม่ต้องใช้คีเฟอร์เกรดสามารถทำได้โดยใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก ร่วมกับยีสต์ ทั้งนี้จุลินทรีย์ที่แยกได้และต้องมีการจัดจำแนกสายพันธุ์ คัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการหมัก ซึ่งการหมักคีเฟอร์โดยใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกและยีสต์เป็นแนวทางสำหรับการประยุกต์เพื่อทำการวิจัยในครั้งนี้

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกจากตัวอย่างนมที่ผ่านการหมักจนได้เชื้อบริสุทธิ์ สำหรับนำไปศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา
2. เพื่อจัดจำแนกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกได้จากตัวอย่างนม โดยใช้วิธีศึกษา ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ลักษณะทางสรีระวิทยาบางอย่างร่วมกับการจัดจำแนกโดยใช้ระบบ เอพีไอ
3. เพื่อหมักคีเฟอร์โดยใช้เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่ผ่านการจำแนกแล้วร่วมกับยีสต์เป็น กล้าเชื้อโดยใช้ส่วนผสมหัวเหลืองและน้ำนมโคเป็นวัตถุดิบ โดยศึกษาถึงอายุการหมัก อุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักคีเฟอร์ ระหว่างการศึกษาเก็บตัวอย่างวิเคราะห์ค่าพีเอช องศาบริกซ์ และ เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก

เอกสาร

การหมักคีเฟอร์โดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นกล้าเชื้อ ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. เพื่อทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์โดยกลุ่มตัวแทนผู้บริโภคที่ไม่ผ่านการฝึกฝน โดยการหมักคีเฟอร์ที่อายุ และอุณหภูมิที่ได้จากข้อ 3

5 เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของคีเฟอร์ระหว่างการเก็บรักษา โดยใช้อุณหภูมิต่ำ

1.3 ขอบเขตการวิจัย

1. แยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกจากตัวอย่างนมหมักจนได้เชื้อบริสุทธิ์
2. จัดจำแนกแบคทีเรียกรดแลคติกโดยใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา ลักษณะทางสรีระวิทยาบางประการร่วมกับการใช้ระบบเอพีไอ
3. ศึกษาอายุและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักคีเฟอร์ ตลอดจนหมักคีเฟอร์เพื่อทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัส
4. ศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาคีเฟอร์ในตู้เย็น

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

การศึกษาในครั้งนี้ ข้อมูลเบื้องต้นจะได้เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่ผ่านการจัดจำแนกในระดับสปีชีส์ ตลอดจนแนวทางการใช้ประโยชน์จากแบคทีเรียที่จัดจำแนกได้ในการหมักเครื่องดื่มโพรไบโอติกส์ โดยใช้นมโคและน้ำนมถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบ ซึ่งจัดเป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ นอกจากนั้นแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกได้ยังสามารถนำไปศึกษาการใช้ประโยชน์กับผลิตภัณฑ์อาหารหมักประเภทอื่น ๆ ต่อไป เช่น การหมักน้ำผลไม้ การหมักผลิตภัณฑ์ผักดองและผลิตภัณฑ์เนื้อหมัก เป็นต้น และยังสามารถนำเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกได้ไปใช้การวิจัยด้านอื่น ๆ ที่มีความสัมพันธ์กันต่อไปในอนาคต

1.5 หน่วยงานที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์

1. ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง โดยเฉพาะสาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร ซึ่งนำไปประยุกต์ใช้ในการเรียนการสอนในรายวิชาต่าง ๆ ที่เกี่ยวข้อง เช่น วิชาเทคโนโลยีชีวภาพเบื้องต้น วิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม และวิชาการแปรรูปผักและผลไม้ เป็นต้น

2. สถานศึกษาที่จัดการเรียนการสอนในระดับต่าง ๆ เช่น มหาวิทยาลัย วิทยาลัยอาชีวศึกษา วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยี และแหล่งที่จัดการศึกษาด้านการเกษตร สามารถนำผลการวิจัยไปใช้ในการเรียนการสอน หรือการจัดอบรมเพื่อเผยแพร่ความรู้แก่ผู้สนใจ

3. หน่วยงานภาครัฐและเอกชนที่เกี่ยวข้องกับการจัดอบรม เพื่อให้ความรู้และพัฒนาอาชีพ เช่น กรมพัฒนาชุมชน กรมส่งเสริมการเกษตร โดยนำความรู้ไปประยุกต์ใช้ให้เหมาะสมกับทรัพยากรในท้องถิ่นของชุมชนนั้น ๆ ตลอดจนผู้สนใจ และหน่วยงานอื่น ๆ ที่ไม่ได้กล่าวถึง และสามารถนำข้อมูลการวิจัยไปใช้ประโยชน์ได้

1.6 นิยามศัพท์

คีเฟอร์ (Kefir)

เป็นผลิตภัณฑ์นมหมักที่นิยมบริโภคกันมากในแถบรัสเซีย บูกาเรีย และยูโกสลาเวีย ที่ผ่านการหมักด้วยก้ำเชื้อผสมของแบคทีเรียกรดแลคติก ได้แก่ แลคโตบาซิลไล แลคโตคอกคัส และยีสต์ ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากกระบวนการหมักที่สำคัญในคีเฟอร์ได้แก่ กรดแลคติก เอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์ (Singleton and Sainsbury, 1988)

กระบวนการหมัก (Fermentation process)

ความหมายในทางชีวเคมี หมายถึง กระบวนการเมแทบอลิซึมที่เกิดขึ้นในระดับเซลล์ของสิ่งมีชีวิต เป็นการสร้างพลังงานจากกระบวนการสลายสารประกอบอินทรีย์ หรือการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมี ซึ่งเป็นกระบวนการที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ ลักษณะของการหมักส่วนใหญ่เกิดขึ้นในสภาพไร้อากาศ หรือภาวะที่ต้องการอากาศเพียงเล็กน้อย ความหมายในทางจุลชีววิทยา หมายถึงการนำจุลินทรีย์มาใช้ประโยชน์ในการผลิตสารชีวภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ ที่มีคุณค่าและราคาแพง เช่น การผลิตเอทานอล การผลิตเอนไซม์ เป็นต้น

กระบวนการหมักคีเฟอร์ (Kefir fermentation)

กระบวนการหมักคีเฟอร์ เป็นการหมักที่เกิดจากการผสมผสานระหว่างจุลินทรีย์ 2 กลุ่มคือแบคทีเรียกรดแลคติกและยีสต์ ซึ่งจุลินทรีย์ทั้งสองกลุ่มจะทำงานร่วมกัน

ก้ำเชื้อ (Starter culture)

ก้ำเชื้อหรือหัวเชื้อ หมายถึงเชื้อบริสุทธิ์ของจุลินทรีย์ที่มีชีวิต ซึ่งได้ผ่านการคัดเลือกและตรวจสอบแล้วจำนวนหนึ่ง หรือมากกว่าหนึ่งชนิด ใช้สำหรับเติมในสูตรของการผลิตอาหารเป็นอย่างน้อย 10^6 CFU/กรัม เพื่อให้เป็นตัวเริ่มต้นในกระบวนการหมัก ช่วยเพิ่มคุณภาพของรสชาติและลักษณะของผลิตภัณฑ์ (Singleton and Sainsbury, 1988) ลักษณะของก้ำเชื้อที่ใช้ได้แก่ลักษณะของสารแขวนลอย ในรูปของก้ำเชื้อผง ก้ำเชื้อที่ผ่านการทำไลโอไฟไลซ์ ซึ่งอาจมีการถ่ายเชื้อโดยตรง หรือถ่ายเชื่อก่อนใช้ คุณสมบัติของก้ำเชื้อต้องรับประกันได้ว่าทำให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพดี เป็นเชื้อที่ผ่านการจัดจำแนกโดยใช้พื้นฐานทางสัณฐานวิทยา มีกิจกรรมในการสร้าง

ผลิตภัณฑ์ที่มีความคงตัว ทราบจำนวนเริ่มต้นของการใช้ มีความบริสุทธิ์และปลอดภัยต่อการบริโภค (ปิ่นมณี ขวัญเมือง, 2547)

แบคทีเรียกรดแลคติก (Lactic acid bacteria)

เป็นกลุ่มของแบคทีเรียแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ ไม่สร้างแคตาเลส มีองค์ประกอบของ GC ต่ำ มีรูปร่างเป็นแท่งและรูปร่างกลม ผลิตภัณฑ์หลักจากกระบวนการทางชีวเคมีคือกรดแลคติก แบคทีเรียกรดแลคติกจำแนกตามการสังเคราะห์ได้เป็น 2 กลุ่ม คือ homofermentative lactic acid bacteria ในกระบวนการทางชีวเคมีสังเคราะห์กรดแลคติกเพียงชนิดเดียว และ heterofermentative lactic acid bacteria ในกระบวนการทางชีวเคมีสังเคราะห์กรดแลคติก เอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์

Saccharomyces cerevisiae

เป็นจุลินทรีย์ที่อยู่เป็นเซลล์เดี่ยว เซลล์มีขนาดใหญ่กว่าแบคทีเรีย รูปร่างเป็นรูปไข่ กลมรี สีสันน้ำตาลเข้มไม่อาศัยเพศโดยการแตกหน่อ เป็นสายพันธุ์ที่รู้จักกันดีและพบมากในอาหาร และนำมาใช้เพื่อการผลิตขนมปังและใช้หมักเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เช่น การทำเบียร์ ไวน์ เป็นต้น

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

2.1 ผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวและนมหมัก

นมสดเมื่อเก็บไว้จะมีรสเปรี้ยว ซึ่งคุณสมบัตินี้มนุษย์ได้นำไปใช้ประโยชน์ในการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์นมหมักตั้งแต่เริ่มมีประวัติการเตรียมนมรูปแบบต่าง ๆ ที่นำรับประทานนับจำนวนไม่ถ้วน ทั้งชนิดที่เป็นนมเปรี้ยวและนมหมัก การแปรรูปนมโดยการหมักเป็นหลักการที่ทราบกันดีว่าความเปรี้ยวของนมเกิดจากปฏิกิริยาของจุลินทรีย์ที่สร้างกรด ซึ่งเปลี่ยนน้ำตาลนมคือแลคโตสไปเป็นกรดแลคติก และถ้ามียีสต์หรือแบคทีเรียบางชนิดอยู่แล้ว แลคโตสก็จะถูกหมักให้กลายเป็นแอลกอฮอล์ด้วย สมัยเมตchnikอฟ (Metchnikov) ผู้ซึ่งเชื่อว่าการบริโภคนมเปรี้ยวและนมหมักทำให้อายุยืน และเสริมสร้างสุขภาพเพราะช่วยลดการเน่าบูดภายในระบบทางเดินอาหาร ในประเทศที่เป็นเจ้าตำรับนิยมบริโภคนมเปรี้ยวและนมหมักกันมาก และยังได้รับความนิยมไปสู่ประเทศอื่น ๆ ด้วย จนทำให้อุตสาหกรรมการผลิตนมเพาะเชื้อได้กลายเป็นงานสำคัญในหลายประเทศ นมเพาะเชื้ออาจนิยามได้ว่าเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีการควบคุมในด้านอุตสาหกรรม เพราะมีแบคทีเรียเฉพาะกลุ่มและแน่นอน แบคทีเรียที่เกี่ยวข้องส่วนใหญ่ได้แก่ สเตรปโทคอกคัส แล็กโทบาซิลลัส และบางครั้งก็เป็นยีสต์ ปัจจุบันได้มีผลิตภัณฑ์นมหมักเกิดขึ้นพร้อม ๆ กับผลิตภัณฑ์หลักที่เป็นผลิตภัณฑ์ในท้องถิ่น ซึ่งการผลิตอาศัยศิลปะและประเพณีนิยมเป็นเครื่องพิจารณา และในการทำผลิตภัณฑ์เหล่านี้ยังมีการนำวิทยาการและเทคโนโลยีใหม่ ๆ มาประยุกต์ใช้เพิ่มขึ้น

การจำแนกนมเปรี้ยวและนมหมักมีหลายวิธี ซึ่งวิธีทางแบคทีเรียวิทยานับว่าเป็นวิธีที่ถูกหลักวิทยาศาสตร์มากที่สุด ถ้าพิจารณาตามท้องที่ที่เกี่ยวข้องกับการหมักนมและการทำนมเปรี้ยวแล้วมีอยู่ 4 แห่ง คือ ยุโรปทางตอนเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือ ยุโรปตะวันออกเฉียงใต้รวมถึงคอเคซัส ทรานส์คอเคเซียและไซบีเรีย เอเชียตะวันตกเฉียงใต้ และในประเทศตะวันออกเฉียงกลาง รวมทั้งทวีปเล็ก ๆ ของประเทศอินเดีย บริเวณต่าง ๆ เหล่านี้อาจรวมถึงบริเวณทุ่งหญ้าเลี้ยงสัตว์ของแอฟริกาใต้ วิธีแบบเก่าที่ใช้กันในทวีปยุโรปใช้นมสดมากกว่านมต้ม ส่วนในเอเชียใช้นมต้มมากกว่านมสด การผลิตนมเปรี้ยวและนมหมักสมัยใหม่ในอเมริกาเหนือ ยุโรปตะวันตก และภูมิภาคอื่นใช้วิธีการแบบดั้งเดิมเพียงบางส่วน แต่ได้มีการดัดแปลงวิธีการแบบเก่าและกำหนดชื่อ เช่น โยเกิร์ตและคีเฟอร์ และบางส่วนเกี่ยวข้องกับนมผลิตภัณฑ์เฉพาะอย่าง เช่น นมอะซิโดฟิลัส และนมบัตเตอร์มิลล์ที่ใส่เชื้อลงไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่ควรเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งนี้ การหมักคีเฟอร์โดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นกล้ำเชื้อ

นมเปรี้ยว (Sour milk)

นมเปรี้ยวเป็นผลิตภัณฑ์นมที่เกิดจากการเติมจุลินทรีย์ลงไป เพื่อเปลี่ยนน้ำตาลแลคโทสในน้ำนมให้เป็นกรดแลคติก มีรสเปรี้ยวและสามารถเก็บไว้ได้นานขึ้น ผลิตภัณฑ์ชนิดนี้มีชื่อภาษาอังกฤษว่า โยเกิร์ต (Yoghurt) และมีอีกชื่อหนึ่งที่ใช้เรียกผลิตภัณฑ์นมที่เติมจุลินทรีย์ว่า นมเติมจุลินทรีย์ ซึ่งประเทศต่าง ๆ ในยุโรปมีผลิตภัณฑ์ประเภทนี้หลายชนิด ลักษณะของนมเปรี้ยวรสชาติ และกลิ่นจะแตกต่างกันไปตามความชอบของคนในท้องถิ่น บางแห่งชอบให้มีลักษณะครึ่งเหลวครึ่งแข็ง แต่บางแห่งชอบให้มีลักษณะแข็ง บางแห่งชอบให้มีลักษณะเหลวจนดื่มได้ นมเปรี้ยวที่นิยมดื่มกันทั่วไปมี 2 ชนิด คือ ชนิดอยู่ตัว หมายถึงแบบที่บรรจุทันทีหลังการเติมจุลินทรีย์ลงในน้ำนม แล้วให้จุลินทรีย์ทำปฏิกิริยาในขณะที่อยู่ในภาชนะที่บรรจุ พอได้ที่แล้วทำให้เย็นพร้อมที่จะจัดจำหน่าย และแบบบรรจุทีหลัง หมายถึง แบบที่จุลินทรีย์ทำปฏิกิริยากับน้ำนมในถังหมักจนได้ที่ จากนั้นทำการบรรจุภาชนะแล้วจึงนำไปจำหน่าย (สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชน โดยพระราชประสงค์ในสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว เล่มที่ 19 หน้าที่ 118)

โรงพยาบาลไทยนครินทร์ (<http://www.thanakarin.co.th/tipsdetailth.php?id=49>) ได้ให้ข้อมูลเกี่ยวกับชนิดของที่วางขายในท้องตลาดมีหลายชนิด สามารถแบ่งได้ดังนี้

นมเปรี้ยวชนิดผง ดัดแปลงมาจากน้ำนมวัวธรรมดา และคงคุณค่าของสารอาหารในน้ำนมได้ ทั้งด้านโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต วิตามิน และเกลือแร่ต่างๆ แต่ผ่านกระบวนการหมักจนเกิดกรดที่มีรสเปรี้ยวเสียก่อน จึงนำมาทำให้แห้งเป็นผง นมเปรี้ยวชนิดนี้ใช้สำหรับเด็ก โดยใช้เป็นส่วนหนึ่งในการรักษาโรกระบบทางเดินอาหารของเด็ก

โยเกิร์ต เป็นผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวที่มีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว ทำโดยการเติมเชื้อจุลินทรีย์หรือเชื้อราบางชนิดตามธรรมชาติที่ไม่เป็นโทษต่อร่างกายลงไปนม ทิ้งไว้ให้เกิดการหมัก และเกิดรสเปรี้ยว ในอดีตการผลิตนมเปรี้ยวจะไม่มีกรุปปรุงแต่งสี กลิ่น รส ต่อมาได้มีการพัฒนาดัดแปลงปรุงแต่ง เติมทั้งสี กลิ่น รส ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความแตกต่างกันหลายอย่างเพื่อให้ผู้บริโภคเลือกซื้อได้ตามพอใจ

นมเปรี้ยวที่เป็นของเหลว มักจะทำมาจากนมขาดมันเนย และมีการเติมน้ำตาลลงไปเพื่อให้เชื้อจุลินทรีย์เจริญเติบโตได้ดี เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้มักจะเป็นแลคโตบาซิลลัส แล้วปล่อยให้เกิดการหมักและย่อนนมบางส่วนจนกระทั่งมีรสเปรี้ยว จึงนำออกมาจำหน่าย

นมเปรี้ยวเทียม คือ น้ำนมที่นำมาเติมกรดแลคติก หรือกรดอื่นๆ เพื่อทำให้เกิดรสเปรี้ยวโดยไม่ผ่านการหมัก หรือเติมจุลินทรีย์ใดๆ แล้วปรุงแต่งสี กลิ่น รส แล้วนำออกมาจำหน่าย ซึ่งทำให้ไม่จำเป็นต้องเก็บในที่เย็น และสามารถเก็บได้นานกว่า นมเปรี้ยวธรรมดา

เอกสาร

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้ง การหมักดีเฟอไรโดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นกล้าเชื้อ

สารอาหารที่ได้รับจากการบริโภคนมเปรี้ยวจะแตกต่างกันออกไปตามนมที่นำมาใช้ในการผลิต โดยแยกตามปริมาณของไขมัน มี 3 ระดับคือ นมเปรี้ยวที่มีไขมันสูง จะมีไขมันประมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป นมเปรี้ยวไขมันต่ำ จะมีไขมันประมาณ 1.5 – 3 เปอร์เซ็นต์และชนิดที่มีไขมันน้อยมาก นอกจากนี้จะมีปริมาณโปรตีนประมาณ 12 – 18 เปอร์เซ็นต์ ส่วนปริมาณคาร์โบไฮเดรตจะมีมากน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับ การปรุงแต่งรส และมีปริมาณเหล็กและทองแดงต่ำมาก คุณค่าทางโภชนาการของนมเปรี้ยวจึงขึ้นอยู่กับชนิดของนมที่นำมาใช้ และการปรุงแต่งลงไป ถ้าทำมาจากนมสดคุณค่าจะเท่ากับนมสด ถ้าทำมาจากหางนมที่ได้สกัดไขมันออกจะมีคุณค่าทางโภชนาการน้อยลงไป ดังนั้นจึงไม่ควรรับประทานนมเปรี้ยวเป็นอาหารหลัก

การเลือกซื้อนมเปรี้ยว

นมเปรี้ยวและโยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์ที่ควบคุม เพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภคก่อนซื้อควรพิจารณาอ่านฉลาก ซึ่งต้องมีรายละเอียด คือ ชื่ออาหาร เลขทะเบียน ตำรับอาหาร ชื่อที่ตั้งผู้ผลิต ปริมาณสุทธิ ส่วนประกอบที่สำคัญ วันเดือนปีที่ผลิต หรือวันหมดอายุ คำแนะนำในการเก็บรักษา และสิ่งเจือปน หรือเติมแต่งลงไป

คำแนะนำในการบริโภคนมเปรี้ยว

เนื่องจากนมเปรี้ยวเป็นผลิตภัณฑ์ที่เติมสารจุลินทรีย์เข้าไป จึงจำเป็นต้องเก็บในที่ ๆ มีอุณหภูมิที่ไม่เกิน 10 องศาเซลเซียส และเก็บไว้ไม่เกิน 7 วัน และควรบริโภคให้หมดก่อนวันหมดอายุ หากเปิดภาชนะบรรจุแล้วบริโภคไม่หมดภายในวันเดียว ควรเก็บไว้ในตู้เย็น และปิดฝาให้มิดชิด การสังเกตลักษณะของนมเปรี้ยวที่ดี คือ ถ้าเป็นนมเปรี้ยวที่เป็นน้ำ ต้องไม่มีตะกอนหรือลักษณะเป็นก้อนๆ ที่ก้นขวด หรือภาชนะบรรจุ ถ้าเป็นโยเกิร์ตจะต้องอยู่ในลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว กลิ่นและรสไม่ผิดไปจากปกติ (ยกเว้นกลิ่นและรสที่ปรุงแต่งลงไป) การบริโภคนมเปรี้ยวและโยเกิร์ตจะได้รับกรดแลคติกที่เกิดจากการหมักตัวของจุลินทรีย์ในนมเปรี้ยว ซึ่งจะช่วยให้ร่างกายดูดซึมแคลเซียมและฟอสฟอรัสได้ดียิ่งขึ้น ผู้สูงอายุ หรือผู้ป่วยที่มีอาการท้องเสียที่กระเพาะมีปริมาณความเป็นกรดลดลงทำให้อาหารไม่สามารถย่อยได้ดี การบริโภคนมเปรี้ยวจะช่วยปรับสภาพของกระเพาะอาหารให้เป็นกรดขึ้นและทำให้การดูดซึมอาหารดีขึ้น รวมทั้งป้องกันไม่ให้เชื้อโรคตัวอื่นๆ รุกล้ำเข้าไปในระบบย่อยอาหาร และนอกจากนี้จุลินทรีย์ที่เติมในนมเปรี้ยวยังมีส่วนช่วยในการขับถ่ายอีกด้วย จากที่นมเปรี้ยวบางชนิดเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากนมสด และนำมาสกัดไขมันออก จึงมีบางคนเข้าใจว่าเป็นอาหารที่ให้พลังงานต่ำ จึงใช้เป็นอาหารหลักในการลดน้ำหนัก ดังนั้นก่อนเลือกซื้อให้พิจารณาก่อนว่า การเลือกซื้อที่ปรุงแต่งเติมน้ำตาลและผลไม้ลงไปเท่ากับ

เป็นการเพิ่มพลังงานให้มากขึ้นด้วย แทนที่จะเป็นการลดน้ำหนักอาจจะเป็นการเพิ่มน้ำหนักโดยไม่ตั้งใจ การบริโภคนมเป็นสิ่งที่ดี ร่างกายจะได้รับสารอาหารที่มีประโยชน์ต่อร่างกายครบถ้วน ดังนั้นการบริโภคนมเปรี้ยวจึงต้องพิจารณาวัตถุดิบที่นำมาผลิต รวมทั้งราคาเมื่อเทียบกับปริมาณของอาหาร และสารอาหารที่ได้รับจากผลิตภัณฑ์อื่นๆ ในลักษณะใกล้เคียงกัน แต่ถ้าท่านคิดจะบริโภคเป็นอาหารว่าง เพื่อเป็นการเปลี่ยนรสชาติบ้างคงไม่เป็นไร

การจำแนกชนิดของผลิตภัณฑ์นมหมักโดยอาศัยกลุ่มของจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ในการหมักจำแนกได้เป็น 4 กลุ่ม ตามตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ชนิดของผลิตภัณฑ์นมหมักจำแนกตามกลุ่มของกล้าเชื้อ

ชนิด	กล้าเชื้อที่ใช้	ตัวอย่าง
I	Mesophilic lactococci and leuconostoc strain	Buttermilk, Cultured cream, Sour milk, Scandinavia buttermilks, Taetmjolk, Kjaddermilk, Villi, Smetanka, Aerin
II	<i>Lactobacillus</i> strain	Bulgarian buttermilk, Yakult
III	Thermophilic streptococci and Lactobacilli	Yoghurt, Prostokvasha, Ryazhenka, Varenets, Skyr, Ayran, Giόδdu, Tan, Tulum, Torba, Kurut, Gruzovina, Leben, Dahi, Ayran, Lassi, Snezhanka
IV	Mixed populations of different lactic acid Bacteria and yeast; sometimes micrococci and acetic bacteria	Kefir, Koumys, Brano, Hooslanka, Zhetitsa, Maconi

ที่มา : Oberman and Libudzisz (1998)

2.2 คีเฟอร์ (Kefir)

คีเฟอร์ (Kefir) หรือโยเกิร์ตบัวหิมะ (snow lotus yogurt) เป็นผลิตภัณฑ์นมหมักชนิดหนึ่งซึ่งมีลักษณะคล้ายกับโยเกิร์ตแต่มีความแตกต่างกันบ้างบางส่วน คีเฟอร์เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีต้นกำเนิดจากเทือกเขาคอเคซัส ทิเบต และมองโกเลีย ลักษณะของการบริโภคคีเฟอร์ในแถบนี้บริโภคเป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพ (Irigoyen, et al., 2005) คีเฟอร์เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความแตกต่างจากโยเกิร์ตทั้งลักษณะของผลิตภัณฑ์และกล้าเชื้อที่ใช้ในการหมัก โดยกล้าเชื้อที่ใช้ในการหมัก

คีเฟอร์เป็นกล้าเชื้อที่เรียกว่าคีเฟอร์เกรน (kefir grain) ซึ่งเป็นกล้าเชื้อผสมที่ประกอบด้วยแบคทีเรียและยีสต์อยู่ร่วมกันในโพลีแซคคาไรด์เมทริกซ์ที่เรียกว่า คีฟิราน (kefirin) กระบวนการหมักคีเฟอร์ใช้เวลาประมาณ 24 ชั่วโมง (<http://www.medicinalfoodnews.com/vo102/fisse1/kefir.htm>) แบคทีเรียที่พบในคีเฟอร์เกรนเป็นกลุ่มของแบคทีเรียกรดแลคติกได้แก่ *Lactobacilli*, *Lactococci* และ *Leuconostoc* แบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกและยีสต์ โดยยีสต์ที่สำคัญที่พบในคีเฟอร์เป็นทั้งยีสต์ชนิดที่ใช้น้ำตาลแลคโทสในกระบวนการหมัก (*Kluyveromyces lactis*, *K. marxianus* และ *Torula kefir*) และยีสต์ที่ไม่สามารถใช้น้ำตาลแลคโทส (*Saccharomyces cerevisiae*) (Angulo et al., 1993) ส่วนโยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์นมหมักที่ใช้เฉพาะแบคทีเรียกรดแลคติกเป็นกล้าเชื้อเท่านั้น

คำว่า คีเฟอร์ เป็นคำในภาษาตุรกี มาจากคำว่า "kef" หมายถึงรสชาติที่พอใจ ดังนั้นคีเฟอร์จึงหมายถึงเครื่องดื่มประเภทนมหมักที่มีรสเปรี้ยวและมีแอลกอฮอล์เล็กน้อย เกิดจากการหมักนมกับจุลินทรีย์ที่เรียกว่าคีเฟอร์เกรน ซึ่งลักษณะของคีเฟอร์เกรนเป็นกล้าเชื้อที่มีสีเหลือง-ขาว รูปร่างไม่แน่นอน มีลักษณะเป็นเม็ด ๆ คล้ายดอกกะหล่ำ (Güzel-Seydim et al., 2000) ในคีเฟอร์เกรนประกอบด้วยแบคทีเรียกรดแลคติกและยีสต์ที่ยึดเกาะกันด้วยสารที่มีลักษณะเป็นเมือกเหนียวประเภทโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากแบคทีเรีย *Leuconostoc* spp. ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสและกาแลคโทส การอยู่ร่วมกันของยีสต์และแบคทีเรียในคีเฟอร์เกรนเป็นแบบพึ่งพากัน หรือที่เรียกว่า symbiotic เมื่ออยู่ในน้ำนมคีเฟอร์เกรนสามารถเพิ่มจำนวนได้ การเก็บรักษาคีเฟอร์เกรนทำได้โดยการฝังคีเฟอร์เกรนให้แห้งบนผ้าขาวบางเป็นเวลา 2 วัน จากนั้นเก็บใส่ซองกระดาษและนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่ำ ซึ่งการเก็บในลักษณะนี้คีเฟอร์เกรนยังคงกิจกรรมอยู่ได้เป็นเวลา 1 ปี หรือมากกว่า การนำคีเฟอร์กลับมาใช้ต้องนำมาแช่ค้างคืน กรองและเติมนมลงไปปล่อยให้ 1 วัน หรือสังเกตว่าเชื้อเจริญหรือไม่ โดยการดมกลิ่น ในกรณีที่มีการทิ้งช่วงการหมักจะต้องเก็บก้อนเชื้อไว้ในที่เย็น (4-8 องศาเซลเซียส) โดยเปลี่ยนน้ำนมเดือนละครั้ง หรือล้างแล้วเก็บในน้ำกลั่น หรือน้ำเกลือ 0.9 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ซึ่งจะเก็บไว้ได้นาน 8-10 วัน (นภา โล่ห์ทอง, 2534)

คีเฟอร์เป็นผลิตภัณฑ์นมหมักที่ใช้เป็นเครื่องดื่ม มีรสเปรี้ยวเล็กน้อย มีความซ่าเพราะมีองค์ประกอบของคาร์บอนเนตและแอลกอฮอล์ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการหมักด้วยคีเฟอร์เกรนหรือเชื้อที่เตรียมจากคีเฟอร์เกรน ผลจากการหมักนมของกล้าเชื้อคีเฟอร์โดยทั่วไปจะได้สารประกอบหลายชนิด เช่น กรดแลคติก คาร์บอนไดออกไซด์ แอลกอฮอล์ปริมาณเล็กน้อย นอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับงานวิจัยและเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่ควรนำไปใช้ในเชิงพาณิชย์

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น การหมักคีเฟอร์โดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นกล้าเชื้อ

จากนั้นยังได้สารประกอบที่ทำให้เกิดกลิ่นหอมหลายชนิดที่ทำให้เกิดลักษณะเฉพาะของคีเฟอร์ที่แตกต่างไปจากโยเกิร์ต เช่น การศึกษาการวิเคราะห์กรดอินทรีย์และสารที่ทำให้เกิดกลิ่นในระหว่างการหมักคีเฟอร์ของ Güzel-Seydim (2000) พบกรดอินทรีย์ กรดอโรติก กรดซิตริก กรดไพรูวิก กรดยูริก กรดแลคติก กรดบิวทีริก กรดโฟฟิโอนิก และกรดฮิฟพิวริก และเอทานอล โดยเอทานอลเริ่มมีการสร้างตั้งแต่อายุการหมัก 5 ชั่วโมง ส่วนอะซิทิลดีไฮด์ และอะซิโธอิน ซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิดกลิ่นมีการสร้างตลอดระยะเวลาการหมัก

ลักษณะของคีเฟอร์มีรสเปรี้ยวเล็กน้อยเนื่องจากการสร้างกรดแลคติกของแบคทีเรียกรดแลคติก โดยทั่วไปคีเฟอร์มีกรดแลคติกประมาณ 0.8 เปอร์เซ็นต์ มีองค์ประกอบของแอลกอฮอล์ระหว่าง 0.8-1.0 เปอร์เซ็นต์ และมีกลิ่นเฉพาะของคาร์บอนेट ซึ่งเกิดจากการผสมกันของกรดแลคติก เอทานอล คาร์บอนไดออกไซด์ และกลิ่นอื่น ๆ (Güzel-Seydim et al., 2000) การหมักคีเฟอร์ด้วยคีเฟอร์เกรนไม่จำเป็นต้องใช้เทคนิคปลอดเชื้อเหมือนกับการหมักโยเกิร์ต สำหรับการพัฒนากการหมักคีเฟอร์ที่ไม่ต้องใช้คีเฟอร์เกรนสามารถทำได้โดยใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกร่วมกับยีสต์ ทั้งนี้ใช้จุลินทรีย์ที่แยกได้และต้องมีการคัดเลือกและทดสอบสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการหมัก

ลักษณะของคีเฟอร์

ทั้งโยเกิร์ตและคีเฟอร์เป็นผลิตภัณฑ์นมที่ผ่านการหมัก แต่มีความแตกต่างกันในเรื่องของกล้าเชื้อที่ใช้ในการหมัก กลิ่น และรสชาติ ตลอดจนกระบวนการผลิต โยเกิร์ตประกอบด้วยกลุ่มของแบคทีเรียกรดแลคติกเป็นกล้าเชื้อเพียงชนิดเดียว ซึ่งอาจจะใช้เชื้อสายพันธุ์เดียวหรือใช้เชื้อผสมตั้งแต่สองสายพันธุ์ขึ้นไปก็ได้ แบคทีเรียที่ใช้เป็นกล้าเชื้อต้องผ่านการจัดจำแนกและมีความปลอดภัย ในส่วนของกล้าเชื้อคีเฟอร์ประกอบด้วยเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกและยีสต์ ซึ่งเชื้อแบคทีเรียที่พบในคีเฟอร์โดยทั่วไปไม่ค่อยพบในโยเกิร์ต เช่น *Lactobacillus caucasus*, *Leuconostoc*, *Streptococcus* sp. และ *Acetobacter* ยีสต์ที่พบในคีเฟอร์เป็นยีสต์ที่มีประโยชน์ โดยสายพันธุ์ที่พบมาก ได้แก่ *Saccharomyces kefir*, *Torula kefir* เชื้อกลุ่มนี้สามารถควบคุมและทำลายยีสต์ที่ทำให้เกิดโรคในร่างกายได้ กิจกรรมร่วมกันระหว่างยีสต์และแบคทีเรียในคีเฟอร์ช่วยทำให้คีเฟอร์มีคุณค่าทางโภชนาการมากกว่าโยเกิร์ต ลักษณะของเคิร์ดในคีเฟอร์มีขนาดเล็กกว่าเคิร์ดในโยเกิร์ต เมื่อบริโภคเข้าสู่ร่างกายแล้วเกิดมีการย่อยได้ง่ายกว่า จากคุณค่าทางโภชนาการของคีเฟอร์ที่ดีกว่าโยเกิร์ตจึงเหมาะที่จะใช้เป็นตัวเสริมสำหรับทารก ผู้ใหญ่ และผู้ที่มีความผิดปกติในระบบการย่อยอาหาร (<http://www.kefir.net/kefir yogurt.htm>)

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งนี้ การหมักคีเฟอร์โดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นกล้าเชื้อ

การหมักคีเฟอร์ครั้งแรกเป็นการหมักคีเฟอร์ตามธรรมชาติในอุณหภูมิจากห้องครัว ซึ่งขณะนั้นมีการลำเลียงนมโดยใช้ถุงที่ทำจากหนังสัตว์ ต่อมาในศตวรรษที่ 19 การผลิตคีเฟอร์ได้แพร่หลายไปในแถบยุโรปตะวันออก ยุโรปตอนกลาง และแพร่ไปยังทุกส่วนของโลก ปัจจุบันมีการผลิตคีเฟอร์กันมากในประเทศแถบสหภาพโซเวียต โปแลนด์ เยอรมัน สวีเดน โรมานีเย เป็นต้น โดยอาจมีชื่อเรียกแตกต่างกัน เช่น kephir, kefer, kiaphur, knapon, kepi และ kippi (Özer, D. and Özer, H.B., 2000)

ผลจากการหมักคีเฟอร์ด้วยคีเฟอร์เกรน หรือด้วยกล้าเชื้อทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นครีมเหลว มีรสเปรี้ยวเล็กน้อยเนื่องจากกรดแลคติก มีรสซ่าเนื่องจากมีคาร์บอนไดออกไซด์ และแอลกอฮอล์ต่ำกว่า 2 เปอร์เซ็นต์ จากกิจกรรมการหมักของยีสต์ที่พบในคีเฟอร์และแบคทีเรียกรดแลคติกทำให้เกิดสารประกอบที่ทำให้เกิดกลิ่นรส และสารที่ให้กลิ่นหอมอีกหลายชนิด ทำให้คีเฟอร์มีลักษณะเฉพาะที่แตกต่างจากโยเกิร์ต จุลินทรีย์ที่พบในคีเฟอร์จัดเป็นโพรไบโอติกส์เพราะเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค จุลินทรีย์ที่พบในคีเฟอร์ได้แก่ แบคทีเรียกรดแลคติกในกลุ่มของ *Lactobacillus* เช่น *L. brevis*, *L. cellobiosus*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. helveticus*, *L. delbrueckii*, *L. lactis* กลุ่มของ *Lactococcus* ได้แก่ *Lc. Lactis*, *Streptococcus salivarius sub. thermophilus*, *Leuconostoc mesenteroides* และ *Leu. Cremolis* ส่วนยีสต์ที่พบในคีเฟอร์ได้แก่ *Kluyveromyces*, *Candida*, *Torulopsis* และ *Saccharomyces* sp. (<http://anka.livstek.lth.sc:2080/Kefir.htm>, <http://www.liberte.qc.ca.html/kefira.asp>)

ในผลิตภัณฑ์คีเฟอร์นอกจากจะพบแบคทีเรียและยีสต์ที่เป็นประโยชน์แล้ว คีเฟอร์ยังประกอบด้วยเกลือแร่และกรดอะมิโนที่จำเป็น ซึ่งช่วยทำให้ร่างกายทำหน้าที่ต่าง ๆ ได้อย่างปกติ โปรตีนที่สมบูรณ์ในคีเฟอร์บางส่วนเมื่อถูกย่อยแล้วร่างกายนำไปใช้ประโยชน์ได้โดยง่าย เช่น กรดอะมิโนทริปโตเฟน ซึ่งพบมากในคีเฟอร์ ในคีเฟอร์ยังอุดมไปด้วยแคลเซียมและแมกนีเซียมซึ่งเป็นเกลือแร่ที่ส่งเสริมการทำงานของระบบประสาทส่วนกลาง มีฟอสฟอรัสซึ่งเป็นเกลือแร่ที่ช่วยในการสลายคาร์โบไฮเดรต ไขมัน และโปรตีน เพื่อให้ได้พลังงานสำหรับการเจริญเติบโตและทำหน้าที่อื่น ๆ ต่อร่างกาย และคีเฟอร์ยังอุดมไปด้วยวิตามินหลายชนิด โดยวิตามินที่สำคัญได้แก่ วิตามินบี12 บี2 วิตามินเค เป็นแหล่งของไบโอติน โดยเฉพาะวิตามินบีมีประโยชน์หลายประการ เช่น

เอกสารที่
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งนี้ การหมักคีเฟอร์โดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นกล้าเชื้อ

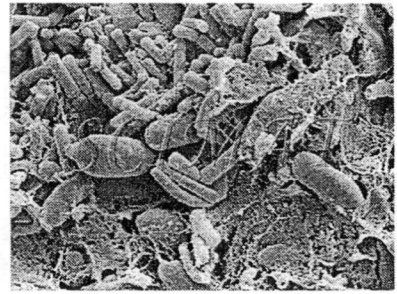
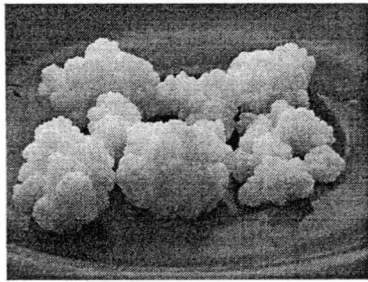
ควบคุมการทำงานของไต ตับและระบบประสาทส่วนกลาง (<http://www.kefie.net/nutri.htm>) องค์ประกอบของวิตามินบีในคีเฟอร์และผลิตภัณฑ์นมหมักบางชนิดแสดงในตารางที่ 2 ตารางที่ 2 องค์ประกอบของวิตามินบีที่พบในคีเฟอร์และผลิตภัณฑ์นมหมักบางชนิด

องค์ประกอบ (ไมโครกรัม/100 กรัม)	นม	โยเกิร์ต	คีเฟอร์	บัตเตอร์มิลค์
วิตามินบี 1	20-25	29-31	18-22	12-14
วิตามินบี 2	106-193	163-187	70-351	48-69
วิตามินบี (ไบโอติน)	2.9-4.9	4.0-5.1	-	48-69
วิตามินบี 6	17-58	59-68	43-49	32-40
วิตามินบี 12	0.27-0.57	0.35-0.52	-	-
วิตามินบี (กรดฟอลิก)	0.13-0.73	3.9	-	-
วิตามินบี (ไนอะซิน)	71-100	129-163	55-87	44-68
วิตามินบี (กรดแพนโททีนิก)	330-460	280-381	-	-

ที่มา : Oberman and Libudzisz (1998)

2.3 คีเฟอร์เกรน (Kefir grain)

คีเฟอร์เกรน เป็นคำที่ใช้เรียกกล้าเชื้อที่ใช้ในการผลิตคีเฟอร์ ซึ่งเป็นกล้าเชื้อผสมระหว่างแบคทีเรียกรดแลคติกและยีสต์อยู่ร่วมกันในก้อนโพลีแซคคาไรด์เมทริกซ์ที่มีลักษณะเป็นเม็ดเหนียว เรียกว่า คีฟีราน ลักษณะของคีเฟอร์เกรนเป็นก้อนมีปุ่มปมคล้ายกะหล่ำดอก มีสีขาว สีครีม และมีขนาดต่าง ๆ กัน เมื่ออยู่ในน้ำนมคีเฟอร์เกรนมีการเพิ่มจำนวนและขนาด โดยทั่วไปจะมีขนาดเท่ากับเมล็ดถั่ว ในขณะที่มีการแบ่งตัวเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์จะมีการสร้างโพลีแซคคาไรด์ไปด้วย ดังนั้นคีเฟอร์เกรนจึงเป็นเชื้อผสมที่ตรึงตัวเองอยู่บนก้อนที่มีลักษณะเป็นเม็ด จึงใช้เป็นกล้าเชื้อได้อย่างไม่มีที่สิ้นสุด ในกรณีที่ผลิตคีเฟอร์อย่างต่อเนื่อง เมื่อกรองเอาคีเฟอร์เกรนออกมาแล้วสามารถนำไปหมักต่อได้ทันที หรือกรณีที่ช่วงการหมักสามารถเก็บคีเฟอร์เกรนไว้ในตู้เย็น อุณหภูมิ 4-8 องศาเซลเซียสได้ โดยเปลี่ยนน้ำนมประมาณเดือนละครั้ง



ภาพที่ 1 ลักษณะของคีเฟอร์เกรน

ที่มา : <http://www33.brinkster.com/robertaichi/default.htm>

ภาพที่ 2 แบคทีเรียและยีสต์ในคีเฟอร์เกรน

ที่มา : anka.livstek.lth.se:2080/Kefir.htm

การอยู่ร่วมกันของจุลินทรีย์ในคีเฟอร์เกรนอาศัยความสมดุลโดยธรรมชาติ ซึ่งจุลินทรีย์จะอาศัยซึ่งกันและกัน เนื่องจากยีสต์บางสายพันธุ์ไม่สามารถใช้น้ำตาลแลคโทสในนมได้ จึงต้องอาศัยอาหารที่สังเคราะห์โดยแบคทีเรียกรดแลคติก ในขณะที่แบคทีเรียกรดแลคติกต้องพึ่งสารส่งเสริมการเจริญบางชนิดที่ให้เกิดจากการสลายตัวของยีสต์

2.4 จุลินทรีย์ที่พบในคีเฟอร์

จุลินทรีย์ที่อยู่ในคีเฟอร์เกรนประกอบด้วยแบคทีเรียกรดแลคติกและยีสต์ ซึ่งเชื้อทั้งสองชนิดมีอยู่หลายสายพันธุ์ด้วยกัน เช่น Yüsekda et al (2004) ได้แยกและศึกษาแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีรูปร่างกลม จำนวน 21 ไอโซเลต จากตัวอย่างคีเฟอร์ชนิด Turkish kefir จำนวน 15 ตัวอย่าง และได้ทดสอบลักษณะต่าง ๆ เพื่อจัดจำแนก พบว่าเป็นแบคทีเรียกรดแลคติกสายพันธุ์ *Lactococcus cremolis* (11 สายพันธุ์) *Lc. lactis* (4 สายพันธุ์) *Streptococcus thermophilus* (3 สายพันธุ์) และ *Str. durans* (3 สายพันธุ์) เมื่อนำมาทดสอบการสร้างกรดแลคติก ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และกิจกรรมการสลายโปรตีน การผลิตไดอะซีทิล และอะซีทิลดีไฮด์ พบว่าแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมดให้กรดแลคติกได้ต่างกัน (2.3-9.9 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) โดย *Lc. lactis*, *Str. durans* และ *Lc. cremolis* บางสายพันธุ์ไม่ผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และบางสายพันธุ์ไม่มีกิจกรรมการสลายโปรตีน ทั้ง *Lactobacillus* และ *Streptococcus* ผลิตอะซีทิลดีไฮด์อยู่ในช่วง 0.18-3.96 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เมื่อทดสอบการต้านทานต่อแบคทีเรียด้วยวิธี agar diffusion พบว่า *Lactobacillus* มีกิจกรรมยับยั้งการเจริญของ *Escherichia coli* NRLL B-704, *Staphylococcus aureus* 4-63 และ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 29212

เอกสารที่

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งนี้ การหมักคีเฟอร์โดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นกล้าเชื้อ

และเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกรูปร่างกลมทั้งหมดสามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ได้ *Lc. cremolis* และ *Lc. lactis* ยับยั้งการเจริญของ *E. coli* และ *P. aeruginosa* ส่วน *Str. thermophilus* สามารถยับยั้งการเจริญของ *P. aeruginosa* ได้ดี ซึ่งจะเห็นได้ว่าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกได้จากตัวอย่างคีเฟอร์แต่ละสายพันธุ์มีคุณสมบัติต่างกัน โดยจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ที่แยกได้จากคีเฟอร์แสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ชนิดของจุลินทรีย์ที่พบในคีเฟอร์

Lactobacilli	Streptococci/lactococci	Yeast
<i>L. alactosus</i>	<i>Streptococcus cremolis</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
<i>L. brevis</i>	<i>Str. faecalis</i>	<i>S. florentinus</i>
<i>L. casei</i> subsp. <i>Casei</i>	<i>Str. lactis</i>	<i>S. pretoriensis</i>
<i>L. casei</i> subsp. <i>Rhamnosus</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Candida valida</i>
<i>L. casei</i> subsp. <i>Pseudopantarum</i>	<i>Pediococcus damnosus</i>	<i>C. lambica</i>
<i>L. casei</i> subsp. <i>Tolerans</i>		<i>Kloeckera apiculata</i>
<i>L. coryneformis</i> subsp. <i>Torquens</i>		<i>Hansenula yalbensis</i>
<i>L. fructosus</i>		
<i>L. hilgardii</i>		
<i>L. homohiochi</i>		
<i>L. plantarum</i>		
<i>L. pseudopantarum</i>		
<i>L. yamanashiensis</i>		

ที่มา : <http://users.chariot.net.au/~dna/kefirpage.htm>

2.5 กระบวนการผลิตคีเฟอร์

เนื่องจากคีเฟอร์เป็นผลิตภัณฑ์นมหมักที่แพร่หลายไปยังส่วนต่าง ๆ ของโลก กรรมวิธีการผลิตในแต่ละท้องถิ่นจึงมีความแตกต่างกันไปตามความเหมาะสม ตลอดจนมีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับการผลิตคีเฟอร์ ทำให้รูปแบบการผลิตคีเฟอร์มีความหลากหลายมากขึ้น กระบวนการผลิตคีเฟอร์ตามกรรมวิธีของ Saloff-Coste (1996) มี 2 กระบวนการ คือ

1. กระบวนการผลิตแบบดั้งเดิม (Traditional process) เป็นวิธีการผลิตแบบเดิมที่เติม คีเฟอร์เกรน 2-10 เปอร์เซ็นต์ ลงในน้ำนมที่พาสเจอร์ไรซ์และทำให้เย็นจนอุณหภูมิ 20-25 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นปล่อยให้เกิดการหมักประมาณ 24 ชั่วโมง และกรองเอาเกรนออก เกรนที่กรองได้นำไปใช้ในการหมักคีเฟอร์ครั้งต่อไปได้ คีเฟอร์เกรนทำให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และถ้าต้องการเก็บไว้ได้นานอาจทำไลโอไฟไลซ์ได้ กระบวนการผลิต คีเฟอร์แบบเดิมทั้งขนาดเล็กและผลิตจำนวนมากแสดงในภาพที่ 4

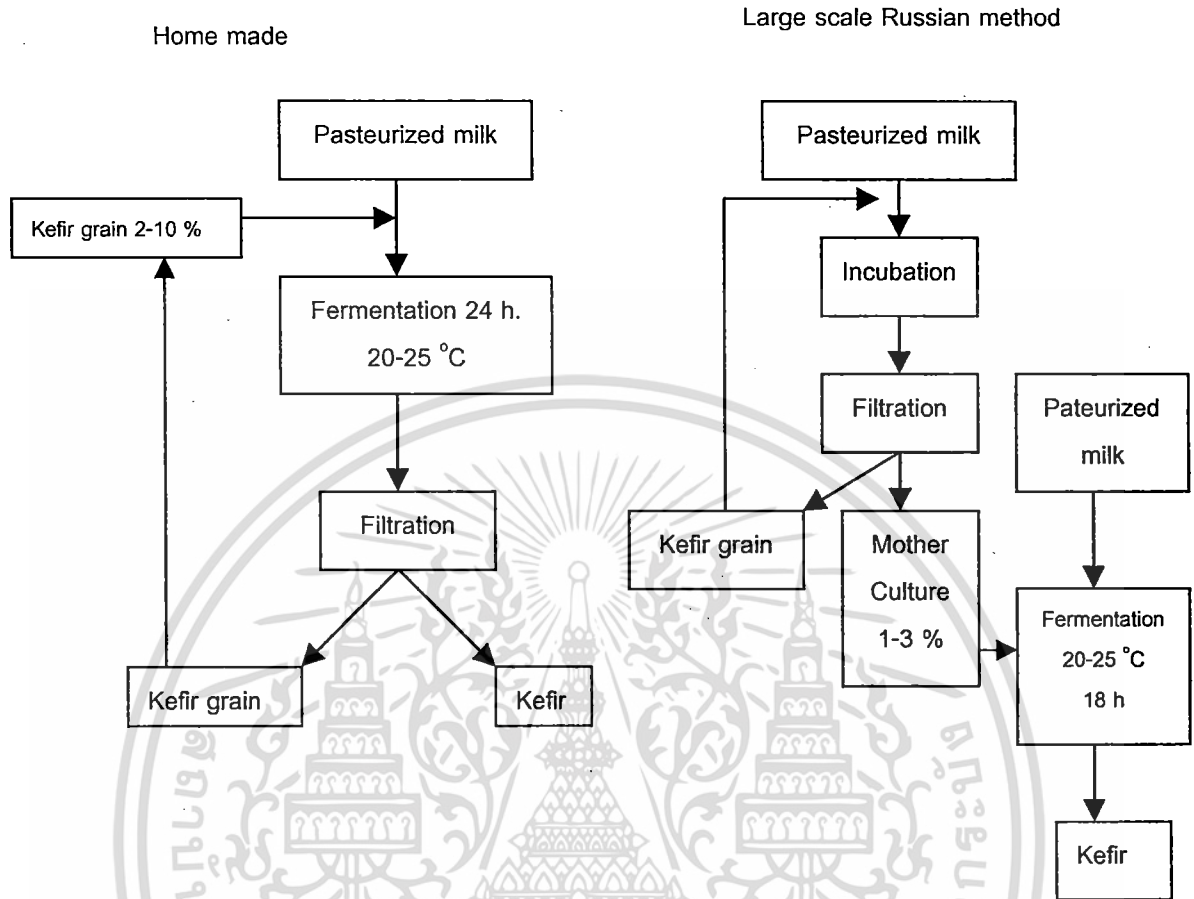
2. กระบวนการผลิตในปัจจุบัน (Recent process) เป็นกระบวนการผลิตที่ผู้ผลิตคีเฟอร์ ชาวยุโรปตะวันออก ซึ่งเริ่มต้นการผลิตโดยใช้ก้ำเชื้อที่ทำไลโอไฟไลซ์จากคีเฟอร์เกรน นำมาผลิต ก้ำเชื้อจำนวนมากและเติมลงในน้ำนม วิธีการหมักแบบนี้ทำได้ง่ายและสามารถควบคุมขั้นตอน การผลิตได้ดีกว่า ดังแสดงในภาพที่ 2

แนวทางการวิจัยเกี่ยวกับการผลิตคีเฟอร์

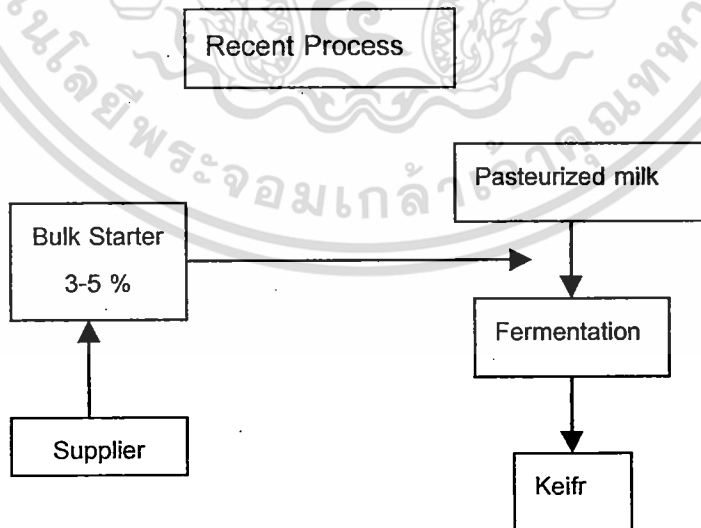
นอกจากการผลิตคีเฟอร์ตามกระบวนการดั้งเดิมและกระบวนการแบบใหม่แล้ว ปัจจุบัน ได้มีการวิจัยเกี่ยวกับการผลิตคีเฟอร์ โดยมีแนวคิดที่จะผลิตคีเฟอร์โดยใช้ก้ำเชื้อบริสุทธิ์แทนการ ผลิตคีเฟอร์โดยใช้คีเฟอร์เกรน ซึ่งวิธีการนี้สามารถควบคุมจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องได้ดีกว่า ผลิตได้ ง่ายกว่าและคุณภาพของคีเฟอร์มีแนวโน้มว่าจะดีกว่าการผลิตแบบเดิม สามารถเก็บรักษาที่ อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสนานขึ้น (ประมาณ 10-15 วัน) แนวคิดที่เป็นพื้นฐานในการผลิตคือใช้ เชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จากคีเฟอร์เกรนนำมาหมักนมร่วมกับยีสต์ หรืออาจทำการหมักสองครั้ง โดย ครั้งแรกเป็นการหมักด้วยแบคทีเรียกรดแลคติกและครั้งที่สองเป็นการหมักด้วยยีสต์ (Duitschaever, 1987; Rossi and Gobetti, 1991) ตัวอย่างการผลิตคีเฟอร์โดยใช้ก้ำเชื้อ แสดงในภาพที่ 5

การหมักคีเฟอร์

การหมักคีเฟอร์เป็นหนึ่งในการผลิตอาหารโดยกระบวนการหมัก โดยกระบวนการหมักเป็น ทั้งการหมักให้เกิดกรดแลคติก (lactic acid fermentation) ซึ่งเกิดขึ้นโดยแบคทีเรียกรดแลคติก และการหมักให้เกิดแอลกอฮอล์ (alcoholic fermentation) ซึ่งเกิดขึ้นโดยกิจกรรมของยีสต์ วิธีการ หมักทั้งสองประเภทแสดงในภาพที่ 6 การหมักกรดแลคติกเป็นกระบวนการใช้น้ำตาลเปลี่ยนเป็น กรดแลคติก ซึ่งการหมักประเภทนี้นำไปประยุกต์ใช้กับการผลิตอาหารหมักหลายชนิด เช่น นม เปรี้ยว โยเกิร์ต ซีส ผักดอง ไข่กรอกเปรี้ยว แหนม ปลาร้า ปลาซึ่ม เป็นต้น ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจาก

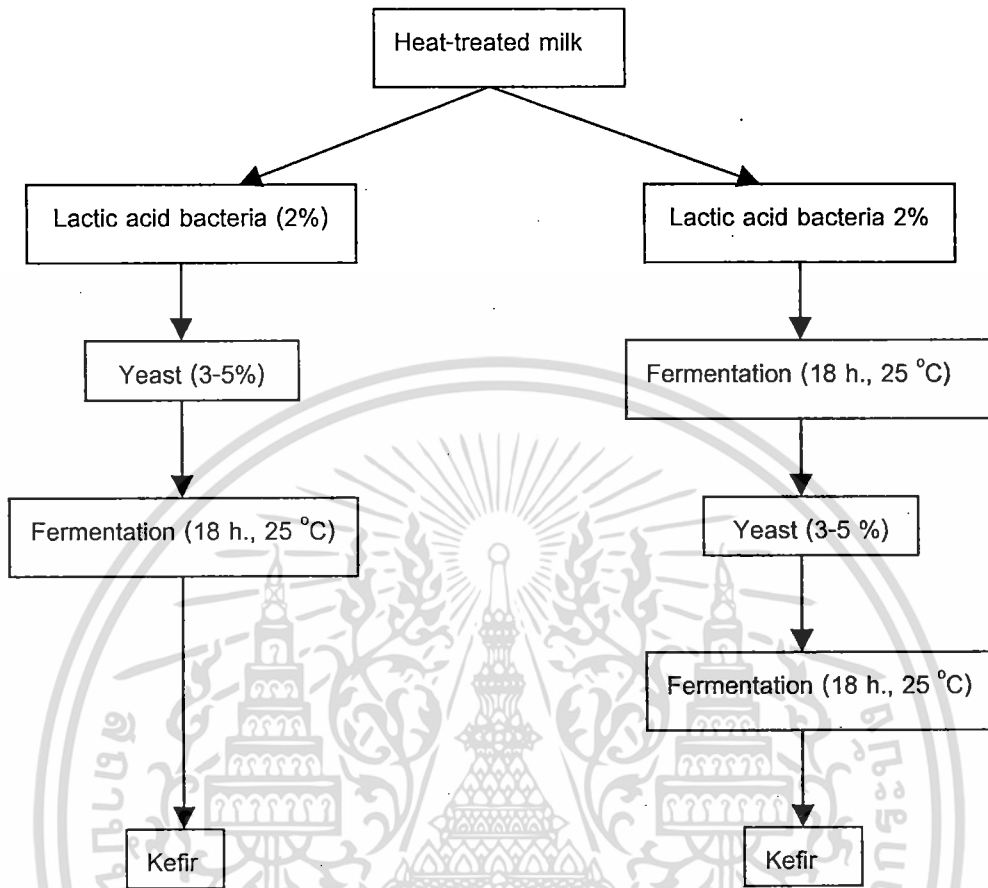


ภาพที่ 3 การผลิตคีเฟอร์แบบ Traditional Process ซึ่งผลิตในครอบครัวและผลิตในปริมาณมาก



ภาพที่ 4 กระบวนการผลิตคีเฟอร์รูปแบบ Recent Process

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ภายในหอสมุดกลางเท่านั้น ไม่ควรเผยแพร่ไปโดยไม่ได้รับอนุญาต
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งนี้ การหมักคีเฟอร์โดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นกล้ำเชื้อ



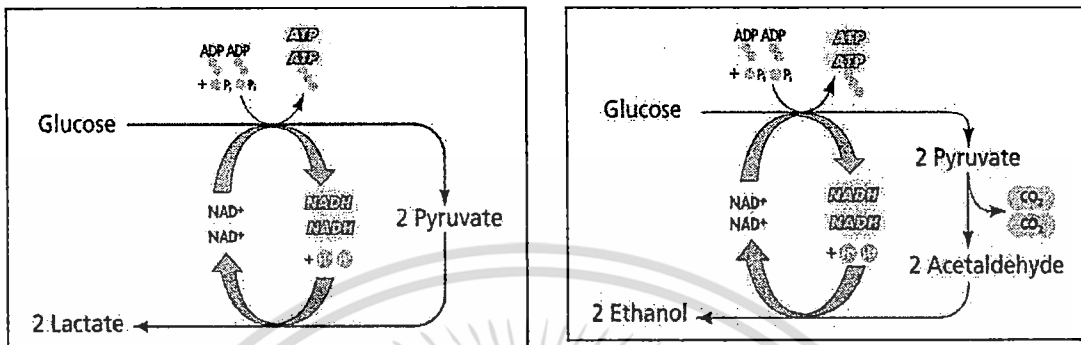
ภาพที่ 5 การผลิตคีเฟอร์โดยใช้ถั่วเหลือง

การหมักทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีรสเปรี้ยวเล็กน้อย และมีกลิ่นเฉพาะตามชนิดของวัตถุดิบที่นำมาหมัก ระหว่างการหมักกรดแลคติกทำให้ค่าพีเอชของส่วนผสมลดลงและเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและกายภาพตามมา นอกจากนั้นแบคทีเรียกรดแลคติกยังมีการสร้างสารที่มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคชนิดอื่น ๆ ด้วย

การหมักกรดแลคติก

แบคทีเรียกรดแลคติกสร้างพลังงานจากการหมักสารประกอบคาร์โบไฮเดรต วิธีการสร้างกรดแลคติกเกิดจากปฏิกิริยาทางชีวเคมี 2 วิธี คือ การหมักที่ได้กรดแลคติกเพียงอย่างเดียว เรียกว่า โฮโมเฟอร์เมนเททีฟ (homofermentative) และวิธีการหมักที่ได้สารชนิดอื่น ๆ นอกเหนือจาก

กรดแลคติก เรียกว่า เฮเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ (heterofermentative) วิธีการหมักทั้งสองแสดงในภาพที่ 7 และ 8

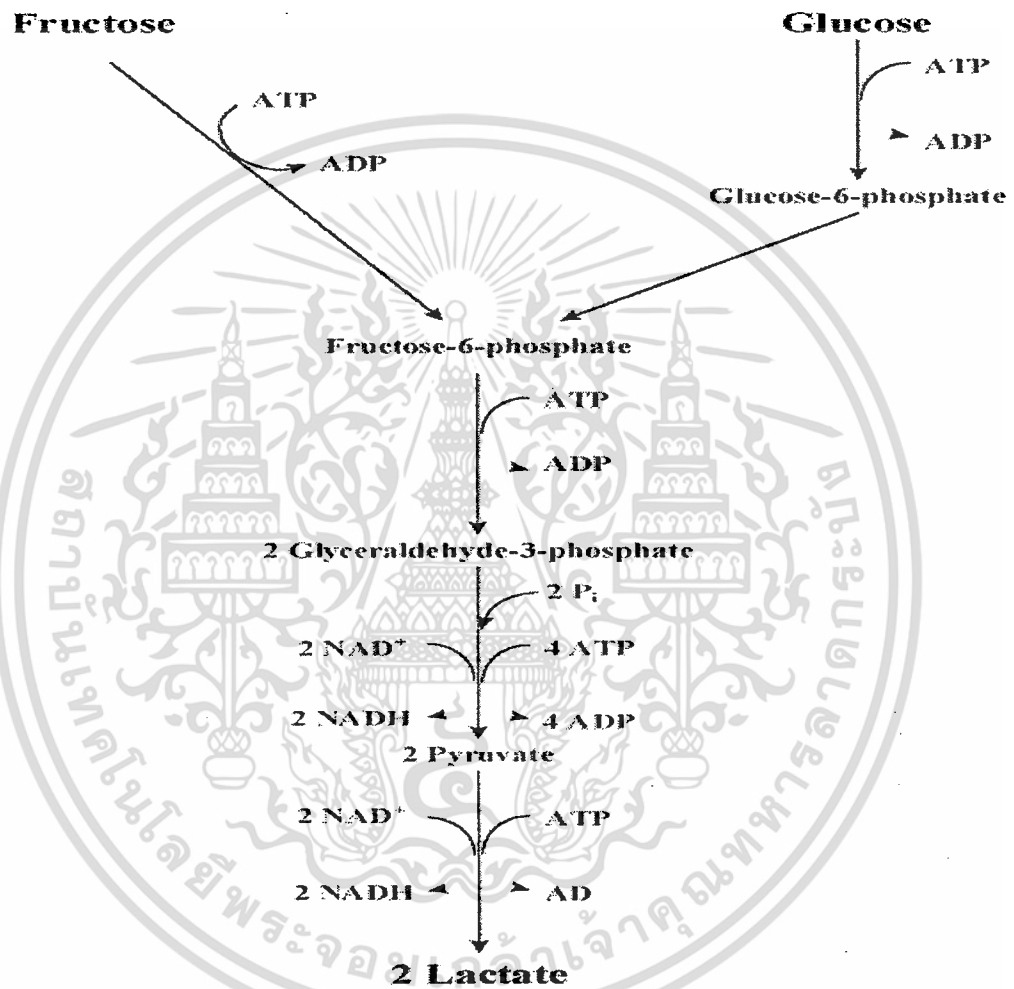


ภาพที่ 6 วิธีการหมักกรดแลคติกและวิธีการหมักเอทานอล

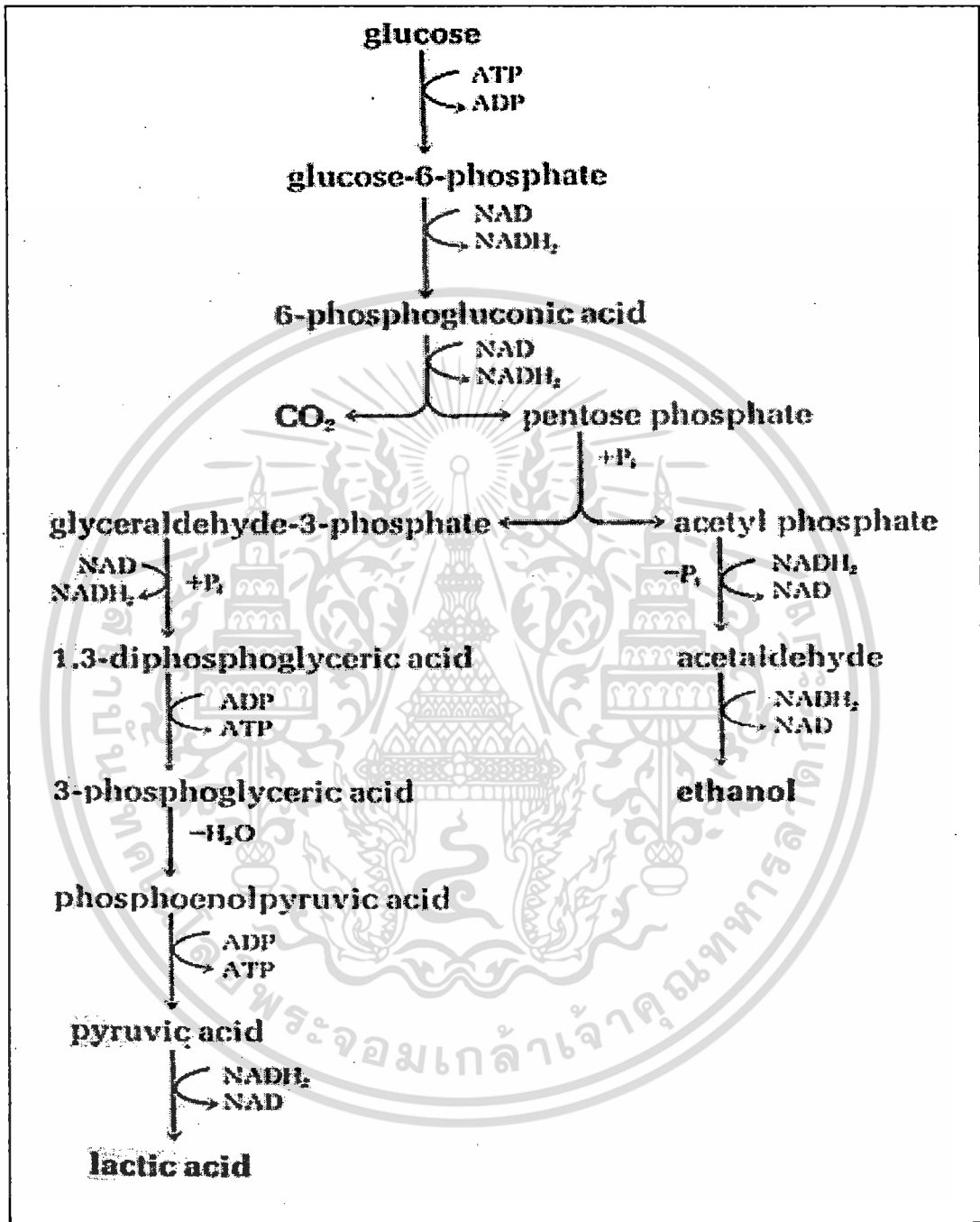
ที่มา : fungifood.tripod.com/ferment.htm

โฮโมเฟอร์เมนเททีฟ หรือ โฮโมแลคติกเฟอร์เมนเทชัน (homolactic fermentation) เป็นการหมักที่ให้เกิดกรดแลคติกอย่างเดียว โดยแบคทีเรียกรดแลคติกใช้น้ำตาลกลูโคสโดยผ่านวิถีไกลโคไลซิส (glycolysis) หรือ Emden-Meyerhof-Parnas Pathway (EMP) ซึ่งแบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถผลิตกรดแลคติกได้ประมาณ 95 เปอร์เซ็นต์ จากการหมักกลูโคสหรือกาแลคโทส ในกระบวนการหมักกลูโคส 1 โมเลกุลเมื่อเข้าสู่ EMP จะได้ไพรูเวท 2 โมเลกุล จากนั้นไพรูเวทจะถูกเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายคือกรดแลคติก ซึ่งกรดแลคติกจะพบได้ทั้งชนิด D-lactic และ L-lactic (Adam และ Moss, 1995; Singleton และ Sainbury, 1988) ตัวอย่างของแบคทีเรียกรดแลคติกกลุ่มนี้ได้แก่ *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus* และ *Enterococcus* เป็นต้น

เฮเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ หรือ เฮเทอโรแลคติกเฟอร์เมนเทชัน เป็นการหมักให้เกิดกรดแลคติกโดยแบคทีเรียกรดแลคติก ซึ่งหมักน้ำตาลกลูโคสได้เป็นผลิตภัณฑ์หลายชนิด ได้แก่ กรดแลคติก กรดแอซิติค กรดฟอร์มิก เอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์ (Schlegel, 1993; Adam และ Moss, 1995) ตัวอย่างของแบคทีเรียกรดแลคติกกลุ่มนี้ได้แก่ *Lactobacillus* บางสปีชีส์ และ *Leuconostoc*



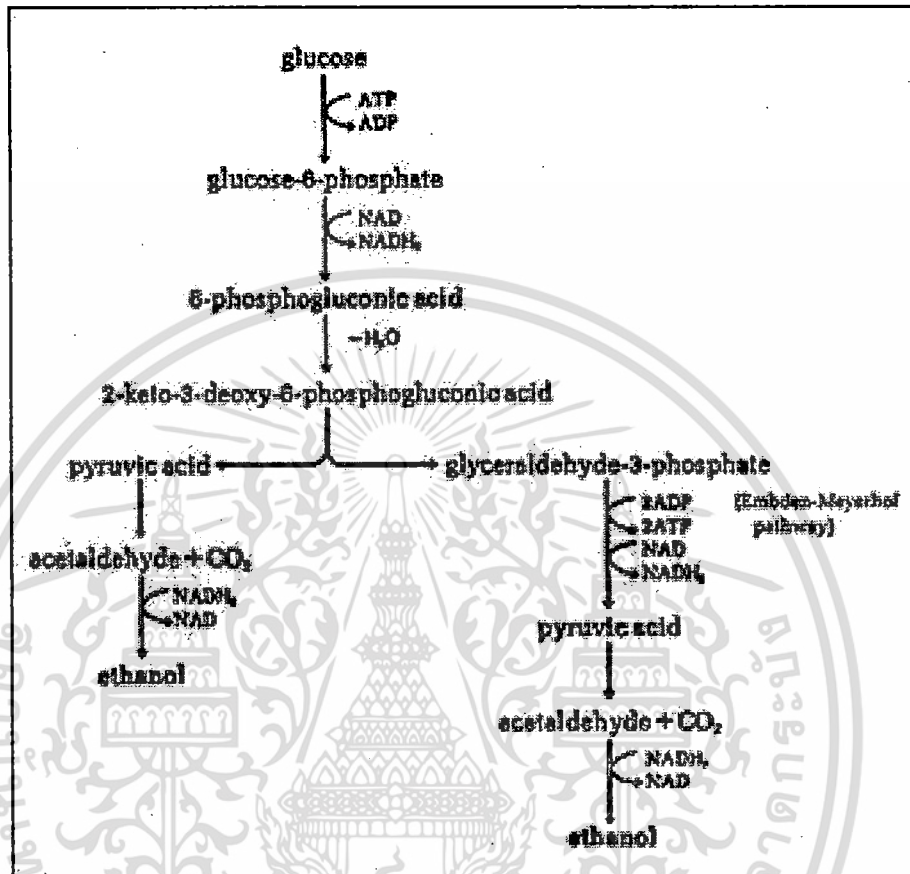
ภาพที่ 7 วิธีการหมักกรดแลคติกแบบ โฮโมเฟอเมนเททีฟ
ที่มา www.brighton73.freemove.co.uk/.../phd-intr.htm



ภาพที่ 8 วิธีการหมักกรดแลคติกแบบเฮเทอโรเฟอเมนเททีฟ

เอกสารที่...
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งนี้ การหมักดีเฟอไรโดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นกล้ำเชื้อ

การหมักแอลกอฮอล์ (alcoholic fermentation)



ภาพที่ 9 วิถีการหมักเอทานอล

ที่มา : http://tnau.ac.in/.../agm/ UGMicro/AGM151_201/theory.htm

2.6 ประโยชน์ของคีเฟอร์

ในคีเฟอร์นอกจากจะมีแบคทีเรียและยีสต์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายแล้ว ผลิตภัณฑ์คีเฟอร์ยังประกอบด้วยแร่ธาตุและกรดอะมิโนที่จำเป็นหลายชนิด ซึ่งช่วยให้ระบบของร่างกายทำหน้าที่ต่าง ๆ ได้ตามปกติ โปรตีนที่สมบูรณ์ในคีเฟอร์บางส่วนได้ถูกย่อยในระหว่างการหมักทำให้ร่างกายดูดซึมไปใช้ได้ทันที กรดอะมิโนทริปโตเฟนเป็นกรดอะมิโนที่พบมากในคีเฟอร์ ในคีเฟอร์ยังมีธาตุแคลเซียมและแมกนีเซียม ซึ่งเป็นแร่ธาตุที่มีความสำคัญต่อระบบประสาทส่วนกลางพบมากในคีเฟอร์ นอกจากนี้ในคีเฟอร์ยังพบฟอสฟอรัสซึ่งเป็นแร่ธาตุช่วยเผาผลาญคาร์โบไฮเดรต ไขมันและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏวไลยอลงกรณ์

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งนี้ การหมักคีเฟอร์โดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นกล้ำเชื้อ

โปรตีน เพื่อใช้ในการเจริญและใช้พลังงานของเซลล์ (<http://www.kefir.net/kefir yogurt.htm>, <http://users.chariot.net.au/~dna/kefirpage.htm>) องค์ประกอบทางเคมีและคุณค่าทางโภชนาการของคีเฟอร์แสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 องค์ประกอบทางเคมีและคุณค่าทางโภชนาการของคีเฟอร์

องค์ประกอบ	100 กรัม	องค์ประกอบ	100 กรัม
พลังงาน	65 กิโลแคลอรี	วิตามินบี 12	0.5
ไขมัน (%)	3.5	ไนอะซิน	0.09
โปรตีน (%)	3.3	วิตามินซี	1.0
แลคโทส (%)	4.0	วิตามินดี	0.08
น้ำ (%)	87.5	วิตามินอี	0.11
มิวคัส แอซิด (กรัม)	0.8		
เอทิลแอลกอฮอล์ (กรัม)	0.9	เกลือแร่ที่ต้องการมาก (กรัม)	
กรดแลคติก (กรัม)	1.0	แคลเซียม	0.12
คอเลสเตอรอล (มิลลิกรัม)	13	ฟอสฟอรัส	0.10
ฟอสฟาเทต (มิลลิกรัม)	40	แมกนีเซียม	12.0
กรดอะมิโนที่จำเป็น (กรัม)		โพแทสเซียม	0.15
ทริโทเฟน	0.05	โซเดียม	0.05
ฟีนอลอะลานีน+ไทโรซีน	0.35	คลอไรด์	0.10
ลิวซีน	0.34		
ไอโซลิวซีน	0.21	เกลือแร่ที่ต้องการน้อย	
ทรีโอนีน	0.17	เหล็ก (มิลลิกรัม)	0.05
เมไทโอนีน+ซิสทีน	0.12	ทองแดง (ไมโครกรัม)	12.0
ไลซีน	0.27	โมลิบดีนัม (ไมโครกรัม)	5.5
วาเลอีน	0.22	แมงกานีส (ไมโครกรัม)	5
วิตามิน (มิลลิกรัม)		สังกะสี (มิลลิกรัม)	0.36
วิตามินเอ	0.06		
แคโรทีน	0.02	สารประกอบที่ทำให้เกิดกลิ่น	
วิตามินบี 1	0.04	อะซิโธลดีไฮด์	
วิตามินบี 2	0.17	ไดอะซิโธล	
วิตามินบี 6	0.05	อะซิโธอิน	

เครื่องดื่มน้ำคีเฟอร์มีประโยชน์ต่อสุขภาพหลายประการ เช่น โรงพยาบาล และสถานพักฟื้นหลายแห่งในสหภาพประเทศโซเวียตให้ผู้ป่วยโรคคีเฟอร์เพื่อรักษาภาวะต่าง ๆ ของร่างกาย เช่น ความผิดปกติของระบบในร่างกาย แก้ปัญหาเกี่ยวกับภูมิแพ้ ใช้รักษาโรคทิวเบอคูโรซิส มะเร็ง และความผิดปกติของลำไส้ ซึ่งการรักษาด้วยเวชภัณฑ์สมัยใหม่ไม่บรรลุผล โดยนักวิทยาศาสตร์หลายท่านสังเกตว่าการบริโภคน้ำคีเฟอร์มีผลต่อระบบการย่อยอาหารของร่างกาย นอกจากนี้ยังมีการศึกษาที่พบว่าคีเฟอร์มีคุณสมบัติในการป้องกันเนื้องอก โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จากคีเฟอร์สามารถจับสารที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ เช่น อินโดลและอิมิดาซอล เป็นต้น (Saloff-Coste, 1996)

ในคีเฟอร์ยังมีวิตามินที่จำเป็นต่อร่างกาย โดยเฉพาะวิตามินบี 12 บี1 และวิตามินเค มีองค์ประกอบของไบโอติน ซึ่งวิตามินที่พบในคีเฟอร์ช่วยควบคุมการทำงานของไต ระบบประสาท และช่วยบำรุงผิวพรรณ การดื่มน้ำคีเฟอร์พบว่าช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ซึ่งมีการทดลองใช้กับผู้ป่วยที่เป็นโรคเอดส์ เริม มะเร็ง พบว่าผู้ป่วยมีอาการดีขึ้นแต่ยังไม่ทราบผลแน่ชัด รวมทั้งยังช่วยลดอาการเครียดหรือปัญหาการนอนไม่หลับอีกด้วย สำหรับผู้ที่ดื่มน้ำคีเฟอร์มีรายงานว่าช่วยทำให้ระบบขับถ่ายดีขึ้น ลำไส้บีบตัวดีขึ้น ช่วยป้องกันการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร ทำให้มีสุขภาพดีขึ้น ([http://users.chariot.net.au/~dna/kefirpage,htm](http://users.chariot.net.au/~dna/kefirpage.htm))

สารโพลีแซคคาไรด์ หรือคีเฟอร์านที่พบในคีเฟอร์เกรน ซึ่งประกอบด้วยกลูโคสและกาแลคโทสอย่างละเท่า ๆ กัน ได้มีการศึกษาคุณสมบัติของคีเฟอร์านและพบว่ามีความสมบัตินานานเนื้องอก ป้องกันการลุกลามของเนื้อเยื่อ ป้องกันการอักเสบ ดังนั้นจึงเป็นตัวกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันได้เป็นอย่างดี การบริโภคน้ำคีเฟอร์ช่วยลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลายชนิด เช่น โรคหัวใจ ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลและควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด ช่วยในระบบการย่อยอาหาร ช่วยรักษาตับ ไต ถูกรดน้ำดี กระเพาะปัสสาวะ และการบริโภคน้ำคีเฟอร์ยังช่วยลดอาการแก๊สอีกด้วย (<http://www.growyouthful.com.pdf#search='kefiran'>)

ประโยชน์ของคีเฟอร์ที่สำคัญอีกประการหนึ่งคือ เป็นอาหารประเภทโพรไบโอติก ประโยชน์ด้านนี้สืบเนื่องมาจากชนิดของจุลินทรีย์ที่พบในคีเฟอร์ซึ่งประกอบด้วยแบคทีเรียและยีสต์ และผลิตภัณฑ์ที่จุลินทรีย์กลุ่มนี้สร้างขึ้นมีผลช่วยให้สุขภาพของผู้บริโภคดีขึ้น การบริโภคน้ำคีเฟอร์ช่วยเพิ่มปริมาณของแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ ช่วยทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ประโยชน์ในด้านโพรไบโอติกยังเกิดจากคุณสมบัติของคีเฟอร์านซึ่งพบในคีเฟอร์เกรนอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับอาจารย์และบุคลากรที่สอนในวิชาโภชนาการเท่านั้น ไม่สามารถเผยแพร่ให้บุคคลอื่นได้
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งนี้ การหมักคีเฟอร์โดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นกล้ำเชื้อ

(<http://www.liberte.qc/html/kefir.asp>) โดยคือเฟอร์านที่คุณสมบัติในการต้านแบคทีเรียและเป็นสารที่ยับยั้งเนื้องอก

ประโยชน์ของคีเฟอร์โดยทั่วไปต่อสุขภาพพอกกล่าวได้ดังนี้ ช่วยรักษาสมดุลย์ของแบคทีเรียที่มีประโยชน์และแบคทีเรียที่ให้โทษในลำไส้ และป้องกันการติดเชื้อ ช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน ช่วยในระบบการย่อยโดยเฉพาะผู้ที่แพ้น้ำตาลแลคโทส ควบคุมระดับคอเลสเตอรอล และช่วยรักษาสุขภาพ (<http://www.nda.agric.za/docs/AAPS/Articles/Goats/Dairy%20Goat/mmilk.pdf>)

2.7 วัตถุประสงค์ที่ใช้หมักคีเฟอร์

นํ้านมวัว

นํ้านม เป็นอาหารเพียงอย่างเดียวของทารกแรกเกิด ประกอบด้วยสารอาหารต่าง ๆ ที่ให้ทั้งพลังงาน สารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของร่างกายและสารให้ภูมิต้านทานเชื้อโรคแก่ทารก นํ้านมประกอบด้วยสารอาหารชนิดต่าง ๆ ได้แก่ โปรตีน ไขมัน แลคโทส วิตามินและเกลือแร่ ดังนั้นนํ้านมจึงเป็นอาหารที่อุดมสมบูรณ์มากที่สุด และมีคุณสมบัติหลายประการที่สามารถนำไปประกอบหรือผสมกับอาหารอื่น ๆ ได้ นํ้านมจากสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนมหลายชนิดใช้เป็นอาหารของมนุษย์ แต่ที่ผลิตขายเป็นอุตสาหกรรมและผลิตภัณฑ์นมอื่น ๆ คือ นํ้านมวัว ซึ่งหมายถึงของเหลวที่ได้จากเต้านมโดยปราศจากนํ้านมน้ำเหลือง (colostrum) และรีดอย่างสมบูรณ์จากแม่วัวที่มีสุขภาพแข็งแรง มีปริมาณของแข็งไม่ไขมันเนย (milk-solid not-fat : MSNF) อยู่ในช่วง 8.0-8.5 เปอร์เซ็นต์ และมีไขมันอยู่ในช่วง 3.0-3.8 เปอร์เซ็นต์ ถ้าเป็นนมจากสัตว์ชนิดอื่นต้องระบุว่าเป็นนมชนิดใด (สมจิต สุรพัฒน์, 2546)

องค์ประกอบทางเคมีของนํ้านม สมจิต สุรพัฒน์ (2546) ได้กล่าวถึงองค์ประกอบทางเคมีของนํ้านมไว้ดังนี้

โปรตีน เป็นสารประกอบที่มีมากที่สุดรองลงมาจากน้ำในร่างกาย เป็นสารอาหารที่มีความสำคัญต่อการเจริญของร่างกาย ถ้าขาดหรือได้รับไม่เพียงพอจะทำให้ร่างกายมีความต้านทานโรคน้อยลง การเจริญเติบโตลดลง โปรตีนประกอบด้วยกรดอะมิโนหลายชนิด โปรตีนในนํ้านมแบ่งเป็น 2 กลุ่ม คือ

เคซีน (casein) เป็นโปรตีนหลักที่มีมากที่สุดคือน้ำ สามารถแยกออกได้ด้วยการตกตะกอนนมโดยการเติมกรดจนค่าพีเอชของนมเป็น 4.6-4.7 เคซีนในนมมีประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ ของโปรตีนทั้งหมด และแตกต่างกันตามชนิดและพันธุ์ของสัตว์ เคซีนยังประกอบด้วยโปรตีนย่อยอีกอย่างน้อย 3 ชนิด คือ แอลฟา เบต้า และแคปปา เคซีน ซึ่งมักจะรวมตัวกับธาตุแคลเซียมและฟอสฟอรัสเกิดเป็นสารคอลลอยด์ที่ทำให้นมมีลักษณะขุ่นขาว นอกจากการตกตะกอนด้วยกรดแล้วยังสามารถแยกเคซีนออกโดยการเติมเอนไซม์บางชนิด ได้แก่ เรนนิน (rennin) ทำให้โปรตีนที่ออกมามีคุณสมบัติเท่าเดิม และกลายเป็นอาหารชนิดใหม่ ได้แก่ เนยแข็ง ในทางอุตสาหกรรมการผลิตเคซีนผงใช้วิธีตกตะกอนหางนมด้วยกรดเจือจางหลายชนิด เช่น กรดซัลฟูริก กรดไฮโดรคลอริก หรือกรดแลคติก หลังจากล้างกรดออกนำมาปั่นและทำให้แห้ง หรืออาจตกตะกอนด้วยเรนนินก็ได้ โดยทั่วไปแล้วเคซีนผงใช้เป็นอาหาร ทำกาว สารเคลือบกระดาษ พลาสติกหรือใช้เป็นส่วนผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

โปรตีนเวย์ (whey proteins) เมื่อตกตะกอนเคซีนออกจากนมแล้ว น้ำเหลวๆ ที่เหลือประกอบด้วยโปรตีนอีกหลายชนิดที่ละลายอยู่ ที่สำคัญได้แก่ แลคโกลบูลิน และแลคโทโกลบูลิน สำหรับแลคโกลบูลิน นั้นมีปริมาณรองจากเคซีน เป็นโปรตีนที่ตกตะกอนได้ง่ายเมื่อถูกความร้อน ดังนั้นการให้ความร้อนแก่นมอาจทำให้โปรตีนชนิดนี้ตกตะกอนออกมาบ้าง เราสามารถแยกโปรตีนนี้ออกมาได้โดยการตกตะกอนด้วยแมกนีเซียมซัลเฟต ส่วนแลคโกลบูลินนั้นไม่ละลายน้ำ แต่ละลายได้ดีในสารละลายเกลือเจือจาง เป็นโปรตีนที่มีความสามารถให้ความต้านทานแก่ร่างกายเพราะประกอบด้วยอิมมูโนโกลบูลิน (immunoglobulins)

ไขมัน

ไขมันในน้ำนมอยู่ในรูปของเม็ดไขมัน (globules) ขนาดของเม็ดไขมันมีเส้นผ่าศูนย์กลางระหว่าง 0.1-2.0 ไมครอน โดยเฉลี่ย 3 ไมครอน มีขนาดเล็กกว่าแบคทีเรีย ผงหรือผิวของเม็ดไขมันประกอบด้วยโปรตีนและสารพวกฟอสโฟลิปิดยึดแน่นที่ผิว ทำให้เม็ดไขมันแต่ละอันไม่รวมตัวกันกลายเป็นกลุ่มไขมันหรือชั้นของครีมขึ้น ถ้ามีการคนหรือเขย่าอย่างแรง ทำให้ผิวนี้แตกออกทำให้เม็ดไขมันรวมตัวกันง่ายขึ้นกลายเป็นของเหลว

ไขมันในนมประกอบด้วยกลีเซอรอลประมาณ 12.5 เปอร์เซ็นต์ และกรดไขมัน 85.5 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก ซึ่งทั้ง 2 อย่างนี้จะรวมตัวกันเป็นไตรกลีเซอไรด์เกิดเป็นไขมันขึ้น กรดไขมันในน้ำนมมีหลายชนิด ทั้งกรดไขมันชนิดอิ่มตัว เช่น กรดบิวทีริก (butyric) ซึ่งพบได้ในไขมันนมเท่านั้น เป็นกรดไขมันที่มีกลิ่นเฉพาะตัว ถ้าแตกตัวออกจากไขมันจะทำให้นมมีกลิ่นหืน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับควรใช้สงวนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่ควรนำไปใช้ประโยชน์ด้วยประการ
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น ลิขสิทธิ์เป็นของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี กรุงเทพมหานคร ปี ๒๕๖๓
การหมักดีฟอย์โดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นกล้ำเชื้อ

ขึ้น และทำให้เนยแข็งบางชนิดมีกลิ่นพิเศษ เช่น เนยแข็งที่ทำจากนมแกะและนมแพะ อีกชนิดคือ กรดไขมันไม่อิ่มตัว และมีกรดไขมันอิสระอีกเล็กน้อย นอกจากนี้ไขมันในนมยังมีสารบางอย่างที่มีปริมาณน้อยกว่า เช่น ฟอสโฟลิปิด ได้แก่ เลซิทีน เคพาลิน และสฟิงโกไมอีลิน สารสเตอรอล ได้แก่ คอเลสเตอรอล และลาโนสเตอรอล ซีลีเนียม และวิตามินที่ละลายในไขมัน ได้แก่ วิตามินเอ วิตามินดี วิตามินอี วิตามินเค และแคโรทีนอยด์

น้ำตาล น้ำตาลในนมได้แก่ น้ำตาลแลคโทส ปริมาณของน้ำตาลแลคโทสโดยเฉลี่ย 4.92 เปอร์เซ็นต์ แลคโทสเป็นน้ำตาลที่ละลายน้ำได้ไม่ดี ดังนั้นจึงมีโอกาที่จะเกิดสารละลายอิ่มตัวอย่างง่ายในผลิตภัณฑ์นมหลายชนิด ทำให้เกิดปัญหาขึ้นเมื่อทำให้เย็น หรือเมื่อทำนมข้นหวานซึ่งต้องเติมน้ำตาลลงไป แลคโทสจะตกผลึกออกมาทำให้ผลิตภัณฑ์นั้นๆ มีผลึกน้ำตาลเป็นเม็ดเล็ก ๆ เมื่อบริโภครู้สึกสากลิ้น ปัญหานี้มักจะเกิดกับการทำนมข้นชนิดไม่หวานและนมข้นหวาน ดังนั้นจึงต้องป้องกันโดยการเติมแลคโทสผงเพื่อเหนี่ยวนำให้ผลึกที่เกิดขึ้นเล็กลงมากจนเราไม่รู้สึกเวลาบริโภคผลิตภัณฑ์นั้นๆ

แร่ธาตุต่าง ๆ

การตรวจสอบหาปริมาณแร่ธาตุในนม ใช้วิธีการหาปริมาณเถ้า ซึ่งหมายถึงสารที่เหลือหลังจากเผาน้ำนมจนเป็นขี้เถ้า ซึ่งประกอบด้วยแร่ธาตุต่าง ๆ ในรูปของคาร์บอนไดออกไซด์ และฟอสเฟต ปริมาณแร่ธาตุต่าง ๆ ในน้ำนมแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ปริมาณแร่ธาตุในนมและในเถ้าของนมโดยเฉลี่ย

แร่ธาตุ	เปอร์เซ็นต์ในน้ำนม	เปอร์เซ็นต์ในเถ้าของน้ำนม
โพแทสเซียม	0.14	20.0
แคลเซียม	0.12	17.4
คลอไรด์	0.10	14.5
ฟอสฟอรัส	0.09	13.2
โซเดียม	0.05	7.4
แมกนีเซียม	0.01	1.45
ซัลเฟอร์	0.025	3.6

ที่มา : สมจิต สุรพัฒน์ (2546)

วิตามินต่าง

ปริมาณของวิตามินชนิดต่าง ๆ ในนมดิบจะแตกต่างกันตามพันธุ์วัว ฤดูกาล การเก็บนม เวลา และการผลิต ซึ่งปริมาณของวิตามินชนิดต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ปริมาณของวิตามินในนมและผลิตภัณฑ์นมบางชนิด (ต่อน้ำหนักนม 100 กรัม)

ชนิดของ วิตามิน	ชนิดของนมและผลิตภัณฑ์นม					
	นํ้านมวัวดิบ	นํ้านมมารดา	เนย	ไอศกรีม (ไขมัน 12 %)	ไอซ์มิลล์ (ไขมัน 5 %)	เวย์ (แห้ง)
วิตามินเอ (I.U.)	160	65	3,300	520	210	50
โทอะมิน (ม.ก.)	0.035	0.012	-	0.040	0.050	0.500
ไรโบฟลาวิน (ม.ก.)	0.170	0.037	-	0.180	0.200	2.500
ไนอะซิน (ม.ก.)	0.08	0.18	0.10	0.14	0.10	0.80
วิตามินซี (ม.ก.)	2.0	5.7	-	1.0	1.0	-
วิตามินดี (I.U.)	0.5-4.4	-	-	-	-	-
วิตามินอี (ม.ก.)	0.08-0.15	-	-	-	-	-

ที่มา : สมจิต สุรพัฒน์ (2546)

น้ำ

น้ำ เป็นสารที่มีมากที่สุดในนํ้านม คือมีประมาณ 87 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก น้ำเป็นตัวทำละลายสำหรับน้ำตาล เกลือแร่ เช่น เกลือของโซเดียมและโพแทสเซียม วิตามินที่ละลายน้ำ

นํ้านมถั่วเหลือง (soy milk)

นมถั่วเหลือง หรือ นํ้าเต้าหู้ เป็นเครื่องดื่มที่ทำจากถั่วเหลืองมีลักษณะเป็นของเหลวสีขาว หรือ สีครีม มีเนื้อสัมผัสคล้ายนํ้านม เติร์มจากถั่วเหลืองทั้งเมล็ด เป็นผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองที่คุณค่าทางโภชนาการสูง ราคาถูก มีโปรตีนสูงเมื่อเทียบกับนํ้านมวัว และยังมีธาตุเหล็ก วิตามินบีหนึ่ง ไนอะซินใกล้เคียงกับนํ้านมวัว คุณค่าทางโภชนาการโดยทั่วไปของนํ้านมถั่วเหลือง นมแม่ และ นํ้าวัว แสดงในตารางที่ 7

เอกสารอ้างอิง : กรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ กระทรวงพาณิชย์ (2558)

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งนี้ การหมักดีเฟออร์โดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นกล่าเชื้อ

ตารางที่ 7 ส่วนประกอบทางโภชนาการของน้ำนมถั่วเหลือง นมแม่ และนมวัว

ส่วนประกอบ	คุณค่าทางโภชนาการ (กรัม/250 มิลลิลิตร)		
	น้ำนมถั่วเหลือง	น้ำนมแม่	น้ำนมวัว
น้ำ	217	220	219
โปรตีน	6.3	3.8	8.5
น้ำตาลแลคโทส	22.5	17.5	12.3
ไขมัน	2.8	8	8
แคลเซียม	48	85	295
พลังงาน (กิโลแคลอรี)	135	155	155

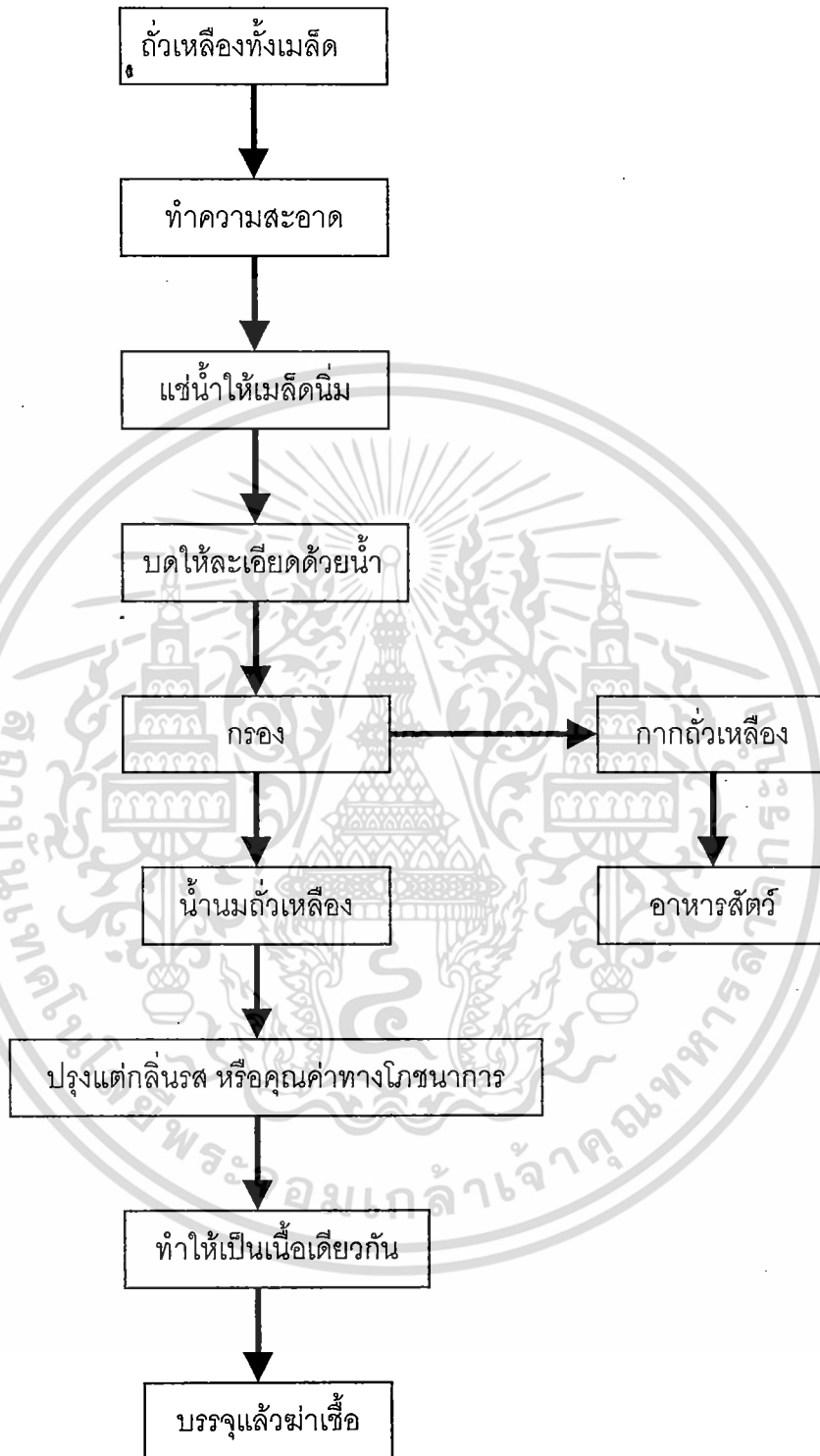
ที่มา : <http://www.healthnet.in/text/forum2/soibean/index.html>

กรรมวิธีการผลิตน้ำนมถั่วเหลือง

สถาบันอาหาร (<http://www.nif.or.th/recycle/pdf/file/Poo050pdf>) ได้กล่าวถึงกรรมวิธีการผลิตน้ำนมถั่วเหลือง ดังนี้ การสกัดด้วยน้ำจากถั่วเหลืองทั้งเมล็ด (water extraction method) หรือ การสกัดเนื้อถั่วด้วยน้ำในลักษณะอิมัลชัน (water emulsion method) หรือการสกัดจากแป้งถั่วเหลืองชนิดไขมันเต็ม (full fat soy flour method) หรือการสกัดจากจากโปรตีนเข้มข้น (soy protein method) โดยวิธีการสกัดจากถั่วเหลืองทั้งเมล็ดเป็นวิธีดั้งเดิมที่ใช้กันมานาน และยังคงเป็นที่นิยมใช้ทั้งในอุตสาหกรรมครัวเรือน และอุตสาหกรรมขนาดใหญ่

กรรมวิธีการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองจากถั่วเหลืองทั้งเมล็ด

1. การเตรียมเมล็ด คัดเมล็ดที่มีคุณภาพโดยการแยกเมล็ดที่ไม่สมบูรณ์ เมล็ดเสีย และสิ่งเจือปนออก น้ำเมล็ดที่คัดเลือกแล้วมาทำความสะอาดด้วยการล้างน้ำ แล้วนำไปแช่ให้นิ่มเพื่อสะดวกต่อการสกัดน้ำนม นิยมแช่ถั่วเหลืองในอัตราส่วน ถั่ว : น้ำ ไม่น้อยกว่า 1 : 3 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาไม่น้อยกว่า 8 ชั่วโมง หรือถ้าใช้อุณหภูมิสูงถั่วก็จะนิ่มเร็วกว่าใช้อุณหภูมิต่ำ เนื้อถั่วเมื่อดูดน้ำเต็มที พองตัวขึ้นประมาณ 1-1.2 เท่า และสามารถลอกเยื่อออกได้โดยง่าย แยกเปลือกถั่วที่ลอกหลุดออกไปจะได้เมล็ดถั่วที่สะอาด



ภาพที่ 10 กรรมวิธีการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองจากตั้วเหลืองทั้งเมล็ด

ที่มา : <http://www.nif.or.th/recycle/pdf/Poo050pdf>

2. การสกัดน้ำมัน บดเนื้อถั่วให้ละเอียด โดยอาจใช้โม่หิน หรือเครื่องบดที่มีประสิทธิภาพสูงเพื่อให้ได้เนื้อละเอียด การบดมักเติมน้ำเพื่อช่วยในการบดและสกัด นิยมเติมในอัตราส่วน ถั่ว : น้ำ เท่ากับ 1 : 6 หรือ 1 : 10 น้ำมันที่ได้ในขั้นตอนนี้จะมีกลิ่นถั่ว ซึ่งได้มีการเสนอแนะวิธีลดปัญหากลิ่นถั่วหลายวิธี เช่น การบดเนื้อถั่วกับน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส (hot grind method) หรือแช่ถั่วในน้ำร้อนแล้วตามด้วยสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนตที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 นาที ก่อนที่จะบด อุณหภูมิของน้ำร้อน (8-10 องศาเซลเซียส) จะช่วยลดปฏิกิริยาของเอนไซม์พอกซีจีเนสได้ร้อยละ 90-95 เอนไซม์พอกซีจีเนสเป็นเอนไซม์ที่เชื่อว่าทำให้เกิดปฏิกิริยาย่อยสลายไขมันได้สารที่ให้กลิ่นถั่ว การใช้สารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนตพบว่าช่วยลดกลิ่นถั่วได้มากกว่า ให้น้ำมันสีขาวกว่า แต่ได้ปริมาณน้ำมันถั่วเหลืองน้อยกว่าการใช้น้ำร้อนเพียงอย่างเดียว นอกจากนี้การใช้แคลเซียมคาร์บอเนต (ความเข้มข้นร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก) ในระหว่างการบดเมล็ดถั่ว พบว่าช่วยลดกลิ่นถั่วด้วย ในทางอุตสาหกรรมอาจใช้วิธีการบดถั่วในน้ำแล้วนำไปกลั่นภายใต้สุญญากาศเพื่อกำจัดสารที่ให้กลิ่น

เมื่อบดแล้ว ให้กรองเอากากออก ส่วนที่เป็นน้ำใน คือน้ำมัน การกรองปริมาณน้อยอาจใช้ผ้าขาวบาง ส่วนในระดับอุตสาหกรรมใช้เครื่องกรองที่มีขนาดใหญ่ ซึ่งมีหลายรูปแบบ ให้น้ำมันที่กรองได้ไปต้มให้สุกเพื่อทำลายเอนไซม์และปฏิกิริยาชีวเคมีต่าง ๆ ที่จะมีผลต่อกลิ่นรส รวมทั้งทำลายสารยับยั้งทริปซิน เพื่อช่วยปรับปรุงคุณภาพทางโภชนาการของน้ำมันให้ดีขึ้น หลังจากนั้นนำไปปรุงแต่งรสเพื่อให้เกิดการยอมรับมากยิ่งขึ้น เช่น การเติมน้ำตาลทรายเพื่อให้เกิดรสหวาน การเติมผลโกโก้และส่วนผสมเพื่อให้รสโกโก้ หรือการปรับปรุงคุณค่าทางโภชนาการด้วยการเติมเมไทโอนีน ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่จำเป็นและพบว่ามีน้อยถั่วเหลือง น้ำมันที่ได้สามารถนำไปบริโภคได้ แต่ในระดับอุตสาหกรรมจะต้องนำไปผ่านกระบวนการบั่นให้เป็นเนื้อเดียวกัน และฆ่าเชื้อก่อนนำไปจำหน่าย

3. การทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน การทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ (Homogenizer) ที่ความดันประมาณ 3,000 ปอนด์/ตารางนิ้ว และอุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 7 องศาเซลเซียส การบั่นด้วยความร้อนสูงช่วยลดขนาดของอนุภาคไขมัน ทำให้โปรตีนและไขมันกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอ ไม่เกิดการแยกชั้น ทำให้ได้เนื้อสัมผัสที่เนียน เป็นเนื้อเดียวกัน และได้รสชาติที่สม่ำเสมอ

4. การบรรจุและฆ่าเชื้อ การผลิตระดับอุตสาหกรรมในครัวเรือน มักใช้วิธีการบรรจุขณะร้อนลงในขวดหรือถุงพลาสติกที่สะอาด ส่วนการผลิตในระดับอุตสาหกรรมสำหรับผลิตภัณฑ์ที่บรรจุในขวดหรือกระป๋องนิยมใช้วิธีการฆ่าเชื้อแบบสเตอริไลซ์ ส่วนการบรรจุในกล่องกระดาษหลายชั้นที่ประกอบด้วยกระดาษ พลาสติก และแผ่นอะลูมิเนียมประกบติดกันแน่น นิยมใช้วิธีการฆ่าเชื้อแบบ ยู เอช ที (Ultra high temperature : UHT) ที่อุณหภูมิ 135-143 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3-6 วินาที เพื่อฆ่าเชื้อทั้งหมดและช่วยคงคุณค่าของสารอาหารในน้ำนม ส่วนกากถั่วเหลืองที่เหลือจากการสกัดน้ำนมถั่วเหลืองสามารถนำไปใช้พัฒนาผลิตภัณฑ์อื่นได้อีก เพราะยังมีโปรตีนอยู่มาก แต่ส่วนใหญ่นำไปใช้เป็นอาหารสัตว์

การผลิตน้ำนมถั่วเหลืองจากเนื้อถั่วบด

การผลิตน้ำนมถั่วเหลืองจากเนื้อถั่วเหลืองบดในลักษณะที่เป็นอิมัลชัน นำถั่วที่ผ่านการทำความสะอาดแล้วมาอบไอน้ำที่อุณหภูมิ 165 องศาเซลเซียส แล้วเข้าเครื่องรีดเป็นแผ่นบาง (Flacking) ความหนาประมาณ 0.008 นิ้ว หรือน้อยกว่า จากนั้นนำมาใส่ในน้ำร้อนจนเข้ากัน นำเข้าเครื่องไฮโมจีไนเซอร์ เพื่อทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน กรองเอากากแล้วปรุงแต่งกลิ่นรส ให้น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที บรรจุและฆ่าเชื้อ วิธีนี้เหมาะสำหรับอุตสาหกรรมขนาดกลางและใหญ่มากกว่าขนาดเล็ก เพราะต้องใช้เครื่องจักรมากขึ้น

การผลิตน้ำนมถั่วเหลืองจากแป้งถั่วเหลืองชนิดไขมันเต็ม

การผลิตน้ำนมถั่วเหลืองจากแป้งถั่วเหลืองชนิดไขมันเต็ม วัตถุดิบที่ใช้ได้แก่ แป้งถั่วเหลืองชนิดไขมันเต็มที่เป็นผงละเอียดเพียงพอที่ผ่านตะแกรงขนาด 100 เมช นำมาผสมน้ำแล้วแยกส่วนที่ไม่ละลายน้ำออก ทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน ปรุงแต่งกลิ่นรสและฆ่าเชื้อในทำนองเดียวกับวิธีการสกัดด้วยน้ำจากถั่วเหลืองทั้งเมล็ด การผลิตใช้แป้งถั่วเหลืองเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับนำไปใช้ในระดับอุตสาหกรรม เพราะสะดวกในการเตรียมวัตถุดิบ เป็นกระบวนการที่มีประสิทธิภาพสูง แต่ต้องใช้เครื่องจักรที่มีราคาสูง

การผลิตน้ำนมถั่วเหลืองจากโปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง

นำโปรตีนสกัดจากถั่วเหลือง (Soy protein isolate) ซึ่งเป็นส่วนของโปรตีนที่สกัดได้จากถั่วเหลืองมาละลายน้ำที่อุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียส กวนจนสารละลายหมด ปรุงแต่งส่วนผสมเพื่อให้คล้ายคลึงกับน้ำนมถั่วเหลืองที่ได้จากเมล็ด เช่น การเติมน้ำตาล ไขมัน ผสมให้เข้ากัน

โดยใช้ความร้อนที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที กวนอย่างสม่ำเสมอ แล้วนำเข้าเครื่องไฮโมคิโนเซอร์ทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน เติมหักลินรส บรรจุและฆ่าเชื้อ

การเก็บรักษา

ภาชนะบรรจุน้ำนมถั่วเหลืองควรเป็นภาชนะที่สะอาด และปิดสนิทที่จุลินทรีย์ไม่สามารถผ่านเข้าออกได้ ทั้งนี้เพื่อป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ภายหลังการฆ่าเชื้อแล้ว สามารถป้องกันการซึมผ่านของกลิ่น ก๊าซ ออกซิเจนและแสง รวมทั้งต้องเป็นภาชนะบรรจุที่ไม่มีกลิ่นด้วย เพราะกลิ่นสามารถซึมซับในน้ำนม ทำให้น้ำนมมีกลิ่นผิดปกติ น้ำนมพาสเจอร์ไรท์ที่บรรจุทันทีหลังจากทำให้เย็นแล้วไม่เกิน 3 องศาเซลเซียส ลงในภาชนะที่สะอาด สามารถเก็บรักษาได้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้ประมาณ 7-10 วัน ถ้าเก็บที่อุณหภูมิสูงขึ้น อายุการเก็บรักษาก็จะสั้นลง ภาชนะบรรจุที่นิยม คือ ถูหรือขวดพลาสติก ส่วนน้ำนมถั่วเหลืองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแบบสเตอริไรท์ที่บรรจุกระป๋อง สามารถเก็บได้เป็นปี ส่วนนมยูเอชทีที่นิยมบรรจุในกล่องกระดาษหลายชั้นที่ประกอบด้วยพลาสติก กระดาษ และเปลวอะลูมิเนียมประกบติดกันแน่นมาก ก๊าซ ไอน้ำ หรือจุลินทรีย์ไม่สามารถผ่านได้ มีน้ำหนักเบา สวยงาม สะอาด เปิดง่าย และมีอายุการเก็บรักษานาน (6 เดือน) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นภาชนะที่มีการลงทุนสูง จึงเหมาะสำหรับการผลิตในอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ น้ำนมถั่วเหลืองที่ผลิตได้เป็นของเหลว อาจปรุงแต่งด้วยกลิ่นรสต่าง ๆ เช่น วานิลลา กาแฟ ช็อคโกแลต หรือผสมน้ำผลไม้ หรืออาจเติมแคลเซียมกลูโคเนต (calcium gluconate) เพื่อผลิตน้ำนมถั่วเหลืองชนิดมีแคลเซียมสูง หรืออาจนำไปผลิตน้ำนมถั่วเหลืองชนิดผงด้วยการทำให้แห้งในเครื่องทำให้แห้งแบบพ่นฝอย (Spray drier) หรืออาจนำไปผลิตน้ำนมถั่วเหลืองชนิดขึ้นหวานโดยการผสมน้ำตาลและทำให้เข้มข้นภายใต้ความดันสูง

การหมักน้ำนมถั่วเหลือง (Fermentation of soy milk)

น้ำนมถั่วเหลืองที่ผ่านการหมักส่วนใหญ่ส่วนใหญ่แล้วพัฒนามาจากการหมักนมถั่วเหลือง น้ำนมถั่วเหลืองที่ผ่านการหมักมีข้อดีกว่าน้ำนมถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการหมักหลายประการ กระบวนการหมักช่วยลดการเกิดแก๊สในกระเพาะ ทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ช่วยเพิ่มกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์และลดกลิ่นของถั่ว ได้เนื้อสัมผัสที่ดีขึ้น ช่วยเพิ่มสมดุลย์ของจุลินทรีย์ในลำไส้ ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองที่ผ่านการหมัก ได้แก่ นมเปรี้ยวถั่วเหลือง (acidophilus soymilk) โยเกิร์ตถั่วเหลือง (soymilk yogurt) ชีสนมถั่วเหลือง (fermented soymilk cheeses) คีเฟอร์นมถั่วเหลือง (soymilk kefir) คูมิสนมถั่วเหลือง (soymilk kumiss) และบัตเตอร์ชอยมิลล์ (butter soymilk) เป็นต้น (<http://www.thesoydailyclub.com/sfc/dairy48.asp>)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับกรใช้เฉพาะเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่ควรเอาไปทำเป็นสื่อเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกรุ่นนี้เป็นการนำเอาจากงานวิจัยของนักวิทยาศาสตร์ที่เรียกว่าแลคติกและ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นกล้าเชื้อ

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

1. ตู้ปลอดเชื้อ
2. ตู้บ่มเชื้อ
3. หม้อนึ่งความดัน
4. ขวดดูแรนขนาด 100 250 และ 500 มิลลิลิตร
5. ฟลาสก์ ขนาด 125 250 และ 500 มิลลิลิตร
6. จานแก้ว
7. เครื่องชั่ง
8. เวอร์เท็กซ์มิกเซอร์
9. กล้องจุลทรรศน์
10. กล้องถ่ายภาพ
11. กระดาษวัดพีเอช
12. ถ้วยพลาสติกขนาดเล็ก
13. น้่านมถั่วเหลือง
14. น้่านมโค
15. น้ำผลไม้

3.2. วิธีการ

3.2.1 การแยกเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกจากตัวอย่างนม

การเตรียมตัวอย่างน้่านม

เตรียมตัวอย่างน้่านมถั่วเหลืองและน้่านมโค โดยตัวอย่างน้่านมถั่วเหลืองใช้น้ำเต้าหู้ที่จำหน่าย ณ ตลาดหัวตะเข้ ส่วนน้่านมโคใช้นมพาสเจอร์ไรซ์ นำน้่านมทั้งสองชนิดมาเทใส่ขวดดูแรนขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เปิดฝาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเปิดฝาให้สนิท นำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งนมทั้งสองขวดจะเกิดเคิร์ดมีลักษณะขุ่น มีกลิ่นของนมหมักเกิดขึ้น จากนั้นนำตัวอย่างนมหมักดังกล่าวมาทำการเจือจางด้วยน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อจนได้ความเข้มข้นที่ต้องการ และนำไปแยก

เอกสารแบคทีเรียกรดแลคติกตามวิธีทางจุลชีววิทยา ศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น ยกเว้นกรณีที่มีการขออนุญาตจากเจ้าของลิขสิทธิ์เอกสารทุกกรณี
การหมักดีเพอร์โดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นกล้ำเชื้อ

การแยกจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลคติก

ใช้ปิเปตดูสารละลายตัวอย่างที่เตรียมไว้จำนวน 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นเททับด้วยอาหารแข็งสูตร MRS ที่ใส่อินดิเคเตอร์ และหลอมไว้ที่อุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียส ประมาณ 15 มิลลิลิตร ผสมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายตัวอย่างให้เข้ากัน ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนอาหารแข็งตัว นำไปบ่มไว้ที่ตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เลือกลักษณะโคโลนีที่เปลี่ยนสีม่วงของอินดิเคเตอร์เป็นสีเหลือง

การเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์

หลังจากเลือกโคโลนีของแบคทีเรียกรดแลคติกที่เปลี่ยนสีม่วงเป็นสีเหลืองแล้ว นำมาสตรีคบนอาหารแข็ง MRS จนกระทั่งได้โคโลนีเดี่ยวที่บริสุทธิ์ จากนั้นใช้เข็มเย็บโคโลนีเดี่ยวมาแทง (stab) ลงในหลอดทดลองที่มีอาหารสูตรเดียวกัน และมีแคลเซียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ผสมอยู่ นำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเก็บเชื้อไว้ในตู้เย็น และถ่ายเชื้อลงสู่อาหารใหม่ทุก 1 เดือน

3.2.2 การจำแนกแบคทีเรียกรดแลคติก

นำเชื้อบริสุทธิ์ที่เก็บไว้ในหลอดทดลองมาเลี้ยงในอาหารแข็งสูตร MRS จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา และการเจริญที่อุณหภูมิต่าง ๆ ซึ่งมีวิธีการดังนี้

การทดสอบแคตาเลส

ใช้หวงเย็บเชื้อแต่ละโคโลนีที่เจริญบนอาหารแข็ง MRS มาขยี้บนแผ่นสไลด์ที่หยดด้วยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ ประมาณ 1-2 หยด ถ้ามีฟองอากาศเกิดขึ้นแสดงว่าเชื้อแบคทีเรียนั้นมีการสร้างแคตาเลส การทดสอบให้ผลเป็นบวก แต่ถ้าไม่มีฟองอากาศเกิดขึ้นแสดงว่าไม่มีการสร้างแคตาเลส การทดสอบให้ผลเป็นลบ คัดเลือกเฉพาะแบคทีเรียที่ไม่สร้างแคตาเลสไปทดสอบในขั้นตอนต่อไป

การทดสอบการติดสีแกรม

เย็บเชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรียที่มีอายุไม่เกิน 24 ชั่วโมง แต่ละบนแผ่นสไลด์ที่แห้งและสะอาดซึ่งหยดน้ำกลั่นไว้ 1 หยด สเมียร์เชื่อกับน้ำกลั่นให้เป็นวง ปล่อยให้รอยสเมียร์แห้งและนำไปตรึงโดยผ่านเปลวไฟจนแห้ง นำมาย้อมด้วยสารละลายคริสตัลไวโอเลตเป็นเวลา 1 นาที เทสารละลายส่วนเกินทิ้งพร้อมทั้งหยดสารละลายไอโอดีนให้ท่วมเป็นเวลา 1 นาที เทสารละลายไอโอดีนทิ้ง ล้างรอยสเมียร์เพื่อกำจัดคริสตัลไวโอเลตด้วยแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ 10-15

เอกลสารนี้เป็นเอกสารที่สิ่งพิมพ์สิ่งพิมพ์ที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการศึกษา

ไม่ว่ากรณีใดๆ ห้ามทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของเอกสารทุกประการ

การหมักดีเฟอไรโดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นกล่าเชื้อ

วินาที จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่น หยดสารละลายซาฟานีนไอ เป็นเวลา 1 นาที ล้างสารละลาย ส่วนเกินด้วยน้ำกลั่น ปล่อยให้แผ่นสไลด์แห้ง สุดท้ายนำไปส่องดูการติดสีแกรม รูปร่างของเซลล์ และการจัดเรียงตัวของเซลล์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 100 เท่า บันทึกรูปร่างและการจัดเรียงตัวของเซลล์

การทดสอบวิถีในการสร้างกรดของแบคทีเรียกรดแลคติก

تهیهเชื้อที่เจริญบนอาหารแข็งสูตร MRS เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มาเลี้ยงในหลอดทดลองที่มีอาหารเหลวสูตร MRS และหลอดดักแก๊ส จำนวน 1 คู่ จากนั้นนำไปป้อนในตู้ป้อนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สังเกตดูการเจริญของเชื้อในหลอดทดลอง ถ้ามีฟองอากาศเกิดขึ้นในหลอดดักแก๊สแสดงว่ามีวิธีการสร้างกรดเป็นแบบ heterofermentative ถ้าไม่มีฟองอากาศในหลอดดักแก๊สแสดงว่ามีวิธีการสร้างกรดเป็นแบบ homofermentative

การทดสอบการเจริญที่อุณหภูมิ 10 37 และ 45 องศาเซลเซียส

تهیهเชื้อที่เจริญบนอาหารแข็งสูตร MRS เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มาเลี้ยงในอาหารเหลวสูตรเดียวกัน จากนั้นนำไปป้อนที่อุณหภูมิ 10 37 และ 45 องศาเซลเซียส บันทึกผลการเจริญของเชื้อที่อายุการป้อน 24 ชั่วโมง และ 7 วัน

การทดสอบความสามารถในการเจริญที่เกลือโซเดียมคลอไรด์ 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์

เตรียมอาหารเหลว MRS ที่มีเกลือโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยอบเกลือโซเดียมคลอไรด์ที่อุณหภูมิ 110 เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเติมในอาหารเหลว MRS โดยให้ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์เท่ากับ 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) นำอาหารเหลวดังกล่าวใส่หลอดทดลองและนำไปไปฆ่าเชื้อ ปล่อยให้เย็น จากนั้น تهیهเชื้อที่เจริญบนอาหารแข็งสูตร MRS เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จำนวน 1 คู่ ลงในอาหารเหลวที่เตรียมไว้ นำไปป้อนในตู้ป้อนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ตรวจสอบการเจริญของเชื้อในหลอดทดลองภายในเวลา 2-7 วัน

การจัดจำแนกแบคทีเรียโดยระบบเอพีไอ

ระบบเอพีไอ (API 50 CH) เป็นระบบมาตรฐานในการจัดจำแนกแบคทีเรีย โดยการทดสอบกระบวนการทางชีวเคมีของเชื้อในการสลายคาร์โบไฮเดรต ลักษณะของชุดทดสอบ (API Kit) ประกอบด้วยไมโครทิวส์ 50 อัน แต่ละไมโครทิวส์ประกอบด้วยสารอาหารในกลุ่มของคาร์โบไฮเดรตและอนุพันธ์ (heterosides, polyalcohol, uronic acids) การทดสอบการหมักจะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น ยกเว้นสิ่งที่ปรากฏในเอกสารนี้

การหมักดีเฟอไรโดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นกล้ำเชื้อ

เติมสารละลายของแบคทีเรียในไมโครทิวส์ และบ่มไว้ ในระหว่างการหมักดูการเปลี่ยนแปลงสีของไมโครทิวส์เทียบกับชุดควบคุม

3.2.3 การศึกษาการหมักคีเฟอร์จากเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก

การเตรียมกล้าเชื้อสำหรับหมักคีเฟอร์

กล้าเชื้อสำหรับหมักคีเฟอร์ประกอบด้วยแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกและผ่านการจัดจำแนกในระดับสปีชีส์ และยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* การเตรียมกล้าเชื้อต้องถ่ายเชื้อใหม่ทุกครั้ง โดยถ่ายเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกลงในอาหารแข็งสูตร MRS และถ่ายเชื้อยีสต์ลงในอาหารแข็งสูตร PDA จากนั้นบ่มเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เชื้อทั้งสองชนิดมาอย่างละ 2 หลบ ละลายในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว และนำไปเติมในน้ำนมที่เตรียมไว้ ผสมสารละลายเชื้อกับน้ำนมให้เข้ากัน และนำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8-12 ชั่วโมง จะได้กล้าเชื้อสำหรับนำไปหมักคีเฟอร์ต่อไป

การคัดเลือกเชื้อสายพันธุ์ที่เหมาะสมต่อการหมักคีเฟอร์

เตรียมตัวอย่างน้ำนมสำหรับการหมักคีเฟอร์ โดยใช้ น้ำนมถั่วเหลืองและน้ำนมโค (ภาคผนวก ก) จากนั้นนำมาเติมกล้าเชื้อที่เตรียมไว้ โดยใช้กล้าเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ผสมกล้าเชื้อกับตัวอย่างนมให้เข้ากัน เทใส่ถ้วยพลาสติกขนาดเล็กและปิดฝา นำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ค่าพีเอช เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก และองศาบริกซ์ ที่อายุการหมัก 0 6 12 18 และ 24 ชั่วโมง เปรียบเทียบค่าต่าง ๆ ของการวิเคราะห์ระหว่างกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกที่ใช้ จากนั้นเลือกกล้าเชื้อที่มีกิจกรรมการหมักสูงสุดไปศึกษาการหมักในขั้นตอนนี้ต่อไป

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการหมัก

เลือกกล้าเชื้อที่มีกิจกรรมการหมักดีที่สุดมาศึกษาอุณหภูมิในการหมัก โดยใช้ อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิในตู้บ่ม วัตถุประสงค์ที่เหมาะสมต่อการหมัก และทำการหมักเพื่อศึกษาอายุการเก็บรักษา

การศึกษาอายุการเก็บรักษาคีเฟอร์

นำคีเฟอร์ที่ผ่านการหมักมาเก็บรักษาไว้ในตู้แช่ (อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส) เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ผลทุกวัน เป็นเวลา 7 วัน บันทึกผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น ขอสงวนสิทธิ์ในข้อมูลและข้อมูลของเอกสารทุกฉบับภายใต้การควบคุมของกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์

การหมักคีเฟอร์โดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นกล้าเชื้อ

3.2.4 การทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์คีเฟอร์

จากการทดสอบที่ผ่านมาพบว่าน้ำนมถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบที่เหมาะสมต่อการหมักคีเฟอร์ที่สุด ดังนั้นจึงนำหมักคีเฟอร์เพื่อพัฒนากลิ่นรสด้วยน้ำผลไม้ และทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสโดยกลุ่มตัวแทนผู้บริโภคที่ไม่ผ่านการฝึกฝน จำนวน 30 คน

3.3 สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการ ค 140 ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ ถนนคลองกรุง แขวงลำปลาทิว เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

3.4 ระยะเวลาดำเนินการวิจัย

เดือนตุลาคม 2548 - เดือนกันยายน 2549

บทที่ 4

ผลการทดลอง

การศึกษากาการหมักคีเฟอร์โดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *S. cerevisiae* เป็นกล้าเชื้อ เริ่มต้นด้วยการแยกแบคทีเรียกรดแลคติกจากตัวอย่างน้ำนมโคและน้ำนมถั่วเหลือง จากนั้นศึกษา ลักษณะทางสัณฐานวิทยาตลอดจนลักษณะทางสรีระวิทยาบางประการ และจัดจำแนกแบคทีเรีย กรดแลคติกระดับสปีชีส์โดยใช้ระบบเอพีไอ จากนั้นนำแบคทีเรียกรดแลคติกที่ผ่านการจัดจำแนก มาศึกษากาการหมักคีเฟอร์โดยใช้น้ำนมโคและน้ำนมถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบ โดยมีรายละเอียดของผล การศึกษาดังนี้

4.1 การศึกษากาการแยกและการจัดจำแนกแบคทีเรียกรดแลคติกจากตัวอย่างนม

แบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกได้จากตัวอย่างนมนำมาศึกษาลักษณะบางประการและจัด จำแนกโดยระบบเอพีไอ ผลการศึกษาและจัดจำแนกระดับสปีชีส์แสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ลักษณะของแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำนมโคและน้ำนมถั่วเหลือง

รหัส	การทดสอบ แคตาเลส	รูปร่าง เซลล์	การ ยั บ ม แกรม	การสร้าง คาร์บอน ไดออกไซด์	การเจริญในเกลือบไซเดียมคลอไรด์		การเจริญที่ อุณหภูมิ		ผลการจัดจำแนก ระดับสปีชีส์โดยใช้ ระบบเอพีไอ
					5 %	10%	10 °C	45 °C	
SM-1	-	Cocci	+	-	+	+	+	-	<i>Lactococci lactis</i> subsp. <i>lactis</i>
SM-2	-	Cocci	+	-	+	+	+	-	<i>Lactococci lactis</i> subsp. <i>Lactis</i>
SM-3	-	Cocci	+	-	+	+	+	-	<i>Lactococci lactis</i> subsp. <i>Lactis</i>
SM-4	-	Cocci	+	-	+	+	+	-	<i>Lactococci lactis</i> subsp. <i>lactis</i>
PM-1	-	Rod	+	-	+	+	+	-	<i>Lactobacillus pentosus</i>
PM-2	-	Rod	+	+	+	+	-	+	<i>Lactobacillus fermentum</i>
PM-3	-	Rod	+	-	+	+	+	-	<i>Lactobacillus pentosus</i>
PM-4	-	Rod	+	-	+	+	+	-	<i>Lactobacillus pentosus</i>

หมายเหตุ + = การทดสอบให้ผลเป็นบวก - = การทดสอบให้ผลเป็นลบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น ยกเว้นที่ได้รับอนุญาตจากทางศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์จากนม

การหมักคีเฟอร์โดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นกล้าเชื้อ

จากตารางที่ 8 จำนวนแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกได้จากตัวอย่างทั้งหมดมี 8 ไอโซเลต โดยเป็นตัวอย่างจากน้ำนมถั่วเหลือง 4 ไอโซเลต (SM1-4) และจากตัวอย่างน้ำนมโค 4 ไอโซเลต (PM1-4) แบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 8 ไอโซเลต ไม่สร้างแคตาเลส และเป็นแบคทีเรียแกรมบวก โดยแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองมีรูปร่างกลม ไม่สร้างคาร์บอนไดออกไซด์จากการหมัก เป็นแบคทีเรียแกรมบวก เจริญได้ที่ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ และเจริญที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส จากผลการจัดจำแนกในระดับสปีชีส์ด้วยระบบเอพีไอเป็นสายพันธุ์ *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ทั้งหมด ส่วนแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกได้จากตัวอย่างน้ำนมโคเป็นแบคทีเรียรูปร่างแท่งทั้งหมด มีจำนวน 3 ไอโซเลต ที่ไม่สร้างคาร์บอนไดออกไซด์จากการหมัก เจริญได้ที่ความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 5 และ 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่เจริญที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ผลการจัดจำแนกในระดับสปีชีส์ด้วยระบบเอพีไอเป็นสายพันธุ์ *Lactobacillus pentosus* ส่วนอีก 1 ไอโซเลต มีการสร้างคาร์บอนไดออกไซด์จากการหมัก เจริญได้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ผลการจัดจำแนกในระดับสปีชีส์ด้วยระบบเอพีไอเป็นสายพันธุ์ *Lactobacillus fermentum*

การแยกและการจัดจำแนกแบคทีเรียกรดแลคติกจากตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองและน้ำนมโค พบว่ามีแบคทีเรียกรดแลคติก 3 สายพันธุ์ คือ *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ได้จากน้ำนมถั่วเหลือง *Lactobacillus pentosus* และ *Lactobacillus fermentum* ซึ่งได้จากน้ำนมโค โดยรายละเอียดของการจัดจำแนกในระดับสปีชีส์ด้วยระบบเอพีไอแสดงในภาคผนวก ข ซึ่งแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 สายพันธุ์ได้ถูกกล่าวไว้โดย Wood and Holzapfel (1995) ดังนี้

Lactobacillus pentosus เป็นแบคทีเรียกรดแลคติกที่พบได้ในหญ้าหมักจากข้าวโพด มะกอกดอง และมูลสัตว์ เชลล์มีลักษณะเป็นแท่งตรงปลายกลม ขนาด 1.0-1.2 และ 2.0 - 5.0 ไมโครเมตร พบอยู่เป็นเชลล์เดี่ยว เป็นคู่ หรือโซ่สั้นๆ เจริญได้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สามารถหมักกลีเซอรอลได้

Lactobacillus fermentum เป็นแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีความแตกต่างกันด้านความยาวของเชลล์ มีลักษณะเป็นแท่ง ขนาด 0.5-0.9 ไมโครเมตร ต้องการแคลเซียมแพนโทเทนิค ไนอะซิน และไทอะมีนในการเจริญ เป็นสายพันธุ์ที่แยกได้จากยีสต์ ผลิตภัณฑ์นม sourdough พิซที่ผ่านการหมัก มูลสัตว์ บริเวณช่องปากและอุจจาระ

Lactococcus lactis subsp. *lactis* เป็นแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีเซลล์เป็นรูปไข่ มีการจัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยว เป็นคู่ หรือต่อกันเป็นสายโซ่ เจริญได้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ส่วนใหญ่พบได้ในนม



ภาพที่ 11 รูปร่างเซลล์ของแบคทีเรียกรดแลคติกที่ย้อมแกรมและถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 1000 เท่า

A และ B = *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*

C และ D = *Lactobacillus* sp.

จากการแยกและจัดจำแนกแบคทีเรียกรดแลคติกจากตัวอย่างน้ำนมโคและน้ำนมถั่วเหลืองได้แบคทีเรียทั้งหมดจำนวน 8 ไอโซเลต และเมื่อจัดจำแนกในระดับสปีชีส์ได้จำนวน 3 สายพันธุ์ ดังนั้นจึงเลือกตัวแทน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* SM-1 *Lactobacillus pentosus* PM-1 และ *Lactobacillus fermentum* PM-2 ไปใช้ศึกษาการหมักคีเฟอร์ร่วมกับยีสต์ *S. cerevisiae* ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ยกเว้นการอนุญาตเป็นพิเศษจากเจ้าของลิขสิทธิ์

การหมักคีเฟอร์โดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นกล้าเชื้อ

4.2 การศึกษาสายพันธุ์ที่แบคทีเรียกรดแลคติกที่เหมาะสมต่อการหมักคีเฟอร์

การหมักคีเฟอร์เริ่มต้นศึกษาโดยใช้น้ำนมโคและน้ำนมถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบ หมักในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยใช้ระยะเวลาการหมักทั้งหมด 24 ชั่วโมง ระหว่างการหมักเก็บตัวอย่างวิเคราะห์ค่าพีเอช องศาบริกซ์ และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก ผลการศึกษาแสดงในตารางที่ 9 และ 10

จากตารางที่ 9 และ 10 พบว่าที่อายุการหมัก 12 ชั่วโมง การหมักโดยใช้ น้ำนมโคและน้ำนมถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบ ทรีทเมนต์ที่ 2 ซึ่งเป็นการหมักด้วยกล้าเชื้อ *Lb. pentosus* และ *S. cerevisiae* มีกิจกรรมการหมักเกิดได้ดีกว่าทรีทเมนต์อื่นๆ โดยมีเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเท่ากับ 1.042 และ 1.120 ในการหมักโดยใช้ น้ำนมโคและน้ำนมถั่วเหลือง ตามลำดับ ส่วนทรีทเมนต์ที่ 1 ซึ่งหมักโดยใช้ *Lc. lactis* subsp. *lactis* และ *S. cerevisiae* เป็นกล้าเชื้อ มีกิจกรรมการหมักรองจากทรีทเมนต์ที่ 2 โดยมีเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเท่ากับ 1.015 และ 0.813 เมื่อใช้น้ำนมโคและน้ำนมถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบ ตามลำดับ

จากการทดลองจะเห็นได้ว่ากล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกสายพันธุ์ *Lc. lactis* subsp. *lactis* และ *Lb. pentosus* มีกิจกรรมการหมักได้ดีเมื่อทำงานร่วมกับยีสต์ ดังนั้นในการศึกษาการหมักต่อไปจึงใช้แบคทีเรียกรดแลคติกทั้งสองสายพันธุ์เป็นกล้าเชื้อในการหมักโดยใช้ น้ำนมโคและน้ำนมถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบในการหมัก และศึกษาอุณหภูมิในการหมักสองสภาวะคือ อุณหภูมิห้อง (38 ± 1 °C) และอุณหภูมิในตู้บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส ผลการหมักแสดงในตารางที่ 11 และ 12

ตารางที่ 9 ค่าพีเอช องศาบริกซ์ และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก ในการหมักคีเฟอร์โดยใช้น้ำนมโค เป็นวัตถุดิบด้วยกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 สายพันธุ์กับ *S. cerevisiae* ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

ทรีทเมนต์	อายุการหมัก (ชั่วโมง)	การวิเคราะห์			หมายเหตุ
		ค่าพีเอช	องศาบริกซ์	กรดแลคติก (%)	
1	0	6.5	15.00	0.347	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> + <i>S. cerevisiae</i>
	6	5.5	10.33	0.720	
	12	4.5	9.00	1.015	
	18	4.0	8.16	1.171	
	24	4.0	7.00	1.250	
2	0	6.5	15.00	0.407	<i>Lb. pentosus</i> + <i>S. cerevisiae</i>
	6	5.5	11.00	0.731	
	12	4.5	9.00	1.042	
	18	4.0	8.50	1.211	
	24	4.0	7.00	1.267	
3	0	6.5	15.00	0.309	<i>Lb. fermentum</i> + <i>S. cerevisiae</i>
	6	6.0	15.00	0.519	
	12	5.0	10.33	0.755	
	18	4.0	8.66	1.092	
	24	4.0	7.50	1.303	
4	0	6.5	15.0	0.343	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> + <i>Lb. pentosus</i> + <i>S. cerevisiae</i>
	6	6.0	15.0	0.631	
	12	5.0	10.5	0.810	
	18	4.0	9.0	0.996	
	24	4.0	7.0	1.154	
5	0	6.5	15.0	0.358	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> <i>Lb. fermentum</i> + <i>S. cerevisiae</i>
	6	6.0	14.5	0.623	
	12	5.0	10.0	0.795	
	18	4.0	8.83	0.950	
	24	4.0	7.0	1.040	

ตารางที่ 10 ค่าพีเอช องศาบริกซ์ และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก ในการหมักคีเฟอร์โดยใช้น้ำนม
ถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบด้วยกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 3 สายพันธุ์กับ
S. cerevisiae ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

พรีทเมนต์	อายุการหมัก (ชั่วโมง)	การวิเคราะห์			หมายเหตุ
		ค่าพีเอช	องศาบริกซ์	กรดแลคติก (%)	
1	0	6.5	15.00	0.272	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> + <i>S. cerevisiae</i>
	6	5.5	11.66	0.600	
	12	4.5	10.00	0.813	
	18	4.5	9.3	0.934	
	24	4.5	5.66	1.102	
2	0	6.5	15.00	0.280	<i>Lb. pentosus</i> + <i>S. cerevisiae</i>
	6	5.5	11.00	0.675	
	12	4.5	10.00	1.120	
	18	4.5	8.00	1.238	
	24	4.5	6.00	1.099	
3	0	6.5	15.00	0.264	<i>Lb. fermentum</i> + <i>S. cerevisiae</i>
	6	5.0	11.00	0.576	
	12	4.5	10.00	0.582	
	18	4.5	8.33	0.634	
	24	4.5	6.00	0.446	
4	0	6.5	15.0	0.250	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> + <i>Lb. pentosus</i> + <i>S. cerevisiae</i>
	6	5.0	12.0	0.459	
	12	4.5	10.00	0.642	
	18	4.5	7.88	0.950	
	24	4.5	6.00	0.917	
5	0	6.5	15.0	0.269	<i>Lc. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> <i>Lb. fermentum</i> + <i>S. cerevisiae</i>
	6	5.0	12.00	0.533	
	12	4.5	10.0	0.762	
	18	4.5	8.66	0.857	
	24	4.5	5.66	0.980	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามเผยแพร่หรือใช้ข้อมูลของเอกสารนี้ในสื่อสังคมออนไลน์โดยไม่ได้รับอนุญาต
การหมักคีเฟอร์โดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นกล้าเชื้อ

ตารางที่ 11 ค่าพีเอช องศาบริกซ์ และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก ในการหมักคีเฟอร์โดยใช้น้ำตาลมโค เป็นวัตถุดิบด้วยกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 2 สายพันธุ์กับ *S. cerevisiae* ที่อุณหภูมิห้อง และ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

ทรีทเมนต์	อายุการหมัก (ชั่วโมง)	การวิเคราะห์			หมายเหตุ
		ค่าพีเอช	องศาบริกซ์	กรดแลคติก (%)	
1	0	6.5	14.00	0.258	<i>Lactococcus lactis</i>
	6	6.0	14.00	0.426	subsp. <i>lactis</i> +
	12	5.6	14.00	0.545	<i>S. cerevisiae</i>
	18	5.5	12.00	0.644	หมักที่อุณหภูมิห้อง
	24	5.5	11.00	0.716	38 ± 1 องศาเซลเซียส
2	0	6.5	14.00	0.258	<i>Lactococcus lactis</i>
	6	5.0	14.00	0.432	subsp. <i>lactis</i> +
	12	4.5	11.66	0.634	<i>S. cerevisiae</i>
	18	4.5	9.33	0.921	หมักในตู้ป่นอุณหภูมิ
	24	4.5	7.00	1.453	37 องศาเซลเซียส
3	0	6.5	14.00	0.300	<i>Lactobacillus pentosus</i>
	6	5.5	12.00	0.426	+ <i>S. cerevisiae</i>
	12	5.0	8.00	0.535	หมักที่อุณหภูมิห้อง
	18	4.6	8.00	0.885	38 ± 1 องศาเซลเซียส
	24	4.5	8.00	1.017	
4	0	6.5	14.00	0.333	<i>Lactobacillus pentosus</i>
	6	5.5	12.00	0.551	+ <i>S. cerevisiae</i>
	12	4.5	8.00	0.828	หมักในตู้ป่นอุณหภูมิ 37
	18	4.5	8.00	1.314	องศาเซลเซียส
	24	4.5	8.00	1.222	

ตารางที่ 12 ค่าพีเอช องศาบริกซ์ และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก ในการหมักคีเฟอร์โดยใช้น้ำตาลแก้ว เหลืองเป็นวัตถุดิบด้วยกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 2 สายพันธุ์กับ *S. cerevisiae* ที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

ทรีทเมนต์	อายุการหมัก (ชั่วโมง)	การวิเคราะห์			หมายเหตุ
		ค่าพีเอช	องศาบริกซ์	กรดแลคติก (%)	
1	0	6.5	14.00	0.251	<i>Lactococcus lactis</i>
	6	5.1	10.00	0.515	subsp. <i>lactis</i> +
	12	4.5	10.00	0.624	<i>S. cerevisiae</i>
	18	4.5	7.00	0.878	หมักที่อุณหภูมิห้อง
	24	4.5	6.00	0.902	38 ± 1 องศาเซลเซียส
2	0	6.5	14.00	0.228	<i>Lactococcus lactis</i>
	6	5.0	10.00	0.541	subsp. <i>lactis</i> +
	12	4.5	9.00	0.901	<i>S. cerevisiae</i>
	18	4.5	8.00	1.338	หมักในตู้บ่มอุณหภูมิ
	24	4.5	6.00	1.685	37 องศาเซลเซียส
3	0	6.5	14.00	0.287	<i>Lactobacillus pentosus</i>
	6	5.5	13.00	0.521	+ <i>S. cerevisiae</i>
	12	4.5	7.00	0.716	หมักที่อุณหภูมิห้อง
	18	4.5	7.00	0.595	38 ± 1 องศาเซลเซียส
	24	4.5	7.00	1.185	
4	0	6.5	14.00	0.287	<i>Lactobacillus pentosus</i>
	6	5.0	11.00	0.505	+ <i>S. cerevisiae</i>
	12	4.5	8.00	0.954	หมักในตู้บ่มอุณหภูมิ 37
	18	4.5	8.00	1.318	องศาเซลเซียส
	24	4.5	8.00	1.596	

จากตารางที่ 11 การใช้น้ำนมโคเป็นวัตถุดิบ พบว่าการหมักในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีกิจกรรมการหมักเกิดขึ้นได้ดีกว่าการหมักที่อุณหภูมิห้อง โดยที่อายุการหมัก 12 ชั่วโมง ทั้งทรีทเมนต์ที่ 2 และ 4 มีค่าพีเอชเป็น 4.5 เฟอร์เซ็นต์บริกซ์เท่ากับ 11.66 และ 8.00 ส่วนเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเท่ากับ 0.634 และ 0.828 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับการใช้น้ำนมถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบในการหมักตามตารางที่ 12 ให้ผลการหมักในลักษณะเดียวกัน คือ การหมักในตู้บ่มอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีกิจกรรมการหมักเกิดขึ้นได้ดีกว่าการหมักที่อุณหภูมิห้อง โดยที่อายุการหมัก 12 ชั่วโมง ทั้งทรีทเมนต์ที่ 2 และ 4 มีค่าพีเอชเท่ากับ 4.5 องศาบริกซ์เท่ากับ 9.00 และ 8.00 เฟอร์เซ็นต์กรดแลคติกเท่ากับ 0.901 และ 0.954 ตามลำดับ ทั้งนี้เป็นเพราะว่าการหมักในตู้บ่มมีการควบคุมอุณหภูมิคงที่ตลอดการทดลอง กิจกรรมการหมักจึงเกิดขึ้นอย่างสม่ำเสมอ ส่วนการหมักที่อุณหภูมิห้องมีการเปลี่ยนแปลงตามสภาพแวดล้อม

จากการศึกษาถึงอุณหภูมิในการหมัก พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการหมักคือ การหมักในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และการใช้น้ำนมโคและน้ำนมถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบในการหมัก จากผลการศึกษาน้ำนมถั่วเหลืองมีกิจกรรมการหมักดีกว่าน้ำนมโค ดังนั้นในการศึกษาต่อไปจึงทำการหมักโดยใช้อุณหภูมิในตู้บ่ม 37 องศาเซลเซียส และใช้น้ำนมโคและน้ำนมถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบในการหมัก ผลการศึกษาแสดงในตารางที่ 13

จากตารางที่ 13 การหมักคีเฟอร์โดยใช้น้ำนมโคและน้ำนมถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบด้วยกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกสายพันธุ์ *Lc. lactis subsp. lactis* Lb. *pentosus* และ *S. cerevisiae* ผลการศึกษาในทรีทเมนต์ที่ 3 และ 4 ซึ่งหมักโดยใช้ *Lb. pentosus* และ *S. cerevisiae* ใช้น้ำนมโคและน้ำนมถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบ พบว่ามีกิจกรรมการหมักเกิดขึ้นได้ดีกว่าทรีทเมนต์ที่ 1 และ 2 ซึ่งใช้ *Lc. lactis subsp. lactis* และ *S. cerevisiae* เป็นกล้าเชื้อ โดยที่อายุการหมัก 6 ชั่วโมง ทรีทเมนต์ที่ 4 มีค่าพีเอชเท่ากับ 4.5 องศาบริกซ์เท่ากับ 10 และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเท่ากับ 0.759 เมื่อสิ้นสุดการหมักที่ 12 ชั่วโมง ค่าพีเอชยังคงที่ ส่วนองศาบริกซ์ เท่ากับ 9 และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเท่ากับ 1.046 ส่วนในทรีทเมนต์ที่ 3 กิจกรรมการหมัก 6 ชั่วโมง ค่าพีเอชเท่ากับ 5.5 องศาบริกซ์ เท่ากับ 11.0 เฟอร์เซ็นต์กรดแลคติกเท่ากับ 0.677 เมื่อสิ้นสุดการหมักที่ 12 ชั่วโมง ค่าพีเอชเท่ากับ 4.5 องศาบริกซ์ เท่ากับ 10.0 และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเท่ากับ 0.997

จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าการใช้ *Lb. pentosus* และ *S. cerevisiae* เป็นกล้าเชื้อ มีกิจกรรมการหมักดีเมื่อใช้วัตถุดิบทั้งสองชนิด ดังนั้นการศึกษาต่อไปจึงเป็นการศึกษาถึงการเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่าการณ์ที่... การหมักคีเฟอร์โดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นกล้าเชื้อ

เปลี่ยนแปลงระหว่างการทำหมักและการเก็บรักษา โดยมีการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งสองชนิด การศึกษาเริ่มต้นด้วยการหมักเป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นจึงนำตัวอย่างไปเก็บรักษาในตู้เย็น เป็นเวลา 7 วัน และวัดคุณสมบัติตลอดการเก็บรักษา ผลการศึกษาแสดงในตารางที่ 14

ตารางที่ 13 ค่าพีเอช องศาบริกซ์ และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก ในการหมักคีเฟอร์โดยใช้ส่วนผสม และส่วนผสมหัวเหลืองเป็นวัตถุดิบด้วยกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 2 สายพันธุ์กับ *S. cerevisiae* ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

ทรีทเมนต์	อายุการหมัก (ชั่วโมง)	การวิเคราะห์			หมายเหตุ
		ค่าพีเอช	องศาบริกซ์	กรดแลคติก (%)	
1	0	6.5	14.50	0.280	<i>Lactococcus lactis</i>
	3	6.0	14.00	0.317	subsp. <i>lactis</i> +
	6	6.0	14.00	0.386	<i>S. cerevisiae</i>
	9	5.5	14.00	0.489	หมักโดยใช้นมโคเป็น
	12	5.5	13.16	0.601	วัตถุดิบ
2	0	6.5	14.5	0.280	<i>Lactococcus lactis</i>
	3	5.5	14.0	0.422	subsp. <i>lactis</i> +
	6	5.0	10.0	0.551	<i>S. cerevisiae</i>
	9	4.5	9.0	0.649	หมักโดยใช้นมถั่วเหลือง
	12	4.5	9.0	0.773	เป็นวัตถุดิบ
3	0	6.5	14.5	0.293	<i>Lactobacillus pentosus</i>
	3	6.0	11.0	0.402	+ <i>S. cerevisiae</i>
	6	5.5	11.0	0.677	หมักโดยใช้นมโคเป็น
	9	5.0	10.00	0.862	วัตถุดิบ
	12	4.5	10.0	0.997	
4	0	6.5	14.50	0.310	<i>Lactobacillus pentosus</i>
	3	5.5	10.00	0.439	+ <i>S. cerevisiae</i>
	6	4.5	10.00	0.759	หมักโดยใช้นมถั่วเหลือง
	9	4.5	9.00	0.915	เป็นวัตถุดิบ
	12	4.5	9.00	1.046	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะในรูปแบบใดก็ตาม ยกเว้นแต่การนำเอกสารนี้ไปใช้ในการอ้างอิงข้อมูลเท่านั้น

การหมักคีเฟอร์โดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นกล้าเชื้อ

4.3 การศึกษาการเก็บรักษาดีเฟอไรโดยใช้อุณหภูมิต่ำ

ตารางที่ 14 การเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักนํ้านมโคและถั่วเหลืองที่อายุการหมัก 0 3 6 9 และ 12 วัน และการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาที่อายุ 0-7 วัน

ชนิดของวัตถุดิบ	อายุการหมัก (ชั่วโมง)	พีเอช	องศาบริกซ์	กรดแลคติก (%)	เซลล์แบคทีเรียกรดแลคติก (โคโลนี/มล.)	เซลล์ยีสต์ (โคโลนี/มล.)
นํ้านมถั่วเหลือง	0	6.5	15	0.310	1.41×10^8	1.65×10^8
	3	5.5	14	0.439	3.58×10^8	2.15×10^8
	6	5.0	10	0.759	6.13×10^8	2.73×10^8
	9	4.5	9	0.915	6.56×10^8	2.93×10^8
	12	4.5	9	1.046	7.07×10^8	2.00×10^8
การเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส อายุการเก็บระหว่าง 0-7 วัน						
นํ้านมโค	0	4.5	9	1.046	7.07×10^8	2.00×10^8
	1	4.5	8.93	0.981	3.00×10^9	3.07×10^9
	2	4.5	7.1	0.952	2.80×10^9	3.19×10^9
	3	4.5	7.1	0.952	5.04×10^9	3.86×10^9
	4	4.5	6.8	0.937	4.12×10^9	3.82×10^9
	5	4.5	6.7	0.921	4.26×10^9	4.03×10^9
	6	4.5	6.5	0.909	2.50×10^{10}	4.01×10^9
	7	4.5	6.5	0.881	3.17×10^{10}	3.65×10^{10}
นํ้านมโค	0	6.5	15	0.293	1.08×10^8	1.10×10^8
	3	6.0	13	0.402	2.25×10^8	3.01×10^8
	6	5.5	11	0.677	2.65×10^8	3.50×10^8
	9	5.0	10	0.862	2.85×10^8	2.57×10^8
	12	4.5	10	0.997	9.10×10^7	1.00×10^8
การเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส อายุการเก็บระหว่าง 0-7 วัน						
นํ้านมโค	0	4.5	10	0.997	9.10×10^7	1.00×10^8
	1	4.5	10	0.951	1.10×10^8	9.70×10^8
	2	4.5	8.17	0.873	8.40×10^8	2.11×10^9
	3	4.5	8.17	0.875	2.59×10^9	2.62×10^9
	4	4.5	7.7	0.871	2.94×10^9	2.83×10^9
	5	4.5	7.5	0.832	3.58×10^9	3.09×10^9
	6	4.5	7.2	0.832	4.37×10^9	3.27×10^9
	7	4.5	6.5	0.800	6.09×10^9	4.57×10^9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่าการผลิตทั้งหมดนี้ได้รับการสนับสนุนจากโครงการวิจัยของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี การหมักดีเฟอไรโดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นกล้าเชื้อ

จากตารางที่ 14 การศึกษาการหมักและการเก็บรักษาดีเฟอริที่อุณหภูมิในตู้แช่ 8 องศาเซลเซียส พบว่า การใช้น้ำนมถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบในการหมัก ที่อายุการหมัก 12 ชั่วโมง ค่าพีเอชเท่ากับ 4.5 องศาบริกซ์ เท่ากับ 9.0 เเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเท่ากับ 1.046 ส่วนจำนวนเซลล์แบคทีเรียกรดแลคติกและยีสต์เท่ากับ 7.07×10^8 และ 2.00×10^8 โคโลนี/มิลลิลิตร ตามลำดับ และเมื่อนำไปเก็บรักษาในตู้แช่ และเก็บตัวอย่างวิเคราะห์ทุกวัน เป็นเวลา 7 วัน พบว่า ค่าพีเอชของดีเฟอริ องศาบริกซ์ลดลงเหลือ 6.5 เเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกลดลงเป็น 0.881 ส่วนจำนวนเซลล์แบคทีเรียกรดแลคติกและยีสต์เพิ่มขึ้นเป็น 10^{10} โคโลนี/มิลลิลิตร ส่วนการหมักโดยใช้น้ำนมโคเป็นวัตถุดิบ การเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักและการเก็บรักษาให้ผลเช่นเดียวกัน คือ ที่อายุการหมัก 12 ชั่วโมง ค่าพีเอชเท่ากับ 4.5 องศาบริกซ์ เท่ากับ 10.0 เเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเท่ากับ 0.997 ส่วนจำนวนเซลล์แบคทีเรียกรดแลคติกและยีสต์เท่ากับ 9.10×10^7 และ 1.00×10^8 โคโลนี/มิลลิลิตร ตามลำดับ และเมื่อนำไปเก็บรักษาในตู้แช่ และเก็บตัวอย่างวิเคราะห์ทุกวัน เป็นเวลา 7 วัน พบว่า ค่าพีเอชของดีเฟอริ องศาบริกซ์ลดลงเหลือ 6.5 เเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกลดลงเป็น 0.800 ส่วนจำนวนเซลล์แบคทีเรียกรดแลคติกและยีสต์เพิ่มขึ้นเป็น 10^9 โคโลนี/มิลลิลิตร

ในระหว่างการเก็บรักษา จะเห็นได้ว่ายังมีกิจกรรมการหมักๆ เกิดขึ้น โดยเปอร์เซ็นต์บริกซ์ลดลง แต่เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกลดลง และจำนวนเซลล์ยีสต์เพิ่มขึ้นทั้งสองที่รีทเมนต์ การเพิ่มจำนวนของยีสต์เกิดจากการใช้ของแข็ง และกรดแลคติกที่มีอยู่ในดีเฟอริเป็นสารสำหรับการเจริญ ทำให้ทั้งองศาบริกซ์และกรดแลคติกลดลง ส่วนการเพิ่มจำนวนเซลล์ของแบคทีเรียกรดแลคติกเกิดจากการใช้ของแข็งในดีเฟอริเป็นสารสำหรับการเจริญ

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษาโดยภาพรวมแล้วจะเห็นได้ว่าค่าพีเอชไม่มีการเปลี่ยนแปลง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Irigoyen และคณะ (2005) ซึ่งสรุปว่าเกิดจากปฏิกิริยาของยีสต์ ส่วนองศาบริกซ์ลดลงเล็กน้อย เเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกลดลงจากอายุการเก็บรักษา 0 วัน จำนวนเซลล์ทั้งแบคทีเรียกรดแลคติกและยีสต์เพิ่มขึ้น ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่มีความหวานน้อยลง เนื่องจากเซลล์นำไปใช้ในการเจริญเติบโตทำให้จำนวนเซลล์เพิ่มขึ้น และรสชาติเปลี่ยนแปลงไปจากอายุการหมัก 12 และมีกลิ่นแอลกอฮอล์แรงขึ้น

จากการทดลองถึงการ *Lactobacillus pentosus* + *S. cerevisiae* กล้าเชื้อในการหมักวัตถุดิบทั้งสองชนิด จะเห็นได้ว่าวัตถุดิบทั้งสองชนิดใช้ในการหมักได้ แต่น้ำนมถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบที่มีกิจกรรมการหมักเกิดขึ้นได้ดีกว่า อย่างไรก็ตามการใช้น้ำนมถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบในการหมักมีข้อจำกัดในเรื่องกลิ่น เพราะมีกลิ่นของถั่วเหลือง ซึ่งทำให้ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

ดังนั้นการศึกษาต่อไปจึงเลือกนํ้านมถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบ และมีการพัฒนากลิ่นรสโดยใช้นํ้าผลไม้ และทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัส

4.4 การพัฒนาผลิตภัณฑ์คีเฟอร์และการทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัส

จากการศึกษาการหมักคีเฟอร์พบว่า อายุการหมัก 12 ชั่วโมง มีความเหมาะสมสำหรับการหมักคีเฟอร์นํ้านมถั่วเหลือง โดยค่าต่างๆ ของการวิเคราะห์ที่มีค่าคงที่ ดังนั้นจึงพัฒนาผลิตภัณฑ์คีเฟอร์นํ้านมถั่วเหลืองโดยผสมนํ้าผลไม้รสต่าง ๆ 20 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร และหมักเป็นเวลา 12 ชั่วโมง จากนั้นนำมาทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสโดยการทดสอบความชอบกับผู้ทดสอบชิมที่ไม่ผ่านการฝึกฝน จำนวน 30 คน ผลการทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสแสดงในตารางที่ 15 และลักษณะสีจากการหมักแสดงในภาพที่ 12

ตารางที่ 15 ผลการทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสคีเฟอร์นํ้านมถั่วเหลือง

ตัวอย่างคีเฟอร์	ค่าคะแนนของการทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสแต่ละด้าน				
	สี	กลิ่น	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	การยอมรับ
1. คีเฟอร์นํ้านมถั่วเหลือง	6.91 ^a	4.91 ^b	5.36 ^b	6.23 ^a	5.86 ^b
2. คีเฟอร์นํ้านมถั่วเหลืองผสมนํ้าแอปเปิล	6.91 ^a	5.50 ^b	6.91 ^a	6.73 ^a	6.81 ^a
3. คีเฟอร์นํ้านมถั่วเหลืองผสมนํ้าองุ่น	5.64 ^b	7.09 ^a	7.14 ^a	6.36 ^a	6.95 ^a
4. คีเฟอร์นํ้านมถั่วเหลืองผสมนํ้าแครอทรวมผลไม้	7.59 ^a	5.27 ^b	5.18 ^b	6.36 ^a	6.09 ^b

หมายเหตุ ตัวอักษรที่เหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

จากตารางที่ 15 การทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสคีเฟอร์นํ้านมถั่วเหลืองพบว่า ลักษณะทางด้านสีของคีเฟอร์นํ้านมถั่วเหลืองผสมนํ้าแครอทรวมผลไม้มีค่าเฉลี่ยของการทดสอบสูงสุด (7.59) ซึ่งมีลักษณะเป็นสีส้มอันเป็นสีจากแครอท โดยค่าเฉลี่ยไม่มีความแตกต่างจากคีเฟอร์นํ้านมถั่วเหลือง นํ้านมถั่วเหลืองผสมนํ้าแอปเปิลมีลักษณะเป็นสีขาวขุ่น แต่แตกต่างจากคีเฟอร์นํ้านมถั่วเหลืองผสมนํ้าองุ่น เพราะนํ้าองุ่นมีสีม่วงเมื่อผสมกับสีของนํ้านมถั่วเหลือง ทำให้สีไม่สวย

ส่วนผลการทดสอบทางด้านกลิ่นพบว่า ค่าเฉลี่ยกลิ่นจากคีเฟอร์น้ำนมถั่วเหลืองผสมน้ำแอปเปิลมีค่าเฉลี่ยสูงสุด (7.09) และมีความแตกต่างจากจากคีเฟอร์น้ำนมถั่วเหลือง คีเฟอร์น้ำนมถั่วเหลืองผสมน้ำแอปเปิล และคีเฟอร์น้ำนมถั่วเหลืองผสมแครอทรวมผลไม้ ทั้งนี้เนื่องจากว่ามีกลิ่นหอมของน้ำองุ่นซึ่งเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

การทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านรสชาติพบว่า คีเฟอร์น้ำนมถั่วเหลืองผสมน้ำองุ่นและคีเฟอร์น้ำนมถั่วเหลืองผสมน้ำแอปเปิลมีค่าเฉลี่ยของการยอมรับสูง (7.14 และ 6.19) โดยมีค่าเฉลี่ยของการยอมรับแตกต่างจากคีเฟอร์น้ำนมถั่วเหลือง และคีเฟอร์น้ำนมถั่วเหลืองผสมน้ำแครอทรวมผลไม้ ส่วนค่าเฉลี่ยทางด้านเนื้อสัมผัสพบว่าไม่มีความแตกต่างกันในทุกตัวอย่าง สุดท้ายการทดสอบการยอมรับพบว่า คีเฟอร์น้ำนมถั่วเหลืองผสมน้ำองุ่นมีค่าการยอมรับสูงสุด (6.95) และไม่แตกต่างจากคีเฟอร์น้ำนมถั่วเหลืองผสมน้ำแอปเปิล (6.81) แต่แตกต่างจากคีเฟอร์น้ำนมถั่วเหลืองและน้ำนมถั่วเหลืองผสมน้ำแครอทรวมผลไม้

ผลการทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์น้ำนมถั่วเหลืองโดยรวมแล้วพบว่า คีเฟอร์น้ำนมถั่วเหลืองผสมน้ำองุ่นมีค่าเฉลี่ยของการยอมรับด้านกลิ่น รสชาติและการยอมรับโดยรวมสูงสุด เป็นเพราะว่ากลิ่นและรสชาติของน้ำองุ่นช่วยลดกลิ่นของถั่วเหลือง ทำให้ค่าการทดสอบในด้านต่าง ๆ สูงขึ้น



ภาพที่ 12 ลักษณะสีของคีเฟอร์น้ำนมถั่วเหลืองที่ผสมน้ำแอปเปิล น้ำแครอทและน้ำองุ่นเปรียบเทียบกับไม่เติมน้ำผลไม้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

การศึกษาการหมักคีเฟอร์โดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *S. cerevisiae* เป็นกล้าเชื้อจากการทดลองทั้งหมด ตั้งแต่การจัดจำแนกแบคทีเรียกรดแลคติก การศึกษาสายพันธุ์แบคทีเรียที่เหมาะสมต่อการหมักคีเฟอร์ การเก็บรักษาคีเฟอร์ที่อุณหภูมิต่ำ และการทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์ ผลการทดลองสรุปได้ดังนี้

1. การแยกและการจัดจำแนกแบคทีเรียกรดแลคติกจากตัวอย่างน้ำนมโค และน้ำนมถั่วเหลืองได้แบคทีเรียกรดแลคติก 8 ไอโซเลต เมื่อจัดจำแนกได้เพียง 3 สายพันธุ์ คือ *Lc. lactis* subsp. *lactis* *Lb. pentosus* และ *Lb. fermentum* ซึ่งทั้งสามสายพันธุ์นำไปใช้ศึกษาการหมักต่อไป โดยตัวอย่างนมทั้งสองชนิดเมื่อปล่อยให้เกิดการหมักที่อุณหภูมิห้อง ลักษณะของน้ำนมเกิดเป็นเคิร์ด และมีกลิ่นของนมหมัก เมื่อนำมาเข้าสู่การแยกแบคทีเรียกรดแลคติกได้แบคทีเรียกรดแลคติกบริสุทธิ์จำนวน 8 ไอโซเลต ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวกทั้งหมด และไม่สร้างแคตาเลส โดยได้จากตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลือง 4 ไอโซเลต มีรูปร่างกลมทั้งหมด ไม่สร้างก๊าซจากการหมักคาร์บอนไดออกไซด์ และผลการจัดจำแนกโดยระบบเอพีไอเป็นสายพันธุ์ *Lc. lactis* subsp. *lactis* ทั้งหมด ส่วนจากตัวอย่างน้ำนมโคได้ 4 ไอโซเลต มีรูปร่างแท่งทั้งหมด ไม่สร้างก๊าซจากการใช้คาร์บอนไดออกไซด์ 3 ไอโซเลต ผลการจัดจำแนกโดยระบบเอพีไอเป็นสายพันธุ์ *Lb. pentosus* และสร้างก๊าซจากการหมักคาร์บอนไดออกไซด์ 1 ไอโซเลต ผลการจัดจำแนกโดยระบบเอพีไอเป็นสายพันธุ์ *Lb. fermentum*

2. การศึกษาการหมักคีเฟอร์โดยแบคทีเรียกรดแลคติก พบว่าการใช้กล้าเชื้อจาก *Lb. pentosus* ร่วมกับ *S. cerevisiae* เหมาะสมต่อการหมักคีเฟอร์โดยใช้น้ำนมโคและน้ำนมถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบ โดยน้ำนมถั่วเหลืองมีกิจกรรมการหมักเกิดได้ดีกว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการหมักคือ อุณหภูมิในตู้บ่ม 37 องศาเซลเซียส อายุการหมักที่เหมาะสมอยู่ที่ 12 ชั่วโมง ซึ่งมีค่าพีเอชเท่ากับ 4.5 องศาบริกซ์เท่ากับ 9.0 เปอร์เซนต์กรดแลคติกเท่ากับ 1.046 จำนวนเซลล์แบคทีเรียกรดแลคติกและยีสต์เท่ากับ 10^8 โคโลนี/มิลลิลิตร

3. การศึกษาอายุการเก็บรักษาโดยใช้อุณหภูมิในตู้แช่ 8 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน การเปลี่ยนแปลงขององศาบริกซ์ เปอร์เซนต์กรดแลคติกลดลง ส่วนจำนวนเซลล์ทั้งแบคทีเรียกรด

แลคติกและยีสต์เพิ่มขึ้น แต่ค่าพีเอชคงที่

เอกสารนี้เป็นลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ไม่ควรนำเอกสารนี้ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

การหมักคีเฟอร์โดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *S. cerevisiae* เป็นกล้าเชื้อ

4. จากการที่น้ำนมถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบที่เหมาะสมต่อการหมัก มีกิจกรรมการหมักดีกว่า น้ำนมโค จึงนำมาทำการหมักเพื่อทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยผสมกับน้ำแอปเปิล น้ำแครอท และน้ำองุ่น 20 เปอร์เซ็นต์ เทียบกับชุดควบคุม ผลการทดสอบสรุปได้ว่า การผสมน้ำองุ่นมีค่าเฉลี่ยของการยอมรับด้านกลิ่น รสชาติ และการยอมรับโดยรวมสูงสุด โดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 7.09 7.14 และ 6.95



บรรณานุกรม

นภา โล่ห์ทอง. 2534. **กล้าเชื้ออาหารหมักและ เทคโนโลยีการผลิต**. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพฯ, ฟีนนี่พับบลิชชิง. 159 น.

นมถั่วเหลือง. [Online] Available :

<http://www.healthnet.in.th/text/forum2/soilbean/index.htm> (04/04/2549)

ประไพศรี ศิริจักรวาล. นมถั่วเหลือง : คุณค่าเหมือนนมวัวหรือ? [Online] Available :

[http://www. http://www.healthnet.in.th/text/forum2/soilbean/index.htm](http://www.healthnet.in.th/text/forum2/soilbean/index.htm)
(04/04/2549)

ปีนมณี ขวัญเมือง. 2547. **เอกสารประกอบการสอน วิชาเทคโนโลยีการหมักใน
อุตสาหกรรม ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง**

โยเกิร์ตบัวหิมะ : [Online]

Available : <http://user.chariot.net.au~dna/kefirpage.htm> (19/1/48)

สถาบันอาหาร. การแปรรูปอาหาร : นำนมถั่วเหลือง. [Online].

Available : <http://www.nifor.th/recycle/pdf/P00050pdf> (21/03/2549)

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 2539. **นมและผลิตภัณฑ์นม**. น. 20-21.

สมจิต สุรพัฒน์. 2546. **นมและผลิตภัณฑ์นม. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร.**

คณาจารย์ภาควิชาวิทยาการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. น. 264-272

โรงพยาบาลไทยนครินทร์. นมเปรี้ยว. [Online] Available:

<http://www.thainakar.in.th/tipsdetailth.php?49>)10/03/2549)

A Probiotic Gem Cultured with a Probiotic Jewel : Kefir Grains [Online]

Available: <http://user.chariot.net.au~dna/kefirpage.htm> (13/11/47)

Adama, M.R. and M.O. Moss. 1995. **Food Microbiology**. The Royal Society of Chemidtry, Cambridge. Pp. 232-248.

Angulo, L., E. López and C. Lema. 1993. Microflora present in kefir grains of Galician region (north- west of Spain). *J. Dairy Research*. 60 : 263-267.

Arihara, k., T. Tobo, and Adachi, J. 1990. Immunofluorescence microscopic studies on Distribution of *L. fefiranofaciens* and *L. kefir* in kefir grains. 11 : 127-134.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น มิฉะนั้นอย่าได้เผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต

ไม่ว่ากรณีใดๆทางสน อักษรมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง **การหมักดีเฟอไรโดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *S. cerevisiae* เป็นกล้าเชื้อ**

- Bender, D. A. 1999. Benders' Dictionary of Nutrition and Food Technology (7th ed.)
New York, CRC Press.
- Beshkove, D. M., E. D. Simova, Z. I. Simova, G. I. Frengova, and Z. N. Spasov. 2002.
Pure cultures for making kefir. *Food Microbiology*. 19 : 537-544.
- Duitschaever, C. L., N. Kemp, and D. Emmons. 1987. Pure culture formulation and
Procedure for the production of kefir. *Milchwiss*. 42 : 80-82.
- Garrote, G. L. A. G. Abraham, and G. L. De Antoni. 1997. Preservation of kefir grains, a
comparative study. *Lebensm. Wiss. U.-Technol*. 30 : 77-48.
- Güzel-Seydim, Z. B., A. C. Eryilmaz, A. K. Greene, and A. B. Bodine. 2000.
Determination organic acids and volatile flavor substances in kefir during
Fermentation. *J. Food Composition and Analysis*. 13 : 35-45
- History of Fermented Soymilk and Its Product. [Online] Available:
<http://www.thesoydailyclub.com/scf/dairy48.asp> (04/04/2549)
- Irigoyen, A., I. Arana, M. Castiella, P. Torre, and F. C. Ibáñez. 2005. Microbiological,
Physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage.
Food Chemistry. 90 : 613-620.
- Kefir. [Online] Available : <http://www.liberte.qc/html/kefir.asp> (19/1/48)
- Kefir : Extra from grow youthful. [Online] Available:
<http://www.growyouthful.com.pdf#search='kefiran'> (19/4/48)
- Kefir a Fermented Milk Probiotic. [Online] Available :
<http://www.medicinalfoodnews.com/vol02/issue1/kefir.htm> (06-10-2549)
- Kefir grain microflora. [Online]
Available : <http://livstek/th.sc:2080/Kefir.htm> (19/1/48)
- Kefir Making in site. [Online]
Available : <http://users.chariot.net.au/%7Edna/Makefir.html> (21/11/47)
- Kefir vs. Yogurt. [Online]
Available : <http://www.kefir.net/kefir-yogurt.htm> (19/1/48)
- Lui, J.R. and C.W. Lin. 2000. Production of kefir from Soymilk with or without added
glucose, lactose or Sucrose. *J. Food Sci*. 65 :716-719.

- Madigan, M.T., Martinko, J.M. and Parker, J. 2000. Brock Biology of Micro-organism. 9th ed. pp. 504-506, Nutrition Content. [Online]. Available : <http://www.kefir.net/nutrit.htm> (19/1/48)
- Oberman, H. and Z. Libudzisz. 1998. Fermentation Milks. In Microbiology of Fermented Foods. Vol.1 (ed. Brain J.B.Wood), Blackie Academic & Professional, pp. 308-350.
- Otles, S., and O. Cangindi. 2003. Kefir : a Probiotic dairy composition, nutrition and therapeutic aspect. Pakistan J. Nutrition. 2(2) : 54-5
- Özer, D. and B. H. Özer. 2000. Products of Eastern Europe and Asia. In eds Richard, K. R., A. B. Cart, and P.P. Patel. Encyclopedia of food Microbiology. pp. 798-803.
- Rossi, J. and M. Gobetti. 1991. Impiego di un multistarter per la produzione in continuo di kefir. Ann. Microbiol. 41 : 223-226.
- Saloff-Coste, J. C. 1996. Newsletter N^o 11 Kefir. Danone World Newsletter. [Online]. Available : http://www.danonevitapole.com/nutri_newsletter/eng/news_11/sum.htm (8/3/48)
- Schlegel, H.G. 1993. General Microbiology. 7th ed. Cambridge University Press. New York. Pp. 300-305.
- Singleton, P. and Sainsbury, D. 1988. Dictionary of Microbiology and Molecular Biology. 2nd ed. John Wiley & Sons, New York.
- Steven, R. H., S. M. Clancy. 2003. Kefir improves lactose digestion and tolerance in adults with lactose maldigestion. Research. 103 (5) : 582-587.
- Toba, T., K. Arihara and S. Adachi. 1987. Comparative study of polysaccharides from kefir grains, and encapsulated homofermentative *Lactobacillus* sp. and *Lactococcus* sp. Milchwiss. 42 : 565-568.

- Yokoi, H., T. Watanabe, Y. Fujii, T. Mukai, T. Toba and S. Adachi. 1991. Some Taxonomical characteristics of Encapsulated *Lactobacilli* sp. KPB-167B isolated from kefir grain and characteristic of its extracellular polysaccharide. *Int. J. Food Microbiol.* 13 : 257-265.
- Yüksekda, Z.N., Y. Beyatil, and B. Aslim, 2004. Determination of some characteristics of cocci from lactic acid bacteria isolated from Turkish kefir with natural probiotic. *Lebensm.-Wiss, u-Technol.* 37 : 663-667.





เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้าม **การหมักดีเฟอร์โดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *S. cerevisiae* เป็นกล้ำเชื้อ**

การวิเคราะห์ปริมาณกรดโดยการไทเทรต (AOAC, 2000)

การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

ชั่งสารโซเดียมไฮดรอกไซด์และน้ำกลั่นปริมาณเท่า ๆ กัน ละลายให้เข้ากันและใส่ขวดพลาสติกตั้งทิ้งไว้ 3-4 วัน เพื่อให้โซเดียมไฮดรอกไซด์ส่วนที่ไม่ละลายตกตะกอน ใช้สารละลายส่วนใสมาเตรียมสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล โดยดูดสารละลายมา 8.0 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำ จากนั้นนำไปไทเทรตกับสารละลายปอแตสเซียมไฮโดรเจนฟทาเลต (potassium hydrogen phthalate) เพื่อหาความเข้มข้นที่แน่นอนโดยใช้สมการ

$$\text{Molarity (mol/l)} = \frac{\text{gKHC}_8\text{H}_4\text{O}_4 \times 1000/\text{mL NaOH} \times 204.229}{\text{mL}}$$

การวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติกในตัวอย่างสาโท

ดูดตัวอย่างนม 10 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร หยดสารละลายฟีนอล์ฟทาไลน์ 1-2 หยด นำไปไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล จนกระทั่งสารละลายตัวอย่างเปลี่ยนเป็นสีชมพู คำนวณปริมาณกรดแลคติกตามสมการ

$$\text{ปริมาณกรดแลคติก} = \frac{(N \times V_1 \times 90.08 \times 100)}{1,000 \times V_2}$$

เมื่อ N = ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์

V₁ = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้

V₂ = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างที่ใช้ไทเทรต



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีการหมักดีเฟอไรโดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *S. cerevisiae* เป็นกล้ำเชื้อ

Carbohydrates

SUMMARY AND EXPLANATION

API 50 CH is a standardized system, associating 50 biochemical tests for the study of the carbohydrate metabolism of microorganisms. API 50 CH is used in conjunction with API 50 CHL Medium for the identification of *Lactobacillus* and related genera and with API 50 CHB/E Medium for the identification of *Bacillus* and related genera, *Enterobacteriaceae* and *Vibrionaceae*. The complete list of those organisms that it is possible to identify with this system can be found in the Identification Table at the end of the package inserts of the associated media.

PRINCIPLE

The API 50 CH strip consists of 50 microtubes used to study fermentation of substrates belonging to the carbohydrate family and its derivatives (heterosides, polyalcohols, uronic acids).

The fermentation tests are inoculated with API 50 CHL Medium or API 50 CHB/E Medium, which rehydrates the substrates.

During incubation, **fermentation** is revealed by a **color change** in the **tube**, caused by the anaerobic production of acid and detected by the pH indicator present in the chosen medium. The first tube, which does not contain any active ingredient, is used as a negative control.

NOTE : The API 50 CH strip may be used to test two other pathways :

- **oxidation** which is revealed by a **color change** in the **cupule**, caused by the aerobic production of acid and detected by the pH indicator present in the chosen medium.
- **assimilation** which is revealed by **growth** of the organism in the **cupule** when the substrate is used as the only available source of carbon.

In this case, the choice of medium to be used for inoculation of the strips will depend on the metabolism and nutritional requirements of the microbial group to be tested (see literature references).

CONTENT OF THE KIT (Kit for 10 tests)

- 10 API 50 CH strips
- 10 incubation boxes
- 10 result sheets
- 1 package insert

COMPOSITION OF THE STRIP

The composition of the API 50 CH strip is given below in the list of tests :

Strip 0 - 9

Tube	Test	Active ingredients	QTY (mg/cup.)
0		CONTROL	-
1	GLY	GLYcerol	1.64
2	ERY	ERYthritol	1.44
3	DARA	D-ARAbinose	1.4
4	LARA	L-ARAbinose	1.4
5	RIB	D-RIBose	1.4
6	DXYL	D-XYLose	1.4
7	LXYL	L-XYLose	1.4
8	ADO	D-ADOnitol	1.36
9	MDX	Methyl-βD-Xylopyranoside	1.28

Strip 10 - 19

Tube	Test	Active ingredients	QTY (mg/cup.)
10	GAL	D-GALactose	1.4
11	GLU	D-GLUcose	1.56
12	FRU	D-FRUctose	1.4
13	MNE	D-MaNnosE	1.4
14	SBE	L-SorBosE	1.4
15	RHA	L-RHAmnose	1.36
16	DUL	DULcitol	1.36
17	INO	INOsitol	1.4
18	MAN	D-MANnitol	1.36
19	SOR	D-SORbitol	1.36

Strip 20 - 29

Tube	Test	Active ingredients	QTY (mg/cup.)
20	MDM	Methyl-αD-Mannopyranoside	1.28
21	MDG	Methyl-αD-Glucopyranoside	1.28
22	NAG	N-AcetylGlucosamine	1.28
23	AMY	AMYgdalin	1.08
24	ARB	ARButin	1.08
25	ESC	ESCulin ferric citrate	1.16 0.152
26	SAL	SALicin	1.04
27	CEL	D-CELlobiose	1.32
28	MAL	D-MALtose	1.4
29	LAC	D-LACtose (bovine origin)	1.4

Strip 30 - 39

Tube	Test	Active ingredients	QTY (mg/cup.)
30	MEL	D-MELibiose	1.32
31	SAC	D-SACcharose (sucrose)	1.32
32	TRE	D-TREhalose	1.32
33	INU	INUlin	1.28
34	MLZ	D-MeLeZitose	1.32
35	RAF	D-RAFfinose	1.56
36	AMD	AmiDon (starch)	1.28
37	GLYG	GLYcoGen	1.28
38	XLT	XyLITol	1.4
39	GEN	GENtiobiose	0.5

Strip 40 - 49

Tube	Test	Active ingredients	QTY (mg/cup.)
40	TUR	D-TURanose	1.32
41	LYX	D-LYXose	1.4
42	TAG	D-TAGatose	1.4
43	DFUC	D-FUCose	1.28
44	LFUC	L-FUCose	1.28
45	DARL	D-ARAbitol	1.4
46	LARL	L-ARAbitol	1.4
47	GNT	potassium GlucoNaTe	1.84
48	2KG	potassium 2-KetoGluconate	2.12
49	5KG	potassium 5-KetoGluconate	1.8

The quantities indicated may be adjusted depending on the titer of the raw materials used.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

REAGENTS AND MATERIAL REQUIRED BUT NOT PROVIDED**Reagents :**

- Inoculation medium :
 - API 50 CHL Medium (Ref. 50 410)
 - API 50 CHB/E Medium (Ref. 50 430)
 - (+ products mentioned in the package inserts of these media)
 - or any other suitable medium
- Mineral oil (Ref. 70 100)
- McFarland Standard (Ref. 70 900) or DENSIMAT (Ref. 99 234) or ATB® Densitometer
- Identification software (consult bioMérieux)

Material :

- Pipettes or PSlpettes
- Ampule rack
- Ampule protector
- Swabs
- General microbiology laboratory equipment

WARNINGS AND PRECAUTIONS

- For *in vitro* diagnostic use and microbiological control.
- For professional use only.
- This kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not totally guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious, and handled observing the usual safety precautions (do not ingest or inhale).
- All specimens, microbial cultures and inoculated products should be considered infectious and handled appropriately. Aseptic technique and usual precautions for handling the bacterial group studied should be observed throughout this procedure. Refer to "NCCLS M29-A, *Protection of Laboratory Workers from Instrument Biohazards and Infectious Disease Transmitted by Blood, Body Fluids, and Tissue; Approved Guideline - December 1997*". For additional handling precautions, refer to "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, HHS Publication No. (CDC) 93-8395, 3rd Edition (May 1993)", or to the regulations currently in use in each country.
- Do not use reagents past the expiration date.
- Before use, check that the packaging of the various components is intact.
- Do not use strips which have been damaged : cupules deformed, desiccant sachet open, ...
- The performance data were obtained using the procedure indicated in this package insert. Any change or modification in the procedure may affect the results.
- Interpretation of the test results should be made taking into consideration the patient history, the source of the specimen, colonial and microscopic morphology of the strain and, if necessary, the results of any other tests performed, particularly the antimicrobial susceptibility patterns.

STORAGE CONDITIONS

The strips should be stored at 2-8°C until the expiration date indicated on the packaging.

SPECIMENS (COLLECTION AND PREPARATION)

API 50 CH is not for use directly with clinical or other specimens.

The microorganisms to be identified must first be isolated on a suitable culture medium according to standard microbiological techniques.

INSTRUCTIONS FOR USE

Depending on which medium is used, API 50 CHL Medium or API 50 CHB/E Medium, carefully read the corresponding package insert.

Preparation of the strips

Each strip is made up of 5 smaller strips each containing 10 numbered tubes.

- Prepare an incubation box (tray and lid).
- Record the reference of the strain on the elongated flap of the tray. (Do not record the reference on the lid as it may be misplaced during the procedure.)
- Distribute about 10 ml of distilled water or de-mineralized water [or any water without additives or chemicals which may release gases (e.g. Cl₂, CO₂, etc.)] into the honeycombed wells of the tray to create a humid atmosphere.
- Remove the 2 strips (0-19 and 20-39) from their packaging, separate into 4 smaller strips (0-9, 10-19, 20-29 and 30-39) and place all 4 in the incubation tray.
- Take the remaining smaller strip (40-49) out of the packaging and place it next to the others in the incubation tray to complete the strip.

Preparation of the inoculum

- Culture the microorganism on a medium adapted to its growth.
- Check the purity of the strain.
- Harvest all the bacteria from a solid medium using a swab or from a liquid medium using centrifugation.
- Prepare the inoculum in the appropriate medium (see the API 50 CHL Medium and API 50 CHB/E Medium package inserts). This suspension must be used immediately after preparation.

Inoculation of the strips

Distribute the bacterial suspension using a sterile pipette into the 50 tubes as follows :

- Tilt the incubation box slightly forwards.
- Avoid the formation of bubbles by placing the tip of the pipette against the side of the cupule.
- When only the tube is to be inoculated, do not exceed the top of the tube so as to maintain anaerobic conditions.
- When the tube and the cupule are to be completely filled, avoid the formation of a concave or convex meniscus.
- Incubate the strips at the optimum temperature for growth of the group of microorganisms being tested : 30°C, 37°C or 55°C.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

READING AND INTERPRETATION

Reading the strips

The strips are read after the stipulated incubation times (e.g., 24 hrs., 48 hrs.), depending on the microorganism and the type of reaction studied.

Interpretation

Interpret each test (positive (+), negative (-), doubtful (?)) and record the results on the result sheet.

The results form a biochemical profile which, when entered in the identification software, provides the identification of *Lactobacillus* and related genera or *Bacillus* and related genera, *Enterobacteriaceae* and *Vibrionaceae*.

NOTE : The results may be used for other purposes :

- Epidemiological grouping into types of the microorganism.
- Taxonomical analysis of a group of microorganisms.
- Classification of an unknown bacterial population into homogeneous groups.

QUALITY CONTROL

The strips are systematically controlled at various stages of their manufacture. For those users who wish to perform their own quality control tests with the strip, the following strains may be used :

For *Lactobacillus* : ***Lactobacillus paracasei* ssp *paracasei* NCFB 206 or ATCC BAA-52** (with API 50 CHL Medium)

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49		
24	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	V	-	+	V	-	+	+	-	V	+	V	V	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	V	-	-
48	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	-	+	+	-	+	+	V	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	V	+	-	+	-	-	-	-	+	-	-

For *Bacillus* : ***Bacillus polymyxa* (*) ATCC 43865** (with API 50 CHB/E Medium)

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49					
24	-	+	-	-	+	+	+	-	-	V	+	+	+	+	-	V	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
48	-	+	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	-	V	-	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

(*) *Bacillus polymyxa* identified as *Paenibacillus polymyxa* with API 50 CH and API 50 CHB/E Medium.

Results obtained after incubation at 30°C.

For *Enterobacteriaceae* : ***Klebsiella pneumoniae* ssp *pneumoniae* ATCC 35657** (with API 50 CHB/E Medium)

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49					
24	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
48	-	+	-	V	+	+	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	+	+	V	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

ATCC : American Type Culture Collection, 10801 University Boulevard, Manassas, VA 20110-2209, USA.

NCFB : National Collection for Food Bacteria (=NCDO), Institute of Food Research, Reading Laboratory, Earley Gate, Reading RG6 6BZ, ENGLAND

It is the responsibility of the user to perform Quality Control in accordance with any local applicable regulations.

LIMITATIONS OF THE METHOD

- The user assumes full responsibility for the identification of any species not included in the API 50 CHL and API 50 CHB/E databases.
- Only pure cultures of a single organism should be used.

WASTE DISPOSAL

It is the responsibility of each laboratory to handle waste and effluents produced according to their type and degree of hazardousness and to treat and dispose of them (or have them treated and disposed of) in accordance with any applicable regulations.

RANGE OF EXPECTED RESULTS

Consult the Identification Tables in the package inserts of the media associated with this strip for the range of expected results for the various biochemical reactions.


WARRANTY

bioMérieux disclaims all warranties, express or implied, including any implied warranties of MERCHANTABILITY AND FITNESS FOR A PARTICULAR USE. bioMérieux shall not be liable for any incidental or consequential damages. IN NO EVENT SHALL BIOMERIEUX'S LIABILITY TO CUSTOMER UNDER ANY CLAIM EXCEED A REFUND OF THE AMOUNT PAID TO BIOMERIEUX FOR THE PRODUCT OR SERVICE WHICH IS THE SUBJECT OF THE CLAIM.


PERFORMANCE

Refer to the Performance section in the package inserts of the media associated with this strip.

LITERATURE REFERENCES p. I
INDEX OF SYMBOLS p. II




BIO M É R I E U X



bioMérieux® sa
au capital de 11 879 045 €
673 620 399 RCS LYON
69280 Marcy-l'Etoile / France
Tel. 33 (0)4 78 87 20 00
Fax 33 (0)4 78 87 20 90
<http://www.biomerieux.com>

bioMérieux, Inc
Box 15969,
Durham, NC 27704-0969 / USA
Tel. (1) 919 620 20 00
Fax (1) 919 620 22 11



ไม่ว่ากรรมใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามลอกเลียนแบบและต้องอ้างชื่อผู้ผลิตทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

The logo is a registered and protected trademark of bioMérieux sa or one of its subsidiaries.



๖๖.

รายละเอียดการตรวจวิเคราะห์

Table 1. Characteristics of the bacterial strain 1 : *Lactococcus lactis lactis*

Characteristics	Reaction
Gram reaction	+ve
Fermentative production of acid from :	
- glycerol	-
- erythritol	-
- D-arabinose	-
- L-arabinose	+
- ribose	+
- D-xylose	-
- L-xylose	-
- adonitol	-
- β-methyl-D-xyloside	-
- galactose	+
- D - glucose	+
- D - fructose	+
- D - mannose	+
- L - sorbose	-
- rhamnose	-
- dulcitol	-
- inositol	-
- mannitol	-
- sorbitol	-
- α-methyl-D-mannoside	+
- α-methyl-D-glucoside	-
- N-acetyl-glucosamine	+
- amygdaline	-
- arbutine	+
- esculine	+

Remark : + ve = Gram positive bacteria

+ = Positive reaction

- = Negative reaction

ผลการทดสอบ / วิเคราะห์นี้ รับรองผลเฉพาะตัวอย่างที่ได้ทำการสอบ / วิเคราะห์เท่านั้น
 อกสารนี้เป็นเอกสารสงวนไว้สำหรับใช้เพื่อการศึกษานาน เป็นอันขาด ห้ามเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
 ห้ามนำผลการทดสอบ / วิเคราะห์ไปโฆษณาโดยมิได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจาก วว.
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงแก้ไข หรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาตจาก วว.



รายละเอียดการตรวจวิเคราะห์

Table 1. (continued) 1 : *Lactococcus lactis lactis*

Characteristics	Reaction
Fermentative production of acid from : (continued)	
- salicine	+
- cellobiose	+
- maltose	+
- lactose	-
- melibiose	-
- sucrose	+
- trehalose	-
- inuline	+
- melezitose	-
- D-raffinose	-
- starch	-
- glycogene	-
- xylitol	-
- β-gentiobiose	-
- D-turanose	-
- D-lyxose	-
- D-tagatose	-
- D-fucose	-
- L-fucose	-
- D-arabitol	-
- L-arabitol	-
- gluconate	-
- 2-keto-gluconate	-
- 5-keto-gluconate	-

Remark : + ve = Gram positive bacteria

+ = Positive reaction

- = Negative reaction

ผลการทดสอบ / วิเคราะห์นี้ รับรองผลเฉพาะตัวอย่างที่ได้ทำการสอบ / วิเคราะห์เท่านั้น
 เอกสารนี้เป็นเอกสารห้ามนำผลการทดสอบ / วิเคราะห์ไปโฆษณาโดยมิได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจาก วว.
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างถึงชื่อของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



๖๖.

รายละเอียดการตรวจวิเคราะห์

Table 2. Characteristics of the bacterial strain 2 : *Lactococcus lactis lactis*

Characteristics	Reaction
Gram reaction	+ve
Fermentative production of acid from :	
- glycerol	-
- erythritol	-
- D-arabinose	-
- L-arabinose	+
- ribose	+
- D-xylose	-
- L-xylose	-
- adonitol	-
- β-methyl-D-xyloside	-
- galactose	+
- D - glucose	+
- D - fructose	+
- D - mannose	+
- L - sorbose	-
- rhamnose	-
- dulcitol	-
- inositol	-
- mannitol	-
- sorbitol	-
- α-methyl-D-mannoside	+
- α-methyl-D-glucoside	-
- N-acetyl-glucosamine	+
- amygdaline	-
- arbutine	+
- esculine	+

Remark : + ve = Gram positive bacteria

+ = Positive reaction

- = Negative reaction

ผลการทดสอบ / วิเคราะห์นี้ รับรองเฉพาะตัวอย่างที่ได้ทำการสอบ / วิเคราะห์เท่านั้น
 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับอ้างอิงเท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ห้ามนำผลการทดสอบ / วิเคราะห์ไปโฆษณาโดยมิได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจาก วว.
 หน่วยงานต่างๆ สนับสนุนการดำเนินงานของ วว. โดยไม่หวังผลตอบแทน

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย
 ๓๕ หมู่ ๓ ถนนพหลโยธิน ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี ๑๒๑๒๐
 โทร. (๖๖) ๐๒๕๓๗ ๙๐๐๐ โทรสาร ๐๒๕๓๗ ๙๐๐๙
 E-mail : tistr@tistr.or.th Website : www.tistr.or.th



รายละเอียดการตรวจวิเคราะห์

Table 2. (continued) 2 : *Lactococcus lactis lactis*

Characteristics	Reaction
Fermentative production of acid from : (continued)	
- salicine	+
- cellobiose	+
- maltose	+
- lactose	-
- melibiose	-
- sucrose	+
- trehalose	-
- inuline	+
- melezitose	-
- D-raffinose	-
- starch	-
- glycogene	-
- xylitol	-
- β-gentiobiose	-
- D-turanose	-
- D-lyxose	-
- D-tagatose	-
- D-fucose	-
- L-fucose	-
- D-arabitol	-
- L-arabitol	-
- gluconate	-
- 2-keto-gluconate	-
- 5-keto-gluconate	-

Remark : + ve = Gram positive bacteria

+ = Positive reaction

- = Negative reaction

ผลการทดสอบ / วิเคราะห์นี้ รับรองผลเฉพาะตัวอย่างที่ได้ทำการสอบ / วิเคราะห์เท่านั้น
 ห้ามนำผลการทดสอบ / วิเคราะห์ไปโฆษณาโดยมิได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจาก วว.

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ต้นแบบถูกนำ และต้องแจ้งเรื่องแจ้งเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



๖๖.

รายละเอียดการตรวจวิเคราะห์

Table 3. Characteristics of the bacterial strain 3 : *Lactobacillus pentosus*

Characteristics	Reaction
Gram reaction	+ve
Fermentative production of acid from :	
- glycerol	+
- erythritol	-
- D-arabinose	-
- L-arabinose	+
- ribose	+
- D-xylose	+
- L-xylose	-
- adonitol	-
- β-methyl-D-xyloside	-
- galactose	+
- D - glucose	+
- D - fructose	+
- D - mannose	+
- L - sorbose	+
- rhamnose	-
- dulcitol	-
- inositol	-
- mannitol	+
- sorbitol	+
- α-methyl-D-mannoside	-
- α-methyl-D-glucoside	-
- N-acetyl-glucosamine	+
- amygdaline	+
- arbutine	+
- esculine	+

Remark : + ve = Gram positive bacteria

+ = Positive reaction

- = Negative reaction

ผลการทดสอบ / วิเคราะห์นี้ รับรองเฉพาะตัวอย่างที่ได้ทำการสอบ / วิเคราะห์เท่านั้น
ห้ามนำผลการทดสอบ / วิเคราะห์ไปโฆษณาโดยมิได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจาก วว.

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

๓๕ หมู่ ๓ เทคโนโลยีธานี ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี ๑๒๑๒๐
โทร. (๖๖) ๐ ๒๕๗๗ ๙๐๐๐ โทรสาร ๐ ๒๕๗๗ ๙๐๐๙
E-mail : tistr@tistr.or.th Website : www.tistr.or.th



รายละเอียดการตรวจวิเคราะห์

Table 3. (continued) 3 : *Lactobacillus pentosus*

Characteristics	Reaction
Fermentative production of acid from : (continued)	
- salicine	+
- cellobiose	+
- maltose	+
- lactose	+
- melibiose	+
- sucrose	+
- trehalose	+
- inuline	-
- melezitose	-
- D-raffinose	+
- starch	-
- glycogene	-
- xylitol	-
- β -gentiobiose	+
- D-turanose	-
- D-lyxose	-
- D-tagatose	-
- D-fucose	-
- L-fucose	-
- D-arabitol	-
- L-arabitol	-
- gluconate	+
- 2-keto-gluconate	-
- 5-keto-gluconate	-

Remark : + ve = Gram positive bacteria

+ = Positive reaction

- = Negative reaction

ผลการทดสอบ / วิเคราะห์นี้ รับรองผลเฉพาะตัวอย่างที่ได้ทำการสอบ / วิเคราะห์เท่านั้น

ห้ามนำผลการทดสอบ / วิเคราะห์ไปโฆษณาโดยมิได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจาก วว.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์และต้องขออนุญาตในการเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกข้อมูลและต้องขออนุญาตในการนำเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

๓๕ หมู่ ๓ เทคโนโลยีธานี ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี ๑๒๑๒๐

โทร. (๖๖) ๐ ๒๕๗๗ ๙๐๐๐ โทรสาร ๐ ๒๕๗๗ ๙๐๐๙

E-mail : tistr@tistr.or.th Website : www.tistr.or.th



๖๖.

รายละเอียดการตรวจวิเคราะห์

Table 4. Characteristics of the bacterial strain 4 : *Lactobacillus fermentum*

Characteristics	Reaction
Gram reaction	+ve
Fermentative production of acid from :	
- glycerol	-
- erythritol	-
- D-arabinose	-
- L-arabinose	+
- ribose	+
- D-xylose	+
- L-xylose	-
- adonitol	-
- β-methyl-D-xyloside	-
- galactose	+
- D - glucose	+
- D - fructose	-
- D - mannose	-
- L - sorbose	-
- rhamnose	-
- dulcitol	-
- inositol	-
- mannitol	-
- sorbitol	-
- α-methyl-D-mannoside	-
- α-methyl-D-glucoside	-
- N-acetyl-glucosamine	-
- amygdaline	-
- arbutine	-
- esculine	-

Remark : + ve = Gram positive bacteria

+ = Positive reaction

- = Negative reaction

ผลการทดสอบ / วิเคราะห์นี้ รับรองเฉพาะตัวอย่างที่ได้ทำการสอบ / วิเคราะห์เท่านั้น
เอกสารนี้เป็นเอกสารลิขสิทธิ์ของสถาบันเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้เผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ห้ามนำผลการทดสอบ / วิเคราะห์ไปโฆษณาโดยมิได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจาก วว.

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

๓๕ หมู่ ๓๓ เขตในธานี ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี ๑๒๑๒๐
โทร. (๖๖) ๐ ๒๕๗๗ ๙๐๐๐ โทรสาร ๐ ๒๕๗๗ ๙๐๐๙
E-mail : tistr@tistr.or.th Website : www.tistr.or.th



รายละเอียดการตรวจวิเคราะห์

Table 4. (continued) 4 : *Lactobacillus fermentum*

Characteristics	Reaction
Fermentative production of acid from : (continued)	
- salicine	-
- cellobiose	-
- maltose	+
- lactose	+
- melibiose	+
- sucrose	+
- trehalose	+
- inuline	-
- melezitose	-
- D-raffinose	-
- starch	-
- glycogene	-
- xylitol	-
- β-gentiobiose	-
- D-turanose	-
- D-lyxose	-
- D-tagatose	-
- D-fucose	-
- L-fucose	-
- D-arabitol	-
- L-arabitol	-
- gluconate	+
- 2-keto-gluconate	-
- 5-keto-gluconate	-

Remark : + ve = Gram positive bacteria

+ = Positive reaction

- = Negative reaction

ผลการทดสอบ / วิเคราะห์นี้ รับรองผลเฉพาะตัวอย่างที่ได้ทำการสอบ / วิเคราะห์เท่านั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารห้ามนำผลการทดสอบ / วิเคราะห์ไปโฆษณาโดยมิได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจาก ว.จ. อยุ่ชนด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

๓๕ หมู่ ๓๓ เทคโนธานี ต.คลองห้า อ.คลองหลวง จ.ปทุมธานี ๑๒๑๒๐

โทร. (๒๒) ๐ ๒๕๓๗๗ ๙๐๐๐ โทรสาร ๐ ๒๕๓๗ ๙๐๐๙

E-mail : tistr@tistr.or.th Website : www.tistr.or.th

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล นางสาวปิ่นมณี ขวัญเมือง
ตำแหน่งปัจจุบัน ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ระดับ 7

หน่วยงานที่อยู่ที่สามารถติดต่อได้

ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ถนนฉลองกรุง แขวงลำปลาทิว เขตลาดกระบัง
กรุงเทพฯ 10520

โทรศัพท์ 0-2737-3000 ต่อ 3699

โทรสาร 0-2326-4324

E-mail kkamnuay@kmitl.ac.th

ประวัติการศึกษา

ปี พ.ศ.	ระดับการศึกษา	ชื่อปริญญา	สาขาวิชา	สถานศึกษา/ประเทศ
2546	ปริญญาเอก	วิทยาศาสตร์ ดุสิตบัณฑิต	เทคโนโลยีชีวภาพ	มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ประเทศไทย
2538	ปริญญาโท	วิทยาศาสตร์ มหาบัณฑิต	พฤกษศาสตร์	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ประเทศไทย
2534	ปริญญาตรี	วิทยาศาสตร บัณฑิต	เทคโนโลยี การผลิตพืช	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า เจ้าคุณทหารลาดกระบัง

งานวิจัยที่สนใจ

1. เทคโนโลยีชีวภาพด้านเทคโนโลยีการหมัก
2. การใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร
3. สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช
4. การใช้ประโยชน์จากฟังก์ชันน้ำตาลฟอสฟอไรต์ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ **การหมักดีเพอร์โดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกและ *S. cerevisiae* เป็นกล้ำเชื้อ**

ผลงานที่ได้รับการเผยแพร่

บทความวิจัย

ปิ่นมณี ขวัญเมือง และ วิเชียร ลีลาวัชรมาศ. 2546. การจัดจำแนกแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยก
ได้จาดัวอย่างแหมม. เรื่องเติมการประชุม วิชาการ ครั้งที่ 41 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
(สาขาอุตสาหกรรมเกษตร) 3-7 กุมภาพันธ์ 2546 น. 108-115.

ปิ่นมณี ขวัญเมือง. 2547. ผลของอุณหภูมิต่อการหมักแหมมด้วยกล้าเชื้อ. เรื่องเติมการประชุม
วิชาการ ครั้งที่ 42 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (สาขาอุตสาหกรรมเกษตร) 3-6
กุมภาพันธ์ 2547 น. 339-346.

ปิ่นมณี ขวัญเมือง และปาลจิต อนุกุล. 2548. การศึกษาการหมักโยเกิร์ตมะเขือเทศ. เรื่องเติมการประชุม
วิชาการ ครั้งที่ 43. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (สาขาอุตสาหกรรมเกษตร) เล่มที่ 5
น. 536-543.

จำลอง ศรีสุวรรณ วันทนี ไชติสกุล ศศิธร จารุสมบัติ ราตรี ศิริพันธ์ และ ปิ่นมณี ขวัญเมือง .
2548. การสำรวจความต้องการศึกษาต่อในระดับบัณฑิตศึกษาทางด้านการศึกษา
เกษตร. เรื่องเติมการประชุมวิชาการ ครั้งที่ 43. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
(สาขาศึกษาศาสตร์) เล่มที่ 6 น. 224-231.

Pinmanee Kwanmuang. 2005. Nham Fermentation with *Lactobacillus johnsonii* and
Pediococcus pentosaceus. 1st International Conference on "Fermentation
Technology for Added Value Agricultural Products" (March 22nd -25th, 2005),
Kosa Hotel Khon Kaen, Thailand.

Pinmanee Kwanmaung. 2005. Sato fermentation with white mulberry juice extracts.
RJooiA. Vol 5 (1) : 13-19.

ปิ่นมณี ขวัญเมือง. 2549. การหมักสาโทมะเขี่ยง. เรื่องเติมการประชุมวิชาการ ครั้งที่ 44.
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (สาขาอุตสาหกรรมเกษตร) เล่มที่ 6 น. 242-249.

ศศิธร จารุสมบัติ จำลอง ศรีสุวรรณ วันทนี ไชติสกุล ราตรี ศิริพันธ์ และ ปิ่นมณี ขวัญเมือง.
2549. สภาพปัญหาและความต้องการพัฒนาสวนผลไม้ของเกษตรกรในเขตลาดกระบัง.
การสัมมนาทางวิชาการ "วิถีวิจัยทางการศึกษาและอาชีพเพื่อการพัฒนาสู่สากล"
13-14 กุมภาพันธ์ 2549 โดย สาขาอาชีพศึกษา คณะศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาลัย
เชียงใหม่.

บทความวิชาการ

ปิ่นมณี ขวัญเมือง. 2546. คุณสมบัติของธัญชาติในการเป็น functional foods และ functional ingredients. วารสารจารย์พา. ปีที่ 10 ฉบับที่ 75 (พฤศจิกายน-ธันวาคม) : น. 56-60

ปิ่นมณี ขวัญเมือง. 2547. คุณสมบัติของเส้นใยอาหารในการเป็น functional foods.

วารสารจารย์พา. ปีที่ 11 ฉบับที่ 76. (มกราคม-กุมภาพันธ์) น. 50-54.

ปิ่นมณี ขวัญเมือง. 2547. น้ำมันพืช คุณสมบัติในการเป็น functional foods (ตอนที่ 1) วารสาร

จารย์พา. ปีที่ 11 ฉบับที่ 78. (พฤษภาคม-มิถุนายน) น. 50-54

ปิ่นมณี ขวัญเมือง. 2547. น้ำมันพืช : คุณสมบัติในการเป็น functional foods (ตอนที่ 2) วารสาร

จารย์พา. ปีที่ 11 ฉบับที่ 80 (กันยายน-ตุลาคม) หน้า 67-71.

ปิ่นมณี ขวัญเมือง. 2547. แบคทีเรียกรดแลคติกในผลิตภัณฑ์อาหารหมักดอง. วารสารครุศาสตร์

อุตสาหกรรม ปีที่ 3 ฉบับที่ 1 น. 62-69 .

ปิ่นมณี ขวัญเมือง. 2547. ไฟโตเคมีคัล : คุณสมบัติในการเป็น Functional foods (ตอนที่ 1)

วารสารจารย์พา ปีที่ 11 ฉบับที่ 81 (พฤศจิกายน-ธันวาคม) หน้า 44-48.

ปิ่นมณี ขวัญเมือง. 2548. ไฟโตเคมีคัล : คุณสมบัติในการเป็น functional foods. (ตอนที่ 2)

วารสารจารย์พา. ปีที่ 12 ฉบับที่ 84 (พฤษภาคม-มิถุนายน) หน้า 56-59.

ปิ่นมณี ขวัญเมือง. 2548. ฟังชันนัลฟู้ดส์ : อาหารเพื่อสุขภาพ. วารสารครุศาสตร์อุตสาหกรรม

ปีที่ 4 ฉบับที่ 2 (เมษายน-กันยายน) น. 43-50