# การปรับปรุงการอยู่รอดของแบคทีเรียโพรไบโอติกในโยเกิร์ตระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ

นางสาวกนกวรรณ ชดเชย
นางสาวชลีณา คุณจักร

โครงงานพิเศษเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2545

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Survival improvement of probiotic bacteria in yogurt during refrigerated storage


Miss Kanokwan Chodchoey

Miss Chaleena Kunnajuk


A special Project Submitted in Partial Fulfillment of the Requirement for the Degree of

Bachelor of Science

Department of Applied Biology

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2002


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|---|---|
| โครงงานพิเศษเรื่อง | การปรับปรุงการอยู่รอดของแบคทีเรียโพรไบโอติกในโยเกิร์ตระหว่างการเก็บรักษาอุณหภูมิต่ำ |
| นักศึกษา | นางสาวกนกวรรณ ชดเชย<br>นางสาวชลีณา คุณจักร |
| ภาควิชา | ชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ |
| สาขาวิชา | เทคโนโลยีชีวภาพ |
| ปีการศึกษา | 2545 |
| อาจารย์ที่ปรึกษา | ผศ.ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ |
| อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม | ผศ.วันชัย สุทธินุ่น |

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

| คณะกรรมการตรวจสอบ | ลายมือชื่อ |
|---|---|
| ประธานกรรมการ รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง | ........................................ |
| กรรมการ ผศ.ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ | ........................................ |
| กรรมการ ผศ.วันชัย สุทธินุ่น | ........................................ |

........................................

(รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง)

หัวหน้าภาควิชา

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|---|---|
| **โครงงานพิเศษเรื่อง** | การปรับปรุงการอยู่รอดของแบคทีเรียโพรไบโอติกในโยเกิร์ตระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ |
| **นักศึกษา** | นางสาวกนกวรรณ ชดเชย |
| | นางสาวชลีณา คุณจักร |
| **ภาควิชา** | ชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ |
| **สาขาวิชา** | เทคโนโลยีชีวภาพ |
| **ปีการศึกษา** | 2545 |
| **อาจารย์ที่ปรึกษา** | ผศ.ดร.สุรีย์ นานาสมบัติ |
| **อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม** | ผศ.วันชัย สุทธินุ่น |


**บทคัดย่อ**

ในการศึกษาการอยู่รอดของแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต 1 ชนิด และนมเปรี้ยวพร้อมดื่ม 1 ชนิดที่จำหน่ายในกรุงเทพมหานคร ได้ทำการตรวจหาปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกทั้งหมด ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตโพรไบโอติกได้ทำการวิเคราะห์หาปริมาณแบคทีเรียแลคติกตั้งแต่ 3 สัปดาห์ก่อนวันหมดอายุ จนกระทั่งถึง 3 สัปดาห์หลังวันหมดอายุ พบว่ามีปริมาณแบคทีเรียแลคติกลดลงในทุกสัปดาห์จนถึง 3 สัปดาห์หลังวันหมด-อายุ และในสัปดาห์ที่ 3 หลังวันหมดอายุมีจำนวนแบคทีเรียแลคติกเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์ถึง $7.4 \times 10^8$เซลล์ต่อกรัม ส่วนในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวโพรไบโอติกวิเคราะห์หาปริมาณแบคทีเรียแลค-ติกทุก ๆ 2 วัน ตั้งแต่ 4 วันก่อนหมดอายุจนกระทั่ง 4 วันหลังวันหมดอายุ พบว่าปริมาณแบคทีเรียแลคติกลดลงในทุก ๆ 2 วันจนกระทั่งถึงวันที่ 4 หลังวันหมดอายุ และในวันที่ 4 หลังวันหมดอายุ มีแบคทีเรียแลคติกเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์ถึง $4.2 \times 10^7$เซลล์ต่อกรัม ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตโพรไบโอติกสามารถเก็บได้นานกว่าผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวโพรไบโอติก และผลิตภัณฑ์ทั้งสองชนิดยังคงมีจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติกเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์ตามมาตรฐานที่กำหนดไว้ คืออย่างน้อย $10^5$-$10^6$เซลล์ต่อกรัม

การศึกษาผลของการเพิ่มสารอาหารเพื่อปรับปรุง การอยู่รอดของแบคทีเรียโพรไบโอติก (*Lactobacillus casei* และ *Lactobacillus bulgaricus*) ในโยเกิร์ต ได้ทำการผลิตโยเกิร์ตโดยใช้น้ำนมผสมน้ำผึ้ง โปรตีนจากถั่วเหลือง หรือเทมเป้ผง ทำการหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 วัน และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลซียสจนครบ 28 วัน ทำการตรวจหาปริมาณแบคทีเรียแลคติก ปริมาณกรดทั้งหมด และค่าพีเอช ในระหว่างการหมักและการเก็บรักษา พบว่าปริมาณแบคทีเรีย


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แลคติกในโยเกิร์ตทุกตัวอย่างเพิ่มขึ้นหลังจากการหมักนาน 1 วัน น้ำผึ้ง โปรตีนจากถั่วเหลือง และเทมเป้ผงมีผลกระตุ้นการเจริญ และการผลิตกรดโดยแบคทีเรียโพรไบโอติกในระหว่างการหมักโดยเรียงลำดับการกระตุ้นและการผลิตกรดจากมากไปหาน้อยดังนี้ คือ โปรตีนจากถั่วเหลือง เทมเป้ผง และน้ำผึ้ง การอยู่รอดของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกทั้ง 2 ชนิดสูงสุดจนถึง 14 วันในโยเกิร์ตที่มีเทมเป้ผงขณะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|---|---|
| **Special Project Title** | Survival improvement of probiotic bacteria in yogurt during refrigerated storage |
| **Name** | Miss Kanokwan Chodchoey<br>Miss Chaleena Kunnajuk |
| **Department** | Applied Biology |
| **Program** | Biotechnology |
| **Academic Year** | 2002 |
| **Special Project Advisor** | Assist.Prof.Dr.Suree nanasombut |
| **Special Project co-advisor** | Assist.Prof.Wanchai Sutthinoon |

## ABSTRACT

Survival of probiotic bacteria in commercial fermented milk products containing probiotic bacteria (1 brand of yogurt and 1 brand of lactic drink) was determined. These products were evaluated for viability of lactic acid bacteria during refrigerated storage at 4 $^{\circ}$C. Yogurt was evaluated for viability of lactic acid bacteria at periods of 3, 2 and 1 week before and after expiry date. The number of total lactic acid bacteria in yogurt decreased every week and remained 7.42 X $10^{8}$ CFU/ml. Lactic drink was evaluated for viability of total lactic acid bacteria at periods of 4 and 2 days before and after expiry date. Populations of lactic acid bacteria in lactic drink declined every 2 days until 4 days after expiry date and remained 4.2 X $10^{7}$ CFU/ml. Probiotic yogurt can be stored safely for longer periods of time than lactic drink. Both of the products are still beneficial at the microbial level of at least $10^{5}$-$10^{6}$cfu/ml.

The study of ingredient supplementation effect to improve survival of probiotic bacteria was investigated. Yogurt was produced from pasteurized milk with four different ingredients added (honey, soy protein isolate or Tempeh powder). Afer inoculation of starter culture (*Lactobacillus casei* and *Lactobacillus bulgaricus*), all samples were incubated at 37 $^{\circ}$C for 1 day and stored at 4 $^{\circ}$C until 28 days. Changes in viability of lactic acid bacteria, titratable acidity and pH in all yogurt samples were monitored during fermentation and storage. The viable populations of lactic acid bacteria in all yogurt samples increased after 1 day of fermentation. Growth and acid production of lactic acid bacteria were stimulated in the presence of honey, soy protein

isolate or Tempeh powder. The degree of promotion of growth and lactic acid production can be put in order as the following : soy protein isolate, Tempeh powder and honey. Retention of viability was greatest up to 14 days of refrigerated storage at 4 $^{\circ}$C when those two starter bacteria were stored in the presence of Tempeh powder, compared to other ingredients.

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# กิตติกรรมประกาศ

รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาวิชาโครงงานพิเศษ ในหัวข้อเรื่องการศึกษาการปรับปรุงการอยู่รอดของแบคทีเรียโพรไบโอติกในโยเกิร์ตโพรไบโอติกที่จำหน่ายในประเทศไทย และการศึกษาผลของการเพิ่มสารอาหารต่อการอยู่รอดของแบคทีเรียโพรไบโอติกในการผลิตโยเกิร์ต โครงงานพิเศษนี้ไม่สามารถสำเร็จลุล่วงไปด้วยดีได้หากไม่ได้รับการช่วยเหลือจากบุคคลดังต่อไปนี้

ทางผู้จัดทำขอขอบพระคุณ ผศ.ดร. สุรีย์ นานาสมบัติ ที่ให้ความรู้ คำแนะนำต่าง ๆ ที่เกี่ยวกับการทดลอง ข้อเสนอแนะ การตอบข้อซักถามของผู้จัดทำ และข้อบกพร่องที่เกิดขึ้นในการทำการทดลอง " การอยู่รอดของแบคทีเรียโพรไบโอติกในโยเกิร์ตระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ " ( Survival improvement of probiotic bacteria in yogurt during refrigerated storage ) จนกระทั่งโครงงานพิเศษนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ทุกท่าน ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการเบิกเครื่องมืออุปกรณ์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง รวมทั้งอำนวยความสะดวกในการใช้ห้องอาหาร ในการทำโยเกิร์ต

ขอขอบคุณเพื่อน ๆ ที่คอยช่วยเหลือ และอำนวยความสะดวกในเรื่องต่าง ๆ ทำให้การทำโครงงานพิเศษเป็นไปด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณบิดา-มารดาของผู้จัดทำที่เป็นกำลังใจและสนับสนุนกำลังทรัพย์ในการทำโครงงานพิเศษครั้งนี้

ผู้จัดทำหวังเป็นอย่างยิ่งว่า รายงานฉบับนี้คงจะเป็นประโยชน์สำหรับผู้ที่สนใจในงานที่เกี่ยวข้องทางด้านนี้หรือผู้ที่ต้องการศึกษาหาความรู้เกี่ยวกับโครงงานพิเศษนี้ หากมีข้อผิดพลาดประการใด ผู้จัดทำต้องขออภัย ณ ที่นี้ด้วย

กนกวรรณ ชดเชย

ชลิณา คุณจักร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ


| | หน้า |
|---|---|
| บทคัดย่อภาษาไทย | ก |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ | ค |
| กิตติกรรมประกาศ | จ |
| สารบัญ | ฉ |
| สารบัญตาราง | ช |
| สารบัญภาพ | ซ |
| บทที่ 1 บทนำ | 1 |
| 1.1 ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ | 1 |
| 1.2 วัตถุประสงค์ | 3 |
| 1.3 ขอบเขตของการวิจัย | 3 |
| 1.4 ขั้นตอนของการวิจัยและวิธีการดำเนินงาน | 3 |
| 1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ | 3 |
| บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ | 4 |
| บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย | 26 |
| บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล | 30 |
| บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ | 38 |
| เอกสารอ้างอิง | 40 |
| ภาคผนวก ก. | 46 |
| ภาคผนวก ข. | 47 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง


| ตารางที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 1 | สารcarbonyl compounds (ppm) ที่ผลิตโดยเชื้อโยเกิร์ต | 10 |
| 2 | ปริมาณของวิตามินในน้ำนมสดและโยเกิร์ต | 13 |
| 3 | ส่วนประกอบของน้ำนมสดและโยเกิร์ต | 14 |
| 4 | กรดอะมิโนอิสระ (มก./100 มล.) ของน้ำนมสดและโยเกิร์ต | 17 |
| 5 | สายพันธุ์ของจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ใช้ในโรงงานอุตสาหกรรม | 19 |
| 6 | การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ตในระหว่าง การหมักและการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส | 36 |
| 7 | การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่างของโยเกิร์ตในระหว่าง การหมัก และการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส | 36 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญภาพ


| ภาพที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 1 | กระบวนการผลิตโยเกิร์ต | 7 |
| 2 | จำนวนของแบคทีเรียโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตโพรไบโอติกที่จำหน่ายตามท้องตลาด ในช่วง 7 สัปดาห์ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส | 33 |
| 3 | จำนวนของแบคทีเรียโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวโพรไบโอติกที่จำหน่ายตามท้องตลาด ในช่วง 8 วันของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส | 34 |
| 4 | จำนวนของแบคทีเรียแลคติกทั้งหมดในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตโพรไบโอติกในระหว่างการหมัก และการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส | 35 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1
# บทนำ

**1.1 ความเป็นมาของโครงงานพิเศษ**

แบคทีเรียโพรไบโอติกเป็นแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ต่อระบบทางเดินอาหาร กล่าวครั้งแรกโดย Lilly และ Stillwell (1965) ให้ความหมายว่าเป็นจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในลำไส้ Gilliland และ Kim (1984) กล่าวว่าแบคทีเรียโพรไบโอติกเป็นแบคทีเรียรูปท่อน สามารถรอดชีวิต และเจริญในระบบทางเดินอาหารได้ รวมทั้งเป็นแหล่งเอนไซม์ที่ช่วยย่อยน้ำตาลกาแลคโตส เช่น เอนไซม์ β-galactosidase และช่วยปรับปรุงคุณค่าทางอาหารของน้ำนมซึ่งเกิดการเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักด้วยแบคทีเรียโพรไบโอติก (Hargrove และ Alfrod, 1980) นอกจากนี้ยังมีการรายงานว่าจุลินทรีย์ประเภทนี้ยังช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค ช่วยลดความเสี่ยงของการเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่ ช่วยกระตุ้นการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน ช่วยลดระดับคอเลสเทอรอลในเลือดและช่วยปรับปรุงแมเทบอลิซึมของแลคโตส (Sander, 1999; Shah, 2001) จากประโยชน์ที่ได้รับนี้จึงได้มีการนำแบคทีเรียโพรไบโอติกมาใช้เป็นส่วนหนึ่งของอาหาร เวชกรรม และอาหารสัตว์ แบคทีเรียโพรไบโอติกที่นิยมนำมาบริโภคนั้นส่วนใหญ่อยู่ในรูปของโยเกิร์ตซึ่งในการผลิตอาจมีการเติมหัวเชื้ออื่นในขั้นตอนการหมักเพื่อให้โยเกิร์ตมีประโยชน์ต่อสุขภาพมากขึ้น ซึ่งผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตโพรไบโอติกควรมีจำนวนเชื้อที่มีชีวิตอยู่ในผลิตภัณฑ์เป็นจำนวน $10^5$-$10^6$ เซลล์ต่อกรัม เพื่อประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค (Dave และ Shah, 1997)

จุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ใช้ส่วนใหญ่ในผลิตภัณฑ์นมหมัก ได้แก่ *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. reuteri* และ *Bifidobacterium* สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิประมาณ 37 องศาเซลเซียส อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลคติกคือ 40 – 50 องศาเซลเซียส จุลินทรีย์ประเภทนี้มีอัตราการเจริญช้ากว่าจุลินทรีย์โยเกิร์ต ดังนั้นถ้าหากใช้แบคทีเรียโพรไบโอติกประเภทเดียวในการผลิตนมหมักจะใช้เวลาในการหมักนานจึงนิยมเติมเชื้อแบคทีเรียโยเกิร์ต (*Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus*) ลงไปด้วยเพื่อลดระยะเวลาในการหมัก นมหมักที่ใช้แบคทีเรียโพรไบโอติกจะมีกลิ่นคล้ายน้ำส้มสายชู เนื่องมาจากการผลิตกรดแอซีติก และกรดแลคติกจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตในระหว่างการหมักในสภาพไร้อากาศ เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์นมหมักที่มีจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่อุณหภูมิต่ำประมาณ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 วัน อัตราการอยู่รอดจะต่ำกว่าจุลินทรีย์โยเกิร์ต และจะลดจำนวนลงอย่างรวดเร็ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Shin และคณะ, 1999) ในประเทศไทยนั้นยังไม่มีรายงานการวิจัยการอยู่รอดของแบคทีเรียโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์นมหมักโพรไบโอติก ดังนั้นจึงเป็นที่น่าสนใจในการศึกษาในเรื่องนี้

ปัจจัยหลายประการที่มีผลต่อการอยู่รอดของจุลินทรีย์โพรไบโอติก ซึ่งขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ใช้ ความเป็นกรดสุดท้ายของผลิตภัณฑ์ ความเข้มข้นของกรดแลคติก กรดแอซีติก และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นในระหว่างการผลิต และการเก็บรักษาในห้องเย็น นอกจากนี้การอยู่รอดยังขึ้นอยู่กับการขาดสารอาหารในน้ำนม สารเร่งและสารยับยั้งการเจริญ ความดันออสโมติก ปริมาณออกซิเจนในผลิตภัณฑ์และออกซิเจนที่ผ่านเข้าภาชนะบรรจุ ปริมาณของเชื้อตั้งต้นที่เติมลงไป อุณหภูมิที่ใช้บ่ม เวลาของการหมัก และอุณหภูมิของการเก็บรักษา (Shah, 1990; Shah, 2001) การเพิ่มสารอาหารที่เหมาะสมลงในน้ำนมอาจเป็นทางหนึ่งที่จะช่วยปรับปรุงการอยู่รอดของแบคทีเรียโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์นมหมักโพรไบโอติกในระหว่างการเก็บรักษา ได้มีรายงานว่า โอลิโกแซคคาไรด์และอินนูลินมีส่วนช่วยส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติกในหางนม (Shin และคณะ, 2000) โอลิโกแซคคาไรด์และอินนูลินมีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก คือเป็นอาหารที่ไม่ถูกย่อยในลำไส้เล็ก แต่จะช่วยกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ ได้แก่ จุลินทรีย์โพรไบโอติกในลำไส้ใหญ่ (Shah, 2001) น้ำผึ้งก็เป็นอาหารชนิดหนึ่งที่ประกอบด้วยโอลิโกแซคคาไรด์หลายชนิด (4.2%) และน้ำตาลชนิดอื่น ๆ Ustanol และ Ganghi (2001) ได้รายงานว่า เชื้อ *Bifidobacterium bifidum* เจริญและสร้างกรดได้ดีในหางนมที่มีการเติมน้ำผึ้ง และยังมีอัตราการอยู่รอดสูงสุดถึง 14 วันในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สำหรับโปรตีนจากถั่วเหลืองนั้นเป็นส่วนผสมของอาหารอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งอาจเติมลงในน้ำนมที่ใช้ผลิตโยเกิร์ต เพื่อช่วยเพิ่มอัตราการอยู่รอดของแบคทีเรียโพรไบโอติก เนื่องจากสารอาหารในถั่วเหลืองบางชนิดได้แก่ โอลิโกแซคคาไรด์ กรดอะมิโน และเปปไทด์ มีส่วนช่วยกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียดังกล่าว (Sakai และคณะ, 1987; Bezkorovainy และ Miller-Catchpole, 1989) นอกจากนี้โปรตีนจากถั่วเหลืองที่เติมลงในอาหารอาจช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจได้ ซึ่งการรับประทานอาหารในแต่ละมื้อถ้าหากอาหารนั้นมีโปรตีนจากถั่วเหลืองเป็นส่วนประกอบในปริมาณ 6.25 กรัม และอาหารจะต้องมีกรดไขมันอิ่มตัวและคอเลสเทอรอลต่ำด้วยจึงจะช่วยลดความเสี่ยงดังกล่าวได้ (Psczola, 2000) สำหรับเทมเป้นั้นเป็นผลิตภัณฑ์หมักที่ได้จากถั่วเหลือง ซึ่งมีกรดอะมิโนและวิตามินที่มีคุณค่าสูง โดยเฉพาะมีวิตามินบี 12 และไนอะซิน (Steinkraus, 1996) ดังนั้นจึงเป็นไปได้ที่จะนำน้ำผึ้ง โปรตีนจากถั่วเหลือง และเทมเป้ผงมาใช้เติมลงในน้ำนมเพื่อช่วยปรับปรุงการอยู่รอดของจุลินทรีย์โพรไบโอติกในโยเกิร์ต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการอยู่รอดของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกในโยเกิร์ตโพรไบโอติกที่จำหน่ายในประเทศไทย
2. เพื่อศึกษาผลของการเพิ่มสารอาหารที่เหมาะสมต่อการอยู่รอดของแบคทีเรียโพรไบ-โอติกในการผลิตโยเกิร์ต

## 1.3 ขอบเขตของการวิจัย

ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของจำนวนเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกที่มีอยู่ในโยเกิร์ตในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสจนกระทั่งหลังวันหมดอายุ และคัดเลือกสารอาหารที่เหมาะสมที่จะนำมาเติมลงในการผลิตโยเกิร์ต เพื่อพัฒนาการอยู่รอดของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตในระหว่างการเก็บรักษา

## 1.4 ขั้นตอนการวิจัยและวิธีการดำเนินงาน

การดำเนินงานวิจัยแบ่งเป็นขั้นตอน ดังนี้

1. ศึกษาจำนวนของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์นมหมักโพรไบโอติกที่จำหน่ายตามท้องตลาดจำนวน 2 ชนิด ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ ตั้งแต่ก่อนวันหมดอายุจนถึงหลังวันหมดอายุ
2. ศึกษาผลของการเพิ่มสารอาหารต่อการอยู่รอดของแบคทีเรียโพรไบโอติกในโยเกิร์ต
3. วิเคราะห์ข้อมูลที่ได้ทำการศึกษา สรุปผลการทดลอง และจัดทำรายงาน

## 1.5 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถเพิ่มคุณค่าอาหารที่มีอยู่ในโยเกิร์ตโพรไบโอติกจากการเติมสารอาหารที่เหมาะสมลงไป นอกจากนี้ยังสามารถปรับปรุงการอยู่รอดของแบคทีเรียโพรไบโอติกในมีอยู่ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตทำให้ผู้บริโภคได้รับประโยชน์จากการบริโภคโยเกิร์ตโพรไบโอติกเพื่อสุขภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 2
# ทฤษฎีและหลักการ

## 2.1 ผลิตภัณฑ์นมหมัก

ผลิตภัณฑ์นมหมัก เป็นผลิตภัณฑ์ที่เตรียมขึ้นจากน้ำนมซึ่งอาจเป็น น้ำนมพร้อมมันเนย น้ำนมพร่องมันเนย หางนม น้ำนมเข้มข้น หรือน้ำนมที่ผสมด้วยหางนมผงโดยการนำมาโฮโมจีไนส์หรือไม่ก็ได้แล้วให้ความร้อน ทำให้เย็นและหมักด้วยจุลินทรีย์ ในปัจจุบันผลิตภัณฑ์นมหมักกำลังเป็นที่นิยมรับประทานกันมาก เนื่องจากมีคุณค่าทางอาหารสูง และเป็นที่สนใจศึกษากันมากในแง่ของประโยชน์ที่ได้รับจากจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์นมหมัก ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์นมหมักในประเทศไทย ได้แก่ โยเกิร์ต นมเปรี้ยวพร้อมดื่ม และยาคูลท์ เป็นต้น ในต่างประเทศได้มีการนำจุลินทรีย์มาใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์นมหมักหลายชนิดด้วยกัน เช่น คีเฟอร์ (Kefir) ยเมร์ (ymer) นมเปรี้ยวบัตเตอร์มิลค์ และคูมีส (kumiss) เป็นต้น จุลินทรีย์ที่นำมาเป็นกล้าเชื้อส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรีย-แลคติก (lactic acid bacteria) เช่น *Lactobacillus*, *Propionibacterium* และ *Leuconostoc* เป็นต้น แบคทีเรียเหล่านี้มีคุณสมบัติช่วยเปลี่ยนน้ำตาลแลคโตสในน้ำนมให้เป็นกรดแลคติก แต่ละสายพันธุ์ของแบคทีเรียแลคติกจะให้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติเฉพาะตัว ทั้งกลิ่น รส และเนื้อสัมผัส นอกจากนี้ยังมีประโยชน์คือสามารถสร้างกรดอินทรีย์จากกระบวนการแมเทบอไลท์สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดการเน่าเสีย หรือทำให้เกิดโรค สามารถสร้างสารปฏิชีวนะต่าง ๆ เช่น ไน-ซิน ไดโพลคอคซิล แบคเทอริโอซิน และริวเทอริน(ลาวัณย์, 2542)

โยเกิร์ต

โยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักน้ำนม หรือน้ำนมเพิ่มปริมาณของแข็งโดยใช้แบค-ทีเรียแลคติก *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus* ช่วยในการหมักจุลินทรีย์จะสร้างกลิ่นรส และกรดแลคติกทำให้โปรตีนตกตะกอนเป็นลิ่ม โยเกิร์ตที่ได้จะมีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลวและมีคุณค่าทางอาหารสูง ปัจจุบันมีการพัฒนาผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตในรูปแบบต่าง ๆ อาจมีการเพิ่มกลิ่นรส ผลไม้ สารให้ความหวาน ลดปริมาณไขมัน หรืออาจผลิตในรูปของโยเกิร์ตแห้ง และโยเกิร์ตแช่แข็ง (Schmidt, 1992)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.2 กล้าเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโยเกิร์ต**

จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นกล้าเชื้อในการผลิตโยเกิร์ต ได้แก่ *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus* แต่ละชนิดอาจใช้ 1 สายพันธุ์หรือมากกว่า 1 สายพันธุ์ก็ได้ จุลินทรีย์ 2 ชนิดนี้จะอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัยกัน

1.คุณลักษณะของ *S.thermophilus*

*S. thermophilus* เป็นแบคทีเรียแลคติก รูปร่างกลมต่อกันเป็นสาย สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิสูงถึง 49 องศาเซลเซียส แต่จะเจริญไม่ดีที่อุณหภูมิต่ำ (ไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส) เมื่ออยู่เดี่ยว ๆ จะสร้างกรดทำให้โปรตีนในน้ำนมตกตะกอนได้ดี แต่ปริมาณกรดที่สร้างขึ้นนั้นค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับแบคทีเรียแลคติกชนิดอื่น ในระหว่างการหมักน้ำนม *S. thermophilus* จะผลิตเอนไซม์แลคเตสและเอนไซม์บีต้า-กาแลคโตซิเดส มาย่อยแลคโตสให้เป็นกลูโคสกับกาแลคโตส และสามารถผลิตเอนไซม์ยูรีเอสมาย่อยสลายยูเรียในน้ำนม ทำให้เกิดคาร์บอนไดออกไซด์และแอมโมเนีย นอกจากนี้ *S .thermophilus* ยังผลิตแคปซูล และผลิตเมือกภายนอกเซลล์ซึ่งเป็นพอลิแซคคาไรด์ ช่วยให้โยเกิร์ตที่ผลิตได้มีลักษณะเนื้อที่เนียนข้น ทำให้ผลไม้กระจายตัวได้ดีในโยเกิร์ต (Vedamuthu, 1991)

นอกจากคุณลักษณะของ *S .thermophilus* ดังกล่าวข้างต้นแล้ว ยังมีคุณลักษณะอีก 3 ประการที่ทำให้แบคทีเรียชนิดนี้อาจถูกยับยั้งในระหว่างการหมัก คุณลักษณะทั้ง 3 ประการนี้ได้แก่ ประการแรก แบคทีเรียชนิดนี้มีความไวต่อเพนนิซิลินอย่างมาก รวมทั้งสารปฏิชีวนะชนิดอื่นด้วย ฉะนั้นก่อนที่จะนำน้ำนมมาผลิตโยเกิร์ตควรตรวจสอบสารปฏิชีวนะ มิฉะนั้นสารปฏิชีวนะในน้ำนมอาจยับยั้งการเจริญของ *S. thermophilus* ประการที่สอง แบคทีเรียชนิดนี้อาจถูกยับยั้งถ้าหากอยู่ในสภาพที่มีเกลือ 2.5 – 3.0% โดยเฉพาะในเนยแข็ง และประการสุดท้าย ในสภาพที่มีความเข้มข้นของซูโครสสูงกว่า 4.0 % สามารถชะลอการผลิตกรดของ *S. thermophilus* ได้ (Vedamuthu, 1991)

2. คุณลักษณะของ *L .bulgaricus*

*L . bulgaricus* เป็นแบคทีเรียแลคติกรูปแท่ง อาจพบอยู่เป็นคู่หรือต่อกันเป็นสาย แบคทีเรียชนิดนี้ทนความร้อนได้ดี มีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญประมาณ 45 องศาเซลเซียส และมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดประมาณ 43 – 46 องศาเซลเซียส *L. bulgaricus* เจริญได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจนเพียงเล็กน้อย หรือในสภาพที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ ดังนั้นในช่วงแรกของการหมัก *L. bulgaricus* จะเจริญอย่างช้า ๆ จนกว่า ออกซิเจนจะถูกใช้ให้หมดไปโดยแบคทีเรียชนิดอื่น และแบคทีเรียชนิดนี้สามารถผลิตเมือกภายนอกเซลล์ ซึ่งเป็นพอลิแซคคาไรด์ได้ เช่นเดียวกับ *S. thermophilus* ช่วยให้โยเกิร์ตมีลักษณะที่เนียน และข้น (Vedamuthu, 1991)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

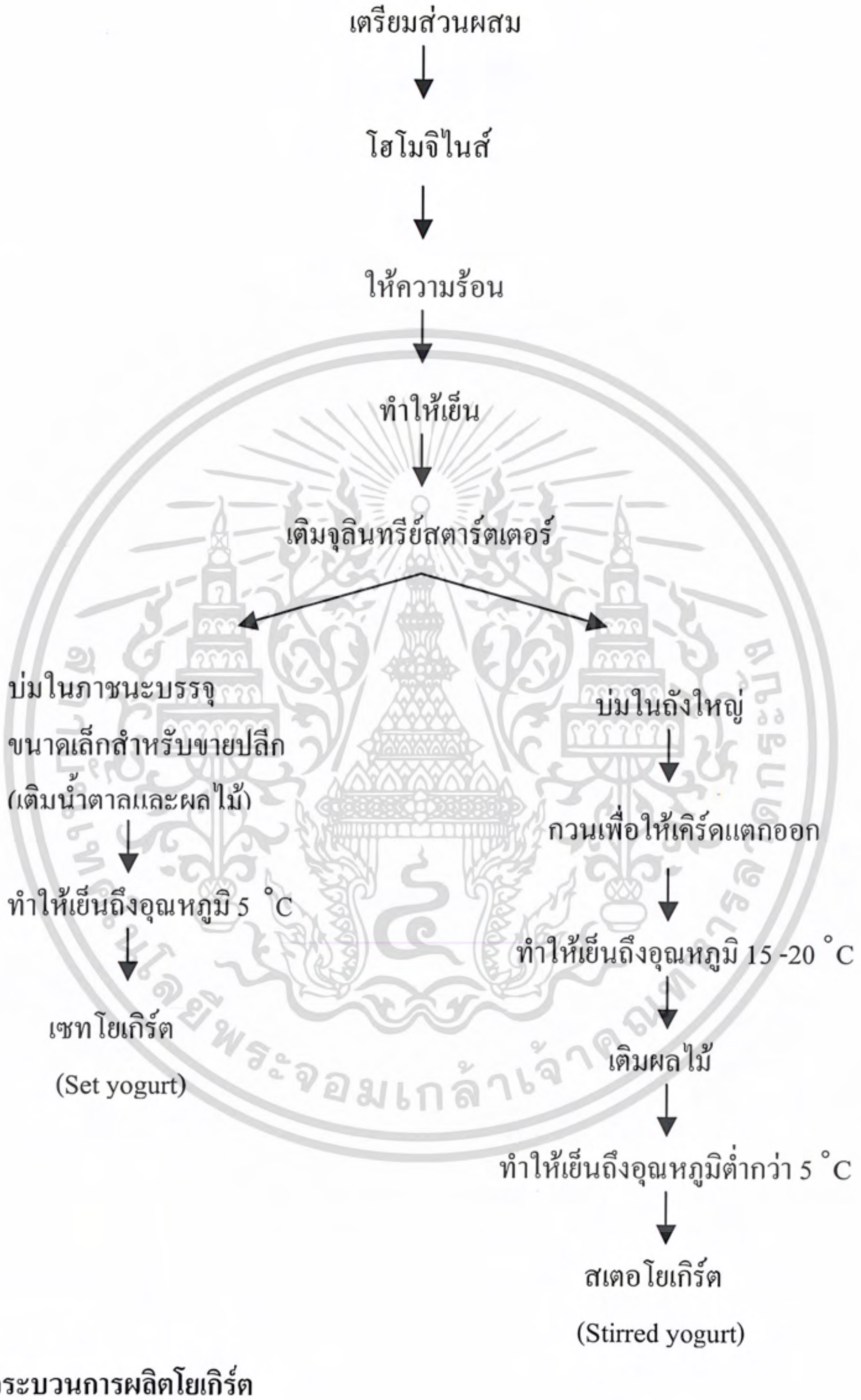
**2.3 กระบวนการผลิตโยเกิร์ต**

กรรมวิธีการผลิตโยเกิร์ต เริ่มจากการนำน้ำนมสด (whole milks) หรือหางนม (skim milk) หรือน้ำนมสดผสมกับหางนมในอัตราส่วนที่พอเหมาะ และมีการเติมนมผงเพื่อเพิ่มเปอร์เซ็นต์ปริมาณของแข็ง (solid content) ซึ่งทำให้ลักษณะตะกอนของผลิตภัณฑ์คงตัวดีขึ้นวิธีการทำจะเริ่มจากนำน้ำนมที่มีอัตราส่วนที่เหมาะสม มาผ่านการฆ่าเชื้อด้วยวิธีการพาสเจอไรส์ ที่อุณหภูมิ 85 ถึง 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 – 30 นาที แล้วทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็วที่อุณหภูมิ 42 –45 องศา-เซลเซียส เติมกล้าเชื้อ ที่เป็นเชื้อผสมระหว่าง *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* และ *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* ในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 หรือ 1 ต่อ 1.2 จำนวน2-4 เปอร์เซ็นต์ ทำการบ่มจนกระทั่งเกิดเคิร์ด (curd) และได้ปริมาณกรดที่ต้องการ จากนั้นจึงลดอุณหภูมิลงเหลือประมาณ 4 องศาเซลเซียส เพื่อหยุดการเจริญของจุลินทรีย์ (Marshall, 1986) ในอุตสาห-กรรมการผลิตโยเกิร์ตแบ่งกรรมวิธีการผลิตเป็น 2 แบบ คือ set yoghurt และ stirred yoghurt กรรม-วิธีทั้งสองแตกต่างกัน คือ set yoghurt จะเป็นแบบที่บรรจุทันทีหลังจากการเติมจุลินทรีย์ และให้จุลินทรีย์ทำปฏิกิริยาในขณะที่อยู่ในภาชนะบรรจุ ในขณะที่แบบ stirred yoghurt จะให้มีการทำปฏิกิริยาในขณะที่อยู่ในภาชนะบรรจุ ในขณะที่แบบ stirred yoghurt จะให้มีการทำปฏิกิริยาจนได้ที่แล้วทำให้เย็นลงและทำการบรรจุลงในภาชนะภายหลัง (ภาพที่ 1)

<u>ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักโยเกิร์ต</u>

ในระหว่างการหมักโยเกิร์ต เชื้อ *S . thermophilus* และ *L. bulgaricus* จะเจริญแบบพึ่งพาอาศัยกัน (symbiosis) แต่ถ้าหาก *S. thermophilus* เจริญเดี่ยว ๆ จากการศึกษาพบว่าเชื้อนี้สามารถผลิตกรดแลคติกทำให้น้ำนมตกตะกอนได้เช่นกัน แต่ปริมาณกรดที่ผลิตได้ค่อนข้างต่ำ เมื่อเปรียบ - เทียบกับแบคทีเรียแลคติกชนิดอื่น ส่วน *L. bulgaricus* เดี่ยว ๆ นั้นจะผลิตกรดแลคติกได้สูง แต่อัตราการเจริญ และการสร้างกรดในตอนเริ่มต้นจะต่ำ เนื่องจากเชื้อนี้เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิ - เจนเพียงเล็กน้อยในการเจริญ และต้องการสารประกอบบางอย่างเพื่อกระตุ้นการเจริญ ดังนั้นการใช้ *S. thermophilus* หรือ *L. bulgaricus* ชนิดใดชนิดหนึ่งในการผลิตโยเกิร์ต จึงไม่เป็นที่ยอมรับในอุต - สาหกรรม แต่ถ้าใช้เชื้อทั้งสองชนิดในการผลิตโยเกิร์ต จุลินทรีย์ทั้งสองชนิดจะเจริญแบบพึ่งพาอาศัยกันระหว่างการหมักโยเกิร์ตโดยในช่วงแรก *S. thermophilus* จะเจริญได้ดีกว่า*L. bulgaricus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**ภาพที่ 1 กระบวนการผลิตโยเกิร์ต**

ที่มา : สุรีย์ (2539)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจาก *S. thermophilus* ทนต่อออกซิเจนได้ดีกว่า จึงเจริญและสร้างกรดไปเรื่อย ๆ จนกระทั่งออกซิเจนลดลงทำให้ *L. bulgaricus* เริ่มเจริญได้ดีและถูกกระตุ้นด้วยแก๊สคาร์บอนได ออกไซด์ที่ผลิตขึ้นโดย *S. thermophilus* จากการย่อยสลายยูเรียในน้ำนม นอกจากนี้ยังถูกกระตุ้นด้วยกรดฟอร์-มิก และไพรูวิก ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการหมักสารคาร์โบไฮเดรต ส่วน *S. thermophilus* จะถูกกระตุ้นด้วยเปปไทด์เช่นกัน และกรดอะมิโน ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายโปรตีนนมโดย *L. bulgaricus* ฉะนั้นในช่วงแรกและช่วงกลางของการหมักโยเกิร์ตจะมี *S. thermophilus* เจริญเด่นและผลิตกรดแลคติก อะซีตัลดีไฮด์ และสารอื่น ๆ ทำให้ pH ลดต่ำลง ต่อมา *L. bulgaricus* ก็เริ่มเจริญได้ดีขึ้นและสร้างกรดเพิ่มขึ้น ขณะที่การเจริญของ *S .thermophilus* ช้าลง เมื่อสิ้นสุดการหมัก pH จะลดลงถึง 4.6 – 4.7 มีกรดแลคติกเกิดขึ้นประมาณ 0.9 – 1.2% และมีแบคทีเรียแลคติกในโย-เกิร์ต ประมาณ $10^6$-$10^8$ เซลล์ต่อกรัม (Schmidt, 1992;Vedamuthu, 1991)

<u>การเมทาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต</u>

แลคโตสเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญเพียงแหล่งเดียวของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกโดยขบวนการหมัก (fermentation) ซึ่งแลคโตสจะถูกสลายตัวให้กลูโคสและกาแลคโตส โดยขบวนการนี้เกิดขึ้นภายในเซลล์ของแบคทีเรียแลคติก หลังจากที่แลคโตสถูกดูดซึมผ่านผนังเซลล์เข้าไปแล้ว

การลำเลียงแลคโตสผ่านผนังเซลล์นั้นมีเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องอยู่ด้วย 2 ชนิด ได้แก่ galactosidase permease และ Lactose phosphotransferase โดยแลคโตสจะถูกเปลี่ยนเป็น glycosyl β-(1,4) – galactosidase – 6P หรือ lactose-P ภายในมีเอนไซม์อีก 2 ชนิดที่จะทำการไฮโดรไลส์ lactose คือ β- D-galactosidase (β-gal) กับ β- D-phosphogalactosidase (β- P gal) โดยที่ β- D-galactosidase (β -gal) จะไฮโดรไลซ์แลคโตสไปเป็น β - D-galactose กับ D-glucose ส่วน β - P gal จะไฮโดรไลส์แลคโตสไปเป็น galactose-6-P กับ D-glucose ต่อมา D-glucose จะเปลี่ยนไปเป็นไพรูเวทโดยผ่านขบวนการ Embden-Meyerhof Pathway (EMP) ต่อจากนั้นเอนไซม์ lactate dehydrogenase จะเปลี่ยนไพรูเวทไปเป็นกรดแลคติกต่อไป ส่วน β -D-galactose กับ galactose – 6P นั้น มีบางส่วนจะถูกไฮโดรไลส์มาเป็นกรดแลคติกได้ แต่อีกส่วนหนึ่งจะถูกปลดปล่อยขับออกมานอกเซลล์สะสมอยู่ในโยเกิร์ต

บางสายพันธุ์ของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกสามารถใช้คาร์โบไฮเดรทได้ โดยสังเคราะห์สารพวกโพลีแซคคาไรด์ (polysaccharide) ที่เรียกว่า “glucan” ซึ่งเป็นเด็กซ์แตรนชนิดหนึ่งประกอบด้วย a-1-6-glycosidic linkage สำหรับเชื้อโยเกิร์ตบางสายพันธ์ เช่น RR culture ของประเทศเน-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เธอร์แลนด์สามารถสร้างกลูแคนได้ ทำให้โยเกิร์ตที่ได้มีลักษณะหนืดข้น (Tamine และ Robinson,1990)

การสร้างกรดแลคติก (Production of Lactic acid)

การสลายตัวของแลคโตสโดยแบคทีเรียแลคติกส่วนใหญ่แล้วจะได้กรดแลคติกซึ่งเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในการทำโยเกิร์ตด้วยเหตุผลคือ

1. กรดแลคติกทำให้เคซีนไมเซลล์ (casein micelles) เปลี่ยนสภาพจากสารแขวนลอยซึ่งอยู่ในรูป calcium-caseinate-phosphate-complex (CCPC) แตกตัวไปเป็น casein complex, calcium lactate และ calcium phosphate ดังสมการ

CCPC+lactic acid $\longrightarrow$ calcium complex + calcium lactate + monocalcium phosphate

สารต่างๆที่ได้จากปฏิกิริยาจะอยู่ในลักษณะละลายอยู่ในส่วนประกอบที่เป็นน้ำของนม เมื่อปริมาณของกรดแลคติกมากขึ้นเรื่อย ๆ ตามระยะเวลาในการบ่ม เคซีนไมเซลล์ก็จะค่อย ๆ สูญเสียธาตุแคลเซียมไปเรื่อย ๆ จนทำให้เสียสมดุลของธาตุแคลเซียมในเคซีนไมเซลล์ และเมื่อถึงพีเอช 4.6 – 4.7 เคซีนจะเสียสมดุลทำให้เกิดการตกตะกอนของเคซีน และเกิดเคิร์ดขึ้น

2. กรดแลคติกทำให้โยเกิร์ตมีลักษณะเฉพาะตัวของโยเกิร์ตในเรื่องรสชาติ และกลิ่น เช่น ทำให้เกิดความเปรี้ยวและมีกลิ่นหอม

พวกแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกมีเอนไซม์ lactate dehydrogenase (LDH) ทำให้สามารถสามารถสังเคราะห์สารแลคติกจากไพรูวิกได้

สารที่ให้กลิ่นในโยเกิร์ต

เชื้อโยเกิร์ตสร้างสารให้กลิ่น (aromatic compound) ซึ่งทำให้โยเกิร์ตมีกลิ่นเฉพาะตัว สารให้กลิ่นในโยเกิร์ตแบ่งออกได้เป็น 4 พวกคือ

1. กรดที่ระเหยไม่ได้ เช่น กรดแลคติก (lactic acid) กรดไพรูวิก (pyruvic acid) กรดซัคซินิค (succinic acid) และกรดออกซาลิก (oxalic acid)

2. กรดที่ระเหยได้ เช่น กรดฟอร์มิก (formic acid) กรดอะซิติก (acetic acid) กรดโพรพิโอนิก (propionic acid) และกรดบิวไทริก (butyric acid)

3. สารประกอบพวกคาร์บอนิล เช่น อะซีตัลดีไฮด์ (acetaldehyde) อะซีโตน (acetone) อะซีโตอิน (acetoin) และไดอะเซติล (diacetyl)

4. สารประกอบอื่น ๆ เช่น กรดอะมิโนบางชนิด ไขมัน และแลคโตส เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารให้กลิ่นในโยเกิร์ตนั้น เป็นผลที่เกิดจากการมีกรดแลคติกและสารประกอบพวกคาร์บอนิล (carbonyl compounds) Tamine และ Deeth (1980) ได้สรุปจากงานวิจัยหลายรายงานด้วยกัน ดังตารางที่ 2

**ตารางที่ 1 สารcarbonyl compounds (ppm) ที่ผลิตโดยเชื้อโยเกิร์ต**

| จุลินทรีย์ | อะซีตัลดีไฮด์ | อะซีโตน | อะซีโตอิน | ไดอะซีติล |
|---|---|---|---|---|
| *S. thermophilus* | 1.0 – 8.3 | 0.2 – 5.2 | 1.5 – 7.0 | 0.1 – 13.0 |
| *L. bulgaricus* | 1.4 – 12.2 | 0.3 – 3.2 | 0 – 2.0 | 0.5 – 13.0 |
| Mixed culture | 2.0 – 41.0 | 1.3 – 4.0 | 2.2 – 5.7 | 0.4 – 0.9 |

ที่มา : Tamine และ Robinson (1985)

ในระหว่างการหมักจะเกิดการสร้างอะซีตัลดีไฮด์เมื่อค่าพีเอชเป็น 5.0 และจะถึงจุดสูงสุดที่พีเอช 4.2 และจะคงที่อยู่เมื่อพีเอชเป็น 4.0 จะสามารถเพิ่มระดับของอะซีตัลดีไฮด์ให้สูงขึ้นได้โดยการเติมธาตุน้ำนมไม่รวมไขมันให้มากขึ้น หรือการใช้ความร้อนระหว่างการต้มน้ำนมให้เหมาะสม และเมื่อนำโยเกิร์ตไปเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็นเป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง ระดับของอะซีตัลดีไฮด์ก็จะลดลง แต่ทั้งนี้จะขึ้นอยู่กับวัตถุดิบที่ใช้ทำโยเกิร์ต เช่น ถ้าใช้น้ำนมสดล้วน ๆ เป็นวัตถุดิบ การเปลี่ยน- แปลงจะเกิดขึ้นน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้หางนมผง การหมักในน้ำนมโคพบว่าหลังการบ่ม 3 ชั่วโมงจะมีระดับของอะซีตัลดีไฮด์สูงสุดเมื่อเทียบกับน้ำนมแพะและน้ำนมแกะ

สารประกอบอื่น ๆ ที่มีส่วนประกอบในการสร้างรสชาติและกลิ่นของโยเกิร์ตทั้งทางตรงและทางอ้อม ได้แก่

1. กรดไขมันที่ระเหยได้ เช่น acetic acid, propionic acid, butyric acid, isovaleric acid, caproic acid, caprylic acid และ capric acid

2. กรดอะมิโน เช่น serine, glutamic acid, praline, valine, leucine, isoleucine และ tyrosine

3. สารประกอบอื่น ๆ ที่เกิดจากการต้มน้ำนมที่อุณหภูมิ 80 – 90 องศาเซลเซียสนาน 15 – 30 นาที ซึ่งได้แก่

3.1 จากไขมัน

3.1.1 จากพวกคีโต (keto acid) เช่น acetone, butanone และ hexanone

3.1.2 จากพวกไฮดรอกซี (hydroxyl acid) เช่น γ- valerolactone, a-caprolactone

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ a-caprilactone

3.1.3 จากสารเบ็ดเตล็ดอื่น ๆ เช่น 2-heptanone, 2-nonanone, 2-undecanone และ peptone

3.2 จากแลคโตส เช่น furfural, furfurylalcohol, 5-methyl fufural และ 2-pentylfurane

3.3 จากโปรตีน เช่น methionine, valine และ phenylalanine

3.4 จากสาร n-pentaldehyde และ 2-heptanone ที่ *L. bulcaricus* ผลิตขึ้น

Lee และ Jugo (1978) ได้ทำการศึกษาการสังเคราะห์อะซีตัลดีไฮด์ของแบคทีเรียที่ผลิตกรด-แลคติก เขาพบว่าสิ่งสำคัญในการสร้างอะซีตัลดีไฮด์ คือ แลคโตส ทรีโอนีน และเมทไธโอนีน โดยที่เชื้อโยเกิร์ตทั้งสองชนิดมีเอนไซม์ aldehyde dehydrogenase จะสามารถไปรีดิวซ์สาร acetyl co A หรืออะซีเตท และจะได้สารอะซีตัลดีไฮด์ ต่อจากนั้นเอนไซม์ alcohol dehydrogenase จะเข้าทำปฏิกิริยาได้สารเอทธานอลต่อไป สำหรับทรีโอนีนจะถูกเอนไซม์ threonine aldolase เข้าทำปฏิกิริยาดังสมการ

$$\text{Threonine + Pyridoxal} \xrightarrow{\text{threonine aldolase}} \text{Acetaldehyde + Glycine}$$

<u>เมทาบอลิซึมของโปรตีน</u>

ทั้ง *S. thermophilus* และ *L. bulgaricus* มีความสามารถย่อยสลายโปรตีนได้น้อยมาก แต่ก็ยังสามารถตรวจพบว่ามีการสลายโปรตีนในโยเกิร์ตได้ โดยพบว่ามีการปลดปล่อยเปปไทด์หลายขนาดรวมทั้งกรดอะมิโนอิสระ ซึ่งนักวิจัยหลายคณะยืนยันว่า การที่มีกรดอะมิโนอยู่ในโยเกิร์ตนั้นเป็นผลดีต่อการเจริญของ *S. thermophilus* ซึ่งทั้งเปปไทด์และกรดอะมิโนอิสระไม่ได้มีอิทธิพลต่อรสชาติของโยเกิร์ตโดยตรงแต่ทำหน้าที่เป็นแหล่งวัตถุดิบ (precursor) ในการผลิตสารประกอบอื่นๆ ที่มีผลต่อรสของโยเกิร์ต

Tamine และ Deeth (1981) ได้รวบรวมข้อมูลเกี่ยวกับการสลายตัวของโปรตีนอันเนื่องมาจากเชื้อโยเกิร์ต จากผลงานของนักวิจัยหลายคณะ และได้สรุปว่าแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดมีกิจกรรมของเอนไซม์ proteinase และ peptidase แตกต่างกัน คือ *S. thermophilus* มี peptidase activity สูงกว่าของ *L. bulgaricus* แต่มี proteinase activity อยู่ในขอบเขตที่จำกัดในขณะที่ *L. bulgaricus* มี proteinase activity สูง แต่มี peptidase activity จากความสามารถดังกล่าวแสดงถึงความสัมพันธ์ในการอยู่ร่วมกันได้ดีของเชื้อทั้ง 2 โดยที่ *L. bulgaricus* จะใช้ proteinase ไปไฮโดรไลส์เคซีน เพื่อปลดปล่อยเปปไทด์ออกมา ต่อจากนั้นเปปติเดสของ *S. thermophilus* จะทำการย่อยสลายได้กรดอะ-มิโนออกมา ซึ่ง Tamine และ Deeth (1981) ได้เสริมอีกว่าปริมาณของกรดอะมิโนที่ปลดปล่อยออกมาจะมีมากหรือน้อยนั้นมีปัจจัยที่สำคัญ คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. ชนิดของน้ำนม น้ำนมแพะจะให้กรดอะมิโนสูงกว่าน้ำนมโคและน้ำนมแกะ

2. กรรมวิธีในการผลิตโยเกิร์ต เช่น การบ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส นาน 2- 3 ชั่วโมง จะให้กรดอะมิโนมากกว่าการบ่มที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง และที่อุณหภูมิ 30 – 32 องศาเซลเซียส นาน 5 – 6 ชั่วโมง

3. สัดส่วนของเชื้อทั้งสอง เนื่องจาก *L. bulgaricus* มีความสามารถสลายโปรตีนได้ดีกว่า *S. thermophilus* ดังนั้นถ้าหากสัดส่วนของ rod มีมากกว่าของ cocci ก็จะทำให้ได้กรดอะมิโนที่มีปริมาณสูงตามไปด้วย

4. สภาพของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ อุณหภูมิของการเก็บถ้ายิ่งสูง เช่น เก็บโยเกิร์ตไว้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส จะปรากฏว่ามีกรดอะมิโนสูงกว่าการเก็บโยเกิร์ตไว้ในที่เย็น เช่น ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

5. ระดับของกรดแลคติก โยเกิร์ตที่มีเปอร์เซ็นต์ของกรดแลคติกสูงจะมีปริมาณของกรดอะ-มิโนสูงตามไปด้วย

<u>เมทาบอลิซึมของไขมัน</u>

การเปลี่ยนแปลงไขมันในโยเกิร์ต จะเกิดขึ้นมากหรือน้อยนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายชนิด เช่น ระดับของไขมันนม และการโฮโมจิไนส์ เป็นต้น การไฮโดรไลส์ของไขมันโดยเชื้อโยเกิร์ตทั้ง 2 ชนิดเกิดขึ้นในขอบเขตจำกัด และมีปริมาณไม่แน่นอน

เชื้อโยเกิร์ตมีความสามารถย่อยสลายไขมันได้เพียงเล็กน้อย กรดไขมันอิสระที่ตรวจพบในโยเกิร์ตนั้นไม่ได้เกิดจากการไฮโดรไลส์ของไขมัน แต่อาจเกิดจากการออกซิไดซ์ส่วนของกรดอะมิ-โน ดังนั้น จึงเป็นการยากมากในการศึกษาความสามารถของเอนไซม์ lipase ในโยเกิร์ต

<u>เมตาโบลิซึมของวิตามิน</u>

การเปลี่ยนแปลงวิตามินมีทั้งการเพิ่มปริมาณและลดปริมาณแตกต่างกันไปคือ

1. วิตามินส่วนที่ลดปริมาณลง มีวิตามินบางชนิดที่ถูกออกซิไดซ์ได้ง่าย รวมทั้งการใช้ความร้อนที่สูงในการต้มน้ำนม จึงทำให้ไวตามิน ซี บี6 บี12 และกรดโฟลิกลดลงและในระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิต่ำเป็นเวลานานหลายวัน ไวตามินหลายชนิดจะลดปริมาณลงคือ กรดโฟลิก ไนอาซีน บี12 ไบโอติน แพนโททีนิก แอซิด ( Deeth และ Tamime,1981)

2. วิตามินส่วนที่เพิ่มปริมาณ ในระหว่างการบ่มจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด สามารถสังเคราะห์วิตามินบางชนิดคือ กรดโฟลิก และไนอะซิน เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นจึงยังไม่เป็นที่แน่ชัดว่า โยเกิร์ตจะมีวิตามินสูงกว่าน้ำนมสดหรือไม่ ซึ่ง Deeth และ Tamime (1981) ได้เปรียบเทียบวิตามินในน้ำนมสดและในโยเกิร์ตไว้ ดังแสดงในตารางที่ 3

คุณค่าทางอาหารของโยเกิร์ต

น้ำนมโคจัดว่าเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางอาหารสูง เพราะว่ามีสารอาหารที่ร่างกายของมนุษย์มีความจำเป็นอยู่เกือบจะสมบูรณ์ ยกเว้นการขาดแคลนธาตุเหล็กและวิตามินซีของน้ำนมโค แต่เมื่อนำมาทำโยเกิร์ตจะปรากฏว่าคุณค่าทางอาหารของโยเกิร์ตจะมีสูงกว่าน้ำนมโค ดังแสดงในตารางที่ 4 ( Deeth และ Tamime,1981)

**ตารางที่ 2 ปริมาณของวิตามินในน้ำนมสดและโยเกิร์ต**

| วิตามิน (ยูนิต/100 ก) | น้ำนมสด | | โยเกิร์ต | |
|---|---|---|---|---|
| | น้ำนมไขมันเต็ม | หางนม | ไขมันเต็ม | ไขมันต่ำ |
| วิตามิน เอ (ยูนิต) | 148.0 | - | 140.00 | 70.00 |
| ไทอะมีน (ไมโครกรัม) | 37.0 | 40.00 | 30.00 | 42.00 |
| ไรโบฟลาวิน (ไมโครกรัม) | 160.0 | 180.00 | 190.00 | 200.00 |
| ไพริดอกซิน (ไมโครกรัม) | 46.0 | 42.00 | 46.00 | 46.00 |
| วิตามินบี 12 (ไมโครกรัม) | 0.39 | 0.40 | - | 0.23 |
| วิตามินซี (มิลลิกรัม) | 1.50 | 1.00 | - | 0.70 |
| วิตามินดี (ยูนิต) | 1.20 | - | - | - |
| วิตามินอี (ยูนิต) | 0.13 | - | - | - |
| กรดโฟลิก (ไมโครกรัม) | 0.25 | - | - | 4.10 |
| กรดนิโคทินิก (ไมโครกรัม) | 480.00 | - | - | 125.00 |
| กรดแพนโททีนิก (ไมโครกรัม) | 371.00 | 370.00 | - | 381.00 |
| ไบโอติน (ไมโครกรัม) | 3.40 | 1.60 | 1.20 | 2.60 |
| โคลีน (มิลลิกรัม) | 12.10 | 4.80 | - | 0.60 |

ที่มา: Deeth และ Tamime (1981)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ใช้งานได้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 3 ส่วนประกอบของน้ำนมสดและโยเกิร์ต**

| วิตามิน (ยูนิต/100 กรัม) | น้ำนมสด | | โยเกิร์ต | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | น้ำนมไขมันเต็ม | หางนม | ไขมันเต็ม | ไขมันต่ำ | ผสมผลไม้ |
| แคลอรี่ | 67.50 | 36.00 | 72.00 | 64.00 | 98.00 |
| โปรตีน (กรัม) | 3.50 | 3.30 | 3.90 | 4.50 | 5.00 |
| ไขมัน (กรัม) | 4.25 | 0.13 | 3.40 | 1.60 | 1.25 |
| คาร์โบไฮเดรต (กรัม) | 4.75 | 5.10 | 4.90 | 6.50 | 18.60 |
| แคลเซียม (มิลลิกรัม) | 119.00 | 121.00 | 145.00 | 150.00 | 176.00 |
| ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม) | 94.00 | 95.00 | 114.00 | 118.00 | 153.00 |
| โซเดียม (มิลลิกรัม) | 50.00 | 52.00 | 47.00 | 51.00 | - |
| โพแทสเซียม (มิลลิกรัม) | 152.00 | 152.00 | 186.00 | 192.00 | 254.00 |

ที่มา : Deeth และ Tamime (1981)

<u>คุณค่าทางอาหารของคาร์โบไฮเดรต</u>

คาร์โบไฮเดรตในโยเกิร์ตจะมีอยู่ด้วยกัน 2 รูป คือ คาร์โบไฮเดรตที่ร่างกายย่อยได้กับย่อยไม่ได้ ในกรณีที่เป็นโยเกิร์ตที่ไม่ได้ปรุงแต่งสี กลิ่น และรสนั้นจะปรากฏว่ามีคาร์โบไฮเดรตที่ร่าง-กายย่อยได้ ซึ่งอยู่ในรูปของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และน้ำตาลโมเลกุลคู่อยู่น้อยมาก แต่หลังการหมักจะมีแลคโตสอยู่ในปริมาณที่มากพอสมควร โดยจะพบราว ๆ ร้อยละ 4 – 5 ( Tamime,1977) เพราะในการทำโยเกิร์ตนั้นจะมีการเติมหางนมผง เพื่อเพิ่มปริมาณธาตุน้ำนมให้อยู่ในระดับร้อยละ 14 – 16 ทำให้ปริมาณของแลคโตสสูงตามไปด้วย แต่ภายหลังการหมักจุลินทรีย์ได้ใช้แลคโตสบางส่วนไปในการเปลี่ยนเป็นกรดแลคติก จึงทำให้ปริมาณของแลคโตสเหลืออยู่ใกล้เคียงกับน้ำนมสด ซึ่งเมื่อบริโภคแล้ว จะถูกแลคเตสในลำไส้เล็กทำการย่อย สำหรับผู้บริโภคซึ่งขาดน้ำย่อยแลคเตสมาตั้งแต่กำเนิด หรือไม่ได้ดื่มน้ำนมสดมาเป็นเวลานาน ๆ จนต่อมสร้างแลคเตสฝ่อหายไป เมื่อดื่มนมสดอาจเป็นโรคแพ้น้ำตาลนมได้ แต่เมื่อบริโภคโยเกิร์ตอาการแพ้น้ำตาลนมจะไม่เกิดขึ้นเลย ทั้งนี้เนื่องมาจากสาเหตุ 2 ประการคือ

1. จุลินทรีย์ในโยเกิร์ตจะยังคงทำหน้าที่ในการย่อยแลคโตสต่อไปอีก หลังจากบริโภคแล้วทำให้ปริมาณของแลคโตสมีเหลืออยู่น้อยมาก เมื่อเข้าไปถึงส่วนของลำไส้เล็ก

2. หลังจากที่บริโภคแล้ว ลักษณะของเคิร์ดยังคงมีอยู่อย่างสมบูรณ์ ทำให้การกระจายตัวของแลคโตสเข้าสู่ผนังลำไส้เล็กเป็นไปอย่างช้า ๆ ผลเสียหายที่จะเกิดจากการย่อยแลคโตส จึงไม่เกิดขึ้นรุนแรงมากนัก

ด้วยเหตุผลดังกล่าว โยเกิร์ตจึงเป็นอาหารนมที่เหมาะสมกับผู้บริโภคที่เป็นโรคแพ้น้ำตาลนม ( lactose- intolerance)

สำหรับคาร์โบไฮเดรตที่อยู่ในรูปที่ร่างกายไม่สามารถย่อยได้ ได้แก่ พวก stabilizer ซึ่งเติมลงไปในโยเกิร์ตชนิดกวน ( stirred yogurt ) เพื่อป้องกันการแยกตัวของเวย์ ( whey ) stabilizer ที่ใช้กันอยู่เป็นพวกคอมเพล็กซ์คาร์โบไฮเดรต เช่น guar gum, locust-bean gum, pectin, carrageenans เป็นต้น โดย stabilizer ในโยเกิร์ตจะเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคในแง่อื่น ๆ คือ

1. ทำหน้าที่เป็น bulking agent ในลำไส้เล็ก โดยจะกระตุ้นให้ลำไส้เล็กมีการบีบหดตัว

2. ช่วยดูดซับสารพิษบางอย่าง ที่อาจเกิดมีขึ้นจากการทำงาน ของจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่

3. ช่วยลดการกระจายตัวของแลคโตส ไม่ให้เข้าสู่ผนังลำไส้เล็กเร็วเกินไป ช่วยลดปัญหาของผู้บริโภคที่เป็นโรคแพ้น้ำตาลนม ( lactose-intolerance ) หรือผู้ป่วยที่เป็นโรคน้ำตาลในเลือดสูงหลังการรับประทานอาหารต่ำ

<u>คุณค่าทางอาหารของโปรตีน</u>

โปรตีนของนมจัดเป็นโปรตีนที่มีคุณค่าทางชีวภาพมากทั้ง casein และ whey protein โดยจะให้กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายได้อย่างสมบูรณ์ ดังตารางที่ 5 ที่ Tamime และ Deeth (1981) ได้รวบรวมไว้

ในการทำโยเกิร์ตนั้น จะมีการเติมหางนมผง เพื่อเพิ่มปริมาณธาตุน้ำนมทั้งหมดให้มากขึ้น จึงมีผลทำให้ระดับของโปรตีนมีมากกว่าในน้ำนมสด ดังนั้นการบริโภคโยเกิร์ตเพียงวันละ 200-250 มิลลิลิตร ก็จะสามารถทำให้ร่างกายได้รับโปรตีนจากสัตว์ในระดับต่ำสุดของความต้องการของร่างกายแล้ว นอกจากนี้โปรตีนในโยเกิร์ตก็จัดว่าเป็นจำพวกโปรตีนที่ย่อยได้ทั้งหมด ( totally digestible protein ) อันเนื่องมาจากการย่อยของจุลินทรีย์ และยังอยู่ในรูปที่เป็นเคิร์ด ทำให้การเคลื่อนที่ผ่านระบบทางเดินอาหารเป็นไปอย่างช้า ๆ ทำให้การย่อยและการดูดซึมมีประสิทธิภาพยิ่งขึ้น ทำให้ร่างกายได้รับประโยชน์มากขึ้น เมื่อเทียบกับการดื่มน้ำนมสด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>คุณค่าทางอาหารของไขมัน</u>

ไขมันในนมเป็นอาหารที่ให้พลังงานสูง เช่นเดียวกับไขมันจากแหล่งอื่น ๆ แต่ไขมันนมยังมีกรดลิโนเลอิก ( linoleic acid ) ซึ่งจัดเป็นกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย มีอยู่เป็นจำนวนมาก อีกทั้งไขมันนมยังเป็นแหล่งของวิตามิน เอ ดี อี และ เค และยังเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของโยเกิร์ตทำให้มีรสชาติอร่อยกลมกล่อม

**2.4 จุลินทรีย์โพรไบโอติกและประโยชน์ที่ได้รับจากจุลินทรีย์โพรไบโอติก**

จุลินทรีย์โพรไบโอติก

จุลินทรีย์โพรไบโอติกเริ่มเป็นที่รู้จักตั้งแต่การนำแลคติกแอซิดแบคทีเรียมาใช้ในการผลิตอาหารหมัก เช่น โยเกิร์ต แต่เนื่องจากแบคทีเรียกลุ่มนี้ไม่สามารถมีชีวิตรอดได้ในระบบทางเดินอาหาร ดังนั้นจึงได้มีการนำแบคทีเรียโพรไบโอติกมาเป็นส่วนหนึ่งในการผลิตโยเกิร์ตด้วย ซึ่งก็ได้แก่ เชื้อ *Lactobacillus acidophilus* และ bifidobacteria โดยผลิตภัณฑ์อาหารที่มีจุลินทรีย์โพรไบโอติกอยู่ด้วยนั้นถูกจัดว่าเป็นอาหารที่ประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่มีชีวิต ที่สามารถช่วยให้ผู้บริโภคมีสุขภาพดีขึ้น โดยจุลินทรีย์โพรไบโอติกสามารถปรับสมดุลของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในลำไส้ให้อยู่ในจำนวนที่เพียงพอ (Fuller,1986)

จุลินทรีย์โพรไบโอติกมีลักษณะเป็นรูปท่อน สามารถรอดชีวิตและเจริญในระบบทางเดินอาหารได้ เป็นแหล่งเอนไซม์ที่ช่วยย่อยน้ำตาลแลคโตส เช่น เอนไซม์ β-galactosidase และคุณค่าของสารอาหารจากน้ำนมได้มาจากการหมักด้วยจุลินทรีย์โพรไบโอติก (Hargrove และ Alfrod, 1980) นอกจากนี้ปริมาณของจุลินทรีย์โพรไบโอติกเป็นดัชนีบ่งบอกถึงสุขภาพของคนว่ามีสุขภาพดีหรือไม่ (Mitsuoka, 1977;Lee และ Salminen, 1995)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4 กรดอะมิโนอิสระ (มก./100 มล.) ของน้ำนมสดและโยเกิร์ต**

| กรดอะมิโน | วัว | | แพะ | | แกะ | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | น้ำนม | โยเกิร์ต | น้ำนม | โยเกิร์ต | น้ำนม | โยเกิร์ต |
| อะลานีน | .16-.64 | 1.17-3.8 | 1.33 | 3.83 | 0.56 | 1.30 |
| อาร์จีนีน | .15-.96 | .70-1.39 | 0.40 | 0.67 | 0.26 | 0.85 |
| กรดแอสพาติก | .29-.52 | .70-1.2 | 0.22 | 1.37 | 0.18 | 1.75 |
| ไกลซีน | .30-.53 | .28-.45 | 5.91 | 6.06 | 0.15 | 0.25 |
| กรดกลูตามิค | 1.48-3.9 | 4.8-7.06 | 3.54 | 3.78 | 1.08 | 4.10 |
| ฮิสทีดีน | .11 | .08-1.7 | 0.45 | 1.28 | 0.10 | 0.50 |
| ไอโซลิวซีน | .06-.15 | .15-.40 | 0.10 | 0.43 | 0.06 | 0.25 |
| ลิวซีน | .06-.26 | .70-1.82 | 0.21 | 1.25 | 0.23 | 0.45 |
| ไลซีน | .22-.94 | .80-1.11 | 0.60 | 2.35 | 0.13 | 0.72 |
| เมทไธโอนีน | .05 | .08-.20 | 0.10 | 0.35 | 0.05 | 0.15 |
| ฟีนิลอะลานีน | .05-.13 | .17-.61 | 0.11 | 0.35 | 0.08 | 0.15 |
| โพรลีน | .12 | 5.4-7.05 | 0.65 | 4.35 | 0.11 | 4.30 |
| เซรีน | .08-1.35 | 1.5-2.9 | 3.05 | 3.51 | 0.20 | 2.00 |
| ทรีโอนีน | .05-.26 | .24-.70 | 3.34 | 2.80 | 0.13 | 0.55 |
| ทริปโตเฟน | Trace | .2 | ไม่มีรายงาน | ไม่มีรายงาน | ไม่มีรายงาน | ไม่มีรายงาน |
| ไทโรซีน | .06-.14 | .18-.61 | 0.30 | 0.60 | 0.16 | 0.24 |
| วาลีน | .10-.25 | .90-1.86 | 0.30 | 0.50 | 0.24 | 0.90 |
| รวม | 3.29-10.31 | 18.77-33.06 | 20.60 | 33.48 | 3.78 | 18.46 |

ที่มา : Tamine และ Deeth (1981)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จุลินทรีย์โพรไบโอติก เช่น *Bifidobacterium bifidum, B. longum, B. infantis, B. breve, Lactobacillus casei, Lb. acidophilus, Streptococcus durans* และ *Pediococcus acidilaclici* (Hull และคณะ, 1992;Smith, 1991;Smith และคณะ, 1991) ซึ่งจะต่างจากจุลินทรีย์โยเกิร์ต (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* และ *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus)* ตรงที่จุลินทรีย์โพรไบโอติกสามารถเจริญในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ได้แต่จุลินทรีย์โยเกิร์ตไม่สามารถเจริญได้ (Varnam และ Sutherland, 1994)

จุลินทรีย์โพรไบโอติกหลายสายพันธุ์ที่ถูกคัดเลือก และนำมาศึกษา รวมทั้งนำไปใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์นมหมักต่าง ๆ ในระดับอุตสาหกรรม ดังแสดงในตารางที่ 5

**2.5 ผลิตภัณฑ์นมหมักที่ใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในการผลิต**

ผลิตภัณฑ์นมหมักนี้ จะหมักด้วยจุลินทรีย์ *L. acidophilus* และ/หรือ*Bifid bacterium sp.* ร่วมกับ *S. thermophilus* ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตชนิดใหม่นี้ได้แก่ ไบโอเกิร์ต (Bioghurt) ไบโอการ์ด (Biogarde) และคัลเจอร์ร่า (Cultura) เป็นต้น การที่นำเอา *S. thermophilus* มาใช้ร่วมด้วย เนื่องจากจุลินทรีย์ชนิดนี้สามารถปรับตัวได้ดีในน้ำนม และหมักแลคโตสเป็นกรดแลคติกได้อย่างรวดเร็วซึ่งจะช่วยลดเวลาที่ต้องใช้ในการทำให้เกิดการหมักอย่างสมบูรณ์ รายละเอียดของผลิตภัณฑ์แต่ละชนิดมีดังนี้

1. <u>ไบโอเกิร์ต (Bioghurt)</u>

ไบโอเกิร์ต เป็นผลิตภัณฑ์ที่ผลิตขึ้นจากการหมักน้ำนมด้วย *L. acidophilus* และ *S. thermophilus* บางครั้งอาจเติม *L. bulgaricus* ด้วย เพื่อเร่งการสร้างกรด กรรมวิธีการผลิตไบโอ - เกิร์ตจะเหมือนกับการผลิตโยเกิร์ตทุกประการ แต่จะแตกต่างกันเฉพาะชนิดของจุลินทรีย์สตาร์ต- เตอร์ที่ใช้เท่านั้น (Oberman, 1985)

2. <u>ไบโอการ์ด (Biogarde)</u>

ไบโอการ์ดเป็นผลิตภัณฑ์นมหมักที่มีคุณลักษณะทางกายภาพคล้ายโยเกิร์ตเช่นเดียวกับไบ- โอเกิร์ต แต่จะหมักด้วยจุลินทรีย์ที่แตกต่างกัน คือใช้ *L. acidophilus, B .bifidum* และ *S. thermophilus* สำหรับปริมาณของจุลินทรีย์สตาร์ตเตอร์ที่ใช้นั้นค่อนข้างมาก โดยใช้ประมาณ 10-20% ทั้งนี้เพื่อให้มีปริมาณเซลล์สูงในผลิตภัณฑ์ คือ ประมาณ $10^6$-$10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และเพื่อให้ใช้เวลาในการหมักลดลง ซึ่งในการผลิตไบโอการ์ด ปกติไม่ต้องการให้มีกรดสูงเกินไป เนื่องจากต้องการให้มีเซลล์ที่รอดชีวิตเหลืออยู่มาก เพราะทั้ง *L. acidophilus* และ *B. bifidum* ไม่ทนต่อสภาพที่มีกรดสูง ดังนั้นไบโอการ์ดที่ผลิตได้จึงมี pH สูงประมาณ 4.6 (Robinson และ Tamine, 1990)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 5 สายพันธุ์ของจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ใช้ในโรงงานอุตสาหกรรม**

| สายพันธุ์จุลินทรีย์โพรไบโอติก | แหล่งที่ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์นมหมัก |
|---|---|
| *Lactobacillus acidophilus* NCFM[R] | Rhodia, Inc.(Madison,Wis) |
| *L. acidophilus* DDS-1 | Nebraska Cultures,Inc.(Lincoln,Neb.) |
| *L. acidophilus* SBT-2062 | Snow Brand Milk Products Co.,Ltd. (Tokyo, Japan) |
| *L. acidophilus* LA-1(เหมือนสายพันธุ์ LA-5 ที่ขายในยุโรป) | Chr.Hansen,Inc.(Milwaukee,Wis) |
| *Lactobacillus casei* Shirota | Yakult (Tokyo, Japan) |
| *L. casei* Immunitas | Danone (paris,France) |
| *Lactobacillus fermantum* RC-14 | Urex Biotech (London,Ontario,Canada) |
| *Lactobacillus johnsonii* La1(เหมือนสายพันธุ์ Lj1) | Nestlé (Lausanne,Swizerland) |
| *Lactobacillus paracasei* CRL431 | Chr.Hansen,Inc.(Milwaukee,Wis) |
| *Lactobacillus plantarum* 299V | Probi AB (Lund,Sweden) |
| *Lactobacillus reuteri* SD2112(เหมือนสายพันธุ์ MM2) | Biogaia (Raleigh,N.C.) |
| *Lactobacillus rhamnosus* GG | Valio Dairy (Helsinki,Finland) |
| *L. rhamnosus* GR-1 | Urex Biotech (London,Ontario,Canada) |
| *L. rhamnosus* 271 | Probi AB (Lund,Sweden) |
| *L. rhamnosus* LB21 | Essum AB (Umeå,Sweden) |
| *Lactobacillus salivarius* UCC118 | University College (Cork,Ireland) |
| *Lactobacillus lactis* L1A | Essum AB (Umeå,Sweden) |
| *Bifidobacterium lactis* Bb-12 | Chr.Hansen,Inc.(Milwaukee,Wis) |
| *Bifidobacterium longum* BB536 | Motinage Milk Industry Co.,Ltd.(Zama-City,Japan) |
| *B.longum* SBT-2928 | Snow Brand Milk Products Co.,Ltd. (Tokyo, Japan) |
| *Bifidobacterium breve* strain Yakult | Yakult (Tokyo, Japan) |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ที่มา : Yeung (1999)

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. คัลเจอร์ร่า (Cultura)

คัลเจอร์ร่าเป็นผลิตภัณฑ์นมหมักที่มีลักษณะคล้ายโยเกิร์ต ผลิตจากน้ำนมที่มีการเพิ่มปริมาณโปรตีนให้ได้ 3.8 – 3.9 % โดยนำน้ำนมมาผ่านความร้อน เช่นเดียวกับการผลิตโยเกิร์ต จากนั้นทำให้เย็นแล้วเติมจุลินทรีย์สตาร์ตเตอร์ 2 ชนิด คือ *L. acidophilus* และ *B. bifidum* หมักที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง อาจถึง 18 ชั่วโมง ถ้าหากใช้สตาร์ตเตอร์สำเร็จในรูปฟรีสดรายชนิดที่ใช้เติมลงในถังหมักโดยตรง (freeze-dried direct-vat-set culture) pH ของผลิตภัณฑ์จะต่ำถึง 4.1 – 4.2 เมื่อสิ้นสุดการหมักคาดว่าในผลิตภัณฑ์จะมีจำนวนเซลล์ของ *L. acidophilus* ตั้งแต่ 2.0 X $10^8$ ถึง 4.0 X $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และมีจำนวนเซลล์ของ *B. bifidum* ตั้งแต่ 1.0 X $10^8$ ถึง 2.0 X $10^8$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร (Robinson และ Tamine,1990)

4. ยาคูลท์ (Yakult)

ยาคูลท์เป็นน้ำนมเปรี้ยวที่ผลิตขึ้นจากการหมักน้ำนมด้วย *L. casei* ssp. *casei* ยาคูลท์มีปริมาณของแข็งต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์นมหมักชนิดอื่น โดยมีไขมัน 1.1% โปรตีน 1.2% และแลคโตส 1.1% จากสรรพคุณในด้านที่ให้ประโยชน์ต่อร่างกาย จึงทำให้มีผู้นิยมดื่มยาคูลท์มากโดยเฉพาะในประเทศญี่ปุ่น นอกจากนี้ยังมีผลิตภัณฑ์อีกชนิดหนึ่งที่มีลักษณะคล้ายยาคูลท์ คือ ยาคูลท์ มิรู-มิรู เป็นนมเปรี้ยวที่มีส่วนประกอบใกล้เคียงน้ำนมโค คือ มีไขมัน 3.1% โปรตีน 3.1% แลคโตส 4.5% และมีแซคคาไรด์ชนิดอื่น ประมาณ 6.1% จุลินทรีย์ที่ใช้ผลิตยาคูลท์ มิรู-มิรู เป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย ได้แก่ *B. bifidum*, *B. breve*, *L. acidophilus* และ *L. casei* ssp. *casei* (Robinson และ Tamine, 1990)

**2.6 คุณลักษณะของจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ใช้ในการผลิตโยเกิร์ต**

1.ลักษณะของเชื้อ Bifidobacteria

Bifidobacteria ถูกค้นพบครั้งแรกในปีค.ศ.1900 ในอุจจาระของเด็กทารก โดย Henry Tissier แล้วได้ตั้งชื่อเรียกว่า *Bacillus bifidus communis Bifidobacterium* เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปแท่งมีลักษณะโค้งงอ จัดอยู่ในแฟมิลี Actinomycetaceae เจริญได้บนอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์ โคโลนีมีผิวหน้าเกลี้ยงนูน โค้ง ขอบเรียบ ไม่เว้า ไม่สร้างสปอร์ มีรูปร่างหลายแบบมีลักษณะเป็นกิ่งก้านสาขา ไม่ต่อกันเป็นสายยาว เป็นแท่งยาวสั้นคล้ายตัว Y หรือตัว X หรือตัว V ขึ้นกับองค์ประกอบของอาหารที่ใช้ สายพันธุ์ที่แยกได้จากมนุษย์เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 41 – 43 องศาเซลเซียส และอาจสูงถึง 46 องศาเซลเซียส โดยจะไม่เจริญที่อุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส และไม่ทนต่ออุณหภูมิที่สูงกว่า 46 องศาเซลเซียส ส่วนพีเอชที่เหมาะสมในการเจริญเริ่มต้นอยู่ระหว่าง 6.5 – 7.0 และไม่เจริญที่พีเอชต่ำกว่า 5 หรือสูงกว่า 8.0 (Scardovi,1924;Sgorbati และคณะ,1995)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อ Bifidobacteria พบได้ในน้ำลาย กระเพาะอาหาร ลำไส้เล็ก และลำไส้ใหญ่ ปกติกระเพาะอาหารเป็นแหล่งปลอดเชื้อ หรือมีจุลินทรีย์เพียงปริมาณน้อย เนื่องจากในกระเพาะอาหารมีสภาวะเป็นกรดสูงมาก ซึ่งจะทำให้แบคทีเรียอื่นไม่สามารถมีชีวิตรอดผ่านไปยังลำไส้เล็กได้ แต่ bifidobacteria สามารถทนต่อสภาวะนั้นผ่านไปยังลำไส้เล็ก และทนต่อสภาวะที่เป็นด่างสูงในอุจจาระ 30 – 50 % จะพบ Bifidobacteria เป็นอันดับ 4 รองจาก Bacteriodaceae, Eubacteria และ Peptostreptococcaceae ตามลำดับ (Berrada และคณะ,1991;Mitsuoka,1992)

เชื้อบิฟิโดแบคทีเรียที่พบในลำไส้ของคนได้แก่ *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. breve*, *B. longum*, *B. adolescentis*, *B. angulatum*, *B. catenulatum* และ *B. pseudocatenulum* (Hughes และ Hoover,1991) ส่วนชนิดที่ได้มีผู้นำไปใช้เป็นสตาร์ตเตอร์ในการผลิตผลิตภัณฑ์นมหมัก ได้แก่ *B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis* และ *B. breve* อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์เหล่านี้อยู่ในช่วง 37 – 41 องศาเซลเซียส ต้องการสภาพที่ไม่มีอากาศในการเจริญผลิตภัณฑ์นมหมักที่ผลิตโดยใช้บิฟิโดแบคทีเรีย จะมีกลิ่นรสที่แตกต่างจากผลิตภัณฑ์นมหมักชนิดอื่น คือ จะมีกลิ่นรสของน้ำส้มสายชู เนื่องจากการผลิตอะซิเตทและแลคเตทจากเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต (Robinson และ Tamine,1990)

2. <u>ลักษณะของเชื้อ *Lactobacilli*</u>

*Lactobacillus acidophilus* เป็นจุลินทรีย์แกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ ผนังเซลล์หนาประกอบด้วยชั้นของเปปติโดไกลแคน เซลล์มีลักษณะเป็นแท่งสั้น ๆ ที่ปลายโค้ง และโดยมากมีลักษณะเป็นโซ่สั้น ๆ หรืออยู่เป็นเซลล์คู่ ส่วนที่ติดกับผนังเซลล์ของ *L. acidophilus* เป็นกรดกลีเซอรอล ไคโค - อิค (glycerol teichoic acids) มีมีโซโซม ( mesosomes) พบอยู่ในส่วนของไซโตพลาสมิด เห็นได้โดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน

*Lactobacillus acidophilus* เป็นจุลินทรีย์ที่มีความจำเพาะต่ออาหารต้องการสารอาหารที่ซับซ้อนในการเจริญเติบโต เป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศเพียงเล็กน้อยในการเจริญ ค่าพีเอชที่เหมาะสมของอาหารอยู่ที่ 6.4 – 4.5 อุณหภูมิที่เจริญได้ดีที่สุดคือ 45 องศาเซลเซียส เจริญได้บนอาหาร MRS โคโลนีที่ขึ้นมีขนาดเล็กประมาณ 2 – 5 มิลลิเมตร มีลักษณะเรียบสะท้อนแสงเป็นมัน

*Lactobacillus acidophilus* อาศัยอยู่ในลำไส้เล็ก และลำไส้ใหญ่ของมนุษย์ นอกจากนี้ยังพบได้ในช่องปาก และช่องคลอดของสตรี สามารถเจริญได้ทั้งในสภาพที่มีและไม่มีออกซิเจน (facultative anaerobe) ผลิตกรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์หลักจากการใช้สารอาหารพวกคาร์โบไฮเดรต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ประโยชน์ของจุลินทรีย์โพรไบโอติก</u>

สายพันธุ์ของ Lactobacilli และ Bifidobacteria สามารถต่อต้านสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคได้ เช่น เชื้อ *E. coli* โดยแบคทีเรียโพรไบโอติกจะสร้างกรดอินทรีย์ และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ไปยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคในลำไส้ พวก *coliform,enterococci* และ *Clostridia* เช่น *Salmonella, Shigella, Clostridium, Bacillus cereus, Staphylococcus aureus* และ *Candida albicans* (Tomoda และคณะ,1988) จากการแข่งขันกับแบคทีเรียอื่น ๆ ในการแย่งอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญ และสามารถผลิตแบคทีริโอซิน (bacteriocin) มีฤทธิ์ไปยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหาร สามารถป้องกันการเกาะติด และเจริญของพวกจุลินทรีย์เหล่านี้ โดยจุลินทรีย์โพรไบโอติกจะไปเกาะอยู่ที่ผนังลำไส้ Watkins และคณะ (1982) ได้ทำการทดลองให้ไก่ที่เป็นโรคติดเชื้อในลำไส้บริโภคเซลล์ของ *L. acidophilus* พบว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติกจะช่วยควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรคพวก *Salmonella* และ *E. coli* ได้ มีการศึกษาในผู้สูงอายุก็พบว่า ช่วยรักษาโรคติดเชื้อได้หลายชนิดเช่นกัน (Gordon และคณะ1957) ในผู้สูงอายุจะมีปริมาณ *Bifidobacteria* น้อยกว่าในเด็ก มีการทดลองให้ผู้สูงอายุรับประทาน *Bifidobacteria* ที่มีชีวิตในปริมาณมาก เป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่า ปริมาณของ *Clostridium perfringen* ผลิตสารพิษพวกเอมีนจะมีปริมาณลดลง และมีปริมาณ *Bifidobacteria* เพิ่มมากขึ้น (Mitsuoka และคณะ,1989) ส่วนเชื้อ *L. acidophilus* จะสามารถยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคท้องร่วง และยังสามารถปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้หลังจากที่ได้ถูกทำลายไปขณะรับประทานยาปฏิชีวนะ นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าการบริโภคโยเกิร์ตชนิดเพลนโยเกิร์ต(plain yogurt) วันละ 1 ถ้วยติดต่อกันเป็นระยะเวลา 6 เดือนจะทำให้ลดการเกิดการติดเชื้อยีสต์ที่ช่องคลอดของสตรี

โพรไบโอติกสามารถถูกใช้ได้ในกรณีที่เชื้อประจำถิ่นของลำไส้ถูกรบกวนหรือไม่ทำงาน นอกจากนี้ยังสามารถช่วยส่งเสริมระบบการย่อยอาหารให้ดีขึ้น และป้องกันการเกิดแก๊ส ที่เป็นสาเหตุทำเกิดโรคท้องอืด และลมหายใจผิดปกติ ในกรณีที่ต้องใช้ยาปฏิชีวนะในการฆ่าเชื้อแบคทีเรีย จะทำให้แบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ถูกกำจัดไปด้วย ดังนั้นคนที่รับประทานยาปฏิชีวนะจะทำให้เกิดการติดเชื้อจากแบคทีเรียที่ลำไส้ได้ง่าย โดยเฉพาะยาปฏิชีวนะที่ใช้ในคนที่มีอาการท้องร่วง ดังนั้นแบคทีเรียโพรไบโอติกจึงถูกใช้เพื่อรักษาและลดอาการท้องร่วง ซึ่งพบว่าได้ผลดีในเด็ก การใช้แบคทีเรียโพรไบโอติกหลังจากการรักษาด้วยยาปฏิชีวนะจะทำให้มีการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์หลังจากที่โดนกำจัดไปโดยยาปฏิชีวนะ

จุลินทรีย์โพรไบโอติกจะช่วยเพิ่มความต้านทานของผู้อาศัย (host) ในกรณีติดเชื้อที่ก่อโรคในอาหารผ่านภูมิคุ้มกันของร่างกาย โดยการกระตุ้นการทำงานของฝาจขนาดใหญ่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(macrophage)เพื่อที่จะทำลายจุลินทรีย์ก่อโรค (phathogenic organism) ซึ่งจำเป็นในการควบคุมการเจ็บป่วยที่เกิดจากการบริโภคอาหาร

*Bifidobacterium* เป็นเชื้อที่ส่งเสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย โดยสามารถผลิตภูมิคุ้มกันต่อต้านการติดเชื้อจากไวรัสได้

*Lactobacillus plantarum* เป็นแบคทีเรียโพรไบโอติกที่สามารถลดอาการเจ็บป่วยในคนไข้ที่เป็นโรคลำไส้ โดยผู้ป่วยที่เป็นโรคนี้จะมีการผลิตแก๊สที่ลำไส้มาก สามารถลดอาการได้ด้วยแบคทีเรียที่ผลิตแก๊สไฮโดรเจนในลำไส้ได้

จุลินทรีย์โพรไบโอติกสามารถผลิตสารต้านทานการเกิดมะเร็งระหว่างกระบวนการหมักน้ำนม และต่อต้านสารก่อมะเร็ง Reddy และคณะ (1983) แสดงการบริโภคโยเกิร์ตที่มี Bifidobacteria ของหนู พบว่าสามารถยับยั้งการพัฒนาของเซลล์เนื้องอก (tumor cells) ได้ ทั้งนี้ขึ้นกับปริมาณจุ-ลินทรีย์ที่บริโภคเข้าไปด้วย นอกจากนี้ Bifidobacteria จะช่วยลดปริมาณของ nitrosoamines ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง (Hosono และคณะ,1990) เช่น *B. breve* ช่วยดูดซึมสารก่อมะเร็งที่เกิดจากอุปกรณ์ในการตัดเนื้อ (Mitsuoka และคณะ,1989)

จุลินทรีย์โพรไบโอติกมีคุณสมบัติใช้คอเลสเทอรอลในมนุษย์ ทำให้ระดับคอเลสเทอรอลในเส้นเลือดลดลง มีการศึกษาพบว่า *Lb. acidophilus* ที่เติมในนมผงของเด็กจะช่วยลดระดับคอเลส-เทอรอลของเด็กได้ (Harrison,1975) การทดลองในหมูก็เช่นเดียวกันพบว่า *L. acidophilus* ที่ผสมในอาหารหมูเพื่อบริโภคระหว่างการเจริญ จะทำให้คอเลสเทอรอลลดลง

Rasic และคณะ (1992) พบว่า *L. acidophilus* และ *B. bifidum* สามารถใช้ (assimilate) คอเลสเทอรอลได้มากกว่า *S. salivarius* subsp. *thermophilus* และ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ตามลำดับ

ในด้านของการเพิ่มคุณค่าสารอาหารในน้ำนม พบว่า Bifidobacteria จะสังเคราะห์วิตามิน thaimaine, riboflavin, pyridoxine, nicotinic acid, folic acid, panthothenic และ biotin

นอกจากนี้แบคทีเรียโพรไบโอติกได้ถูกนำไปวิจัยในด้านที่เป็นประโยชน์ต่าง ๆ ต่อสุขภาพและจากการวิจัยพบว่าสามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยน้ำตาลแลคโตสในน้ำนมได้ (lactose malabsorption หรือ lactose intolerance) เนื่องจากไม่มีเอนไซม์ β-galactosidase ดังนั้นเมื่อบริโภคน้ำนมจึงทำให้เกิดอาการท้องเสีย จุลินทรีย์โพรไบโอติกจะปล่อยเอนไซม์ β-galactosidase ไปช่วยย่อยน้ำตาลแลคโตสในน้ำนมภายในลำไส้เล็กแทน เมื่อจุลินทรีย์โพรไบโอติกเจริญในอาหารจะชัก-นำให้เกิดการสร้างเอนไซม์ภายในเซลล์สูง ซึ่งเป็นประโยชน์มากเมื่อรับประทานผลิตภัณฑ์ที่มีจุลินทรีย์โพรไบโอติกเข้าไป Fuller (1986) ได้กล่าวว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ดีควรมีลักษณะดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถอาศัยอยู่ในมนุษย์ และให้ประโยชน์กับบริเวณที่จุลินทรีย์อาศัยอยู่ แต่ต้องไม่ก่อให้เกิดโรค และไม่ผลิตสารพิษ มีเซลล์มีชีวิตอยู่เป็นจำนวนมากในผลิตภัณฑ์ สามารถมีชีวิตรอด และผลิตสารต่าง ๆ ได้ในลำไส้และระบบทางเดินอาหาร ยังคงมีชีวิตอยู่ได้ภายหลังการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ และสามารถทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคได้

<u>การมีชีวิตของจุลินทรีย์โพรไบโอติก</u>

การอยู่รอดของเชื้อ *L. acidophilus* และ *Bifidobacterium spp.*

ในผลิตภัณฑ์นมหมักควรมีจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่มีชีวิตอย่างน้อย $10^5$-$10^6$ เซลล์ต่อกรัม ซึ่งเมื่อบริโภคเข้าไปแล้วจะมีจุลินทรีย์เหลืออยู่รอดในระบบทางเดินอาหารลดลงอีก จากการศึกษาผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตจากหลายโรงงานที่ผลิตพบว่ามีจำนวนจุลินทรีย์โพรไบโอติกลดลง โดยเฉพาะเชื้อ bifidobacteria สาเหตุที่ทำให้จุลินทรีย์เหล่านี้ลดลงเนื่องมาจากกรดแลคติกที่จุลินทรีย์โยเกิร์ตผลิตระหว่างกระบวนการหมัก และระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ ค่าพีเอชเมื่อสิ้นสุดการผลิตควรอยู่ที่ 4.5 เพื่อคุณภาพของโยเกิร์ตที่ดี การมีชีวิตรอดของจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์จุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ใช้ในการผลิตรวมถึงปริมาณความเข้มข้นของกรดแลคติก กรดอะซีติกในผลิตภัณฑ์ และการผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

Dave และ Shah (1996) ได้ศึกษาถึงอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการเจริญและเพิ่มปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* และ Bifidobacteria คือ MRS agar และ MRS Maltose agar อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้นับจำนวนของ Bifidobacteria จะใช้ MRS-NNLP (Nalidixic, Neomycin sulphate, Lithium chloride และ Paromomycin sulphate) agar แต่ถ้าจะแยกความแตกต่างของ *L. acidophilus* และ Bifidobacteria ควรใช้อาหาร MRS-salicin agar หรือ MRS-sorbital agar

Medina และ Jordano (1994) ศึกษาการรอดชีวิตของ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus, Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* และ *Bifidobacterium* sp. ในน้ำนมหมักที่ผลิตในประเทศสเปน ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส หลังจากเก็บเป็นเวลา 10, 17, 24, 28, 31, 36, 42, 51 และ 84 วัน ปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นของ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus, Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* และ *Bifidobacterium* sp. เท่ากับ 2.6 X $10^8$, 5.1 X $10^7$ และ 7.4 X $10^6$ เซลล์ต่อกรัม ตามลำดับ หลังจากเก็บเป็นเวลา 24 วัน Streptococci ลดลงเพียง 10.7% ส่วน Lactobacilli และ Bifidobacteria ลดลงถึง 85.4 และ 92.6% ค่าพีเอชอยู่ในช่วง 4.57 ถึง 3.81

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hughes และ Hoover (1991) ศึกษาการรอดชีวิตของ *B. breve, B. bifidum, B. longum, B. angulatum* และ *L. acidophilus* รวมทั้งกิจกรรมของเอนไซม์ α – galactosidase และ β-galactosidase ภายใต้สภาวะการเก็บในตู้เย็น พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ Bifidobacteria จะทนต่อการเก็บที่อุณหภูมิต่ำได้น้อยกว่า *L. acidophilus*

Dave และ Shah (1997) ศึกษาผลของปริมาณจุลินทรีย์เริ่มต้นที่มีต่อการรอดชีวิตของแบคทีเรียโยเกิร์ต (*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* และ *S. salivarius* subsp. *thermophilus*) และแบคทีเรียโพรไบโอติก (*L. acidophilus* และ *Bifidobacterium* sp.) ระหว่างผลิตและเก็บที่อุณหภูมิต่ำ พบว่า *S. salivarius* subsp. *thermophilus* จะมีปริมาณคงที่มากกว่าหรือเท่ากับ $10^7$ เซลล์ต่อกรัม ส่วนเชื้อ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* มีอัตราการรอดชีวิตต่ำ น้อยกว่า $10^5$ เซลล์ต่อกรัม หลังจากเก็บเป็นเวลา 20 วัน *L. acidophilus* มีจำนวน $10^5$ เซลล์ต่อกรัม หลังจากเก็บเป็นเวลา 20 – 25 วัน ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นจะลดปริมาณลงอย่างรวดเร็ว *Bifidobacterium* sp. จะลดลงระหว่างกระบวนการผลิต มีอัตราการรอดชีวิตต่ำ ค่าพีเอชมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ด้วย

Ravula และ Shah (1998) ศึกษาการรอดชีวิตของจุลินทรีย์โยเกิร์ต (*L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* และ *S. salivarius* subsp. *thermophilus*) และแบคทีเรียโพรไบโอติก (*L. acidophilus* และ *Bifidobacterium* sp.) ใน fermented frozen dairy desserts โดยใช้สายพันธุ์ที่สามารถรอดชีวิตภายใต้สภาวะที่ถูกแช่แข็งที่อุณหภูมิ – 18 องศาเซลเซียส ในน้ำตาล 8 – 16% ในสภาวะที่เป็นกรดมาเป็นกล้าเชื้อในการหมัก เมื่อทำการทดลองหมัก fermented frozen dairy desserts พบว่า หลังแช่-แข็งเป็นเวลา 12 สัปดาห์ปริมาณจุลินทรีย์โยเกิร์ตลดลง 1 log cycle ส่วนปริมาณจุลินทรีย์โพรไบ-โอติกลดลง 5 - 6 log cycle

นอกจากนี้ยังพบว่าสารอาหารก็เป็นปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการมีชีวิตรอดของจุลินทรีย์โพร-ไบโอติกด้วย โดยเชื้อ bifidobacteria สามารถเจริญได้ดีในน้ำนมคนมากกว่าในน้ำนมวัว เนื่องจากในน้ำนมวัวขาด *N*-acetyl-D-glucosamone ซึ่งเป็นสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของเชื้อนี้ นอกจากนี้ lactulose (4-O-β-D-galactopyranosyl-D-fructose) ก็มีส่วนในการเจริญของเชื้อเช่นกัน ในน้ำนมวัวนั้นมีสารอาหารที่เชื้อ bifidobacteria ต้องการอยู่น้อยจึงมีศึกษาที่จะพยายามพัฒนาการเจริญของเชื้อ bifidobacteria ในน้ำนมวัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 3
# วิธีดำเนินการวิจัย

**อุปกรณ์**

1. วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ผลิตภัณฑ์นมหมักโพรไบโอติก น้ำนมพาสเจอไรส์ ถั่วเหลือง นมผงปราศจากไขมัน แลคโตส น้ำผึ้ง และโปรตีนจากถั่วเหลือง (Soy protein isolate ได้มาจากบริษัทวิคกี้ คอนโซลิเดท ประเทศไทย จำกัด) และเจลาติน

2. เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้คือ *Lactobacillus casei* ssp. *casei* BCC 4308, *Lactobacillus bulgaricus* TISTR 451, *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1034 , *Streptococcus thermophilus* BCC 5366 และ Rhizopus oligosporus TISTR 3001

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ และสารละลายที่ใช้ทำเจือจางได้แก่ deMan Rogosa Sharpe Medium (MRS), อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่เติม lactose 5% (MRSL) และสารละลายเปปโตน 0.1%

4. สารเคมีที่ใช้ ได้แก่ โซเดียมไฮโดรเจนคาร์บอเนต ($NaHCO_3$) แคลเซียมไฮดรอกไซด์ ($Ca(OH)_2$) แคลเซียมอะซิเตท ($CH_3COOCa$) กรดซัลฟิวริก ($H_2SO_4$) กรดบอริก ($H_3BO_3$) กรดแอซิติก กลูโคส เปปโตน โซเดียมอะซิเตท ($CH_3COONa$) แมกนีเซียมซัลเฟต -7 -ไฮเดรต ($MgSO_4.7H_2O$) แมงกานีส ( 2 )ซัลเฟต -4 -ไฮเดรท ($Mn_2SO_4.4H_2O$) เฟอร์รัสซัลเฟต - 7 - ไฮ-เดรท ($FeSO_4.7H_2O$) โซเดียมไฮดรอกไซด์ โปตัสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต ($C_8H_5KO_4$) โปตัส-เซียมโซเดียมทาร์เทรท ($C_4H_4KNaO_6$) โซเดียมซัลเฟตแอนไฮดรัส คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$) ซีลีเนียมไฮดรอกไซด์ ($SeO_2$) บรอมครีซอลกรีน เมทิลเรด เตตาร์ไฮเดรท เมธิลลีนบลู ซิงค์อะซิ-เตท โปตัสเซียมเฟอร์โรไซยาเนต โซเดียมไบคาร์บอเนต

5. เครื่องมือ ได้แก่ หม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) เครื่องมือวัดความเป็นกรดด่าง เครื่องปั่นน้ำผลไม้ (Blender) ตู้บ่มเชื้อ เทอร์โมมิเตอร์ แผ่นความร้อน ตู้อบลมร้อน ตู้ปลอดเชื้อ เครื่องตีปั่น (Stomacher) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ เครื่องปั่นเหวี่ยง และ เครื่องชั่งชนิดละเอียด

6. เครื่องแก้วพร้อมอุปกรณ์ที่จำเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**วิธีการทดลอง**

1.<u>การศึกษาการอยู่รอดของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์นมหมักโพรไบโอติกที่จำหน่ายในประเทศไทย</u>

1.1 การเก็บตัวอย่าง

ทำการเก็บตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมหมักโพรไบโอติก 2 ชนิด ที่จำหน่ายตามห้างสรรพ-สินค้าในกรุงเทพมหานคร ผลิตภัณฑ์ชนิดที่ 1 คือ โยเกิร์ตโพรไบโอติก (ผลิตภัณฑ์นมหมักโพร-ไบโอติก ก) และชนิดที่ 2 คือ นมเปรี้ยวโพรไบโอติก (ผลิตภัณฑ์นมหมักโพรไบโอติก ข) ผลิตภัณฑ์ทั้งสองชนิดนี้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีจุลินทรีย์โพรไบโอติกชนิดอื่นนอกเหนือจากจุลินทรีย์โย-เกิร์ตธรรมดา (*Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus*) เก็บรักษาตัวอย่างทั้งหมดไว้ที่อุณหภูมิ 4 ± 0.5 องศาเซลเซียส ในระหว่างการศึกษา สำหรับผลิตภัณฑ์นมหมักโพรไบ-โอติก ก เก็บไว้ 7 สัปดาห์ ส่วนผลิตภัณฑ์นมหมักโพรไบโอติก ข เก็บไว้ 9 วัน

1.2 การตรวจนับจำนวนแบคทีเรียแลคติกในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์

ในระหว่างการเก็บรักษา ทำการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์นม-หมักโพร ไบโอติก ก ทุกๆสัปดาห์ตั้งแต่ 3 สัปดาห์ก่อนวันหมดอายุจนกระทั่งถึง 3 สัปดาห์หลังวัน-หมดอายุ ส่วนผลิตภัณฑ์นมหมักโพรไบโอติก ข วิเคราะห์หาปริมาณแบคทีเรียแลคติกทุกๆ 2 วัน ตั้งแต่ 4 วันก่อนหมดอายุ จนกระทั่งถึง 4 วันหลังหมดอายุ ในการวิเคราะห์หาจำนวนแบคทีเรียแลคติกแต่ละครั้งทำการเจือจางตัวอย่างที่จะนำมาวิเคราะห์ด้วยสารละลายเปปโตน 0.1% เลือกระดับความเจือจางที่เหมาะสม ทำการตรวจนับเชื้อด้วยเทคนิคพอร์เพลต (pour plate technique) โดยใช้อาหาร MRSL บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสภาวะที่มีอากาศเล็กน้อยใน candle jar เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตรวจนับจำนวนโคโลนี ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

1.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำผลการทดลอง มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้ Analysis of Variance และ Duncan Multiple Range Test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. <u>การศึกษาผลของการเพิ่มสารอาหารที่เหมาะสมต่อการอยู่รอดของแบคทีเรียโพรไบโอ-ติกในการผลิตโยเกิร์ตโพรไบโอติก</u>

2.1 การคัดเลือกชนิดของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่เหมาะสมต่อการผลิตโยเกิร์ตโพร-ไบโอติก

ใช้แบคทีเรียโพรไบโอติก ได้แก่ *L. acidophilus* และ *L. casei* ร่วมกับแบคทีเรียที่ใช้ในการผลิตโยเกิร์ตโดยทั่วไป ได้แก่ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* โดยทำการผลิตกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกผสมทั้งหมด 4 ชุดด้วยกัน ซึ่งได้แก่ กล้าเชื้อผสม ก (*L. acidophilus* และ *S. thermophilus*) กล้าเชื้อผสม ข (*L. casei* และ *L. bulgaricus*) กล้าเชื้อผสม ค (*L. casei*, *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus*) และกล้าเชื้อผสม ง (*L. casei*, *L. acidophilus* และ *S. thermophilus*)

2.1.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียแลคติก

ทำการถ่ายเชื้อแบคทีเรียแลคติกทั้ง 4 ชนิด โดยถ่ายเชื้อแต่ละชนิดลงในอาหาร MRS slant นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อแต่ละชนิดลงในอาหารเหลว MRS นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที และล้างเซลล์ด้วยสารละลายเปปโตน 0.1% 2 ครั้ง เสร็จแล้วเติมสารละลายเปปโตน 0.1% ปริมาตร 10 มิลลิลิตรลงไป จะได้สารแขวนลอยของเซลล์แบคทีเรียแลคติกแต่ละชนิดซึ่งพร้อมที่จะนำไปผลิตเป็นกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกผสม ในขั้นตอนต่อไป

2.1.2 การผลิตกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกผสม

สำหรับการผลิตกล้าเชื้อผสม ก นั้น ได้เติมสารแขวนลอยของ *L. acidophilus* และ *S. thermophilus* อย่างละ 0.5 มิลลิลิตร ลงในน้ำนมที่ผ่านการพาสเจอไรส์ปริมาตร 4 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ส่วนกล้าเชื้อผสม ข กล้าเชื้อผสม ค และกล้าเชื้อผสม ง ทำเช่นเดียวกับการผลิตกล้าเชื้อผสม ก โดยใช้สารแขวนลอยของเซลล์แต่ละชนิดปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร

ทำการเตรียมน้ำนมพาสเจอไรส์ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ทั้งหมด 4 ฟลาสก์ จากนั้นจึงเติมกล้าเชื้อผสม ก, ข, ค และ ง ลงในน้ำนมพาสเจอไรส์แต่ละฟลาสก์ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการเปรียบเทียบลักษณะเนื้อสัมผัส กลิ่นและรสของกล้าเชื้อทั้ง 4 ตัวอย่าง คัดเลือกกล้าเชื้อที่มีลักษณะเนื้อสัมผัส กลิ่นและรสชาติที่ดีที่สุด เพื่อนำมาทดลองในขั้นต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การศึกษาผลของการเพิ่มสารอาหารที่ใช้ในการผลิตโยเกิร์ต

ในการศึกษาในครั้งนี้ได้ศึกษาการอยู่รอดของแบคทีเรียแลคติกในโยเกิร์ตที่ผลิตโดยใช้สารอาหารต่าง ๆ กัน โดยผลิตโยเกิร์ตจำนวน 4 ชุดซึ่งใช้วัตถุดิบต่างกัน ได้แก่ ชุดที่ 1 น้ำนม (ชุดควบคุม) ชุดที่ 2 น้ำนมผสมน้ำผึ้ง ชุดที่ 3 น้ำนมผสมโปรตีนจากถั่วเหลือง และชุดที่ 4 น้ำนมผสมเทมเป้ผง

2.2.1 การเตรียมกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกผสม

ได้ใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกผสมที่ได้คัดเลือกมาจากข้อ 2.1.2 โดยทำการเตรียมกล้าเชื้อด้วยวิธีการเช่นเดียวกันกับข้อ 2.1.1 และ 2.1.2

2.2.2 การผลิตโยเกิร์ตโพรไบโอติก

ทำการผลิตโยเกิร์ตทั้ง 4 ชุด นำน้ำนมพาสเจอไรส์ที่มีปริมาณไขมัน 4.15% และปริมาณของแข็งทั้งหมด 12.8% สำหรับโยเกิร์ตชุดที่ 1 เป็นชุดควบคุม ซึ่งทำมาจากน้ำนมพาสเจอไรส์อย่างเดียว โยเกิร์ตชุดที่ 2 ทำจากน้ำนมพาสเจอไรส์ผสมน้ำผึ้ง 5% โยเกิร์ตชุดที่ 3 ทำจากน้ำนมพาสเจอไรส์ผสมโปรตีนจากถั่วเหลือง (soy protein isolated) 1.5% และโยเกิร์ตชุดที่ 4 ทำจากน้ำนมพาสเจอไรส์ผสมเทมเป้ผง 1.5% ซึ่งผลิตโดยใช้เชื้อ *Rhizopus oligosporus* TISTR 3001 (ชุดที่ 4) ทำการปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดในนมผสมสารอาหารแต่ละชุดด้วยหางนมผงเพื่อให้ได้ปริมาณของแข็งทั้งหมด 16% จากนั้นผสมส่วนผสมทั้งหมดให้เป็นเนื้อเดียวกัน โดยนำไปตีปั่นด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้ เป็นเวลา 3 นาที นำไปให้ความร้อนที่ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิ 40 – 43 องศาเซลเซียส แล้วจึงเติมกล้าเชื้อโยเกิร์ตที่เตรียมไว้ลงไป 2% คนให้เข้ากัน นำไปบรรจุในภาชนะปิดฝา บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปเก็บในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน ทำการทดลองทั้งหมด 2 ซ้ำ

2.2.3 การตรวจสอบคุณสมบัติทางจุลชีววิทยาและทางเคมี

ทำการตรวจวัดพีเอช วัดปริมาณกรดทั้งหมดโดยคำนวณในรูปของกรดแลคติก ตามวิธีของ AOAC (1980) และวิเคราะห์หาปริมาณแบคทีเรียแลคติก ในระหว่างการหมักโยเกิร์ต และการเก็บรักษาที่เวลา 0, 0.5, 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน

2.2.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำผลการทดลองมาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยใช้ Analysis of Variance และ Duncan Multiple Range Test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 4
# ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

**การศึกษาการอยู่รอดของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์นมหมักโพรไบโอติกที่จำหน่ายในประเทศไทย**

จากการศึกษาการอยู่รอดของเชื้อแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตโพรไบโอติก(ผลิตภัณฑ์นมหมักโพรไบโอติก ก) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยทำการตรวจวิเคราะห์หาปริมาณแบคทีเรียแลคติกทั้งหมดทุกๆสัปดาห์ตั้งแต่ 3 สัปดาห์ก่อนวันหมดอายุจนกระทั่งถึง 3 สัปดาห์หลังวันหมดอายุ (ภาพที่ 2) พบว่าที่เวลา 3 สัปดาห์ และ 2 สัปดาห์ก่อนวันหมดอายุ มีจำนวนแบคทีเรียแลคติกเฉลี่ยอยู่ในผลิตภัณฑ์ถึง 7.4 X $10^8$เซลล์ต่อกรัม และหลังจากนั้นจำนวนแบคทีเรียแลคติกลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) จนถึงสัปดาห์ที่ 3 หลังวันหมดอายุ ซึ่งมีแบคทีเรียแลคติกเหลือ 3.1 X $10^7$เซลล์ต่อกรัม (ลดลง 1.4 log cycle หรือ 15.4%)ในช่วงสัปดาห์ที่ 1 ก่อนวันหมดอายุ จนถึงสัปดาห์ที่ 1 หลังวันหมดอายุและในช่วงสัปดาห์ที่ 2 หลังวันหมดอายุถึงสัปดาห์ที่ 3 หลังวันหมดอายุ ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของจำนวนแบคทีเรียแลคติก ($P> 0.05$)

สำหรับในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวโพรไบโอติก (ผลิตภัณฑ์นมหมักโพรไบโอติก ข) นั้น ทำการตรวจหาแบคทีเรียแลคติกทั้งหมด ทุกๆ 2 วัน ตั้งแต่ 4 วันก่อนหมดอายุ จนกระทั่งถึง 4 วันหลังวันหมดอายุ (ภาพที่ 3) พบว่าจำนวนแบคทีเรียแลคติกเฉลี่ยที่เวลา 4 วันก่อนวันหมดอายุ มีจำนวนถึง 1.7 X $10^8$เซลล์ต่อกรัม และมีจำนวนลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) ที่เวลา 2 วันหลังวันหมดอายุจนกระทั่งถึง 4 วันหลังวันหมดอายุ โดยพบว่ามีจำนวนแบคทีเรียเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์ประมาณ 4.2 X $10^7$ เซลล์ต่อกรัม (ลดลง 0.7 log cycle หรือ 9.1%)

จากผลการทดลองนี้ได้แสดงให้เห็นถึงแนวโน้มการลดลงของจำนวนแบคทีเรียแลคติกทั้งหมดในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตโพรไบโอติก และในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวโพรไบโอติกที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ผลการทดลองที่ได้นี้สอดคล้องกับการทดลองของ Shin และคณะ (1999) ซึ่งได้ทำการศึกษาถึงปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกทั้งหมด ในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวโพรไบ-โอติกและผลิตภัณฑ์นมหมักโพรไบโอติกในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส โดยเขาได้พบการลดลงของเชื้อแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตโพรไบโอติกเช่นเดียวกันกับการทดลองของ Dave และ Shah (1997) ซึ่งได้รายงานว่า เชื้อ Bifidobacteria ในโยเกิร์ตที่ผลิตจากกล้าเชื้อที่จำหน่ายทางการค้ามีจำนวนลดลง 3 log cycle จากเชื้อเริ่มต้น $10^6$เซลล์ต่อกรัม ในระหว่างการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำนาน 35 วัน และ Medina และ Jordano (1994) รายงานว่าจำนวน Bifidobacteria ในผลิตภัณฑ์นมหมักที่จำหน่ายในประเทศสเปนได้มีจำนวนลดลง 93% ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส หลังวันหมดอายุ การที่เชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกมีจำนวนลดลงในระหว่างการเก็บรักษานั้น อาจเนื่องมาจากปริมาณเชื้อเริ่มต้นสูงเกินไป ทำให้เกิดการสร้างกรดแลคติก และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์อย่างรวดเร็ว มีผลทำให้เชื้อลดจำนวนลง (Seeley และ Vendemark, 1951; Nighswonger และคณะ, 1996) และเชื้อแบคทีเรียแลคติกมีการใช้สารอาหารในน้ำนมในระหว่างการหมัก ทำให้ปริมาณสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของเชื้อลดลง ซึ่ง Alm (1991) ได้รายงานว่า ปริมาณแลคโตสในน้ำนมจะลดลง 30 – 50 % หลังจากการ อย่างไรก็ตามแบคทีเรียโพรไบโอติกในนผลิตภัณฑ์นมหมักโพรไบโอติกทั้ง 2 ชนิดที่ตรวจสอบมีจำนวนตรงตามมาตรฐานที่กำหนดไว้หลังครบกำหนดเวลาการเก็บรักษา คือต้องมีจุลินทรีย์โพรไบโอติกอยู่ในผลิตภัณฑ์นมหมักอย่างน้อย $10^5$- $10^6$ เซลล์ต่อกรัม ( Kurmann และคณะ, 1991)

**การศึกษาผลของการเพิ่มสารอาหารที่เหมาะสมต่อการอยู่รอดของแบคทีเรียโพรไบโอติกในการผลิตโยเกิร์ต**

1 การคัดเลือกชนิดของกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่เหมาะสมต่อการผลิตโยเกิร์ตโพรไบโอติก

จากการใช้แบคทีเรียโพรไบโอติก ได้แก่ *L. acidophilus* และ *L. casei* ร่วมกับแบคทีเรียที่ใช้ในการผลิตโยเกิร์ตโดยทั่วไป ได้แก่ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* โดยทำการผลิตกล้าเชื้อแบคทีเรียแลคติกผสมทั้งหมด 4 ชุดด้วยกัน ซึ่งได้แก่ กล้าเชื้อผสม ก กล้าเชื้อผสม ข กล้าเชื้อผสม ค และกล้าเชื้อผสม ง หลังจากนั้นนำกล้าเชื้อผสมทั้ง 4 ชุดไปผลิตเป็นโยเกิร์ต แล้วสังเกตลักษณะเนื้อสัมผัส กลิ่นโยเกิร์ต และระยะเวลาการหมัก พบว่าโยเกิร์ตที่ใช้กล้าเชื้อผสม ข (*L. casei* และ *L. bulgaricus*) ให้ลักษณะเนื้อสัมผัส และกลิ่นดีที่สุด ดังนั้นจึงเลือกใช้กล้าเชื้อผสม ข สำหรับการทดลองผลิตโยเกิร์ตโพรไบโอติกในขั้นต่อไป

2 การศึกษาผลของสารอาหารที่ใช้ในการผลิตโยเกิร์ต

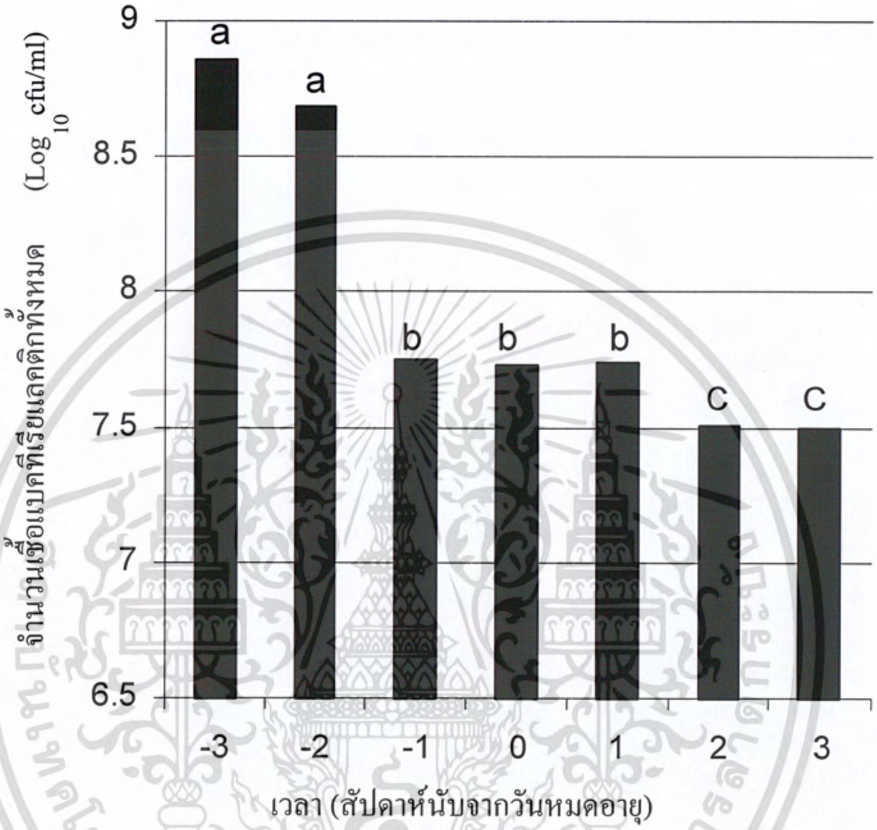
จากการศึกษาผลของการเพิ่มสารอาหารที่เหมาะสมต่อการอยู่รอดของแบคทีเรียโพรไบโอ-ติกในโยเกิร์ตทั้ง 4 ชุด ซึ่งมีการเพิ่มสารอาหารชนิดต่าง ๆ ลงในน้ำนม ได้แก่ ชุดที่ 1 ชุดควบคุม ชุดที่ 2 น้ำผึ้ง 5% ชุดที่3 โปรตีนจากถั่วเหลือง 1.5% และ ชุดที่ 4 เทมเป้ผง ผลการวิเคราะห์หาปริมาณแบคทีเรียแลคติก ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดแลคติก และค่าพีเอชของโยเกิร์ตที่เก็บรักษาที่เวลา 0, 0.5, 1, 7, 14, 21 และ 28 วัน ผลการทดลองแสดงดังภาพที่ 4 ตารางที่ 6 และตารางที่ 7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>การเปลี่ยนแปลงของจำนวนแบคทีเรียแลคติกทั้งหมดในโยเกิร์ต</u>

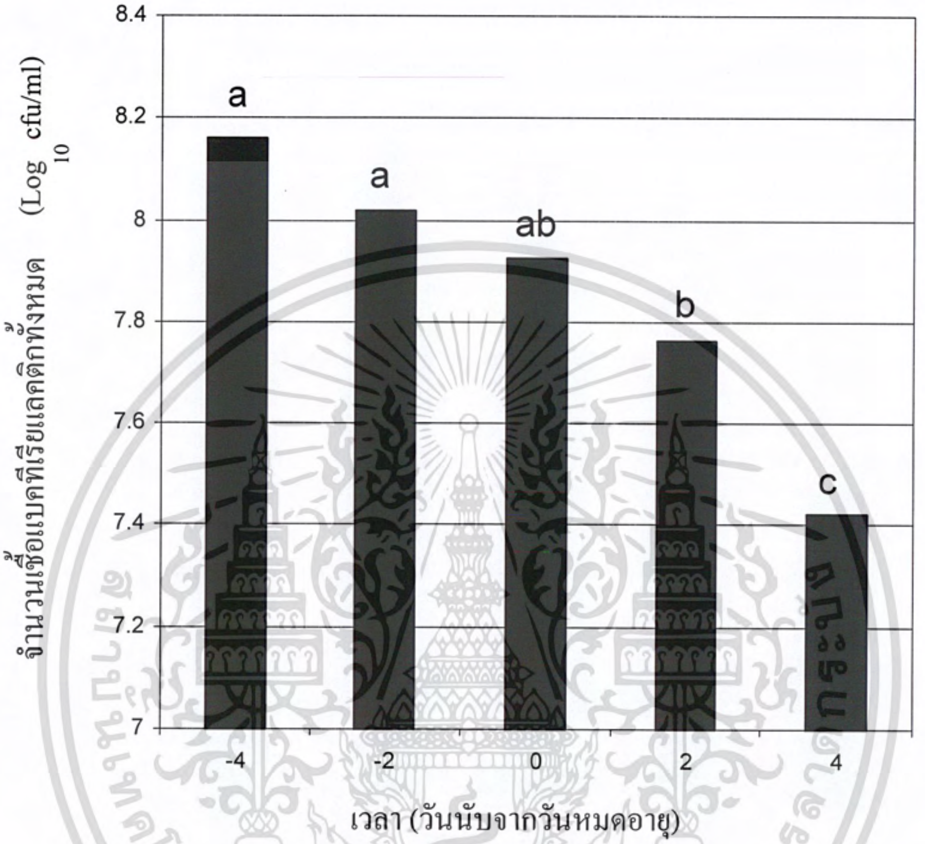
ปริมาณแบคทีเรียแลคติกทั้งหมดมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในโยเกิร์ตทุกชุด (ภาพที่ 4) ซึ่งพบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) ที่เวลาของการหมัก 1 วัน โดยพบว่าในชุดที่ 3 โปรตีนถั่วเหลือง 1.5% มีปริมาณแบคทีเรียแลคติกสูงที่สุดถึง 2.4 X $10^9$ เซลล์ต่อกรัม ตามด้วยโย-เกิร์ต ชุดควบคุม โยเกิร์ตที่ผสมเทมเป้ผง และโยเกิร์ตผสมน้ำผึ้ง ซึ่งมีปริมาณแบคทีเรียแลคติกเป็น 1.6 X $10^9$, 1.5 X $10^9$ และ 1.1 X $10^9$เซลล์ต่อกรัม ตามลำดับ และเมื่อเก็บรักษาโยเกิร์ตที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วันปรากฏว่าปริมาณแบคทีเรียแลคติกลดลงเล็กน้อยในโยเกิร์ตทุกชุด และหลังจากนั้นจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในโยเกิร์ตทุกชุดยกเว้นโยเกิร์ตชุดควบคุมจนกระทั่งวันที่ 14 ของการเก็บรักษา โดยพบว่าโยเกิร์ตที่เติมเทมเป้ผงมีปริมาณแบคทีเรียแลคติกเพิ่มขึ้นมากที่สุดถึง 1.98 X $10^9$เซลล์ต่อกรัม รองลงมาคือโยเกิร์ตที่เติมโปรตีนจากถั่วเหลืองโดยมีปริมาณแบคทีเรียแลคติกเป็น 1.5 X $10^9$เซลล์ต่อกรัมที่เวลา 14 วันของการเก็บรักษา โดยมีความแตกต่างจากโยเกิร์ตชุดอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P< 0.05$) จากนั้นปริมาณแบคทีเรียแลคติกลดลงในทุกชุดจนกระทั่งถึงวันที่ 28 ของการเก็บรักษา แต่ไม่พบความแตกต่างระหว่างจำนวนแบคทีเรียแลคติกในโยเกิร์ตแต่ละชุดอย่างมีนัยสำคัญ ($P< 0.05$) ดังนั้นจึง เห็นได้ว่าการเพิ่มจำนวนของเซลล์แบคทีเรียโพรไบโอ-ติกเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในโยเกิร์ตที่เติมโปรตีนจากถั่วเหลือง และเทมเป้ผง ที่เป็นเช่นนี้อาจเป็นเพราะในถั่วเหลืองอุดมสมบูรณ์ด้วยกรดอะมิโน เกลือแร่ และวิตามินต่าง ๆ (สมชาย, 2532) สำหรับเทมเป้นั้นเป็นผลิตภัณฑ์หมักจากถั่วเหลืองซึ่งนอกจากจะอุดมสมบูรณ์ด้วยสารอาหารดังกล่าว แล้วยังมีปริมาณวิตามินบางชนิดเช่น ไนอะซินและวิตามินบี 12 สูงกว่าในถั่วเหลืองปกติอีกด้วย คือมีปริมาณไนอะซิน 60 ไมโครกรัม และปริมาณวิตามินบี 12 ถึง 5 นาโนกรัม ในขณะที่ถั่วเหลืองปกติมีปริมาณไนอะซินเพียง 9 ไมโครกรัม และวิตามินบี 12 เพียง 0.15 นาโนกรัมต่อกรัมของผลิตภัณฑ์ (Steinkraus, 1996) จึงอาจเป็นไปได้ว่าสารอาหารในโปรตีนจากถั่วเหลือง และเทมเป้ผงมีผลช่วยส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียแลคติกในโยเกิร์ต ดังนั้นสารอาหารทั้งสองชนิดนี้จึงส่งเสริมการเจริญของเชื้อ *L. casei* และ *L. bulgaricus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



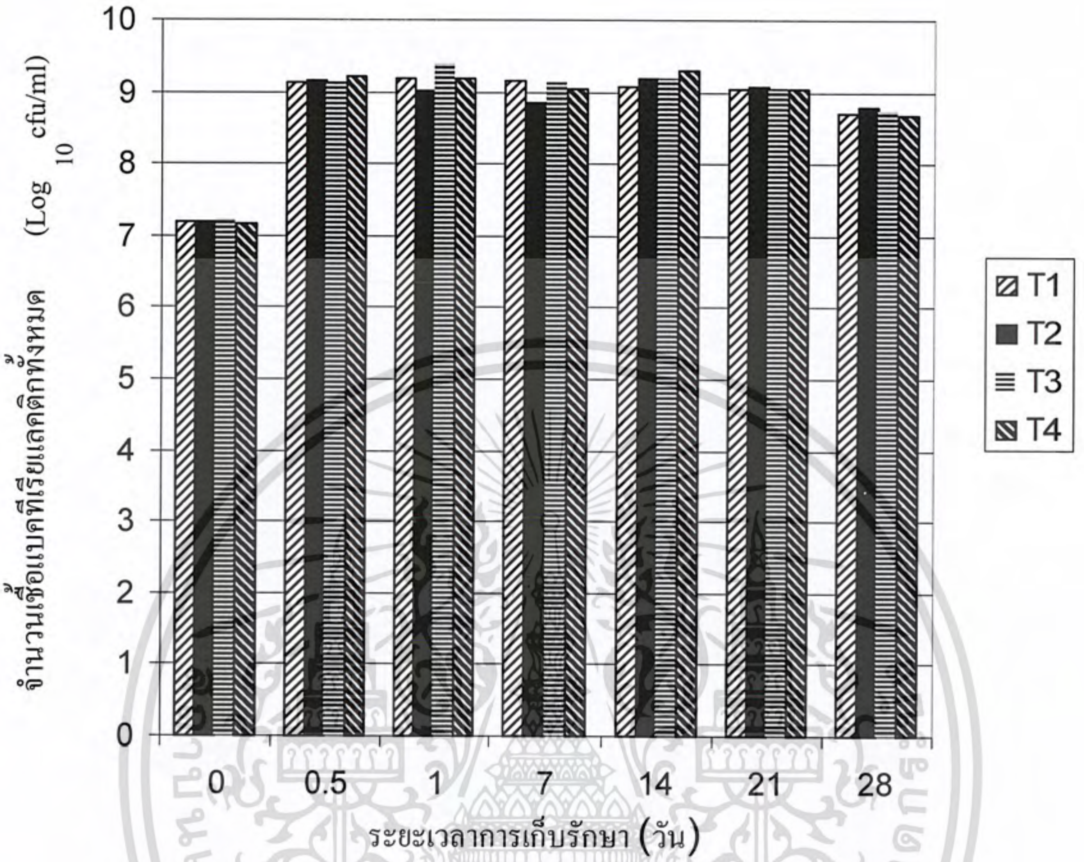

**ภาพที่ 2 จำนวนของแบคทีเรียโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์นมหมักโพรไบโอติก ก ที่จำหน่ายตามท้องตลาด ในช่วง 7 สัปดาห์ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**ภาพที่ 3 จำนวนของแบคทีเรียโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์นมหมักโพรไบโอติก ข ที่จำหน่ายตามท้องตลาด ในช่วง 8 วันของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**ภาพที่ 4 จำนวนของแบคทีเรียแลคติกทั้งหมดในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตโพรไบโอติก ในระหว่างการหมัก และการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (T1= โยเกิร์ตชุดควบคุม T2 = โยเกิร์ตผสมน้ำผึ้ง 5% T3 = โยเกิร์ตผสมโปรตีนถั่วเหลือง 1.5% และ T4 = โยเกิร์ตผสมเทมเป้ผง 1.5%)**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 6 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ตในระหว่างการหมักและการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส**

| ชุดของโยเกิร์ต | ปริมาณกรดทั้งหมด[a] | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 วัน | 0.5 วัน | 1 วัน | 7 วัน | 14 วัน | 21 วัน | 24 วัน |
| 1[c] | 0.23A[b] | 0.29 C | 1.20 C | 0.93 AB | 1.13 C | 1.34 C | 1.73 B |
| 2[d] | 0.23A | 0.30 BC | 1.72 A | 0.87 C | 0.88 D | 1.40 C | 1.36 C |
| 3[e] | 0.24A | 0.38 AB | 1.71 A | 1.11 A | 1.25 B | 1.85 B | 1.79 B |
| 4[f] | 0.24A | 0.42 A | 1.66 B | 1.00 B | 1.36 A | 2.19 A | 2.03 A |

*a* = ค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ต

*b* = ตัวอักษรในแถวต่างกัน (ในแต่ละช่วงของการเก็บรักษา) แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$)

*c* = โยเกิร์ตทำจากน้ำนม

*d* = โยเกิร์ตทำจากน้ำนมผสมน้ำผึ้ง

*e* = โยเกิร์ตทำจากน้ำนมผสมโปรตีนจากถั่วเหลือง

*f* = โยเกิร์ตทำจากน้ำนมผสมเทมเป้ผง

**ตารางที่ 7 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่างของโยเกิร์ตในระหว่างการหมัก และการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส**

| ชุดของโยเกิร์ต | ค่าพีเอช[a] | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | 0 วัน | 0.5 วัน | 1 วัน | 7 วัน | 14 วัน | 21 วัน | 24 วัน |
| 1[c] | 6.5A[b] | 5.8 A | 4.6 A | 4.3 A | 4.0 A | 3.9 A | 3.9 A |
| 2[d] | 6.5A | 5.5 A | 4.3 B | 4.2 A | 3.9 A | 3.9 A | 4.0 A |
| 3[e] | 6.5A | 5.5 A | 4.2 B | 4.2 A | 4.0 A | 3.9 A | 3.9 A |
| 4[f] | 6.5A | 5.5A | 3.9 C | 3.7 A | 3.9 A | 3.8 A | 3.8 A |

*a* = ค่าเฉลี่ยของค่าพีเอชของโยเกิร์ต

*b* = ตัวอักษรในแถวต่างกัน (ในแต่ละช่วงของการเก็บรักษา) แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

*c* = โยเกิร์ตทำจากน้ำนม

*d* = โยเกิร์ตทำจากน้ำนมผสมน้ำผึ้ง

*e* = โยเกิร์ตทำจากน้ำนมผสมโปรตีนจากถั่วเหลือง

*f* = โยเกิร์ตทำจากน้ำนมผสมเทมเป้ผง

<u>การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชและปริมาณกรดทั้งหมด</u>

โยเกิร์ตที่เติมเทมเป้ผงมีค่าพีเอชลดลงเร็วที่สุดโดยมีค่าพีเอช 3.8 หลังจากหมักนาน 24 ชั่วโมง ตามด้วยโยเกิร์ตที่เติมโปรตีนจากถั่วเหลือง โยเกิร์ตที่เติมน้ำผึ้ง และโยเกิร์ตชุดควบคุม ซึ่งมีค่าพีเอชเป็น 4.2, 4.3 และ 4.6 ตามลำดับ ดังนั้นสารอาหารที่เติมลงในน้ำนมที่ผลิตโยเกิร์ตจึงมีผลต่อเวลาที่ทำให้ค่าพีเอชของโยเกิร์ตลดลงถึง 4.5 ซึ่งเป็นค่าพีเอชของโยเกิร์ตทั่วไป เมื่อเปรียบการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกพบว่าการที่ค่าพีเอชของโยเกิร์ตที่เติมโปรตีนถั่วเหลืองและเทมเป้ผงลดลงอย่างรวดเร็วโดยมีความสอดคล้องกับการเพิ่มจำนวนเซลล์ในโยเกิร์ตทั้งสอง จึงสรุปได้ว่า น้ำผึ้ง โปรตีนจากถั่วเหลือง และเทมเป้ผงมีผลต่อการเจริญและการผลิตกรดโดยแบคทีเรียโพรไบโอติกในระหว่างการหมัก โดยโปรตีนจากถั่วเหลืองมีผลกระตุ้นดีที่สุด รองลงมาคือ เทมเป้ผง ตามด้วยน้ำผึ้ง และหลังจากการหมักนาน 24 ชั่วโมง ได้ทำการเก็บรักษาโยเกิร์ตที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าค่าพีเอชของโยเกิร์ตทั้ง 4 ชุดไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก ซึ่งการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชจะมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดทั้งหมด ดังนั้นเทมเป้ผงและโปรตีนจากถั่วเหลืองจึงเป็นสารอาหารเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ใช้ในการผลิตโยเกิร์ตในครั้งนี้

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียแลคติก การหาปริมาณกรด และค่าพีเอช พบว่าเชื้อแบคทีเรียสามารถใช้น้ำตาลแลคโตสในโย เกิร์ตเปลี่ยนเป็นกรดแลคติกได้ (Tamine,1977) และแสดงให้เห็นว่าถึงแม้ว่าจะเก็บรักษาโยเกิร์ตที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เชื้อแบคทีเรียแลคติกก็ยังไม่หยุดการทำงานโดยสามารถเพิ่มจำนวนได้เล็กน้อย แต่อาจจะเกิดปฏิกิริยาการหมักช้าลง ทำให้ค่าความเป็นกรดมากขึ้น และค่าพีเอชลดลงไม่มากนัก ตามระยะการเก็บรักษาที่เพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 5
# สรุปและข้อเสนอแนะ

เมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์นมหมักโพรไบโอติก ก และ ข เป็นเวลานานจนกระทั่งถึงวันหมด - อายุและหลังวันหมดอายุ จะมีปริมาณแบคทีเรียแลคติกลดลงเรื่อย ๆ โดยในผลิตภัณฑ์นมหมักโพร-ไบโอติก ก จะมีปริมาณแบคทีเรียแลคติกลดลงจาก 3 สัปดาห์ก่อนวันหมดอายุจนกระทั่งถึง 3 สัปดาห์หลังวันหมดอายุถึง 1.4 log cycle คิดเป็นปริมาณ 15.4% และในนมเปรี้ยวโพรไบโอติกมีปริมาณแบคทีเรียแลคติกลดลงจาก 4 วัน ก่อนวันหมดอายุจนกระทั่งถึง 4 วันหลังวันหมดอายุถึง 0.7 log cycle คิดเป็นปริมาณ 9.1%

ดังนั้นในการบริโภคโยเกิร์ตโพรไบโอติกให้ได้คุณค่าจากจุลินทรีย์มากที่สุดควรบริโภคในระยะเวลาระหว่าง 3 สัปดาห์ก่อนวันหมดอายุ ซึ่งจะยังคงมีจุลินทรีย์อยู่ถึง 7.4 X $10^8$เซลล์ต่อกรัม และในนมเปรี้ยวโพรไบโอติกควรบริโภคในระยะเวลา 4 วันก่อนถึงวันหมดอายุ จะยังคงมีจุลินทรีย์อยู่ถึง 1.7 X $10^8$เซลล์ต่อกรัม

จากการลดลงของปริมาณแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์นมหมักโพรไบโอติก จึงได้มีการศึกษาผลของการเพิ่มสารอาหารที่เหมาะสมต่อการอยู่รอดของแบคทีเรียโพรไบโอติกในโยเกิร์ต โดยในการศึกษาครั้งนี้ได้เติมสารอาหารต่าง ๆ กัน ได้แก่ น้ำผึ้ง โปรตีนจากถั่วเหลือง และเทมเป้ผง ลงในน้ำนมที่จะนำไปผลิตโยเกิร์ต โดยเปรียบเทียบกับโยเกิร์ตที่ผลิตจากน้ำนมที่ไม่ได้ทำการเติมสารอาหารอื่นๆ พบว่าการใช้โปรตีนจากถั่วเหลือง และเทมเป้ผง ทำให้มีปริมาณแบคทีเรียแลคติกอยู่ในผลิตภัณฑ์มากกว่าโยเกิร์ตที่ไม่เติมสารอาหารอื่น นอกจากนี้ยังมีส่วนช่วยในการสร้างกรดแลคติกในผลิตภัณฑ์ทำให้เกิดการหมักได้เร็วกว่าโยเกิร์ตชนิดอื่นๆ โดยใช้เวลาสั้นในการทำให้ค่าพีเอชลดลงเป็น 4.5 ซึ่งเป็นค่าพีเอชของการผลิตโยเกิร์ตโดยทั่วไป อาจเป็นไปได้ว่ากรดอะมิโนที่มีอยู่ในถั่วเหลืองสามารถส่งเสริมการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์ได้ โดยเป็นแหล่งอาหารเสริมของจุลินทรีย์

อย่างไรก็ตาม การทดลองนี้เป็นเพียงการศึกษาในขั้นต้น เพื่อให้ได้ข้อมูลในการปรับปรุงคุณภาพโยเกิร์ตโพรไบโอติกทั้งในด้านสารอาหารที่ผู้บริโภคจะได้รับ และปริมาณจุลินทรีย์ที่สามารถส่งเสริมสุขภาพของผู้บริโภค ในขั้นต่อไปหากจะทำการวิจัยเพื่อพัฒนาการผลิตในระดับอุตสาหกรรม ควรทดสอบผลของการเติมโปรตีนจากถั่วเหลืองและเทมเป้ผงที่ความเข้มข้นต่าง ๆ กัน และหาปริมาณที่เหมาะสมที่สุดในการเติมลงในน้ำนมที่จะผลิตเป็นโยเกิร์ต นอกจากนี้ควรจะทำการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตที่ผลิตขึ้นด้วย เมื่อได้สารอาหารที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการผลิตโยเกิร์ตโพรไบโอติกแล้วอาจทำการปรุงแต่งสี กลิ่นและรสของโยเกิร์ต หรืออาจดัด - แปลงเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบต่าง ๆ เช่นโยเกิร์ตพร้อมดื่ม (drinkimg yogurt) หรือโยเกิร์ตแช่เเข็ง (frozen yogurt)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# เอกสารอ้างอิง


นุชรีย์ บูรณะชัชวาลย์, ประพัฒน์ แก้วกลม และสุวรรณา เชาวะวนิชย์. 2536 การศึกษาปรับปรุงคุณภาพโยเกิร์ตจากนมถั่วเหลืองและการเก็บรักษา วิทยานิพนธ์ ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ

สมชาย ประภาวัต. 2532. คุณค่าทางอาหารของถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 19(3) ซ 174-179.

สุรีย์ นานาสมบัติ. 2539. เทคโนโลยีของนมและผลิตภัณฑ์นม. กรุงเทพฯ: สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

Alm, L. 1991. The therapeutic effects of various cultures. In: **Therapeutic Properties of Fermented Milks**. p.45. Robinson, R.K., ed. Esser: Elsevier.

Association of Official Analytical Chemists. 1980. Official Method of Analysis. Washington, D.C. : George Banta Co.,Ltd.

Berrada, N.; Lemeland, J.F.; Laroche, G; Thoubenot, P. and Piaia, M. 1991. Bifidobacterium from fermented milks: survival during gastric transit. J. Dairy Sci. 74:104-143.

Bezkorovainy, A. and Miller-Catchpole, R. 1989. Ecology of Bifidobacteria, biochemistry and phtsiology of Bifidobacteria. pp. 29-72. Florida : CRC Press,Boca Raton.

Collins, E. B. 1978. Enumeration of *Lactobacillus acidophilus* with the agar plate count. J. Food Prot. 41:439.

Dave and Shah. 1996. Evaluation of media for selective enumeration of *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbruckii* spp. *bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* and Bifidobacteria. J. Dairy Sci. 79:1529 – 1536.

______________ . 1997. Effect of level of starter culture on viability of yoghurt and probiotic bacteria in yoghurts. Food Aus. 49(4) : 164 – 168

Deeth, H.C. and Tamine, A.Y. 1981. Yogurt : Nutritive and Therapeutic Aspects. J. of Food Protection. 44 : 78-86


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Fuller, R. 1986. Probiotics in man and animals, pp. 365 – 378. Hull, P.L.; Conway and Evans A.J.; ed. Probiotic foods – a new opportunity. Food Aus. 44 : 112-113.

Gilliland, S.E.; and Kim, H. S.; 1984. Effects of viable starter culture bacteria in yoghurt on lactose utilization in humans. J. Dairy Sci. 67 : 1984 – 1989.

Gordon, D.; Macreae, J. and Wheater, D.M.; 1957. A Lactobacillus proparation for use with antibiotics, pp. 203. *Cited by* Gilliland, S.E. Fermented milks and probiotics, pp. 195-212. *In* Marth, E.S. and Steele, J.L., ed. **Applied Dairy Microbiology.** Marcel Dekker, Inc., U.S.A. 516 p.

Hargrove, R.E. and Alfrod, A.J.; 1980. Growth response of weaning rats to heated, aged, fractionated and chemically treated yoghurts. J. Dairy Sci. 63: 1065-1070.

Harrison, V.G. 1975. Peat G serum cholesterol and bowel flora in the newborn, pp. 207. *Cited by* S.E. Gilliland. **Fermented milks and probiotics,** pp. 195-212. *In* Marth,E.H.; and Steele, J.L.; ed. **Applied Dairy Microbiology**. Marcel Dekker, Inc., U.S.A. 516 p.

Hosono, A.; Wardojo, R. and Otani,H.; 1990. Inhibitory effects of lactic acid bacteria from fermented milk on the mutagenicities of volatile nitrosamines, pp. 78 *Cited by* Hughes, D.B.; and Hoover, D.G.; Bifidobacteria : Their potential for use in American dairy products. Food Technol. 45(4) : 74, 76, 78-80, 83.

Hull, R.R.; Conway, P.L.; and Evans, A.J.; 1992. Probiotics foods a new opportunity. Food Aus. 44(3) :112-113.

Hughes, D.B. and Hoover, D.G.; 1991. Bifidobacteria : Their potential for use in American dairy products. Food Technol. 45(4) : 74, 76, 78-80, 83.

Hughes, D.B. and Hoover, D.G.; 1995. Viability and enzymatic activity of Bifidabacteria in milk. J. Dairy Sci. 78 : 268-276.

Jordono, R.; Serrano, C.E.; Torres, M. amd Salmaron, J.; 1992. Comparison of three M17 media for the enumeration of *Streptococcus thermophilus* in fermented dairy products. J. Food Prot. 55:999.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Joseph, P.; Dave, R.I. and Shah, N.P.; 1998. Antagonism between yoghurt bacteria and probiotic bacteria isolated from commercial starter cultures, commercial yoghurts and a probiotic capsule. Food Aust. 50 : 20-23.

Kurmann, J.A.; and Rasic, J.L. 1991. The health potential of products containing bifidobacteria. P.117-158 In: **Therapeutic Properties of Fermented Milks.,** Robinson, R.K. ed. Elsevier Appl. Food Sci., London, United Kingdom.

Lee, G.J. and Jugo, G.R. 1978. A Role of acetaldehyde in metabolism. J. of Dairy Sci. 61:1216-1209

Lee, Y.K. and Salminen, S. 1995. The coming of age of probiotics. Trends in Food Sci and Technol. 6 : 241-245.

Lilly, D.M. and Stiwell, R.H. 1965. Probiotics : growth promoting factors produced by microorganisms, pp. 747-748. In: Hull,R.R.; Conway, P.L. and Evans, A.J., ed. Probiotic food-a new opportunity. Food Aus. 44 : 112-113.

Marshall, V.M. 1986. The microflora and production of fermented milks, pp. 1-44. *In* M.R. Adams (ed.). Progress in industrial Microbiology. V. 23. Elesevier Applied science Publishers, London.

Medina, L.M. and Jordano,R. 1994. Survival of constitutive of *Bifidobacterium* (*Lactobacillus bifidus*). J. Bacteriol. 93(1) : 125-130.

Mitsuoka, T. 1992. The human gastrointestinal tract, pp. 69-114. In: Brian, J.B. (ed.). The Lactic Acid Bacteria in Health and Diseasa. V. 1. Elsevier Science Publishers, Ltd., The University Press, Cambridge, Great Britain. 485 p.

Mitsuoka, T. and Kaneuchi, H. 1977. Ecology of the Bifidobacteria. Clin, Am. J., Nutr. 30 : 1799-1810.

Mitsuoka, T.; Hidaka, H. and Eida, T. 1989. Aprofile of intestinal bacteria, pp. 78. Cited by Hughes, D.B. and Hoover, D.G.; Bifidobacteria : Their potential for use in American dairy products. Food Technol. 45(4) : 74, 76, 78-80, 83.

Nagendra, P. S. 2001. Functional foods from probiotics and prebiotics. Food Tech. 55(11) : 46-53


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nighswonger B.D.; Brashears, M.M. and Gilliland, S.E. 1996. Viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* in fermented milk products during refrigerated storage. J. Dairy Sci. 79(2) : 212-219.

Oberman, H. 1985. Fermented milk, pp. 167-195. *In* J.B. Brian (ed.). Microbiology of Fermented Foods Vol. 1.,England., Elsevier Applied Science Publisher Ltd.,

Patricia, S. C. and Jacques, G. 2001. Improving probiotic survival rates. J. Food Technol. 55(10) : 36-42

Pszczola, D.E. 2000. Soy : Why it's moving into the mainstream. J. Food Technol. 54(9) : 76-86.

Rasic, J. L.; Vujicic, I.F.; Skrinjar, M. and Vulic M. 1992. Assimilation of choresterol by some cultures of lactic acid bacteria and Bifidobacteria. Biotechnol. Lett. 14(1) : 39-44.

Ravula, R.R. and Shah, N.P. 1998. Viability of probiotic in fermented frozen dairy desserts. Food Aust. 50(3) : 136-139.

Reddy, G.V.; Friend, B.A.; Shahani, K.M. and Farmer, R.E. 1983. Antitumor activity of yoghurt components, p. 240. *Cited by* Gilliland, S.E. Special additional culture, pp. 233-248. In: Cogan, T.M. and Accolas, J.P. (eds.). Dairy Starter Cultures., U.S.A., VHC Publishers, Inc.

Reilly, S.S. and Gilliland, S.E. 1999. *Bifidobacterim longum* survival during frozen and refrigerated storage as related to pH during growth. J. Food Sci. 64(4) : 714-718.

Robinson, R.K. and Tamine, a. Y. 1990. Microbiology of fermented milks, pp.291-392. *In* Robinson, R.K. (ed.). Dairy Microbiology Vol.2. 2d ed., London, Elsevier Science Publisher Ltd.

Sakai, K.; Tachiki,T.; Kumagai, H. and Tochikura, T. 1987. Hydrolysis of β-D-galactosyl oligosaccharides in soymilk by β-D-galactosidase of *Bifidobacterium breve* 203. Agric. Biol. Chem. 51:315-322

Sander, M.E. 1999. Probiotics. J. Food Technol. 53(11) : 67-77

Scadovi, V. 1924. Genus *Bifidabacterium*, pp. 1418-1434. In: Sneath, P.H.A.; Mair, N.S.; Sharpe, M.E. and Holt, J.G. (eds.). Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. V. 2. William & Wilkins, U.S.A.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Schmidt, P.H. 1992. Culture milk products : yoghurt, quarg and fromage frais, pp. 66-85 *In* R. Early (ed.). The Technology of dairy Products. VCH Publishers, Inc., New York

Seeley, H.W. and Vendemark, P.J. (1951). An adaptive peroxidation by *Streptococcus faecalis*, J. Bacteriol. 61:27

Sgorbati, B.; Biavati, B. and Palenzona, D. 1995. The genus *Bifidobacterium*, pp. 279-306. In: Wood, B.J.B. and Holzapfel, w.H. (eds.). The Lactic acid Bacteria (The Genera of Lactic acid bacteria). Chapman and Hall, U.S.A.

Shah, N. and Jelen, P. 1990. Survival of lactic acid bacteria and their lactases under acidic conditions. J. Food Sci. 55(2) : 506-509.

Shah, N. P. 2001. Functional food from probiotics and prebiotics. J. Food Technol. 55(1) : 46-53.

Shin, H.S., Lee, H.J.; James, J.P. and Zeynep, U. 1999. Viability of Bifidobacteria in commercial dairy products during refrigerated storage. J. Food Protection. 63(3) : 327-331.

Shin, H.S., Lee, H.J.; Pestka, J.J. and Ustunol, Z. 2000. Growth and viability of commercial *Bifidobacterium* spp. in skim milk containing oligosaccharides and inulin. J. Food Technol. 65(5) : 884-887.

Silliker, J.H. 1980. Microbial Ecology of food. V. 2. Food Comnoodities. Acadamic Press, New York. 824 p.

Smith, J. 1991. Biotechnology group meeting probiotic – fact or fiction? J. chem.. Tech. Biotechnol. 51 : 539-570.

Smith, J.;Hose, H.; Sozzi, T.; Daly, C. and Marshall, V.M. 1991. Biotechnology group meeting probiotics-fact or fiction? J. Chem. Tech. Biotechnol. 51 : 539-553.

Steinkraus, K.H. Handbook of Indigenous Food. New York : Marcel Dekker,Inc.

Tamine, A.Y. and Robinson, R.K. 1985. Yoghurt Science and Technology. Pergamon Press, Oxford.

Tamine, A.Y. 1977 In Some Aspects of the Production of Yogurt and Condense Yogurt, pp. 11-14. In: Tamine, A.Y. and Robinson, R.K. yogurt: Science and Technology. Pergamon Press, Oxford

Tomoda, T.; Nakano, Y.; and Kageyama, T.1988. Intestinal *Candida* overgrowth and *Candida* infection in patients with leukemia : Effect of *Bifidobacterium*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Yeung, P.S.M.; Cano, R.; Tong, P.S. and Sanders, M.E. 1999. Comparison of art, 16s rDNA sequencing and fatty acid analysis as method to speciate commercial probiotic bacteria. J. Dairy Sci. 82:6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ภาคผนวก ก.**

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

1. deMan Rogosa Sharpe agar (MRS agar)

| | | |
|---|---|---|
| Bacto protease peptone No.3 | 10 | กรัม |
| Bacto beef extract | 10 | กรัม |
| Bacto yeast extract | 5 | กรัม |
| Bacto dextrose | 20 | กรัม |
| Polysorbate 80 | 1 | กรัม |
| Ammonium citrate | 2 | กรัม |
| Sodium acetate | 5 | กรัม |
| Magnesium sulfate | 0.1 | กรัม |
| Manganese sulfate | 0.05 | กรัม |
| Dipotassium phosphate | 2 | กรัม |
| น้ำกลั่น | 1 | ลิตร |

เติมวุ้น 1.5% อบฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ เป็นเวลา 15 นาที

2.การผลิตเทมเป้ผง

นำถั่วเหลืองมาล้างน้ำ แล้วแช่น้ำเป็นเวลา 1 คืนหลังจากนั้นแกะเปลือกถั่วเหลืองออก ทำให้สะเด็ดน้ำและนำมาต้มหรือนึ่งจนสุก และทิ้งให้เย็น จึงนำไปคลุกกับเชื้อรา *Rhizopus oligosporus* บรรจุในถาด บ่มเป็นเวลา 20 -24 ชั่วโมง ที่ 30 – 38 องศาเซลเซียส จนสังเกตเห็นเส้นใยของเชื้อราสีขาวปกคลุมทั่วเมล็ดถั่วเหลืองจนได้เทมเป้

นำเทมเป้ไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 คืน หลังจากนั้นนำไปบดให้ละเอียดเป็นผง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ภาคผนวก ข.**

การตรวจสอบคุณสมบัติทางเคมีของโยเกิร์ต ตามวิธีของ A.O.A.C.(1984)

1.<u>การวัดค่าพีเอชของโยเกิร์ต</u>

ใช้เครื่องวัดพีเอช (pH meter) โดยใช้ส่วนของ Glass electrode จุ่มลงในเนื้อของโยเกิร์ต แล้วอ่านค่า pH ที่ได้ออกมา

2.<u>การหาปริมาณของแข็งทั้งหมดในโยเกิร์ต</u>

- ใช้กระดาษฟอยล์ซึ่งสอดไส้ด้วยกระดาษกรอง นำมาชั่งจนได้น้ำหนักคงที่
- เกลี่ยโยเกิร์ตโดยประมาณ 1 – 2 กรัมลงบนกระดาษกรองแล้วชั่งหาน้ำหนักคงที่ของโยเกิร์ต
- อบใน Hot air oven ที่อุณหภูมิ 103 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1.5-2 ชั่วโมง
- ชั่งจนได้น้ำหนักคงที่ แล้วนำไปคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ของของแข็งต่อไป

$$\text{\% ของแข็งทั้งหมด} = \frac{\text{น้ำหนักของโยเกิร์ตที่ชั่งได้ครั้งสุดท้าย X 100}}{\text{น้ำหนักของโยเกิร์ตที่ใช้}}$$

3. <u>การวิเคราะห์หาความเป็นกรดในโยเกิร์ต (Titratable acidity)</u>

สารเคมี

- น้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ เตรียมโดยนำน้ำกลั่นมาต้ม 20 นาที
- สารละลายมาตรฐาน 0.1N เตรียมจาก NaOH 4 กรัมเติมน้ำกลั่นจนครบ1 ลิตร

วิธีวิเคราะห์

ชั่งตัวอย่างโยเกิร์ต 2 กรัม นำมาเจือจางด้วยน้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ 30 มล. เติมสารละลายฟีนอฟทาลีน 3 หยด แล้วไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH จนกระทั่งถึงจุดยุติ สารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีชมพู ปริมาณกรดคำนวณเป็นกรดแลคติกดังนี้

$$\text{กรดทั้งหมด (กรัมต่อ 100 กรัม)} = \frac{\text{NXVX90.08X100}}{\text{1000 X 2}}$$

กำหนดให้ N = ความเข้มข้นมาตรฐาน 0.1 N NaOH

V = มิลลิลิตรของสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้