15765

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ค่าความเป็นกรดของโยเกิร์ตต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค

(Acidity of Yoghurt on Inhibition of Pathogens)

T098760

นาย โสพส ศุภศรีวสุเศรษฐ์

นาย อวิรุทธ์ ขันแก้ว

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2541

ปก.
ส993ค
2541

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....98760
วัน.เดือน.ปี.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1892

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

ค่าความเป็นกรดของโยเกิร์ตต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค

(Acidity of Yoghurt on Inhibition of Pathogens)

โดย

นาย โสพส ศุภศรีวสุเศรษฐ์

นาย อวิรุทธ์ ขันแก้ว

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

..... 19 มิ.ย. 42 ..... **อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ**

( )

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

.....

( )

หัวหน้าภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่ 19 **เดือน** มิ.ย. **พ.ศ.** 42

ปม.
ต๑๙๓๓
2541

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โสพส ศุภศรีวสุเศรษฐ์ และ อวิรุทธ์ ขันแก้ว 2541 : ค่าความเป็นกรดของโยเกิร์ตต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค (Acidity of Yoghurt on Inhibition of Pathogens) ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่มีการเติมเชื้อ *E.coli* , *Salmonella sp.* และ *Staphylococcus sp.*ภายหลังจากการบ่มที่อุณหภูมิ 42 $\pm$ 2°C เป็นเวลาประมาณ 3 – 6 ชั่วโมง โดยมีค่าความเป็นกรดอยู่ในช่วง 0.75 $\pm$ 0.05 , 0.85 $\pm$ 0.05 , 0.95 $\pm$ 0.05 พบว่าผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่มีค่าความเป็นกรด 0.75 $\pm$ 0.05 ขึ้นไป สามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli* , *Salmonella sp.* และ *Staphylococcus sp.*จากจำนวนเริ่มต้น $4.43x10^7$, $2.0x10^6$ และ $1.9x10^6$cfu/ml. ให้เหลือ $1.3x10^2$, $3.0x10^1$ และ $6.3x\ 10^1$ cfu/ml. ตามลำดับ และที่ค่าความเป็นกรด 0.95 $\pm$ 0.05 จะสามารถยับยั้งและทำลายเชื้อ *E. coli* , และ *Staphylococcus sp* ส่วนเชื้อ *Salmonella sp.* จะถูกทำลายที่ค่าความเป็นกรด 0.85 $\pm$ 0.05 ขึ้นไป

โสพส ศุภศรีวสุเศรษฐ์		
อวิรุทธ์ ขันแก้ว	.....	15 / มิ.ย. / 42
ลายมือชื่อนักศึกษา	ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา	วัน / เดือน / ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ประจำปีการศึกษา 2541 โดยมี ผศ.ดร. ประภาพร ขอไพบูลย์ กรุณาเป็นที่ปรึกษาโครงการ

โครงการนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับคำปรึกษา และข้อเสนอแนะจากอาจารย์ที่ปรึกษา นอกจากนี้ยังได้รับกำลังใจจากเพื่อนรวมทั้งบุคคลากรทุกท่านในภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร และต้องขอขอบคุณเป็นพิเศษสำหรับ นส. พิมพ์ตา เขียวสวาด และขอบคุณพิเศษสุดสำหรับ นส.ปิยะวรรณ บรรจงสวัสดิ์ (พี่รหัสปัจจุบันทำงานที่ บริษัท ฟาร์มเฮาส์ จำกัด) ที่เอื้อเฟื้อคอมพิวเตอร์ในการทำปัญหาพิเศษนี้

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณสำหรับความกรุณาของอาจารย์ ขอบพระคุณเพื่อนๆน้องๆและบุคลากรทุกๆท่าน สำหรับกำลังใจและความช่วยเหลือ

โสพส ศุภศรีวสุเศรษฐ์

อวิรุทธ์ ขันแก้ว

19 มีนาคม 2542

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ค
กิตติกรรมประกาศ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญตารางภาคผนวก	ช
สารบัญภาพ	ซ
สารบัญภาพภาคผนวก	ฌ
บทที่	
1.บทนำ	1
2.วารสารปริทัศน์	2
ชนิดของโยเกิร์ต	2
กรรมวิธีการผลิตโยเกิร์ต	3
หัวเชื้อโยเกิร์ต	7
การเก็บรักษาคุณภาพของโยเกิร์ต	9
จุลินทรีย์ก่อโรคที่สำคัญในการผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต	9
E.coli	9
Salmonella sp.	10
Staphylococcus sp.	11
3.อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	13
3.1. วัตถุดิบ	13
3.2.อุปกรณ์	13
3.3.วิธีการทดลอง	14
4.ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	16
4.1.การศึกษาค่าความเป็นกรด,ค่าpHและที่ระดับต่างๆต่อการยับยั้งการเจริญของของเชื้อ *E.coli* ,*Salmonella sp.* และ *Staphylococcus sp.*	16
5.สรุปผลการทดลอง	20
เอกสารอ้างอิง	21
ภาคผนวก	22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่

1. จำนวนจุลินทรีย์ของหัวเชื้อโยเกิร์ตที่ใช้ในการผลิต 9

2. ค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ 12

3. แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรดและ pHในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ*E.coli* , *Salmonella sp.* และ *Staphylococcus sp.* 16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตารางภาคผนวก

หน้า

ตารางภาคผนวกที่

1.แสดงการตรวจเชื้อ *Salmonella sp.* โดยตรวจ TSI และ LIM (ตัวอย่าง 1) 26

2.แสดงการตรวจเชื้อ *Salmonella sp.* โดยตรวจ TSI และ LIM (ตัวอย่าง 2) 26

3. แสดงการตรวจเชื้อ *E.coli* โดยตรวจ biochem test (ตัวอย่าง 1) 27

4. แสดงการตรวจเชื้อ *E.coli* โดยตรวจ biochem test (ตัวอย่าง 2) 27

5.แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรดกับ log ของจำนวนเชื้อ *E.coli* , *Salmonella sp.* และ *Staphylococcus sp.* 30

6. แสดงการวิเคราะห์ค่าระหว่างacidity กับ log ของจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค 30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่

1.ขั้นตอนการผลิต set yoghurt และ stirred yoghurt ประเภทที่มีไขมันต่ำ 4

2.กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรดกับlogของจำนวนเชื้อ*E.coli* , 18
Salmonella sp. และ *Staphylococcus sp.*

3.กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเป็นกรดต่อเวลาในการบ่มโยเกิร์ต 19
ที่มีการเติมเชื้อ *E.coli* , *Salmonella sp.* และ *Staphylococcus sp.*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพภาคผนวก

หน้า

ภาพภาคผนวกที่

1.แสดงเชื้อ *E.coli* บนอาหาร EMB 33

2. แสดงเชื้อ *Salmonella sp.* บนอาหาร XLD 34

3. แสดงเชื้อ *Staphylococcus sp.* บนอาหาร BPEY 35

4. อาหาร Tryptone broth ทดสอบ Indole 36

5. ทดสอบการใช้ Citrate ในอาหาร Simmon citrate 37

6. ทดสอบ TSI (Triple Sugar Iron) 38

7. แสดงการบ่มโยเกิร์ตภายในตู้บ่มเชื้อโดยใช้อุณหภูมิ $42 \pm 2^{\circ}C$ 39

8. แสดงการวิเคราะห์ % total acidity โดยวิธีการไตเตรท 40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

ในปัจจุบัน มีผู้นิยมบริโภคผลิตภัณฑ์นมมากขึ้นโดยเฉพาะ “โยเกิร์ต” ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์น้ำนมหมัก และ เป็นผลิตภัณฑ์ที่เหมาะต่อผู้บริโภคที่ไม่สามรถดื่มนมได้เนื่องจากการถูกเอนไซม์ในการย่อยน้ำตาลแลคโตส โยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำน้ำนมมาหมักกับเชื้อจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลคติคจากน้ำตาลแลคโตสได้แก่เชื้อ *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus* ตัวเชื้อโยเกิร์ตบางชนิดยังสามารถสร้างสารประกอบที่มีคุณสมบัติคล้ายสารปฏิชีวนะ คือสามารถทำลายเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคได้ (ทองยศ , 2524) แต่อย่างไรก็ตามถ้าผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตมีการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคจำนวนมาก ความเป็นกรดของโยเกิร์ตอาจไม่สามารถยับยั้งและทำลายเชื้อดังกล่าว

การทดลองนี้จึงเป็นการศึกษาค่าความเป็นกรดของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคบางชนิดได้แก่ *E.coli* ,*Salmonella sp.* และ *Staphylococcus sp.*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

โยเกิร์ตสามารถเตรียมได้จากนมอุดมไขมันหรือพร่องไขมัน นมเข้มข้น นมคืนรูปจากนมผงขาดไขมันหรือพร่องไขมัน หรือส่วนประสมของนมดังกล่าวผสมเข้าด้วยกัน ทั้งนี้โดยผ่านกระบวนการโฮโมจีไนซ์หรือไม่ก็ตาม แล้วฆ่าเชื้อด้วยการสเตอริไลซ์หรือพาสเจอร์ไรซ์ จึงทำการหมักด้วยเชื้อแลคติค จากนั้นทำให้เย็นแล้วบรรจุเพื่อรอการจำหน่าย

ชนิดของโยเกิร์ต (types of yogurt)

การแบ่งชนิดของโยเกิร์ตอาศัยหลักการต่อไปนี้

1.มาตรฐานกฎหมาย (legal standards)

มาตรฐานกฎหมายของโยเกิร์ต ขึ้นกับองค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์ เช่น เปอร์เซ็นต์ไขมันปริมาณของแข็งที่ไม่ใช่ไขมัน (solid – not – fat หรือ SNF) หรือปริมาณของแข็งทั้งหมด ตามมาตรฐานของ FAO /WHO กำหนดให้แบ่งชนิดของโยเกิร์ตตามปริมาณไขมันดังนี้ “full” (สูงกว่า 3.0 %) “medium” (ปริมาณ 3.0 – 0.5 %) และ “ low ” (ต่ำกว่า 0.5 %) (วราวุฒิ และ รุ่งนภา ,2532)

2.กรรมวิธีการผลิต (methods of production) (วราวุฒิ และ รุ่งนภา ,2532)

การผลิตโยเกิร์ตในอุตสาหกรรมมี 2 ลักษณะใหญ่ๆ คือ set yogurt และ stirred yogurt ขึ้นกับระบบการผลิตและโครงสร้างทางกายภาพของมวลที่ตกตะกอน (coagulum) โดยที่ set yogurt เป็นผลิตภัณฑ์ที่การหมักเกิดขึ้นในภาชนะบรรจุ (สำหรับการจำหน่ายปลีก) ลักษณะของ coagulum ที่ได้เป็นมวลเนื้อเดียวกันที่ต่อเนื่องและมีลักษณะเป็นของแข็งกึ่งเหลว ส่วน stirred yogurt เป็นผลิตภัณฑ์ที่จะได้หลังจากการหมักเกิดขึ้นในถังหมักเรียบร้อยแล้ว ลักษณะของ coagulum ที่ได้จะแตกแยกจากกันก่อนที่จะนำไปผ่านการให้ความเย็นหรือบรรจุ ตัวอย่างหนึ่งของโยเกิร์ตประเภท stirred yogurt นี้ได้แก่ นมเปรี้ยวหรือ fluid yogurt ซึ่งมีปริมาณของแข็งเพียง 11 % หรือน้อยกว่า เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.กลิ่นรส (flavor)

การเติมกลิ่นรสเข้าไปในโยเกิร์ตทำให้เกิดลักษณะผลิตภัณฑ์ที่แตกต่างกันดังต่อไปนี้คือ natural หรือ plain yogurt ซึ่งเป็นวิธีดั้งเดิมมีรสชาติเปรี้ยวแหลม fruit yogurt ได้จากการเติมผลไม้และสารให้ความหวานในnatural yogurt และ flavored yogurt ได้จากการเติมกลิ่นรสและสีแทนส่วนของผลไม้

4.กระบวนการหลังการหมัก (port – incubation processing)

ภายหลังการหมักเสร็จสิ้นแล้ว โยเกิร์ตที่ได้อาจนำไปผ่านกระบวนการต่างๆเช่น การให้ความร้อน การแช่แข็ง การทำให้เข้มข้น การทำแห้งหรือวิธีอื่นๆ ซึ่งจะเห็นว่าสารให้กลิ่น รส สารให้ความหวาน สารให้ความคงตัวและสีสามารถเติมลงในผลิตภัณฑ์ใดก็ได้ และในกรณีของ fruid yogurt จะผลิตจากนมขาดไขมันที่มีปริมาณของแข็งตามที่ต้องการ

กรรมวิธีการผลิตโยเกิร์ต (production of yogurt)

กรรมวิธีการผลิตโยเกิร์ตในโรงงานไม่ว่าจะเป็น set หรือ plain yogurt ดังแสดงในภาพที่ 1 กระบวนการผลิตประกอบด้วย

1.การเตรียมส่วนผสมเบื้องต้น (preliminary ingredient preparation)

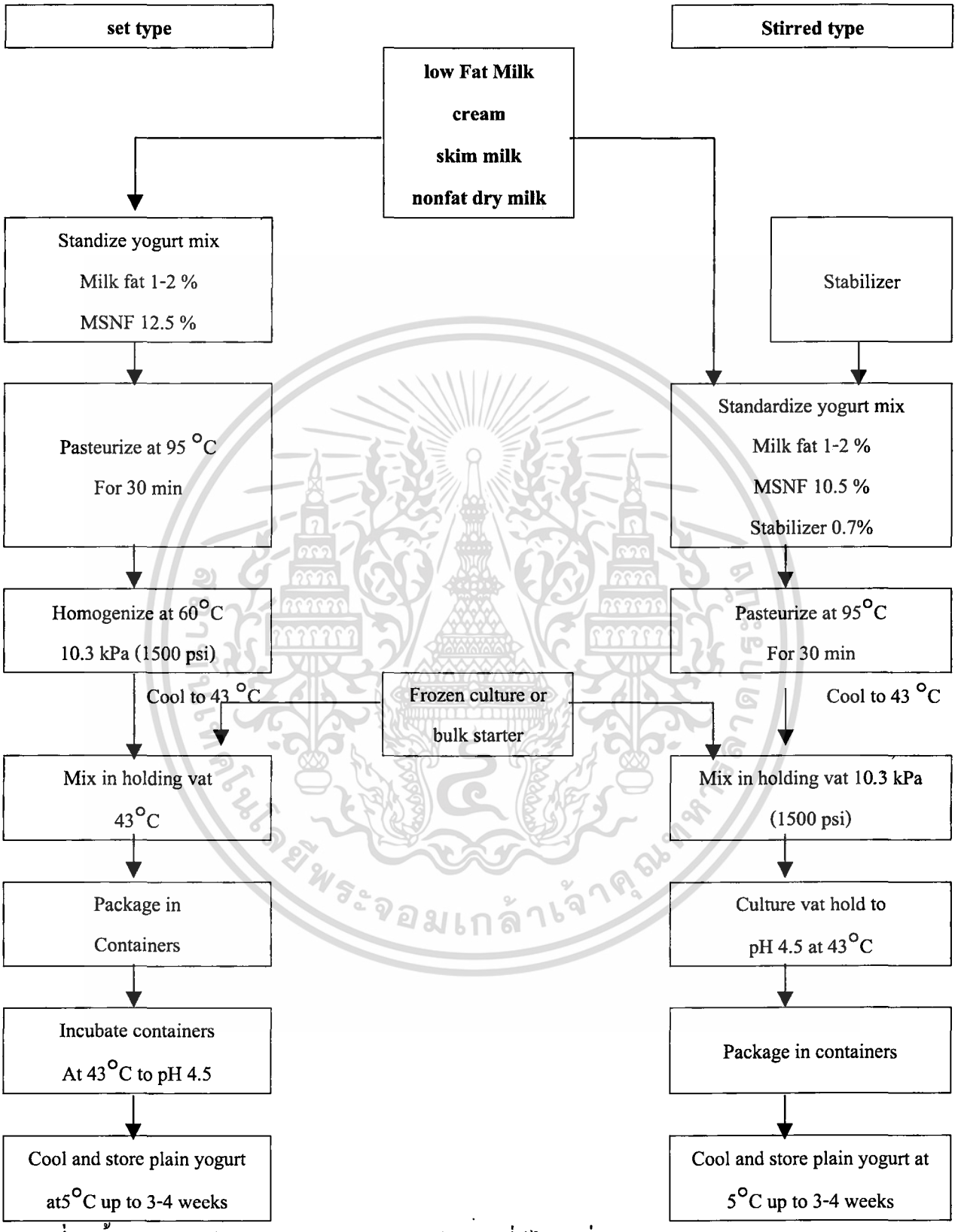
เนื่องจากองค์ประกอบของนมที่ได้จากสัตว์ชนิดต่างๆแตกต่างกัน ดังนั้นเมื่อนำมาผ่านการหมักจะทำให้ได้โยเกิร์ตที่มีคุณภาพแตกต่างกัน เช่น เมื่อไขมันในนมมีปริมาณสูงกว่า จะให้โยเกิร์ตที่มีความเป็นครีมสูงตามไปด้วย เป็นต้น นอกจากนี้แล้วน้ำตาลแลคโตสที่มีอยู่ในนมจะถูกใช้เป็นแหล่งอาหารของเชื้อโยเกิร์ต ส่วนโปรตีนก็เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการตกตะกอนเป็นcoagulate ซึ่งมีผลเกี่ยวข้องกับความหนืด (consistency /viscosity)ของผลิตภัณฑ์ ดังนั้นเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่มีคุณภาพตามมาตรฐานจึงจำเป็นต้องปรับปรุงคุณภาพของนมก่อนการหมักดังต่อไปนี้

2. การทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน (homogenization)

หลังจากปรับส่วนผสมของนมที่ใช้ในการเตรียมโยเกิร์ตเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพตามต้องการแล้ว การนำนมที่ปรับแล้วมาผ่านกระบวนการที่ทำให้เป็นเนื้อเดียวกันจะมีผลต่อคุณภาพของนม ในด้านการเป็นสารอิมัลชั่นที่เป็นเนื้อเดียวกัน ทั้งนี้กระบวนการดังกล่าวสามารถกระทำได้โดยการให้นมผ่านเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ด้วยความเร็วสูงโดยผ่านช่องเปิดเล็กๆภายใต้ความดันสูง ผลการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของนมทางด้านเคมีและกายภาพที่จะนำไปเตรียมโยเกิร์ต

การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายหลังการทำให้เป็นเนื้อเดียวกันมีผลทำให้เนื้อสัมผัสที่ได้หลังจากหมักเนื้อเนียนมากขึ้น มีกลิ่นรสที่เป็นครีม และช่วยลดการเกิดครีมที่ผิวหน้า หรือการแยกชั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 -ขั้นตอนการผลิต set และ stirred yogurt ประเภทที่มีไขมันต่ำ

ที่มา : Chandan (1982)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของน้ำหางนม (wheying- off) สำหรับการเลือกใช้เครื่องโฮโมจีไนซ์แบบ 1 หรือ 2 stage จะขึ้นกับปริมาณไขมันที่มีอยู่ในนมที่ปรับองค์ประกอบแล้ว

3.การให้ความร้อน (heat treatment)

การให้ความร้อนเป็นขั้นตอนที่สำคัญอีกขึ้นตอนหนึ่ง นอกจากเพิ่มความเข้มข้นของนมแล้วยังมีผลต่อค่าของผสมที่ใช้เตรียมโยเกิร์ตดังต่อไปนี้

1)ทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคหรือจุลินทรีย์อื่นๆที่ไม่ต้องการ ซึ่งความร้อนที่ใช้มักเพียงพอต่อการทำลายเซลล์จุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่อยู่ในนมดิบเท่านั้น แต่สปอร์หรือเอนไซม์ที่ทนความร้อนได้ยังคงมีเหลืออยู่ในนม อย่างไรก็ตาม นมที่ผ่านความร้อนจะเป็นแหล่งเจริญเติบโตที่ดีของหัวเชื้อโยเกิร์ต

2)กำจัดอากาศที่มีอยู่ในนม เพื่อทำให้สภาวะแวดล้อมเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อแลคติคมากยิ่งขึ้นเนื่องจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ชนิดนี้ต้องการอากาศในปริมาณน้อย (microaerophilic)

3)เปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของนม (denature)แล้วตกตะกอน นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดการรวมตัวของโมเลกุลเคซีนอีนเกิดเป็นร่างแห (network)ในลักษณะสามมิติขึ้นมาโดยร่างแหนี้จะจับโปรตีนของน้ำหางนมแล้วทำให้โยเกิร์ตที่ได้มีความหนืด (consistency)มากกว่าเดิม

4)มีความเหมาะสมสำหรับการเจริญของหัวเชื้อแลคติค ที่มีกิจกรรมหมักที่อุณหภูมิค่อนข้างสูง (40-50 องศาเซลเซียส)

5)ทำให้โปรตีนในนมถูกทำลาย (damage) ให้สารย่อยๆที่เป็นโมเลกุลเล็กลง (breakdown products) ซึ่งอาจเป็นสารที่เร่งกิจกรรมของหัวเชื้อแลคติค

การให้ความร้อนแก่นมสามารถเร่ง หรือยับยั้งกิจกรรมของหัวเชื้อแลคติคได้ ทั้งนี้ขึ้นกับช่วงของอุณหภูมิและเวลาดังนี้

(1)นมที่ผ่านการให้ความร้อนในช่วงระหว่างอุณหภูมิ 62 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที จะช่วยเร่งการเจริญของหัวเชื้อแลคติค

(2)ผมที่ผ่านการให้ความร้อนในช่วงระหว่างอุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 นาที และ 82 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 –120 นาที และที่ 90 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1-45 นาทีด้วย จะส่งผลยับยั้งการเจริญของหัวเชื้อแลคติค

(3)นมที่ผ่านการให้ความร้อนถึง 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 –180 นาที หรือภายใต้ความดัน(autoclaved)ที่ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 –30 นาที จะช่วยเร่งการเจริญของหัวเชื้อแลคติค

(4)นมที่ผ่านการให้ความร้อนภายใต้ความดันที่ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลานานกว่า 30 นาที จะส่งผลยังยั้งการเจริญของหัวเชื้อแลคติค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตามปกติอุณหภูมิในการให้ความร้อนแก่นมโยเกิร์ต อาจเป็นได้ตั้งแต่อุณหภูมิพาสเจอร์ไรซ์ (72 องศาเซลเซียส 15 นาที) จนถึงอุณหภูมิ UHT (133 องศาเซลเซียส 1 นาที) โดยทั่วไปในอุตสาหกรรมนมนิยมให้ความร้อนที่ 85 องศาเซลเซียส 30 นาที สำหรับกระบวนการไม่ต่อเนื่องหรือทำเป็นแบบกะ(batch process)หรือ90-95 องศาเซลเซียส 5-10 วินาที สำหรับกระบวนการต่อเนื่อง (continuous process)

4.กระบวนการหมัก (fermentation process)

นมที่ผ่านการให้ความร้อน จะต้องทำให้เย็นลงถึงอุณหภูมิที่เหมาะสมแล้วจึงส่งไปยังถังหมักเพื่อทำการหมักด้วยหัวเชื้อที่เตรียมขึ้นต่อไป หัวเชื้อโยเกิร์ตจะประกอบด้วยหัวเชื้อสายพันธุ์ผสมของ*Lactobacillus bulgaricus* และหัวเชื้อ *Streptococcus thermophilus* ในอัตราส่วนที่เท่ากัน โดยทั่วไปหัวเชื้อจะใช้ประมาณ 0.5-2 %หลังการถ่ายเชื้อแล้วทำการบ่ม(incubate)ที่อุณหภูมิ 37-44 องศาเซลเซียส 4-6 ชั่วโมง หรือที่ 32 องศาเซลเซียส 12 ชั่วโมง แต่อย่างไรก็ตาม สภาพที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของหัวเชื้อสายพันธุ์ผสมจะหมักอุณหภูมิที่ 40-45 องศาเซลเซียส

การเกิดเจลของโยเกิร์ต เป็นผลจากปฏิกิริยาทางชีวภาพและกายภาพในนม ดังมีขั้นตอนตามลำดับดังนี้

(1)หัวเชื้อโยเกิร์ตใช้น้ำตาลแลคโตสในนมเป็นแหล่งพลังงานในการเจริญเติบโตและทำการหมักให้กรดแลคติคและสารประกอบอื่นๆออกมา

(2)กรดแลคติคที่สร้างขึ้นเรื่อยๆนี้จะสลายสภาพความคงตัวของอนุภาคเคซีอีน(casein micelle)และทำให้สารประกอบเชิงซ้อนของโปรตีนในน้ำหางนมสูญเสียสภาพธรรมชาติไปด้วย

(3)เกิดการรวมตัวของ casein micelles และหรือกลุ่มของ micelles ย่อยๆเข้าด้วยกัน และเกิดการตกตะกอนบางส่วน (coalesce)ออกมา ในขณะที่ความเป็นกรด – ด่างใกล้จุด isoelectric คือระหว่างpH 4.6-4.7

(4)เกิดปฏิกิริยาระหว่าง แอลฟา – แลคโตโกลบูลินซึ่งเป็นโปรตีนที่อยู่ในหางน้ำนมกับเคซีอีน ทำให้เกิด casein micelle ที่มีความคงตัวมากขึ้น ดังนั้นร่างแหของเจลที่ประกอบด้วยโครงสร้างที่แน่นอนนี้สามารถจับกับองค์ประกอบอื่นๆที่มีอยู่ในส่วนผสมที่ใช้เตรียมโยเกิร์ต รวมทั้งน้ำให้อยู่ในโครงสร้างดังกล่าวด้วย

5.การทำความเย็น(cooling)

เนื่องจากการผลิตโยเกิร์ตเป็นกระบวนการทางชีวภาพ การทำให้เย็นจึงเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการควบคุมกิจกรรมของหัวเชื้อและเอนไซม์ การให้ความเย็นแก่ coagulum จะเริ่มตั้งแต่ผลิตภัณฑ์ที่ระดับความเป็นกรดตามต้องการประมาณที่ 4.6 หรือความเข้มข้นกรดแลคติคประมาณ 0.9 % แต่ทั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นี้ขึ้นกับปัจจัยต่างๆได้แก่ ชนิดของโยเกิร์ตที่ผลิตวิธีให้ความเย็น และประสิทธิภาพของการถ่ายเทความร้อน

จุดประสงค์หลักของการทำให้ coagulum เย็นลงจากอุณหภูมิ 30 – 45 องศาเซลเซียส ให้ต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส (ดีที่สุดประมาณ 5 องศาเซลเซียส) ทันทีเพื่อควบคุมระดับความเป็นกรดสุดท้ายในผลิตภัณฑ์เนื่องจากที่อุณหภูมิประมาณ 10 องศาเซลเซียสสามารถยับยั้งกิจกรรมของหัวเชื้อโยเกิร์ตได้

6.การเติมองค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสและสี (addition of flavoring /colouring ingredients)

การเติมองค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสและสี เพื่อเพิ่มความนิยมให้แก่ผู้บริโภคขึ้นกับชนิดของโยเกิร์ตที่ต้องการ สารที่ใช้เติมเพื่อวัตถุประสงค์ดังกล่าวในอุตสาหกรรมผลิตโยเกิร์ต ได้แก่ ผลไม้ สารให้กลิ่น สี และ สารประกอบอื่นๆ เช่น น้ำผึ้ง ถั่วต่างๆ มะเขือเทศ กาแฟ เป็นต้น

ในทางอุตสาหกรรมนิยมทำให้โยเกิร์ตเย็นลงทีอุณหภูมิ 15-20 องศาเซลเซียส ก่อนที่จะนำไปผสมกับผลไม้หรือกลิ่นรส จากนั้นจึงบรรจุเก็บไว้ในห้องเพื่อรอการจำหน่ายต่อไป

อย่างไรก็ตามแม้ว่ากรรมวิธีการผลิตโยเกิร์ตจะมีผลต่อคุณภาพของโยเกิร์ต แต่ปัจจัยที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งที่มีผลต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์เช่นเดียวกัน คือ จุลินทรีย์ที่ใช้ในโยเกิร์ต

หัวเชื้อโยเกิร์ต (วราวุฒิ และ รุ่งนภา,2532)

หัวเชื้อเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในการผลิตโยเกิร์ต ลักษณะที่ต้องการของเชื้อโยเกิร์ตคือ ปลอดจากการปนเปื้อน เจริญได้ดีในส่วนผสมของนมที่ใช้เตรียมโยเกิร์ต ให้กลิ่นรสที่ต้องการ โครงสร้างลักษณะเนื้อดี และต้านทานต่อ phages และสารปฏิชีวนะ ในการสร้างกลิ่นรส (flavor) และลักษณะของเนื้อสัมผัส (texture)ต้องใช้หัวเชื้อผสมของ *Lactobacillus bulgaricus* และ *streptococcus thermophilus*โดยทั่วไปจะใช้หัวเชื้อทั้งสองชนิดนี้ในอัตราส่วนที่เท่ากัน (จำนวนเซลล์)

เมื่อใช้หัวเชื้อที่แช่แข็งในการผลิตโยเกิร์ต จำเป็นต้องบ่มหัวเชื้อเป็น เวลา 5 ชั่วโมงที่ 45 องศาเซลเซียส หรือ 11 ชั่วโมง ที่ 32 องศาเซลเซียส หรือ 14 –16 ชั่วโมง ที่ 29-30 องศาเซลเซียสเสียก่อน

โดยทั่วไปหัวเชื้อที่ใช้ประกอบด้วยเชื้อสายพันธุ์ผสมของ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ในสัดส่วนที่เท่ากันแบคทีเรียเหล่านี้จะมีความสัมพันธ์แบบพึ่งพากันเมื่อใช้ร่วมกันที่เรียกว่า symbiosis โดยปกติจะให้เชื้อทั้งสองเจริญร่วมกันภายใต้สภาวะที่ควบคุมเพื่อให้ได้เชื้อจุลินทรีย์ที่มีสมดุลที่ถูกต้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะการพึ่งพาอาศัยกันของจุลินทรีย์เหล่านี้ในหัวเชื้อโยเกิร์ต คือเริ่มแรกเชื้อ Strptococciมีอุณหภูมิการหมักที่เหมาะสมที่ 40 องศาเซลเซียส ทำให้เชื้อเจริญขึ้นอย่างเด่นชัด ระหว่างการหมักช่วงแรกนี้จะเกิดการเปลี่ยนแปลงหลายอย่างขึ้นมา เชื้อ Streptococci เป็นจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิด diacetylและสารประกอบที่คล้ายกันซึ่งมีผลต่อกลิ่นรสของครีมเนย (creamy /buttery) ในผลิตภัณฑ์สุดท้าย

เชื้อ Strptococci นี้จะช่วยกำจัดออกซิเจนออกจากนมซึ่งถ้าหากเหลืออยู่อาจก่อให้เกิดไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ การเจริญจะดำเนินต่อไปจนกระทั่งความเป็นกรดถึง pH 5.5 จะมีสารอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อ Lactobacilliต่อไป

เชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* มีอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญที่ 45 องศาเซลเซียส และยังให้ปริมาณกรดแลคติคที่มากพอที่จะสร้าง acetaldehyde ซึ่งให้กลิ่นรสเฉพาะของโยเกิร์ตได้ ในกรณีของโยเกิร์ตที่มีกลิ่นรสดีมากจะมีปริมาณacetaldehyde ซึ่งให้กลิ่นรสเฉพาะของโยเกิร์ตได้ ในกรณีของโยเกิร์ตที่มีกลิ่นรสดีมากจะมีปริมาณ acetaldehyde อยู่ 23-41 พีพีเอ็ม คิดเป็นสัดส่วนของสารประกอบที่ให้กลิ่น (volatile flavour compound)ถึง 90% นอกจากนี้แล้วเชื้อ Lactobacilli จะปล่อยกรออมิโนบางตัวที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ Streptococci อีกด้วย

ในการสร้างสารให้กลิ่นรสของโยเกิร์ตโดยหัวเชื้อสายพันธุ์ผสม พบว่า *Strptococcus thermophilus* จะสร้างกรอฟอร์มิคออกมา ซึ่งเชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* จะนำกรดฟอร์มิคนี้ไปใช้ในการสร้างสารที่ให้กลิ่นรสรวมทั้ง acetaldehyde ออกมาด้วย ดังนั้นจะเห็นได้ว่าเชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* นี้เป็นตัวการสำคัญในการสร้างสารที่ให้กลิ่นรสในโยเกิร์ต

ดังนั้นสามารถสรุปลักษณะของหัวเชื้อโยเกิร์ตได้ดังนี้

1)เชื้อ *Streptococcus thermophilus* จะมีกิจกรรมสูงในการปล่อยกรดแลคติคในช่วงแรกของการหมัก ดังนั้นถ้าสามารถคัดเลือกเชื้อสายพันธุ์นี้ให้สามารถสร้างกรดได้อย่างรวดเร็วจะทำให้สามารถลดระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก

2)สารอื่นๆที่ได้จากการเปลี่ยนแปลงของเชื้อ นอกจากกรดแลคติคแล้วยังมีสารที่มีความสำคัญต่อการสร้างกลิ่นรส (aroma and flavor) ของโยเกิร์ตซึ่งสารประกอบเหล่านี้ได้จากหัวเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ จึงจำเป็นต้องให้เชื้อทั้งสองชนิดนี้เจริญในสัดส่วนที่สมดุลกัน

อย่างไรก็ตาม แม้ว่าอัตราส่วนระหว่งจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดจะเท่ากับ 1 : 1 แต่อัตราส่วนนี้จะเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วเมื่อเชื้อ *Streptococcus thermophilus* เริ่มเข้าสู่การเจริญในระยะ logarithmic phase และจะมีเพียงกรดแลคติคที่สะสมอยู่ในนมเท่านั้น หลังจากเชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* จะเจริญเป็นเชื้อที่เด่นขึ้นมา เมื่อสิ้นสุดการหมักจะมีระดับของกรดแลคติคประมาณ 0.90-0.95 % และจำนวนเซลล์ในหัวเชื้อจะกลับมาสมดุลอีกครั้งหนึ่ง ปริมาณเซลล์ทั้งหมด (total

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

colony count) ของเชื้อแลคติคอาจเกิน 2,000 X 10^6 cfu/ml. ซึ่งมีผลต่อคุณภาพของประสาทสัมผัส (organoleptic quality) ของผลิตภัณฑ์สุดท้าย

ตารางที่ 1 - จำนวนจุลินทรีย์ของหัวเชื้อโยเกิร์ตที่ใช้ในการผลิต

	Satisfactory	Doubtful	Unsatisfactory
Strptococcus thermophilus	10^8 /g	10^7 –10^8 /g	10^7 /g
Lactobacillus bulgaricus	10^8 /g	10^7 –10^8 /g	10^7 /g

ที่มา : Hayes (1981)

การเก็บรักษาคุณภาพของโยเกิร์ต (keeping qualities)

ปกติโยเกิร์ตจะมีอายุการเก็บประมาณ 10 วันเมื่อเก็บที่อุณหภูมิประมาณ 5 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นปริมาณกรดในโยเกิร์ตจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเนื่องจากกิจกรรมของหัวเชื้อที่มีอยู่ในโยเกิร์ตนั่นเองแม้ว่ากิจกรรมของหัวเชื้อดังกล่าวจะต่ำมากก็ตาม ปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นนี้ทำให้กลิ่นรสของโยเกิร์ตเปลี่ยนแปลงไปและไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค สุดท้ายหัวเชื้อแบคทีเรียจะถูกทำลายและโยเกิร์ตจะเกิดการแยกชั้นของ curd และ whey ซึ่งมีผลให้เชื้อจุลินทรีย์อื่นๆเช่น ยีสต์และราเจริญได้ ดังนั้นในการผลิตจึงควรระมัดระวังในเรื่องการปนเปื้อนของเชื้อราและยีสต์ในหัวเชื้อโยเกิร์ต รวมทั้งในระหว่างการบรรจุด้วย

เมื่อนำไปวัดเปอร์เซนต์กรด ควรประมาณ 0.65-0.7% (บางคนชอบที่มีความเป็นกรดสูงคือ 0.85 – 0.90 %)

จุลินทรีย์ก่อโรคที่สำคัญในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต

E.coli (ปรียา , 2524)

ถ้าพบว่าอาหารแปรรูปมี *E.coli* ปะปนอยู่เป็นจำนวนมาก อาจจะอธิบายได้ว่ากรรมวิธีที่ใช้ในการแปรรูปนั้นมีขั้นตอนต่างๆ ไม่ถูกต้อง เช่น มีจุลินทรีย์ปะปนอยู่ในวัตถุดิบเป็นจำนวนมาก อาหารผ่านกรรมวิธีต่างๆไม่เพียงพอในการทำลายเชื้อ มีการปะปนของเชื้อมาจากบุคคลากรการทำความสะอาดเครื่องมือไม่เพียงพอในกรทำลายเชื้อไม่ถูกต้องเป็นต้น ข้อบกพร่องดังกล่าวข้างต้นนั้นอาจจะทำให้จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคระบบทางเดินอาหารเข้าไปปะปนอยู่ในอาหารได้ในการตรวจสอบเชื้อโคลิฟอร์มในอาหารสิ่งที่สำคัญที่สุดคือ ตรวจสอบจำนวนโคลิฟอร์มและชนิดโคลิฟอร์มด้วยว่า เป็นแหล่งที่มาจากอุจจาระหรือจากแหล่งงอื่นๆเป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำนวนจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในอาหาร จะเป็นตัวชี้ที่ให้เห็นทั้งคุณภาพอาหารทางด้านสุขาภิบาล และสภาวะที่ช่วยให้จุลินทรีย์ที่เป็นพิษมีโอกาสขยายพันธุ์แพร่หลายได้ โคลิฟอร์มสามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อมากมายหลายชนิดและในสภาวะแวดล้อมที่แตกต่างกันมาก มีรายงานว่าโคลิฟอร์มเจริญได้ที่อุณหภูมิตั้งแต่ –2 องศาเซลเซียส ถึง 50 องศาเซลเซียส ในสภาพที่มีpH 4.4 ถึง 9.0 ในสภาวะที่มีแหล่งไนโตรเจนเช่น $(NH_4)_2SO_4$ แหล่งคาร์บอนจากสารอินทรีย์และแร่ธาตุต่างๆ โคลิฟอร์มเจริญเติบโตได้ดีในนิวเตรียนท์อะการ์(nutrient agar)ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ภายในเวลา 24 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังสามารถเจริญได้ในอาหารที่มีไบล์ซอลต์ (bile salt) ซึ่งเกลือนี้มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของบักเตรีแกรมลบชนิดอื่นๆ

-อุณหภูมิ	อยู่ในช่วง	10-40	องศาเซลเซียส
	optimal	37	องศาเซลเซียส
-pH	minimal	4.0	
	maximal	8.5	
	optimal	7.0-7.5	

Salmonella sp (พวงพร , 2534)

แบคทีเรียในกลุ่มนี้เป็นแกตาเลสบวก ออกซิเดสลบ มีเมตาโลลิซึมทั้งแบบการหายใจโดยใช้ออกซิเจน และเฟอร์เมนเตชัน ทุกชนิดเคลื่อนที่ด้วยแฟลเจลลาที่อยู่รอบเซลล์ไม่เฟอร์เมนต์แลคโตส เจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อธรรมดาที่มีกลูโคส สารอนินทรีย์ไนโตรเจนและเกลือแร่ต่างๆ หลายสายพันธุ์ไม่สามารถสังเคราะห์ไวตามินและกรดอะมิโนได้

พวก *Salmonella* นี้พบได้ทั่วไปทั้งในดิน ในน้ำ ในน้ำโสโครก ในสัตว์ ในคน และผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิด

ถิ่นที่อยู่ตามธรรมชาติของแบคทีเรียพวกนี้ คือในทางเดินอาหารของคนและสัตว์ บางซีโรไทพ์พบได้เฉพาะในบางส่วนของโลกเท่านั้น แต่อย่างไรก็ตามจากการที่มีการเดินทางระหว่างประเทศ หรือมีการค้าขายระหว่างประเทศ ก็เป็นสาเหตุให้เชื้อชนิดนี้แพร่กระจายไปในที่ต่างๆได้ด้วย และเชื้อชนิดนี้เป็นสาเหตุของโรคอาหารเป็นพิษที่สำคัญตัวหนึ่ง

-อุณหภูมิ	minimal	6.7-7.8	องศาเซลเซียส
	maximal	45.6	องศาเซลเซียส
	optimal	37	องศาเซลเซียส และสามารถเจริญได้ดีในสภาพอุณหภูมิห้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

-pH อยู่ในช่วง 4.1 –9.0

-aw อยู่ในช่วง 0.93 – 0.95

Staphylococcus sp.(Frazier , 1988)

เซลล์ทรงกลมไม่เคลื่อนที่ อาจอยู่เป็นคู่ หรือ เป็นกลุ่มเซลล์ที่มีรูปร่างไม่แน่นอนเป็น facultative anaerobic เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 –1.5 ไมโครเมตร อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวๆเป็นคู่ หรือเป็นกลุ่มซึ่งมีการรวมกลุ่มในลักษณะไม่แน่นอน อาจคล้ายพวงองุ่น ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ ผนังเซลล์ประกอบด้วยสารที่สำคัญ 2 ชนิดคือ เปปติโดไกลแคน กับกรดไทโคอิค (teichoic acid) เป็น Chemoorganotrophs ได้พลังงานจากการหายใจ และการเฟอร์เมนต์ สามารถสร้างเอนไซม์แคตาเลส บางชนิดอาจสร้างรงควัตถุแคโรตีนอยด์ ใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอีเลคตรอนตัวสุดท้าย

สามารถใช้คาร์โบไฮเดรตได้หลายชนิด โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ในสภาพที่มีออกซิเจน และจะเกิดกรดจากการใช้สารเหล่านี้ แต่ไม่ทำให้เกิดก๊าซขึ้นในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน และจะเกิดกรดจากการใช้สารเหล่านี้ แต่ไม่ทำให้เกิดก๊าซที่ไม่มีออกซิเจน ผลลัพท์ส่วนใหญ่จากขบวนการเฟอร์เมนต์กลูโคสจะได้กรดแลคติค แต่ในสภาพที่มีออกซิเจน ผลลัพท์ส่วนใหญ่จะได้กรดอะซีติค และได้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ออกมาเพียงเล็กน้อยมีเมตาโบลิซึมทั้งแบบหายใจโดยใช้ออกซิเจนและเฟอร์เมนเตชัน ทุกสายพันธุ์เจริญได้ในที่มีเกลือเข้มข้น 7.5 – 15 % เป็นแบคทีเรียที่มีความไวต่อสารพวกคลอรีน คลอรามีน (Chloramine) ไอโอดีน และ ไอโดโดฟอร์ และถูกทำลายได้ด้วยความร้อน แต่มีความคงทนต่อรังสีได้ปานกลาง (อภิญญา , 2528)

Staphylococci บางชนิดพบในผลิตภัณฑ์อาหารเช่น *S. aureus* ที่ผลิตสารเอนเทอโรทอกซินได้ และทำให้เกิดอาหารเป็นพิษ นอกจากนี้ยังพบแบคทีเรียพวกนี้ในสิว ฝี แผลมีหนองจากการติดเชื้อ และในจมูก ซึ่งสามารถถ่ายทอดไปสู่อาหารได้ ถ้าผู้ประกอบอาหารขาดความระมัดระวัง แบคทีเรีย *S. aureus* สามารถสร้างเอ็นไซม์ชื่อ coagulate ซึ่งทำให้พลาสมาแข็งตัวได้ และสร้างเอ็นไซม์นิวคลีเอสซึ่งทนทานต่อความร้อนได้ด้วย

เจริญได้อย่างรวดเร็วในสภาพที่มีออกซิเจน อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญ คือ 35-40 องศาเซลเซียส pHที่ เหมาะสมในการเจริญ คือ 7.0 – 7.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 – ค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

Organism	pH		
	Minimum	Optimum	Maximum
Escherichia coli	4.3-4.4	6.0-8.0	9.0-10
Salmonella	4.0-5.0	6.5-7.2	9.0
Staphylococcus	4.2	-	9.3

ที่มา : Banwart (1983)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

3.11 น้ำนมพาสเจอร์ไรซ์

3.12 หัวเชื้อโยเกิร์ต (*Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus*)

3.13 หางนมผง (Skim milk)

3.2 อุปกรณ์

3.2.1 phenolpthalein 1 %

3.2.2 0.1 N NaOH

3.2.3 Xylose – Lysine –Desoxycholate agar (XLD)

3.2.4 Baird Parker Agar Base (BPAR)

3.2.5 Eosine –Methylenblan-lactose-Sacharose Agar (EMB)

3.2.6 น้ำกลั่น

3.2.7 pentone water

3.2.8 tween 80

3.2.9 pH meter

3.2.10 incubater

3.2.11 เทอร์โมมิเตอร์(thermometer)

3.2.12 plate

3.2.13 pipette

3.2.14 ลูกยาง

3.2.15 บิวเรตพร้อมขาตั้ง

3.2.16 Cylinder

3.2.17 แท่งแก้วงอ

3.2.18 loop

3.2.19 droper

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.20 บีกเกอร์

3.2.21 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.2.22 lack

3.2.23 หลอดทดลองพร้อมฝา

3.2.24 สำลี

3.2.25 ถุงพลาสติก

3.2.26 foil

3.2.27 alcohol 90 %

3.2.28 flocky

3.3 วิธีการทดลอง

1.ขั้นตอนการเตรียมจุลินทรีย์

1.1 -การเตรียมเชื้อ *E. coli* โดยการเขี่ยเชื้อ *E.coli* จำนวน 1 loop ลงในฟลาสก์นม จำนวน 50 มล. และทำการบ่มที่อุณหภูมิ 42 ± 2 °C เป็นเวลา 24 ชม.ทำการนับจำนวนโคโลนีเริ่มต้นโดยใช้อาหาร EMB โดยวิธีการ Spread plate

1.2 -การเตรียมเชื้อ *Salmonella sp.* โดยการเขี่ยเชื้อ *Salmonella sp.* จำนวน 1 loop ลงในฟลาสก์น้ำนมจำนวน 50 มล. และทำการบ่มที่อุณหภูมิ 42 ± 2 °C เป็นเวลา 24 ชม. ทำการนับจำนวนโคโลนีเริ่มต้นโดยใช้อาหาร XLD-agar โดยวิธีการ Spread plate

1.3 - การเตรียมเชื้อ *Staphylococcus sp.* โดยการเขี่ยเชื้อ *Staphylococcus sp.* จำนวน 1 loop ลงในฟลาสก์น้ำนมจำนวน 50 มล. และทำการบ่มที่อุณหภูมิ 42 ± 2 °C เป็นเวลา 24 ชม. ทำการนับจำนวนโคโลนีเริ่มต้นโดยใช้อาหาร BPEY โดยวิธีการ Spread plate

2.ขั้นตอนการหมักโยเกิร์ต

2.1 นำน้ำนมพาสเจอร์ไรส์รสจืด 800 มล. มาแยก ใส่ฟลาสก์จำนวน 4 ฟลาสก์ ฟลาสก์ละ 200 มล. และเติมหางนมผง (Skim milk) ฟลาสก์ละ 5 %

2.2 เติมหัวเชื้อโยเกิร์ต (*Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus*) 5% ลงในแต่ละฟลาสก์

2.3 เติมเชื้อ *E.coli* ความเข้มข้นประมาณ 10^5-10^6 cfu/ml. ลงในฟลาสก์ที่ 2

2.4 เติมเชื้อ *Salmonella sp.* ความเข้มข้นประมาณ 10^5-10^6 cfu/ml.ลงในฟลาสก์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ 3

2.5เติมเชื้อ *Staphylococcus sp.* ความเข้มข้นประมาณ 10^5-10^6cfu/ml. ลงใน ฟลาสก์ที่ 4

2.6 ฟลาสก์ที่ 1 เป็นตัวอย่างควบคุม(control) คือไม่ได้มีการเติมจุลินทรีย์ก่อโรคใดๆ นำฟลาสก์ทั้ง 4 บ่มที่อุณหภูมิประมาณ 42 ± 2 °C เป็นเวลา 3-6 ชั่วโมง จนกว่าจะได้ค่าความเป็นกรดอยู่ระหว่าง 0.75 ± 0.05 , 0.85 ± 0.05 และ 0.95 ± 0.05 ตามลำดับจึงนำมาตรวจวิเคราะห์ตามข้อ 3

3.การศึกษาค่าความเป็นกรดของโยเกิร์ตที่ระดับต่างๆต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค

3.1 นำโยเกิร์ตจากข้อ 2 ภายหลังจากการหมักให้ได้ค่าความเป็นกรด 0.75 ± 0.05 , 0.85 ± 0.05 และ 0.95 ± 0.05 มาตรวจหาค่าต่อไปนี้

3.1.1 ค่า % total acidity วิธีของ AOAC

3.1.2 ค่า pH ทำการวัด pH โดยใช้ pH meter

3.1.3 การหาปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ดังต่อไปนี้

3.1.3.1 การตรวจหาเชื้อ *E.coli* ในอาหาร EMB

3.1.3.1 การตรวจหาเชื้อ *Salmonella sp.* ในอาหาร XLD

3.1.3.1 การตรวจหาเชื้อ *Staphylococcus sp.* ในอาหาร BPEY

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การศึกษาค่าความเป็นกรด , ค่า pH และที่ระดับต่างๆต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E.coli* ,*Salmonella sp.* และ *Staphylococcus sp.*

จากการเติมเชื้อ *E.coli* จำนวน 4.43 X 10^7 cfu/ml., *Salmonella sp.*จำนวน 2.0 X 10^6 cfu/ml. และ *Staphylococcus sp.* จำนวน 1.9 X 10^6 cfu/ml. ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตภายหลังจากการบ่มที่อุณหภูมิ 42 $\pm$ 2 องศาเซลเซียสจนได้ค่าความเป็นกรดอยู่ระหว่าง 0.75 $\pm$ 0.05 , 0.85 $\pm$ 0.05 และ 0.95 $\pm$ 0.05 พบว่าที่ความเป็นกรดระดับดังกล่าวมีค่า pH และจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 – แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรดและ pH ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *E.coli* , *Salmonella sp.* และ *Staphylococcus sp.*

ตัวอย่าง	ค่าความเป็นกรด (%)	ค่า pH	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคที่หลงเหลือ (cfu/ml.)		
			E. coli	*Salmonella sp.*	*Staphylococcus sp.*
ตัวอย่างควบคุม	0.75 $\pm$ 0.05	5.13 – 5.57	-	-	-
	0.85 $\pm$ 0.05	5.34 – 5.46	-	-	-
	0.95 $\pm$ 0.05	4.71 – 4.87	-	-	-
ตัวอย่าง+ เชื้อ *E. coli* (4.43 X 10^7)	0.75 $\pm$ 0.05	4.99 – 5.03	1.3 X $10^{2\ a}$	-	-
	0.85 $\pm$ 0.05	4.91 – 5.03	1.0 X $10^{2\ a}$	-	-
	0.95 $\pm$ 0.05	4.72 – 4.78	0^b	-	-
ตัวอย่าง + เชื้อ *Salmonella sp.* (2.0 X 10^6)	0.75 $\pm$ 0.05	4.96 – 5.44	-	3.0 X $10^{1\ a}$	-
	0.85 $\pm$ 0.05	4.45 – 5.17	-	0^a	-
	0.95 $\pm$ 0.05	4.57 – 4.59	-	0^b	-
ตัวอย่าง + เชื้อ *Staphylococcus sp.* (1.9 X 10^6)	0.75 $\pm$ 0.05	4.98 – 5.36	-	-	6.3 X $10^{1\ a}$
	0.85 $\pm$ 0.05	4.87- 5.45	-	-	1.3 X $10^{1\ a}$
	0.95 $\pm$ 0.05	4.51 – 4.95	-	-	0^b

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่มีค่าความเป็นกรด 0.75 ± 0.05 สามารถลดปริมาณเชื้อ *E.coli* จากจำนวนเชื้อเริ่มต้น 4.43 X 10^7 cfu/ml เหลือ 1.3 X 10^2 cfu/ml และที่ค่าความเป็นกรด 0.85 ± 0.05 เหลือ 1.0 X 10^2 cfu/ml ซึ่งจำนวนเชื้อ *E.coli* ที่หลงเหลือไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95)แต่ที่ความเป็นกรด 0.95 ± 0.05 ตรวจไม่พบเชื้อ *E.coli*

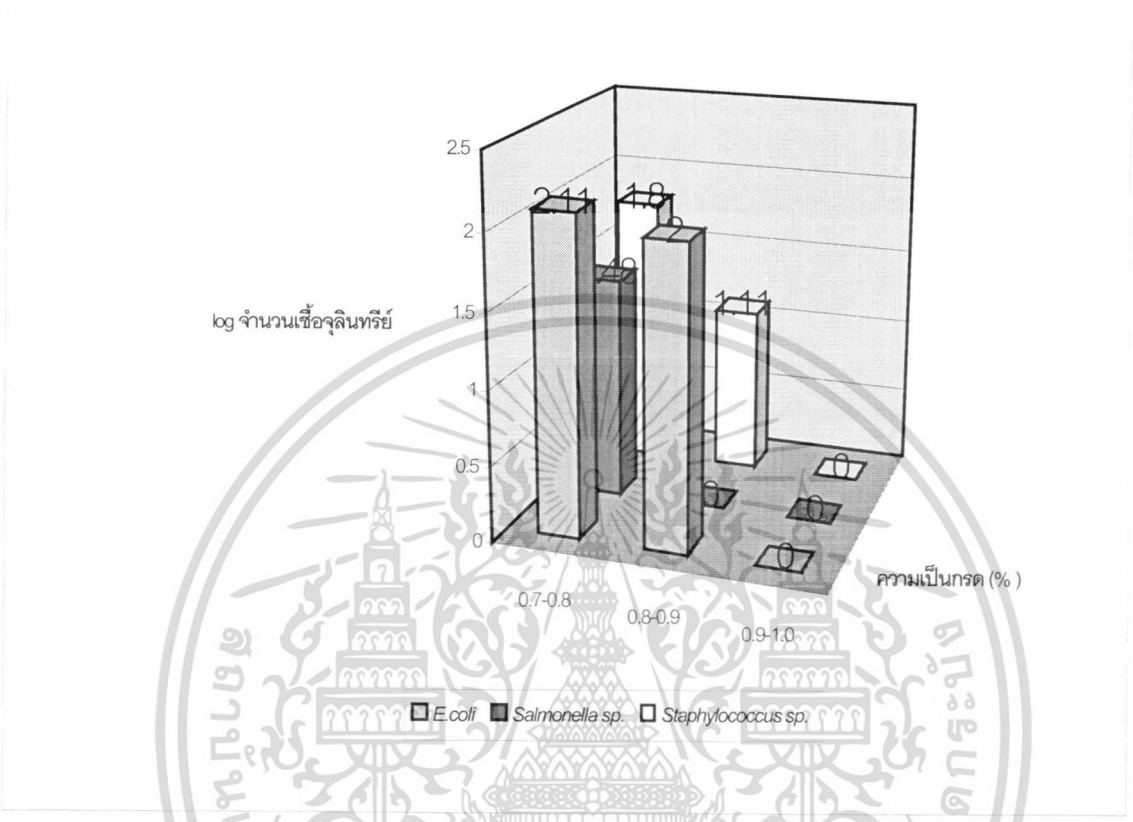
ส่วนเชื้อ *Salmonella sp.* ที่ค่าความเป็นเป็นกรด 0.75 ± 0.05 สามารถลดปริมาณเชื้อ *Salmonella sp.* จากจำนวนเชื้อเริ่มต้น 2.0 X 10^6 cfu/ml เหลือ 3.0 X 10^1 cfu/ml และที่ค่าความเป็นกรด 0.85 ± 0.05 เหลือ 0 cfu/ml ซึ่งจำนวนเชื้อ *Salmonella sp.* ที่หลงเหลือไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95)แต่ที่ความเป็นกรด 0.95 ± 0.05 ตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella sp.*

และเชื้อ *Staphylococcus sp.* ที่มีค่าความเป็นกรด 0.75 ± 0.05 สามารถลดปริมาณเชื้อ *Staphylococcus sp.* จากจำนวนเชื้อเริ่มต้น 1.9 X 10^6 cfu/ml เหลือ 6.3 X 10^1 cfu/ml และที่ค่าความเป็นกรด 0.85 ± 0.05 เหลือ 1.3 X 10^1 cfu/ml ซึ่งจำนวนเชื้อ *Staphylococcus sp.* ที่หลงเหลือไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95)แต่ที่ความเป็นกรด 0.95 ± 0.05 ตรวจไม่พบเชื้อ *Staphylococcus sp.*

จากจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคดังกล่าวสามารถแสดงเป็นค่าlogของจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ดังแสดงในตารางภาคผนวก ค. (ตารางที่ 1) และ ภาพที่ 2 ส่วนความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาในการบ่มและค่าความเป็นกรดของโยเกิร์ตที่มีการเติมเชื้อ *E. coli* , *Salmonella sp.* และ *Staphylococcus sp.* ดังแสดงในภาพที่ 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

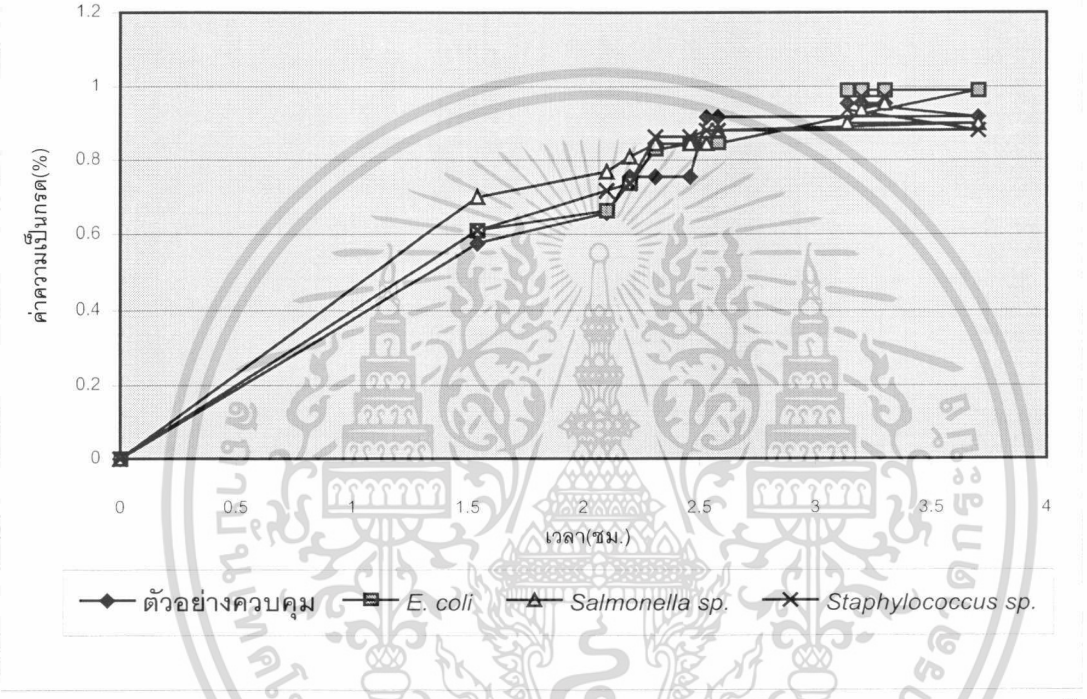
98760



ภาพที่ 2 – กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรดกับ log ของจำนวนเชื้อ *E.coli*, *Salmonella sp.* และ *Staphylococcus sp.*

ภายหลังการบ่มโยเกิร์ตจนมีค่าความเป็นกรด 0.7-0.8 จำนวนจุลินทรีย์ก่อโรคที่เหลือรอดมากที่สุดคือเชื้อ *E.coli* รองลงมาได้แก่*Staphylococcus sp.* และ *Salmonella sp.* ตามลำดับ ส่วนที่ระดับความเป็นกรด 0.8-0.9 ตรวจไม่พบเชื้อ *Salmonella sp.* และที่ระดับความเป็นกรด0.9-1.0 ตรวจไม่พบเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคทั้ง 3 ชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 – กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเป็นกรดต่อเวลาในการบ่มโยเกิร์ตที่มีการเติมเชื้อ *E.coli, Salmonella* และ *Staphylococcus sp.*

จากภาพที่ 3 ค่าความเป็นกรดเมื่อเทียบกับเวลา(ชั่วโมง)ของ ตัวอย่างควบคุมและตัวอย่างที่มีการเติมเชื้อ *E.coli , Salmonella sp.* และ *Staphylococcus sp.*จะมีปริมาณของกรดใกล้เคียงกันดังนั้นถึงแม้ว่าจะมีการเติมเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคลงไปก็ไม่สามารถยับยั้งการเจริญของหัวเชื้อโยเกิร์ต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

5.1 ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่มีการเติมเชื้อ *E. coli.* . ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 42 $\pm$ 2°C เป็นเวลาประมาณ 3 – 6 ชั่วโมง โดยมีค่าความเป็นกรดอยู่ในช่วง 0.75 $\pm$ 0.05 , 0.85 $\pm$ 0.05 , 0.95 $\pm$ 0.05 พบว่าผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่มีค่าความเป็นกรด 0.75$\pm$ 0.05 ขึ้นไป สามารถลดปริมาณเชื้อ *E. coli.* จากจำนวนเริ่มต้น $4.43x10^{7}$ cfu/ml. ให้เหลือ $1.3x10^{2}$ cfu/ml. สำหรับเชื้อ *E. coli.* จะถูกยับยั้งและทำลายจนตรวจไม่พบที่ค่าความเป็นกรด 0.95 $\pm$ 0.05

5.2 ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่มีการเติมเชื้อ *Salmonella sp* ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 42 $\pm$ 2°C เป็นเวลาประมาณ 3 – 6 ชั่วโมง โดยมีค่าความเป็นกรดอยู่ในช่วง 0.75 $\pm$ 0.05 , 0.85 $\pm$ 0.05 , 0.95 $\pm$ 0.05 พบว่าผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่มีค่าความเป็นกรด 0.75$\pm$ 0.05 ขึ้นไป สามารถลดปริมาณเชื้อ *Salmonella sp.* จากจำนวนเริ่มต้น $2.0x10^{6}$ cfu/ml. ให้เหลือ $3.0x10^{1}$ cfu/ml. สำหรับเชื้อ *Salmonella sp.* จะถูกยับยั้งและทำลายจนตรวจไม่พบที่ค่าความเป็นกรด 0.85 $\pm$ 0.05

5.3 ส่วนผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่มีการเติมเชื้อ *Staphylococcus sp.* ภายหลังการบ่มที่อุณหภูมิ 42 $\pm$ 2°C เป็นเวลาประมาณ 3 – 6 ชั่วโมง โดยมีค่าความเป็นกรดอยู่ในช่วง 0.75 $\pm$ 0.05 , 0.85 $\pm$ 0.05 , 0.95 $\pm$ 0.05 พบว่าผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่มีค่าความเป็นกรด 0.75$\pm$ 0.05 ขึ้นไป สามารถลดปริมาณเชื้อ *Staphylococcus sp.* จากจำนวนเริ่มต้น $1.9x10^{6}$ cfu/ml. ให้เหลือ $6.3x10^{1}$ cfu/ml. สำหรับเชื้อ *Staphylococcus sp.* จะถูกยับยั้งและทำลายจนตรวจไม่พบที่ค่าความเป็นกรด 0.95 $\pm$ 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

15765

เอกสารอ้างอิง

ทองยศ อเนกะเวียง.2524.ผลิตภัณฑ์นม.ภาควิชาสัตวบาล มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.กรุงเทพฯ. หน้า 118

ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์.2524.จุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์เกษตร.ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.กรุงเทพฯ.หน้า 252-253

พวงพร โชติกไกร.2534.จุลชีววิทยาของอาหารและนม.ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยรามคำแหง.หน้า 344

วราวุฒิ ครูส่ง และ รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต.2532.เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม.ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.กรุงเทพฯ:สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.หน้า 189-209

อภิญญา ผลิโกมล.2528.แบคทีเรีย.ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.หน้า 123-238

Banwart,G.J.1983.Basic food microbiology.AVI Publishing Com.,Inc.Westport,Connecticut

Chandan ,R.C.1982.Other Fermented Dairy Prodects in Prescott & Dunn's Industrial Microbiology.2nd ed.G.Reed(Editor).AVIPublishing Company, Inc.Westport,Conneccticut

Frazier , W.C. 1988.Food Microbiology.4th ed. McGraw-Hill,Guezen.539 p.

Hayes,S.1981.Dairy Microbiology.National Dairy Council ,London

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

สูตรอาหารและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.
สูตรอาหารและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

BPEY (Baird Parker Agar Base)

60 กรัม ต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร ทำการ autoclave (121 องศาเซลเซียส , 15 นาที) แล้วทำให้เย็นที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ผสม 10 มล.ของ 1% potassium teturite solution และผสม 50 มล. ของ egg yolk emulsion

EMB (Eosin –Methylenblan-lactose Sacharose Agar)

36 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ทำการ autoclave (121 องศาเซลเซียส , 15 นาที)

Tryptophane broth (Indole)

L-Trptophane	1 กรัม
โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.27 กรัม
โซเดียมคลอไรด์	1 กรัม
ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	3.13 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มล.

ปรับ pH = 7.2 $\pm$ 0.2 ทำการ autoclave (121 องศาเซลเซียส , 15 นาที)

MR-VP

เปปโตน	7 กรัม
น้ำตาลกลูโคส	5 กรัม
ไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต	5 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มล.

ปรับ pH = 6.9 $\pm$ 0.2 ทำการ autoclave (121 องศาเซลเซียส , 15 นาที)

XLD (Xylose – lysin –Dexoxycholat-Agar)

55 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร ไม่ทำการ autoclave

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

ผลการตรวจวิเคราะห์ทางเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

ผลการตรวจวิเคราะห์ทางเคมี

ตารางภาคผนวกที่ 1 แสดงการตรวจเชื้อ *Salmonella sp.* โดยตรวจ TSI และ LIM(ตัวอย่างที่ 1)

Acidity	Dilution	TSI*				LIM**		
		Slant	Butt	H_2S	Gas	Lysine	Indole	Motile
0.75	10^{-1}	K	A	-	-	+	-	+
	ซ้ำ	K	A	-	-	+	-	+
	10^{-2}	-	-	-	-	+	-	+
	ซ้ำ	-	-	-	-	-	+	-

ตารางภาคผนวกที่ 2 แสดงการตรวจเชื้อ *Salmonella sp.* โดยตรวจ TSI และ LIM(ตัวอย่างที่ 2)

Acidity	Dilution	TSI*				LIM**		
		Slant	Butt	H_2S	Gas	Lysine	Indole	Motile
0.75	10^{-1}	K	A	-	+	+	-	+
	ซ้ำ	K	A	-	+	+	-	+
	10^{-2}	K	A	-	+	+	-	+
	ซ้ำ	K	A	-	-	+	-	+

หมายเหตุ

TSI*				LIM **		
Slant	Butt	H_2S	Gas	Lysine	Indole	Motile
K	A	+	+	+	-	+

K = alkaline ปลายหลอด (Slant) ของ TSIจะมีสีแดง (ชมพูบานเย็น)

A = acid ก้นหลอด (Butt) ของ TSIจะมีสีเหลือง

H_2S+ = เกิดตะกอนสีดำของไฮโดรเจนซัลไฟด์เชื้อ*Salmonella sp.*จะให้ผล(+)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

H_2S- = ไม่เกิดตะกอนสีดำของไฮโดรเจนซัลไฟด์ในหลอด TSI

Gas + = เกิดฟองอากาศดันวุ้นเนื่องจากเชื้อ *Salmonella sp*

Gas - = ไม่เกิดฟองอากาศ

Lysine+ = สีม่วงเข้มมากขึ้น

Lysine- = สีเหลือง

Indole+ = สีแดงบนหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อหยด KOVAC

Indole- = ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงเมื่อหยด KOVAC

Motile+ =หลอดอาหาร LIM จะขุ่นทั้งหลอดเนื่องจากเชื้อมีการเคลื่อนที่

Motile- =หลอดอาหาร มีเชื้อเจริญบริเวณรอย Stab เท่านั้น

ตารางภาคผนวกที่ 3 แสดงการตรวจเชื้อ *E.coli* โดยตรวจ biochem test (ตัวอย่างที่ 1)

Acidity	Dilution	Biochem Test*			
		Indole	MR	VP	Citrate
0.75	10^{-1}	-	+	+	-
	ซ้ำ	-	+	+	-

ตารางภาคผนวกที่ 4 แสดงการตรวจเชื้อ *E.coli* โดยตรวจ biochem test (ตัวอย่างที่ 2)

Acidity	Dilution	Biochem Test*			
		Indole	MR	VP	Citrate
0.75	10^{-1}	+	+	-	-
	ซ้ำ	-	+	+	+
0.75(ซ้ำ)	10^{-1}	-	+	-	+
	ซ้ำ	-	+	-	+
0.85	10^{-1}	-	-	-	-
	ซ้ำ	-	-	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมายเหตุ

Biochem Test *			
I	M	V	C
+	+	-	-

ภาคผนวกที่ 5 แสดงการหาค่า % total acidity (โดยวิธี AOAC)

โดยวิเคราะห์จาก

$$\% \text{ total acidity} = \frac{(\text{ml NaOH X N})(90.08)(100)}{(1{,}000)(\text{ml Sample})}$$

$$= \frac{(\text{ml NaOH X } 0.1)(90.8)(100)}{(1{,}000)(5)}$$

$$= \text{ml NaOH X } 0.18$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.

ผลวิเคราะห์ทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ 5-แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรดกับlogของจำนวนเชื้อ*E.coli* ,*Salmonella sp.* และ *Staphylococcus sp.*

เชื้อจุลินทรีย์	Acidity(%)	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์(cfu/ml)	Logจำนวนเชื้อจุลินทรีย์
E. coli	0.7 – 0.8	1.3×10^2	2.11^a
	0.8 – 0.9	1.0×10^2	2^a
	0.9 – 1.0	0	0^b
Salmonella sp.	0.7 – 0.8	3.0×10^1	1.48^a
	0.8 – 0.9	0	0^a
	0.9 – 1.0	0	0^b
Staphylococcus sp.	0.7 – 0.8	6.3×10^1	1.80^a
	0.8 – 0.9	1.3×10^1	1.11^a
	0.9 – 1.0	0	0^b

ตารางภาคผนวกที่ 6 - แสดงการวิเคราะห์ค่าระหว่าง acidity กับ log ของจำนวนเชื้อ *E.coli* , *Salmonella sp.* และ *Staphylococcus sp.*

Oneway

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
colony	Between Groups	4.880	2	2.440	6.635	.030
	Within Groups	2.207	6	.368		
	Total	7.087	8			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: colony

	(I) acidity	(J) acidity	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
LSD	0.7-0.8	0.8-0.9	.7600	.495	.176	-.4516	1.9716
		0.9-1.0	1.7967*	.495	.011	.5851	3.0082
	0.8-0.9	0.7-0.8	-.7600	.495	.176	-1.9716	.4516
		0.9-1.0	1.0367	.495	.081	-.1749	2.2482
	0.9-1.0	0.7-0.8	-1.7967*	.495	.011	-3.0082	-.5851
		0.8-0.9	-1.0367	.495	.081	-2.2482	.1749

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

colony

	acidity	N	Subset for alpha = .05	
			1	2
Duncan[a]	0.9-1.0	3	.0000	
	0.8-0.9	3	1.0367	1.0367
	0.7-0.8	3		1.7967
	Sig.		.081	.176

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง.

ภาพภาคผนวก

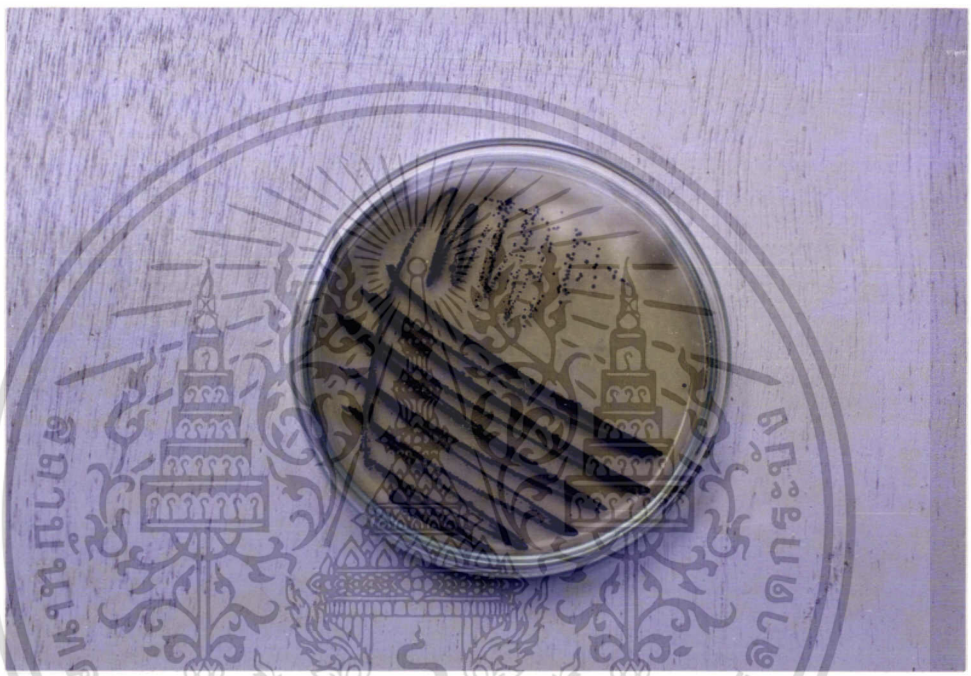
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพภาคผนวกที่ 1 แสดงเชื้อ *E.coli* บนอาหาร EMB

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

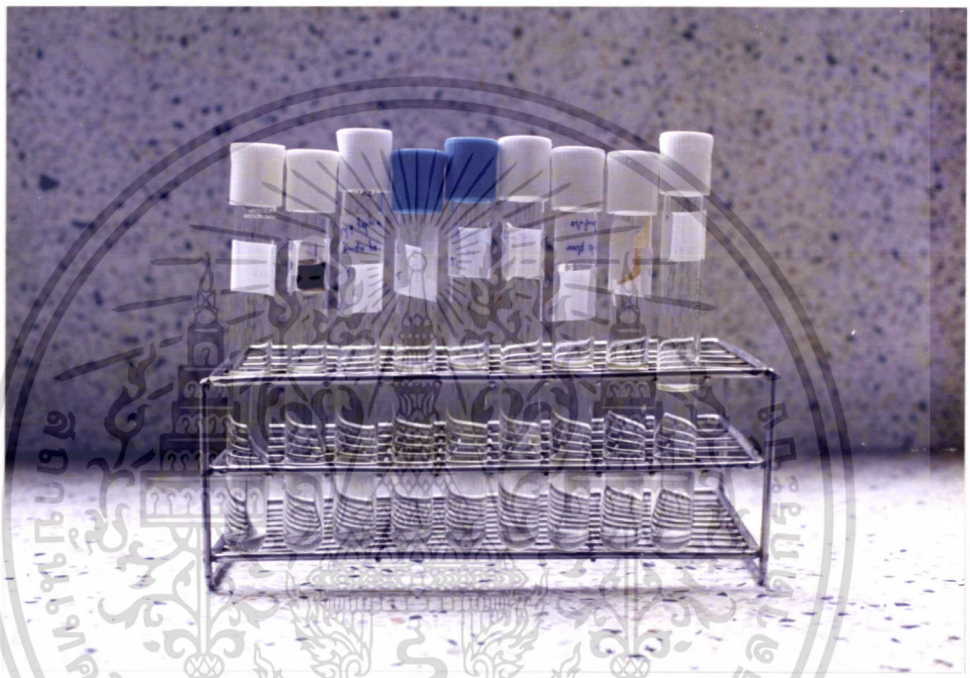
ภาพภาคผนวกที่ 2 แสดงเชื้อ *Salmonella sp.* บนอาหาร XLD

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



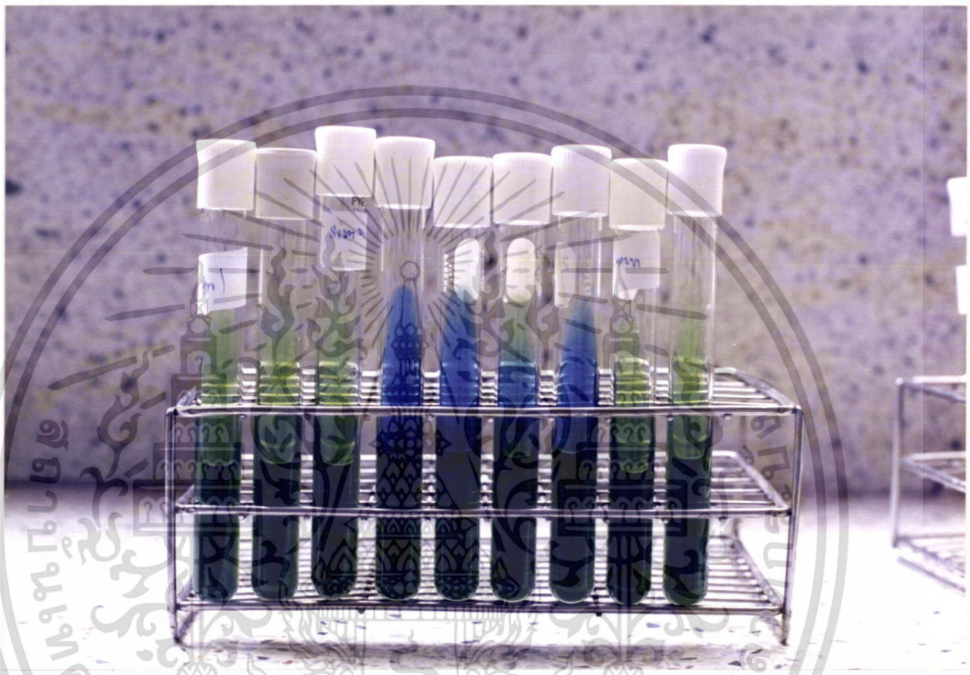
ภาพภาคผนวกที่ 3 แสดงเชื้อ *Staphylococcus sp.* บนอาหาร BPEY

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



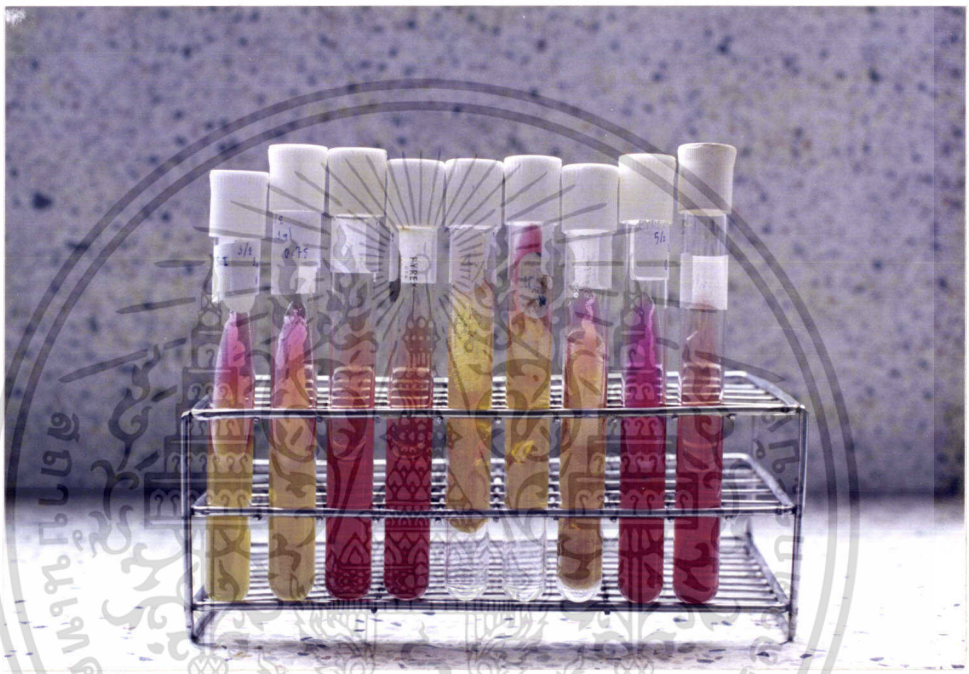
ภาพภาคผนวกที่ 4 อาหาร Tryptone broth ทดสอบ Indole

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



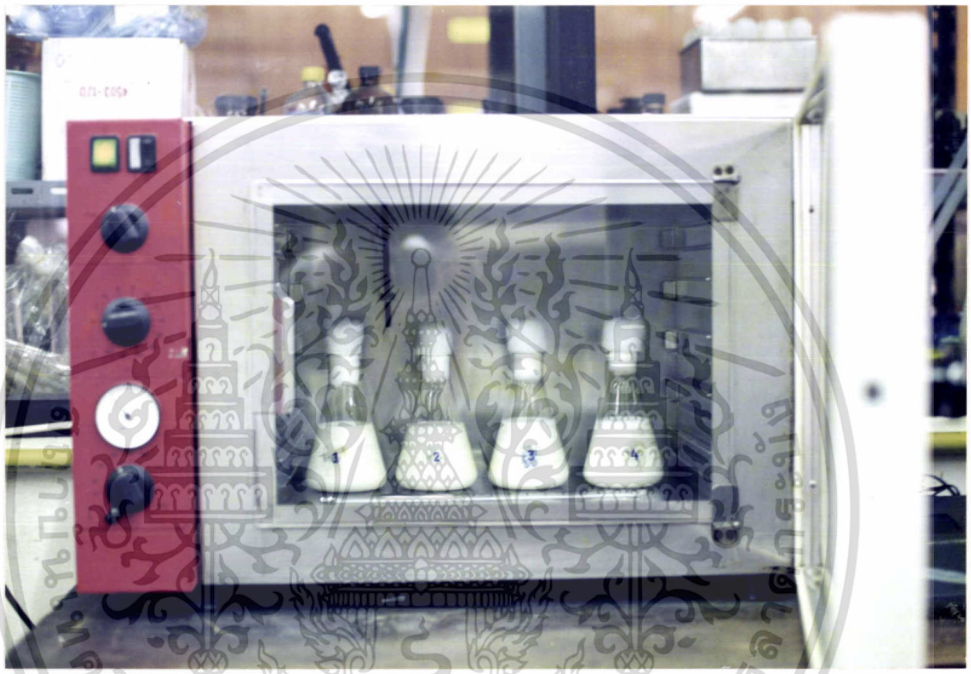
<u>ภาพภาคผนวกที่ 5</u> ทดสอบการใช้ Citrate ในอาหาร Simmon citrate agar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพภาคผนวกที่ 6 ทดสอบ TSI (Triple Sugar Iron)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพภาคผนวกที่ 7 แสดงการบ่มโยเกิร์ตภายในตู้บ่มเชื้อ โดยใช้อุณหภูมิ 42 ±2 °C จากซ้าย ตัวอย่างควบคุม,ตัวอย่าง+*E.coli*,ตัวอย่าง+*Salmonella sp.*,ตัวอย่าง+*Staphylococcus sp.*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ภาพภาคผนวกที่ 8</u> แสดงการวิเคราะห์ % total acidity โดยวิธีการไตรเตรท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้