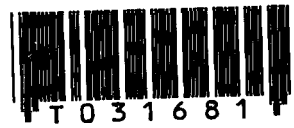
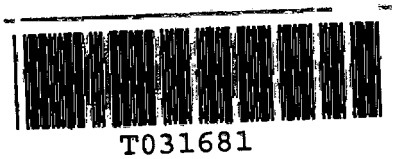
การศึกษาการใช้ไนซินเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมพาสเจอร์ไรส์

A STUDY OF SHELF LIFE EXTENDING OF PASTEURIZED MILK WITH NISIN



นายสมยศ ตันติวงศ์วาณิช

MR. SOMYOT TUNTIWONGWANICH



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2541

ISBN 974-622-323-2

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....31681
วัน, เดือน, ปี.....21 S.A. 2541

151 ป

A STUDY OF SHELF LIFE EXTENDING OF PASTEURIZED MILK WITH NISIN

SOMYOT TUNTIWONGWANICH

THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF REQUIREMENT FOR THE DEGREE

MASTER OF SCIENCE PROGRAM IN FOOD SCIENCE

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

1998

ISBN974-622-323-2

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษาการใช้ไนซินเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมพาสเจอร์ไรส์
นักศึกษา	นายสมยศ ตันติวงศ์วาณิช
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	ผศ.ดร.ประภาพร ขอไพบูลย์
ระดับการศึกษา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ.	2541

บทคัดย่อ

การศึกษาการใช้ไนซินเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมดิบและน้ำนมพาสเจอร์ไรส์โดยเติมไนซินที่ระดับความเข้มข้น 50, 100, 150, 200 และ 250 IU/ml ลงในน้ำนมดิบ แบ่งน้ำนมดิบที่เติมไนซิน เป็น 2 ส่วน ส่วนแรกเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 10 °ซ ส่วนที่สองนำมาผ่านความร้อนในระดับพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60, 63 และ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 10 °ซ นำน้ำนมดิบและน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ดังกล่าวมาตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส ได้แก่ สี กลิ่น รสชาติ และลักษณะปรากฏ ทางเคมี ได้แก่ ค่า pH ความเป็นกรด การทดสอบด้วยแอลกอฮอล์ 68% และการตกตะกอนหลังการต้ม และตรวจสอบทางจุลชีววิทยา ได้แก่ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) แลคติกแอซิดแบคทีเรีย (Lactic acid bacteria) *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus* ทุก 3 วัน ของการเก็บรักษา จนกว่าจะเกิดการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำนม

ผลการศึกษาการใช้ไนซินในน้ำนมดิบ พบว่า ความเข้มข้นของไนซิน 200 IU/ml สามารถยืดอายุการเก็บน้ำนมดิบได้นาน 3 วัน และที่ความเข้มข้น 100, 150, 200 และ 150 IU/ml สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมด, แลคติกแอซิดแบคทีเรีย *Staphy. aureus* และ *B. cereus* ในน้ำนมดิบได้ ตามลำดับ

สำหรับน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60, 63 และ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที พบว่า ความเข้มข้นของไนซินที่เหมาะสมเท่ากับ 200, 100 และ 200 IU/ml ตามลำดับ สามารถยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมได้นานที่สุดเท่ากัน คือ 12 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำนมควบคุม ซึ่งเก็บไว้ได้เพียง 3,

6 และ 6 วัน ตามลำดับ ความเข้มข้นของไนซินต่ำสุดในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ทั้ง 3 อุณหภูมิ ให้ผลการยับยั้งและทำลายการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมด เท่ากับ 150, 100 และ 100 IU/ml ตามลำดับ ,แลคติกแอซิดแบคทีเรีย เท่ากับ 150, 100 และ 100 IU/ml, *Staphy. aureus* เท่ากับ 150, 150 และ 100 IU/ml และ *B. cereus* เท่ากับ 150, 150 และ 100 IU/ml ตามลำดับ

การตรวจหาปริมาณไนซินที่เหลืออยู่ พบว่า ปริมาณไนซินในน้ำนมก่อนและหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 และ 63 °ซ พบว่า ไนซินมีความคงตัวภายใต้สภาวะดังกล่าว ตลอดระยะเวลาของการเก็บรักษา แต่จะลดลงที่ระยะเวลาของการเก็บรักษา 18 และ 21 วัน ในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที

ผลการยับยั้งสปอร์ของ *B. cereus* ในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ทั้ง 3 ระดับ พบว่า ความเข้มข้นของไนซินต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเชื้อดังกล่าวอยู่ระหว่าง 150 - 250 IU/ml ซึ่งการพาสเจอร์ไรส์น้ำนมที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ร่วมกับการใช้ไนซินความเข้มข้น 250 IU/ml ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อนี้ได้ดี

Thesis Title	A Study of Shelf Life Extending of Pasteurized Milk with Nisin
Student	Mr.Somyot Tantiwongwanich
Thesis Advisor	Asst.Prof.Dr. Prapaporn Khopaibool
Level of Study	Master of Science in Food Science
	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang
Year	1998

ABSTRACT

The shelf life extending of raw and pasteurized milk with nisin was studied by adding nisin at 50, 100, 150, 200 and 250 IU/ml in raw milk and separated into two parts. The first part was kept at 10 °C and the second part was heated at 60, 63 and 65 °C for 30 minutes and then kept at 10 °C. Every 3 days of storing time the stored milk would be sampling checked for organoleptic test ; color, flavor, taste and appearance and for chemical test ; pH, acidity test, alcohol 68% and clot-on-boiling and furthermore for microbial analysis ; total plate count, lactic acid bacteria, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* until milk sampling were spoiled.

The results indicated that nisin at 200 IU/ml could extend the shelf life of raw milk for 3 days and at 100, 150, 200 and 150 IU/ml for inhibition of total plate count, lactic acid bacteria, *Staph. aureus* and *B. cereus* in raw milk, respectively.

The proper pasteurized milk concentrations of nisin at 60, 63 and 65 °C for 30 minutes were 200, 100 and 200 IU/ml respectively, that could extend the pasteurized milk to 12 days. The minimum concentration of nisin in milk pasteurized at 60, 63 and 65 ° C were 150, 100 and 100 IU/ml that could inhibit of total plate count and respectively, lactic acid bacteria were 150, 100 and 100 IU/ml, *Staph. aureus* were 150, 150 and 100 IU/ml and *B. cereus* were 150, 150 and 100 IU/ml.

The quantity of residual in raw and pasteurized milk at 60 and 63 °C did not change during storage period. The concentration of residual nisin in pasteurized milk at 65 °C significantly decreased on 18 and 21 days.

The minimum concentrations of nisin in milk pasteurized at 60, 63 and 65 °C, could inhibit sporing of *B. cereus*, were between 150 - 250 IU/ml. The proper condition to inhibit spore of *B. cereus* in milk was adding 250 IU/ml nisin following by pasteurization at 63 °C 30 minutes.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงลงได้ ทั้งนี้ได้รับความกรุณาจากผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ประภาพร ขอไพบูลย์ ที่ได้ให้เกียรติเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาตลอดจนให้คำแนะนำแนวทาง ข้อคิดเห็น และสิ่งสำคัญ คือ เปิดโอกาสให้กับข้าพเจ้าในการทำวิทยานิพนธ์ตลอดมา ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งในความกรุณาและขอกราบขอบพระคุณอย่างสูงมา ณ. โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ รศ.ดร. วราวุฒิ ครูส่ง ที่กรุณาแนะนำแนวทางในการทำวิทยานิพนธ์และให้กำลังใจในการทำงานตลอดมา

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ประสาทความรู้แก่ข้าพเจ้าตลอดระยะเวลาของการศึกษาจนข้าพเจ้าประสบความสำเร็จในครั้งนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ของภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการทำงานวิจัยครั้งนี้ พี่ๆ น้องๆ เพื่อนปริญญาโททุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆด้วยดีเสมอมา

สุดท้ายด้วยความเคารพสูงสุด ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณบิดามารดา ที่สนับสนุนด้านการเรียนในครั้งนี้ พี่ชาย พี่สาว และน้องชายที่ช่วยให้กำลังในการทำงานตลอดมา

สมยศ ตันติวงศ์วาณิช

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....III
กิตติกรรมประกาศ.....V
สารบัญ.....VI
สารบัญตาราง.....VIII
สารบัญภาพ.....XII
บทที่
1. บทนำ.....1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....1
ขอบเขตของการวิจัย.....2
วัตถุประสงค์.....3
2. ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....4
2.1 น้ำนม.....4
2.2 ส่วนประกอบทางเคมีของน้ำนม.....4
2.3 คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำนม.....11
2.4 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับน้ำนมดิบและน้ำนมพาสเจอร์ไรส์.....13
2.5 การฆ่าเชื้อในน้ำนมโดยวิธีพาสเจอร์ไรส์.....19
2.5 ไนซิน.....24
3. อุปกรณ์และวิธีการ.....38
3.1 วัตถุดิบ.....38
3.2 อุปกรณ์ในการผลิต.....38
3.3 อุปกรณ์ในการวิเคราะห์.....38
3.4 สารเคมีที่สำคัญ.....38
3.5 สถานที่ทดลอง.....39
3.6 วิธีการทดลอง.....39

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ หน้า

4. ผลการทดลองและวิจารณ์....52
4.1 ปริมาณการใช้ไนซินที่เหมาะสมในการยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมดิบ....52
4.2 ปริมาณการใช้ไนซินที่เหมาะสมในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์....66
4.3 การศึกษาปริมาณความเข้มข้นของไนซินที่เหลืออยู่ภายหลังการให้ความร้อนที่ระดับพาสเจอร์ไรส์....118
4.4 การศึกษาผลของไนซินต่อการยับยั้งการเจริญของสปอร์*Bacillus cereus* ที่เติมลงไปในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์....128
5. สรุปผลการทดลอง....133
ข้อเสนอแนะ....136
บรรณานุกรม....137
ภาคผนวก....146
ภาคผนวก ก. สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ....147
ภาคผนวก ข. มาตรฐานของน้ำนมพาสเจอร์ไรส์....150
ประวัติผู้เขียน....151

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1. ส่วนประกอบของน้ำนม....5
2. ส่วนประกอบของไขมันนม....6
3. ชนิดและปริมาณของกรดไขมัน....7
4. ชนิดและปริมาณของวิตามินในน้ำนมวัว....9
5. ชนิดและปริมาณของแร่ธาตุต่าง ๆ พบจำนวนมากในน้ำนมโค....10
6. อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการพาสเจอร์ไรส์น้ำนม....20
7. ไนซินที่เหลืออยู่ในอาหารชนิดต่าง ๆ จากการเติมไนซินเริ่มต้น 100 Unit/g....28
8. ผลของอุณหภูมิและเวลาต่อไนซินที่คงเหลือ (ร้อยละ) ในผลิตภัณฑ์น้ำหางนม ที่ pH 6.5....28
9. ผลของระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อไนซินที่เหลืออยู่ในถั่วลันเตากระป๋อง....28
10. ชนิดของแบคทีเรียและความเข้มข้นของไนซินต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย....29
11. ความเข้มข้นของไนซินต่ำสุดที่มีผลในการยับยั้งการเจริญจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคเต้านมอักเสบในวัว....30
12. การเตรียมตัวอย่างน้ำนมดิบที่ความเข้มข้นของไนซินระดับต่าง ๆ....41
13. การตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำนมดิบ....52
14. การตกตะกอนของน้ำนมดิบที่ระความเข้มข้นต่างๆของไนซินด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ68 ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ....57
15. ผลการทดสอบการตกตะกอนหลังการต้มของน้ำนมดิบที่ระความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ....58
16. จุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำนมดิบที่ระความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน (log CFU/ml) ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ....59
17. จำนวนแบคทีเรียแลคติคในน้ำนมดิบที่ระความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน (log CFU/ml) ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ....61
18. จำนวนเชื้อ *Staphy. aureus* ในน้ำนมดิบที่ระความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน (log CFU/ml) ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ....62
19. จำนวนเชื้อ *B. cereus* ในน้ำนมดิบที่ระความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน (log CFU/ml) ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ....64

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

20. การตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำนมพาสเจอร์ไรส์
ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที 66
21. การตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำนมพาสเจอร์ไรส์
ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที 68
22. การตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำนมพาสเจอร์ไรส์
ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที 71
23. ผลการทดสอบน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที
ด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ68 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน
ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10°ซ..... 79
24. ผลการทดสอบการตกตะกอนหลังการต้มของน้ำนมพาสเจอร์ไรส์
ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน
ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10°ซ..... 80
25. ผลการทดสอบน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที
ด้วยแอลกอฮอล์ 68 % ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน
ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10°ซ..... 85
26. ผลการทดสอบการตกตะกอนหลังการต้มของน้ำนมพาสเจอร์ไรส์
ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน
ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10°ซ..... 86
27. ผลการทดสอบน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที
ด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 68 ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน
ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10°ซ..... 92
28. ผลการทดสอบการตกตะกอนหลังการต้มของน้ำนมพาสเจอร์ไรส์
ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน
ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10°ซ..... 93

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

29. ผลการตรวจนับจุลินทรีย์ทั้งหมด (log CFU/ml) ในน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ.....95
30. ผลการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียแลคติค (log CFU/ml) ในน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ.....97
31. ผลการตรวจนับจำนวน *Staphy. aureus* (log CFU/ml) ในน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ.....99
32. ผลการตรวจนับจำนวน *B. cereus* (log CFU/ml) ในน้ำนมที่ระดับความ เข้มข้นต่างๆ ของไนซิน ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ.....100
33. ผลการตรวจนับจุลินทรีย์ทั้งหมด (log CFU/ml) ในน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ.....102
34. ผลการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียแลคติค (log CFU/ml) ในน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ.....104
35. ผลการตรวจนับจำนวน *Staphy. aureus* (log CFU/ml) ในน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ.....106
36. ผลการตรวจนับจำนวน *B. cereus* (log CFU/ml) ในน้ำนมที่ระดับความ เข้มข้นต่างๆ ของไนซิน ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ.....108

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

37. ผลการตรวจนับจุลินทรีย์ทั้งหมด (log CFU/ml) ในน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ.....110
38. ผลการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียแลคติค (log CFU/ml) ในน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ.....111
39. ผลการตรวจนับจำนวน *Staphy. aureus* (log CFU/ml) ในน้ำนมที่ระดับความ เข้มข้นต่างๆ ของไนซิน ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ.....113
40. ผลการตรวจนับจำนวน *Bacillus cereus* (log CFU/ml) ในน้ำนมที่ระดับความ เข้มข้นต่างๆ ของไนซิน ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ.....114
41. ปริมาณความเข้มข้นของไนซินที่เหลืออยู่ในน้ำนมก่อนและหลังการให้ความร้อน ระดับพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 63 และ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ.....120
42. ความเข้มข้นของไนซินในน้ำนมดิบจากการตรวจสอบ ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ.....122
43. ความเข้มข้นของไนซินในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ.....124
44. ความเข้มข้นของไนซินในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ.....125
45. ความเข้มข้นของไนซินในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ.....127
46. ผลการตรวจนับจำนวน *B. cereus* (log CFU/ml) ในน้ำนมที่ระดับความ เข้มข้นต่างๆ ของไนซิน ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ.....128

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

47. ผลการตรวจนับจำนวน *B. cereus* (log CFU/ml) ในน้ำนมที่ระดับความ เข้มข้นต่างๆ ของไนซิน ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ.....130
48. ผลการตรวจนับจำนวน *Bacillus cereus* (log CFU/ml) ในน้ำนมที่ระดับความ เข้มข้นต่างๆ ของไนซิน ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ.....131

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

1. โครงสร้างของไนซิน....26
2. การเตรียมตัวอย่างและการตรวจสอบคุณภาพของน้ำนมดิบตอนที่6.1....40
3. การเตรียมตัวอย่างและการตรวจสอบคุณภาพของน้ำนมพาสเจอร์ไรส์
ที่อุณหภูมิต่างๆ ตอนที่ 6.2....46
4. แสดงขั้นตอนการเตรียมและวิธีการตรวจหาปริมาณความเข้มข้นของไนซินตอนที่ 6.3....49
5. แสดงขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างและการตรวจสอบคุณภาพ
น้ำนมพาสเจอร์ไรส์ตอนที่6.4....51
6. ความสัมพันธ์ระหว่างค่า pH ของน้ำนมดิบที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน
และระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ....55
7. ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละกรดแลคติคของน้ำนมดิบที่ระดับความเข้มข้นต่างๆของไนซิน
และระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ....56
8. ความสัมพันธ์ระหว่างค่า pH ของน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน
ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที
และระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ....76
9. ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละกรดแลคติคของน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆของไนซิน
ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที
ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ....78
10. ความสัมพันธ์ระหว่างค่า pH ของน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน
ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที
และระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ....83
11. ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละกรดแลคติคของน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆของไนซิน
ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที
ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ....84
12. ความสัมพันธ์ระหว่างค่า pH ของน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน
ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที
และระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ....90

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

13. ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละกรดแลคติคของน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆของไนซิน
ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที
ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ 91
14. กราฟมาตรแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายไนซิน (IU/ml)
และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone (มิลลิเมตร).....119

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

น้ำนมเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เนื่องจากประกอบด้วยธาตุอาหารสำคัญมากมาย ซึ่งช่วยให้ร่างกายเจริญเติบโตแข็งแรง จึงได้มีการส่งเสริมให้ประชาชนมีการบริโภคน้ำนมกันมากขึ้น น้ำนมที่นิยมนำมาบริโภค ได้แก่ น้ำนมโค ในปัจจุบันอุตสาหกรรมนมในประเทศมีการขยายตัวอย่างรวดเร็ว โดยเกษตรกรผู้เลี้ยงโคนมมีการรวมกลุ่มกันเป็นสหกรณ์ ซึ่งทำหน้าที่รวบรวมน้ำนมดิบจากเกษตรกรส่งไปยังโรงงาน เพื่อผลิตเป็นผลิตภัณฑ์น้ำนมต่างๆ มากมาย แต่เนื่องจากสภาพภูมิอากาศร้อนชื้นซึ่งเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ น้ำนมดิบจึงเกิดการเน่าเสียได้ง่าย เก็บรักษาไว้ได้ในระยะเวลาสั้นๆ นอกจากนี้ปัญหาการรวบรวมและขนส่งน้ำนมดิบสู่โรงงานก็เป็นปัญหาสำคัญที่ก่อให้เกิดการเสื่อมเสียอีกทางหนึ่ง เนื่องจากระยะทางในการขนส่งที่ห่างไกลจากศูนย์รวบรวมน้ำนม รวมทั้งระบบทำความเย็นที่มีไม่เพียงพอในบางพื้นที่เพื่อจะควบคุมอุณหภูมิของน้ำนมดิบให้ต่ำลง ทำให้จำนวนจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำนมดิบเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว ก่อนที่น้ำนมดิบจะส่งถึงโรงงานผลิต

ในการผลิตน้ำนมพาสเจอร์ไรส์โดยการนำน้ำนมดิบมาผ่านความร้อนในระดับพาสเจอร์ไรส์ (62.8 °ซ 30 นาที หรือ 72.8 °ซ 15 วินาที) ที่มุ่งเน้นในการทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคติดต่อจากการบริโภคน้ำนม และเพื่อต้องการถนอมคุณค่าทางอาหารของน้ำนม อีกทั้งยังป้องกันการเกิดกลิ่นนมต้ม (Cooked flavor) และสีน้ำตาลที่ไม่ต้องการของผู้บริโภค แต่เนื่องจากการให้ความร้อนในระดับนี้ไม่สามารถที่จะทำลายจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำนมได้ทั้งหมด และพบว่ายังมีจุลินทรีย์กลุ่มที่ทนต่อการให้ความร้อนไม่สามารถถูกทำลายลงได้ เมื่อจุลินทรีย์เหล่านี้เจริญขึ้นน้ำนมพาสเจอร์ไรส์จึงเกิดการเสื่อมเสียและการเปลี่ยนแปลงที่ไม่ต้องการตามมา นอกจากนี้การขนส่งผลิตภัณฑ์เพื่อจำหน่ายในท้องตลาดและการวางผลิตภัณฑ์บนชั้นวางสินค้าที่มีระบบควบคุมอุณหภูมิที่ไม่ดีพอก็ส่งผลให้น้ำนมเสื่อมเสียได้เร็วขึ้นอีกทางหนึ่ง สร้างความเสียหายในอุตสาหกรรมน้ำนมเป็นอันมาก จากสาเหตุดังกล่าวมาแล้วข้างต้น การใช้สารถนอมอาหารจึงเป็นแนวทางหนึ่งที่จะลดความสูญเสียที่เกิดขึ้นได้ โดยสารถนอมอาหารที่เลือกใช้ต้องไม่มีอันตรายต่อ

ผู้บริโภคเป็นสำคัญ และสามารถที่จะยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำนมดิบ รวมทั้งจุลินทรีย์ที่เหลือรอดจากการให้ความร้อนในระดับพาสเจอร์ไรส์ สารดังกล่าว ได้แก่ ไนซิน (Nisin)

ไนซิน (Nisin) เป็นสารประกอบโพลีเปปไทด์ (Polypeptides) ที่สามารถยับยั้งแบคทีเรีย หรือเรียกว่า "แบคเทอริโอซิน" (Bacteriocin) ผลิตได้จากแลกติกแอซิดแบคทีเรีย (Lactic acid bacteria) ไแก่ *Lactococcus lactis subsp. lactis* ซึ่งมีผลในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดี โดยเฉพาะกลุ่มที่สร้างสปอร์ (วิเชียร 2535) ไนซินไม่มีความเป็นพิษที่ก่อให้เกิดอันตรายต่อคนและสัตว์ จึงได้รับความสนใจในการนำมาใช้เป็นสารถนอมอาหารแทนการใช้สารเคมี ในปัจจุบันไนซินได้รับการยอมรับจากหลายประเทศรวมทั้งประเทศไทย โดยคณะกรรมการอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา (The U.S. Food and Drug Adminstration : FDA US) ได้รับรองความปลอดภัย (Generally Recognized as Safe : GRAS) และอนุญาตให้ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารได้ (FDA 1988) งานวิจัยนี้จึงเป็นการศึกษาการนำไนซินมาใช้ในการยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมดิบและน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ เพื่อลดความเสียหายจากการเสื่อมเสียซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อผู้ผลิตและผู้บริโภค

ขอบเขตการวิจัย

งานวิจัยนี้ศึกษาถึงปริมาณการใช้ไนซินที่เหมาะสมในน้ำนมดิบ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมดิบ โดยตรวจสอบผลการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางประสาทสัมผัสและการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในการเก็บรักษาน้ำนมดิบที่อุณหภูมิ 10 °ซ และศึกษาระดับไนซินที่เหมาะสมในการยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมที่ผ่านการให้ความร้อนระดับพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิต่างๆ โดยตรวจสอบผลการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางประสาทสัมผัส การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ในน้ำนมดังกล่าว และตรวจหาปริมาณไนซินที่เหลืออยู่ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาปริมาณการใช้ไนซินที่เหมาะสมในการยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมดิบที่อุณหภูมิ 10 °ซ
2. เพื่อศึกษาปริมาณการใช้ไนซินที่เหมาะสมในการยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมที่ผ่านความร้อนระดับพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิต่าง ๆ กัน
3. เพื่อศึกษาถึงปริมาณไนซินที่เหลืออยู่ภายหลังการให้ความร้อนระดับพาสเจอร์ไรส์
4. เพื่อศึกษาถึงผลของไนซินต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในน้ำนมดิบและน้ำนมพาสเจอร์ไรส์

บทที่ 2

ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

1. น้ำนม (Milk)

น้ำนมเป็นของเหลวที่หลั่งออกมาจากเต้านมของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม เช่น โค กระบือ แพะ แกะ กวาง อูฐ และม้า เป็นต้น เพื่อใช้เป็นอาหารและสร้างภูมิคุ้มกันสำหรับลูกอ่อน น้ำนมจึงเป็นอาหารธรรมชาติที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง น้ำนมที่มนุษย์บริโภคส่วนใหญ่จะได้จากน้ำนมโค ฉะนั้นเมื่อกล่าวถึงคำว่า "น้ำนม" จึงหมายถึง น้ำนมโค ภายหลังจากที่แม่โคคลอดลูก ในช่วง 1-5 วัน น้ำนมที่หลั่งออกมาเรียกว่า "น้ำนมน้ำเหลือง" (Colostrum) เป็นน้ำนมที่มีส่วนประกอบแตกต่างจากน้ำนมปกติ มีลักษณะข้นหนืดและความหนาแน่นสูง สีเหลืองปนแดง มีกลิ่นแรงและรสขม เมื่อถูกให้ความร้อนจะแข็งตัวได้ง่าย เนื่องจากปริมาณของแข็งสูงกว่าในน้ำนมปกติ หลังจากนั้นในช่วง 5-10 วัน จะเป็นช่วงที่มีการเปลี่ยนแปลงของส่วนประกอบจากน้ำนมน้ำเหลืองไปเป็นน้ำนมปกติ โดยน้ำนมที่รีดได้จะต้องมาจากวัวที่มีสุขภาพดี ไม่เป็นโรคที่ติดต่อมาสู่มนุษย์ เช่น วัณโรควัว เต้านมอักเสบ หรือโรคแท้งติดต่อ เป็นต้น รวมทั้งไม่มีน้ำนมน้ำเหลืองเจือปน ซึ่งน้ำนมปกตินี้จะถูกนำไปแปรรูปเพื่อใช้บริโภคในรูปน้ำนมสดและทำผลิตภัณฑ์นมต่าง ๆ ต่อไป

2. ส่วนประกอบทางเคมีของน้ำนม

น้ำนมมีส่วนประกอบที่ค่อนข้างซับซ้อน มีน้ำเป็นตัวทำละลายและประกอบด้วยหยดไขมันซึ่งกระจายตัวอยู่ในน้ำนมเป็นอิมัลชัน (Emulsion) มีโปรตีนละลายอยู่ในรูปของคอลลอยด์ (Colloid) และส่วนของน้ำตาลแลกโตส เกลือแร่ วิตามิน กรด เอนไซม์ และสารอื่นๆละลายอยู่ในรูปของสารละลายแท้ (True solution) ส่วนประกอบของน้ำนมแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1

ส่วนประกอบของน้ำนมโค

ชนิดของส่วนประกอบ	ปริมาณ (ร้อยละโดยน้ำหนัก)	
	ช่วง	เฉลี่ย
น้ำ	85.5 - 88.7	87.3
ของแข็งไม่รวมไขมัน (SNF)	7.9 - 10.0	8.8
แลกโตส	3.8 - 5.3	4.6
ไขมัน	2.4 - 5.5	3.9
โปรตีน	2.3 - 4.4	3.25
เกลือแร่	0.53 - 0.80	0.65
กรดอินทรีย์	0.13 - 0.22	0.18
อื่นๆ	-	0.14

ที่มา : สุรีย์ (2539)

2.1 น้ำ (Water)

น้ำเป็นส่วนประกอบที่มีมากที่สุดในน้ำนม โดยมีประมาณร้อยละ 85.5 - 88.7 เฉลี่ยร้อยละ 87.3 น้ำที่มีอยู่ในน้ำนมทำหน้าที่เป็นตัวกลางให้ส่วนประกอบต่างๆ ที่เป็นของแข็งละลายหรือแพร่กระจายอยู่ ทำให้จุดเยือกแข็งของน้ำนมลดต่ำลงประมาณ 0.54 °ซ นอกจากนี้ น้ำบางส่วนยังเกาะอยู่กับโปรตีนและเยื่อหุ้มเม็ดไขมัน

2.2 ไขมันนม (Milk fat,Butter fat)

ไขมันเป็นส่วนประกอบที่มีปริมาณแปรปรวนมากกว่าส่วนประกอบชนิดอื่น และยังมีความสำคัญในด้านการกำหนดราคารับซื้อน้ำนมเข้าสู่โรงงาน น้ำนมที่มีไขมันสูงจะได้ราคาสูงตามไปด้วย ส่วนด้านโภชนาการไขมันเป็นตัวพาวิตามินที่ละลายได้ในไขมัน นอกจากนี้ยังช่วยให้กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ที่ดีขึ้น ไขมันในน้ำนมมีค่าเฉลี่ยประมาณร้อยละ 3.9 โดยจะลอยอยู่ในน้ำนมเป็นหยดเล็ก ๆ มีขนาดต่าง ๆ กันระหว่าง 2.5 - 5.0 ไมครอน มีปริมาณ

1,500 - 3,000 ล้านหยด ต่อน้ำนม 1 มิลลิลิตร น้ำนมที่ถูกรีดมาใหม่ๆ เมื่อตั้งทิ้งไว้สักพักไขมันจะลอยตัวขึ้นบนผิวหน้า เมื่อกวนแรง ๆ นาน ๆ ไขมันจะรวมเป็นก้อนเนยเหลวจึงเรียกไขมันในน้ำนมว่า "มันเนย" ซึ่งมีส่วนประกอบดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2

ส่วนประกอบของไขมันนม

ชนิดของส่วนประกอบ	ปริมาณเฉลี่ย (ร้อยละโดยน้ำหนัก)
ไตรกลีเซอไรด์	97 - 98
ไดกลีเซอไรด์	0.3 - 0.6
โมโนกลีเซอไรด์	0.02 - 0.04
กรดไขมันอิสระ	0.1 - 0.4
ฟอสโฟลิปิด	0.2 - 1.0
สเทอรอล	0.2 - 0.4
สเทอรอลเอสเทอร์	น้อยมาก
ไฮโดรคาร์บอน	น้อยมาก

ที่มา : นรินทร์ (2527) ; สุรีย์ (2539)

ไขมันนมประกอบด้วยกรดไขมันหลายชนิด ทั้งชนิดอิ่มตัวและไม่อิ่มตัว โดยพบกรดไขมันชนิดอิ่มตัวมากกว่าร้อยละ 60 ของปริมาณกรดไขมันทั้งหมด ชนิดที่พบมากเป็นกรดไขมันที่มีสายคาร์บอนยาว ได้แก่ กรดไมริสติก (C_{14}) กรดปาลมิติก (C_{16}) และกรดสเตียริก (C_{18}) ส่วนกรดไขมันอิ่มตัวที่มีสายคาร์บอนสั้นพบในปริมาณน้อยมาก ได้แก่ กรดบิวทิริก (C_4) กรดคาโปอิก (C_6) กรดคาโปริก (C_8) และกรดคาปริก (C_{10}) กรดไขมันเหล่านี้เป็นกรดไขมันที่ระเหยได้และเป็นของเหลวที่อุณหภูมิห้องช่วยให้มันเนยมีกลิ่นหอม ส่วนกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวพบมากกว่าร้อยละของกรดไขมันทั้งหมด ชนิดที่พบมาก ได้แก่ กรดโอเลอิก (C_{18} : 1) และกรดลิโนเลอิก (C_{18} : 2) กรดไขมันทั้งสองชนิดนี้มีความสำคัญในอุตสาหกรรมน้ำนมมากเพราะสามารถรวมตัวกับออกซิเจนได้ง่าย ทำให้น้ำนมมีกลิ่นหืน ไขมันในน้ำนมยังสามารถดูดกลิ่นต่าง ๆ ได้ง่ายจึง

ต้องเก็บผลิตภัณฑ์นมเหล่านี้ไว้ในภาชนะที่สะอาดปราศจากกลิ่นไม่ดีต่างๆ ชนิดและปริมาณของกรดไขมันแสดงไว้ในตารางที่ 3

ตารางที่ 3

ชนิดและปริมาณของกรดไขมัน

ชนิดของกรดไขมัน	จำนวนอะตอมของคาร์บอน	พันธะคู่	ปริมาณเฉลี่ย (ร้อยละของกรดไขมันทั้งหมด)
กรดไขมันชนิดอิ่มตัว			
Butyric acid	4	-	3.3
Caproic acid	6	-	1.6
Caprylic acid	8	-	1.3
Capric acid	10	-	3.0
Lauric acid	12	-	3.1
Myristic acid	14	-	9.5
Pentadecanoic acid	15	-	0.6
Palmitic acid	16	-	26.3
Stearic acid	18	-	14.6
Arachidic acid	20	-	0.2
กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว			
Oleic acid	18	1	29.8
Linoleic acid	18	2	2.4
Linolenic acid	18	3	0.8

ที่มา : ดัดแปลงจาก สุรีย์ (2539)

นอกจากนี้ยังพบส่วนประกอบของวิตามินที่ละลายได้ในไขมัน ได้แก่ วิตามิน เอ ดี อี และเค สารประกอบที่ให้กลิ่นรส ได้แก่ อัลดีไฮด์ คีโตน และแลคโตน และรงควัตถุแคโรทีนอยด์

2.3 โปรตีน (Proteins)

ในน้ำนมโคมีโปรตีนโดยเฉลี่ยร้อยละ 3.5 แบ่งออกได้ 2 กลุ่ม คือ เคซีน (Casein) และเวย์โปรตีน (Whey protein) โปรตีนในน้ำนมยังประกอบด้วยกรดอะมิโนถึง 19 ชนิด โดยเฉพาะกรดอะมิโนที่จำเป็นสำหรับร่างกาย (Essential amino acid) มีอยู่อย่างครบถ้วน น้ำนมจึงเป็นอาหารที่เหมาะกับทุกคน

2.3.1 เคซีน (Casein)

เคซีนในน้ำนมจะอยู่ในรูปคอลลอยด์ ที่เรียกว่า เคซีนไมเซลล์ ซึ่งประกอบด้วย เคซีน แคลเซียมฟอสเฟต ซิเตรท และน้ำ และพบว่าเป็นฟอสโฟโปรตีนชนิดที่พบเฉพาะในน้ำนมเท่านั้น เคซีนในน้ำนมพบโดยเฉลี่ยร้อยละ 2.5-3.5 ขององค์ประกอบนมทั้งหมด หรือมีประมาณร้อยละ 80 ของโปรตีนในน้ำนมทั้งหมด โดยพบแอลฟา-เคซีน และเบต้า-เคซีน เป็นส่วนประกอบที่มีจำนวนมาก เคซีนช่วยให้น้ำนมมีสีขาวทึบแสง เนื่องจากการรวมกับแคลเซียมในรูปของแคลเซียมคาซีเนท

2.3.2 เวย์โปรตีน (Whey protein)

เมื่อเคซีนถูกแยกออกจากน้ำนม ส่วนที่เหลือเรียกว่า เวย์ หรือ Milk serum ในเวย์มีโปรตีนประมาณร้อยละ 20 ของโปรตีนทั้งหมด โดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มที่พบมาก คือ แอลฟา-แลกตัลบูมิน และ เบต้า-แลกโตโกลบูลิน ส่วนที่เหลือจะพบซีรัมอัลบูมิน อิมมูโนโกลบูลิน เอนไซม์และโปรตีนที่ทำหน้าที่เฉพาะในเมทาบอลิซึม เช่น แลกโตเฟอรรินปนอยู่ในเวย์โปรตีน

2.4 คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate)

คาร์โบไฮเดรตชนิดที่พบมากในน้ำนม คือ น้ำตาลแลคโตส (Lactose) ในน้ำนมปกติจะมีปริมาณแลคโตสค่อนข้างคงที่ อยู่ในช่วงร้อยละ 4.4 - 5.2 โดยค่าเฉลี่ยประมาณร้อยละ 4.9 แต่ถ้าน้ำนมมาจากวัวที่เป็นโรคเต้านมอักเสบ (Mastitis) จะมีปริมาณแลคโตสต่ำลง คือมีประมาณร้อยละ 2.7 นอกจากนี้ยังพบคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่นอีกเล็กน้อย บางส่วนอยู่ในรูปอิสระและบางส่วนจับอยู่กับโปรตีน ไขมัน และฟอสเฟต เช่น กาแลกโตซามีน (Galactosamine) ฟิวโคส

(Fucose) และอะเซทิลกลูโคซามีน (Acetylglucosamine) นอกจากนี้ยังพบน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ได้แก่ กลูโคส กาแลคโตสและแมนโนส

2.5 วิตามิน (Vitamins)

น้ำนมเป็นแหล่งของวิตามินที่ละลายได้ในไขมันและวิตามินที่ละลายได้ในน้ำ วิตามินที่ละลายได้ในไขมัน ได้แก่ วิตามินเอ ดี อี และเค วิตามินที่ละลายได้ในน้ำ ได้แก่ วิตามินซี ไทอะมิน ไรโบฟลาวิน วิตามินบี 6 และ 12 กรดแพนโธทินิก กรดนิโคตินิก ไบโอติน และกรดโฟลิก ปริมาณของวิตามินที่พบในน้ำนมแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4

ชนิดและปริมาณของวิตามินในน้ำนมวัว

ชนิดของวิตามิน	ปริมาณ (ไมโครกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร)	
	ช่วง	เฉลี่ย
วิตามินเอ	28 - 65	-
เบต้า - แคโรทีน	22 - 32	-
วิตามินดี	0.02 - 0.08	0.05
วิตามินอี	84 - 110	100
วิตามินเค	3 - 4	3.5
วิตามินซี	1500	1500
ไทอะมิน	37 - 46	40
ไรโบฟลาวิน	161 - 190	180
วิตามินบี 6	40 - 61	50
วิตามินบี 12	0.30 - 0.45	0.4
กรดแพนโธทินิก	313 - 360	350
กรดนิโคตินิก	71 - 93	80
ไบโอติน	2 - 3.6	3
กรดโฟลิก	5 - 6	5

ที่มา : ดัดแปลงจาก สุจิตรา (2536) ; สุรีย์ (2539)

2.6 แร่ธาตุ (Minerals)

น้ำนมประกอบด้วยแร่ธาตุต่างๆ ที่จำเป็นต่อร่างกายมนุษย์ แร่ธาตุที่สำคัญและมีปริมาณมาก ได้แก่ แคลเซียม แมกนีเซียม โซเดียม โพแทสเซียม ซิเตรท ฟอสฟอรัส กำมะถัน และคลอไรด์ ซึ่งแคลเซียมและฟอสฟอรัสจำเป็นสำหรับลูกอ่อนที่ใช้ในการสร้างกระดูกและฟันในระยะที่มีการเจริญเติบโตสูง ส่วนแร่ธาตุชนิดที่สำคัญแต่พบปริมาณน้อย ได้แก่ เหล็ก ไอโอดีน ทองแดง แมงกานีส สังกะสี โคบอลท์ เซเลเนียม โครเมียม โมลิบดินัม ดีบุก วานาเดียม ฟลูออรีน ซิลิคอน นิเกิล และอาร์เซนิก ชนิดและปริมาณของแร่ธาตุต่างๆ ที่พบจำนวนมากในน้ำนมโคแสดงดังในตารางที่ 5

ตารางที่ 5

ชนิดและปริมาณของเกลือแร่ต่างๆที่พบจำนวนมากในน้ำนมโค

ชนิดแร่ธาตุ	ปริมาณที่พบในน้ำนม มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิกรัม
แคลเซียม	123
แมกนีเซียม	12.1
ฟอสฟอรัส	95.1
โซเดียม	58
โพแทสเซียม	141
คลอรีน	119
กำมะถัน	30
ซิเตรท	176

ที่มา : ดัดแปลงจาก สุจิตรา (2536) ; สุรีย์ (2539)

2.7 เอนไซม์ (Enzymes)

ในน้ำนมมีเอนไซม์หลายชนิด ได้แก่ ออกซิเดส (Oxidase) คาตาเลส (Catalase) เพอร์ออกซิเดส (Peroxidase) ฟอสฟาเทส (Phosphatase) และไลเปส (Lipase) เป็นต้น

ฟอสฟาเทส เป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมนม เนื่องจากเอนไซม์ชนิดนี้จะถูกทำลายจนหมดที่อุณหภูมิพาสเจอร์ไรส์ ดังนั้นจึงใช้เป็นดัชนีบ่งชี้ประสิทธิภาพของการพาสเจอร์ไรส์ได้ ซึ่งถ้ามีน้ำนมดิบปนเปื้อนในน้ำนมก็สามารถตรวจพบ ถึงแม้ว่าจะมีการปนเปื้อนเพียงเล็กน้อย

ไลเปส เอนไซม์ชนิดนี้เป็นต้นเหตุที่ทำให้น้ำนมมีกลิ่นหืนเพราะสามารถย่อยโมเลกุลของไขมันให้กลายเป็นโมเลกุลเล็กๆ เพราะฉะนั้นถ้าต้องการเก็บน้ำนมให้นานขึ้นจึงต้องทำลายเอนไซม์ไลเปสด้วยความร้อนให้หมด

คาตาเลส เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการสลายตัวของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ให้เป็นน้ำและออกซินเจน (Inactive oxygen) เอนไซม์ชนิดนี้พบปริมาณมากในน้ำนมน้ำเหลือง น้ำนมที่มีจำนวนแบคทีเรียสูงและน้ำนมจากวัวที่เป็นโรคเต้านมอักเสบ จึงถูกใช้เป็นดัชนีบ่งชี้คุณภาพของน้ำนมและตัวบ่งชี้ของการผ่านการให้ความร้อนของน้ำนม โดยเอนไซม์นี้จะถูกทำลายลงได้เมื่อผ่านขบวนการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 - 70 °ซ นาน 30 นาที

2.8 ก๊าซ (Gases)

ในน้ำนมมีก๊าซปนอยู่ทั้งคาร์บอนไดออกไซด์ ออกซิเจนและไนโตรเจน ปริมาณของก๊าซที่มีอยู่ในน้ำนมขึ้นอยู่กับการที่น้ำนมสัมผัสกับอากาศมากหรือน้อยในขณะรีดนม น้ำนมที่รีดได้โดยไม่สัมผัสกับอากาศจะมีปริมาตร (ร้อยละ) ออกซิเจนต่ำและคาร์บอนไดออกไซด์สูง ซึ่งปริมาณออกซิเจนจะมีผลต่อกลิ่นรสของน้ำนม

3. คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำนม

คุณสมบัติทางกายภาพมีความสำคัญมากเพราะสามารถใช้ตรวจสอบการปลอมปนของสารต่างๆลงในน้ำนมได้ และใช้ประเมินถึงการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและฟิสิกส์ของน้ำนม ซึ่งคุณสมบัติต่างๆ มีดังนี้

3.1 สี

น้ำนมมีสีขาวทึบแสง เนื่องจากการสะท้อนแสงของอนุภาคคอลลอยด์ แคลเซียมคาซีเนทและแคลเซียมฟอสเฟต และแสงสะท้อนจากหยดไขมันในน้ำนมยังมีรงควัตถุแคโรทีนและ

ไรโบฟลาวินอยู่สูงจึงเห็นน้ำนมมีสีเหลืองอ่อนๆ ซึ่งสามารถทำให้น้ำนมมีสีขาวขึ้นได้ด้วยการนำน้ำนมมาผ่านกระบวนการโฮโมจีไนส์ จะช่วยให้น้ำนมเกิดการสะท้อนแสงได้มากขึ้น

3.2 กลิ่น

น้ำนมที่ถูกรีดออกมาใหม่ๆ จะมีกลิ่นหอมอ่อนๆ และคาวเล็กน้อย กลิ่นของน้ำนมมักมีกลิ่นคล้ายกับอาหารหรือหญ้าที่โคกินเข้าไป สารประกอบที่ทำให้เกิดกลิ่นในน้ำนมเท่าที่พบเป็นสารประกอบคาร์บอนิล (Carbonyl) เช่น อะซีโตน (Acetone) สารประกอบอัลดีไฮด์ (Aldehyde) เช่น อะเซทหัลดีไฮด์ (Acetaldehyde) และฟอร์มัลดีไฮด์ (Formaldehyde)

3.3 รสชาติ

ในน้ำนมมีน้ำตาลแลคโตส ซึ่งให้รสหวานน้อยกว่าน้ำตาลชนิดอื่น ทำให้น้ำนมมีรสหวานเล็กน้อย และเมื่อดื่มน้ำนมจะรู้สึกถึงความมัน (Rich flavor) ของน้ำนม

3.4 ความเป็นกรด (Acidity)

น้ำนมมีฤทธิ์เป็นกรดเล็กน้อย มี pH อยู่ระหว่าง 6.5 - 6.7 เฉลี่ย 6.6 เมื่อให้ความร้อนน้ำนมมีความเป็นกรดน้อยลง มีความเป็นกรดร้อยละ 0.12 - 0.18 ของกรดแลคติก ถ้าน้ำนมมีความเป็นกรดสูงจะไม่คงทนต่อการให้ความร้อนโปรตีนจะตกตะกอนและจับตัวเป็นก้อน ไม่เหมาะที่จะนำมาแปรรูปผลิตภัณฑ์นม

3.5 ความถ่วงจำเพาะ (Specific gravity)

ความถ่วงจำเพาะของน้ำนมโคแปรผันระหว่าง 1.027 - 1.035 โดยเฉลี่ย แล้วจะมีค่า 1.032 (ที่ 20 °ซ) ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบที่มีอยู่ในน้ำนม ไขมันในน้ำนมมีผลต่อความถ่วงจำเพาะ หากมีปริมาณไขมันในน้ำนมสูงค่าความถ่วงจำเพาะของน้ำนมจะลดลง แต่ทั่วไปแล้วการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของไขมันจะมีผลต่อธาตุน้ำนมไม่รวมมันเนย (Solid not fat) ไปในทิศทางเดียวกัน เมื่อไขมันในน้ำนมเพิ่มขึ้น ธาตุน้ำนมไม่รวมมันเนยก็มักจะเพิ่มขึ้นตามไปด้วย ทำให้ค่าความถ่วงจำเพาะของน้ำนมไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก และถ้ามีการเติมน้ำลงไปในน้ำนมความถ่วงจำเพาะจะมีค่าน้อยลง

3.6 จุดเยือกแข็ง (Freezing point)

เนื่องจากน้ำนมมีสารประกอบต่างๆ ละลายอยู่มาก จุดเยือกแข็งจึงต่ำกว่าน้ำ คือ แข็งตัวที่ -0.55 °ซ ซึ่งมีประโยชน์ในการทดสอบจุดเยือกแข็งของน้ำนม สามารถใช้ทดสอบการเติมน้ำลงในน้ำนมได้

3.7 จุดเดือด (Boiling point)

น้ำนมมีจุดเดือดประมาณ 101.7 °ซ เนื่องจากในน้ำนมมีของแข็งอยู่หลายชนิดละลายอยู่ทำให้จุดเดือดของน้ำนมสูงกว่าน้ำบริสุทธิ์

4. จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับน้ำนมดิบและน้ำนมพาสเจอร์ไรส์

จุลินทรีย์ที่เป็นตัวการสำคัญที่ทำให้น้ำนมเกิดการเปลี่ยนแปลงและเสื่อมเสียได้ ก่อให้เกิดความสูญเสียทางด้านเศรษฐกิจของผู้ผลิตน้ำนม ผู้ดำเนินการแปรรูป ผู้แทนจำหน่ายและผู้บริโภค นอกจากนี้แล้วจุลินทรีย์บางชนิดที่มีอยู่ในน้ำนมยังก่อให้เกิดความเจ็บป่วยได้ ทั้งจากที่ผลิตสารพิษและโดยสาเหตุจากจุลินทรีย์โดยตรง ปริมาณและชนิดของจุลินทรีย์รวมทั้งสิ่งที่จุลินทรีย์ผลิตออกมาในน้ำนมยังเป็นสิ่งสำคัญที่ใช้ประเมินคุณภาพของน้ำนมอีกประการหนึ่ง

ในด้านการผลิตน้ำนมให้มีคุณภาพดีเป็นที่ยอมรับ น้ำนมดิบที่ใช้จะต้องมีคุณภาพดีด้วย จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญกับน้ำนมและมักก่อให้เกิดปัญหาส่วนใหญ่จะเป็นกลุ่มของแบคทีเรีย ชนิดของแบคทีเรียในน้ำนมแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้ คือ

4.1 ชนิดของแบคทีเรียที่แบ่งตามการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในน้ำนม (Biochemical types)

4.1.1 กลุ่มที่สร้างกรด (Acid producers)

เป็นกลุ่มของจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการใช้น้ำตาลแลคโตสที่มีอยู่ในน้ำนม โดยผลิตกรดแลกติกทำให้น้ำนมมีรสเปรี้ยวและเกิดการตกตะกอนของโปรตีน ซึ่งจะพิจารณาว่าน้ำนมนั้นเสียไม่ควรที่จะนำมาใช้บริโภคต่อไปแบคทีเรียในกลุ่มนี้ ได้แก่

Streptococcus lactis, S. cremoris, Lactobacillus plantarum, L. casei, L. acidophilus, L. bulgaricus, Leuconostoc citrovorum, Micrococcus spp., Mycobacterium spp. และ Coliform bacteria

การให้ความร้อนกับน้ำนมโดยการพาสเจอร์ไรส์จะพบแบคทีเรียที่ทนความร้อนและแลคติกแอซิดแบคทีเรียบางชนิดเหลืออยู่ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้น้ำนมเสื่อมเสีย แบคทีเรียที่พบ ได้แก่ *Streptococcus thermophilus, Lactobacillus spp., Bacillus spp.* และ *Micrococcus spp.* เป็นต้น (สุจิตรา, 2536)

4.1.2 กลุ่มที่สร้างก๊าซ (Gas producers)

แบคทีเรียกลุ่มนี้หลังจากใช้น้ำตาลแลคโตส เพื่อผลิตกรดแล้วยังสร้างก๊าซในน้ำนมขึ้นพร้อมกัน ก๊าซไฮโดรเจนและคาร์บอนไดออกไซด์ถูกสร้างจากแบคทีเรียในกลุ่ม Coliform bacteria และ *Clostridium butyricum* ส่วนยีสต์พวก *Candida pseudotropicalis* และ *Torulopsis spaerica* กับ แลคติกแอซิดแบคทีเรีย ชนิด Heterofermentative จะให้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เท่านั้น ก๊าซที่ถูกผลิตขึ้นจะทำให้น้ำนมเป็นฟอง และดันตะกอนในน้ำนมแตกกระจาย (สุจิตรา, 2536)

4.1.3 กลุ่มที่สร้างเมือก (Ropiness)

เกิดจากการสร้างแคปซูลของแบคทีเรียในขณะเจริญที่ ซึ่งเป็นสารพวกมิวซิน (Mucin) และกาแลกแทน (Galactans) ทำให้น้ำนมมีความหนืดสูง เกิดเมือกหรือยางเหนียวๆ เป็นเส้นสายยาวๆ การเกิดเมือกเกิดได้ทั้งบริเวณผิวหน้าและเกิดได้ทั่วทั้งหมด แบคทีเรียในกลุ่มนี้ได้แก่ *Alcaligenes spp., Micrococcus spp., Aerobacter aerogenes, Enterobacter spp., E.coli, S. lactis, L. casei, L. bulgaricus* เป็นต้น อย่างไรก็ตามการให้ความร้อนในระดับพาสเจอร์ไรส์จะช่วยลดการเสื่อมเสียในน้ำนม เนื่องจากอุณหภูมิและเวลาของการพาสเจอร์ไรส์จะสามารถทำลายแบคทีเรียที่สร้างเมือกได้ (พวงพร, 2537)

4.1.4 กลุ่มย่อยสลายโปรตีน (Proteolytic)

แบคทีเรียกลุ่มนี้จะสร้างเอนไซม์เพื่อย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมและทำให้เคซีนตกตะกอน ในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ เมื่อ *Micrococcus spp.* และ *Streptococcus faecalis* เจริญขึ้นจะย่อยสลายโปรตีนในน้ำนมเปลี่ยนสีจากขุ่นเป็นใส ซึ่งจะเกิดเมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นกรด นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำนมสามารถเสื่อมเสียได้จาก *Alcaligenes spp., Bacillus spp., Clostridium spp., Flavobacterium spp., Pseudomonas spp., Proteus spp.*, และ *Serratia spp.* ในสภาวะที่เป็นด่าง และยังทำให้น้ำนมที่ถูกเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำถูกย่อยสลายโปรตีนในน้ำนม ส่วนในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์พบ *Bacillus cereus* เป็นตัวการสำคัญที่ทำให้น้ำนมเสื่อมเสีย (พวงพร, 2537 ; สุจิตรา, 2536 ; Robinson, 1981 a,b) อย่างไรก็ตามการเสื่อมเสียของน้ำนมพาสเจอร์ไรส์เนื่องมาจาก *Bacillus* จะพบเมื่อเก็บน้ำนมไว้ในตู้เย็นนานกว่า 2 สัปดาห์ (Thomas, 1974)

4.1.5 กลุ่มย่อยสลายไขมัน (Lipolytic)

แบคทีเรียกลุ่มนี้จะสร้างเอนไซม์ไลเปส เพื่อย่อยสลายไขมันในน้ำนมให้เป็นกลีเซอรอลและกรดไขมันอิสระ ทำให้น้ำนมเกิดกลิ่นเหม็นหืนขึ้นจากกรดบิวทิริก และกรดคาโปรอิค แบคทีเรีย ได้แก่ *Pseudomonas spp.* และ *Achromobacter spp.* รวมทั้งยีสต์และราบางชนิด ซึ่งมีแหล่งมาจากดิน (สุจิตรา, 2536) นอกจากนี้การเหม็นหืนของไขมันหรือมันเนยอาจเกิดจาก กรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวทำปฏิกิริยากับออกซิเจนในอากาศโดยตรง การเหม็นหืนแบบนี้มักเกิดได้ง่ายและเร็ว เมื่อตั้งน้ำนมทิ้งไว้ชั่วระยะเวลาหนึ่ง (พวงพร, 2537)

4.1.6 แบคทีเรียที่ทำให้น้ำนมมีกลิ่นรส และสีผิดปกติ (Flavor and Color changes)

เมื่อแบคทีเรียที่มีอยู่ในน้ำนมเจริญขึ้น จะผลิตสารเมตาบอไลท์ขึ้น สารเหล่านี้มีผลทำให้เกิดลักษณะที่ผิดปกติต่างๆ เช่น กลิ่นคาวปลา กลิ่นข้าวมอลท์ เป็นต้น สีที่ผิดปกติ เช่น สีน้ำเงิน สีเทา สีเหลือง และสีแดง ซึ่งแบคทีเรียที่พบจะอยู่ในกลุ่มของ *Streptococcus spp., Pseudomonas spp.* และ *Serratia spp.* (สุจิตรา, 2536)

4.2 ชนิดของแบคทีเรียแบ่งตามอุณหภูมิในการเจริญเติบโต (Temperature characteristic types)

4.2.1 แบคทีเรียไซโครไฟล์ หรือไซโครโทรป (Psychrophiles or Psychrotrophs)

แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถเจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิต่ำ Cousin (1982) ได้ให้ความหมายของแบคทีเรียไซโครโทรปว่าเป็นกลุ่มของแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 7 °ซ หรือต่ำกว่า โดยไม่คำนึงถึงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต ส่วนแบคทีเรียไซโครไฟล์นั้นเป็นแบคทีเรียที่เจริญได้ดีที่ 15 °ซ แต่เจริญได้ที่อุณหภูมิไม่เกิน 20 °ซ และเจริญได้ที่ 0 °ซ หรือต่ำกว่า ซึ่งแบคทีเรียส่วนใหญ่ในน้ำนมเป็นกลุ่มของไซโครโทรป แบคทีเรียในกลุ่มนี้จะก่อให้เกิดปัญหาการเสื่อมเสียของน้ำนมที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิตู้เย็นเป็นระยะเวลานาน เนื่องจากมีการเพิ่มจำนวนแบคทีเรียในกลุ่มไซโครโทรปมากขึ้น

แบคทีเรียไซโครโทรปที่พบ ได้แก่ *Acinetobacter spp., Aeromonas spp., Alcaligenes spp., Arthrobacter spp., Bacillus spp., Chromobacterium spp., Citrobacter spp., Clostridium spp., Corynebacterium spp., Enterobacter spp., Escherichia spp., Flavobacterium spp., Klebsiella spp., Lactobacillus spp., Microbacterium spp., Micrococcus spp., Pseudomonas spp., Sarcina spp., Serratia spp., Staphylococcus spp.* และ *Streptococcus spp.* (Cousin, 1982)

Washam และคณะ (1977)ได้แยกแบคทีเรียออกจากน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่ระดับอุณหภูมิ 71.7 °ซ นาน 16 วินาที และสามารถเจริญได้ที่ 7.2 °ซ ซึ่งพบว่าเป็นแบคทีเรียแกรมบวกและเรียกแบคทีเรียกลุ่มนี้ว่า "เทอร์โมดิวริคไซโครโทรป" (Thermoduric psychrotrophs)

Patel และ Blankenagel (1972) ได้ตรวจสอบน้ำนมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์ไม่พบแบคทีเรียพวกไซโครโทรปเลย แต่เมื่อเก็บน้ำนมไว้ที่อุณหภูมิ 7 - 7.2 °ซ นาน 7 - 10 วัน พบว่ามีไซโครโทรป เจริญขึ้น น้อยกว่า 1 - 1.0 x 10^5 โคโลนีต่อมิลลิลิตร และพบว่าแบคทีเรียไซโครโทรปที่สร้างสปอร์เป็นตัวการสำคัญที่ทำให้น้ำนมพาสเจอร์ไรส์แบบที่ใช้อุณหภูมิสูงและระยะเวลาสั้น (HTST) ซึ่งเก็บรักษาไว้เกิดการเสื่อมเสียได้

Shehata และ Collins (1972) พบว่าแบคทีเรียไซโครโทรปที่สร้างสปอร์เป็นพวกมีโซไฟล์ที่สร้างสปอร์และสามารถปรับตัวให้มาเจริญที่อุณหภูมิต่ำๆ ได้ เนื่องจากอุณหภูมิของการพาสเจอร์ไรส์แบบที่ใช้อุณหภูมิสูงระยะเวลาสั้นไปกระตุ้นการงอกของสปอร์ ทำให้น้ำนมอยู่ในสภาวะที่เหมาะสมทั้งการงอกของสปอร์และเซลล์ที่กำลังเจริญ จุลินทรีย์ในกลุ่มนี้คือ *Bacillus* ซึ่งพบได้เมื่อเก็บรักษาน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิของตู้เย็นนานกว่า 7 - 10 วัน

4.2.2 แบคทีเรียมีโซไฟล์ (Mesophiles)

เป็นกลุ่มของแบคทีเรียที่ชอบเจริญที่อุณหภูมิ 30 - 32 °ซ และสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิระหว่าง 20-40 °ซ มีอุณหภูมิเหมาะสมใกล้เคียงกับอุณหภูมิร่างกาย คือ 37 °ซ แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถทนต่ออุณหภูมิสูงได้แต่ไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิสูง และพบมากในน้ำนมดิบที่มีการสุขาภิบาลไม่ดีพอ ทำให้คุณภาพของน้ำนมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์แล้วไม่ได้มาตรฐานที่กำหนดไว้ แบคทีเรียกลุ่มนี้ ได้แก่ *Acinetobacter spp., Aerobacter spp., Alcaigenes spp., Arthrobacter spp., Bacillus spp., Corynebacterium spp., Enterobacter spp., Escherichia spp., Flavobacterium spp., Klebsiella spp., Microbacterium spp., Micrococcus spp., Pseudomonas spp., Serratia spp., Staphylococcus spp., Streptococcus spp.,* ซึ่งเป็นพวก aerobic mesophilic microorganism นอกจากนี้ยังพบแบคทีเรียบางกลุ่ม ได้แก่ *Clostridium spp., Lactobacillus spp.* และแลคติกแอซิดแบคทีเรียอื่นๆ รวมทั้งเชื้อโรคบางชนิด (Robinson, 1981 a,b)

4.2.3 แบคทีเรียเทอร์โมดิวริค (Thermodurics)

แบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญทั้งในน้ำนมดิบ และน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ ถ้าพบว่ามีอยู่ในน้ำนมดิบมาก ก็จะส่งผลต่อน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ในที่สุดเพราะแบคทีเรียกลุ่มนี้จะมีชีวิตรอดอยู่ได้ที่อุณหภูมิพาสเจอร์ไรส์ คือ ที่ระดับอุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 63 °ซ และคงอยู่ที่อุณหภูมินี้ไม่น้อยกว่า 30 นาที หรือที่อุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 72 °ซ เป็นเวลาไม่น้อยกว่า 16 วินาที แต่จะไม่เจริญที่อุณหภูมิดังกล่าว (Robinson, 1981 a,b)

แบคทีเรียกลุ่มเทอร์โมดิวริคที่พบ ได้แก่ *Alcaligenes spp., Arthrobacter spp., Bacillus spp., Clostridium spp., Corynebacterium spp.,*

Lactobacillus spp., Microbacterium spp., Micrococcus spp., Sarcina spp. และ *Streptococcus spp.* (Seiler และคณะ, 1984)

Seiler และคณะ (1984) ได้ทดลองนำน้ำนมดิบมาพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65-85 °ซ นาน 40 วินาที แบคทีเรียที่พบ ได้แก่ *Micrococcus spp., Bacillus spp., Acinetobacter spp.* และ *Streptococcus spp.* ส่วนในน้ำนมดิบที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ระดับอุณหภูมิ 63, 65, 68 และ 70 °ซ แล้วเก็บน้ำนมไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10 °ซ แบคทีเรียที่พบ คือ *Pseudomonas spp.* และ Gram necgative rod อื่นๆ สำหรับการฆ่าเชื้อที่ระดับอุณหภูมิ 74 และ 77 °ซ นาน 40 วินาที จะพบแบคทีเรียในสกุล *Microbacterium spp., Bacillus spp.* และ *Acinetobacter spp.* มากกว่าสกุลอื่น ในขณะที่การฆ่าเชื้อโดยใช้อุณหภูมิ 85 °ซ นาน 40 วินาทีจะพบแต่แบคทีเรียสกุล *Bacillus spp.* เท่านั้น

Robinson (1981a) พบว่า การพาสเจอร์ไรส์แบบที่ใช้อุณหภูมิสูงและเวลาสั้น (HTST) มีประสิทธิภาพในการลดแบคทีเรียเทอร์โมดิวริคได้ต่ำกว่าการพาสเจอร์ไรส์ที่ใช้อุณหภูมิต่ำและเวลานาน (LTLT)

4.2.4 แบคทีเรียเทอร์โมไฟล์ (Thermophiles)

แบคทีเรียกลุ่มนี้เจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 40 - 60 °ซ และที่อุณหภูมิพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิสูงถึง 70 °ซ ขึ้นไป แบคทีเรียกลุ่มนี้เกือบทั้งหมดไม่สามารถเจริญได้ และมีหลายชนิดที่สามารถเจริญได้ที่ 37 °ซ หรือต่ำกว่า แบคทีเรียที่พบส่วนใหญ่ เป็นกลุ่ม *Bacillus spp.* ซึ่งสร้างสปอร์และทนต่อความร้อน สำหรับกลุ่มที่ไม่สร้างสปอร์และตรวจพบ คือ *Lactobacillus thermophilus, L. bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* (พวงพร ,2537) โดยทั่วไปพบว่าในน้ำนมดิบมีแบคทีเรียกลุ่มนี้อยู่น้อย แต่ก็ยังเพียงพอที่จะทำให้เกิดปัญหากับน้ำนม พาสเจอร์ไรส์ได้ ถ้าทำให้อุณหภูมิของน้ำนมอยู่ระหว่าง 50 - 70 °ซ เป็นเวลานาน การนำเอาภาชนะที่ใช้ในการพาสเจอร์ไรส์นมกลับมาใช้อีกครั้งหนึ่งโดยไม่ทำความสะอาดให้เพียงพอ หรือในการพาสเจอร์ไรส์แบบ LTLT ซึ่งใช้เวลานาน จะทำให้เกิดการเสื่อมเสียของน้ำนมอันเนื่องมาจากแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้ (Robinson ,1981 a,b)

4.3 ชนิดของแบคทีเรียแบ่งตามกลุ่มที่ทำให้เกิดโรค (Pathogenic types)

แบ่งออกได้ 2 กลุ่ม คือ

4.3.1 เชื้อโรคจากวัวถ่ายทอดสู่น้ำนมและติดต่อกับมนุษย์

- เชื้อ *Mycobacterium tuberculosis* ซึ่งทำให้เกิดวัณโรควัว (Tuberculosis)
- เชื้อ *Brucella abortus* ซึ่งทำให้เกิดโรคแท้งติดต่อ (Brucellosis)
- เชื้อ *Streptococcus agalactiae* ซึ่งทำให้เกิดโรคเต้านมอักเสบ (Mastitis)
- เชื้อ *Coxiella burnetii* ซึ่งทำให้เกิดโรคคิว-ฟีเวอร์ (Q-fever)
- เชื้อ *Streptococcus scarlatinase* ซึ่งทำให้เกิดไข้ดำแดง

4.3.2 เชื้อโรคจากมนุษย์ถ่ายทอดลงในน้ำนม

- เชื้อ *Salmonella typhosa* ซึ่งทำให้เกิดโรคไทฟอยด์ (Typhoid fever)
- เชื้อ *Corynebacterium diphtheriae* ซึ่งทำให้เกิดโรคคอตีบ (diphtheria)

โดยแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคที่มีอยู่ในน้ำนมจะถูกทำลายได้โดยการฆ่าเชื้อแบบพาสเจอร์ไรส์ที่ถูกต้อง ซึ่งช่วยให้การบริโภคน้ำนมปลอดภัยแก่ผู้บริโภค (สุจิตรา , 2536)

5. การฆ่าเชื้อในน้ำนมโดยวิธีพาสเจอร์ไรส์

5.1 การพาสเจอร์ไรส์ (Pasteurization)

เป็นวิธีการใช้ความร้อนเพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำนมวิธีหนึ่งที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวาง โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคซึ่งปนเปื้อนมากับน้ำนมดิบ และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ที่มีอยู่ในน้ำนม โดยเฉพาะเอนไซม์ไลเปส (Lipase) ซึ่งทำให้น้ำนมเหม็นหืน

เมื่อน้ำนมได้รับความร้อนนอกจากจะฆ่าเชื้อโรคที่ปนเปื้อนที่ติดมากับน้ำนมดิบแล้ว ยังส่งผลให้จำนวนจุลินทรีย์ในน้ำนมถูกทำลายลงไปมากกว่าร้อยละ 90 ซึ่งช่วยยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมให้นานออกไป อย่างไรก็ตามน้ำนมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรส์แล้ว ก็ยังจะต้องเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำ การฆ่าเชื้อแบบพาสเจอร์ไรส์แบ่งออกได้ 2 วิธีคือ

5.1.1 การพาสเจอร์ไรส์ที่ใช้อุณหภูมิต่ำและเวลานาน

(Low -Temperature Long Time process, LTLT)

การพาสเจอร์ไรส์โดยวิธีนี้จะนำน้ำนมมาผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 62.8 - 65.6 °ซ แล้วคงไว้ที่อุณหภูมินี้เป็นเวลา 30 นาที การใช้อุณหภูมิที่สูงกว่า 65.6 °ซ ไม่เป็นที่นิยม เพราะจะทำให้กลิ่นความสดของน้ำนมหายไป เกิดกลิ่นนมต้ม (Cooked flavor) ขึ้นแทน และปริมาตรของชั้นครีมลดลงจนไม่สามารถแยกครีมออกจากน้ำนมได้เลย ภายหลังจากให้ความร้อนกับน้ำนมแล้วจะต้องทำให้น้ำนมเย็นลงที่อุณหภูมิต่ำกว่า 5 °ซ และเก็บรักษาน้ำนมไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10 °ซ

5.1.2การพาสเจอร์ไรส์ที่ใช้อุณหภูมิสูงและเวลาสั้น

(High - Temperature Short Time, HTST)

เป็นระบบพาสเจอร์ไรส์ที่ใช้อุณหภูมิสูง ระหว่าง 71.7 - 74.4 °ซ และคงไว้ที่อุณหภูมินี้ไม่น้อยกว่า 15 วินาที ซึ่งใช้เวลาสั้นกว่าระบบ LTLT การพาสเจอร์ไรส์โดยระบบ HTST จะทำให้น้ำนมร้อนขึ้นและเย็นลงอย่างรวดเร็ว จึงสามารถผลิตน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ได้ปริมาณมากๆ โดยการให้ความร้อนและทำให้น้ำนมเย็นลงผ่านแผ่นแลกเปลี่ยนความร้อน (Plate heat exchanger) อุณหภูมิและเวลาของการพาสเจอร์ไรส์ที่เหมาะสมแสดงดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6

อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการพาสเจอร์ไรส์น้ำนม

อุณหภูมิ		เวลา
°ฟ	°ซ	
145	62.8	30 นาที
161	72.7	15 วินาที
191	88.1	1 วินาที
194	90.0	0.5 วินาที
201	93.9	0.1 วินาที
204	95.6	0.05 วินาที
212	100.0	0.01 วินาที

ที่มา : Jone และ Harper (1981)

5.2 การทำให้น้ำนมเย็นภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ (Cooling milk after pasteurization)

เพื่อป้องกันการขยายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่ยังเหลืออยู่ในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ น้ำนมจะถูกทำให้เย็นลงที่ 5 °ซ เมื่อครบกำหนดเวลาของการให้ความร้อนและควรเก็บรักษาน้ำนมไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10 °ซ จะช่วยเก็บรักษาน้ำนมได้นานออกไป

5.3 อายุการเก็บรักษาน้ำนมพาสเจอร์ไรส์

น้ำนมพาสเจอร์ไรส์มีอายุในการจำหน่ายที่ค่อนข้างสั้น เนื่องจากจุลินทรีย์ที่หลงเหลืออยู่ในน้ำนม ในสหรัฐอเมริกาพบว่า น้ำนมพาสเจอร์ไรส์จะมีคุณภาพเหมือนเดิมประมาณ 18 วัน หรือนานกว่านั้น ส่วนในยุโรปที่มีอากาศค่อนข้างเย็นน้ำนมพาสเจอร์ไรส์จะมีอายุการเก็บประมาณ 10 - 14 วัน ในบางประเทศที่มีอากาศร้อนคุณภาพของการเก็บสั้นประมาณ 3 - 5 วัน แต่ถ้าเก็บน้ำนมในสภาวะแวดล้อมที่ดีมากโดยควบคุมอุณหภูมิของการเก็บรักษาอาจเก็บไว้ได้ถึง 21-28 วัน ส่วนน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่ถูกเก็บในอุณหภูมิตู้เย็นเก็บไว้ได้ประมาณ 3 - 10 วัน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิของตู้เย็นที่ใช้ในการเก็บและจำนวนจุลินทรีย์ที่มีอยู่หลังจากการพาสเจอร์ไรส์ (พวงพร, 2537)

ประกาย (2526) รายงานว่า ถ้าน้ำนมไม่มีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ การเสื่อมคุณภาพของน้ำนมเกิดได้เนื่องจากเชื้อที่ชอบความเย็นแต่ทนความร้อนจากการพาสเจอร์ไรส์ การเพิ่มขึ้นของเชื้อเหล่านี้จึงเป็นตัวกำหนดคุณภาพของการเก็บรักษา นอกจากนี้การมีเชื้อจุลินทรีย์เจริญขึ้นมาอีกภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ก็เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้น้ำนมที่แช่เย็นไว้เสียก่อนกำหนด สาเหตุอีกประการหนึ่งที่สำคัญ คือ เมื่ออุณหภูมิในระหว่างการขนส่งและจำหน่ายสูงขึ้น จะมีแบคทีเรียที่เจริญได้ที่อุณหภูมิปานกลางเจริญขึ้น ทำให้น้ำนมมีอายุการจำหน่ายสั้นลงเหลือเพียง 2 - 3 วัน

5.4 การประเมินคุณภาพของน้ำนมพาสเจอร์ไรส์

การจำหน่ายผลิตภัณฑ์น้ำนมพาสเจอร์ไรส์ในท้องตลาด สิ่งที่ผู้ผลิตต้องคำนึงถึงก็คือ การกำหนดวันหมดอายุของน้ำนม เพื่อความปลอดภัยสำหรับผู้บริโภคในระหว่างที่มีการขนส่งอุณหภูมิของน้ำนมอาจเปลี่ยนแปลงและทำให้จุลินทรีย์สามารถจะเจริญขึ้นมาอีกครั้ง ทำให้น้ำนมเสียได้ในระหว่างการขนส่งและการจำหน่าย ซึ่งผู้ผลิตไม่อาจทราบถึงกำหนดที่แน่นอนได้ จึงต้องใช้

การทดสอบที่มีการควบคุมสภาวะจำลองเพื่อใช้ในการตัดสินใจความถูกต้องของวันหมดอายุน้ำนม ซึ่งใช้วิธีทดสอบดังนี้

5.4.1 การทดสอบด้วยการชิม

ในการทดสอบเพื่อให้ทราบว่าน้ำนมจะมีอายุการจำหน่ายได้นานเพียงไร หรือจะเลือกวันหมดอายุที่เหมาะสม โดยการนำน้ำนมนั้นมาบ่ม ในอุณหภูมิที่สอดคล้องกับอุณหภูมิของสินค้าโดยเฉลี่ย เมื่อถึงวันกำหนดการจำหน่ายที่ระบุไว้ก็จะนำน้ำนมมาตรวจ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่นและรส จากการทดสอบนี้จะแสดงให้เห็นอายุการเก็บรักษาในท้องตลาดที่ชัดเจน และเพื่อให้แน่ใจว่าวันหมดอายุได้รับการเลือกอย่างถูกต้องแล้ว สิ่งสำคัญคือจะต้องรักษาอุณหภูมิในการเก็บให้คงที่เหมาะสม

5.4.2 การทดสอบด้วยการนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำนม

การประเมินการเสียของน้ำนมพาสเจอร์ไรส์โดยวิธีนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำนมเป็นวิธีการหนึ่งที่ช่วยยืนยันการหมดอายุของน้ำนม บางครั้งการทดสอบด้วยการชิมอาจให้ข้อมูลที่ไม่เพียงพอในการตัดสินใจ การตรวจนับจำนวนแบคทีเรียร่วมกับการทดสอบชิมจะช่วยประเมินการเสียของน้ำนมได้อย่างถูกต้อง อายุการจำหน่ายน้ำนมถูกกำหนดโดยจำนวนจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำนม ระหว่างที่มีการจำหน่ายน้ำนมแบคทีเรียในน้ำนมไม่ควรสูงเกินกว่า 50,000 โคโลนี ต่อ มิลลิลิตร (ประกาย ,2526)

5.5 คุณภาพของน้ำนมดิบสำหรับผลิตน้ำนมพาสเจอร์ไรส์

การตรวจสอบคุณภาพของน้ำนมดิบก่อนนำมาผลิตน้ำนมพาสเจอร์ไรส์เป็นสิ่งสำคัญมาก เพื่อให้ทราบถึงความเหมาะสมในการจะนำน้ำนมดิบมาแปรรูปผลิตภัณฑ์ และยังใช้เป็นพื้นฐานในการกำหนดราคารับซื้อน้ำนมดิบ การตรวจสอบคุณภาพของน้ำนมดิบที่ต้องการทราบผลอย่างรวดเร็ว (Platform test) ตรวจสอบได้ดังนี้

1. ตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส (Organoleptic test)

1.1 สี น้ำนมปกติมีสีขาวปนเหลือง สีของน้ำนมที่ผิดปกติ เช่น เหลืองเข้ม ค่อนข้างแดง น้ำตาลหรือแดง สีน้ำเงิน เป็นต้น

1.2 กลิ่น น้ำนมปกติมีกลิ่นหอมอ่อน ๆ และกลิ่นคาวเล็กน้อย กลิ่นที่ผิดปกติ เช่น กลิ่นหืน กลิ่นนมบูด กลิ่นเหม็นต่าง ๆ เป็นต้น

1.3 รส น้ำนมปกติมีรสหวานเล็กน้อย รสที่ผิดปกติ เช่น รสขม เค็มและความหวานลดลง เป็นต้น

1.4 ลักษณะปรากฏ น้ำนมควรเป็นเนื้อเดียวกัน ไม่เป็นลิ่มและตกตะกอน ไม่ควรมีฝุ่น ผงหรือสิ่งอื่นๆ ที่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า (ทองยศ , 2527)

2. การตรวจสอบความเป็นกรด (Acidity test)

น้ำนมปกติควรมีความเป็นกรดอยู่ระหว่างร้อยละ 0.12-0.18 (ในรูปของกรดแลคติก) มี pH 6.5-6.7 ถ้า pH ของน้ำนมต่ำกว่า 6.4 แสดงว่ามีน้ำนมน้ำเหลืองปนอยู่ และถ้า pH สูงกว่า 6.8 แสดงว่าเป็นน้ำนมที่ได้จากวัวที่เป็นเต้านมอักเสบ (ทองยศ , 2527)

3. การทดสอบกับแอลกอฮอล์ร้อยละ 68 (Alcohol test)

น้ำนมปกติจะไม่ตกตะกอนเมื่อทดสอบด้วยแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 68 การตกตะกอนที่เกิดขึ้นมีสาเหตุมาจาก น้ำนมมีความเป็นกรดสูง เป็นน้ำนมน้ำเหลืองหรือเป็นน้ำนมในระยะปลายของการให้นม ซึ่งมีเกลือคลอไรด์สูง (ทองยศ , 2527)

4. การทดสอบการตกตะกอนหลังการต้ม (Clot-on-Boiling)

น้ำนมปกติจะไม่ตกตะกอนเมื่อนำไปต้ม ถ้าน้ำนมเสียและมีความเป็นกรดสูงจะตกตะกอนทันที เนื่องจากโปรตีนเคซีนที่มีอยู่ในน้ำนมจะไม่สามารถคงตัวในสภาวะที่น้ำนมเป็นกรด (ทองยศ , 2527)

5.6 มาตรฐานของน้ำนมพาสเจอร์ไรส์

นมสดพาสเจอร์ไรส์ถูกกำหนดให้เป็นอาหารควบคุมเฉพาะซึ่งเป็นไปตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 26 และ35 (พ.ศ. 2522) ซึ่งกำหนดมาตรฐานไว้ดังนี้

5.6.1 คุณภาพและมาตรฐาน

1. มีกลิ่นตามลักษณะเฉพาะของน้ำนมชนิดนั้น
2. มีลักษณะเหลวไม่เป็นเม็ดหรือก้อน
3. ไม่มีวัตถุกันเสีย
4. ไม่มีเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค
5. ไม่มีสารพิษจากเชื้อจุลินทรีย์ในปริมาณที่อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพ
6. ตรวจไม่พบแบคทีเรียชนิด *E.coli* ในน้ำนม 0.1 มิลลิลิตร
7. มีแบคทีเรียรวมทั้งหมดไม่เกิน 50,000 โคโลนีในน้ำนม 1 มิลลิลิตร

5.6.2 การเก็บรักษาและจำหน่าย

ภายหลังจากการพาสเจอร์ไรส์ จะต้องทำให้น้ำนมเย็นลงที่อุณหภูมิไม่เกิน 5 °ซ และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10 °ซ ระยะเวลาในการจำหน่ายต้องไม่เกิน 3 วัน นับแต่วันที่บรรจุ (สุจิตรา , 2536)

6. ไนซิน (Nisin)

ไนซินจัดเป็นแบคเทอริโอซิน (Bacteriocin) ชนิดหนึ่ง ผลิตได้จาก *Lactococcus lactis subsp. lactis* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์สายพันธุ์หนึ่งของแลคติกแอซิดแบคทีเรีย เนื่องจากไนซินถูกผลิตขึ้นจากแบคทีเรียที่พบในอาหารที่ผ่านการหมักตามธรรมชาติ และมนุษย์ก็ใช้บริโภคในชีวิตประจำวันมานานแล้ว เช่น ผลิตภัณฑ์นมหมัก ผักดองและเนื้อสัตว์หมัก เป็นต้น สารนี้มีคุณสมบัติเด่น ก็คือ เป็นสารที่ทนร้อน (Heat stable) สามารถย่อยสลายได้ในระบบย่อยอาหารของร่างกาย ไม่เป็นพิษและไม่ก่อให้เกิดอาการแพ้ (Allergy) หรือสร้างความต้านทานต่อจุลินทรีย์ในระบบร่างกาย ในปัจจุบันจึงได้รับความสนใจอย่างมากในการใช้เป็นสารถนอมอาหาร (Food preservatives) (โครงการเผยแพร่ความรู้ผ่านสื่อมวลชน , 2538 ; สุรีย์ , 2536ข)

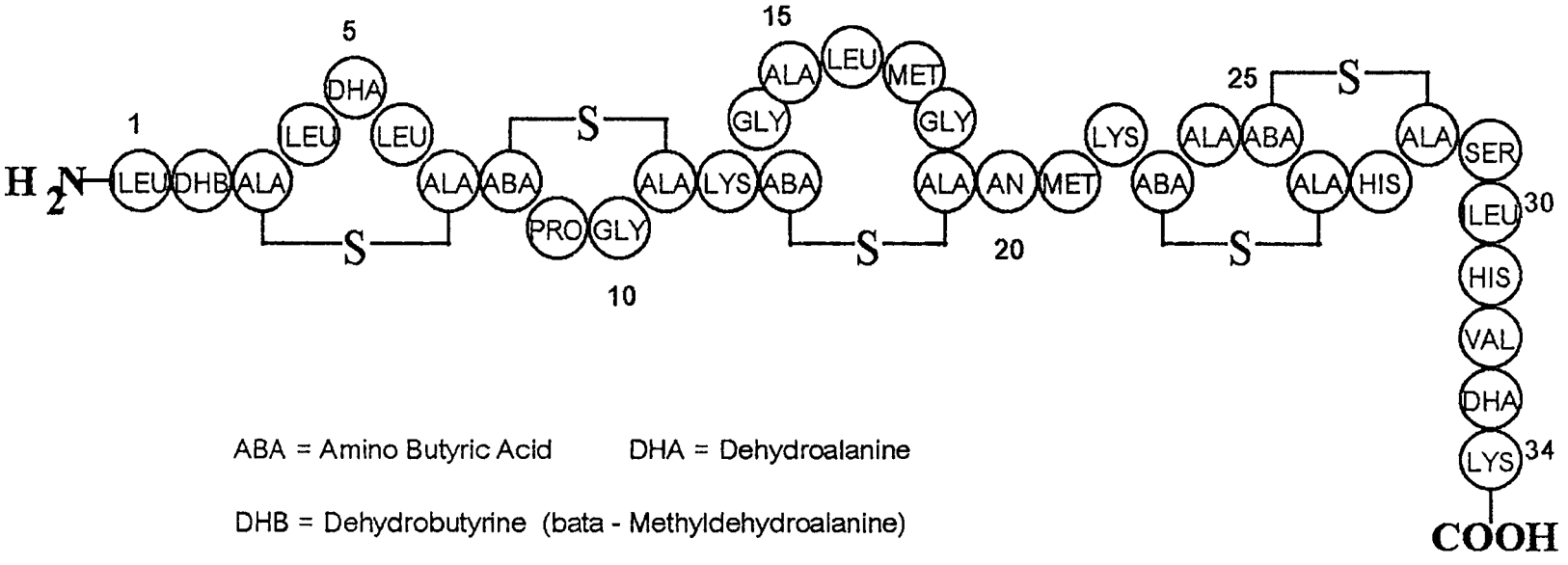
ไนซินถูกผลิตเป็นการค้า โดยบริษัท Aplin & Barret จากประเทศอังกฤษ โดยใช้ชื่อทางการค้าว่า "ไนซาพลิน" (Nisaplin) มีลักษณะเป็นผงสีขาว ซึ่งง่ายต่อการนำไปใช้ (ไปรมา , 2531)

6.1 โครงสร้างของไนซิน (Structure)

ไนซินเป็นสารประกอบโพลีเปปไทด์ (Polypeptides) ในโมเลกุลประกอบด้วยกรดอะมิโน 34 ตัว ซึ่งรวมทั้งกรดอะมิโนชนิดที่ปกติไม่พบในโปรตีน (Unusual amino acid) ได้แก่ Dehydroalanine, Dehydrobutyrine, Lanthionine และ β - methyllanthionine ไนซินจึงถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มที่เรียกว่า แลนทิไบโอติค (Lantibiotics) กรดอะมิโนทั้งหมดจะต่อกันเป็นสายโซ่ยาว ซึ่งมีปลายด้านหนึ่งต่ออยู่กับหมู่เอมีน (Amines group) ซึ่งต่ออยู่กับ ไอโซลิวซีน (Isoleucine) ส่วนปลายอีกด้านหนึ่งเป็นหมู่คาร์บอกซิล (Carboxyl group) ต่ออยู่กับ ไลซีน (Lysine) ภายในสายโซ่จะถูกเชื่อมต่อด้วยวงแหวนของ Sulphide bridge 5 วง ทำให้ไนซินมีความคงตัวและสามารถทนความร้อนได้ดี (Gross และ Morell , 1971) โครงสร้างของไนซินแสดงดังรูปที่ 1

ไนซินมีน้ำหนักโมเลกุล 3510 ดาลตัน (Daltons) Gross และ Morell (1971) ตรวจพบไนซินที่มีโครงสร้างแบบ Dimers และ Tetramer ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 7,000 และ 14,000 ดาลตัน ความแตกต่างของน้ำหนักโมเลกุลเกิดจากวิธีการที่ถูกใช้เพื่อแยกไนซิน อย่างไรก็ตามคุณสมบัติของโครงสร้างทั้งสามพบว่ามีผลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ไม่แตกต่างกัน (Jarvis และคณะ , 1968)

Jarvis และ Farr (1971) แบ่งไนซินออกเป็น 5 ชนิด คือ ไนซิน A,B,C,D, และ E ซึ่งอาศัยโครงสร้างโมเลกุลที่คล้ายกัน จากการทดสอบด้วยเอนไซม์ที่สกัดจาก *Bacillus spp.* โดยไนซิน A จะมีประสิทธิภาพมากที่สุด และพบว่าเป็นชนิดเดียวที่มีการนำมาใช้ในเชิงการค้า ส่วนไนซิน C และ D จะมีประสิทธิภาพเพียง 1 ใน 5 ส่วนของ A และ B นอกจากนี้ไนซิน A,B,C,และ E ถูกย่อยสลายได้ด้วยเอนไซม์ ไนซินเนส (Nisinase) จาก *Bacillus cereus* แต่ไม่สามารถย่อยสลายไนซิน D ได้ โดยไนซินเนสจะไป reduce พันธะคู่ของ Dehydroalanyllysine บริเวณด้านปลายของคาร์บอกซิล



ABA = Amino Butyric Acid DHA = Dehydroalanine

DHB = Dehydrobutyrine (bata - Methyldehydroalanine)

ALA- S - ALA = Lanthionine ABA - S - ALA = beta - Methyllanthionine

ภาพที่ 1 แสดงโครงสร้างของไนซิน

ที่มา : Gross และ Morell (1971)

6.2 ความสามารถในการละลายและความคงตัว (Solubility and Stability)

ความสามารถในการละลายและความคงตัวของไนซินขึ้นอยู่กับ pH ของสารละลาย กล่าวคือ ไนซินสามารถละลายและคงตัวได้ดีที่สุดในสภาพที่มี pH ค่อนข้างต่ำ (Hurst ,1981) ในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ pH 2.5 ไนซินสามารถละลายได้ร้อยละ 12 และเมื่อผ่านการฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดัน พบว่าไนซินไม่ถูกทำลาย (Tramer and Fowler, 1964) ส่วนที่ pH เป็นกลางและเป็นด่างเพิ่มขึ้น ไนซินไม่สามารถละลายได้ที่อุณหภูมิห้อง (Hall , 1966)

นอกจากนี้ Hall (1966) ยังพบว่า การเตรียมสารละลายไนซินเพื่อใช้เติมลงในอาหารมีความสำคัญมาก การเตรียมไนซินควรละลายในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่มีความเข้มข้น 0.02 N จะทำให้ไนซินมีความคงตัวและมีประสิทธิภาพดีที่สุด

Heinemann และคณะ (1965) รายงานว่าผลของการให้ความร้อนในกระบวนการแปรรูปและ pH ของอาหารมีผลต่อความคงตัวของไนซินในอาหารที่มีความเป็นกรดต่ำ (Low-acid food) ที่ pH 6.1-6.9 เมื่อผ่านการให้ความร้อนที่ 250 °ฟ เป็นเวลา 3 นาที พบว่า ไนซินสูญเสียประสิทธิภาพ 25-50 % ของไนซินที่ถูกเติมลงไป ส่วนในอาหารที่มีความเป็นกรดสูง (High-acid food) ที่ pH 3.3-4.5 รวมทั้งอาหารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ น้ำนมหรือฮาหารเหลว จะช่วยป้องกันการสูญเสียประสิทธิภาพของไนซินจากความร้อนได้ นอกจากนี้ไนซินยังสามารถทนต่อการให้ความร้อนระดับสเตอริไลส์ที่ 115.6 °ซ ที่pH 2 แต่ที่ pH 5 และ 6.8 ประสิทธิภาพของไนซินลดลงร้อยละ 40 และ 90 ตามลำดับ

Lipinska (1977) พบว่าการสูญเสียประสิทธิภาพของไนซินยังขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการให้ความร้อน รวมทั้งระยะเวลาที่ใช้ในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์เหล่านั้น ดังแสดงในตารางที่ 7, 8 และ 9

ตารางที่ 7

ไนซินที่เหลืออยู่ในอาหารชนิดต่าง ๆ จากการเติมไนซินเริ่มต้น 100 IU/g

ผลิตภัณฑ์	pH	ขบวนการให้ความร้อน	ไนซินที่เหลืออยู่ IU/g)
ถั่วลันเตา	6.4	30 นาที 116 °ซ	22.0
เห็ด	6.0	18 นาที 121 °ซ	32.7
มะเขือเทศ	4.5	40 นาที 100 °ซ	72.4
เนยแข็ง	5.8	12 นาที 90 °ซ	82.0

ที่มา : Lipinska (1977)

ตารางที่ 8

ผลของอุณหภูมิและเวลาต่อไนซินที่คงเหลือ (ร้อยละ) ในผลิตภัณฑ์น้ำหางนม ที่ pH 6.5

อุณหภูมิ (°ซ)	ไนซินที่คงเหลือ (ร้อยละ) หลังการให้ความร้อน		
	3 นาที	11 นาที	40 นาที
110	84	57	19
116	67	38	7
121.1	60	34	4

ที่มา : Lipinska (1977)

ตารางที่ 9

ผลของระยะเวลาในการเก็บรักษาต่อไนซินที่เหลืออยู่ในถั่วลันเตากระป๋อง ที่ pH 6.4 โดยเก็บรักษาไว้ที่ 8 - 12 °ซ

ระยะเวลา (เดือน)	ปริมาณไนซินที่คงเหลือ (ร้อยละ)	ระยะเวลา (เดือน)	ปริมาณไนซินที่คงเหลือ (ร้อยละ)
3	93	12	81
6	90	15	62
9	84	18	43

ที่มา : Lipinska (1977)

6.3 คุณสมบัติการยับยั้งจุลินทรีย์ของไนซิน

ไนซินมีคุณสมบัติในการยับยั้งแบคทีเรียได้ดี โดยเฉพาะพวกแบคทีเรียแกรมบวกและสปอร์ที่แบคทีเรียสร้างขึ้น ซึ่งมักจะเป็นแบคทีเรียในกลุ่มแลคติกแอซิดแบคทีเรียชนิดอื่นๆ หรือสายพันธุ์ที่ใกล้เคียง ไนซินยังสามารถทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในอาหาร รวมทั้งกลุ่มที่สามารถทนความร้อนสูงในการฆ่าเชื้อได้ แบคทีเรียดังกล่าว ได้แก่ *Actinomyces spp., Bacillus spp., Clostridium spp., Corynebacterium spp., Lactobacillus spp., Micrococcus spp., Mycobacterium spp., Neisseria spp., Pnemococcus* type I และ II *Staphylococcus spp.* และ *Streptococcus* (กลุ่ม A, B, E, F, G, H, K, M,และ N) ดังแสดงในตารางที่ 10 Radler (1990a) พบว่าไนซินสามารถยับยั้งการเจริญของ *Listeria monocytogenes* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่เป็นพิษในอาหารและรอดชีวิตได้จากการให้ความร้อนแบบ HTST (71.7 °ซ นาน 15 วินาที) ในการแปรรูปน้ำนม นอกจากนี้ไนซินยังสามารถยับยั้งการเจริญของ *Listeria saligery* และ *L. ivanovii* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ใกล้เคียงได้

ตารางที่ 10

ชนิดของแบคทีเรียและความเข้มข้นของไนซินต่ำสุดที่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย (Minimum inhibitory concentration, MIC (IU))

ชนิดของแบคทีเรีย	MIC (IU)
Bacillus	2-4
Clostridium	0.25-80
Corynebacterium	4-120
Mycobacterium tuberculosis	100-500
Neisseria	2-50
Pneumococcus type I	0.25
Pneumococcus type II	100
Staphylococcus aureus	100
Streptococcus group A,B และN	0.25

ที่มา : Gowen และคณะ (1952) ; Mattick และ Hirsch (1947) ; Mahadeo และ Tatini (1994)

Broabent และคณะ (1989) ได้ศึกษาถึงผลการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมบวกที่ก่อให้เกิดโรคเต้านมอักเสบในวัว ได้แก่ *Enterococcus faecalis subsp. Liquefacient, Staphylococcus aureus, Streptococcus agalactiae, Strep. equinus, Strep. dysagalactiae* และ *Strep. uberis* ซึ่งความเข้มข้นของไนซินที่มีผลต่อการยับยั้งแสดงดังตารางที่ 11

ตารางที่ 11

ความเข้มข้นของไนซินต่ำสุดที่มีผลในการยับยั้งจุลินทรีย์
ที่ก่อให้เกิดโรคเต้านมอักเสบในวัว

ชนิดจุลินทรีย์	MIC (μg/ml)
Enterococcus faecalis subsp. equefaciens	25
Staphylococcus aureus	50
Staphylococcus epidermidis	100
Streptococcus agalactiae	10
Streptococcus equinus	50
Streptococcus dysgalactiae	100
Streptococcus uberis	100
E. coli	ไม่มีผลยับยั้ง

ที่มา : Broadbent และคณะ (1989)

ส่วนสปอร์ที่แบคทีเรียสร้างขึ้น ไนซินสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของสปอร์ *Bacillus spp.* และ *Clostridium spp.* ทั้งนี้ปริมาณความเข้มข้นของไนซินที่ใช้จะขึ้นอยู่กับการตอบสนองของสปอร์ต่อไนซิน โดยสปอร์ของ *B.* ถูกแบ่งออกได้ 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่สร้างสปอร์ขนาดเล็ก เช่น *B. subtilis* จะอาศัยกลไกของแรงดัน เพื่อเปิดส่วนที่หุ้มสปอร์ออกในการเจริญเติบโต ถูกยับยั้งด้วยไนซิน 5 IU/ml ส่วนสปอร์ที่มีขนาดใหญ่ เช่น *B. cereus* ซึ่งอาศัยการย่อยสลายส่วนที่หุ้มสปอร์ ถูกยับยั้งด้วยไนซินที่มีความเข้มข้นมากกว่า 100 IU/ml (Lipinska , 1977) สอดคล้องกับการทดลองของ Gupta และคณะ (1972) พบว่าสปอร์ของ *B. cereus* ถูกยับยั้งด้วยไนซิน 75 - 100 IU/ml

สำหรับสปอร์ของ *Clostridium spp.* ไนซินสามารถป้องกันการเจริญเติบโตของ *C. botulinum* ซึ่งความต้านทานต่อไนซินจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ โดย *C. botulinum* type A มีความต้านทานต่อไนซินมากที่สุด รองลงมาคือ type B และ E ตามลำดับ สปอร์ type A จะใช้ไนซิน 5,000 IU/ml type B 1,000 - 1500 IU/ml และ type E 100 - 500 IU/ml (Scott และ Taylor , 1981) นอกจากนี้ยังพบว่า ไนซินสามารถยับยั้งสปอร์ของ *C. butyricum* ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสียของเนยแข็งได้โดยใช้ไนซิน 160 - 800 IU/ml (Ramseier ,1960)

โดยทั่วไปไนซินจะไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์ รา เนื่องจากโครงสร้างของเยื่อหุ้มชั้นนอกเซลล์จะทำหน้าที่ในการป้องกันไนซินเข้าสู่เซลล์ได้ดี Steven และคณะ (1991) รายงานว่า การใช้ไนซินร่วมกับ chelating agent ชนิด disodium -EDTA จะมีผลยับยั้ง *Salmonella spp.* และแบคทีเรียแกรมลบหลายชนิดได้ดีกว่าการใช้ไนซิน หรือ disodium EDTA ชนิดใดชนิดหนึ่งเพียงอย่างเดียว ซึ่งผลจากการทดลองใช้ไนซิน 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ disodium EDTA 20 มิลลิโมล โดยให้สารเหล่านี้สัมผัสกับแบคทีเรียเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ปรากฏว่ามีการลดลงของจำนวนเซลล์ 3.2 - 6.9 log cycle แต่ถ้าหากใช้ไนซิน หรือ disodium-EDTA เพียงอย่างเดียว จะให้ผลในการยับยั้งเพียงเล็กน้อยเท่านั้น ซึ่งพบว่าจำนวนเซลล์ลดลงน้อยกว่า 1 log cycle

6.4 การออกฤทธิ์ของไนซิน (Mode of action)

การยับยั้งจุลินทรีย์ของไนซิน สำหรับเซลล์ปกติไนซินจะส่งผลต่อไซโตพลาสมิกเมมเบรน (Cytoplasmic membrane) ที่เป็นเยื่อหุ้มของเซลล์และทำหน้าที่ควบคุม Osmotic pressure ภายในเซลล์ และส่งผลต่อการควบคุมการผ่านเข้าออกของสารในเซลล์ ทำให้ไม่สามารถรักษาสภาพความสมดุลย์ของเซลล์ไว้ได้ เซลล์จึงถูกทำลายหรือเกิดการแตกออก (Lysis) สารประกอบที่มีความสำคัญไหลออกสู่นอกเซลล์ เช่น ATP (Ramseier, 1960) เป็นต้น จากการศึกษาด้านชีวโมเลกุลถึงจุดที่ไนซินออกฤทธิ์เข้ายับยั้ง พบว่ากรดอะมิโนที่มีอยู่ในโครงสร้างโมเลกุลของไนซินจะเข้ายับยั้งกลุ่มซัลไฟดริล (Sulphydryl group) ที่มีอยู่ในเอนไซม์ของ Coenzyme A ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งในโครงสร้างของไซโตพลาสมิกเมมเบรน ก่อให้เกิดความผิดปกติของผนังเซลล์ ทำให้เซลล์ถูกทำลายลงในที่สุด (Morris และคณะ , 1984) นอกจากนี้ไนซินยังมีผลในการยับยั้งการสังเคราะห์เปปติโดไกลแคน (Peptidoglycan) ของแบคทีเรีย (Linnett และ Strominger , 1973) ส่วนสปอร์ไนซินจะออกฤทธิ์ยับยั้งการสร้างสปอร์ในระยะ pre-emergency swelling ซึ่งเป็นขั้นตอนก่อนที่เซลล์พร้อมจะเจริญเป็นสปอร์ (Lipinska , 1977)

6.5 ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของไนซิน

การนำไนซินมาใช้เป็นสารถนอมอาหารมีหลายสิ่งที่ต้องพิจารณาถึง คือ

1. pH ของอาหาร : ไนซินจะมีประสิทธิภาพมากที่สุดในสภาพที่มี pH เป็นกรด ซึ่งช่วยให้ไนซินสามารถละลายและคงตัวได้ดีที่สุด (Hurst ,1981)

2. อุณหภูมิ : ไนซินมีความคงตัวสูงเมื่อใช้อุณหภูมิในการให้ความร้อนกับอาหารที่อุณหภูมิต่ำและสามารถออกฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ต่างๆ ได้ดี Lipinska (1977) รายงานถึงประสิทธิภาพของไนซินในน้ำหางนม (Skim milk) ที่อุณหภูมิ 110,116 และ 121 °ซ ใช้เวลา 3 นาที และมี pH 6.5 ไนซินยังคงมีประสิทธิภาพเหลืออยู่เท่ากับร้อยละ 84,67 และ 60 ตามลำดับ

3. ชนิดและสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ : ไนซินจะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกได้ดี แต่ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์และรา นอกจากนี้สายพันธุ์ของจุลินทรีย์ก็มีความไวต่อการยับยั้งการเจริญเติบของไนซินได้ต่างกัน สำหรับ *B. cereus* ใช้ไนซิน 75 - 100 IU/ml (Gupta และคณะ, 1972) ส่วน *M. tuberculosis* ถูกยับยั้งด้วยไนซิน 100 - 500 IU/ml (Mattick และ Hirsh, 1947)

4. องค์ประกอบของอาหาร : ในสารประกอบที่มีโมเลกุลใหญ่ เช่น นมหรืออาหารเหลว ไนซินจะสูญเสียประสิทธิภาพน้อยกว่าใน Buffer นอกจากนี้ในสภาพของอาหารที่มีไขมันสูงจะทำให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งลดลง Jone(1974) พบว่าไนซินสามารถยับยั้งการเจริญของ *Staph. aureus* ในน้ำหางนมได้ดีกว่าในน้ำนมที่มีไขมันสูง Jung และ คณะ(1992) พบว่าประสิทธิภาพของไนซินจะลดลงร้อยละ 33 ในหางนมและเมื่อเติมไนซินลงในน้ำนมพร้อมมันเนยที่มีไขมันร้อยละ 12.9 ประสิทธิภาพของไนซินลดลงร้อยละ 88

5.ระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ : ภายหลังจากเติมไนซินประสิทธิภาพในการยับยั้งของไนซินจะลดลง เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์นานขึ้น Hirsch และคณะ (1951) ทดลองเติมไนซินลงในเนยแข็ง 270 IU/ml หลังจากเก็บรักษาไว้ 20 วัน ไม่พบไนซินในเนยแข็ง ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการเติมไนซินลงในเนยแข็งแบบ Swiss cheese (Mc Clintock และคณะ, 1952) เห็ดบรรจุกระป๋อง (Fowler และ Mc Cann, 1971) และใน Cook Ham (Rayman และคณะ, 1981)

6.ความเข้มข้นของไนซินในอาหาร : การเติมไนซินลงในอาหารสิ่งที่ต้องคำนึงถึงก็คือความเข้มข้นที่เหลืออยู่ ซึ่งควรจะมีเพียงพอผลในการยับยั้งจุลินทรีย์และสปอร์ที่เป็นเป้าหมาย เมื่อความเข้มข้นของไนซินเพิ่มขึ้นจะช่วยส่งผลในการลดจำนวนเซลล์และสปอร์ได้อย่างรวดเร็ว

6.6 ความเป็นพิษของไนซิน (Toxicity)

ไนซินรู้จักกันมานานแล้ว พบได้ในผลิตภัณฑ์อาหารหมักที่มีแบคทีเรียแลคติกเข้ามาเกี่ยวข้อง เช่น ผลิตภัณฑ์นมหมัก เนยแข็ง เนื้อสัตว์และพบได้ในน้ำนมดิบ ซึ่งมนุษย์บริโภคอาหารเหล่านี้มาเป็นเวลานานแล้ว ในอาหารหมักดองของไทย เช่น ปลาร้า ก็คาดว่าจะมีไนซินอยู่ด้วย (วิเชียร, 2535) Dalves - Broughton (1990) ได้สำรวจน้ำนมดิบ 251 ตัวอย่าง จาก 9 ประเทศ ใน 3 ทวีป ตรวจพบว่าใน 109 ตัวอย่างมีจุลินทรีย์สายพันธุ์ *L. lactis subsp. lactis* ซึ่งสามารถผลิตไนซินได้

จากการรายงานการทดสอบความเป็นพิษของไนซินในประเทศญี่ปุ่น โดยการทดสอบหาค่า LD_{50} ของไนซินในสัตว์ทดลองหนูและแมว พบว่าค่า LD_{50} ของไนซินใกล้เคียงกับค่า LD_{50} ของเกลือปกติ คือ เท่ากับ 7 g/kg ของน้ำหนักร่างกาย ผลที่ได้ยืนยันว่าไนซินไม่มีความเป็นพิษแต่อย่างใดต่อมนุษย์ ผลการทดสอบคล้ายคลึงกับ Food Standard Committee (1959) เมื่อผู้บริโภครับประทานไนซินเป็นระยะเวลานานพบว่า ไนซินไม่ทำให้เกิดผลกระทบต่อการเกิดโรคแต่อย่างใด

Linpinska (1977) รายงานถึงผลจากการทดสอบในประเทศรัสเซียถึงความเป็นพิษของไนซินในการเป็นสารก่อมะเร็ง ผลต่อการสืบพันธุ์ ผลต่อความเป็นพิษต่อไต ระบบเลือดและผลต่อความดันในร่างกาย ซึ่งผลที่ได้รายงานว่าไนซินไม่เป็นพิษต่อระบบต่างๆ ในร่างกาย

ไปรมา (2531) ได้รายงานถึงการศึกษาความเป็นพิษของไนซินจากมหาวิทยาลัยเบอมิงแฮม พบว่าไนซินไม่ทำให้เกิดพิษใดๆ ทั้งชนิดเฉียบพลันและเรื้อรัง แม้ว่าจะป้อนให้สัตว์ทดลองกินในระดับสูงถึง 1,000 เท่า ของปริมาณที่ได้รับตามธรรมชาติ จากผลดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าไนซินที่ระดับ 3.3 ล้าน IU หรือ 82.5 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ไม่มีผลใดๆ ต่อผู้บริโภค ประสิทธิภาพของไนซินบริสุทธิ์ 1 ไมโครกรัม เท่ากับ 40 IU ส่วนไนซาพลินที่มีขายอยู่ในเชิงการค้า 1 กรัม มีไนซิน 1,000,000 IU

FDA (1988) รายงานการบริโภคอาหารที่ผ่านการเติมไนซินในปริมาณที่มากเกินพอ พบว่าไนซินจะถูกย่อยอย่างรวดเร็วด้วยเอนไซม์ไทยาลิน (Ptyalin) ที่มีในน้ำลาย จึงตรวจไม่พอ

ในน้ำลายมนุษย์ภายหลังจากการบริโภคไนซินเป็นเวลา 10 นาที และจากการศึกษาด้านจุลชีววิทยา พบว่า ไนซินจะไม่ทำให้จุลินทรีย์ที่มีอยู่ในร่างกายมนุษย์เกิดการดื้อยาปฏิชีวนะ

6.7 การอนุญาตให้ใช้ไนซินเป็นสารถนอมอาหาร

ในปี 1969 FAO (Food and Agriculture Organization) และ WHO (World Health Organization) ได้ทดสอบความเป็นพิษของไนซินจนเป็นที่แน่ชัดแล้วว่าปลอดภัยต่อผู้บริโภคและประกาศให้สามารถใช้ไนซินเป็นสารถนอมอาหารได้ (WHO ,1969) ซึ่งประเทศอังกฤษเป็นประเทศแรกที่อนุญาตให้นำไนซินมาใช้เป็นสารถนอมอาหาร โดยไม่จำกัดปริมาณการใช้และไม่ต้องแจกแจงบนฉลากอาหาร แต่มีการควบคุมการใช้ในอาหารกระป๋องซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อเพื่อทำลาย *C. botulinum* และแนะนำถึงความสามารถในการบริโภคไนซินในแต่ละวัน (Average daily intake ,ADI) ได้ไม่เกิน 33,000 IU/kg ของน้ำหนักร่างกาย สำหรับคนที่มีน้ำหนักตัว 70 กิโลกรัม สามารถบริโภคได้วันละ 58 มิลลิกรัม

ส่วนการใช้ไนซินในนมและผลิตภัณฑ์นม คณะกรรมการ FAOและWHO ให้การรับรองและยอมรับการใช้ไนซิน โดยเฉพาะการใช้ไนซินในเนยแข็ง สามารถจะเติมไนซินบริสุทธิ์ในผลิตภัณฑ์ได้ถึง 12.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมของผลิตภัณฑ์ ไนซินยังได้รับการยอมรับจาก U.S. FDA ว่าปลอดภัยในการบริโภค (Generaly Recognized as Safe : GRAS) และอนุญาตให้ใช้ในอาหารได้ (FDA, 1988) ในปัจจุบันไนซินได้รับการยอมรับแล้วมากกว่า 52 ประเทศทั่วโลก เช่น สหรัฐอเมริกา อังกฤษ ออสเตรเลีย เป็นต้น ส่วนในแถบเอเชีย ได้แก่ มาเลเซีย ฟิลิปปินส์ ไต้หวัน สิงคโปร์ รวมทั้งประเทศไทยก็มีการใช้สารไนซินนี้ในผลิตภัณฑ์เนยแข็งด้วย (สุรีย์, 2536)

6.8 การใช้ไนซินในน้ำนมและผลิตภัณฑ์นม

การใช้ไนซินในผลิตภัณฑ์อาหารทำได้ 2 วิธี คือ การเติมไนซินลงในอาหารโดยตรง หรือใช้ในรูปของแบคทีเรียที่สามารถสร้างไนซินในผลิตภัณฑ์เนยแข็ง ซึ่งมักเสื่อมเสียจากแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศ ทำให้เกิดก๊าซ กลิ่นรส และตาของเนยแข็งที่ไม่พึงประสงค์สำหรับผู้บริโภค แต่หลังจากที่มีการเติมไนซินลงไปพบว่าสามารถป้องกันการเสื่อมเสียที่เกิดขึ้นได้

ในผลิตภัณฑ์ processed cheese มักเกิดการเน่าเสียโดย *Clostridium spp.*

สายพันธุ์ที่พบมากที่สุด ได้แก่ *C. sporogenes* ส่วนสายพันธุ์ที่มักพบในเนยแข็งที่มีสภาพเป็นกรด ได้แก่ *C. butyricum* และ *C. tyrobutyricum* โดยปกติเนยแข็งที่มีคุณภาพดีก็อาจพบสปอร์ *Clostridium spp.* ปนเปื้อนอยู่สูงถึง 1,000 สปอร์ต่อกรัม ซึ่งติดมากับส่วนผสม เช่น นมผง เวย์ผง และสารช่วยเพิ่มรสชาติต่างๆ สำหรับปริมาณความเข้มข้นของไนซินที่ใช้จำเป็นต้องพิจารณาปัจจัยต่างๆ เช่น ระดับความร้อนที่ใช้ในกระบวนการผลิต องค์ประกอบผลิตภัณฑ์และอุณหภูมิในการเก็บรักษา เป็นต้น ในกรณีของระดับความร้อนที่ใช้ในการผลิตเนยแข็งนั้นไม่สูง จึงมักพบว่าประสิทธิภาพของไนซินยังคงเหลืออยู่ถึงร้อยละ 85 หลังผ่านการให้ความร้อน และถ้าหากปริมาณน้ำที่มีในเนยแข็งมีไม่เกินร้อยละ 60 ไนซินยังคงมีประสิทธิภาพเหลืออยู่ร้อยละ 20 - 30 หลังจากเก็บไว้ 6 เดือน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ ในด้านอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษา การเก็บไว้ในที่อุณหภูมิต่ำประสิทธิภาพของไนซินจะยังคงเหลืออยู่ในปริมาณสูง การใช้ปัจจัยหลายอย่างร่วมกันพบว่าระดับความเข้มข้นของไนซินที่เหมาะสม ควรมีปริมาณ 3.75 - 12.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Fowler และ Gasson , 1991)

การใช้ไนซินในน้ำนมดิบ พบว่า ในทวีปทางยุโรปไม่นิยมใช้ไนซินในน้ำนม เพราะอุณหภูมิค่อนข้างต่ำ สามารถควบคุมการเสื่อมเสียของน้ำนมได้ดี แต่จะมีการใช้ไนซินในประเทศทางตะวันออกกลาง ที่มีอุณหภูมิร้อนหรืออบอุ่น (วิเชียร , 2539) ซึ่งมีปัญหาเกี่ยวกับการใช้เวลาในการขนส่งและการเก็บรักษาน้ำนม ไปรมา (2531) กล่าวว่า การใช้ไนซิน 30 - 50 IU/ml ของผลิตภัณฑ์นม มีประสิทธิภาพในการยืดอายุการเก็บรักษา ได้มากกว่า 2 เท่าของเวลาเดิม ในทุกระดับอุณหภูมิของการเก็บรักษา

ยุวดี และสุภาภรณ์ (2539) ศึกษาการใช้ไนซินในน้ำนมดิบที่ระดับความเข้มข้น 50-250 IU/ml โดยเก็บตัวอย่างที่ใช้ศึกษาที่อุณหภูมิ 4 °ซ พบว่า ไนซินสามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้ถึง 5 วัน ในขณะที่น้ำนมดิบที่ไม่ได้มีการเติมไนซินเก็บได้เพียง 3 วัน และพบว่าการยับยั้งจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) ให้ผลการทดลองที่ไม่ต่างกัน นอกจากนี้ที่ความเข้มข้นของไนซิน 100 IU/ml สามารถยับยั้งการเจริญของ *Staphy. aureus* ได้ดี ส่วนที่ความเข้มข้น 50 IU/ml สามารถยับยั้งการเจริญของ β-heamolysin *Streptococcus spp.* ได้

ไนซินยังสามารถนำมาใช้ในการยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมพาสเจอร์ไรส์โดยเฉพาะในเขตที่มีอุปกรณ์ทำความเย็นไม่เพียงพอ ซึ่งการใช้ไนซินที่ความเข้มข้นต่ำเพียง 0.5 - 10 มิลลิกรัมต่อลิตร สามารถยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมพาสเจอไรส์ได้มากกว่า 6 วัน ที่อุณหภูมิ

15 °ซ หรือเก็บได้มากกว่า 2 วันที่อุณหภูมิ 20 °ซ แต่ถ้าหากน้ำนมพาสเจอร์ไรส์นั้นถูกปนเปื้อนภายหลังจากการผลิต ไนซินจะไม่สามารถยืดอายุการเก็บได้ (สุรีย์ , 2536)

Shehata และคณะ (1976) จากประเทศอียิปต์ ทดลองเติมไนซินในน้ำนมจากกระบือที่ระดับความเข้มข้นต่ำ และน้ำนมชอคโกแลต โดยผ่านการให้ความร้อนที่ระดับสเตอริไลส์ พบว่าสามารถลดกระบวนการให้ความร้อนลงได้ประมาณร้อยละ 80 และจากรายงานการเก็บรักษา สามารถเก็บรักษาน้ำนมไว้ได้ถึง 21 วัน ที่ 37 °ซ ซึ่งให้ผลเป็นที่น่าพอใจ จากผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับ Wajid และ Kalra (1976) ในประเทศอินเดีย ซึ่งทดลองการใช้ไนซินเพื่อยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมสเตอริไลส์ โดยทดลองเติมสปอร์สายพันธุ์ของ *B. subtilis* และ*B. strearothermophilus* และฆ่าเชื้อที่ 109 และ 115 °ซ พบว่า ไนซิน 100 Ru(Reading unit,ppm) /ml ไนซินสามารถลดระยะเวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อลงถึงร้อยละ 44.96 และ 71.22 ตามลำดับ และสามารถเก็บรักษาน้ำนมไว้ได้เพิ่มขึ้นถึง 60 วัน ส่วนน้ำนมที่ไม่ได้เติมไนซินจะเสื่อมเสีย โดยตกตะกอนของลิ่มนม และแยกเวย์ที่บริเวณส่วนบนของขวดใน 3-7 วัน ที่ 37 °ซ

Fowler และ Gasson (1991) ; Gregory และคณะ (1964) พบว่าการเติมไนซินในน้ำนมดิบแล้วนำมาผ่านกระบวนการให้ความร้อนเพื่อผลิตนมข้นจืดบรรจุกระป๋อง สามารถจะลดการสูญเสียวิตามิน และยังคงเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไว้ได้นานขึ้น โดยความเข้มข้นของไนซินที่ใช้ 2.0-2.5 ml/l

Lipinska (1977) ทดลองเติมไนซิน 10 - 100 IU ต่อกรัม ในนมสเตอริไลส์ และนมปรุงแต่งรสชอคโกแลต ที่มีการปนเปื้อนของ *B. stearothermophilus* และ *B. subtilis* นำมาผ่านขบวนการให้ความร้อนที่มีค่า F_0 = 3 แทนขบวนการให้ความร้อนแบบปกติ ซึ่งต้องใช้ค่า F_0 = 9 พบว่าน้ำนมดังกล่าวสามารถเก็บไว้นานถึง 6 เดือน ที่ 37 °ซ และ 3 สัปดาห์ ที่ 55 °ซ โดยไม่เสื่อมเสีย

และจากการทดลองของ Heinemann และคณะ (1965) พบว่า ไนซินที่ระดับความเข้มข้น 2.5 mg/l มีประสิทธิภาพในการป้องกันการเสื่อมเสียของนมชอคโกแลตที่ถูกปนเปื้อนโดยสปอร์ของ *C. sporogenes* PA 3679 และ *B. stearothermophilus*

จากข้อมูลดังกล่าวในข้างต้น เห็นได้ว่า ไนซินมีประสิทธิภาพเพียงพอที่จะนำมาใช้เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมดิบ และน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ได้ ซึ่งมีหลายประเทศที่ยอมรับและอนุญาตให้ใช้ไนซินในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ โดยไม่จำกัดปริมาณการใช้ ได้แก่ Abu Dhabi, Bahrain, Dubai, Qatar และ Saudi Arabia ส่วนในประเทศไทยมีการใช้ในเนยแข็งโดยอนุญาตให้เติมได้ 500 IU/g ของอาหาร นอกจากนี้ไนซินยังถูกนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์อาหารชนิดอื่นอีก ได้แก่ เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ปริมาณที่ใช้ 0.25-2.5 mg/l (Ogden และ Tubb , 1985) ผลไม้และผักกระป๋อง ปริมาณที่ใช้ 0.25 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Fowler และ Gasson , 1991) ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์และปลา (Fowler และ Gasson ,1991) ผลิตภัณฑ์ผักดอง (Daeschel และ คณะ , 1987) ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางค์ ผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับช่องปาก เช่น ยาสีฟัน และน้ำยาบ้วนปาก เป็นต้น (Hoover และ Steenson ,1993)

6.9 การตรวจวิเคราะห์ไนซิน (Assay of Nisin)

การตรวจวิเคราะห์ไนซินมีหลายวิธีด้วยกัน เช่น ใช้วิธีการเปลี่ยนสีของเมธิลีนบูล (Methylene blue) (Hirsch ,1950) วิธีการวัดความขุ่น (Berridge และ Barrett ,1952) การวัด Horizontal agar diffusion (Fowler และคณะ , 1975) และการวัด ATP ที่ปล่อยออกมาจาก *L. casei* (Waites และ Ogden , 1987) แต่วิธีการที่ใช้ในปัจจุบันและเป็นที่นิยม จะใช้วิธีหาไนซินแบบการเกิดโซนยับยั้งบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ที่มีความไวต่อไนซิน

หลักการทั่วไปของวิธี Disk diffusion method ทำได้โดยวางแผ่นกระดาษทดสอบซึ่งชุบสารที่ต้องการทดสอบ จากนั้นนำไปวางบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีจุลินทรีย์ที่มีความไวต่อสารทดสอบ ซึ่งจะกระจายตัวอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วจึงนำไปบ่มเพาะให้เชื้อจุลินทรีย์เจริญเติบโต อ่านผลการทดสอบโดยวัดขนาดของบริเวณที่ถูกยับยั้ง ซึ่งเห็นเป็นวงใสรอบกระดาษทดสอบ บริเวณที่มีการยับยั้งเรียกว่า "Zone of inhibition" หรือ clear zone แล้วจึงนำไปเปรียบเทียบความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (นรีกุลและคณะ , 2530)

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

1. วัตถุดิบ

น้ำนมดิบจากศูนย์รวบรวมน้ำนมดิบ สหกรณ์โคนมชุมทอง หัวตะเข้ กรุงเทพมหานคร

2. อุปกรณ์ในการผลิต

2.1 ขวดเก็บตัวอย่างพร้อมฝาเกลียวพลาสติก		ไทย
2.2 อ่างน้ำร้อนควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)	Memmert	เยอรมัน
2.3 ตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิ (Refrigerator)	Sanyo	ไทย
2.4 ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator)	Memmert	เยอรมัน
2.5 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)	Memmert	เยอรมัน
2.6 ตู้เขี่ยเชื้อ (Larminar flow)	ESCO-KUL	เบลเยี่ยม

3. อุปกรณ์ในการวิเคราะห์

3.1 เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter)	Suntex SP-701	ญี่ปุ่น
3.2 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectophotometer)	Shimadza UV-1601	ญี่ปุ่น

4. สารเคมีที่สำคัญ

4.1 ไนซิน (Nisin)	Merck	เยอรมัน
4.2 Plate count agar (PCA)	Merck	เยอรมัน
4.3 MRS agar	Merck	เยอรมัน
4.4 Cereus selective agar base	Merck	เยอรมัน
4.5 Mannitol salt phenolred agar	Merck	เยอรมัน

4.6 Standard II nutrient agar	Merck	เยอรมัน
4.7 Egg-yolk emulsion sterile	Merck	เยอรมัน

5. สถานที่ทดลอง

ห้องปฏิบัติการภาควิชาอุตสาหกรรม คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

6. วิธีการทดลอง

6.1 ศึกษาปริมาณการใช้ไนซินที่เหมาะสมในการยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมดิบ

การทดลองหาปริมาณการใช้ไนซินที่เหมาะสมในการยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมดิบมีวิธีการดังนี้ เติมสารละลายไนซินลงในน้ำนมดิบโดยให้มีความเข้มข้นของไนซิน 0 50 100 150 200 และ 250 IU/ml แบ่งน้ำนมใส่ขวดแก้วที่ผ่านการฆ่าเชื้อขวดละ 120 มิลลิลิตร ปิดฝาเก็บตัวอย่างน้ำนมในตู้เย็นที่ควบคุมอุณหภูมิคงที่ 10 °ซ ตรวจสอบคุณภาพของน้ำนมทุก 3 วัน จนกระทั่งน้ำนมเสื่อมเสียทั้งหมด โดยตรวจคุณภาพทางประสาทสัมผัส ได้แก่ สี กลิ่น รสชาติ และลักษณะปรากฏ ตรวจสอบคุณภาพทางเคมี ได้แก่ pH ความเป็นกรด (Acidity test) การทดสอบความคงตัวของโปรตีนในน้ำนมด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 68 (Alcohol test) และการตกตะกอนหลังการต้ม (Clot on boiling) และการตรวจสอบคุณภาพทางจุลินทรีย์ ได้แก่ การตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) แลคติกแอซิดแบคทีเรีย (Lactic acid bacteria) *Staphylococcus aureus* และ *Bacillus cereus* วิธีการทดลองแสดงดังภาพที่ 2.

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (CRD) โดยศึกษาถึงระดับความเข้มข้นของไนซินที่ 0 50 100 150 200 และ 250 IU/ml ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำการทดลอง

ภาพที่ 2

การเตรียมตัวอย่างและการตรวจสอบคุณภาพของน้ำนมดิบตอนที่ 6.1

น้ำนมดิบ

เติมสารละลายไนซินให้มีความเข้มข้น

0,50,100,150,200 และ250 IU/ml

แบ่งน้ำนมใส่ลงในขวด

ขวดละ 120 มิลลิลิตร

เก็บตัวอย่างน้ำนมดิบในตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิ 10 °ซ

ตรวจวิเคราะห์คุณภาพของน้ำนม

ทุก 3 วัน จนกระทั่งน้ำนมดิบทั้งหมดเสื่อมเสีย

ตรวจวิเคราะห์ทางเคมี	ตรวจคุณภาพทางประสาทสัมผัส	ตรวจวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์
● pH	● สี	● Standard plate count
● Acidity test	● กลิ่น	● Lactic acid bacteria
● 68 % Alcohol test	● รสชาติ	● *Staphylococcus aureus*
● Clot on boiling	●ลักษณะปรากฏ	● *Bacillus cereus*

6.1.1 การเก็บตัวอย่าง

เก็บตัวอย่างจากถังรวบรวมน้ำนมดิบ ที่มีใบพัดกวนนมตลอดเวลา โดยจะเก็บตัวอย่างในช่วงเวลา 6.00 น. - 8.00 น. ซึ่งเป็นช่วงที่เกษตรกรนำน้ำนมทั้งหมดที่รีดได้มาส่งให้กับสหกรณ์ แล้วจึงสุ่มตัวอย่างนมจากถังมาใช้เป็นตัวอย่างในการศึกษา

6.1.2 การเตรียมสารละลายไนซิน (Hall ,1966)

ชั่งไนซิน 100 มิลลิกรัม เติมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 0.02 N ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °ซ นาน 15 นาที 100 มิลลิลิตร ได้สารละลายไนซินที่มีความเข้มข้น 40,000 IU/ml โดยสารละลายไนซินที่ใช้จะต้องเตรียมใหม่ทุกครั้ง

6.1.3 การเตรียมตัวอย่างน้ำนม

นำสารละลายตัวอย่างเติมลงในน้ำนมดิบที่ความเข้มข้น 0 50 100 150 200 และ 250 IU/ml (ดังตารางที่ 12) แบ่งตัวอย่างน้ำนมใส่ขวดตัวอย่างพร้อมปิดฝา เก็บรักษาตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิควบคุม 10 °ซ ตรวจสอบคุณภาพของน้ำนมดิบทุก 3 วัน จนกระทั่งน้ำนมเสีย

ตารางที่ 12

การเตรียมตัวอย่างน้ำนมดิบที่ความเข้มข้นของไนซินระดับต่างๆ

ปริมาตรสารละลายไนซิน (มิลลิลิตร)	ปริมาตรน้ำนม (มิลลิลิตร)	ปริมาตรรวม (มิลลิลิตร)	ระดับความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)
0	1000	1,000	0
1.25	998.75	1,000	50
2.5	997.50	1,000	100
3.75	996.25	1,000	150
5.00	995.00	1,000	200
6.25	993.75	1,000	250

6.1.4 การตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส (Organoleptic Test)

(ทองยศ , 2536)

6.1.4.1 สี (Colour)

น้ำนมปกติมีสีขาวอมเหลือง หรือสีเหลืองอมขาว สีอื่นนอกจากนี้เป็นสีผิดปกติ เช่น สีน้ำเงิน สีแดงและสีน้ำตาลเข้ม เป็นต้น

6.1.4.2 กลิ่น (Flavour)

น้ำนมปกติมีกลิ่นคาวเล็กน้อย และกลิ่นหอมอ่อนๆ กลิ่นอื่นนอกจากนี้เป็นกลิ่นผิดปกติ เช่น กลิ่นเหม็นหืน กลิ่นหญ้าหรืออาหารโคและกลิ่นแปลกปลอมอื่นๆ เป็นต้น

6.1.4.3 รสชาติ (Taste)

น้ำนมปกติมีรสหวานเล็กน้อย และมีความมันของไขมันในน้ำนม รสอื่นๆ นอกจากนี้เป็นรสที่ผิดปกติ เช่น รสเปรี้ยว รสขม และรสเค็ม เป็นต้น

6.1.4.4 ลักษณะปรากฏ (Appearance)

น้ำนมปกติจะมีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน และอาจมีไขมันลอยอยู่บริเวณผิวหน้า ลักษณะอื่นนอกจากนี้เป็นลักษณะปรากฏที่ผิดปกติ เช่น น้ำนมเป็นลิ่ม มีเศษฟางหรือสิ่งผิดปกติที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่า เป็นต้น

6.1.5 การตรวจสอบคุณภาพทางเคมี

6.1.5.1 วัดค่าความเป็นกรดด่างของน้ำนม (pH)

โดย Electrode pH-meter

6.1.5.2 การตรวจสอบความเป็นกรดของน้ำนม (Acidity Test) (Robert ,1992)

ดูดตัวอย่างน้ำนม 17.6 มิลลิลิตร (ซึ่งเท่ากับน้ำนมหนัก 18 กรัม) ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 17.6 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน หยดฟีนอล์ฟทาลีน (phenolphthalein) 0.5 มิลลิลิตร นำไปไตเตรทด้วย โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 0.1 N. จนได้สีชมพูอ่อนเป็นเวลา 30 วินาที บันทึกปริมาณของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้นำไปคำนวนหาเปอร์เซนต์กรด โดยเทียบเป็นเปอร์เซนต์ของกรดแลคติก (Lactic acid) ในน้ำนมดังนี้

$$\%\text{กรดแลคติก} = \frac{0.9 \times \text{ml.NaOH}}{\text{g ของตัวอย่าง}}$$

6.1.5.3 **การตรวจสอบคุณภาพน้ำนมโดยทดสอบด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 68 (Alcohol Test)** (ทองยศ , 2536)

ดูดตัวอย่างน้ำนม 2 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดสอบ เติม 2 มิลลิลิตรของแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 68 เขย่าให้เข้ากันเอียงหลอด สังเกตการตกตะกอนของน้ำนมและบันทึกผลดังนี้

(-) Negative = น้ำนมไม่ตกตะกอน

(+) Positive = น้ำนมตกตะกอน

6.1.5.4 **การตรวจสอบคุณภาพน้ำนม โดยทดสอบการตกตะกอนหลังการต้ม (Clot-on-boiling)** (ทองยศ 2536)

ดูดตัวอย่างน้ำนม 2 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดสอบ นำมาผ่านความร้อนใน Water bath ที่อุณหภูมิ 100 °ซ เป็นเวลา 5 นาที สังเกตการตกตะกอนและบันทึกผลดังนี้

(-) Negative = น้ำนมไม่ตกตะกอน

(+) Positive = น้ำนมตกตะกอน

6.1.6 การตรวจสอบคุณภาพทางจุลินทรีย์

6.1.6.1 การตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) (Robert ,1992)

เจือจางตัวอย่างน้ำนมที่ต้องการทดสอบด้วยสารละลาย Phosphate buffer dilution water นำมาตรวจหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดด้วยวิธี Pour plate technique โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate count agar บ่มที่อุณหภูมิ 32 °ซ เป็นเวลา48 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ คำนวนหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร

6.1.6.2 การตรวจนับจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (Lactic acid bacteria) (Robert ,1992)

เจือจางตัวอย่างน้ำนมที่ต้องการตรวจสอบด้วยร้อยละ 0.1 Peptone water นำมาตรวจหาจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียด้วยวิธี Pour plate technique โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar เทวุ้นปิดทับบริเวณผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจนับโคโลนีที่เจริญอยู่ใต้วุ้นอาหาร คำนวนหาจำนวนแลคติคแอซิดแบคทีเรีย ต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร

6.1.6.3 การตรวจนับจำนวน *Staphylococcus aureus* (อดิศร , 2538 ; Merck ,1992)

เจือจางตัวอย่างน้ำนมที่ต้องการทดสอบด้วยสารละลาย Phosphate buffer dilution water ตรวจหาจำนวนเชื้อ *S. aureus* ด้วยวิธี Spread plate technique โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Mannitol salt agar ซึ่งมีส่วนผสมของไข่แดงปราศจากเชื้อ (Egg-yolk Emulsion Sterile) บ่มที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจนับโคโลนีที่มีลักษณะกลมนูน ผิวมัน มีลักษณะเหมือนไข่ดาว และบริเวณรอบโคโลนีจะมีสีเหลืองขุ่น คำนวนหาจำนวน *S. aureus* ต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร

6.1.6.4 **การตรวจนับจำนวน** *Bacillus cereus* (อดิศร , 2538 ; Merck ,1992)

เจือจางตัวอย่างน้ำนมที่ต้องการทดสอบด้วยสารละลาย Phosphate buffer dilution water ตรวจหาจำนวนเชื้อ *B. cereus* ด้วยวิธี Spread plate technique โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Cereus Selective agar Base ที่มีส่วนผสมของไข่แดงปราศจากเชื้อ (Egg-yolk Emulsion Sterile) และ Polymyxin-B-sulphate บ่มที่อุณหภูมิ 32 °ซ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจนับโคโลนีที่มีสีชมพู กลมนูน และมีผิวมัน รอบๆ โคโลนีมีตะกอนขุ่นสีชมพู คำนวนหาจำนวน *B. cereus* ต่อตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร

6.2 ศึกษาปริมาณการใช้ไนซินที่เหมาะสมในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์

6.2.1 การเตรียมตัวอย่างน้ำนมพาสเจอร์ไรส์

นำน้ำนมดิบที่เติมสารละลายไนซินที่ระดับความเข้มข้น 0 50 100 150 200 และ 250 IU/ml ใส่ขวดแก้วที่ผ่านการฆ่าเชื้อขวดละ 120 มิลลิลิตร ปิดฝา นำไปผ่านความร้อนใน Water bath ที่ควบคุมอุณหภูมิให้คงที่ 3 ระดับ คือ 60, 63 และ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ทำให้น้ำนมเย็นลงที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10 °ซ และเก็บตัวอย่างน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ไว้ที่อุณหภูมิควบคุม 10°ซ ตรวจสอบคุณภาพของน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ทางประสาทสัมผัส ทางเคมี และจุลินทรีย์ ทุก 3 วัน จนกระทั่งน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ทั้งหมดเสื่อมเสีย วิธีการทดลองแสดงดังภาพที่ 3

การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (CRD) โดยศึกษาระดับความเข้มข้นของไนซินที่เหมาะสม และการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ ได้แก่ 60, 63 และ 65 °ซ ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำการทดลอง

6.2.2 ตรวจสอบคุณภาพน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ทางประสาทสัมผัส

ดำเนินการตามข้อ 6.1.4

6.2.3 ตรวจสอบคุณภาพน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ทางเคมี

ดำเนินการตามข้อ 6.1.5

6.2.4 การตรวจสอบคุณภาพน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ทางจุลินทรีย์

ดำเนินการตามข้อ 6.1.6

ภาพที่ 3

การเตรียมตัวอย่างและการตรวจสอบคุณภาพของน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิต่างๆ ตอนที่ 6.2

น้ำนมดิบ

↓

เติมสารละลายไนซินที่ระดับความเข้มข้น 0, 50, 100, 150, 200 และ 250 IU/ml ในน้ำนมดิบ

↓

แบ่งถ่ายน้ำนมดิบใส่ขวดๆ ละ 120 มิลลิลิตร ปิดฝา

↓

นำมาผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 60,63 และ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที
ทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10 °ซ

↓

เก็บตัวอย่างน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่ 10 °ซ
ตรวจคุณภาพน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา
ทุก 3 วัน จนกระทั่งน้ำนมทั้งหมดเสื่อมเสีย

↓

ตรวจวิเคราะห์ทางเคมี	ตรวจคุณภาพทางประสาทสัมผัส	ตรวจวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์
• pH	• สี	• Standard plate count
• Acidity test	• กลิ่น	• Lactic acid bacteria
• 68 % Alcohol test	• รสชาติ	• *Staphylococcus aureus*
• Clot on boiling	• ลักษณะปรากฏ	• *Bacillus cereus*

6.3 ศึกษาปริมาณความเข้มข้นของไนซินที่เหลืออยู่ภายหลังการฆ่าเชื้อที่ระดับพาสเจอร์ไรส์ (นรีกุล และคณะ , 2530 ; Tramer และ Fowler , 1964)

นำตัวอย่างน้ำนมดิบและน้ำนมที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 63 และ 65 °ซ นาน 30 นาที ตามลำดับ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ มาตรวจหาความเข้มข้นของไนซินที่เหลืออยู่ในน้ำนมทุก 3 วัน ของการเก็บรักษา จนกระทั่งน้ำนมทั้งหมดเสื่อมเสีย ด้วยวิธี Agar diffusion test โดยหยดน้ำนมตัวอย่างบนกระดาษทดสอบซึ่งวางอยู่บนอาหารเลี้ยงเชื้อ Standard II nutrient agar ที่มีเชื้อ *Sarcinar lutia* (ATCC 9341) จากกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข ซึ่งมีความไวต่อไนซิน บ่มที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Clear zone เป็นมิลลิเมตร ทำการทดสอบทั้งหมด 8 ซ้ำ แผนการทดลองแสดงดังภาพที่ 4

6.3.1 การเตรียม *Sarcina lutia* (ATCC 9341)

เตรียมหลอดอาหารผิวเอียง (Slant) ของ Standard II nutrient agar ที่เติม 0.1 % KH_2PO_4 เขี่ยเชื้อ *Sarcina lutia* (ATCC 9341) ลงบนผิวอาหาร นำไปบ่มเพาะเชื้อที่ 30 °ซ 24 ชั่วโมง เก็บไว้ที่ 4 °ซ สามารถเก็บได้นาน 4 เดือน (IDF, 1986)

6.3.2 การเตรียม Culture suspension ของเชื้อ *Sarcina lutia* (ATCC 9341)

ดูดสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.85 % 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อจากข้อ 6.3.1 ใช้ Loop เกลี่ยเชื้อที่เจริญบนผิวอาหารให้ทั่ว ใช้ปิเปตดูด Culture suspension ดังกล่าว 0.1 มิลลิลิตร ลงใน Brain-Heart-Infusion 10 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 30 °ซ 24 ชั่วโมง นำมาตรวจหาความเข้มข้นของ *Sarcina lutia* (ATCC 9341) ใน suspension โดยวิธี Pour plate technique และวัดค่าการดูดกลืนแสง (Optical density, OD) ที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร โดยให้มีจำนวน *S. lutia* (ATCC 9341) ประมาณ 10^7 CFU/ml และมีค่าการดูดกลืนแสง โดยประมาณ 0.85

6.3.3 การเตรียมจานทดสอบ (Test plate)

เติม Culture suspension จากข้อ 6.3.2 ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Standard II nutrient agar ที่เติม 0.1 % KH_2PO_4 ที่ pH 8.0 โดยให้มีความเข้มข้นของเชื้อ 10^5 CFU/ml ที่อุณหภูมิ 50-55 °ซ ใช้ปิเปตดูดลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ จานละ 5 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ให้เย็น จานทดสอบนี้สามารถเก็บไว้ได้นาน 1 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4 °ซ (IDF, 1986)

6.3.4 การทดสอบ

ดูดน้ำนมที่ต้องการทดสอบจำนวน 90 ไมโครลิตร ลงบนกระดาษทดสอบเบอร์ 4 (paper disc) ที่มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 12.7 มิลลิลิตร เบอร์ 4 วางบนอาหารเลี้ยงเชื้อในจานทดสอบ นำมาบ่มที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง วัดขนาดของ Clear zone เปรียบเทียบกับสารละลายไนซินมาตรฐาน

ภาพที่ 4.

แสดงขั้นตอนการเตรียมและวิธีการตรวจหาปริมาณความเข้มข้นของไนซินตอนที่ 6.3

น้ำนมดิบ

เติมสารละลายไนซิน 0, 50, 100, 150, 200 และ 250 IU/mlในน้ำนมดิบ
นำน้ำนมดิบมาผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 60, 63 และ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที
เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

นำตัวอย่างดังกล่าวมาทดสอบประสิทธิภาพของไนซินทุกๆ 3 วัน โดยหยดตัวอย่าง
น้ำนมดิบ, น้ำนมพาสเจอร์ไรส์ และสารละลายไนซินมาตรฐาน 0,50, 100, 150,
200, และ250 IU/ml ตัวอย่างละ 90 ไมโครลิตร บนกระดาษกรอง

วางลงบนอาหาร Standard II nutrient agar ที่มี
Sarcina luteus (ATCC 9341) (10^5 CFU/ml)

บ่มที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

วัดขนาด Clear zone เปรียบเทียบกับสารละลายไนซินมาตรฐาน

6.4 ศึกษาผลของไนซินต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่สร้างสปอร์และทนความร้อนในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ ได้แก่ *B. cereus*

การศึกษาผลของไนซินต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่สร้างสปอร์และทนความร้อน โดยเติม Spore suspension ของ *B. cereus* ที่มีความเข้มข้นประมาณ 10^2 spore/ml ลงในน้ำนมดิบ เติมสารละลายไนซินที่ระดับความเข้มข้น 0 50 100 150 200 และ 250 IU/ml นำตัวอย่างน้ำนมมาผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 60 63 และ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ทำให้น้ำนมเย็นที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10 °ซ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิควบคุม 10 °ซ นำมาตรวจหาจำนวน *B. cereus* ทุกๆ 3 วันของการเก็บรักษา จนกระทั่งน้ำนมเสื่อมเสีย วิธีการทดลองแสดงดังภาพที่ 5

6.4.1 การเตรียมเชื้อ *B. cereus* (Wajid และ Kalra 1976)

เตรียมหลอดอาหารผิวเอียง (Slant) ของ Yeast extract peptone dextrose agar (YPD) เขี่ยเชื้อ *B. cereus* ลงบนผิวอาหารนำไปบ่มที่ 37 °ซ เป็นเวลา 6 วัน เก็บที่อุณหภูมิ 2-5 °ซ

6.4.2 การเตรียม Spore suspensions (Wajid และ Kalra 1976)

ดูดน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อ 3 มิลลิลิตร ลงในหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อจากข้อ 6.4.1 ใช้ loop เกลี่ยเชื้อที่เจริญอยู่บนผิวหน้าให้ทั่ว ใช้ปิเปตดูด Spore suspensions ใส่หลอดทดลองที่มีฝาปิด นำไปแช่ใน Water bath ที่อุณหภูมิ 80 °ซ เป็นเวลา 20 นาที เพื่อทำลายเซลล์และกระตุ้นการงอกของสปอร์ นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 610 นาโนเมตร โดยวัด % Transmittance เท่ากับ 50 % โดยให้มีจำนวนสปอร์ประมาณ 10^2 spores/ml

6.4.3 การเตรียมตัวอย่างน้ำนมพาสเจอร์ไรส์

เติม Spore suspensions จากข้อ 6.5.2 ลงในน้ำนมดิบ เติมสารละลายไนซินที่ระดับความเข้มข้น 0 50 100 150 200 และ 250 IU/ml นำไปผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 60 63 และ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที เก็บตัวอย่างน้ำนมดังกล่าวที่อุณหภูมิ 10 °ซ ตรวจสอบคุณภาพทุก 3 วัน ของการเก็บรักษา จนกระทั่งน้ำนมเสียทั้งหมด

6.4.4 ตรวจนับจำนวน *B. cereus*

ดำเนินการตามข้อ 6.1.6.4

6.5 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

นำผลที่ได้มาวิเคราะห์หาค่าความแตกต่างทางสถิติโดยวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance, ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของแต่ละทรีตเมนต์โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test โดยใช้โปรแกรม SAS

ภาพที่ 5
แสดงขั้นตอนการเตรียมตัวอย่างและการตรวจสอบคุณภาพน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ตอนที่ 6.4

น้ำนมดิบ

↓

เติมสารละลายไนซินที่ระดับความเข้มข้น 0, 50, 100, 150, 200 และ 250 IU/ml

↓

เติม Spore suspensions ของ *B. cereus* (10^2 spore /ml)

↓

นำน้ำนมมาผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 60, 63 และ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที

↓

ตรวจนับจำนวน *B. cereus* ทุก 3 วันของการเก็บรักษา
จนกระทั่งน้ำนมเสื่อมเสีย

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. ปริมาณการใช้ไนซินที่เหมาะสมในการยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมดิบ

1.1 การตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ตารางที่ 13

แสดงคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำนมดิบ

ความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	ระยะเวลาที่น้ำนมแสดงคุณภาพปกติ (วัน)	ลักษณะทางประสาทสัมผัสของน้ำนมที่ผิดปกติ
0	<3	มีกลิ่นนมบูด รสเปรี้ยว แยกชั้นและเกิดฟองอากาศ
50	<3	มีกลิ่นนมบูด รสเปรี้ยว แยกชั้นและเกิดฟองอากาศ
100	<3	มีกลิ่นนมบูด รสเปรี้ยว แยกชั้นและเกิดฟองอากาศ
150	<3	มีกลิ่นนมบูด รสเปรี้ยว แยกชั้นและเกิดฟองอากาศ
200	3	มีกลิ่นนมบูด รสเปรี้ยว แยกชั้นและเกิดฟองอากาศ
250	3	มีกลิ่นนมบูด รสเปรี้ยว แยกชั้นและเกิดฟองอากาศ

ผลการทดลองเติมสารละลายไนซินที่ความเข้มข้น 0 50 100 150 200 และ 250 IU/ml ในน้ำนมดิบและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ เก็บตัวอย่างมาตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส ดังแสดงในตารางที่ 13 ได้ผลการทดลองดังนี้

1.1.1 สี : พบว่า สีของน้ำนมดิบที่เติมไนซินที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ไม่แตกต่างจากน้ำนมดิบที่ไม่ได้เติมไนซิน และเมื่อเก็บน้ำนมดิบไว้ 6 วัน สีของไขมันเนยที่อยู่บริเวณด้านบนจะมีสีเข้มขึ้นตามไปด้วย ซึ่งเป็นผลมาจากการรวมหยดไขมันเล็กๆ เป็นหยดไขมันที่มีขนาดใหญ่ขึ้น ทำให้การสะท้อนแสงของหยดไขมันลดลง น้ำนมจึงมีสีเข้มขึ้น (Harper,1976)

1.1.2 กลิ่น : ภายหลังจากเติมไนซินในน้ำนมดิบไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกลิ่นในน้ำนมทุกระดับความเข้มข้นของไนซิน แต่เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 3 วัน ที่ความเข้มข้น 0 50 100และ 150 IU/ml น้ำนมเริ่มมีกลิ่นเปรี้ยว ส่วนที่ความเข้มข้นของไนซิน 200 และ 250 IU/ml น้ำนมยังคงมีกลิ่นปกติ และเมื่อเก็บไว้น้ำนมดิบเป็นเวลา 6 วัน น้ำนมมีกลิ่นเปรี้ยวและเหม็นหืนทุกระดับความเข้มข้นของไนซิน ซึ่งเกิดจากเอนไซม์ไลเปสที่มีอยู่ในน้ำนม และจากจุลินทรีย์ในกลุ่มไซโครโทรปที่ปนเปื้อนมากับน้ำนมดิบ เอนไซม์เหล่านี้จะเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซีสของไตรกลีเซอร์ไรด์ทำให้เกิดกรดไขมันอิสระขึ้น ซึ่งเป็นสาเหตุของกลิ่นหืนในน้ำนมดิบ (Goff และ Hill ,1993)

1.1.3 รสชาติ : น้ำนมดิบที่ผ่านการเติมไนซินทุกระดับความเข้มข้นมีรสชาติปกติ และเมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 3 วัน พบว่า ที่ความเข้มข้นของไนซิน 0 50 100 และ 150 IU/ml น้ำนมมีรสเปรี้ยวเล็กน้อย ส่วนที่ความเข้มข้น 200 และ 250 IU/ml น้ำนมยังมีรสชาติปกติ เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 6 วัน ที่ความเข้มข้น 0 50 100 150 200 และ 250 IU/ml น้ำนมมีรสเปรี้ยวที่เด่นชัด และมีรสขมเล็กน้อย ทั้งนี้ผลดังกล่าวอาจเกิดจากจุลินทรีย์ในกลุ่มที่สามารถจะใช้น้ำตาลแลคโตสที่มีในน้ำนมผลิตกรดแลคติค โดยให้รสเปรี้ยวและขมของน้ำนมดิบ ซึ่งจากรายงานของ Robinson (1981 a,b) รายงานว่าจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในกลุ่มนี้ ได้แก่ *Streptococcus spp., Lactobacillus spp., Leuconostoc spp., Micrococcus spp., Mycobacterium spp.* และกลุ่มของ *Coliform bacteria*

1.1.4 ลักษณะปรากฏ : น้ำนมดิบที่ผ่านการเติมไนซิน มีลักษณะเป็นปกติ ในทุกระดับความเข้มข้น แต่เมื่อเก็บรักษาน้ำนมเป็นเวลา 3 วัน ที่ความเข้มข้น 0 50 100 และ 150 IU/ml น้ำนมมีการแยกชั้น โดยชั้นของไขมันเนยบริเวณผิวหน้าจะมีฟองอากาศเล็กๆ แทรกอยู่ ส่วนที่ความเข้มข้น 200 และ 250 IU/ml ไม่พบฟองอากาศแทรกอยู่ในชั้นของไขมันเนย และเมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 6 วัน พบว่า มีฟองอากาศแทรกอยู่ในชั้นของไขมันเนย และโปรตีนในน้ำนมเริ่มเป็นลิ่มอ่อนๆ เมื่อคนเบาๆ จะรวมกันเป็นเนื้อเดียวกันทุกระดับความเข้มข้นของไนซิน ทั้งนี้น่าจะเป็นผลมาจากจุลินทรีย์ในกลุ่มที่สามารถผลิตกรดและก๊าซในขณะที่มีการเจริญเติบโต ซึ่งทำให้เกิดฟองก๊าซ และน้ำนมเริ่มเป็นลิ่มอ่อนๆ ซึ่งจากรายงานของ Robinson (1981 a,b) รายงานว่าจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ ได้แก่ *Coliform* bacteria และ *Micrococcus spp.* ยีสต์บางชนิด รวมทั้งแบคทีเรียแลคติค ชนิด Heterofermentative ได้แก่ *Lactobacillus* และ *Leuconostoc*

จากผลการตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำนมดิบในเบื้องต้น พบว่า ความเข้มข้นของไนซินที่เหมาะสมอยู่ระหว่าง 200 และ 250 IU/ml โดยสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของน้ำนมดิบไว้ได้เป็นระยะเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิ 10 °ซ ซึ่ง สี กลิ่น รสชาติ และลักษณะปรากฏ ของน้ำนมยังคงปกติ ส่วนที่ความเข้มข้นของไนซิน 0 50 100 และ 150 IU/ml พบว่า คุณภาพของน้ำนมดิบจะเริ่มเปลี่ยนแปลงเมื่อเก็บรักษาไว้ 3 วัน และแสดงให้เห็นอย่างชัดเจน เมื่อเก็บน้ำนมไว้ 6 วัน

1.2 การตรวจสอบคุณภาพทางเคมี

1.2.1 ความเป็นกรด-ด่าง ของน้ำนมดิบ (pH)

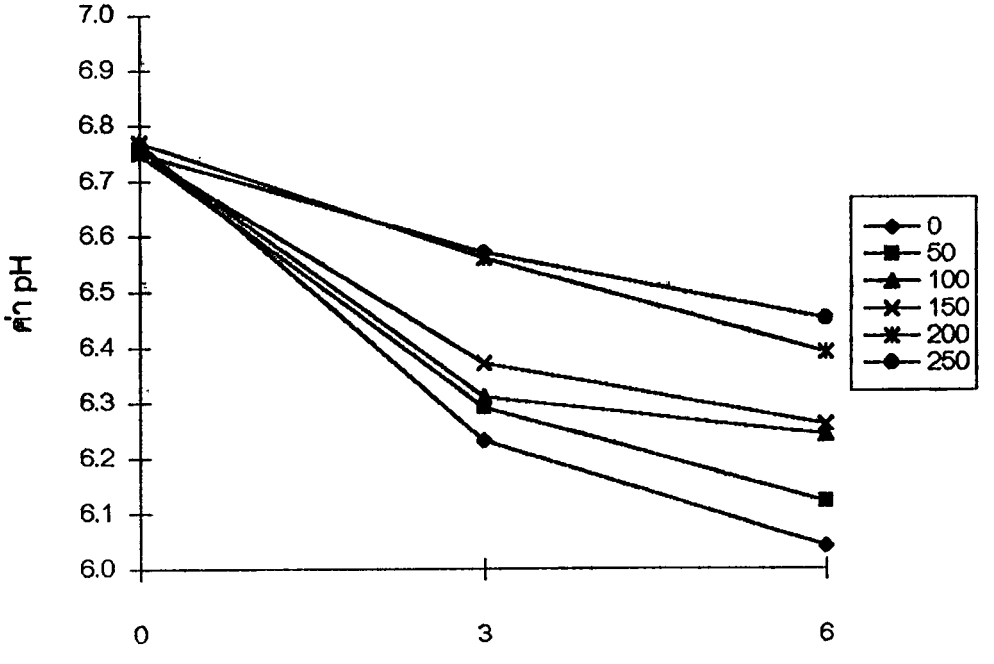
ผลการวัดค่า pH ของน้ำนมดิบภายหลังจากการเติมไนซินที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 0 วัน ดังแสดงในภาพที่ 6 มีค่าอยู่ระหว่าง 6.75 - 6.77 ใกล้เคียงกับน้ำนมปกติ ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 6.5 - 6.7 (สุจิตรา , 2536) เมื่อเก็บน้ำนมดิบไว้เป็นระยะเวลา 3 และ 6 วัน ค่า pH ของน้ำจะมลดลงตามระยะเวลาการเก็บที่เพิ่มขึ้น โดยที่ความเข้มข้นของไนซิน 0 50 100 และ 150 IU/ml เมื่อเก็บไว้เป็นระยะเวลา 3 วัน ให้ค่า pH ต่ำกว่าน้ำนมปกติ ในขณะที่ความเข้มข้น 200 และ 250 IU/ml ค่า pH ของน้ำนมยังอยู่ในเกณฑ์ปกติ และเมื่อเก็บน้ำนมดิบเป็นเวลา 6 วัน น้ำนมตัวอย่างทั้งหมดมีค่า pH ต่ำกว่ามาตรฐานของน้ำนมปกติ

1.2.2 ความเป็นกรดของน้ำนมดิบ (Acidity Test)

จากผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 7 พบว่า ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาน้ำนมดิบ 0 วัน น้ำนมมีความเป็นกรดอยู่ระหว่าง 0.12 - 0.13 % ซึ่งน้ำนมดิบปกติจะมีความเป็นกรดอยู่ระหว่าง 0.12 - 0.18 % (มานิตย์ , 2529 ; วรรณา , 2536) และเมื่อเก็บน้ำนมดิบไว้เป็นระยะเวลา 3 และ 6 วัน พบว่า ความเป็นกรดของน้ำนมดิบเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษา ซึ่งผลดังกล่าวสัมพันธ์กับ pH ของน้ำนมดิบในการทดลองที่ 1.2.1 กล่าวคือ เมื่อ pH ของน้ำนมลดลง ความเป็นกรดของน้ำนมเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานออกไป และที่ระดับความเข้มข้นของไนซิน 0 50 100 และ 150 IU/ml ให้ค่าความเป็นกรดสูงกว่าปกติในวันที่ 3 ของการเก็บรักษา ในขณะที่ความเข้มข้น 200 และ 250 IU/ml ความเป็นกรดยังอยู่ในระดับปกติ และเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 6 วัน ค่าความเป็นกรดของน้ำนมตัวอย่างทั้งหมดสูงกว่าปกติ ซึ่งผลการเพิ่มขึ้นของความเป็นกรดในน้ำนมดิบเป็นผลมาจากการใช้น้ำตาลแลคโตสและผลิตกรดแลคติคขึ้นในน้ำนม

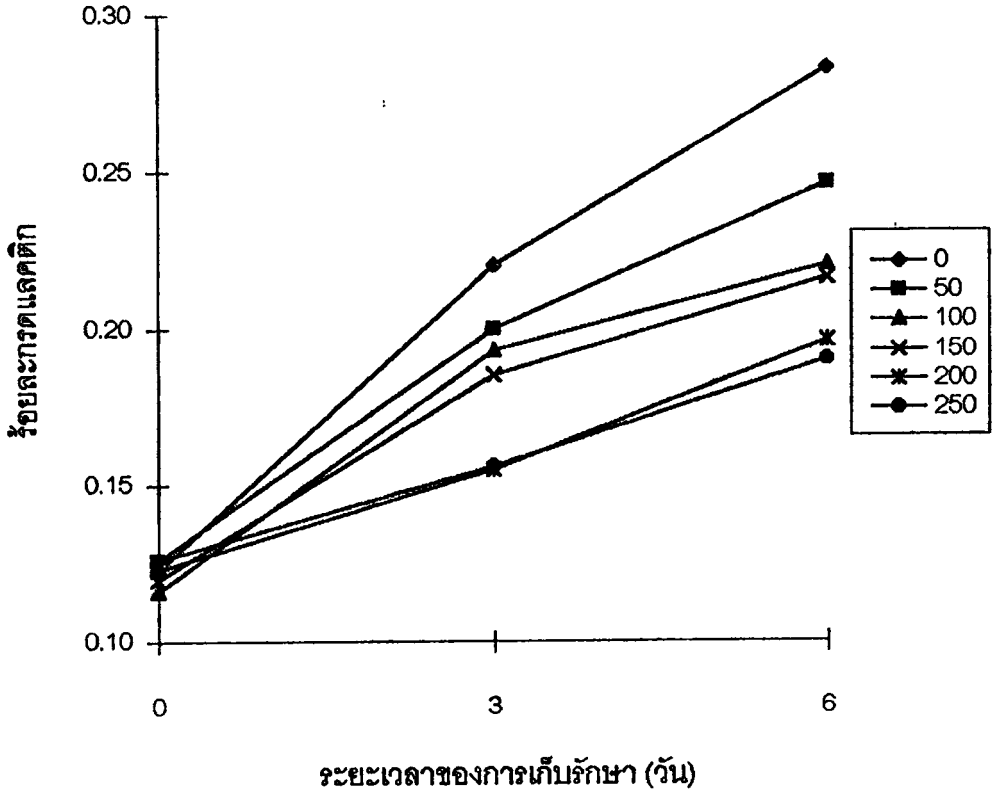
ซึ่งจากรายงานของ Robinson (1981 a,b) รายงานว่าจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ ได้แก่ แบคทีเรียแลคติก (Lactic acid bacteria), *Coliform, Micrococcus, Mycobacterium* และ *Bacillus*

ภาพที่ 6



ความสัมพันธ์ระหว่างค่า pH ของน้ำนมดิบที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน และระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ภาพที่ 7



ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละกรดแลคติกของน้ำนมดิบที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน และระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

1.2.3 การทดสอบด้วยแอลกอฮอล์ 68% (Alcohol 68% Test)

ตารางที่ 14

การตกตะกอนของน้ำนมดิบที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน ด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 68 ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	การตกตะกอนของน้ำนมดิบที่ระดับความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml) ด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 68					
	0	50	100	150	200	250
0	-	-	-	-	-	-
3	+	+	+	+	-	-
6	+	+	+	+	+	+

หมายเหตุ : (-) negative = น้ำนมไม่ตกตะกอนเมื่อทดสอบ
(+) positive = น้ำนมตกตะกอนเมื่อทดสอบ

ผลการทดสอบด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 68 พบว่า เมื่อเก็บน้ำนมดิบไว้ 0 วัน น้ำนมที่ทุกระดับความเข้มข้นของไนซินไม่เกิดการตกตะกอน เมื่อเก็บน้ำนมไว้เป็นเวลา 3 วัน ที่ความเข้มข้นของไนซิน 0 50 100 และ 150 IU/ml น้ำนมตกตะกอนเป็นเกล็ดขนาดเล็ก ส่วนที่ความเข้มข้น 200 และ 250 IU/ml พบว่า น้ำนมไม่ตกตะกอนดังแสดงในตารางที่ 14 ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการทดลองที่ 1.2.2 กล่าวคือ เมื่อความเป็นกรดของน้ำนมเพิ่มขึ้นและมีค่าสูงกว่าร้อยละ 0.18 การทดสอบด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 68 จะส่งผลให้โปรตีนที่มีอยู่ในน้ำนมตกตะกอน (มานิตย์ , 2529 ; วรรณา , 2536) และเมื่อเก็บรักษาน้ำนมไว้เป็นระยะเวลา 6 วัน พบว่า โปรตีนในน้ำนมตกตะกอนเมื่อทดสอบด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 68 ที่ทุกระดับความเข้มข้นของไนซิน เนื่องจากความเป็นกรดของน้ำนมที่เพิ่มขึ้นส่งผลต่อโปรตีนที่มีในน้ำนม ซึ่งไม่สามารถรักษาสภาพความคงตัวไว้ได้ และทำให้เกิดการตกตะกอน

1.2.4 การทดสอบการตกตะกอนหลังการต้ม (Clot - on - Boiling)

ตารางที่ 15

ผลการทดสอบการตกตะกอนหลังการต้มน้ำนมดิบที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	การตกตะกอนหลังการต้มของน้ำนมดิบที่ระดับความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)					
	0	50	100	150	200	250
0	-	-	-	-	-	-
3	+	+	+	+	-	-
6	+	+	+	+	+	+

หมายเหตุ : (-) negative = น้ำนมไม่ตกตะกอนเมื่อทดสอบ
(+) positive = น้ำนมตกตะกอนเมื่อทดสอบ

จากตารางที่ 15 แสดงผลการทดสอบการตกตะกอนหลังการต้มของน้ำนมดิบที่เติมไนซิน และเก็บไว้เป็นเวลา 0 วัน พบว่า โปรตีนในน้ำนมมีความคงตัวไม่ตกตะกอน ซึ่งให้ผลเป็นปกติทุกระดับความเข้มข้น และเมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 3 วันที่ระดับความเข้มข้น 0 50 100 และ150 IU/ml โปรตีนในน้ำนมเกิดการตกตะกอนหลังจากการต้ม ส่วนที่ความเข้มข้น 200 และ 250 IU/ml พบว่า โปรตีนในน้ำนมคงตัวไม่เกิดการตกตะกอนหลังการต้ม ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองที่ 1.2.2 กล่าวคือ เมื่อความเป็นกรดของน้ำนมเพิ่มขึ้นสูงกว่าร้อยละ 0.18 โปรตีนที่มีในน้ำนมไม่สามารถจะคงตัวอยู่ได้ และตกตะกอน (มานิตย์ , 2529 ; วรรณา , 2536) เมื่อเก็บน้ำนมดิบเป็นเวลา 6 วัน พบว่า โปรตีนในน้ำนมที่ทุกระดับความเข้มข้นของไนซินตกตะกอนทั้งหมด

จากผลการตรวจสอบคุณภาพทางเคมี ได้แก่ pH ความเป็นกรด การทดสอบด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 68 และการทดสอบการตกตะกอนหลังการต้มของน้ำนมดิบ พบว่า ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาน้ำนมดิบ 0 วัน ผลการทดสอบที่ได้ให้ค่าปกติ แสดงให้เห็นว่าการเติมสารละลายไนซินที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ ไม่ทำให้คุณสมบัติทางเคมีของน้ำนมดิบเปลี่ยนแปลงไป

แต่เมื่อเก็บน้ำนมดิบไว้เป็นเวลา 3 วัน ที่ความเข้มข้นของไนซิน 0 50 100 และ 150 IU/ml น้ำนมเริ่มเสียและแสดงสภาวะความไม่คงตัวของโปรตีนในน้ำนม ส่วนที่ความเข้มข้นของไนซิน 200 และ 250 IU/ml ผลการทดสอบยังคงให้ค่าที่เป็นปกติ ซึ่งสามารถยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมไว้ได้ 3 วัน และการเก็บรักษาน้ำนมดิบเป็นเวลา 6 วัน พบว่า ตัวอย่างน้ำนมดิบทั้งหมดเสื่อมเสีย โดยให้ผลสอดคล้องกับการทดลองที่ 1.1 กล่าวคือ น้ำนมดิบเริ่มเสียเมื่อเก็บรักษาน้ำนมดิบไว้เป็นระยะเวลา 3 วัน และเสื่อมเสียทั้งหมดเมื่อเก็บไว้เป็นระยะเวลา 6 วัน

1.3 การตรวจสอบคุณภาพทางจุลินทรีย์

1.3.1 จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count)

ตารางที่ 16

จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำนมดิบที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน (log CFU/ml) ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (log CFU/ml) [1/] ระยะเวลาของการเก็บรักษา (วัน)		
	0	3	6
0	6.10[a]	6.84[a]	7.05[a]
50	6.22[a]	5.99[b]	6.80[b]
100	6.14[a]	5.98[b]	6.01[c]
150	6.23[a]	5.89[b]	5.98[c]
200	6.16[a]	5.85[b]	5.96[c]
250	6.19[a]	5.87[b]	5.97[c]

หมายเหตุ : [1/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$)

จากตารางที่ 16 พบว่า จำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นในน้ำนมดิบ ที่ไม่เติมไนซิน และที่เติมไนซินที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 200 และ 250 IU/ml มีจำนวนอยู่ระหว่าง 6.10 - 6.23 log CFU/ml ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

เมื่อเก็บน้ำนมดิบเป็นเวลา 3 วัน พบว่า น้ำนมดิบที่ไม่ได้เติมไนซิน มีค่าเฉลี่ยของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดสูงกว่า น้ำนมดิบที่ผ่านการเติมไนซินในทุกระดับความเข้มข้น และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ระหว่างตัวอย่างที่มีการเติมไนซินที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 200 และ 250 IU/ml พบว่า เมื่อความเข้มข้นของไนซินเพิ่มขึ้นจำนวนจุลินทรีย์มีแนวโน้มลดลง

การเก็บรักษาน้ำนมดิบเป็นเวลา 6 วัน พบว่าน้ำนมดิบที่ไม่ได้เติมไนซิน มีค่าเฉลี่ยของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดสูงกว่าน้ำนมดิบที่เติมไนซินอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และน้ำนมดิบที่มีความเข้มข้นของไนซิน 50 IU/ml มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดสูงกว่าน้ำนมดิบที่เติมไนซิน 100 150 200 และ 250 IU/ml

จากผลการทดลองดังกล่าว แสดงให้เห็นว่าไนซินที่ระดับความเข้มข้น 50 IU /ml สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำนมดิบลงได้ในระยะเวลา 3 วันแรกของการเก็บรักษา และที่ความเข้มข้น 100 150 200 และ 250 IU/ml สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ถึง 6 วัน จากรายงานของ Kordel และคณะ (1989) ระบุว่าการเสื่อมเสียของน้ำนมมาจากกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการต้านทานไนซินได้ดี ซึ่งได้แก่ แบคทีเรียแกรมลบ ที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิต่ำ เช่น *Pseudomonas spp.* และ *Escherichia spp.* ซึ่งมีเยื่อหุ้มเซลล์ชั้นนอกที่ทำหน้าที่ในการป้องกันไนซินเข้าสู่เซลล์และแบคทีเรียแลคติคบางสายพันธุ์ โดยเฉพาะ *Lactococcus lactis* และ *Streptococcus spp.* ซึ่งสามารถผลิตสารไนซิน และสามารถต้านทานสารที่ผลิตขึ้น

1.3.2 จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (Lactic acid bacteria)

ตารางที่ 17

จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (log CFU/ml) ในน้ำนมดิบที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (log CFU/ml) [1/] ระยะเวลาของการเก็บรักษา (วัน)		
	0	3	6
0	4.87[a]	5.13[a]	5.34[a]
50	4.89[a]	4.68[b]	4.74[b]
100	4.86[a]	4.65[b]	4.59[b]
150	4.84[a]	4.41[b]	4.15[c]
200	4.88[a]	4.36[b]	4.09[c]
250	4.86[a]	4.28[b]	4.13[c]

หมายเหตุ : [1/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$)

จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียในน้ำนมดิบที่ไม่ได้เติม และเติมไนซินในระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่ 0 วัน มีจำนวนอยู่ระหว่าง 4.84 - 4.89 log CFU/ml ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 17 ภายหลังการเก็บน้ำนมดิบเป็นเวลา 3 วัน พบว่า น้ำนมดิบที่ไม่ได้เติมไนซินมีค่าเฉลี่ยของจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียสูงกว่า น้ำนมดิบที่ผ่านการเติมไนซินทุกระดับความเข้มข้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ชี้ให้เห็นว่าไนซินสามารถยับยั้งและทำลายแบคทีเรียดังกล่าวได้ และเมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 6 วัน พบว่าน้ำนมดิบที่ไม่ได้เติมไนซินมีจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียสูงกว่าในน้ำนมดิบที่เติมไนซินทุกระดับความเข้มข้น ส่วนน้ำนมที่เติมไนซินทุกระดับความเข้มข้นมีจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียต่ำกว่าจำนวนเชื้อเริ่มต้น โดยที่ความเข้มข้นของไนซิน 50 และ100 IU/ml มีค่าเฉลี่ยของแลคติกแอซิดแบคทีเรียในน้ำนมดิบไม่ต่างกัน แต่จะแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับน้ำนมดิบที่เติมไนซิน 150 200 และ 250 IU/ml

1.3.3 จำนวนเชื้อ *Staphylococcus aureus*

ตารางที่ 18

จำนวน เชื้อ *Staph. aureus* (log CFU/ml) ในน้ำนมดิบที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	จำนวนเชื้อ *Staph. aureus* (log CFU/ml) [1/] ระยะเวลาของการเก็บรักษา (วัน)		
	0	3	6
0	3.83[a]	4.16[a]	4.38[a]
50	3.80[a]	3.91[b]	4.05[b]
100	3.81[a]	3.92[b]	3.77[c]
150	3.80[a]	3.88[b]	3.64[c]
200	3.79[a]	3.30[c]	3.15[d]
250	3.82[a]	3.32[c]	3.08[d]

หมายเหตุ : [1/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$)

ผลการทดลองตรวจนับจำนวน *Staph. aureus* ในน้ำนมดิบทั้งที่ไม่ได้เติมและเติมไนซินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ภายหลังการเก็บที่ 0 วัน พบว่ามีจำนวน *Staph. aureus* อยู่ระหว่าง 3.79 - 3.83 log CFU/ml ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติดังแสดงในตารางที่ 18

ภายหลังการเก็บน้ำนมดิบเป็นเวลา 3 วัน พบว่า น้ำนมดิบที่ไม่ได้เติมไนซินมีค่าเฉลี่ยของจำนวน *Staph. aureus* สูงกว่าน้ำนมดิบที่ผ่านการเติมไนซินที่ทุกระดับความเข้มข้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ที่ความเข้มข้นของไนซิน 50 100 และ 150 IU/ml พบว่า ค่าเฉลี่ยของจำนวน *Staph. aureus* ไม่แตกต่างกัน แต่จะแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับไนซินที่ความเข้มข้น 200 และ 250 IU/ml

เมื่อเก็บน้ำนมไว้ 6 วัน พบว่า น้ำนมดิบที่ไม่ได้เติมไนซินมีค่าเฉลี่ยของจำนวน *Staph. aureus* สูงกว่าน้ำนมดิบที่เติมไนซินที่ทุกระดับความเข้มข้น และจำนวน *Staph. aureus* ที่ตรวจพบลดลงเมื่อความเข้มข้นของไนซินเพิ่มขึ้นตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างน้ำนมที่เติมไนซิน พบว่า ที่ความเข้มข้นของไนซิน 50 IU/ml มีจำนวน *Staph. aureus* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับที่ความเข้มข้น 100 150 200 และ 250 IU/ml โดยน้ำนมที่เติมไนซิน 100 และ 150 IU/ml ให้ผลในการยับยั้งได้ไม่แตกต่างกัน แต่จะแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อความเข้มข้นของไนซิน เพิ่มขึ้นเป็น 200 และ 250 IU/ml

จากการทดลองข้างต้น แสดงว่าที่ความเข้มข้น 100 และ 150 IU/ml หรือสูงกว่าขึ้นไป สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อภายหลังการเก็บน้ำนมไว้ 3 วันและทำลาย *Staph. aureus* ได้เมื่อเก็บรักษาน้ำนมดิบไว้เป็นระยะเวลา 6 วัน ซึ่งผลการทดลองข้างต้นสอดคล้องกับ Mattick และ Hirsh (1947) ความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Staph. aureus* คือ 100 IU/ml และที่ความเข้มข้นของไนซิน 200 และ 250 IU/ml สามารถทำลาย *Staph. aureus* ได้เมื่อเก็บน้ำนมไว้ 3 และ 6 วัน ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับรายงานของ Broadbent และคณะ (1989) คือ ความเข้มข้นของไนซินต่ำสุดที่มีฤทธิ์ในการทำลาย *Staph. aureus* มีค่าเท่ากับ 50 µg/ml (200 IU/ml)

1.3.4 จำนวนเชื้อ *Bacillus cereus*

ตารางที่ 19

จำนวนเชื้อ *B. cereus* (log CFU/ml) ในน้ำนมดิบที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	จำนวนเชื้อ *B. cereus* (log CFU/ml) [1/]		
	ระยะเวลาของการเก็บรักษา (วัน)		
	0	3	6
0	3.20[a]	3.35[a]	3.65[a]
50	3.21[a]	3.30[a]	3.62[a]
100	3.23[a]	3.31[a]	3.63[a]
150	3.17[a]	3.07[b]	2.97[b]
200	3.19[a]	3.10[b]	2.91[b]
250	3.14[a]	3.03[b]	2.89[b]

หมายเหตุ : [1/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p = 0.05)

ผลการตรวจเชื้อ *B. cereus* ในน้ำนมดิบที่ระดับความเข้มข้นของไนซิน 0 50 100 150 200 และ 250 IU/ml ภายหลังการเก็บเป็นเวลา 0 วัน ดังแสดงในตารางที่ 19 พบว่า มีจำนวน *B. cereus* อยู่ระหว่าง 3.14 - 3.23 log CFU/ml ซึ่งไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ภายหลังการเก็บน้ำนมดิบเป็นเวลา 3 วันและ 6 วัน พบว่า น้ำนมดิบที่เติมไนซิน 0 50 และ 100 IU/ml มีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของ *B. cereus* ตามระยะเวลาของการเก็บรักษา แต่ที่ความเข้มข้น 150 200 และ 250 IU/ml จำนวนเชื้อ *B. cereus* ลดลงจากจำนวนเชื้อเริ่มต้น สอดคล้องกับรายงานของ Gupta และคณะ (1972) และ Linpinska (1977) ซึ่งรายงานว่า *B. cereus* มีความสามารถต้านทานไนซินที่มีระดับความเข้มข้นต่ำๆ และสามารถสร้างสปอร์ที่มีความต้านทานไนซินได้ดี โดยระดับความเข้มข้นของไนซินที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *B. cereus* มีค่าสูงกว่า 100 IU/ml ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการทดลองที่แสดงข้างต้น

จากผลการตรวจสอบคุณภาพของน้ำนมดิบทางประสาทสัมผัส (ตอนที่ 1.1) ทางเคมี (ตอนที่ 1.2) และทางจุลินทรีย์ (ตอนที่ 1.3) พบว่าให้ผลการทดลองสอดคล้องกันดังนี้ คือ น้ำนมที่เติมไนซิน 0 50 100 และ150 IU/ml ภายหลังจากเก็บน้ำนมเป็นเวลา 3 วัน น้ำนมมีลักษณะทางประสาทสัมผัสที่ผิดปกติ ความเป็นกรดของน้ำนมเพิ่มขึ้นสูงกว่าร้อยละ 0.18 ค่า pH ของน้ำนมลดลง ซึ่งส่งผลให้โปรตีนที่มีอยู่ในน้ำนมไม่คงตัวโดยจะตกตะกอนเมื่อทดสอบด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 68 และการทดสอบการตกตะกอนหลังการต้ม และผลการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น ส่วนตัวอย่างที่เติมไนซินที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 250 IU/ml พบว่าสามารถยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมดิบได้ถึง 3 วัน โดยผลการตรวจคุณภาพดังกล่าวยังคงมีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของน้ำนมปกติ ซึ่งชี้ให้เห็นว่าความเข้มข้นของไนซินที่เหมาะสมในการนำไปใช้สำหรับน้ำนมดิบ ควรใช้ความเข้มข้นของไนซินที่ระดับความเข้มข้น 200-250 IU/ml ซึ่งสามารถจะยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมดิบได้ถึง 3 วันที่อุณหภูมิ 10 °ซ

2. ปริมาณการใช้ไนซินที่เหมาะสมในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์

2.1 การตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส

2.1.1 น้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที

ตารางที่ 20
แสดงคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำนมพาสเจอร์ไรส์
ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที

ความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	ระยะเวลาที่น้ำนมแสดงคุณภาพปกติ (วัน)	ลักษณะทางประสาทสัมผัสของน้ำนมที่ผิดปกติ
0	6	มีกลิ่นนมบูด และรสเปรี้ยว
50	6	มีกลิ่นนมบูด และรสเปรี้ยว
100	9	มีกลิ่นนมบูด รสเปรี้ยวและขม
150	9	มีกลิ่นนมบูด รสเปรี้ยวและขม
200	12	โปรตีนตกตะกอนแยกชั้นและเกิดฟองอากาศ
250	12	โปรตีนตกตะกอนแยกชั้นและเกิดฟองอากาศ

ผลการทดลองเติมไนซินในน้ำนมดิบที่ความเข้มข้น 0 50 100 150 200 และ 250 IU/ml แล้วนำน้ำนมไปผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ ตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำนมทุก 3 วัน จนกระทั่งน้ำนมเกิดการเปลี่ยนแปลงทางคุณภาพทางประสาทสัมผัส ได้ผลการทดลองดังนี้

2.1.1.1 สี : น้ำนมที่ไม่ได้เติมและเติมไนซินในทุกระดับความเข้มข้นภายหลังการผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที สามารถเก็บที่อุณหภูมิ 10 °ซ เป็นเวลา 9 วัน โดยสีของน้ำนมไม่เปลี่ยนแปลง และเมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 12 และ 15 วัน พบว่า น้ำนมที่เติมไนซินที่ความเข้มข้น 0 50 และ 100 IU/ml มีการแยกชั้นโดยชั้นบนจะเป็นไขมันเนย มีสีเหลืองอ่อน บริเวณตรงกลางเป็นเวย์ สีเหลืองอ่อนใสและชั้นล่าง โปรตีนนมตกตะกอนเป็นลิ่มมีสีขาว ส่วน

ที่ความเข้มข้น 150 200 และ 250 IU/ml บริเวณไขมันเนยชั้นบนมีสีเหลืองอ่อน ส่วนบริเวณด้านล่างมีสีขาวทึบแสง

2.1.1.2 กลิ่น : พบว่า เมื่อเก็บน้ำนมไว้เป็นระยะเวลา 0 3 และ 6 วัน น้ำนมทั้งหมดยังคงมีลักษณะทางกลิ่นที่ปกติ แต่เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 9 วัน น้ำนมที่เติมไนซิน 0 และ 50 IU/ml เริ่มมีกลิ่นบูด ส่วนที่ความเข้มข้นของไนซิน 100 150 200 และ 250 IU/ml ยังให้กลิ่นน้ำนมที่เป็นปกติ ที่ระยะเวลาของการเก็บรักษาน้ำนม 12 และ 15 วัน พบว่า น้ำนมที่เติมไนซิน 0 50 และ 100 IU/ml น้ำนมมีกลิ่นบูดชัดเจนขึ้นและมีกลิ่นเหม็นเน่า ส่วนน้ำนมที่เติมไนซิน 150 IU/ml น้ำนมเริ่มมีกลิ่นบูดที่ระยะเวลาของการเก็บรักษา 12 วัน และเด่นชัดเมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นเป็น 15 วัน ส่วนตัวอย่างที่เติมไนซิน 200 และ 250 IU/ml ที่ระยะเวลาของการเก็บรักษา 12 วัน พบว่า น้ำนมยังคงให้กลิ่นที่เป็นปกติ และเริ่มมีกลิ่นน้ำนมบูด เมื่อเก็บตัวอย่างน้ำนมไว้ 15 วัน

2.1.1.3 รสชาติ : พบว่า น้ำนมทั้งหมดมีรสชาติเป็นปกติ เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 0, 3 และ 6 วัน แต่เมื่อเก็บน้ำนมไว้เป็นเวลา 9 วัน พบว่า น้ำนมที่เติมไนซิน 0 และ 50 IU/ml มีรสเปรี้ยว ส่วนที่ความเข้มข้นของไนซิน 100 150 200 และ 250 IU/ml ยังคงมีรสชาติปกติ เมื่อเก็บเป็น 12 วัน น้ำนมที่เติมไนซินที่ความเข้มข้น 0 50 และ 100 IU/ml มีรสเปรี้ยวและขม ส่วนที่ความเข้มข้น 150 IU/ml น้ำนมมีรสเปรี้ยวเล็กน้อย และน้ำนมที่เติมไนซิน 200 และ 250 IU/ml มีรสจืด ขาดความใหม่สด และเมื่อเก็บน้ำนมพาสเจอร์ไรส์เป็นเวลา 15 วัน ไม่สามารถตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยการชิมรสได้ เนื่องจากพบราสีขาวเจริญอยู่บนชั้นของไขมันเนยบริเวณผิวหน้าในทุกตัวอย่างของน้ำนม

2.1.1.4ลักษณะปรากฏ :ภายหลังการเก็บน้ำนมที่ไม่ได้เติมและเติมไนซินทุกระดับความเข้มข้น เป็นเวลา 0 3 และ 6 วัน ไขมันเนยจะลอย และจับตัวบริเวณผิวหน้า ส่วนด้านล่างน้ำนมยังคงเป็นเนื้อเดียวกัน เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 9 วัน น้ำนมที่เติมไนซิน 0 และ 50 IU/ml บริเวณผิวหน้าไขมันเนยจับตัวเป็นแผ่นบางๆ ส่วนบริเวณด้านล่างน้ำนมยังคงเป็นเนื้อเดียวกัน เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 12 วัน น้ำนมที่เติมไนซิน 0 50 และ 100 IU/ml โปรตีนในน้ำนมจับตัวเป็นลิ่มอ่อน และมีเวย์แยกตัวออกมา ส่วนน้ำนมที่เติมไนซิน 150 200 และ 250 IU/ml พบว่าบริเวณผิวหน้าไขมันเนยจับตัวเป็นแผ่นบางๆ และบริเวณด้านล่างยังคงเป็นเนื้อเดียวกัน และเมื่อเก็บน้ำนมไว้เป็นเวลา 15 วัน ตัวอย่างน้ำนมทั้งหมดมีการแยกชั้น โดยบริเวณด้านล่างเกิดตะกอนลิ่มนม และมีเวย์แยกตัวออกมา นอกจากนี้บริเวณชั้นไขมันเนยด้านบนพบราสีขาว

จากผลการตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส ดังแสดงในตารางที่ 20 พบว่า น้ำนมที่เติมไนซิน 0 และ 50 IU/ml สามารถเก็บน้ำนมไว้ได้เป็นระยะเวลา 6 วัน โดยมีคุณภาพทางประสาทสัมผัสที่ปกติ และเกิดกลิ่นนมบูด รสเปรี้ยวเมื่อเก็บน้ำนมไว้ 9 วัน ส่วนน้ำนมที่เติมไนซิน 100 และ 150 IU/ml สามารถเก็บน้ำนมไว้ได้เป็นระยะเวลา 9 วัน และเกิดกลิ่นนมบูด รสเปรี้ยว และขมเมื่อเก็บไว้ 12 วัน สำหรับน้ำนมที่เติมไนซิน 200 และ 250 IU/ml สามารถเก็บน้ำนมไว้ได้เป็นระยะเวลานานที่สุด 12 วัน และเสื่อมเสียเมื่อเก็บน้ำนมไว้ 15 วัน โดยพบว่าโปรตีนในน้ำนมตกตะกอนแยกชั้น และเกิดฟองอากาศ

2.1.2 น้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที

ตารางที่ 21

แสดงคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำนมพาสเจอร์ไรส์
ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที

ความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	ระยะเวลาที่น้ำนมแสดงคุณภาพปกติ (วัน)	ลักษณะทางประสาทสัมผัสของน้ำนมที่ผิดปกติ
0	9	มีกลิ่นนมบูด รสเปรี้ยว และน้ำนมมีสีแดง
50	9	มีกลิ่นนมบูด รสเปรี้ยว และน้ำนมมีสีแดง
100	15	มีกลิ่นนมบูด โปรตีนตกตะกอน และน้ำนมมีสีแดง
150	15	มีกลิ่นนมบูด โปรตีนตกตะกอน และน้ำนมมีสีแดง
200	18	มีกลิ่นนมบูด โปรตีนตกตะกอน และน้ำนมมีสีแดง
250	18	มีกลิ่นนมบูด โปรตีนตกตะกอน และน้ำนมมีสีแดง

ผลการตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ ทุกระยะเวลาของการเก็บรักษา 3 วัน จนกระทั่งน้ำนมเกิดการเปลี่ยนแปลงทางคุณภาพทางประสาทสัมผัสให้ผลการทดลองดังนี้

2.1.2.1 สี : พบว่า เมื่อเก็บน้ำนมไว้เป็นเวลา 0 3 6 9 และ 12 วัน ไขมันเนยจะลอยอยู่บริเวณผิวหน้าและจับเป็นก้อนแข็ง มีสีเหลืองอ่อน และเข้มขึ้นเมื่อระยะเวลาของการเก็บ

รักษาเพิ่มขึ้น ส่วนบริเวณด้านล่างน้ำนมมีสีขาวทึบแสง ซึ่งทุกระดับความเข้มข้นให้ผลทางด้านสีไม่แตกต่างกัน เมื่อเก็บน้ำนมไว้ 15 วัน พบว่า น้ำนมที่เติมไนซิน 0 และ 50 IU/ml บริเวณผิวหน้าน้ำนมมีจะมีจุดสีแดงเล็กๆ กระจายอยู่ทั่วไป ส่วนบริเวณด้านล่างน้ำนมมีสีขาวทึบแสง ส่วนน้ำนมที่เติมไนซิน 100 150 200 และ 250 IU/ml พบว่า บริเวณผิวหน้าจะมีสีเหลืองเข้มขึ้น ส่วนด้านล่างจะมีสีขาวทึบแสง

เมื่อเก็บน้ำนมไว้เป็นเวลา 18 วัน พบว่า น้ำนมที่เติมไนซิน 0 และ 50 IU/ml บริเวณผิวหน้าน้ำนมมีสีแดง ด้านล่างมีตะกอนโปรตีนสีขาว ส่วนน้ำนมที่เติมไนซินที่ 100 150 200 และ 250 IU/ml บริเวณผิวหน้ามีสีเหลืองเข้มขึ้น ส่วนบริเวณด้านล่างน้ำนมมีสีขาวทึบแสง และเมื่อเก็บน้ำนมไว้เป็นระยะเวลา 21 วัน พบว่า น้ำนมที่เติมไนซินที่ความเข้มข้น 0 และ 50 ชั้นครีมด้านบนของน้ำนมมีสีแดง และมีราสีขาว ส่วนบริเวณด้านล่างโปรตีนจับตัวเป็นก้อนแข็ง และมีเยื่อสีขาวขุ่น ส่วนที่ความเข้มข้นของไนซิน 100 150 200 และ 250 IU/ml พบว่าบริเวณผิวหน้าของน้ำนมมีสีเหลืองเข้ม และมีราสีขาวบริเวณขอบ ส่วนบริเวณด้านล่างน้ำนมมีสีขาว

2.1.2.2 กลิ่น : น้ำนมที่ไม่ได้เติมไนซิน และเติมไนซินทุกระดับความเข้มข้นเมื่อเก็บเป็นเวลา 0 3 6 และ 9 วัน พบว่า น้ำนมมีกลิ่นคาวเล็กน้อย และกลิ่นนมต้มอ่อนๆ ซึ่งทุกตัวอย่างให้กลิ่นของน้ำนมปกติ เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 12 และ 15 วัน น้ำนมที่เติมไนซิน 0 และ 50 IU/ml เริ่มมีกลิ่นบูด ส่วนน้ำนมที่เติมไนซินความเข้มข้น 100 150 200 และ 250 IU/ml ยังคงมีกลิ่นที่ปกติ แต่ความใหม่สดของน้ำนมลดลง เมื่อเก็บน้ำนมไว้เป็นเวลา 18 วัน น้ำนมที่เติมไนซิน 0 และ 50 IU/ml มีกลิ่นบูดและเหม็นเน่า ส่วนน้ำนมที่ความเข้มข้น 100 และ 150 IU/ml น้ำนมเริ่มมีกลิ่นนมบูด น้ำนมที่เติมไนซิน 200 และ 250 IU/ml กลิ่นคาวของน้ำนมลดน้อยลง และขาดความใหม่สด และเมื่อเก็บน้ำนมไว้เป็นเวลา 21 วัน พบว่า น้ำนมที่เติมไนซิน 0 และ 50 IU/ml น้ำนมมีกลิ่นเหม็นเน่า ส่วนที่ 100 150 200 และ 250 IU/ml มีกลิ่นนมบูด

2.1.2.3 รสชาติ : ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 0 3 6 และ 9 วัน น้ำนมมีรสหวานเล็กน้อยและมัน ซึ่งพบว่าในทุกตัวอย่างยังคงให้รสที่ปกติ เมื่อเก็บน้ำนมไว้ 12 วัน พบว่า น้ำนมที่เติมไนซิน 0 และ 50 IU/ml ให้รสเปรี้ยวเล็กน้อย ส่วนที่ความเข้มข้น 100 150 200 และ 250 IU/ml ยังคงมีรสชาติที่ปกติ แต่ความสดของน้ำนมจะลดลงตามระยะเวลาการเก็บที่เพิ่มขึ้น เมื่อเก็บรักษาน้ำนมเป็นเวลา 15 วัน พบว่า น้ำนมที่เติมไนซิน 0 และ 50 IU/ml ไม่สามารถตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยการชิมรสได้ เนื่องจากน้ำนมเริ่มเสื่อมเสีย ส่วนน้ำนมที่เติมไนซิน 100 150

200 และ 250 IU/ml ยังคงให้รสชาติเหมือนกับที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 12 วัน เมื่อเก็บน้ำนมไว้ 18 วัน ตัวอย่างน้ำนมที่เติมไนซิน 100 และ 150 IU/ml ไม่สามารถตรวจสอบด้วยการชิมรสได้ เนื่องจากน้ำนมเสื่อมเสีย ส่วนน้ำนมที่เติมไนซิน 200 และ 250 IU/ml น้ำนมมีรสหวานเล็กน้อย และมัน และเมื่อเก็บน้ำนมไว้เป็นระยะเวลา 21 วัน น้ำนมตัวอย่างทั้งหมดเสื่อมเสีย ไม่สามารถชิมรสได้

2.1.2.4 ลักษณะปรากฏ : พบว่า ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาน้ำนม 0 วัน น้ำนมมีลักษณะปกติคือเป็นเนื้อเดียวกัน เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 3 6 9 และ 12 วัน น้ำนมเริ่มแยกชั้นโดยไขมันเนยในน้ำนมจะจับตัวเป็นแผ่นลอยอยู่บริเวณผิวหน้าของน้ำนม ส่วนบริเวณด้านล่างน้ำนมยังคงมีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน

เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 15 วัน น้ำนมที่เติมไนซิน 0 และ 50 IU/ml เริ่มมีการแยกชั้น โดยชั้นบนเป็นชั้นของไขมันเนยซึ่งลอยและจับตัวเป็นก้อนแข็ง ส่วนตรงกลางเป็นเวย์มีสีเหลืองอ่อน และส่วนล่างโปรตีนในน้ำนมจับตัวและตกตะกอนเป็นลิ่มอ่อน เมื่อคนแรง ๆ จะแตกออกมีลักษณะคล้ายเต้าหู้อ่อน ส่วนน้ำนมที่เติมไนซิน 100 150 200 และ 250 IU/ml พบว่า น้ำนมแยกออกเป็น 2 ชั้น ชั้นบนเป็นไขมันเนยซึ่งลอยอยู่บนบริเวณผิวหน้า ส่วนด้านล่างยังคงเป็นเนื้อเดียวกัน

เมื่อเก็บน้ำนมไว้เป็นเวลา 18 วัน พบว่า น้ำนมที่เติมไนซิน 0 และ 50 IU/ml มีการแยกตัวของชั้นไขมันในน้ำนม และโปรตีนตกตะกอนแยกตัวออกเห็นได้ชัดเจน โดยโปรตีนจับตัวกันเป็นก้อนแข็งมากกว่าเดิม และเวย์ที่แยกตัวออกจะมีสีขาวขุ่น ส่วนน้ำนมที่เติมไนซิน 100 150 200 และ 250 IU/ml พบว่า บริเวณผิวด้านบนไขมันเนยจะจับตัวแข็งเป็นแผ่นมีสีน้ำตาลอ่อนๆ บริเวณด้านล่างเป็นเนื้อเดียวกัน

เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 21 วัน พบว่า น้ำนมที่เติมไนซิน 0 50 100 และ 150 IU/ml จะตกตะกอนแยกชั้นอย่างชัดเจน โดยชั้นของเวย์จะเพิ่มขึ้นเมื่อระดับของการเติมไนซินลดลง และพบราสีขาวเจริญบนผิวหน้าของน้ำนม ส่วนตัวอย่างที่เติมไนซิน 200 และ 250 IU/ml พบว่าชั้นครีมด้านบนมีสีน้ำตาลเข้มขึ้น และมีราสีขาวเจริญอยู่ ส่วนด้านล่างยังเป็นเนื้อเดียวกัน

จากผลการตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส ดังแสดงในตารางที่ 21 พบว่า น้ำนมที่เติมไนซิน 0 และ 50 IU/ml สามารถเก็บน้ำนมไว้ได้เป็นระยะเวลา 9 วัน โดยมีคุณภาพทางประสาทสัมผัสที่ปกติ และเสื่อมเสียเมื่อเก็บน้ำนมไว้ 9 วัน โดยน้ำนมมีกลิ่นนมบูด รสเปรี้ยว และมีสีแดง ส่วนน้ำนมที่เติมไนซิน 100 และ 150 IU/ml สามารถเก็บน้ำนมไว้ได้เป็นระยะเวลา 15 วัน และเกิดกลิ่นนมบูด โปรตีนตกตะกอนและมีสีแดง เมื่อเก็บน้ำนมไว้ 15 วัน สำหรับน้ำนมที่เติมไนซิน 200 และ 250 IU/ml สามารถเก็บน้ำนมไว้ได้เป็นระยะเวลานานที่สุด 18 วัน โดยจะเสื่อมเสียเมื่อเก็บน้ำนมไว้ 21 วัน ซึ่งคุณภาพทางประสาทสัมผัสที่ผิดปกติ คือ น้ำนมเกิดกลิ่นนมบูด โปรตีนตกตะกอนแยกชั้น และมีสีแดง

2.1.3 น้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที

ตารางที่ 22
แสดงคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำนมพาสเจอร์ไรส์
ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที

ความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	ระยะเวลาที่น้ำนมแสดงคุณภาพปกติ (วัน)	ลักษณะทางประสาทสัมผัสของน้ำนมที่ผิดปกติ
0	12	มีกลิ่นนมบูดและพบราสีเหลืองที่ผิวหน้า
50	15	มีกลิ่นนมบูด โปรตีนตกตะกอนแยกชั้น
100	18	มีกลิ่นนมบูด โปรตีนตกตะกอน และพบราสีขาวที่ผิวหน้า
150	18	มีกลิ่นนมบูด โปรตีนตกตะกอน และพบราสีขาวที่ผิวหน้า
200	18	มีกลิ่นนมบูด โปรตีนตกตะกอน และพบราสีขาวที่ผิวหน้า
250	18	มีกลิ่นนมบูด โปรตีนตกตะกอน และพบราสีขาวที่ผิวหน้า

ผลการตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ ทุกระยะเวลาของการเก็บรักษา 3 วัน จนกระทั่งน้ำนมเกิดการเปลี่ยนแปลงทางคุณภาพทางประสาทสัมผัสให้ผลการทดลองดังนี้

2.1.3.1 สี (Colour) : เมื่อเก็บน้ำนมไว้เป็นเวลา 0 3 6 9 และ 12 วัน พบว่า ตัวอย่างน้ำนมทั้งหมดแยกชั้น เนื่องจากน้ำนมไม่ได้ผ่านการโฮโมจีไนส์ โดยพบว่า ไขมันเนยลอยอยู่ด้านบนมีสีเหลืองอ่อน และเข้มขึ้นจนถึงสีน้ำตาลอ่อน ตามระยะเวลาของการเก็บรักษา ส่วนด้านล่างน้ำนมมีสีขาวทึบแสง

เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 15 วัน น้ำนมที่ไม่ผ่านการเติมไนซิน มีการแยกชั้นด้านบนไขมันเนยมีสีน้ำตาลอ่อน ส่วนบริเวณตรงกลางจะมีเวย์ซึ่งแยกตัวออกจากตะกอนลิ่มนมด้านล่าง เวย์มีลักษณะใส สีเหลืองอ่อน ส่วนลิ่มนมด้านล่างมีสีขาว ส่วนตัวอย่างน้ำนมที่เติมไนซิน 50 100 150 200 และ 250 IU/ml พบว่า ยังคงให้ลักษณะเหมือนวันที่ 12 คือ ยังคงแยกชั้น ด้านบนมีสีน้ำตาลอ่อน และด้านล่างยังมีสีขาวทึบแสง

เมื่อเก็บน้ำนมไว้เป็นเวลา 18 วัน น้ำนมที่ไม่เติมไนซิน พบว่า ชั้นไขมันเนยมีฟองสีขาวด้านบน ส่วนบริเวณด้านล่างน้ำนมแยกตัวออก มีเวย์ใสสีขาวและก้อนโปรตีนสีขาวจับตัวแข็งด้านล่าง ส่วนตัวอย่างน้ำนมที่เติมไนซิน 50 IU/ml พบว่า น้ำนมแยกชั้นออกเป็น 3 ชั้น โดยชั้นบนมีสีน้ำตาลอ่อนและมีเวย์สีเหลืองอ่อนใสตรงกลางและด้านล่างน้ำนมจับตัวเป็นลิ่มอ่อน ๆ เมื่อคนแรง ๆ จะแตกและตกตะกอนด้านล่างมีสีขาว ส่วนน้ำนมเติมไนซินที่ความเข้มข้น 100 150 200 และ 250 IU/ml น้ำนมยังมีไขมันเนยด้านบนสีน้ำตาลอ่อน ส่วนด้านล่างยังคงมีสีขาว

เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 21 วัน น้ำนมที่ไม่ได้เติมไนซิน พบว่า ด้านบนมีฟองสีขาว ชั้นไขมันมีสีน้ำตาลอ่อนและมีราสีเหลืองส้มกระจายอยู่บริเวณขอบของขวดนม ส่วนด้านล่างโปรตีนจับตัวเป็นก้อนแข็งมีสีขาวและเวย์แยกตัวมีลักษณะใส ส่วนน้ำนมที่เติมไนซินความเข้มข้น 50 และ 100 IU/ml ไขมันที่ลอยตัวอยู่ที่ผิวหน้ามีสีน้ำตาลอ่อน บริเวณขอบพบราสีเหลืองส้มเจริญอยู่ ส่วนด้านล่างน้ำนมตกตะกอนเป็นลิ่มมีสีขาว และน้ำนมที่เติมไนซิน 150 200 และ 250 IU/ml พบว่า ไขมันเนยที่ลอยอยู่บริเวณผิวหน้ามีสีน้ำตาลอ่อน และบริเวณขอบมีราสีขาวเจริญอยู่ ส่วนด้านล่างน้ำนมมีลิ่มนมสีขาว

2.1.3.2 กลิ่น : พบว่า ภายหลังการเก็บน้ำนมเป็นเวลา 0 3 6 9 และ 12 วัน น้ำนมที่ไม่ได้เติม และเติมไนซินทุกระดับความเข้มข้น ยังคงมีกลิ่นคาวเล็กน้อยและไม่พบกลิ่นที่ผิดปกติ แต่ความหอมสดใหม่ของน้ำนมจะลดลงเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น และเมื่อเก็บน้ำนมเป็น

เวลา 15 วัน พบว่า น้ำนมที่ไม่ได้เติมไนซินเริ่มมีกลิ่นน้ำนมบูด ส่วนน้ำนมที่เติมไนซินที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 200 และ 250 IU/ml ยังคงมีกลิ่นคาวเล็กน้อยของน้ำนมปกติ

เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 18 วัน พบว่า น้ำนมที่ไม่ได้ผ่านการเติมไนซินเกิดกลิ่นบูด และกลิ่นเหม็นเน่า ส่วนน้ำนมที่เติมไนซินความเข้มข้น 50 IU/ml เริ่มมีกลิ่นนมบูด ส่วนน้ำนมที่เติมไนซิน 100 150 200 และ 250 IU/ml น้ำนมมีกลิ่นคาวเล็กน้อยและความหอมสดใหม่ลดลง

ภายหลังการเก็บน้ำนมไว้เป็นระยะเวลา 21 วัน พบว่า น้ำนมที่ไม่ได้เติมไนซินและน้ำนมที่เติมไนซิน 50 IU/ml มีกลิ่นเหม็นเน่าชัดเจน ส่วนน้ำนมที่เติมไนซิน 100 150 200 และ 250 IU/ml น้ำนมมีกลิ่นนมบูดชัดเจน

2.1.3.3 รสชาติ : พบว่าภายหลังการเก็บน้ำนมเป็นเวลา 0 3 6 9 และ 12 วัน น้ำนมยังคงมีรสหวานเล็กน้อย และมีความมัน ไม่พบรสชาติที่ผิดปกติ

เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 15 วัน พบว่า น้ำนมที่ไม่ได้เติมไนซิน มีรสเปรี้ยวและขมเล็กน้อย ส่วนน้ำนมที่ผ่านการเติมไนซินในทุกระดับความเข้มข้นมีรสจืด เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 18 วัน พบว่าน้ำนมที่เติมไนซิน 0 และ 50 IU/ml ไม่สามารถตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำนมด้วยการชิมรสได้ เนื่องจากน้ำนมเสีย มีกลิ่นเหม็นเน่าชัดเจน ส่วนน้ำนมที่ผ่านการเติมไนซินที่ระดับความเข้มข้น 100 150 200 และ 250 IU/ml พบว่าน้ำนมยังคงมีรสจืด มีความมัน และภายหลังการเก็บน้ำนมเป็นเวลา 21 วัน ไม่สามารถตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำนมได้ เนื่องจากน้ำนมทั้งหมดเสื่อมเสีย และพบราสีเหลืองส้ม บริเวณผิวหน้าของมันเนย

2.1.3.4 ลักษณะปรากฏ (Appearance) : พบว่าภายหลังการเก็บน้ำนมเป็นเวลา 0 3 6 9 และ 12 วัน บริเวณผิวหน้าของน้ำนมมีไขมันเนยจับตัวลอยบริเวณผิวหน้าเนื่องจากน้ำนมไม่ได้ผ่านการโฮโมจีไนส์ เมื่อคนจะแตกออก ส่วนบริเวณด้านล่างน้ำนมยังคงเป็นเนื้อเดียวกัน ซึ่งทุกอย่างให้ลักษณะปรากฏเหมือนกัน

เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 15 วัน น้ำนมที่ไม่ได้เติมไนซิน บริเวณผิวหน้ามีฟองอากาศเล็ก ๆ สีขาวแทรกอยู่ ผิวหน้ายังคงจับตัวเป็นก้อนแข็ง และด้านล่างของน้ำนมเริ่มเป็นลิ่มอ่อน ๆ ส่วนน้ำนมที่เติมไนซินที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 200 และ 250 IU/ml พบว่า น้ำ

นมแยกชั้นโดยไขมันเนยลอยบริเวณผิวหน้าจับตัวเป็นแผ่นแข็ง ด้านล่างเป็นน้ำนมยังคงเป็นเนื้อเดียวกัน

เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 18 วัน พบว่า น้ำนมที่ไม่ได้เติมไนซิน จะแยกชั้นอย่างชัดเจน โดยชั้นบนไขมันจะจับตัวเป็นก้อนแข็งและลอยอยู่บนผิวหน้า และเกิดการตกตะกอน และจับตัวกันเป็นก้อนแข็งอยู่ด้านล่าง บริเวณระหว่างชั้นครีมและตะกอนจะมีเวย์สีขาวใสแทรกอยู่ ส่วนน้ำนมที่เติมไนซิน 50 IU/ml มีไขมันลอยอยู่บริเวณผิวหน้า และเริ่มเป็นลิ่มอ่อน ๆ ส่วนน้ำนมที่เติมไนซิน 100 150 200 และ 250 IU/ml พบว่าน้ำนมมีไขมันลอยอยู่ผิวหน้าและด้านล่างน้ำนมยังคงเป็นเนื้อเดียวกัน

ภายหลังการเก็บน้ำนมเป็นเวลา 21 วัน พบว่า น้ำนมทุกตัวอย่างมีราสีเหลืองส้มและสีขาวเจริญอยู่บริเวณผิวหน้า และบริเวณขอบของขวด โดยน้ำนมที่เติมไนซิน 0 และ 50 IU/ml มีการแยกชั้นอย่างชัดเจน ด้านล่างจะมีโปรตีนจับตัวเป็นก้อนแข็ง มีเวย์แทรกอยู่ระหว่างกลาง ส่วนชั้นบนไขมันยังคงจับตัวเป็นก้อนแข็ง และมีฟองอากาศสีขาวบนผิวหน้า ส่วนน้ำนมที่เติมไนซิน 100 150 200 และ 250 IU/ml พบว่าไขมันยังคงลอยอยู่บริเวณผิวหน้า โดยที่ความเข้มข้น 100 IU/ml เริ่มมีการแยกชั้น มีเวย์สีเหลืองอ่อนแทรกอยู่ระหว่างไขมันเนยที่ลอยอยู่ด้านบนและตะกอนโปรตีนที่จับตัวอยู่ด้านล่าง ส่วนที่ความเข้มข้น 150 200 และ 250 IU/ml พบว่าด้านบนไขมันเนยลอยอยู่และด้านล่างยังคงเป็นเนื้อเดียวกัน

จากผลการตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสดังแสดงในตารางที่ 22 พบว่า น้ำนมที่เติมไนซิน 0 IU/ml สามารถเก็บน้ำนมไว้ได้เป็นระยะเวลา 12 วัน โดยมีคุณภาพทางประสาทสัมผัสที่ปกติ และเสื่อมเสียเมื่อเก็บน้ำนมไว้ 15 วัน โดยน้ำนมมีกลิ่นนมบูด และพบราสีเหลืองที่ผิวหน้า ส่วนน้ำนมที่เติมไนซิน 50 IU/ml สามารถเก็บน้ำนมไว้ได้ 15 วัน และเกิดกลิ่นนมบูด โปรตีนตกตะกอนแยกชั้น เมื่อเก็บน้ำนมไว้ 18 วัน สำหรับน้ำนมที่เติมไนซิน 100 150 200 และ 250 IU/ml สามารถเก็บน้ำนมไว้ได้เป็นระยะเวลานานที่สุด 18 วัน โดยจะเสื่อมเสียเมื่อเก็บน้ำนมไว้ 21 วัน ซึ่งคุณภาพทางประสาทสัมผัสที่ผิดปกติ คือ น้ำนมเกิดกลิ่นนมบูด โปรตีนตกตะกอนแยกชั้น และพบราสีขาวที่ผิวหน้า

2.2 การตรวจสอบคุณภาพทางเคมี

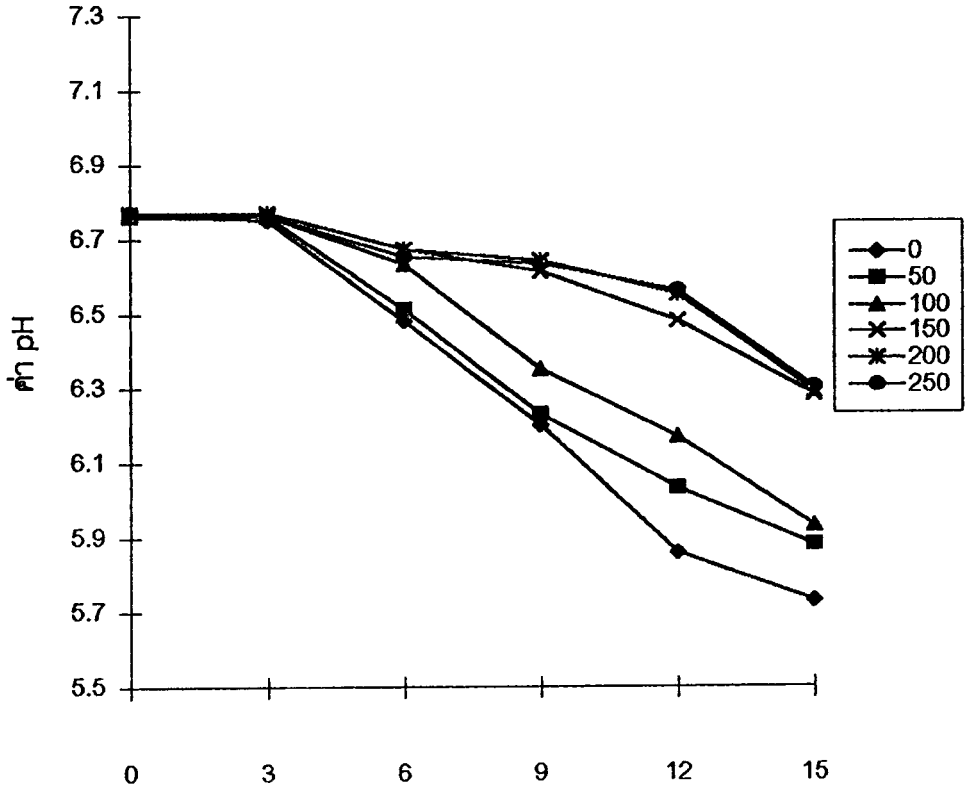
2.2.1 น้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที

2.2.1.1 ค่า pH

ค่า pH ของน้ำนมที่เติมไนซินระดับความเข้มข้นต่างๆ และผ่านการให้ความร้อนระดับพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ เป็นเวลา 0 และ 3 วัน พบว่า มีค่า pH อยู่ระหว่าง 6.76 - 6.77 ดังแสดงภาพที่ 8 ซึ่งน้ำนมปกติมีค่า pH อยู่ระหว่าง 6.5 - 6.7 (สุจิตรา ,2536) เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 6 วัน น้ำนมที่เติมไนซิน 0 50 และ 100 IU/ml มีค่า pH ลดลงเล็กน้อย และเมื่อเก็บไว้นาน 9 12 และ 15 วัน ค่า pH ของน้ำนมลดลงต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานของน้ำนมปกติ ส่วนน้ำนมที่เติมไนซิน 150 200 และ 250 IU/ml พบว่าค่า pH ของน้ำนม ภายหลังการเก็บเป็นเวลา 6 9 และ 12 วัน ลดลงเล็กน้อย ตามระยะเวลาการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น เมื่อเก็บน้ำนมไว้ 15 วัน ค่า pH ลดลงเท่ากับ 6.28 - 6.30

จากผลการวัดค่า pH ของน้ำนม พบว่า เมื่อระยะเวลาของการเก็บรักษาน้ำนมเพิ่มขึ้นค่า pH จะลดลง โดยมีการเปลี่ยนแปลงไปอย่างช้าๆ ซึ่งน่าเป็นผลมาจากไนซินสามารถยับยั้งและทำลายการเจริญของแบคทีเรียในกลุ่มที่เหลือรอดจากกระบวนการให้ความร้อนสามารถปรับตัวและเจริญได้ที่อุณหภูมิของการเก็บรักษา โดยในระหว่างที่เจริญเติบโตผลิตกรดขึ้นทำให้น้ำนมมี pH ลดต่ำลง จากการศึกษาของ Marth (1978) ; Natarajan และคณะ (1984) ; Robinson (1981a,b) ; Seiler และคณะ (1984) ระบุว่าแบคทีเรียที่สามารถเจริญเติบโตและผลิตกรดขึ้นในน้ำนมได้แก่ *Alcaligenes spp., Arthrobacter spp., Bacillus spp., Clostridium spp., Corynebacterium spp., Lactobacillus spp., Micrococcus spp., Pseudomonas spp., Sarcina spp.* และ *Streptococcus spp.*

ภาพที่ 8



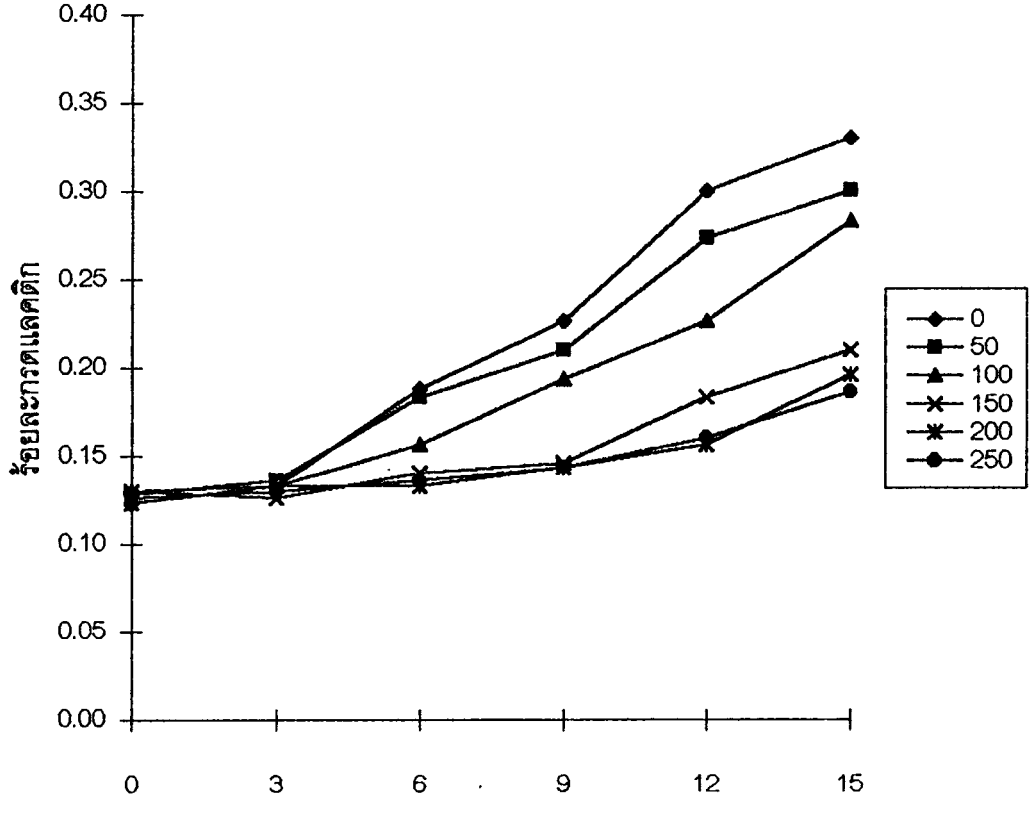
ความสัมพันธ์ระหว่างค่า pH ของน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน
ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที
และระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

2.2.1.2 ความเป็นกรด (Acidity Test)

จากผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 9 พบว่า ความเป็นกรดของน้ำนมที่ไม่ได้เติมและเติมที่เติมไนซินในระดับความเข้มข้นต่างๆ เมื่อผ่านการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที มีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 0.12 - 0.13 ซึ่งโดยปกติน้ำนมจะมีความเป็นกรดอยู่ระหว่างร้อยละ 0.12 - 0.18 เมื่อคิดเป็นร้อยละของกรดแลกติค (มานิตย์ , 2529 ; วรรณา , 2536)

เมื่อเก็บน้ำนมเป็นระยะเวลา 3 วัน พบว่า ค่าความเป็นกรดยังคงปกติ คือ มีค่าอยู่ระหว่างร้อยละ 0.13 - 0.14 เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 6 และ 9 วัน น้ำนมที่เติมไนซินความเข้มข้น 0 50 และ 100 IU/ml มีค่าความเป็นกรดสูงขึ้น คือ อยู่ระหว่างร้อยละ 0.19 - 0.23 ส่วนน้ำนมที่เติมไนซิน 150 200 และ 250 IU/ml มีค่าความเป็นกรดอยู่ระหว่างร้อยละ 0.13 - 0.15 และเมื่อเก็บตัวอย่างน้ำนมเป็นเวลา 12 และ 15 วัน ค่าความเป็นกรดของน้ำนมที่มีระดับไนซินที่ 0 50 และ 100 IU/ml จะมีค่าระหว่างร้อยละ 0.23 - 0.30 ในขณะที่น้ำนมที่เติมไนซินที่ความเข้มข้น 150 200 และ 250 IU/ml มีค่าความเป็นกรดร้อยละ 0.16 - 0.21 ซึ่งความเป็นกรดของน้ำนมที่สูงขึ้น จะส่งผลต่อความคงตัวของโปรตีนในน้ำนมทำให้เกิดตกตะกอน และจับตัวเป็นก้อนได้ในระหว่างที่มีการเก็บรักษา (Lampert ,1975) นอกจากนี้เมื่อนำน้ำนมไปผ่านกระบวนการให้ความร้อนอีกครั้ง ในกรณีที่ต้องการจะนำน้ำนมนั้นไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อื่น ๆ ก็อาจเกิดปัญหาการตกตะกอน และจับตัวเป็นก้อนแข็งได้เช่นเดียวกัน จากผลที่แสดงความเป็นกรดของน้ำนมดังกล่าวยังพบว่า น้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่ไม่ผ่านการเติมไนซินมีอายุการเก็บรักษาเพียง 6 วัน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Shehata และ Collin (1972) ซึ่งรายงานว่าน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ มีอายุการเก็บรักษา 7-10 วัน เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิตู้เย็น ชี้ให้เห็นว่าน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่ผ่านการเติมไนซินสามารถยืดอายุการเก็บรักษาออกไปได้ โดยยับยั้งและทำลายแบคทีเรียที่สร้างกรดขึ้นในน้ำนม โดยที่ความเข้มข้น 100 150 200 และ 250 IU/ml สามารถยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ดังกล่าวได้ เป็นเวลา 6 9 12 และ 12 วัน ตามลำดับ

ภาพที่ 9



ความสัมพันธ์ระหว่าง ร้อยละกรดแลคติกของน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน
ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที
และระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

2.2.1.3 การทดสอบด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 68 (Alcohol Test)

ตารางที่ 23

ผลการทดสอบน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน (IU/ml) ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ ด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 68

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	การตกตะกอนของน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml) ด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 68					
	0	50	100	150	200	250
0	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-
6	+	+	-	-	-	-
9	+	+	+	-	-	-
12	+	+	+	+	-	-
15	+	+	+	+	+	+

หมายเหตุ : (-) = น้ำนมไม่ตกตะกอน
(+) = น้ำนมตกตะกอน

ผลการทดสอบน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 68 ดังแสดงในตารางที่ 23 พบว่า น้ำนมที่เติมไนซินที่ระดับความเข้มข้น 0 50 100 150 200 และ 250 IU/ml ภายหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 0 และ 3 วัน โปรตีนในน้ำนมมีความคงตัว และไม่ตกตะกอน เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 6 วัน น้ำนมที่เติมไนซิน 0 และ 50 IU/ml จะตกตะกอนเมื่อทดสอบด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 68 ส่วนน้ำนมที่เติมไนซิน 100 150 200 และ 250 IU/ml พบว่า โปรตีนในน้ำนมไม่ตกตะกอน ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองตอนที่ 2.2.1.2 กล่าวคือ เมื่อความเป็นกรดของน้ำนมเพิ่มสูงกว่าร้อยละ 0.18 โปรตีนที่มีอยู่ในน้ำนมไม่สามารถรักษาสภาพให้คงตัวอยู่ได้ เมื่อทดสอบด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 68 โปรตีนที่มีอยู่ในน้ำนมจึงตกตะกอน ซึ่งโดยปกติน้ำนมที่มีคุณภาพดีจะไม่ตกตะกอนเมื่อทดสอบด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 68 แต่จะตกตะกอนเมื่อทดสอบน้ำนมด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 (วรรณา , 2536)

ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาน้ำนมเป็นเวลา 9 วัน พบว่าน้ำนมที่มีระดับไนซิน 0 50 และ 100 IU/ml ตกตะกอน ส่วนที่ 150 200 และ 250 IU/ml ไม่ตกตะกอน ซึ่งจากผลการทดลองตอนที่ 2.2.1.2 แสดงค่าความเป็นกรดของน้ำนมอยู่ระหว่างร้อยละ 0.14 - 0.15

เมื่อเก็บน้ำนมไว้เป็นเวลา 12 วัน พบว่าน้ำนมที่มีไนซิน 50 100 และ 150 IU/ml ตกตะกอน ส่วนน้ำนมที่เติมไนซิน 200 และ 250 IU/ml ให้ผลการทดสอบเป็นปกติ และเมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 15 วัน พบว่า ตัวอย่างน้ำนมทั้งหมดตกตะกอน เมื่อทดสอบด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 68

2.2.1.4 การทดสอบการตกตะกอนหลังการต้ม (Clot-on-boiling)

ตารางที่ 24

ผลการทดสอบการตกตะกอนหลังการต้มของน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน (IU/ml) ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	การตกตะกอนภายหลังการต้มของน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)					
	0	50	100	150	200	250
0	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-
6	+	+	-	-	-	-
9	+	+	+	-	-	-
12	+	+	+	+	-	-
15	+	+	+	+	+	+

หมายเหตุ : (-) = น้ำนมไม่ตกตะกอนเมื่อทดสอบ

(+) = น้ำนมตกตะกอนเมื่อทดสอบ

ผลการทดสอบการตกตะกอนหลังการต้มของน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ที่ระดับความเข้มข้นของไนซิน 0 50 100 150 200 และ 250 IU/ml ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ ดังแสดงในตารางที่ 24 พบว่าที่ระยะเวลาการเก็บรักษาน้ำนม 0 และ 3 วัน น้ำนมทุกตัวอย่างให้ผลการทดสอบเป็นลบ เมื่อผ่านการต้ม

เมื่อเก็บน้ำนมไว้เป็นเวลา 6 วัน น้ำนมที่เติมไนซินระดับความเข้มข้น 0 และ 50 IU/ml น้ำนมตกตะกอน ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการทดลองตอนที่ 2.2.1.2 กล่าวคือ เมื่อความเป็นกรดของน้ำนมเพิ่มสูงขึ้นถึงร้อยละ 0.18 โปรตีนที่มีอยู่ในน้ำนมเกิดสภาวะไม่คงตัวเกิดขึ้น ทำให้โปรตีนตกตะกอนได้ง่าย และผลการทดสอบนี้ แสดงให้เห็นว่าสามารถจะเก็บน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ ไว้ได้ เพียง 3 วัน และเสื่อมเสียเมื่อเก็บตัวอย่างน้ำนมไว้เป็นระยะเวลา 6 วัน ส่วนตัวอย่างน้ำนมที่ผ่านการเติมไนซิน 100 150 200 และ 250 IU/ml ให้ผลการทดสอบเป็นลบ

เมื่อเก็บรักษาน้ำนมไว้เป็นเวลา 9 วัน พบว่า น้ำนมที่ผ่านการเติมไนซิน 0 50 และ 100 IU/ml ให้ผลการทดสอบเป็นบวก คือ มีการตกตะกอนของโปรตีนในน้ำนม ส่วนน้ำนมที่เติมไนซินที่ความเข้มข้น 150 200 และ 250 IU/ml ให้ผลการทดสอบเป็นลบ ไม่ตกตะกอนภายหลังการต้ม

ภายหลังการเก็บรักษาน้ำนมเป็นเวลา 12 วัน พบว่า น้ำนมที่เติมไนซิน 50 100 และ 150 IU/ml ตกตะกอนภายหลังการต้ม ส่วนที่ความเข้มข้น 200 และ 250 IU/ml ให้ผลการทดสอบเป็นลบ และเมื่อตรวจสอบการตกตะกอนหลังการต้มของน้ำนมที่ระยะเวลาของการเก็บรักษา 15 วัน พบว่า ตัวอย่างน้ำนมทั้งหมดตกตะกอน

2.2.2 น้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที

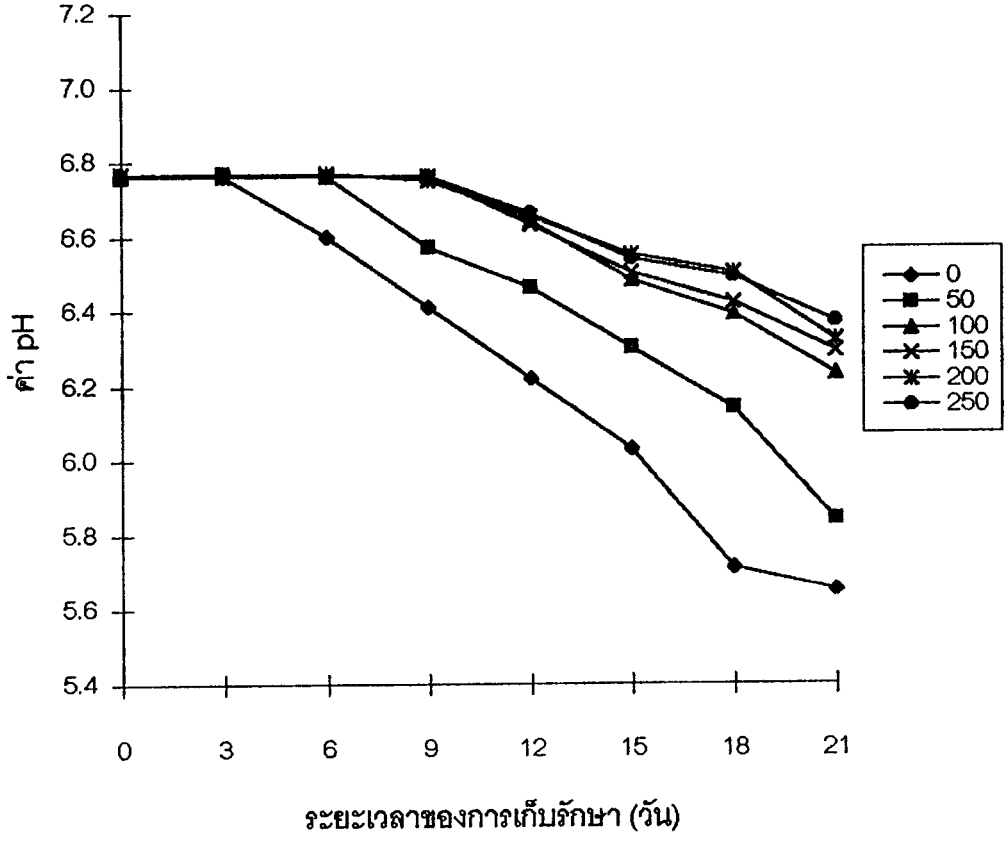
2.2.2.1 ค่า pH

ผลการวัดค่า pH ของน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ดังแสดงในภาพที่ 10 พบว่า ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 0 วัน น้ำนมมีค่า pH อยู่ระหว่าง 6.76 - 6.77 ซึ่งน้ำนมปกติจะมีค่า pH อยู่ระหว่าง 6.5 - 6.7 (สุจิตรา , 2536) เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 3 และ 6 วัน พบว่า น้ำนมที่ไม่ได้เติมและที่เติมไนซินในระดับความเข้มข้นต่างๆ มีค่า pH อยู่ระหว่าง 6.60 - 6.77 แต่เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 9 วัน น้ำนมที่มีระดับไนซิน 0 และ 50 IU/ml มีค่า pH ต่ำลง คือ 6.41 และ 6.57 ตามลำดับ ส่วนน้ำนมที่เติมไนซิน 100 150 200 และ 250 IU/ml มีค่า pH ระหว่าง 6.75 - 6.76 และพบว่าเมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลานานขึ้น ค่า pH ของน้ำนมจะลดต่ำลงโดยเฉพาะน้ำนมที่มีระดับไนซิน 0 และ 50 IU/ml จะมีค่า pH ที่ 5.71 และ 6.14 เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 18 วัน และที่ 5.65 และ 5.84 เมื่อเก็บไว้เป็นเวลา 21 วัน ส่วนน้ำนมที่เติมไนซิน 100 150 200 และ 250 IU/ml มีค่า pH อยู่ระหว่าง 6.48 - 6.55 , 6.39 - 6.50 และ 6.23 - 6.37 เมื่อเก็บน้ำนมไว้เป็นเวลา 15 18 และ 21 วัน ตามลำดับ

2.2.2.2 ความเป็นกรด (Acidity Test)

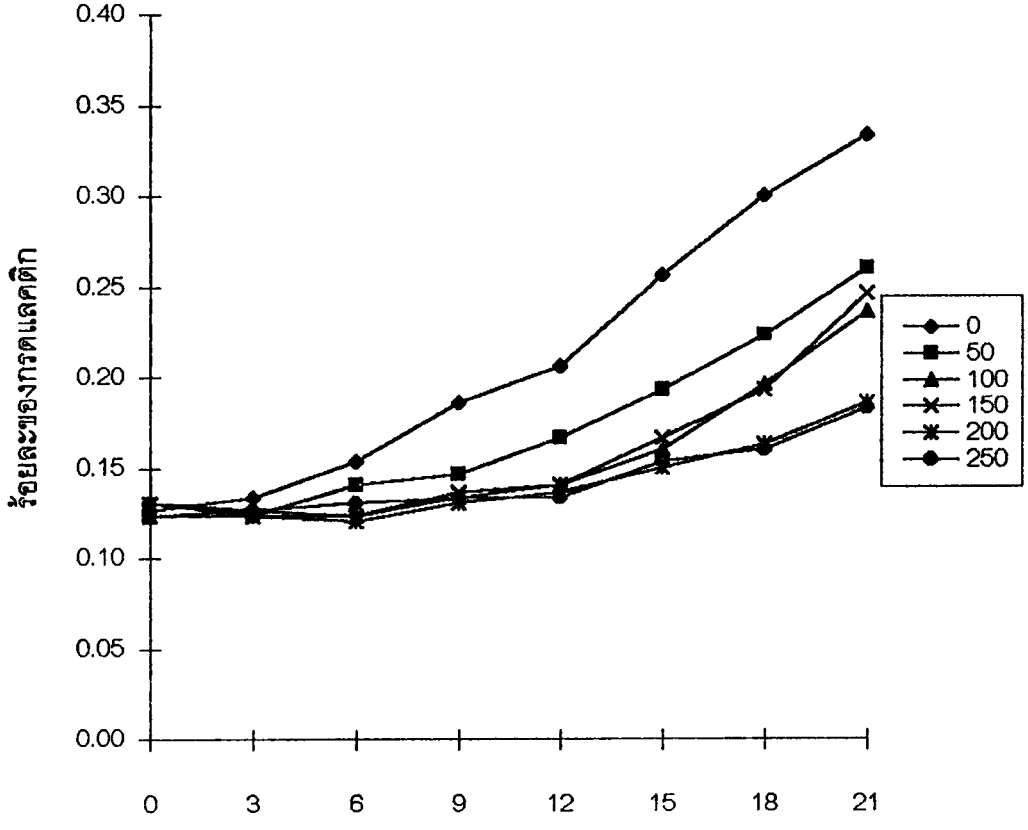
จากผลการทดลองดังแสดงในภาพที่ 11 เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 0 วัน มีความเป็นกรดอยู่ระหว่างร้อยละ 0.12 - 0.13 ซึ่งน้ำนมปกติมีความเป็นกรดร้อยละ 0.12 - 0.18 (มานิตย์ , 2529 ; วรรณา , 2536) เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 3 วัน ความเป็นกรดของน้ำนมมีค่าอยู่ระหว่าง 0.12 - 0.13 % และเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเก็บน้ำนมไว้เป็นระยะเวลา 6 9 12 15 18 และ 21 วัน โดยน้ำนมที่เติมไนซิน 0 IU/ml มีความเป็นกรดสูงเกินกว่าร้อยละ 0.18 ในวันที่ 9 ของการเก็บรักษา ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองที่ 2.2.2.1 กล่าวคือ เมื่อความเป็นกรดของน้ำนมเพิ่มสูงขึ้น มีผลทำให้ pH ของน้ำนมลดต่ำลง ส่วนน้ำนมที่เติมไนซินระดับความเข้มข้น 50 IU/ml ความเป็นกรดของน้ำนมจะสูงกว่าร้อยละ 0.18 เมื่อเก็บน้ำนมไว้เป็นเวลา 15 วัน ส่วนที่ความเข้มข้น 100 และ 150 IU/ml เมื่อเก็บน้ำนมไว้ 18 วัน ส่วนน้ำนมที่เติมไนซิน 200 และ 250 IU/ml ภายหลังการเก็บน้ำนมเป็นเวลา 21 วัน จากผลการทดลองที่ได้แสดงให้เห็นว่าค่าความเป็นกรดของน้ำนมจะเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาของการเก็บรักษานานออกไป และความเป็นกรดของน้ำนมจะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อความเข้มข้นของไนซินลดลง

ภาพที่ 10



ความสัมพันธ์ระหว่างค่า pH ของน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน
ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที
และระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ภาพที่ 11



ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละกรดแลคติกของน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน
ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที
และระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

2.2.2.3 การทดสอบด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 68 (Alcohol Test)

ตารางที่ 25

ผลการทดสอบน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน (IU/ml) ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ ด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 68

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	การตกตะกอนของน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml) ด้วยแอลกอฮอล์ 68 %					
	0	50	100	150	200	250
0	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-
9	+	-	-	-	-	-
12	+_	-	-	-	-	-
15	+	+	-	-	-	-
18	+	+	+	+	-	-
21	+	+	+	+	+	+

หมายเหตุ : (-) = น้ำนมไม่ตกตะกอน
(+) = น้ำนมตกตะกอน

ผลการทดสอบดังแสดงในตารางที่ 25 พบว่า ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาน้ำนม 0 3 และ 6 วัน ให้ผลการทดสอบที่เป็นลบ โดยโปรตีนที่มีอยู่ในน้ำนมไม่ตกตะกอน เมื่อระยะเวลาของการเก็บรักษาน้ำนมเพิ่มขึ้นเป็น 9 และ 12 วัน น้ำนมที่ไม่เติมไนซิน ให้ผลการทดสอบเป็นบวก โดยโปรตีนในน้ำนมตกตะกอน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองตอนที่ 2.2.2.2 กล่าวคือ เมื่อความเป็นกรดของน้ำนมสูงกว่าร้อยละ 0.18 โปรตีนที่มีอยู่ในน้ำนมจะไม่สามารถคงตัวอยู่ได้ และตกตะกอน เมื่อทดสอบด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 68 ส่วนน้ำนมที่มีไนซิน 50 100 150 200 และ 250 IU/ml พบว่าให้ผลการทดสอบที่เป็นลบ

เมื่อเก็บน้ำนมไว้ 15 วัน น้ำนมที่มีระดับความเข้มข้น 0 และ 50 IU/ml ให้ผลเป็นบวก คือตกตะกอน ส่วนที่ความเข้มข้น 100 150 200 และ 250 IU/ml ไม่เกิดการตกตะกอน และเมื่อเก็บรักษาน้ำนมเป็นเวลา 18 วัน น้ำนมที่มีไนซิน 0 50 100 และ 150 IU/ml ให้ผลบวก ส่วนที่ความเข้มข้น 200 และ 250 IU/ml ยังให้ผลเป็นลบ และเมื่อเก็บน้ำนมไว้เป็นเวลา 21 วัน ตัวอย่างน้ำนมทั้งหมดให้ผลบวก คือตกตะกอนเมื่อทดสอบด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 68

2.2.2.4 การทดสอบการตกตะกอนหลังการต้ม (Clot-on-boiling)

ตารางที่ 26

ผลการทดสอบการตกตะกอนหลังการต้มของน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน(IU/ml) ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	การตกตะกอนหลังการต้มของน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)					
	0	50	100	150	200	250
0	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-
9	+	-	-	-	-	-
12	+	-	-	-	-	-
15	+	+	-	-	-	-
18	+	+	+	+	-	-
21	+	+	+	+	+	+

หมายเหตุ : (-) = น้ำนมไม่ตกตะกอนเมื่อทดสอบ

(+) = น้ำนมตกตะกอนเมื่อทดสอบ

ผลการทดสอบดังแสดงในตารางที่ 26 พบว่า เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 0 3 และ 6 วัน ตัวอย่างน้ำนมทั้งหมด ให้ผลเป็นลบ เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 9 และ 12 วัน น้ำนมที่ไม่เติมไนซิน ให้ผลเป็นบวก ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองที่ 2.2.2.2 เมื่อความเป็นกรดของน้ำนมสูงกว่าร้อยละ 0.18 น้ำนมจะตกตะกอน ส่วนน้ำนมที่มีไนซิน 50 100 150 200 และ 250 IU/ml ให้ผลการทดสอบเป็นลบ

เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 15 วัน พบว่า น้ำนมที่มีไนซิน 0 และ 50 IU/ml น้ำนมตกตะกอนเมื่อทดสอบ ส่วนที่ระดับ 100 150 200 และ 250 IU/ml พบว่า ผลการทดสอบน้ำนมไม่เกิดการตกตะกอน

ที่ระยะเวลาของการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นเป็น 18 วัน น้ำนมที่มีไนซิน 0 50 100 และ 150 IU/ml เมื่อทดสอบการตกตะกอนหลังการต้ม พบว่า ตกตะกอน ส่วนที่ความเข้มข้น 200 และ 250 IU/ml โปรตีนที่มีอยู่ในน้ำนมยังคงตัวอยู่ได้ ไม่ตกตะกอน และเมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 21 วัน ตัวอย่างน้ำนมทั้งหมดตกตะกอนเมื่อทดสอบการตกตะกอนหลังการต้ม ทั้งนี้เนื่องจากความเป็นกรดของน้ำนมสูงกว่าร้อยละ 0.18

2.2.3 น้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที

2.2.3.1 ค่า pH

ค่า pH จากการทดลอง ดังแสดงในภาพที่ 12 พบว่า น้ำนมที่ไม่เติมและเติมไนซินที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ มีค่า pH อยู่ระหว่าง 6.74 - 6.75 ซึ่งน้ำนมปกติจะมีค่า pH อยู่ระหว่าง 6.5 - 6.7 (สุจิตรา , 2536) เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 0 3 และ 6 วัน ค่า pH ของตัวอย่างน้ำนมทั้งหมดยังอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานน้ำนมปกติ แต่เมื่อเก็บน้ำนมไว้ 9 วัน น้ำนมที่ไม่ได้เติมไนซินมีค่า pH ลดต่ำลงเล็กน้อย ส่วนน้ำนมที่เติมไนซิน ยังมีค่า pH ไม่เปลี่ยนแปลง

ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 12 15 และ 18 วัน พบว่า น้ำนมที่ไม่ได้เติมไนซินมีค่า pH ลดลงเป็น 6.41 6.15 และ 5.85 ในขณะที่น้ำนมที่เติมไนซินทุกระดับความเข้มข้นมีค่า pH ระหว่าง 6.40 - 6.73 และเมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 21 วัน ค่า pH ของน้ำนมที่ไม่ได้เติมไนซิน มีค่าเท่ากับ 5.5 ส่วนน้ำนมที่เติมไนซินทุกระดับความเข้มข้นมีค่า pH ระหว่าง 6.13 - 6.37 ซึ่งจากภาพที่ 12 ชี้ให้เห็นว่าน้ำนมที่เติมไนซินช่วยชะลอการลดลงของค่า pH ในน้ำนมได้ ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงขึ้นทำให้จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับน้ำนมดิบถูกทำลายลงหรืออาจได้รับบาดเจ็บจึงไม่สามารถเจริญขึ้นได้ และเมื่อใช้ร่วมกับไนซินจึงช่วยชะลอการลดลงของค่า pH ได้ นอกจากนี้จากผลการทดลอง พบว่า เมื่อระยะเวลาของการเก็บรักษานานขึ้นค่า pH จะลดต่ำลง และค่า pH ของน้ำนมจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของไนซินลดต่ำลง

2.2.3.2 ความเป็นกรดของน้ำนม (Acidity test)

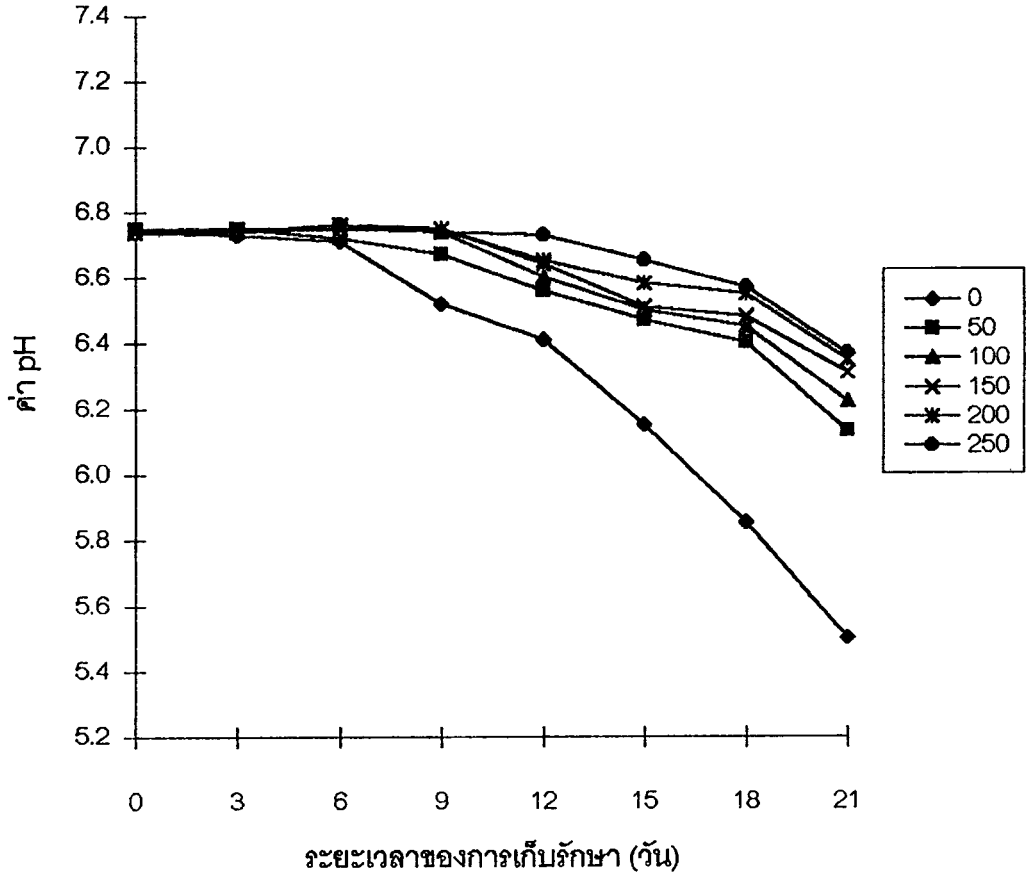
จากผลการทดลอง พบว่าความเป็นกรดของน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ เมื่อเก็บไว้ 0 วัน มีความเป็นกรดอยู่ระหว่างร้อยละ 0.13 - 0.14 ดังแสดงภาพที่ 13 ซึ่งโดยปกติน้ำนมจะมีความเป็นกรดอยู่ระหว่างร้อยละ 0.12 - 0.18 (มานิตย์ , 2529 ; วรรณา , 2536) เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 3 6 และ 9 วัน พบว่า ความเป็นกรดของน้ำนมมีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย แต่ยังคงให้ค่าความเป็นกรดของน้ำนมที่ปกติ

เมื่อเก็บน้ำนมไว้ 12 วัน พบว่า น้ำนมที่ไม่ได้เติมไนซิน ความเป็นกรดเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 0.18 ส่วนน้ำนมที่เติมไนซิน ความเป็นกรดของน้ำนมเพิ่มขึ้นเล็กน้อยและยังคงให้ผลที่ปกติ คือ อยู่ระหว่างร้อยละ 0.13 - 0.16

เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 15 วัน พบว่าน้ำนมที่ไม่ได้เติมไนซิน ความเป็นกรดเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 0.23 ส่วนน้ำนมที่ผ่านการเติมไนซิน ความเป็นกรดของน้ำนมอยู่ระหว่างร้อยละ 0.13 - 0.17 อย่างไรก็ตามพบว่า ความเป็นกรดของน้ำนมที่เพิ่มสูงขึ้นจะสัมพันธ์กับความเข้มข้นของไนซินที่ถูกเติมในน้ำนมกล่าวคือ เมื่อความเข้มข้นของไนซินเพิ่มสูงขึ้นความเป็นกรดของน้ำนมจะลดต่ำลง

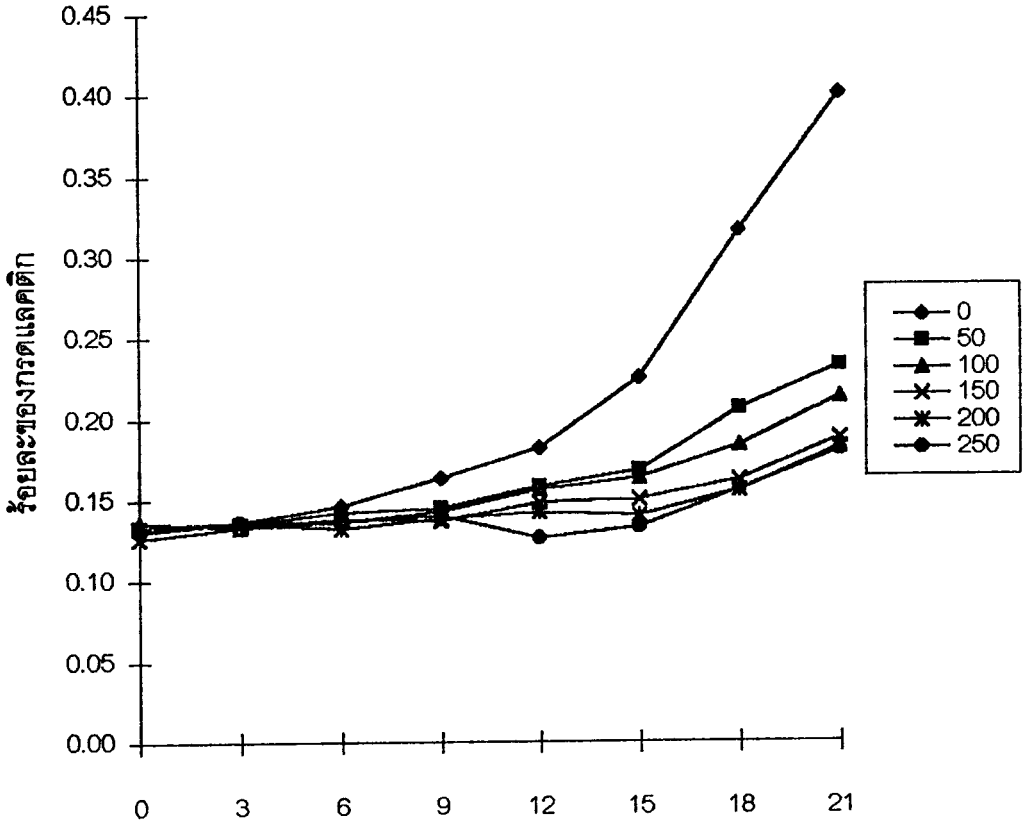
และเมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 18 วัน พบว่า น้ำนมที่เติมไนซิน 0 50 และ 100 IU/ml ความเป็นกรดของน้ำนมเพิ่มสูงกว่าน้ำนมปกติ ส่วนน้ำนมที่มีไนซิน 150 200 และ 250 IU/ml ความเป็นกรดของน้ำนมเพิ่มสูงขึ้นเล็กน้อยมีค่าร้อยละ 0.16 และเมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 21 วัน พบว่า ตัวอย่างน้ำนมทั้งหมดมีความเป็นกรดเพิ่มสูงขึ้น โดยน้ำนมที่ไม่ได้เติมไนซินจะมีความเป็นกรดของน้ำนมสูงที่สุด และลดลงเมื่อความเข้มข้นของไนซินสูงขึ้น

ภาพที่ 12



ความสัมพันธ์ระหว่างค่า pH ของน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน
ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที
และระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ภาพที่ 13



ความสัมพันธ์ระหว่าง ร้อยละกรดแลคติกของน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และระยะเวลาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

2.2.3.3 การทดสอบด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 68 (Alcohol Test)

ตารางที่ 27

ผลการทดสอบน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน (IU/ml) ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ ด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 68

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	การตกตะกอนของน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml) ด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 68					
	0	50	100	150	200	250
0	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-
12	+	-	-	-	-	-
15	+	-	-	-	-	-
18	+	+	+	-	-	-
21	+	+	+	+	+	+

หมายเหตุ : (-) = น้ำนมไม่ตกตะกอน

(+) = น้ำนมตกตะกอน

ผลการทดสอบน้ำนมภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 68 ดังแสดงในตารางที่ 27 พบว่า ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาน้ำนม 0 3 6 และ 9 วัน โปรตีนในน้ำนมทั้งที่ไม่ได้เติมและเติมไนซิน มีความคงตัวไม่ตกตะกอนเมื่อทดสอบ ซึ่งให้ผลเป็นลบ

เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 12 และ 15 วัน พบว่าน้ำนมที่ไม่ได้เติมไนซินจะตกตะกอน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองที่ 2.2.3.2 กล่าวคือ เมื่อความเป็นกรดของน้ำนมเพิ่มสูงขึ้น

ถึงร้อยละ 0.18 โปรตีนที่มีอยู่ในน้ำนมจะไม่สามารถรักษาสภาวะความคงตัวไว้ได้ ส่วนน้ำนมที่เติมไนซินความเข้มข้น 50 100 150 200 และ 250 IU/ml ไม่ตกตะกอนเมื่อทดสอบ

เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 18 วัน พบว่าที่มีระดับความเข้มข้นไนซิน 0 50 และ 100 IU/ml จะเกิดการตกตะกอนของโปรตีนในน้ำนม ในขณะที่ความเข้มข้น 150 200 และ 250 IU/ml ไม่ตกตะกอนเมื่อทดสอบด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 68 และเมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 21 วัน พบว่าตัวอย่างน้ำนมทั้งหมดให้ผลการทดสอบเป็นบวก โดยโปรตีนในน้ำนมตกตะกอน

2.2.3.4 การทดสอบการตกตะกอนหลังการต้ม (Clot-on-Boiling)

ตารางที่ 28

ผลการทดสอบการตกตะกอนหลังการต้มของน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน (IU/ml) ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	การตกตะกอนภายหลังการต้มของน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)					
	0	50	100	150	200	250
0	-	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-	-
6	-	-	-	-	-	-
9	-	-	-	-	-	-
12	+	-	-	-	-	-
15	+	-	-	-	-	-
18	+	+	+	-	-	-
21	+	+	+	+	+	+

หมายเหตุ : (-) = น้ำนมไม่ตกตะกอน

(+) = น้ำนมตกตะกอน

ผลการทดสอบการตกตะกอนน้ำนมภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ดังแสดงในตารางที่ 28 พบว่า ที่ระยะเวลาของการเก็บรักษาน้ำนม 0 3 6 และ 9 วัน โปรตีนที่มีอยู่ในน้ำนมสามารถจะคงตัวอยู่ได้ เมื่อผ่านการต้ม โดยทุกตัวอย่างให้ผลการทดสอบที่เป็นลบ

และเมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 12 และ 15 วัน น้ำนมที่ไม่เติมไนซิน ให้ผลการทดสอบเป็นบวก ส่วนน้ำนมที่เติมไนซินทุกระดับความเข้มข้น ให้ผลเป็นลบ ที่ระยะเวลาของการเก็บรักษาน้ำนม 18 วัน พบว่า ตัวอย่างที่มีไนซิน 0 50 และ 100 IU/ml แสดงผลเป็นบวก ส่วนที่ความเข้มข้น 150 200 และ 250 IU/ml ยังคงแสดงผลการทดสอบเป็นลบ และเมื่อเก็บรักษาน้ำนมเป็นเวลา 21 วัน ผลการทดสอบตัวอย่างน้ำนมทั้งหมดเป็นบวก คือเกิดการตกตะกอนเมื่อนำน้ำนมไปผ่านการต้ม

2.3 การตรวจสอบคุณภาพทางจุลินทรีย์

2.3.1 น้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที

2.3.1.1 การตรวจนับจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count)

ตารางที่ 29
จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (log CFU/ml) ในน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน (IU/ml) ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (log CFU/ml) [1/] ระยะเวลาของการเก็บรักษา (วัน)					
	0	3	6	9	12	15
0	4.81^{a}	4.87^{a}	4.96^{a}	5.33^{a}	6.39^{a}	7.73^{a}
50	4.80^{a}	4.78^{a}	4.83^{ab}	5.16^{ab}	5.83^{b}	6.62^{b}
100	4.79^{a}	4.73^{a}	4.71^{b}	5.13^{bc}	5.80^{b}	6.65^{b}
150	4.82^{a}	4.75^{a}	4.65^{b}	4.93^{cd}	5.27^{c}	6.11^{b}
200	4.83^{a}	4.76^{a}	4.62^{b}	4.84^{d}	5.14^{c}	6.16^{b}
250	4.77^{a}	4.72^{a}	4.67^{b}	4.86^{d}	5.08^{c}	6.10^{b}

หมายเหตุ : [1/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$)

ผลการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นระยะเวลา 30 นาที ที่ผ่านการเติมไนซินระดับความเข้มข้นต่างๆ หลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ ดังแสดงในตารางที่ 29 พบว่า มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดอยู่ระหว่าง 4.77 - 4.83 log CFU/ml จากจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นที่ตรวจนับได้ในน้ำนมดิบก่อนการฆ่าเชื้อแบบพาสเจอร์ไรส์ มีจำนวนอยู่ระหว่าง 6.10 - 6.23 log CFU/ml ซึ่งการให้ความร้อนระดับดังกล่าวนี้ไม่เพียงพอที่จะทำลายจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำนมดิบให้ต่ำลง ในระดับที่สามารถจะนำน้ำนมนั้นมาบริโภคโดยตรงได้ กล่าวคือ น้ำนมพร้อมดื่มที่ผ่านการฆ่าเชื้อในระดับพาสเจอร์ไรส์จะต้องมีจำนวน

จุลินทรีย์ทั้งหมดที่ตรวจนับได้ไม่เกิน 4.70 log CFU/ml(50,000 CFU/ml) ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานที่กำหนดไว้ของกระทรวงสาธารณสุข (สุจิตรา , 2536) ดังนั้นน้ำนมที่ได้จึงควรจะนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์นมต่าง ๆ ต่อไป และเมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 3 วัน พบว่า น้ำนมที่ไม่เติมและเติมไนซินความเข้มข้น 50 100 150 200 และ 250 IU/ml มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดระหว่าง 4.87-4.72 log CFU/ml โดยค่าที่ได้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ที่ระยะเวลาการเก็บน้ำนม 6 วัน พบว่า น้ำนมที่เติมไนซิน 0 และ 50 IU/ml มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ตรวจนับได้สูงกว่า น้ำนมที่มีระดับไนซิน 100 150 200 และ 250 IU/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Naguib และคณะ (1985) โดยพบว่า การเติมไนซินระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในน้ำนมคืนรูป และเพาะเชื้อบริสุทธิ์ที่ต้องการทดสอบลงไป ไนซินสามารถจะชะลอการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ ตลอดจนเซลล์ที่สามารถสร้างสปอร์ได้ในช่วงวันต้น ๆ ของการเก็บรักษา

เมื่อเก็บน้ำนมไว้ 9 วัน พบว่า น้ำนมที่มีระดับไนซิน 0 50 และ 100 IU/ml มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด 5.33, 5.16 และ 5.13 log CFU/ml ตามลำดับ ซึ่งเพิ่มสูงขึ้นจากที่ระยะเวลาการเก็บ 6 วัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนน้ำนมที่เติมไนซิน 150, 200 และ 250 IU/ml มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด 4.93, 4.84 และ 4.86 log CFU/ml ตามลำดับ ซึ่งมีจำนวนเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เมื่อเทียบกับที่ 6 วัน เมื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติ พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ตรวจนับได้ของน้ำนมที่ไม่ได้เติมไนซินแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับน้ำนมที่ผ่านการเติมไนซินในทุกระดับความเข้มข้น และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างน้ำนมที่ผ่านการเติมไนซินระดับต่างๆ พบว่า ที่ความเข้มข้น 50 และ 100 IU/ml ให้ผลในการยับยั้งได้ไม่แตกต่างกัน แต่เมื่อความเข้มข้นของไนซินเพิ่มสูงขึ้นเป็น 200 และ 250 IU/ml จะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนตัวอย่างที่เติมไนซิน 100 และ 150 IU/ml ให้ผลในการยับยั้งได้ไม่แตกต่างกัน

เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 12 วัน พบว่าน้ำนมที่ไม่ได้เติมไนซินมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับน้ำนมที่มีการเติมไนซิน และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างน้ำนมที่มีการเติมไนซินพบว่า ที่ความเข้มข้นของไนซิน 50 และ 100 IU/ml ให้ผลไม่แตกต่างกัน แต่จะแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับน้ำนมที่เติมไนซินความเข้มข้น 150, 200 และ 250 IU/ml และที่ระยะเวลาของการเก็บรักษาน้ำนมเพิ่มขึ้นเป็น 15 วัน น้ำนมที่ไม่ได้เติมไนซินมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นถึง 7.73 log CFU/ml ซึ่งมีจำนวนมากกว่าน้ำนมที่เติมไนซินทุกระดับความเข้มข้น

โดยจุลินทรีย์ทั้งหมดที่พบมีจำนวนระหว่าง 6.10 - 6.62 log CFU/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบจำนวนจุลินทรีย์ระหว่างตัวอย่างน้ำนมทุกระดับความเข้มข้นของไนซิน พบว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

2.3.1.2 การตรวจนับแลคติกแอซิดแบคทีเรีย(Lactic acid bacteria)

ตารางที่ 30
จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรีย(log CFU/ml)ในน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน (IU/ml) ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (log CFU/ml) 1/ ระยะเวลาของการเก็บรักษา (วัน)					
	0	3	6	9	12	15
0	3.21[a]	3.80[a]	4.13[a]	4.64[a]	5.37[a]	6.76[a]
50	3.14[a]	3.37[b]	3.66[b]	3.95[b]	4.94[b]	5.23[b]
100	3.24[a]	3.33[b]	3.62[b]	3.90[b]	4.77[b]	5.19[b]
150	3.16[a]	2.89[b]	2.80[c]	2.92[b]	3.40[c]	4.42[b]
200	3.17[a]	2.85[b]	2.78[c]	2.91[b]	3.41[c]	4.38[b]
250	3.11[a]	2.86[b]	2.79[c]	2.92[b]	3.37[c]	4.36[b]

หมายเหตุ : 1/ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$)

ผลการตรวจนับจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียในน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์น้ำนมที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ ดังแสดงในตารางที่ 30 พบว่า มีจำนวนอยู่ระหว่าง 3.11 - 3.24 log CFU/ml จากจำนวนเริ่มต้นในน้ำนมดิบก่อนการฆ่าเชื้อ มีจำนวนอยู่ระหว่าง 4.84 - 4.88 log CFU/ml ซึ่งผลจากการให้ความร้อนทำให้แลคติกแอซิดแบคทีเรียบางส่วนถูกทำลายลงไป และบางชนิดเหลือรอดจากการให้ความร้อนแบบพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิดังกล่าว ได้แก่ แบคทีเรีย

Streptococus thermophilus, S. lactis, Lactobacillus spp., Bacillus spp. และ *Micrococcus spp.* เป็นต้น แบคทีเรียในกลุ่มนี้สามารถจะใช้น้ำตาลแลกโตสที่มีอยู่ในน้ำนม พร้อมกับผลิตกรดแลคติกขึ้นทำให้น้ำนมมีรสเปรี้ยวและเกิดการตกตะกอนของโปรตีน และเมื่อเก็บน้ำนมไว้เป็นระยะเวลาเพิ่มขึ้น น้ำนมที่ไม่ได้เติมไนซินมีจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียเพิ่มสูงขึ้นในวันที่ 9 ของการเก็บน้ำนม ในขณะที่น้ำนมที่มีระดับความเข้มข้นของไนซิน 50 และ 100 IU/ml มีจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียเพิ่มขึ้นเป็น 4.94 และ 5.96 log CFU/ml ในวันที่ 12 ของการเก็บรักษา ส่วนน้ำนมที่เติมไนซิน 150 200 และ 250 IU/ml มีจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียเพิ่มเป็น 4.36 - 4.42 log CFU/ml ในวันที่ 15 ของการเก็บรักษา

จากผลการทดลอง แสดงให้เห็นว่า ที่ความเข้มข้นของไนซิน 150 200 และ 250 IU/ml ให้ผลในการยับยั้งและทำลายแลคติกแอซิดแบคทีเรียในน้ำนมได้ดี ซึ่งมีค่าสูงกว่าในการทดลองของ Radler (1990b) และ Ogden และคณะ (1988) ทั้งนี้น่าจะเป็นผลมาจากสายพันธุ์ของแลคติกแอซิดแบคทีเรียต่าง ๆ ที่ปนเปื้อนในน้ำนม มีความต้านทานไนซินได้แตกต่างกัน ซึ่งสายพันธุ์ที่ไม่สามารถต้านทานไนซินได้จะถูกทำลายลง ส่วนสายพันธุ์ที่สามารถต้านทานไนซินได้จะเจริญและผลิตกรดแลคติกขึ้นในน้ำนมทำให้น้ำนมเสื่อมเสีย ซึ่งจากการทดลองของ Radler (1990a) ได้ศึกษาถึงความไวของไนซินต่อแลคติกแอซิดแบคทีเรีย 83 สายพันธุ์ พบว่าแลคติกแอซิดแบคทีเรียมีความไวต่อไนซิน ระหว่าง 5 - 1,000 IU/ml และส่วนใหญ่จะถูกยับยั้งด้วยไนซิน 10 IU/ml ซึ่งสายพันธุ์ที่มีความต้านทานสูงถึง 1,000 IU/ml พบว่าเป็นสายพันธุ์ของ *Lactococcus* และ *Strepptococcus* ได้แก่ *L. lactis, L. plantarum, L. casei, S. lactis* และ *S. thermophilus* ซึ่งสายพันธุ์เหล่านี้สามารถทนต่อการให้ความร้อนในระดับพาสเจอร์ไรส์ได้

2.3.1.3 การตรวจนับ *Staphylococcus aureus*

ตารางที่ 31

จำนวน *Staph. aureus* (log CFU/ml) ในน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน (IU/ml) ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	จำนวน *Staph. aureus* (log CFU/ml) [1/] ระยะเวลาของการเก็บรักษา (วัน)					
	0	3	6	9	12	15
0	2.78^{a}	2.96^{a}	3.92^{a}	4.71^{a}	4.94^{a}	5.61^{a}
50	2.77^{a}	2.83^{b}	3.86^{ab}	4.03^{b}	4.15^{b}	5.35^{b}
100	2.79^{a}	2.76^{bc}	3.89^{a}	3.99^{b}	4.11^{b}	5.06^{c}
150	2.75^{a}	2.67^{c}	3.85^{abc}	3.87^{b}	4.06^{b}	4.87^{cd}
200	2.76^{a}	2.65^{c}	3.66^{bc}	3.70^{b}	3.80^{b}	3.90^{d}
250	2.78^{a}	2.62^{c}	3.64^{c}	3.62^{b}	3.76^{b}	3.88^{d}

หมายเหตุ : [1/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$)

ผลการทดลองตรวจนับจำนวน *Staph. aureus* ในน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บที่อุณหภูมิ 10 °ซ ได้แสดงในตารางที่ 31 พบว่า จำนวน *Staph. aureus* ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์มีค่าอยู่ระหว่าง 2.75 - 2.79 log CFU/ml จากจำนวนเริ่มต้นที่ตรวจพบได้ในน้ำนมดิบ 3.79 - 3.83 log CFU/ml อย่างไรก็ตามจำนวน *Staph. aureus* ที่พบในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ยังมีปริมาณค่อนข้างสูง ซึ่งชี้ให้เห็นว่าการใช้ความร้อนระดับพาสเจอร์ไรส์ 60°ซ นาน 30 นาที ไม่เพียงพอที่จะทำลาย *Staph. aureus* ที่มีในน้ำนมลงได้ เนื่องจาก *Staph. aureus* ทนต่อการถูกทำลายด้วยความร้อน เมื่อน้ำนมถูกเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลาเพิ่มขึ้น จำนวนเชื้อ *Staph. aureus* ในน้ำนมทั้งที่ไม่ได้เติม และเติมไนซินในทุกระดับความเข้มข้นมีจำนวนเพิ่มขึ้น เป็น 3.92 - 3.64 log CFU/ml ในวันที่ 6 ของการเก็บรักษา และเมื่อเก็บน้ำนมไว้เป็นเวลา 9 และ 12 วัน จำนวนเชื้อจะ

เพิ่มมากขึ้นเล็กน้อย และค่อนข้างคงที่ในน้ำนมที่มีระดับความเข้มข้นของไนซิน 200 และ 250 IU/ml และเมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 15 วัน น้ำนมที่มีระดับความเข้มข้นของไนซิน 0 50 100 และ 150 IU/ml มีจำนวนเชื้อ *Staph. aureus* อยู่ระหว่าง 4.87 - 5.61 log CFU/ml ในขณะที่ที่ระดับความเข้มข้น 200 และ 250 IU/ml จำนวนเชื้อเพิ่มขึ้นอยู่ระหว่าง 3.88 - 3.90 log CFU/ml ผลจากการเติมไนซินที่ความเข้มข้นระดับดังกล่าวข้างต้นให้ผลคล้ายคลึงกับ Gowan และคณะ (1952) ซึ่งพบว่า ระดับความเข้มข้นต่ำสุดของไนซินที่ให้ผลในการยับยั้งการเจริญของ *Staph. aureus* มีค่าอยู่ระหว่าง 14 - 128 IU/ml โดยทดสอบจาก *Staph. aureus* ที่มีความไวต่อไนซิน 8 สายพันธุ์ และสอดคล้องกับ Matlick และ Hirsch (1947) พบว่า ความเข้มข้นของไนซิน 100 IU/ml จะให้ผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Staph. aureus* ได้ดี นอกจากนี้ยังให้ผลสอดคล้องกับ ยุวดีและสุภาภรณ์ (2539) ซึ่งได้ทดลองใช้ไนซินในน้ำนมดิบ และพบว่าที่ความเข้มข้นของไนซิน 100 IU/ml สามารถยับยั้งการเจริญของ *Staph. aureus* ในน้ำนมดิบ

2.3.1.4 การตรวจนับ *Bacillus cereus*

ตารางที่ 32

จำนวน *B. cereus* (log CFU/ml) ในน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน (IU/ml) ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	จำนวน *B. cereus* (log CFU/ml) [1/] ระยะเวลาของการเก็บรักษา (วัน)					
	0	3	6	9	12	15
0	2.34^{a}	2.39^{a}	3.75^{a}	3.91^{a}	4.62^{a}	4.78^{a}
50	2.29^{a}	2.32^{ab}	3.64^{b}	3.75^{b}	4.19^{b}	4.39^{b}
100	2.30^{a}	2.33^{ab}	3.62^{b}	3.64^{b}	3.81^{c}	3.86^{c}
150	2.26^{a}	2.36^{a}	2.32^{c}	2.50^{c}	2.57^{c}	2.66^{c}
200	2.26^{a}	2.13^{ab}	2.10^{c}	1.91^{c}	1.96^{c}	2.11^{c}
250	2.26^{a}	2.05^{b}	1.98^{c}	1.81^{c}	1.86^{c}	2.16^{c}

หมายเหตุ : [1/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$)

จากผลการตรวจนับจำนวน *B. cereus* ในน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บที่อุณหภูมิ 10 °ซ ได้แสดงในตารางที่ 32 จำนวน *B. cereus* ที่ตรวจนับได้มีค่าอยู่ระหว่าง 2.26 - 2.34 log CFU/ml จากจำนวนเริ่มต้นของ *B. cereus* ที่ตรวจพบได้ในน้ำนมดิบ 3.14 - 3.23 log CFU/ml

ภายหลังการเก็บน้ำนมเป็นเวลา 3 วัน พบว่า น้ำนมทุกตัวอย่างมีจำนวนเชื้อ *B. cereus* อยู่ระหว่าง 2.05 - 2.39 log CFU/ml เมื่อเก็บน้ำนมไว้ 6 วัน พบว่า น้ำนมที่เติมไนซินความเข้มข้น 0 50 และ 100 IU/ml จำนวน *B. cereus* เพิ่มขึ้นอยู่ระหว่าง 3.62 - 3.75 log CFU/ml ส่วนที่ความเข้มข้นของไนซิน 150 200 และ 250 IU/ml จำนวนเชื้อดังกล่าว ค่อนข้างคงที่ คือ 1.98 - 2.32 log CFU/ml

เมื่อเก็บน้ำนมไว้เป็นเวลา 9, 12 และ 15 วัน น้ำนมที่เติมไนซินความเข้มข้น 0 50 และ 100 IU/ml จำนวนของ *B. cereus* มีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการเก็บรักษา ส่วนที่ความเข้มข้น 150 200 และ 250 IU/ml พบว่า จำนวนของ *B. cereus* ค่อนข้างคงที่ โดยเฉพาะที่ความเข้มข้นของไนซิน 200 และ 250 IU/ml ซึ่งผลการทดลองที่ได้คล้ายคลึงกับการทดลองของ Lipinska (1977) ซึ่งพบว่า สปอร์ของ *B. cereus* จะถูกยับยั้งด้วยไนซินที่มีความเข้มข้นมากกว่า 100 IU/ml นอกจากนี้ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับ Gupta และคณะ (1972) ซึ่งพบว่า สปอร์ของ *B. cereus* จะถูกยับยั้งได้ด้วยความเข้มข้นของไนซิน 75 - 100 IU/ml

2.3.2 น้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที

2.3.2.1 การตรวจนับจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count)

ตารางที่ 33

จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (log CFU/ml) ในน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน (IU/ml) ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (log CFU/ml) 1/ ระยะเวลาของการเก็บรักษา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
0	4.35^{a}	4.42^{a}	4.74^{a}	5.12^{a}	5.66^{a}	6.91^{a}	7.25^{a}	7.54^{a}
50	4.38^{a}	4.39^{a}	4.57^{b}	4.88^{b}	5.55^{a}	6.80^{b}	6.98^{b}	7.34^{b}
100	4.32^{a}	4.24^{b}	4.16^{c}	4.31^{c}	4.68^{b}	5.42^{c}	5.92^{c}	6.83^{c}
150	4.30^{a}	4.12^{b}	4.10^{c}	4.21^{c}	4.55^{b}	5.32^{c}	5.73^{c}	6.41^{d}
200	4.37^{a}	4.14^{b}	3.99^{c}	4.06^{c}	4.40^{b}	4.98^{c}	5.66^{c}	6.38^{d}
250	4.38^{a}	4.12^{b}	3.97^{c}	4.08^{c}	4.38^{b}	4.96^{c}	5.69^{c}	6.36^{d}

หมายเหตุ : 1/ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$)

ผลการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ ดังแสดงในตารางที่ 33 พบว่า จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ตรวจนับได้อยู่ระหว่าง 4.30 - 4.38 log CFU/ml จากจำนวนเริ่มต้นที่ตรวจนับได้ในน้ำนมดิบ 6.10 - 6.23 log CFU/ml ซึ่งน้ำนมที่ไม่เติมและเติมไนซินทุกระดับความเข้มข้น มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่แตกต่างกัน

เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 3 และ 6 วัน พบว่าน้ำนมที่มีระดับความเข้มข้นของไนซิน 0 50 100 150 200 และ 250 IU/ml มีจำนวนจุลินทรีย์ที่ตรวจนับได้ค่อนข้างคงที่

เมื่อเก็บรักษาน้ำนมเป็นเวลา 9 วัน พบว่า น้ำนมที่เติมไนซิน 0 และ 50 IU/ml มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นเป็น 5.12 และ 4.88 log CFU/ml ตามลำดับ ในขณะที่น้ำนมที่เติมไนซิน 100 150 200 และ 250 IU/ml จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย

เมื่อเก็บรักษาน้ำนมเป็นเวลา 12 วัน น้ำนมที่มีระดับไนซิน 0 และ 50 IU/ml มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดสูงเกินกว่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ คือ 5.66 และ 5.55 log CFU/ml ตามลำดับ ส่วนที่ความเข้มข้น 100 150 200 และ 250 IU/ml จุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำนมอยู่ระหว่าง 4.38 - 4.68 log CFU/ml โดยเพิ่มขึ้นจากวันที่ 9 เพียงเล็กน้อย

ที่ระยะเวลาของการเก็บรักษาน้ำนม 15 และ 18 วัน พบว่า น้ำนมทั้งหมดมีจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น โดยน้ำนมที่มีไนซิน 0 และ 50 IU/ml มีจำนวนจุลินทรีย์สูงเกินกว่ามาตรฐานที่กำหนดไว้ ซึ่งไม่สามารถจะนำน้ำนมที่ได้มาใช้บริโภคโดยตรงได้ ในขณะที่น้ำนมที่เติมไนซิน 100 150 200 และ 250 IU/ml มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มขึ้น เช่นกัน แต่ยังอยู่ในค่ามาตรฐาน หรือสูงกว่าเพียงเล็กน้อย

เมื่อเก็บน้ำนมไว้เป็นระยะเวลา 21 วัน พบว่า ตัวอย่างน้ำนมทั้งหมดมีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้นเกินกว่ามาตรฐานที่กำหนด โดยน้ำนมที่มีไนซิน 0 และ 50 IU/ml มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำนมมากที่สุด คือ 7.54 และ 7.34 log CFU/ml ตามลำดับ ในขณะที่น้ำนที่มีไนซิน 100 150 200 และ 250 IU/ml จำนวนของจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นจะเป็นปฏิภาคกลับกับระดับความเข้มข้นของไนซิน ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับ Naguib และคณะ (1985) โดยพบว่า การเติมไนซินในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมในน้ำนมคืนรูป ไนซินสามารถจะชะลอการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ในน้ำนม ตลอดจนเซลล์ที่สามารถสร้างสปอร์ได้ในช่วงวันต้น ๆ ของการเก็บรักษา

2.3.2.2 การตรวจนับแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (Lactic acid bacteria)

ตารางที่ 34

จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรีย(log CFU/ml)ในน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน (IU/ml) ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	จำนวน แลคติกแอซิดแบคทีเรีย (log CFU/ml) 1/ ระยะเวลาของการเก็บรักษา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
0	2.83[a]	2.95[a]	3.70[a]	4.61[a]	4.84[a]	5.33[a]	6.56[a]	6.86[a]
50	2.81[a]	2.88[a]	3.43[b]	4.01[b]	4.22[b]	5.24[b]	5.94[b]	6.39[b]
100	2.79[a]	2.83[a]	2.74[c]	3.26[b]	3.76[b]	4.92[c]	5.12[c]	5.64[c]
150	2.82[a]	2.84[a]	2.76[c]	2.97[b]	3.39[b]	4.87[c]	5.03[c]	5.61[c]
200	2.80[a]	2.82[a]	2.72[c]	2.95[b]	3.42[b]	3.86[d]	4.37[c]	4.71[c]
250	2.80[a]	2.82[a]	2.71[c]	2.96[b]	3.38[b]	3.81[d]	4.36[c]	4.74[c]

หมายเหตุ : 1/ ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$)

ผลการตรวจนับจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ ดังแสดงในตารางที่ 34 พบว่า ที่ระยะเวลาของการเก็บรักษา 0 วัน จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่ตรวจนับได้มีค่าอยู่ระหว่าง 2.79 - 2.83 log CFU/ml จากจำนวนเริ่มต้นที่ตรวจพบได้ในน้ำนมดิบก่อนการฆ่าเชื้อแบบพาสเจอร์ไรส์ มีจำนวนอยู่ระหว่าง 4.84 - 4.88 log CFU/ml

เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 3 วัน น้ำนมทั้งที่ไม่ได้เติมและเติมไนซินทุกระดับความเข้มข้นมีจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียไม่แตกต่างกัน ($p = 0.5$) และเมื่อเก็บน้ำนม ไว้ 6 วัน พบว่า น้ำนมที่เติมไนซิน 0 และ 50 IU/ml มีจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียเพิ่มขึ้น ในขณะที่น้ำนมที่เติมไนซิน 100 150 200 และ 250 IU/ml จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียลดลงเล็กน้อย

ที่ระยะเวลาของการเก็บรักษาน้ำนม 9 และ 12 วัน น้ำนมที่มีระดับไนซิน 0 และ 50 IU/ml มีจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียเพิ่มขึ้นในระดับที่ใกล้เคียงกัน คือ 4.61 - 4.84 และ 4.01 - 4.22 log CFU/ml ตามลำดับ ในน้ำนมที่มีระดับไนซิน 100 150 200 และ 250 IU/ml มีจำนวนอยู่ระหว่าง 2.96 - 3.26 และ 3.38 - 3.76 log CFU/ml ในวันที่ 9 และ 12 ของการเก็บรักษา

เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 15 18 และ 21 วัน ตัวอย่างน้ำนมทั้งหมดมีจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียเพิ่มสูงขึ้น โดยสัมพันธ์กับระยะเวลาและความเข้มข้นของไนซิน กล่าวคือ เมื่อระยะเวลาของการเก็บรักษานานขึ้น พบว่า จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่ตรวจนับได้มีจำนวนเพิ่มขึ้น แต่ที่ความเข้มข้นของไนซินสูงขึ้นจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียเพิ่มจำนวนน้อยลง โดยที่ระยะเวลาการเก็บรักษาน้ำนม 15 วัน ความเข้มข้นของไนซินที่ 200 และ 250 IU/ml จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียน้อยกว่าที่ความเข้มข้น 0 - 150 IU/ml อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อระยะเวลาของการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นเป็น 18 และ 21 วัน ที่ความเข้มข้นของไนซิน 100 150 200 และ 250 IU/ml สามารถชะลอการเพิ่มจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียในน้ำนมได้ดีกว่าที่ความเข้มข้น 0 และ 50 IU/ml

2.3.2.3 การตรวจนับ *Staphylococcus aureus*

ตารางที่ 35

จำนวน *Staphy. aureus* (log CFU/ml) ในน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน (IU/ml) ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	จำนวน *Staphy. aureus* (log CFU/ml) [1/] ระยะเวลาของการเก็บรักษา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
0	1.41[a]	1.56[a]	1.77[a]	2.02[a]	2.05[a]	2.04[a]	2.06[a]	2.16[a]
50	1.38[a]	1.50[a]	1.66[b]	1.80[b]	1.51[b]	1.63[b]	1.89[a]	2.06[ab]
100	1.41[a]	1.20[b]	1.20[c]	1.30[c]	1.14[c]	1.44[b]	1.89[a]	1.94[b]
150	1.36[a]	1.20[b]	0.30[d]	ND	ND	0.30[c]	0.47[b]	ND
200	1.44[a]	1.25[b]	ND	ND	ND	0.30[c]	ND	ND
250	1.44[a]	1.20[b]	ND	ND	ND	0.30[c]	ND	ND

หมายเหตุ : [1/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p = 0.05)

ND หมายถึง ตรวจไม่พบ

ผลการตรวจนับจำนวน *Staphy. aureus* ในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ดังแสดงในตารางที่ 35 พบว่า จำนวน *Staphy. aureus* ที่ตรวจนับได้มีค่าอยู่ระหว่าง 1.36 - 1.44 log CFU/ml ในขณะที่จำนวนเชื้อที่ตรวจพบในน้ำนมดิบ มีค่าอยู่ระหว่าง 3.79 - 3.83 log CFU/ml

ภายหลังการเก็บน้ำนมที่อุณหภูมิ 10 °ซ เป็นเวลา 3 วัน น้ำนมที่ระดับไนซิน 0 และ 50 IU/ml จำนวน *Staphy. aureus* เพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่ที่ระดับความเข้มข้นของไนซิน 100 150 200 และ 250 IU/ml โดยสามารถลดจำนวน *S. aureus* ลงได้ร้อยละ 38.46 30.43 35.71 และ 42.86 เมื่อเปรียบเทียบกับที่ระยะเวลาของการเก็บรักษา 0 วัน ซึ่งผลการ

ทดลองที่ได้คล้ายคลึงกับรายงานของ Gowen และ คณะ (1952) ซึ่งพบว่าระดับความเข้มข้นต่ำสุดของไนซินที่ให้ผลในการยับยั้งและทำลาย *Staphy. aureus* มีค่าอยู่ระหว่าง 4 - 128 IU/ml โดยทดสอบจาก *Staphy. aureus* ที่มีความไวต่อไนซิน 8 สายพันธุ์ ส่วน Mattick และ Hirsch (1947) พบว่า ความเข้มข้นของไนซิน 100 IU/ml จะให้ผลในการยับยั้งการเจริญเติบโตของ *Staphy. aureus* ได้ดี นอกจากนี้ยังให้ผลสอดคล้องกับ ยุวดี และ สุภาภรณ์ (2539) ซึ่งได้ทดลองใช้ไนซินในน้ำนมดิบ และพบว่าที่ความเข้มข้นของไนซิน 100 IU/ml สามารถจะยับยั้ง *Staphy. aureus* ในน้ำนมดิบลงได้ เมื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างทางสถิติพบว่า ตัวอย่างน้ำนมที่เติมไนซิน 0 และ 50 IU/ml ให้ผลในการยับยั้งได้ไม่แตกต่างกัน แต่จะให้ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับตัวอย่างที่เติมไนซินที่ 100 150 200 และ 250 IU/ml โดยระดับความเข้มข้นดังกล่าวนี้ให้ผลในการยับยั้งไม่แตกต่างกัน

เมื่อเก็บรักษาน้ำนมเป็นเวลา 6 วัน น้ำนมที่มีระดับไนซิน 0 และ 50 IU/ml มีจำนวน *Staphy. aureus* เพิ่มขึ้น ส่วนที่ความเข้มข้นของไนซิน 100 IU/ml พบว่า *Staphy. aureus* มีจำนวนคงที่ และที่ระดับไนซิน 150 200 และ 250 IU/ml พบว่า ไนซินสามารถยับยั้งและทำลาย *Staphy. aureus* ในน้ำนมได้ โดยลดจำนวนลงได้ถึงร้อยละ 87.50 100 และ 100 ตามลำดับ และผลการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติพบว่า ตัวอย่างน้ำนมที่ไม่ได้เติมไนซินมีจำนวน *Staphy. aureus* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับน้ำนมที่ผ่านการเติมไนซินทุกระดับความเข้มข้น และเมื่อเปรียบเทียบระหว่างน้ำนมที่เติมไนซินระดับต่างๆ พบว่า ที่ความเข้มข้นของไนซิน 50 และ 100 IU/ml มีจำนวน *Staphy. aureus* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับที่ความเข้มข้น 100 150 200 และ 250 IU/ml และที่ความเข้มข้นของไนซินตั้งแต่ 150 IU/ml ขึ้นไปให้ผลการยับยั้ง *Staphy. aureus* ได้ไม่แตกต่างกัน

ภายหลังการเก็บรักษาน้ำนมเป็นเวลา 9 12 15 18 และ 21 วัน น้ำนมที่ไม่ได้เติมไนซินมีจำนวน *Staphy. aureus* เพิ่มสูงขึ้นที่ระยะเวลาการเก็บ 9 วัน และค่อนข้างคงที่เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นเป็น 12 15 และ 18 และเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเก็บเป็นเวลา 21 วัน ส่วนน้ำนมที่มีไนซิน 50 และ 100 IU/ml จำนวนของ *Staphy. aureus* เพิ่มขึ้นโดยมีแนวโน้มเดียวกับน้ำนมที่ไม่เติมไนซิน ส่วนน้ำนมที่มีระดับไนซิน 150 200 และ 250 IU/ml สามารถยับยั้งและทำลาย *Staphy. aureus* ที่มีในน้ำนมได้อย่างสมบูรณ์ โดยตรวจไม่พบ *Staphy. aureus* ในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา ทั้งนี้น่าจะเป็นผลมาจากการให้ความร้อนในระดับพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ อาจส่งผลในการทำลายและก่อให้เซลล์ของ *Staphy. aureus* ที่ปนเปื้อนมากับน้ำนมได้รับการ

บาดเจ็บ (Injured cell) ไม่สามารถจะทวีจำนวนขึ้นได้เมื่ออยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมของอุณหภูมิในการเก็บรักษา ประกอบกับการเติมไนซินช่วยเสริมฤทธิ์การเข้าทำลายเซลล์ของ *Staphy. aureus*

2.3.2.4 การตรวจนับ *Bacillus cereus*

ตารางที่ 36

จำนวน *B. cereus* (log CFU/ml) ในน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	จำนวน *B. cereus* (log CFU/ml) [1/] ระยะเวลาของการเก็บรักษา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
0	0.95^{a}	1.34^{a}	1.68^{a}	2.01^{a}	2.22^{a}	2.65^{a}	2.85^{a}	3.30^{a}
50	1.00^{a}	1.23^{ab}	1.43^{b}	1.88^{b}	2.10^{b}	2.57^{a}	2.81^{ab}	2.92^{b}
100	1.04^{a}	1.11^{b}	1.38^{b}	1.83^{b}	2.09^{b}	2.55^{a}	2.75^{b}	2.85^{b}
150	0.90^{a}	0.30^{c}	ND	ND	0.77^{c}	0.60^{b}	0.69^{c}	ND
200	1.04^{a}	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
250	1.04^{a}	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

หมายเหตุ : [1/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$)

ND หมายถึง ตรวจไม่พบ

ผลการตรวจนับจำนวน *B. cereus* ในน้ำนมภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ดังแสดงในตารางที่ 36 พบว่า จำนวน *B. cereus* ที่ตรวจนับได้มีค่าอยู่ระหว่าง 0.90 - 1.04 log CFU/ml ในขณะที่จำนวนเชื้อในน้ำนมดิบ 3.14 - 3.23 log CFU/ml ภายหลังการเก็บรักษาน้ำนมที่อุณหภูมิ 10 °ซ เป็นเวลา 3 วัน พบว่า น้ำนมที่เติมไนซิน 0 50 และ 100 IU/ml จำนวน *B. cereus* เพิ่มขึ้น ส่วนที่ระดับความเข้มข้นของไนซิน 150 200 และ 250 IU/ml พบว่า สามารถยับยั้งและทำลาย *B. cereus* ได้ ร้อยละ 75 90.91 และ 90.91 ตาม

ลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับที่ระยะเวลาของการเก็บรักษา 0 วัน และจากผลการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่า น้ำนมที่ผ่านการเติมไนซิน 0 และ 50 IU/ml ให้ผลในการยับยั้งได้ไม่แตกต่างกัน แต่จะแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อความเข้มข้นของไนซินเพิ่มขึ้นเป็น 100 150 200 และ 250 IU/ml โดยตัวอย่างที่เติมไนซิน 150 200 และ 250 IU/ml ให้ผลในการยับยั้งได้ไม่แตกต่างกัน

เมื่อระยะเวลาของการเก็บรักษาน้ำนมเพิ่มขึ้นเป็น 6 9 และ 12 วัน น้ำนมที่มีระดับไนซิน 0 50 และ 100 IU/ml จำนวน *B. cereus* เพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาการเก็บที่เพิ่มขึ้น แต่ที่ระดับความเข้มข้นของไนซิน 150 IU/ml พบว่าไนซินสามารถเข้ายับยั้งและทำลาย *B. cereus* ได้และน้ำนมที่เติมไนซิน 200 และ 250 IU/ml สามารถทำลาย *B. cereus* ได้จนไม่สามารถตรวจพบ

ภายหลังการเก็บรักษาน้ำนมเป็นเวลา 15 18 และ 21 วัน น้ำนมที่มีไนซิน 0 50 และ 100 IU/ml จำนวน *B. cereus* เพิ่มสูงขึ้น ส่วนที่ความเข้มข้นของไนซิน 150 200 และ 250 IU/ml พบว่า จำนวนเชื้อ *B. cereus* ลดลงจนไม่สามารถตรวจพบได้ที่ระดับความเข้มข้น 250 IU/ml แม้ว่าจะเก็บน้ำนมไว้เป็นเวลา 21 วัน เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่า น้ำนมที่มีระดับไนซิน 0 50 และ 100 IU/ml ให้ผลในการยับยั้งได้ไม่แตกต่างกัน แต่จะแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อความเข้มข้นของไนซินเพิ่มขึ้นเป็น 150 200 และ 250 IU/ml โดยที่ความเข้มข้นดังกล่าวข้างต้นให้ผลในการยับยั้งได้ไม่แตกต่างกัน

2.3.3 น้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที

2.3.3.1 การตรวจนับจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count)

ตารางที่ 37

จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (log CFU/ml) ในน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน (IU/ml) ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (log CFU/ml) [1/] ระยะเวลาของการเก็บรักษา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
0	4.22^{a}	4.26^{a}	4.63^{a}	4.86^{a}	5.68^{a}	6.35^{a}	6.93^{a}	7.19^{a}
50	4.18^{a}	4.23^{ab}	4.19^{b}	4.74^{ab}	5.13^{b}	5.92^{b}	6.53^{b}	6.72^{b}
100	4.23^{a}	4.16^{ab}	4.09^{b}	4.66^{ab}	4.94^{b}	5.31^{c}	6.00^{c}	6.59^{bc}
150	4.19^{a}	4.10^{b}	4.03^{b}	4.40^{b}	4.75^{b}	4.94^{c}	5.87^{c}	6.27^{c}
200	4.24^{a}	4.12^{b}	3.97^{b}	4.38^{b}	4.68^{b}	4.91^{c}	5.89^{c}	6.24^{c}
250	4.21^{a}	4.14^{b}	3.96^{b}	4.36^{b}	4.65^{b}	4.92^{c}	5.88^{c}	6.17^{c}

หมายเหตุ : [1/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$)

ผลการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดในน้ำนมภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที พบว่าจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ตรวจนับได้อยู่ระหว่าง 4.18 - 4.24 log CFU/ml ดังแสดงในตารางที่ 37 จากจำนวนเริ่มต้นที่ตรวจนับได้ในน้ำนมดิบ 6.10 - 6.23 log CFU/ml และพบว่า จำนวนจุลินทรีย์ค่อนข้างคงที่ภายหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 3 วัน และเพิ่มสูงขึ้นเล็กน้อยเมื่อเก็บน้ำนมไว้ 6 และ 9 วัน ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ตัวอย่างน้ำนมทั้งหมดมีจำนวนจุลินทรีย์เริ่มต้นไม่แตกต่างกัน แต่จะแตกต่างเมื่อเก็บตัวอย่างน้ำนมไว้เป็นเวลา 6 วัน โดยตัวอย่างที่มีไนซิน 0 IU/ml มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับน้ำนมที่เติมไนซินทุกระดับความเข้มข้น

เมื่อเก็บรักษาน้ำนมเป็นเวลา 12 วัน พบว่า น้ำนมที่มีไนซิน 0 50 100 และ150IU/ml มีจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดสูงเกินกว่ามาตรฐานที่กำหนด (50,000 โคโลนี/มิลลิลิตร) ซึ่งไม่สามารถนำน้ำนมนั้นมาใช้บริโภคโดยตรงได้ ส่วนน้ำนมที่เติมไนซิน 200 และ 250 IU/ml จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดยังอยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน และเมื่อเก็บน้ำนมไว้เป็นระยะเวลา 15 18 และ 21 วัน พบว่า น้ำนมทั้งหมดมีจำนวนจุลินทรีย์เพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น และสูงเกินกว่ามาตรฐานที่กำหนด (50,000 โคโลนี/มิลลิลิตร)

2.3.3.2 การตรวจนับแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (Lactic acid bacteria)

ตารางที่ 38
จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรีย(log CFU/ml)ในน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน (IU/ml) ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (log CFU/ml) [1/] ระยะเวลาของการเก็บรักษา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
0	2.75^{a}	2.86^{a}	3.40^{a}	4.09^{a}	4.75^{a}	5.05^{a}	5.96^{a}	6.68^{a}
50	2.73^{a}	2.83^{a}	3.17^{b}	3.92^{b}	4.42^{b}	4.87^{b}	5.43^{b}	5.90^{b}
100	2.72^{a}	2.79^{a}	2.83^{c}	2.97^{c}	3.91^{c}	4.64^{c}	5.15^{c}	5.74^{b}
150	2.74^{a}	2.80^{a}	2.77^{c}	2.94^{c}	3.70^{c}	4.40^{cd}	5.07^{c}	5.41^{b}
200	2.71^{a}	2.79^{a}	2.78^{c}	2.92^{c}	3.33^{c}	3.90^{d}	4.22^{d}	4.36^{b}
250	2.74^{a}	2.78^{a}	2.79^{c}	2.87^{c}	3.29^{c}	3.87^{d}	4.20^{d}	4.39^{b}

หมายเหตุ : [1/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$)

ผลการตรวจนับจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียในน้ำนมภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ดังแสดงในตารางที่ 38 พบว่า มีจำนวนอยู่ระหว่าง 2.71 - 2.75 log CFU/ml จากจำนวนเริ่มต้นในน้ำนมดิบมีจำนวนอยู่ระหว่าง 4.84 -

4.89 log CFU/ml ภายหลังการเก็บน้ำนมที่อุณหภูมิ 10 °ซ เป็นเวลา 3 วัน พบว่า น้ำนมที่มีไนซิน 0 50 100 150 200 และ 250 IU/ml จำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่ตรวจนับได้เพิ่มขึ้นเล็กน้อย ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ

เมื่อเก็บรักษาน้ำนมเป็นเวลา 6 และ 9 วัน พบว่า ตัวอย่างน้ำนมทั้งหมดมีจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียเพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาของการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น โดยน้ำนมที่มีระดับไนซิน 0 และ 50 IU/ml จะมีจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียมากที่สุด ในขณะที่ระดับไนซิน 100 150 200 และ 250 IU/ml มีจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียค่อนข้างคงที่

ที่ระยะเวลาของการเก็บรักษาน้ำนม 12 15 18 และ 21 วัน น้ำนมทุกตัวอย่างมีจำนวนแลคติกแอซิดแบคทีเรียเพิ่มสูงขึ้น ตามระยะเวลาของการเก็บรักษาที่นานขึ้น โดยอัตราการเพิ่มของแลคติกแอซิดแบคทีเรียจะน้อยลงตามความเข้มข้นของไนซินที่เพิ่มขึ้น โดยที่ระดับความเข้มข้นของไนซิน 200 และ 250 IU/ml จะมีการเพิ่มจำนวนของเชื้อดังกล่าวน้อยที่สุด ซึ่งทั้งสองความเข้มข้นให้ผลการยับยั้งไม่แตกต่างกันทางสถิติ

2.3.3.3 การตรวจนับ *Staphylococcus aureus*

ตารางที่ 39

จำนวน *Staphy. aureus* (log CFU/ml) ในน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน (IU/ml) ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	จำนวน *Staphy. aureus* (log CFU/ml) [1/] ระยะเวลาของการเก็บรักษา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
0	0.77[a]	0.84[a]	0.69[a]	0.60[a]	1.07[a]	1.27[a]	1.72[a]	2.08[a]
50	0.69[a]	0.77[a]	0.60[ab]	0.47[ab]	0.84[b]	1.11[b]	1.63[a]	1.96[b]
100	0.69[a]	ND	0.60[ab]	0.30[ab]	ND	ND	ND	0.30[c]
150	0.60[a]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.30[c]
200	0.69[a]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
250	0.77[a]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

หมายเหตุ : [1/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$)

ND หมายถึง ตรวจไม่พบ

จากผลการตรวจนับจำนวน *Staphy. aureus* ในน้ำนมภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ดังแสดงในตารางที่ 39 มีจำนวน *Staphy. aureus* ที่ตรวจนับได้อยู่ระหว่าง 0.60 - 0.77 log CFU/ml จากจำนวนเชื้อเริ่มต้นในน้ำนมดิบ 3.79 - 3.83 log CFU/ml ซึ่งการพาสเจอร์ไรส์ในระดับดังกล่าวสามารถทำลาย *Staphy. aureus* ให้อยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดอาหารเป็นพิษ

ภายหลังการเก็บน้ำนมที่อุณหภูมิ 10 °ซ เป็นเวลา 3 6 และ 9 วัน น้ำนมที่มีระดับไนซิน 0 และ 50 IU/ml มีจำนวน *Staphy. aureus* เพิ่มขึ้นเล็กน้อย และที่ระดับไนซิน 100 IU/ml จำนวน *Staphy. aureus* ลดลงในวันที่ 3 และวันที่ 6 และ 9 ที่ระดับไนซิน 150 200

และ 250 IU/ml ตรวจไม่พบเชื้อ *Staphy. aureus* ในน้ำนมแสดงว่าไนซินสามารถยับยั้งและทำลาย *Staphy. aureus* ที่ระดับความเข้มข้นสูงกว่า 100 IU/ml

และเมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 12 15 18 และ 21 วัน พบว่าน้ำนมที่ระดับไนซิน 0 และ 50 IU/ml มีจำนวน *Staphy. aureus* เพิ่มขึ้น ตามระยะเวลาของการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น ส่วนที่ระดับไนซิน 100 และ 150 IU/ml ตรวจไม่พบเชื้อดังกล่าวในวันที่ 12 - 18 แต่ในวันที่ 21 ตรวจพบเพียงเล็กน้อยเท่ากับ 0.3 log CFU/ml และที่ระดับไนซิน 200 และ 250 IU/ml ตรวจไม่พบเชื้อ *Staphy. aureus* แม้จะเก็บน้ำนมเป็นเวลา 21 วัน

2.3.3.4 การตรวจนับ *Bacillus cereus*

ตารางที่ 40

จำนวน *B. cereus* (log CFU/ml) ในน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน (IU/ml) ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	จำนวน *B. cereus* (log CFU/ml) [1/] ระยะเวลาของการเก็บรักษา (วัน)							
	0	3	6	9	12	15	18	21
0	0.77[a]	0.90[a]	1.04[a]	1.17[a]	1.88[a]	2.31[a]	2.90[a]	3.36[a]
50	0.69[a]	0.30[b]	0.30[b]	1.00[a]	1.07[b]	1.38[b]	2.24[b]	2.85[b]
100	0.69[a]	ND	ND	ND	ND	0.77[b]	0.77[c]	1.69[c]
150	0.60[a]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	0.30[c]
200	0.60[a]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND
250	0.69[a]	ND	ND	ND	ND	ND	ND	ND

หมายเหตุ : [1/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$)

ND หมายถึง ตรวจไม่พบ

จากผลการตรวจนับจำนวน *B. cereus* ในน้ำนมภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ดังแสดงในตารางที่ 40 มีจำนวน *B. cereus* ที่ตรวจนับได้อยู่ระหว่าง 0.60 - 0.77 log CFU/ml จากจำนวนเริ่มต้นของ *B. cereus* ที่ตรวจพบได้ในน้ำนมดิบ 3.14 - 3.23 log CFU/ml ซึ่งความร้อนในระดับนี้สามารถทำลาย *B. cereus* ได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ภายหลังการเก็บน้ำนมที่อุณหภูมิ 10 °ซ เป็นเวลา 3 และ 6 วัน น้ำนมที่มีระดับไนซิน 0 IU/ml มีจำนวน *B. cereus* เพิ่มขึ้นเล็กน้อย แต่ที่ระดับไนซิน 50 IU/ml จำนวน *B. cereus* ลดลง ในขณะที่ระดับ 100 150 200 และ250 IU/ml ตรวจไม่พบเชื้อดังกล่าว เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่า น้ำนมที่ไม่ได้เติมไนซินมีจำนวน *B. cereus* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับตัวอย่างที่ผ่านการเติมไนซินทุกระดับความเข้มข้น

เมื่อเก็บรักษาน้ำนมเป็นเวลา 9 12 15 18 และ 21 วัน พบว่า น้ำนมที่มีระดับไนซิน 0 และ 50 IU/ml จำนวน *B. cereus* เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการเก็บรักษา ส่วนที่ระดับไนซิน 100 IU/ml ตรวจไม่พบ *B. cereus* ในวันที่ 9 และ 12 แต่หลังจากวันที่ 15 ของการเก็บรักษาจำนวนเชื้อ *B. cereus* เริ่มเพิ่มจำนวนมากขึ้นตามระยะเวลาการเก็บ ในขณะที่ความเข้มข้น 150 IU/ml ตรวจไม่พบเชื้อดังกล่าว จนถึงวันที่ 18 ของการเก็บรักษา และที่ความเข้มข้น 200 และ 250 IU/ml ตรวจไม่พบเชื้อดังกล่าวแม้จะเก็บน้ำนมไว้เป็นเวลา 21 วัน

จากผลการทดลองการตรวจสอบคุณภาพของน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60, 63 และ 65 °ซ ทางด้านประสาทสัมผัส ทางเคมี และทางจุลินทรีย์ เพื่อหาความเข้มข้นของไนซินที่เหมาะสมในการยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่ดีที่สุด โดยใช้เกณฑ์ตัดสินคุณภาพตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 26 และ 35 (พ.ศ.2522) พบว่า

ที่อุณหภูมิของการพาสเจอร์ไรส์ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที การให้ความร้อนในระดับนี้ไม่สามารถจะทำลายจุลินทรีย์ทั้งหมดให้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานน้ำนมพร้อมดื่มที่กำหนดไว้ได้ ดังนั้นน้ำนมที่ผ่านการให้ความร้อนในระดับนี้จึงไม่สามารถนำมาผลิตเป็นน้ำนมพร้อมดื่มได้ แต่จากผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส และทางเคมีพบว่า น้ำนมยังมีคุณภาพที่อยู่ในเกณฑ์มาตรฐาน ซึ่งสามารถนำไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ หรือเก็บน้ำนมเพื่อรอการแปรรูปต่อไปได้ จากเกณฑ์การตัดสินดังกล่าวพบว่าตัวอย่างน้ำนมที่เติมไนซิน 0 และ 50 IU/ml สามารถเก็บ

รักษาน้ำนมไว้ได้ 3 วัน โดยยังคงแสดงคุณภาพที่เป็นปกติ และตัวอย่างที่เติมไนซิน 100 150 200 และ 250 IU/ml สามารถยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมออกไปได้ถึง 6 9 12 และ 12 วัน ตามลำดับ ซึ่งไนซินที่เติมลงไปสามารถยืดอายุการเก็บรักษาของน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ออกไปได้มากกว่า 6 วัน เมื่อเก็บน้ำนมไว้ที่อุณหภูมิ 10 °ซ ดังนั้นระดับความเข้มข้นของไนซินที่ 200 IU/ml เหมาะสมที่จะเลือกใช้เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที

ที่อุณหภูมิของการพาสเจอร์ไรส์ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที พบว่า การให้ความร้อนในระดับนี้สามารถยับยั้งและทำลายจุลินทรีย์ที่มีในน้ำนมได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ตรวจนับได้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดไว้ ดังนั้นน้ำนมที่ผ่านการให้ความร้อนในระดับนี้ จึงสามารถจะใช้บริโภคในรูปน้ำนมพร้อมดื่มได้ ซึ่งตัวอย่างน้ำนมที่เติมไนซิน 0 และ 50 IU/ml สามารถเก็บรักษาน้ำนมไว้ได้ 6 วันโดยยังแสดงคุณภาพที่เป็นปกติ ส่วนตัวอย่างที่เติมไนซิน 100 150 200 และ 250 IU/ml สามารถยืดอายุการเก็บรักษาของน้ำนมออกไปได้ถึง 12 วันเท่ากัน หรือ 2 เท่าของระยะเวลาเดิม ดังนั้นระดับความเข้มข้นของไนซินที่ 100 IU/ml เหมาะสมที่จะเลือกใช้เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที

ที่อุณหภูมิของการพาสเจอร์ไรส์ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที พบว่า การให้ความร้อนในระดับนี้สามารถยับยั้งและทำลายจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำนมได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ตรวจนับได้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดไว้ ดังนั้นน้ำนมที่ผ่านการให้ความร้อนในระดับนี้สามารถใช้บริโภคในรูปน้ำนมพร้อมดื่มได้ ซึ่งตัวอย่างน้ำนมที่เติมไนซิน 0 และ 50 IU/ml สามารถเก็บรักษาน้ำนมไว้ได้ 6 วัน โดยยังแสดงคุณภาพปกติ ส่วนตัวอย่างที่เติมไนซิน 100 และ 150 IU/ml พบว่าสามารถยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมได้ 9 วัน และตัวอย่างที่เติมไนซิน 200 และ 250 IU/ml สามารถยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ได้นานที่สุด 12 วัน ดังนั้นระดับความเข้มข้นของไนซินที่ 200 IU/ml เหมาะสมที่จะเลือกใช้เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่ 65 °ซ

จากผลการให้ความร้อนกับน้ำนมที่อุณหภูมิ 60, 63 และ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ช่วยยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมให้นานออกไปได้มากกว่า 2 เท่าของระยะเวลาเดิม ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับรายงานของ ไปรมา (2531) ; วิเชียร (2539) ซึ่งรายงานการใช้ไนซินในประเทศตะวันออกกลางที่มีอุณหภูมิค่อนข้างอบอุ่นหรือร้อน ที่มักเกิดปัญหาการขนส่งและการเก็บรักษาน้ำนม ไนซินสามารถยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมได้มากกว่า 2 เท่าของระยะเวลาการเก็บ

รักษาเดิม ในทุกระดับอุณหภูมิของการเก็บรักษา อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบระยะเวลาของการเก็บรักษาน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ 63 และ 65 °ซ พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของไนซิน 100 และ 150 IU/ml ให้ผลในการยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมได้แตกต่างกัน โดยที่อุณหภูมิ 63 °ซ สามารถยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมได้มากกว่าที่อุณหภูมิ 65 °ซ ถึง 3 วัน ทั้งนี้น่าจะเป็นผลมาจากระดับการใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ช่วยกระตุ้นให้การเจริญของจุลินทรีย์ที่ทนต่อความร้อนสามารถเจริญได้ดีขึ้น โดยเฉพาะในกลุ่มของแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ซึ่งจากรายงานของ Patel และ Blankenagel (1972) ; Robinson (1981a,b) พบว่าจุลินทรีย์ในกลุ่มดังกล่าว ได้แก่ *Lactobacillus spp., Bacillus spp., Streptococcus spp.*และกลุ่มจุลินทรีย์ต่าง ๆ เช่น *Alcaligenes spp., Arthorobacter spp., Clostridium spp., Corynebacterium spp., Microbacterium spp., Micrococcus spp., Sarcina spp., Pseudomonas spp.* และ Gram negative rod อื่น ๆ และสอดคล้องกับผลการทดลองของ Shehata และ Collins (1972) พบว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงและเวลานาน จะไปกระตุ้นการงอกของสปอร์และเร่งการเจริญของเซลล์ที่กำลังเจริญให้เพิ่มจำนวนต่อไปได้ และการพาสเจอร์ไรส์แบบที่ใช้อุณหภูมิต่ำและเวลานานทำให้น้ำนมเปลี่ยนสภาพไปซึ่งช่วยให้เซลล์ที่บาดเจ็บสามารถฟื้นตัวและกลับมาเจริญได้เป็นปกติเมื่อยืดอายุการเก็บรักษาของน้ำนมออกไป ดังนั้นจากผลการทดลองการใช้ไนซิน ในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60, 63 และ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ชี้ให้เห็นว่าไนซินที่ถูกเติมลงไปสามารถจะยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้ในส่วนของการใช้ไนซินเพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้น้ำนมเสื่อมเสีย ได้แก่ แลคติกแอซิดแบคทีเรีย และกลุ่มที่ก่อให้เกิดอาหารเป็นพิษ ได้แก่ *S. aureus* และ *B. cereus* ก็สามารถควบคุมการเจริญได้

3. การศึกษาปริมาณความเข้มข้นของไนซินที่เหลืออยู่ภายหลังการให้ความร้อนที่ระดับพาสเจอร์ไรส์

3.1 การวิเคราะห์กราฟมาตรฐานของสารละลายไนซิน

ผลการวัดขนาดของ Clear zone ของสารละลายไนซินมาตรฐานที่ระดับความเข้มข้น 0 50 100 150 200 และ 250 IU/ml จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายไนซินมาตรฐาน (X) กับความกว้างของบริเวณที่ถูกยับยั้ง (Y) โดยการหาสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (linear correlation coefficient) และการวิเคราะห์การถดถอยอย่างง่าย (Simple regression analysis) ได้สมการเส้นตรงดังนี้ คือ

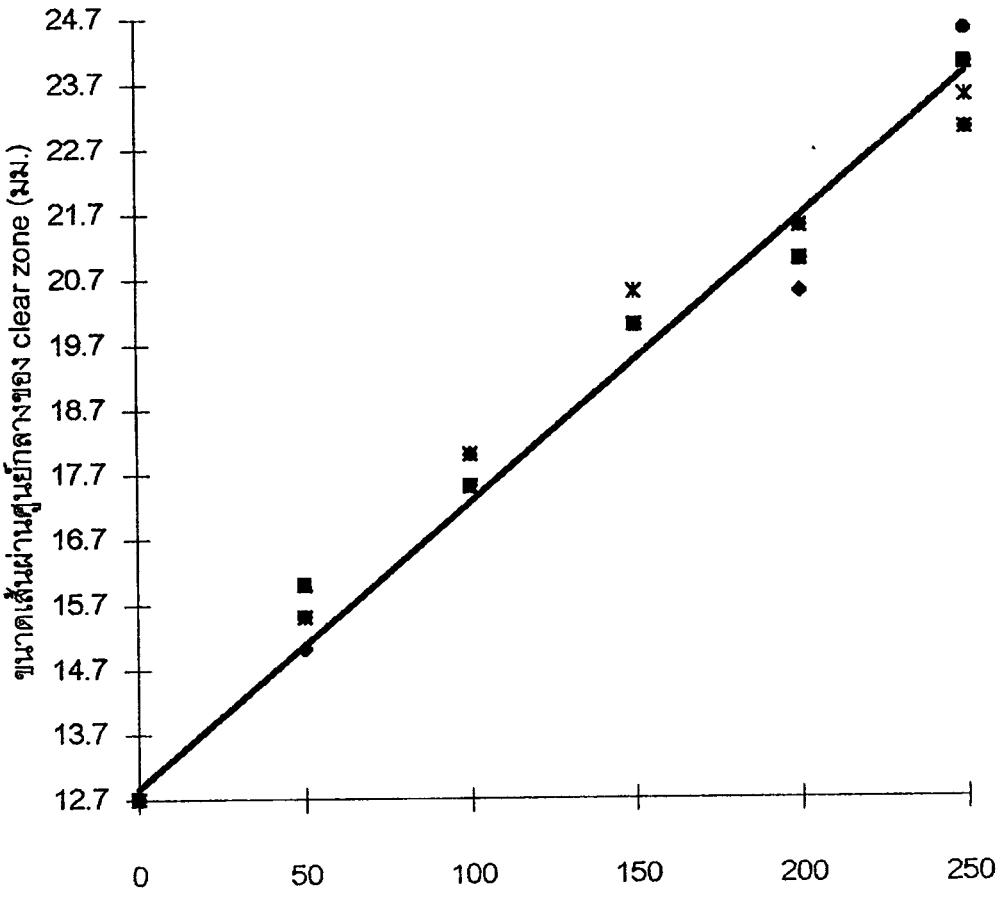
$$Y = 0.0001 + 0.0225X$$

$$(r^2 = 0.9824)$$

พบว่าค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เชิงเส้นตรง (r^2) มีค่ามากกว่า 0.8 แสดงว่าความเข้มข้นของสารละลายไนซินมาตรฐานมีผลต่อความกว้างของบริเวณที่ถูกยับยั้ง และมีทิศทางไปในทางเดียวกัน กล่าวคือ เมื่อความเข้มข้นของไนซินเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ความกว้างเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้งเพิ่มขึ้นตามไปด้วย (สุปัญญา , 2540) และจากการวิเคราะห์การถดถอยอย่างง่าย ซึ่งพบว่าความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของสารละลายไนซินและความกว้างของบริเวณที่ถูกยับยั้งเป็นแบบเส้นตรง (Linear relationship) ดังแสดงในภาพที่ 14

จากกราฟมาตรฐาน พบว่าให้ผลการทดลองสอดคล้องกับ Tramer และ Fowler (1964) ซึ่งได้ศึกษาถึงการวิเคราะห์ไนซินในตัวอย่างอาหาร โดยสร้างกราฟมาตรฐานที่ความเข้มข้นของไนซิน 0.5 1.0 2.5 5.0 และ 10 Unit/ml (20 40 100 200 และ 400 IU/ml) สัมพันธ์กับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ Clear zone ซึ่งมีค่าเท่ากับ 12.8 14.6 17.2 18.4 และ 20.2 มม. ตามลำดับ พบว่าให้ความสัมพันธ์เป็นแบบเส้นตรง นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อความเข้มข้นของไนซินเปลี่ยนไป 1 Unit/ml (40 IU/ml) จะมีผลทำให้ขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางของ Clear zone เพิ่มขึ้นหรือลดลงตามไปด้วย

ภาพที่ 14



กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายไนซิน (IU/ml) และขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone (มม.)

3.2 ปริมาณความเข้มข้นของไนซินที่เหลืออยู่ในน้ำนมดิบและน้ำนมพาสเจอร์ไรส์

จากการวิเคราะห์หาปริมาณไนซินในน้ำนมที่ผ่านการเติมไนซินที่ระดับความเข้มข้น 0 50 100 150 200 และ 250 IU/ml ในน้ำนมก่อนและหลังการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 63 และ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ โดยตรวจวิเคราะห์ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาเริ่มต้นและทุกระยะ 3 วัน จนกระทั่งน้ำนมเสื่อมเสีย ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 41

ตารางที่ 41

ปริมาณความเข้มข้นของไนซินในน้ำนมก่อนและหลังการให้ความร้อนระดับพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 63 และ 65 °ซ ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ความเข้มข้นของไนซินที่เหลืออยู่ (IU/ml)[1]			
ก่อนการให้ความร้อน	ภายหลังการให้ความร้อนที่ระดับอุณหภูมิ (°ซ)		
	60 °ซ	63 °ซ	65 °ซ
0[a]	0[a]	0[a]	0[a]
54.0 ± 9.2[a]	52.4 ± 7.9[a]	55.3 ± 14.7[a]	51.1 ± 7.9[a]
101.1 ± 5.6[a]	104.0 ± 7.4[a]	102.4 ± 7.7[a]	98.4 ± 9.2[a]
152.4 ± 11.7[a]	149.8 ± 13.0[a]	148.4 ± 13.3[a]	152.4 ± 10.3[a]
198.4 ± 15.5[a]	194.2 ± 16.1[a]	190.0 ± 12.4[a]	190.0 ± 11.1[a]
245.6 ± 14.7[a]	242.9 ± 10.8[a]	240.0 ± 8.7[a]	244.2 ± 12.3[a]

หมายเหตุ : [1/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$)

โดยพบว่าปริมาณความเข้มข้นของไนซินในน้ำนมก่อน และหลังการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60, 63 และ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในทุกระดับความเข้มข้นของไนซินที่เติมลงไป ชี้ให้เห็นว่าไนซินมีความคงตัวภายใต้สภาวะการให้ความร้อนระดับต่าง ๆ ดังกล่าว ทำให้ไนซินยังสามารถออกฤทธิ์ในการยับยั้งและทำลายจุลินทรีย์ต่าง ๆ ในน้ำนมได้ ทั้งนี้การต้านทานความร้อนของไนซินน่าจะเป็นผลมาจากโครงสร้างภายในของไนซินที่ประกอบด้วยวงแหวนซึ่งเชื่อมต่อกันของซัลไฟด์บริด (Sulphide bridge) ถึง 5 วง ในโครง

สร้าง ซึ่งพันธะที่เชื่อมต่อมีความแข็งแรงมากช่วยยึดให้โครงสร้างของไนซินทนต่อสภาวะของการให้ความร้อน จึงสามารถคงตัวอยู่ได้ในสภาพดังกล่าว (สุรีย์ , 2536 ; Lipinska , 1977) นอกจากนี้ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับ Tramer และ Fowler (1964) ซึ่งได้สกัดไนซินจากตัวอย่างอาหาร พบว่า ไนซินที่สกัดได้มีความคงตัวสูง สามารถออกฤทธิ์ยับยั้ง และทำลายจุลินทรีย์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ภายหลังผ่านกระบวนการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 63 °ซ นานถึง 30 นาที หรือที่อุณหภูมิ 44 °ซ นานถึง 2 ชั่วโมง และผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับรายงานของ Lipinska (1977) ซึ่งทดลองเติมไนซินในน้ำหางนม (Skim milk) (pH 6.5) ที่ระดับความเข้มข้น 100 Unit/g และผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 110 116 และ 121.1 °ซ เป็นเวลา 3 นาที ตรวจพบไนซินถึง 84 67 และ 60 Unit/g นอกจากนี้ยังพบว่า การใช้ไนซินในน้ำมะเขือเทศ (pH 4.5) ที่อุณหภูมิ 100 °ซ นาน 40 นาที และในกระบวนการแปรรูปเนยแข็ง (pH 5.8) ที่อุณหภูมิ 90 °ซ นาน 12 นาที ยังตรวจพบไนซินในปริมาณสูงถึง 72.4 และ 82.0 Unit/g จากปริมาณเริ่มต้นที่เติมลงไป 100 Uuit/g นอกจากนี้จากรายงานของ Tramer และ Fowler (1964) ยังพบว่าถ้าไนซินอยู่ ในสารประกอบที่มีโมเลกุลใหญ่ๆ เช่น ในน้ำนม และอาหาร ไนซินจะสูญเสียประสิทธิภาพเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับตัวอย่างในบัฟเฟอร์ (Buffer)

3.3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณความเข้มข้นของไนซินในน้ำนมดิบ

จากผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของไนซินในน้ำนมดิบภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ ดังแสดงในตารางที่ 42 พบว่า เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 3 และ 6 วัน ปริมาณไนซินลดลงเล็กน้อย แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์ต่าง ๆ ในน้ำนมดิบ ทั้งที่มีอยู่ตามธรรมชาติหรือเอนไซม์ที่ถูกผลิตจากจุลินทรีย์ทำหน้าที่ย่อยไนซิน โดยเฉพาะเอนไซม์ไนซินเนส (Nisinase) จาก *B. cereus* และ ไคโมทริปซิน (Chymotrypsin) โดยจะทำลายพันธะคู่ของดีไฮโดรอะลานิลไลซีน (Dehydroalanyllysine) ซึ่งอยู่ที่ปลายด้านคาร์บอกซิล (Carboxyl group) ของไนซิน เอนไซม์เหล่านี้จึงเป็นตัวการสำคัญในการต้านฤทธิ์ของไนซิน ดังนั้นประสิทธิภาพของไนซินที่ตรวจพบอาจลดลงได้ (Jarvis ,1967) ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับรายงานของ Lipinska (1977) ซึ่งรายงานการใช้ไนซินในถั่วลันเตาบรรจุกระป๋อง (pH 6.4) โดยเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 8 - 12 °ซ เป็นเวลา 30 เดือน และตรวจวิเคราะห์ปริมาณไนซินทุกระยะเวลาของการเก็บรักษา 3 เดือน ตรวจพบไนซิน 93 90 84 81 และ 62 Unit/g เมื่อเก็บรักษาไว้ 3 6 9 12 และ 15 เดือน ตามลำดับ ซึ่งปริมาณไนซินลดลงตามระยะเวลาของการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น ชี้ให้เห็นว่าการเก็บตัวอย่างอาหารเป็นเวลานานอาจทำให้ประสิทธิภาพของไนซินลดต่ำลงได้

ตารางที่ 42

ความเข้มข้นของไนซินในน้ำนมดิบจากการตรวจสอบภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ระยะเวลาของการเก็บรักษา (วัน)	ความเข้มข้นของไนซินจากการตรวจสอบในน้ำนมดิบ (IU/ml) [1/]					
	ความเข้มข้นของไนซินจากการคำนวณ (IU/ml)					
	0	50	100	150	200	250
0	0^{a}	54.0 ± 9.2^{a}	101.1 ± 5.6^{a}	152.4 ± 11.7^{a}	198.4 ± 15.5^{a}	245.6 ± 14.7^{a}
3	0^{a}	54.0 ± 9.2^{a}	104.0 ± 7.4^{a}	149.8 ± 13.0^{a}	192.9 ± 12.1^{a}	244.2 ± 12.3^{a}
6	0^{a}	48.4 ± 9.2^{a}	99.8 ± 5.4^{a}	146.9 ± 5.4^{a}	191.3 ± 12.3^{a}	238.7 ± 6.7^{a}

หมายเหตุ : [1/] ค่าเฉลี่ยของแต่ละความเข้มข้นที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$)

3.4 การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของไนซินในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์

3.4.1 น้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที

จากผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของไนซินในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ ดังแสดงในตารางที่ 43 พบว่าเมื่อเก็บรักษาน้ำนมไว้เป็นเวลา 3 6 9 12 และ 15 วัน ปริมาณไนซินลดลงเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับที่ 0 วัน ทั้งนี้เมื่อวิเคราะห์ผลความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ปริมาณไนซินที่ตรวจวิเคราะห์ได้ในแต่ละระดับความเข้มข้นตามระยะเวลาของการเก็บรักษาไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ทั้งนี้ผลของการให้ความร้อนในระดับดังกล่าวช่วยทำลายเอนไซม์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติ และลดจำนวนจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับน้ำนมดิบ (ประกาย , 2526) ทำให้ไนซินที่ถูกเติมลงไปไม่ถูกทำลายหรือเกิดการต้านฤทธิ์จากเอนไซม์ จึงมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ดังกล่าวในน้ำนมได้อย่างมีประสิทธิภาพ แม้ว่าจะเก็บน้ำนมไว้ถึง 15 วันก็ตาม

3.4.2 น้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที

จากผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของไนซินในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ ดังแสดงในตารางที่ 44 พบว่าเมื่อเก็บรักษาน้ำนมไว้เป็นระยะเวลานาน 3 6 9 12 15 18 และ 21 วัน ปริมาณไนซินมีแนวโน้มของการลดลงเมื่อระยะเวลาของการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตามผลการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ปริมาณไนซินที่ตรวจวิเคราะห์ได้ในแต่ละระดับความเข้มข้นตามระยะเวลาของการเก็บรักษา ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เช่นเดียวกับผลการทดลองในข้อ 3.4.1 นอกจากนี้การเก็บรักษาน้ำนมที่นานขึ้น อาจส่งผลให้ไนซินเสื่อมสลายลง ซึ่งจะคงที่ที่ระดับความเข้มข้นหนึ่ง (Lipinska ,1977) Brougton (1990) รายงานสูญเสียประสิทธิภาพของไนซินในระหว่างการเก็บรักษา cheese spreads ภายหลังจากผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิพาสเจอร์ไรส์ (85 - 105 °ซ) ซึ่งเติมไนซินเริ่มต้น 250 IU/ml และถูกเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 °ซ โดยพบว่า ในช่วง 10 สัปดาห์แรกของการเก็บรักษาไนซินสูญเสียประสิทธิภาพเพียงเล็กน้อย และค่อนข้างคงที่เมื่อเก็บไว้ 20 สัปดาห์ แต่เมื่อเก็บไว้ 30 สัปดาห์ พบว่ามีแนวโน้มของการสูญเสียประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้น

ตารางที่ 43

ความเข้มข้นของไนซินในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ระยะเวลาของการเก็บรักษา (วัน)	ความเข้มข้นของไนซินจากการตรวจสอบ (IU/ml) [1/]					
	ความเข้มข้นของไนซินจากการคำนวณ (IU/ml)					
	0	50	100	150	200	250
0	0[a]	52.4±7.9[a]	104.0±7.4[a]	149.8±13.0[a]	194.2±16.1[a]	242.9±10.8[a]
3	0[a]	48.4±7.9[a]	98.4±9.2[a]	151.1±7.9[a]	195.6±5.7[a]	241.3±8.7[a]
6	0[a]	49.8±10.3[a]	91.3±11.0[a]	146.9±5.4[a]	188.7±12.3[a]	235.8±7.7[a]
9	0[a]	46.9±9.5[a]	92.9±10.8[a]	146.9±5.4[a]	183.1±6.7[a]	237.3±4.8[a]
12	0[a]	45.6±9.6[a]	92.9±10.8[a]	145.6±7.9[a]	181.8±12.1[a]	234.1±5.5[a]
15	0[a]	45.6±9.6[a]	92.9±9.2[a]	141.3±8.7[a]	183.1±6.7[a]	233.1±7.7[a]

หมายเหตุ : [1/] ค่าเฉลี่ยของแต่ละความเข้มข้นที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$)

ตารางที่ 44

ความเข้มข้นของไนซินในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ระยะเวลาของการเก็บรักษา (วัน)	ความเข้มข้นของไนซินจากการตรวจสอบ (IU/ml) [1/]					
	ความเข้มข้นของไนซินจากการคำนวณ (IU/ml)					
	0	50	100	150	200	250
0	0[a]	55.3±14.6[a]	102.4±7.7[a]	148.4±13.3[a]	190.0±12.4[a]	241.3±8.7[a]
3	0[a]	49.8±14.6[a]	101.1±7.7[a]	145.6±13.3[a]	187.3±12.4[a]	242.9±6.7[a]
6	0[a]	51.1±8.7[a]	94.2±5.6[a]	142.9±7.9[a]	181.8±7.4[a]	237.3±8.7[a]
9	0[a]	51.1±5.6[a]	95.6±9.6[a]	145.6±7.9[a]	180.2±9.5[a]	235.8±5.4[a]
12	0[a]	48.4±9.2[a]	91.3±11.0[a]	145.6±7.9[a]	183.1±3.7[a]	234.4±7.9[a]
15	0[a]	44.2±7.7[a]	92.9±10.8[a]	137.3±14.4[a]	178.9±9.6[a]	238.7±11.7[a]
18	0[a]	46.9±5.4[a]	92.9±10.8[a]	137.3±12.1[a]	178.9±11.1[a]	235.8±5.4[a]
21	0[a]	44.2±5.4[a]	91.3±11.0[a]	138.7±8.7[a]	178.9±9.6[a]	238.7±6.7[a]

หมายเหตุ : [1/] ค่าเฉลี่ยของแต่ละความเข้มข้นที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$)

3.4.3 น้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที

จากผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของไนซินในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ ดังแสดงในตารางที่ 45 พบว่า เมื่อเก็บรักษาน้ำนมไว้เป็นระยะเวลา 3 6 9 12 15 18 และ 21 วัน ปริมาณไนซินมีแนวโน้มของการลดลงเล็กน้อย เมื่อระยะเวลาของการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับที่ระยะเวลาของการเก็บรักษา 0 วัน อย่างไรก็ตามผลการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติ พบว่า ปริมาณความเข้มข้นของไนซินที่ตรวจพบแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในระหว่างการเก็บรักษาน้ำนมที่ 18 - 21 วัน ซึ่งเป็นช่วงท้าย ๆ ของระยะเวลาการเก็บรักษาที่ระดับความเข้มข้น 50 100 150 และ 250 IU/ml ส่วนที่ความเข้มข้นของไนซิน 200 IU/ml พบว่าปริมาณไนซินที่ลดลงไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อระยะเวลาของการเก็บรักษาน้ำนมเพิ่มขึ้น ทั้งนี้ประสิทธิภาพของไนซินที่ลดลงอาจเป็นผลมาจากระดับอุณหภูมิที่ใช้ในพาสเจอร์ไรส์สูง ซึ่งมีผลทำให้ไนซินที่มีโครงสร้างประกอบด้วย โพลีเปปไทด์ของโปรตีนเสื่อมสลายลง (Lipinska , 1977) ดังนั้นการใช้อุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมจะช่วยป้องกันการเสื่อมสลายไนซินในน้ำนมได้ดี และออกฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีในน้ำนมได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ตารางที่ 45

ความเข้มข้นของไนซินในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65°ซ เป็นเวลา 30 นาที ภายหลังการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ระยะเวลาของการเก็บรักษา (วัน)	ความเข้มข้นของไนซินจากการตรวจสอบ (IU/ml) [1/]					
	ความเข้มข้นของไนซินจากการคำนวณ (IU/ml)					
	0	50	100	150	200	250
0	0^{a}	51.1 ± 7.9^{a}	98.4 ± 9.2^{a}	152.4 ± 10.3^{a}	190.0 ± 11.1^{a}	244.2 ± 12.3^{a}
3	0^{a}	49.8 ± 5.6^{a}	101.1 ± 9.2^{a}	148.4 ± 11.7^{ab}	187.3 ± 12.4^{a}	240.0 ± 12.3^{ab}
6	0^{a}	51.1 ± 5.6^{a}	98.4 ± 7.4^{a}	146.9 ± 5.4^{ab}	185.8 ± 8.7^{a}	235.8 ± 9.5^{ab}
9	0^{a}	51.1 ± 9.6^{a}	92.9 ± 10.8^{ab}	142.9 ± 4.8^{ab}	183.1 ± 3.7^{a}	238.7 ± 3.7^{ab}
12	0^{a}	45.6 ± 9.6^{ab}	91.3 ± 7.7^{ab}	146.9 ± 5.4^{ab}	183.1 ± 6.7^{a}	237.3 ± 4.8^{ab}
15	0^{a}	44.2 ± 5.4^{ab}	87.3 ± 4.8^{ab}	145.6 ± 7.9^{ab}	183.1 ± 8.7^{a}	233.1 ± 5.4^{ab}
18	0^{a}	42.9 ± 4.8^{ab}	84.4 ± 7.9^{b}	142.9 ± 4.8^{ab}	181.8 ± 9.2^{a}	234.4 ± 5.6^{b}
21	0^{a}	40.0 ± 5.6^{b}	83.1 ± 6.7^{b}	138.7 ± 8.7^{a}	180.2 ± 11.0^{a}	233.1 ± 5.6^{b}

หมายเหตุ : [1/] ค่าเฉลี่ยของแต่ละความเข้มข้นที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$)

4. ศึกษาผลของไนซินต่อการยับยั้งการเจริญของสปอร์ *B. cereus* ที่เติมลงไปในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์

จากการทดลองเติมสารละลายไนซินที่ความเข้มข้น 0 50 100 150 200 และ 250 IU/ml ในน้ำนมดิบที่เติมสปอร์ของ *B. cereus* และนำมาผ่านความร้อนที่อุณหภูมิ 60 63 และ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 10 °ซ ตรวจสอบคุณภาพทางจุลินทรีย์ทุกระยะเวลาของการเก็บรักษาน้ำนม 3 วัน จนน้ำนมควบคุมเสื่อมเสีย ให้ผลดังนี้

4.1 น้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที

ตารางที่ 46

จำนวน *B. cereus* (log CFU/ml) ในน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน (IU/ml) ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	จำนวน *B. cereus* (log CFU/ml) [1/] ระยะเวลาของการเก็บรักษา (วัน)				
	0	3	6	9	12
0	2.80^{a}	2.79^{a}	3.74^{a}	3.99^{a}	4.52^{a}
50	2.79^{a}	2.80^{a}	3.68^{a}	3.86^{b}	4.39^{b}
100	2.76^{a}	2.79^{a}	3.39^{b}	3.78^{b}	4.20^{c}
150	2.78^{a}	2.74^{a}	2.75^{c}	3.24^{c}	3.67^{d}
200	2.77^{a}	2.75^{a}	2.53^{c}	3.18^{c}	3.65^{d}
250	2.79^{a}	2.71^{a}	2.45^{c}	3.05^{c}	3.61^{d}

หมายเหตุ : [1/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p = 0.05)

จากผลการตรวจนับจำนวน *B. cereus* ในน้ำนมภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ เป็นเวลา 30 นาที มีจำนวนอยู่ระหว่าง 2.80 - 2.76 log CFU/ml แสดงในตาราง

ที่ 46 ซึ่งให้ค่าที่ไม่แตกต่างระหว่างน้ำนมที่ไม่ได้เติม และเติมไนซินทุกระดับความเข้มข้น ภายหลังการเก็บน้ำนมที่อุณหภูมิ 10 °ซ เป็นเวลา 3 วัน จำนวน *B. cereus* ค่อนข้างคงที่ในทุกตัวอย่างทดลอง คืออยู่ระหว่าง 2.79 - 2.71 log CFU/ml

เมื่อเก็บน้ำนมเป็นเวลา 6 วัน น้ำนมที่มีระดับไนซิน 0 50 และ 100 IU/ml จำนวนเชื้อ *B. cereus* เพิ่มขึ้น คือมีค่าอยู่ระหว่าง 3.74 - 3.39 log CFU/ml ในขณะที่ระดับไนซิน 150 200 และ 250 IU/ml ไม่เพิ่มขึ้น คือ อยู่ระหว่าง 2.75 - 2.45 log CFU/ml ภายหลังการเก็บรักษาเป็นเวลา 9 วัน น้ำนมที่มีระดับไนซิน 0 50 และ 100 IU/ml จำนวนเชื้อ *B. cereus* เพิ่มขึ้นอยู่ระหว่าง 3.99 - 3.78 log CFU/ml และที่ระดับไนซิน 150, 200 และ 250 IU/ml จำนวนเชื้อเพิ่มขึ้นอยู่ระหว่าง 3.24 - 3.05 log CFU/ml ที่ระยะเวลาของการเก็บรักษาน้ำนม 12 วัน พบว่าน้ำนมที่มีระดับไนซิน 0, 50 และ 100 IU/ml จำนวนเชื้อ *B. cereus* เพิ่มขึ้นอยู่ระหว่าง 4.52 - 4.20 log CFU/ml และที่ระดับไนซิน 150 200 และ 250 IU/ml จำนวนเชื้อดังกล่าวเพิ่มขึ้นอยู่ระหว่าง 3.67 - 3.61 log CFU/ml

จากผลการทดลองดังกล่าวข้างต้น แสดงให้เห็นว่าตัวอย่างน้ำนมที่ผ่านการเติมไนซินที่ระดับความเข้มข้น 50 และ 100 IU/ml สามารถชะลอการเพิ่มจำนวนขึ้นของ *B. cereus* ที่มีอยู่ในน้ำนมได้ภายหลังการเก็บรักษาน้ำนมเป็นเวลา 3 วัน ส่วนน้ำนมที่มีระดับไนซิน 150 200 และ 250 IU/ml สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *B. cereus* ในน้ำนมได้ภายหลังการเก็บเป็นเวลา 6 วัน

4.2 น้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที

ตารางที่ 47

จำนวน *B. cereus* (log CFU/ml) ในน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ของไนซิน (IU/ml) ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	จำนวน *B. cereus* (log CFU/ml) [1/] ระยะเวลาของการเก็บรักษา (วัน)						
	0	3	6	9	12	15	18
0	2.64^{a}	2.76^{a}	3.14^{a}	3.49^{a}	4.35^{a}	4.82^{a}	4.85^{a}
50	2.65^{a}	2.75^{a}	2.91^{b}	2.97^{b}	3.80^{a}	3.80^{b}	4.03^{b}
100	2.67^{a}	2.73^{a}	2.82^{b}	2.81^{bc}	3.61^{bc}	3.73^{b}	3.90^{bc}
150	2.66^{a}	2.48^{b}	2.43^{c}	2.33^{cd}	2.37^{c}	2.47^{b}	2.63^{c}
200	2.63^{a}	2.42^{b}	2.24^{c}	2.10^{d}	2.12^{c}	2.19^{b}	2.55^{c}
250	2.61^{a}	2.38^{b}	2.26^{c}	2.01^{d}	2.08^{c}	2.00^{b}	2.53^{c}

หมายเหตุ : [1/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p = 0.05)

จากผลการตรวจนับจำนวน *B. cereus* ในน้ำนมภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ เป็นเวลา 30 นาที มีจำนวนอยู่ระหว่าง 2.61 - 2.66 log CFU/ml ดังแสดงในตารางที่ 47 เมื่อเก็บน้ำนมที่อุณหภูมิ 10 °ซ เป็นเวลา 3 6 9 12 15 และ 18 วัน พบว่า น้ำนมควบคุมที่ไม่ได้เติมไนซินมีแนวโน้มการเพิ่มขึ้นของจำนวน *B. cereus* ตามระยะเวลาของการเก็บรักษา ส่วนน้ำนมที่เติมไนซินความเข้มข้น 50 และ 100 IU/ml มีจำนวน *B. cereus* ค่อนข้างคงที่ในช่วง 0 3 6 9 และ 12 วัน เมื่อเก็บรักษาไว้ 15 และ 18 วัน จำนวนเชื้อดังกล่าวเพิ่มขึ้น และน้ำนมที่มีไนซินความเข้มข้น 150 200 และ 250 IU/ml พบว่า จำนวน *B. cereus* ไม่เพิ่มขึ้น แม้จะเก็บไว้เป็นระยะเวลา 18 วัน แสดงว่าไนซินที่ความเข้มข้น 150 IU/ml ขึ้นไป สามารถยับยั้งการเจริญของสปอร์ของ *B. cereus*

4.3 น้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที

ตารางที่ 48

จำนวน *B. cereus* (log CFU/ml) ในน้ำนมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ (IU/ml) ของไนซิน ภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 10 °ซ

ความเข้มข้นของไนซิน (IU/ml)	จำนวน *B. cereus* (log CFU/ml) [1/] ระยะเวลาของการเก็บรักษา (วัน)						
	0	3	6	9	12	15	18
0	2.51^{a}	2.53^{a}	2.81^{a}	3.19^{a}	3.85^{a}	4.66^{a}	4.73^{a}
50	2.53^{a}	2.49^{a}	2.80^{a}	2.82^{b}	3.40^{b}	3.70^{b}	3.92^{b}
100	2.50^{a}	2.51^{a}	2.53^{b}	2.57^{bc}	2.92^{c}	3.62^{b}	3.83^{bc}
150	2.45^{a}	2.36^{ab}	2.29^{c}	2.21^{c}	2.24^{c}	2.20^{b}	2.44^{c}
200	2.45^{a}	2.26^{b}	2.19^{c}	2.12^{d}	2.10^{c}	2.13^{b}	2.38^{c}
250	2.51^{a}	2.29^{b}	2.20^{c}	2.07^{d}	2.04^{c}	2.08^{b}	2.31^{c}

หมายเหตุ : [1/] ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p = 0.05)

จากผลการตรวจนับจำนวน *B. cereus* ในน้ำนมภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที อยู่ระหว่าง 2.45 - 2.53 log CFU/ml ดังแสดงในตารางที่ 48 เมื่อเก็บน้ำนมเป็นระยะเวลา 3 6 9 12 15 และ 18 วัน พบว่า น้ำนมที่ไม่ได้เติมไนซิน มีจำนวน *B. cereus* เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการเก็บรักษา ส่วนน้ำนมที่เติมไนซิน 50 IU/ml พบว่า ในช่วง 3 - 9 วัน ของการเก็บรักษา จำนวน *B. cereus* ค่อนข้างคงที่ และเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาของการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นเป็น 12 15 และ 18 วัน ตามลำดับ ส่วนน้ำนมที่มีระดับไนซิน 100 IU/ml พบว่า ในช่วง 3 - 12 วัน ของการเก็บรักษา จำนวน *B. cereus* ที่ตรวจนับได้ค่อนข้างคงที่และเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาของการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นเป็น 15 และ 18 วัน สำหรับน้ำนมที่มีระดับไนซิน 150 200 และ 250 IU/ml พบว่า จำนวน *B. cereus* ที่ตรวจนับได้ไม่เพิ่มขึ้น แม้ว่าจะเก็บน้ำนมไว้เป็นเวลา 18 วัน ก็ตาม แสดงให้เห็นว่าไนซินที่ระดับความเข้มข้น 150 IU/ml ขึ้นไปสามารถยับยั้งการ

เจริญของสปอร์ของ *B. cereus* ได้ ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับรายงานของ Lipinska (1977) ซึ่งพบว่า สปอร์ของ *B. cereus* จะถูกยับยั้งด้วยไนซินที่มีความเข้มข้นมากกว่า 100 IU/ml เนื่องจากสปอร์ของ *B. cereus* จะมีขนาดใหญ่มากกว่าสปอร์ของ *Bacillus* ในสายพันธุ์อื่น ๆ และอาศัยการงอกโดยกลไกการย่อยสลายส่วนเปิดหุ้มสปอร์ ซึ่งทำให้ *B. cereus* มีความต้านทานไนซินที่ระดับความเข้มข้นสูง นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับผลการทดลองของ Gupta และคณะ (1972) ซึ่งพบว่าสปอร์ของ *B. cereus* จะถูกยับยั้งได้ด้วยความเข้มข้นของไนซิน 75 - 100 IU/ml

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

1. ปริมาณการใช้ไนซินที่เหมาะสมในน้ำนมดิบ

จากการตรวจสอบคุณภาพของน้ำนมดิบเบื้องต้น พบว่าน้ำนมดิบที่เติมไนซินระดับความเข้มข้น 0 50 100 150 200 และ 250 IU/ml มีลักษณะทางประสาทสัมผัส ด้านสี กลิ่น รสชาติ และลักษณะปรากฏ ปกติ มี pH อยู่ระหว่าง 6.75 - 6.77 ความเป็นกรดร้อยละ 0.12 - 0.13 และโปรตีนมีความคงตัว เมื่อทดสอบด้วยแอลกอฮอล์ร้อยละ 68 และการตกตะกอนหลังการต้ม โดยมีจำนวนเริ่มต้นของจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด 6.10 - 6.23 log CFU/ml แลคติกแอซิดแบคทีเรีย 4.84 - 4.89 log CFU/ml *S. aureus* 3.79 - 3.83 log CFU/ml และ *B. cereus* 3.14 - 3.23 log CFU/ml

ผลการตรวจสอบคุณภาพน้ำนมดิบทุกระยะเวลาการเก็บรักษา 3 วัน ให้ผลโดยสรุป ดังนี้

1.1 คุณภาพทางประสาทสัมผัส พบว่า ความเข้มข้นของไนซิน 200 และ 250 IU/ml สามารถยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมดิบได้ 3 วัน โดยน้ำนมยังคงปกติ ทั้งด้านสี กลิ่น รสชาติ และลักษณะปรากฏ

1.2 คุณภาพทางเคมี พบว่า ความเข้มข้นของไนซิน 200 และ 250 IU/ml สามารถยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมดิบได้ 3 วัน โดยน้ำนมยังคงปกติ ทั้ง pH ความเป็นกรด การตกตะกอนหลังการต้ม และการทดสอบด้วยแอลกอฮอล์

1.3 คุณภาพทางจุลินทรีย์ พบว่า ความเข้มข้นของไนซินที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์จะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ที่ตรวจสอบ โดยความเข้มข้นของไนซินที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) แลคติกแอซิดแบคทีเรีย (Lactic acid bacteria) *Staph. aureus* และ *B. cereus* เท่ากับ 100 150 200 และ 150 IU/ml ตามลำดับ ทั้งนี้ความเข้มข้นของไนซินที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มเป้าหมายดังกล่าวทั้งหมด ควรใช้ความเข้มข้นของไนซินที่ระดับ 200 IU/ml

จากผลการตรวจสอบคุณภาพทั้งหมด ระดับความเข้มข้นของไนซินที่เหมาะสมมีค่าเท่ากับ 200 - 250 IU/ml สำหรับการใช้ในการยืดอายุการเก็บน้ำนมดิบ เป็นเวลา 3 วัน

2. ปริมาณการใช้ไนซินในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์

จากการทดลองเติมไนซินในน้ำนมและนำมาผ่านการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 63 และ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที และเก็บรักษาน้ำนมที่อุณหภูมิ 10 °ซ และตรวจสอบคุณภาพของน้ำนมทุก 3 วันของการเก็บรักษา ให้ผลโดยสรุปดังนี้

2.1 น้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 °ซ พบว่า การให้ความร้อนที่ระดับนี้ไม่สามารถทำลายจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total plate count) ที่มีอยู่ในน้ำนมให้อยู่ในเกณฑ์ที่กฎหมายกำหนดได้ (50,000 CFU/ml) จึงไม่สามารถนำน้ำนมมาใช้บริโภคโดยตรงในรูปน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ได้ แต่สามารถจะนำไปผลิตเป็นผลิตภัณฑ์นมอื่น ๆ ต่อไป จากการตรวจสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสและทางเคมี พบว่า ความเข้มข้นของไนซินที่เหมาะสมเท่ากับ 200 และ 250 IU/ml สามารถยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมพาสเจอร์ไรส์สูงสุดได้นาน 12 วัน ซึ่งน้ำนมควบคุมที่ไม่ได้เติมไนซินสามารถเก็บไว้ได้เพียง 3 วัน ผลการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมด แลคติกแอซิดแบคทีเรีย *Staph. aureus* และ *B. cereus* พบว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมเท่ากับ 150 150 150 และ 150 IU/ml ตามลำดับ

2.2 น้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63 °ซ พบว่า ระดับความเข้มข้นของไนซิน 100 IU/ml สามารถยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมได้นาน 12 วัน ซึ่งน้ำนมควบคุมที่ไม่ได้เติมไนซินสามารถเก็บไว้ได้เพียง 6 วัน จากผลการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส ทางเคมี การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมด แลคติกแอซิดแบคทีเรีย *Staph. aureus* และ *B. cereus* พบว่าระดับความเข้มข้นของไนซินที่เหมาะสมเท่ากับ 100 100 150 และ 150 IU/ml ตามลำดับ

2.3 น้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 65 °ซ พบว่า ระดับความเข้มข้นของไนซิน 200 IU/ml สามารถยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมได้นาน 12 วัน ซึ่งน้ำนมควบคุมที่ไม่ได้เติมไนซินสามารถเก็บรักษาได้เพียง 6 วัน จากผลการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส ทางเคมี การยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งหมด แลคติกแอซิดแบคทีเรีย *Staph. aureus* และ *B. cereus* พบว่าระดับความเข้มข้นของไนซินที่เหมาะสมเท่ากับ 100 100 100 และ 100 IU/ml ตามลำดับ

จากผลสรุปดังกล่าวสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการใช้ไนซินในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ คือ การใช้ ไนซินที่ความเข้มข้น 100 IU/ml ร่วมกับการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 63 °ซ นาน 30 นาที ซึ่งสามารถเก็บรักษาน้ำนมที่อุณหภูมิ 10 °ซ ได้เป็นเวลา 12 วัน

3. ปริมาณความเข้มข้นของไนซินที่เหลืออยู่ในน้ำนมหลังการฆ่าเชื้อระดับพาสเจอร์ไรส์

ปริมาณความเข้มข้นของไนซินที่เหลืออยู่ในน้ำนมดิบ และในน้ำนมภายหลังการพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 63 และ 65 °ซ เป็นเวลา 30 นาที พบว่า มีค่าใกล้เคียงกับปริมาณไนซินที่เติมลงไป และการให้ความร้อนกับน้ำนมทั้ง 3 ระดับ ไม่มีผลต่อความคงตัวของไนซิน เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น พบว่า ความเข้มข้นของไนซินในน้ำนมดิบ และน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ 60 และ 63 °ซ ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) ส่วนน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่ 65 °ซ ความเข้มข้นของไนซินจะแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระยะเวลาของการเก็บรักษา 18 และ 21 วัน

4. ศึกษาผลของไนซินต่อการยับยั้งแบคทีเรียที่ทนความร้อนและสร้างสปอร์ ได้แก่ *B. cereus*

พบว่า ความเข้มข้นของไนซินที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *B. cereus* ในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 63 และ 65 มีค่าอยู่ระหว่าง 150 - 250 IU/ml ซึ่งการยับยั้งเชื้อดังกล่าวะที่ดีที่สุด คือ การให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 63 °ซ นาน 30 นาที ร่วมกับการใช้ไนซินที่ความเข้มข้น 250 IU/ml

ข้อเสนอแนะ

น้ำนมเป็นอาหารที่ถูกปนเปื้อนได้ง่ายทั้งจากการสัมผัสและสภาพแวดล้อม ทำให้มีความแปรปรวนของกลุ่มจุลินทรีย์ต่างๆ ซึ่งแตกต่างกันไปในแต่ละแหล่งพื้นที่ ที่มีการรวบรวมน้ำนม ทั้งนี้ระดับความเข้มข้นของการนำไนซินไปใช้อาจไม่สามารถครอบคลุมกลุ่มจุลินทรีย์เป้าหมายได้ทั้งหมด จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงแหล่งรวบรวมน้ำนมดิบก่อนการนำไนซินไปใช้ เพื่อให้ไนซินออกฤทธิ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ อนึ่งจากการทดลองศึกษาครั้งนี้เป็นเพียงแนวทางหนึ่งที่ชี้ให้เห็นว่าผลของการใช้ไนซินสามารถยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมได้อย่างไร นอกจากนี้ควรศึกษาระดับอุณหภูมิและเวลาของการฆ่าเชื้อในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ อุณหภูมิของการเก็บรักษาน้ำนมเพิ่มเติม ซึ่งจะช่วยให้ไนซินมีประสิทธิภาพในการยับยั้งและทำลายจุลินทรีย์ในกลุ่มต่างๆได้ดียิ่งขึ้น และสามารถยืดอายุการเก็บรักษาน้ำนมได้นานขึ้น ประการสุดท้ายเนื่องจากไนซินเป็นแบคเทอริโอซินที่มีราคาค่อนข้างสูง จึงควรคำนึงถึงจุดคุ้มทุนในการนำไนซินไปใช้เป็นสารถนอมอาหาร ทั้งนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ผลิตและผู้บริโภคสูงสุด

บรรณานุกรม

กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง "กำหนดนมโคเป็นอาหารควบคุมเฉพาะและกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐานและวิธีการผลิต." ฉบับที่ 26 และ 35 (2522).

โครงการเผยแพร่ความรู้ผ่านสื่อมวลชน. "นิซิน : สารยับยั้งจุลินทรีย์จากแบคทีเรียแลคติก" เดลินิวส์, 6 ธันวาคม 2538, หน้า 10.

ทองยศ อเนกะเวียง. คู่มือปฏิบัติการนม. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2536 : 296.

นรีกุล สุระพัฒน์. จุลชีววิทยาทางการแพทย์. กรุงเทพฯ : กรุงเทพเวชสาร, 2530 : 38-49.

นรินทร์ ทองศิริ. เทคโนโลยีอาหารนม. กรุงเทพ ฯ : อักษรการพิมพ์, 2527 : 181.

ประกาย จิตรกร. นมและผลิตภัณฑ์นม. กรุงเทพฯ : โรงพิมพ์กรุงเทพการพิมพ์, 2536 : 453.

ไปรมา ยงมานิตชัย. "ไนซิน-สารกันบูดธรรมชาติ." วารสารอาหาร. ปีที่ 18 ฉบับที่ 1 (2531) : 37-40.

พวงพร โชติกไกร. จุลชีววิทยาของอาหารและนม. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยรามคำแหง, 2537:334.

มานิตย์ วาสุเทพรังสรรค์. นมและผลิตภัณฑ์นม. เชียงใหม่ : สถาบันพัฒนาฝึกอบรมและวิจัยโคนมแห่งชาติกรมปศุสัตว์, 2529 : 53.

ยุวดี สิริเรืองอำไพ และ สุภาภรณ์ พิศพันธ์. การยืดอายุการเก็บน้ำนมดิบด้วยไนซิน. ปัญหาพิเศษภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, 2539 : 65.

วิเชียร ลีลาวัชรมาศ. ไนซินและการใช้เป็นสารถนอมอาหาร. วารสารอุตสาหกรรมเกษตร ปีที่ 1 ฉบับที่ 3 (2535) : 9-16.

วรรณา ตั้งเจริญชัย. ปฏิบัติการนมและผลิตภัณฑ์นม. กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, 2536 : 114.

สุจิตรา เลิศพฤกษ์. เทคโนโลยีผลิตภัณฑ์นม. เชียงใหม่ : สถาบันเทคโนโลยีการเกษตรแม่โจ้, 2536 : 249.

สุปัญญา ไชยชาญ. การวิจัยการตลาด. กรุงเทพฯ : พี.เอ.ลิฟวิ่ง จำกัด, 2540 : 177-188.

สุรีย์ นานาสมบัติ. เทคโนโลยีของนมและผลิตภัณฑ์นม. กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, 2539 : 215.

สุรีย์ นานาสมบัติ. "บทบาทของไนซินในอุตสาหกรรมอาหาร." วารสารวิทยาศาสตร์พระจอมเกล้า. 57(2536) : 119-130.

อดิศร เสวตวิวัฒน์. คุณภาพอาหารทางจุลชีววิทยา. กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, 2538 : 27-31.

Berridge, N. J. and J. Barrett. "A rapid method for the tubidimetric assay of antibiotic." J. Gen. Microbiol. 6(1952) : 14-19.

Broadbent, J. R., Y.C. Chou and K. Gillies. "Nisin inhibits several gram - positive mastitis - causing pathogens." J. Dairy Sci. 72 (12) (1989) : 3342-3345.

Cousin, M. A. "Presence and activity of psychrotrophic microorganism in milk and dairy product : review." J. Food Prot. 45 (1982) : 172-207.

Credit, C., R. Hedeman, P. Heywood and D. Westhoff. "Identification of bacteria isolated from pasteurized milk following refrigerated storage." J. Milk Food Technol. 35 (1972) : 708-709.

Daeschel, M. A.,R. E. Andersson and H. P. Fleming. "Microbial ecology of fermenting plant meterials." FEMS Microbiol. Rev. 46(1987) : 357-367.

Broughton, J. "Nisin and its uses as a food preservative." Food Technol. 44 (11)(1990) : 100-112.

FDA. Nisin preparation : Affirmation of GRAS status as a direct human food ingredient. Food and Drug Admin., Fed. Red. 53 (1988) : 11247.

Food Standards Committee. Report on Preservatives in Food. : Her Majesty's Stationnery office. London. 1959 : 49.

Fowler, G.G., B.Jarvis and J. Tramer. "The assey of nisin in foods." Soc. for Appplied Bacteriology Tech. Series. 8 (1975) : 91-101.

Fowler, G.G. and B. McCann. "The growing use of nisin in the dairy industry." Aust. J. Dairy Technol. 26 (1971) : 44-59.

Fowler, G.G. and M. J. Gasson. Antibiotics-nisin. In N. J. Russell and G. W. Gould (eds.) Food Preservatives. Great Britain : Blackie and son Ltd.,1991 : 135-152.

Goff, H. D. and A. R. Hill. Chemistry and physics. In Y. H. Hui (ed.). Dairy Science and Technology Handbook 1 Principle and Properties. New York : VCH Publishers, 1993 : 1-81.

Gowan, J. L., N. Smith and H. W. Florey. "Some protiens of nisin." Brit. J. Pharmacol. 7 (1952) : 438-441.

Gregory, M. E., K. Henry and S. K. Kon. "Nutritive properties of freshly prepared and stored evaporated milks manufactured by normal commercial procedure or by reduced thermal process in the presence of nisin." J. Dairy Res. 31 (1964) : 113-119.

Gross, E. and J. L. Morell. "The structure of nisin." J. Am. Chem. Soc. 94 (1971) : 4634-4636.

Gupta, K. G., S. Rajinder and N. K. Yadav. "Effect of various sugars and their derivatives upon the germiation of Bacillus spores in the presence of nisin." J. Food Sci. 6 (1972) : 971-975.

Hall, R. H. "Nisin and food preservation." Proc. Biochem. 1 (1966) : 461.

Harper, W. J. Milk components and their characteristics. In W. J. Harper and C. W. Hall (eds.). Dairy Technology and Engineering. Westport, Connecticut : AVI Publishing Company. Inc., 1976 : 18-74.

Heineman, B., L. Voris and C. R. Stumbo."Use of nisin in processing food products." Food Technol. 19 (1965) : 592-599.

Hirsch, A. Dean and others. "A note on the inhibition of an anaerobic sporefomer in Swiss-type cheese by a nisin producing Streptococcus." J. Dairy Res. 18 (1951) : 198-204.

Hirsch, A. "The assey of the antibiotic nisin." J. Gen Microbiol. 4 (1950) : 70-77.

Hoover, D. G. and L. R. Steenson. Bacteriocin of lactic acid bacteria. San Diego : Academic press, Inc. 1993 : 233-236.

Hurst, A. "Nisin advances appl." Microbiol. 27 (1981) : 85-123.

International Dairy Federator. "Detection of Inhibitors." E-Doc 244. (1986) : 145-151.

Javis, B. and J. Farr. "Partial purification, specificity and mechanism of action of the nisin-inactivating enzyme from *Bacillus cereus*" Biochem. Biophys. Acta. 227 (1971) : 232.

Jarvis, B. and J. Jeffcoat and G. C. Cheeseman. "Molecular weight distribution of Nisin" Biochem. Biophys. Acta. 168 (1968) : 153.

Jarvis, B. "Resistance to nisin and production of nisin-inactivating enzyme by several Bacillus species." J. Gen. Microbiol. 47 (1967) : 33.

Jone, L. W. "Effect of butter fat on inhibition of *Staphylococcus aureus* Nisin." Can. J. Microbiol. 20 (1974) : 1257.

Jone, V. A. and W. J. Harper. General processes for fluid milks. In W. J. Harper and C. W. Hall (eds.) Dairy Technology and Engineering. Connecticut : AVI Publishing Company, Inc., Westport. 1981 : 141-212.

Jung, D., F. W. Bodyfelt and M. A. Daeschel. "Influence of fat and emulsifier on the efficacy of nisin in inhibiting Listeria monocytogenes in fluid milk." J. Dairy Sci. 75 (1992) : 387-393.

Kordel, M., F. Schuller and H.G. Sahl. Interaction of the spore forming - peptide antibiotics pep 5 nisin and subtilin with non - energized liposomes FEBS lett. 244 (1989) : 99-102.

Lampert, L. M. Modern Dairy Product. Chemical Publishing Company. Inc., New York. (1975) : 215.

Linnett, P. E. and J. L. Strominger. "Additional antibiotic inhibitors of peptidoglycans." Antimicrob. Agent Chemother. 4 (1973) : 231.

Linpinska, E. Nisin and its applications. In W. Woodbine (ed.). Antibiotics and Antibiotiosis in Agriculture. London : Butterworths, 1977 : 103-130.

Mahadeo, M. and S. R. Tatini. "The potential use of nisin to control *Listeria monocytogenes* in poultry." Letters in Appl. Microbiol. 18 (1994) : 323-326.

Marth, E. H. (ed.). Standard method for the examination of dairy products. 14th ed., American public health association, Washington, D.C. (1978) : 416

Mattick, A. T. R. and A. Hirsch. "Further observations on an inhibitory substance (nisin) from lactic Streptococci." Lancet. 2(1947) : 5-7.

Merck. Microbiology manual. Darmstadt. : Merck. 1992 : 343.

Mc Clintock, M. Dean and others. "Action inhibitrice des streptocoques producteurs de nisin sur le developpement des sporules anaerobies dans le from age de Gruy'ere fondu." J. Dairy Res. 19 (1952) : 187-189.

Morris, S. L., R. C. Walsh. and J. N. Hansen. "Identification and characterisation of some bacterial membrane sulphydryl groups which are targets of bacteriostatic and antibiotic action action." J. Biol. Chem. 259 (1984) : 13590-13596.

Naguib, K. Dean and others. "Use of nisin as dairy preservative." Dairy Sci. Abst. 47 (47) (1985) : 721.

Natarajan, A. M., V. Sudha and B. Ranganathan. "Thermoduric bacteria in raw milk supplies." Dairy Sci. Abst. 47 (9) (1984) : 640.

Ogden, K. and R. S. Tubb. "Inhibition of beer spoilage lactic acid bacteria by nisin." J. Inst. Brew. 91 (1985) : 390-392.

Ogden, K., M. J. Waites and J. R. M. Hammond. "Nisin and brewing." J. Inst. Brew. 94 (1988) 23-38.

Patel, G. B. and C. Blankenagel. "Bacterial count of raw milk and flavour of the milk after pasteurization and storage." J. Milk Food Technol. 35 (1972) : 203-206.

Radler, F. "Possible use of nisin in winemaking. I. Action of nisin against lactic acid bacteria and wine yeasts in solid and liquid media." Am. J. Enol. Vitic. 41 (1990a) : 1-6.

Radler, F. "Possible use of nisin in winemakink. II. Experiments to control lactic acid bacteria in the production of wine." Am. J. Enol. Vitic. 41 (1990b) : 7-11.

Ramseier, H. R. "The mode of action of nisin on *Clostridium butyricum*." Archiv. Fur Mikrobiologie. 37 (1960) : 57-66.

Rayman, M. K., B. Aris. and A. Hurst. "Nisin : A possible alternative or adjunct to nitrite in the preservation of meats." Appl. Environ. Microbiol. 41 (1981) : 375.

Robert, T. M. Standard method for the examination of dairy products. Washington D.C. : American Public Health Association. 1992. : 213-246 ,277-279, 435-443.

Robinson, R. K. (ed.). Dariry Microbiology Vol. 1. The Microbiology of Milk. Applied science publishers, London. (1981a) : 258.

Robinson, R. K. (ed.). Dariry Microbiology Vol. 2. The Microbiology of Milk. Applied science publishers, London. (1981b) : 333.

Scott, V. N, and S. L. Taylor. "Temperature, pH and spore load effects on the ability of nisin to *Clostridium botulinum* spores." J. Food Sci. 46 (1981) : 121-129.

Seiler, H., S. Stor and M. Busse. "Identification of coryneform bacteria isolated from milk immediately after heating and following refrigerated storage." Milchwissenschaft. 39 (1984) : 346-348.

Shehata, A.E. Dean and others. "The use of nisin in the production of sterilized milk drinks." J. Dairy Sci. 484 (1976) : 37.

Shehata, A. E. and E. B. Collins. "Sporulation and heat resistance of psychrophilic strains of Bacillus." J. Dairy Sci. 55 (1972) : 1405-1409.

Stevens, K. A. Dean and others. "Nisin treatment for inactivation of Salmonella species and other gram - negative bacteria." Appl. Env. Microbiol. 57 (12) (1991) : 3613-3615.

Thomas, S. B. "The microflora of bulk collected milk." Part 2. Dairy Ind. 40 (1974) : 279-282.

Tramer, J. and G. G. Fowler. "Estimation of nisin in foods." J. Sci. Fd Agric. 15 (1964) : 522-528.

Waites, M. J. and K. Ogden. "The estimation of nisin using ATP bioluminometry." J. Inst. Brewing. 93 (1987) : 30-36.

Wajid, H. R. A. and M.S. Kalra. "Nisin as an aid for extending the shelf life of sterlized milk." J. Food Sci. and Technol. 12 (1976) : 6-8.

Washam, C. J., H. C. Olson and E. R. Vedamuthu. "Heat resistant psychrotrophic bacteria isolated from pasteurized milk." J. Food Prot. 40 (1977) : 101-108.

WHO. Specifications for identify and purity of some antibiotics. : World Health Organization/Food Add. 169.34 (1969) : 53-67.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

สูตรอาหารที่ใช้ให้เติมน้ำกลั่น 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที ยกเว้นในสูตรที่แจ้งไว้โดยเฉพาะ

1. Cereus Selective Agar Base (Merck , 1992)

Peptone from meat	10.0 g.
Meat extract	1.0 g.
D(-) mannitol	10.0 g.
Sodium chloride	10.0 g.
Phenol red	0.025 g.
Agar	12.0 g.
เติม	
Egg-yolk emulsion	100 ml
Polymyxin B sulphate	0.1 g.
pH	7.1 ± 0.1

2. Mannitol Salt Phenol-red Agar (Merck , 1992)

Peptone from meat	10.0 g.
Meat extract	1.0 g.
D(-) mannitol	10.0 g.
Sodium chloride	75.0 g.
Phenol red	0.025 g.
Agar	12.0 g.
เติม	
Egg-yolk emulsion	100 ml
pH	7.4 ± 0.1

3. MRS. agar (Merck , 1992)

Peptone from meat	10.0 g.
Meat extract	5.0 g.
Yeast extract	5.0 g.
D(+) glucose	20.0 g.
Disodium hydrogen phosphate	2.0 g.
Tween 80	1.0 g
Di-anmonium hydrogen citrate	2.0 g.
Sodium acetate	5.0 g.
Magnesium sulfate	0.1 g.
Manganese sulfate	0.05 g.
Agar	12.0 g.
pH	6.5 $\pm$ 0.1

4. Plate Count Agar (Merck , 1992)

Peptone from meat	5.0 g.
Yeast extract	2.5 g.
D(+) glucose	1.0 g.
Agar	14.0 g.
pH	7.0 $\pm$ 0.1

5. Standard II Nutrient Agar (Merck , 1992)

Peptone from meat	3.45 g.
Peptone from casein	3.45 g.
Sodium chloride	5.1 g.
Agar	13.0 g.
เติม	
KH_2PO_4 (0.1%)	1.0 g.
pH	7.5 $\pm$ 0.1

6. Yeast extract peptone dextrose agar (นภาและคณะ , 2536)

Yeast extract	10.0	g.
Peptone from meat	20.0	g.
Dextrose	20.0	g.
Agar	15.0	g.

7. Phosphate buffer dilution water (Robert , 1992)

Stock phosphate buffer solution (A)

KH_2PO_4 (0.1%)	34.0	g.
pH	7.2	

ปรับ pH ด้วย 1N.NaOH เมื่อผสมน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร หลังจากนั้นปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ฆ่าเชื้อ (15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที) เก็บไว้ที่ 5-10 °ซ

Stock phosphate buffer solution (B)

$MgSo_4.7H_2O$	50.0	g.

ละลาย $MgSo_4.7H_2O$ ด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร

วิธีใช้ ดูด Stock A 1.25 มิลลิลิตร และ Stock B 5 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อ (15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว 15 นาที)

8. 0.1% Peptone water (Robert , 1992)

Peptone	1.0	g.

ภาคผนวก ข.
มาตรฐานของน้ำนมพาสเจอร์ไรส์

ด้านจุลินทรีย์ (กระทรวงสาธารณสุข 2522 ; Robinson 1981b)

ชนิดจุลินทรีย์	จำนวนที่พบ
ต่างประเทศ	
Total bacteria count	50,000 โคโลนีต่อมิลลิลิตร
Coliform	ต้องไม่พบในน้ำนม 0.1 มิลลิลิตร
E. coli (faecal type)	ต้องไม่พบในน้ำนม 10 มิลลิลิตร
ประเทศไทย	
จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด	ไม่เกิน 50,000 โคโลนีต่อมิลลิลิตร
E. coli	ต้องไม่พบในน้ำนม 0.1 มิลลิลิตร
จุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรค	ต้องไม่มี
สารพิษจากจุลินทรีย์	ไม่มีในปริมาณที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นายสมยศ ตันติวงศ์วาณิช

การศึกษา	
ระดับมัธยมศึกษา	โรงเรียนทวีธาภิเศก
ระดับอุดมศึกษา	เทคโนโลยีการเกษตรบัณฑิต (ทษ.บ)
	สาขาวิชาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมอาหาร
	สถาบันเทคโนโลยีการเกษตรแม่โจ้
ปัจจุบัน	ศึกษาต่อในระดับวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
	สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร
	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร
	ลาดกระบัง ปีการศึกษา 2537