ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

อิทธิพลของสารละลายชาเขียวต่อการอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก
ในโยเกิร์ตพร้อมดื่ม
(Influence of Green Tea Solution on Viability of Probiotic Bacteria
in Drinking Yoghurt)

จัดทำโดย

นางสาวจารีย์ ไฝบุญจันทร์ รหัสนักศึกษา 43040164
นางสาวทิพวรรณ คุณยศยิ่ง รหัสนักศึกษา 43040176

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

.....7 /เม.ย./47..... **อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ**

(รศ.ดร.วรรณา ตั้งเจริญชัย)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

20055

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

อิทธิพลของสารละลายชาเขียวต่อการอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก ในโยเกิร์ตพร้อมดื่ม

(Influence of Green Tea Solution on Viability of Probiotic Bacteria in Drinking Yoghurt)

T097007

จัดทำโดย

นางสาวจารีย์ ไฝบุญจันทร์ รหัสนักศึกษา 43040164

นางสาวทิพวรรณ คุณยศยิ่ง รหัสนักศึกษา 43040176

ป พ.
ค 3180
2546
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 97007
วัน,เดือน,ปี - 5 JUN 2003

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาตรี วิทยาศาตร์บัณฑิต

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2546

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นางสาวจารีย์ ไฝบุญจันทร์ และ นางสาวทิพวรรณ คุณยศยิ่ง 2546 : อิทธิพลของสารละลายชาเขียวต่อการอยู่รอดของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกในโยเกิร์ตพร้อมดื่ม (Influence of Green Tea Solution on Viability of Probiotic Bacteria in Drinking Yoghurt) . ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ.ดร.วรรณา ตั้งเจริญชัย

บทคัดย่อ

การศึกษาอิทธิพลของสารละลายชาเขียวต่อการอยู่รอดของเชื้อโพรไบโอติกในโยเกิร์ตพร้อมดื่มโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ผสมของ *Lactobacillus bulgaricus, Streptococcus thermophilus, Lactobacillus acidophilus* และ *Bifidobacterium* spp. ในการหมักโยเกิร์ตที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียสนาน 6 ชั่วโมง ให้ความเป็นกรด-ด่าง (pH) และ เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก (titratable acidity) เท่ากับ 4.42 และ 0.90 ตามลำดับ ปริมาณแลคติกแบคทีเรียรวม (LAB) ประมาณ 1.7×10^9 CFU/ml. และเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus acidophilus* ประมาณ 2.0×10^9 CFU/ml. โยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวที่มีความหวาน 22°Brix ปริมาณชาเขียว 0.3% และ 0.5%(โดยน้ำหนัก) ได้รับการยอมรับมากที่สุด ซึ่งโยเกิร์ตพร้อมดื่มสูตรดังกล่าวไม่มีผลต่อการอยู่รอดของเชื้อโพรไบโอติก และเมื่อเก็บรักษาโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 18 วัน พบว่าโยเกิร์ตพร้อมดื่มมีความเป็นกรด-ด่างและมีสีเขียวลดลง ในขณะที่เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกและความหนืดมีค่าเพิ่มขึ้นตามอายุการเก็บรักษา ซึ่งความเป็นกรด-ด่างของโยเกิร์ตพร้อมดื่มลดต่ำลงเมื่อปริมาณชาเขียวเพิ่มขึ้นแต่เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกมีค่าเพิ่มขึ้นตามปริมาณชาเขียว โยเกิร์ตพร้อมดื่มที่มีปริมาณชาเขียว 0.3 % (โดยน้ำหนัก) ที่อายุการเก็บรักษา 18 วัน มีปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก *Lactobacillus acidophilus* เท่ากับ 5.6×10^8 CFU/ml และที่ปริมาณชาเขียว 0.5 % (โดยน้ำหนัก) มีมีปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก *Lactobacillus acidophilus* เท่ากับ 6.2×10^8 CFU/ml

จารีย์ ไฝบุญจันทร์ .....
ลายมือชื่อนักศึกษา

ทิพวรรณ คุณยศยิ่ง .....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

7 / เม.ย. / 47 .....
วัน/เดือน/ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การจัดทำปัญหาพิเศษในครั้งนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี คณะผู้จัดทำต้องขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.วรรณา ตั้งเจริญชัย ซึ่งได้กรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาและได้ให้คำปรึกษา ข้อเสนอแนะในการทำปัญหาพิเศษตลอดมา รวมทั้งแก้ไขข้อบกพร่องรายงานฉบับนี้ให้ถูกต้องสมบูรณ์ ผู้จัดทำขอขอบคุณในความอนุเคราะห์ของอาจารย์ด้วยความจริงใจและเคารพอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์ ผศ.ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม และ อ.นภัสรพี เหลืองสกุล ที่ได้ให้ความกรุณาเป็นคณะกรรมการในการสอบปัญหาพิเศษนี้

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้กำลังใจที่ดีเยี่ยมและให้การสนับสนุนด้านกำลังทรัพย์ด้วยดีตลอดมา ขอขอบคุณพี่ธนาวุฒิ พี่ธงชัย และพี่ศศิพร ที่คอยให้คำปรึกษาและคอยช่วยเหลือในทุกๆด้านด้วยดีตลอดมา สุดท้ายนี้ขอขอบคุณเพื่อนๆอุตสาหกรรมเกษตรทุกคนที่คอยให้กำลังใจทำให้การทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ลุล่วงไปด้วยดี

นางสาวจารีย์ ไฝบุญจันทร์
นางสาวทิพวรรณ คุณยศยิ่ง
6 เมษายน 2547

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ข
สารบัญ	ค
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ซ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหาพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
บทที่ 2 วารสารปริทัศน์	3
2.1 โยเกิร์ต	3
2.2 ชนิดของโยเกิร์ต	3
2.3 โยเกิร์ตพร้อมดื่มหรือนมเปรี้ยว	6
2.4 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโยเกิร์ต	7
2.5 เชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ใช้ในผลิตภัณฑ์นมหมัก	10
2.6 ชาเขียว	14
2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	18
บทที่ 3 วัตถุดิบ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง	20
3.1 วัตถุดิบ	20
3.2 สารเคมี	20
3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์	21
3.4 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง	21
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	26
4.1 ศึกษาการเจริญและพฤติกรรมการผลิตกรดของเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ตและเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก	26
4.2 การประเมินระดับความชอบของผู้ชิมที่มีต่อโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียว	29
4.3 ศึกษาผลของสารสกัดชาเขียวต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกบนอาหารเลี้ยงเชื้อ	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.4 ศึกษาผลของสารประกอบในชาเขียวที่มีผลต่อการอยู่รอดของเชื้อโพรไบโอติกในโยเกิร์ตพร้อมดื่มและคุณภาพการเก็บรักษาโยเกิร์ตพร้อมดื่ม	31
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	40
เอกสารอ้างอิง	42
ภาคผนวก ก : การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา	44
ภาคผนวก ข : ตัวอย่างแบบทดสอบทางประสาทสัมผัส	49
ภาคผนวก ค : การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ	50
ภาคผนวก ง : ข้อกำหนดทางกฎหมาย	58
ภาคผนวก จ : แสดงภาพโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียว ภาพเชื้อจุลินทรีย์ lactic acid bacteria และเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก	60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	การจัดแบ่งกลุ่มแบคทีเรียในจีนัส *Lactobacillus* เป็น subgenus และแบบ Molecular subgroup	13
2.2	แสดงองค์ประกอบทางเคมีของยอดชา	16
3.1	แสดงสูตรโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ระดับความหวานน้ำเชื่อมและปริมาณชาเขียวต่างๆ	23
4.1	แสดงคุณภาพของโยเกิร์ตและจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ตและเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกในโยเกิร์ตที่บ่ม ณ 43± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 –10 ชั่วโมง	26
4.2	แสดงระดับคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียว	29
4.3	การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารสกัดชาเขียวที่ระดับ 0 , 3 และ 5 % (โดยน้ำหนัก)	30
4.4	ความเป็นกรด-ด่าง และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกของโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวในปริมาณชาเขียวต่างกัน ที่เก็บรักษา ณ อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส ในระยะเวลาการเก็บต่างๆ	31
4.5	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่มีปริมาณชาเขียว 0 , 0.3 และ 0.5 % (โดยน้ำหนัก) จากวันที่ 0-18 ของการเก็บรักษาที่ 4±1 องศาเซลเซียส	32
4.6	ปริมาณเชื้อ lactic acid bacteria รวม ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวที่มีปริมาณชาเขียว 0 , 0.3 และ 0.5 %(โดยน้ำหนัก) จากวันที่ 0-18 ของการเก็บรักษาที่ 4±1 องศาเซลเซียส	33
4.7	ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวที่มีปริมาณชาเขียว 0 , 0.3 และ 0.5 %(โดยน้ำหนัก) จากวันที่ 0-18 ของการเก็บรักษาที่ 4±1 องศาเซลเซียส	33
4.8	ค่าความหนืดของโยเกิร์ตพร้อมดื่ม ที่มีปริมาณชาเขียว 0 , 0.3 และ 0.5 % (โดยน้ำหนัก) จากวันที่ 0-18 ของการเก็บรักษาที่ 4±1 องศาเซลเซียส	36
4.9	ค่าสีของโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่มีปริมาณชาเขียว 0 , 0.3 และ 0.5 % (โดยน้ำหนัก) จากวันที่ 0-18 ของการเก็บรักษาที่ 4±1 องศาเซลเซียส	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
	ภาคผนวก ค	
ค1	การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนความชอบทางด้านสีของโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวที่มีความหวานและปริมาณชาเขียวต่างกัน	50
ค2	ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของคะแนนความชอบทางด้านสีของโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวที่มีความหวานและปริมาณชาเขียวต่างกัน	50
ค1	การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนความชอบทางด้านสีของโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวที่มีความหวานและปริมาณชาเขียวต่างกัน	51
ค2	ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของคะแนนความชอบทางด้านสีของโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวที่มีความหวานและปริมาณชาเขียวต่างกัน	51
ค3	การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนความชอบทางด้านกลิ่นของโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวที่มีความหวานและปริมาณชาเขียวต่างกัน	52
ค4	ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของคะแนนความชอบทางด้านกลิ่นของโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวที่มีความหวานและปริมาณชาเขียวต่างกัน	52
ค5	การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนความชอบทางด้านความหวานของโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวที่มีความหวานและปริมาณชาเขียวต่างกัน	53
ค6	ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของคะแนนความชอบทางด้านความหวานของโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวที่มีความหวานและปริมาณชาเขียวต่างกัน	53
ค7	การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนความชอบทางด้านความฝาดของโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวที่มีความหวานและปริมาณชาเขียวต่างกัน	54
ค8	ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของคะแนนความชอบทางด้านความฝาดของโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวที่มีความหวานและปริมาณชาเขียวต่างกัน	54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
ค9	การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนความชอบทางด้านการยอมรับโดยรวมของโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวที่มีความหวานและปริมาณชาเขียวต่างกัน	54
ค10	ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของคะแนนความชอบทางด้านการยอมรับโดยรวมของโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวที่มีความหวานและปริมาณชาเขียวต่างกัน	54
ค11	การวิเคราะห์ทางสถิติของจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ lactic acid bacteria รวมในโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวที่มีปริมาณชาเขียวและระยะเวลาการเก็บต่างกัน	55
ค12	ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ lactic acid bacteria รวมโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวที่มีปริมาณชาเขียวและระยะเวลาการเก็บต่างกัน	55
ค13	การวิเคราะห์ทางสถิติของจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ *L. acidophilus* ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวที่มีปริมาณชาเขียวและระยะเวลาการเก็บต่างกัน	56
ค14	ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ *L. acidophilus* ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวที่มีปริมาณชาเขียวและระยะเวลาการเก็บต่างกัน	56
ค15	การวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของความสัมพันธ์ระหว่าง pH และ % TA ในระหว่างการผลิตโยเกิร์ต ที่ 43±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0-10 ชั่วโมง	57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	แสดงการเปลี่ยนน้ำตาลแลคโตสเป็นกรดแลคติก	8
2.2	แสดงโครงสร้างกรดแลคติกชนิด L(+) และชนิด D(-)	8
2.3	แสดงลักษณะของเชื้อ Bifidobacteria	12
2.4	แสดงลักษณะของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus*	12
3.1	ขั้นตอนการเตรียมโยเกิร์ตพร้อมดื่ม	22
4.1	การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างและเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกในระหว่างการบ่มโยเกิร์ตที่ 43±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0-10 ชั่วโมง	27
4.2	การเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ lactic acid bacteria รวมในระหว่างการบ่มโยเกิร์ตที่ 43±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0-10 ชั่วโมง	27
4.3	การการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ โพรไบโอติก *L. acidophilus* ในระหว่างการบ่มโยเกิร์ตที่ 43±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0-10 ชั่วโมง	28
4.4	การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่างของโยเกิร์ตพร้อมดื่มในปริมาณชาเขียว 0 , 0.3 และ 0.5 % (โดยน้ำหนัก) จากวันที่ 0-18 ของการเก็บรักษาที่ 4±1 องศาเซลเซียส	34
4.5	การเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกของโยเกิร์ตพร้อมดื่มในปริมาณชาเขียว 0 , 0.3 และ 0.5 %(โดยน้ำหนัก) จากวันที่0-18 ของการเก็บรักษาที่ 4±1 องศาเซลเซียส	34
4.6	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ lactic acid bacteria รวมในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่มีปริมาณชาเขียวต่างกันจากวันที่ 0-18 ของการเก็บรักษาที่ 4±1 องศาเซลเซียส	35
4.7	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ *L. acidophilus* ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่มีปริมาณชาเขียวต่างกันจากวันที่ 0-18 ของการเก็บรักษาที่ 4±1 องศาเซลเซียส	35
4.8	ค่าความหนืดของโยเกิร์ตพร้อมดื่มในปริมาณชาเขียว 0 , 0.3 และ 0.5 % (โดยน้ำหนัก) จากวันที่ 0-18 ของการเก็บรักษาที่ 4±1 องศาเซลเซียส	37
4.9	ค่าสี (L*) ของของโยเกิร์ตพร้อมดื่มในปริมาณชาเขียว 0 , 0.3 และ 0.5 % (โดยน้ำหนัก) จากวันที่ 0-18 ของการเก็บรักษาที่ 4±1 องศาเซลเซียส	37

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.10	ค่าสี (a*) ของของโยเกิร์ตพร้อมดื่มในปริมาณชาเขียว 0 , 0.3 และ 0.5 % (โดยน้ำหนัก) จากวันที่ 0-18 ของการเก็บรักษาที่ 4±1 องศาเซลเซียส	38
4.11	ค่าสี (b*) ของของโยเกิร์ตพร้อมดื่มในปริมาณชาเขียว 0 , 0.3 และ 0.5 % (โดยน้ำหนัก) จากวันที่ 0-18 ของการเก็บรักษาที่4±1 องศาเซลเซียส	38
	ภาคผนวก จ	
จ1	แสดงลักษณะของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตพร้อมดื่มที่มีปริมาณชาเขียวต่างกัน (0 , 0.3 และ 0.5 %) ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 0 วัน	60
จ2	แสดงลักษณะของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตพร้อมดื่มที่มีปริมาณชาเขียวต่างกัน (0 , 0.3 และ 0.5 %) ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 18 วัน	60
จ3	แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อ lactic acid bacteria บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Agar + $CaCO_3$ บ่มที่ 43±1 องศาเซลเซียส 72 ชั่วโมงในสภาพไร้ออกซิเจน	61
จ4	แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อ *L. acidophilus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS-IM Agar ที่มีสารละลาย maltose บ่มที่ 37±1 องศาเซลเซียส 72 ชั่วโมง	61
จ5	แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อ Bifidobacteria บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS-IM Agar ที่มีสารละลาย glucose สารละลาย Dichloxalin สารละลาย LiCl และสารละลาย Cysteine hydrochloride	62
จ6	เปรียบเทียบลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* และเชื้อ Bifidobacteria	62

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหาพิเศษ

ผลิตภัณฑ์นมหมักเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพอย่างหนึ่ง นอกจากจะได้รับสารอาหารมากมายจากน้ำนมแล้วยังได้รับประโยชน์จากเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้นที่ใช้ในการหมักอีกด้วย ผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวส่วนใหญ่ที่จำหน่ายในประเทศไทยจะเป็นนมเปรี้ยวที่ผลิตโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ต (traditional yoghurt starter cultures) เป็นเชื้อผสมของ *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* (Tamime and Robinson, 1985) สายพันธุ์ส่วนใหญ่ของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดนี้ไม่สามารถมีชีวิตอยู่รอดและเจริญในระบบทางเดินอาหารของคนได้ (Nakazawa and Hosono, 1992) แม้ว่าเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดจะมีประโยชน์ต่อร่างกายในการต่อต้านการกลายพันธุ์ (antimutagenic activity) ดังนั้นจึงมีการเติมจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญในทางเดินอาหารและมีประโยชน์ต่อร่างกายในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยว เรียกเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้โดยรวมว่า เชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก (Probiotic cultures) นอกจากผลิตภัณฑ์นมหมักแล้ว ยังมีผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพอื่นๆ ที่ได้รับความสนใจจากผู้บริโภค ได้แก่ อาหารที่ประกอบด้วย สารพฤกษเคมี (phytochemical) ต่างๆ เช่น สารพวกโพลีฟีนอลที่พบในชาเขียว สารอาหารที่สำคัญที่มีอยู่ในชาเขียวนั้นมีประสิทธิภาพในการป้องกันและบำบัดโรคร้ายที่สำคัญ เช่น โรคหัวใจ โรคไขมันอุดตันในเส้นเลือด โรคมะเร็ง เนื้องอก นอกจากจะช่วยป้องกันและรักษาโรคแล้ว การบริโภคชาเขียวเป็นประจำยังช่วยชะลอความแก่และช่วยทำให้อายุยืนอีกด้วย ปัจจุบันการบริโภคชาเขียวมีหลายรูปแบบ ได้แก่ การชงจากใบชาโดยตรง หรือดื่มชาเขียวที่สำเร็จรูปบรรจุขวด หรือการนำสารสกัดชาเขียวมาใส่ในอาหาร เช่น ขนมปัง ขนมเค้ก ลูกกวาด ไอศกรีม รวมทั้งการนำสารสกัดชาเขียวผสมในเครื่องสำอางต่างๆ เห็นได้ว่าจากการที่เชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวและชาเขียวกำลังเป็นที่สนใจของผู้บริโภคอย่างมากในปัจจุบัน จึงเป็นเรื่องที่น่าสนใจอย่างยิ่งหากจะมีการผลิตผลิตภัณฑ์ชนิดใดชนิดหนึ่งที่สามารถรวมประโยชน์ของทั้งเชื้อโพรไบโอติกและชาเขียวเข้าไว้ด้วยกัน และจากงานวิจัยหลายชิ้นพบว่าสารประกอบที่พบมากในชาเขียวได้แก่ catechins สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียและต้านไวรัสบางชนิดได้ (วิฑูรย์และคณะ,2545) ดังนั้นในการทดลองนี้จึงมีแนวความคิดที่จะพัฒนาผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตพร้อมดื่มที่มีทั้งเชื้อโพรไบโอติกร่วมกับสารสกัดจากชาเขียวรวมอยู่ด้วยกัน เพื่อให้ได้โยเกิร์ตพร้อมดื่มที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงขึ้น และศึกษาถึงผลของสารประกอบในชาเขียวต่อการเจริญของเชื้อโพรไบโอติก ในแง่ของการออกฤทธิ์ยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกในโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียว รวมถึงการศึกษาคุณภาพในการเก็บรักษาโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 ศึกษาการผลิตกรดแลคติกและการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ตและเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ใช้ในการผลิตโยเกิร์ตพร้อมดื่ม

1.2.2 ศึกษาถึงผลของสารสกัดจากชาเขียวต่อการอยู่รอดของเชื้อโพรไบโอติกในโยเกิร์ตพร้อมดื่ม

1.2.3 ศึกษาคุณภาพการเก็บรักษาโยเกิร์ตพร้อมดื่มรสชาเขียวทางด้านจุลินทรีย์ ทางเคมี และทางกายภาพ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
วารสารปริทรรศน์

2.1 โยเกิร์ต

โยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์นมหมักที่ผลิตจากการเติมจุลินทรีย์ลงไปในนม (Fermented milk) มีถิ่นกำเนิดในแถบประเทศเอเชียตะวันออก โยเกิร์ตมีการผลิตมาตั้งแต่สมัยโบราณแถบประเทศบัลกาเรีย โยเกิร์ตเป็นภาษาพื้นเมืองของภูมิภาคนี้ มีความหมายว่า "ยาอายุวัฒนะ" แต่เดิมเรียก " ยาเอิด" (yaourt) โดยทั่วไปเรียกว่า โยเกิร์ต แต่อาจเขียนได้หลายแบบคือ yogurt , yoghurt หรือ yoghourt (นรินทร์,2538)

โยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์หมักจากจุลินทรีย์ (Fermented product) ผลิตจากน้ำนมอาจเป็นนมสดพร่องมันเนย หรือนมคืนรูปจากนมพร่องมันเนยหมักด้วยจุลินทรีย์ในกลุ่มแลคติก แอสิด แบคทีเรีย (lactic acid bacteria) ได้แก่เชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* กับ *Steptococcus thermophilus* จุลินทรีย์สามารถย่อยน้ำตาล แลคโตสในนมให้เป็นกรดแลคติก(lactic) ส่งผลให้ความเป็นกรด-ด่างของนมลดจาก 6.5-6.7 เป็น 4.2-4.5 (อภิญญา, 2542) ซึ่งเป็นจุด Isoelectirc โปรตีนเกิดการจับตัวกันเป็นก้อนและตกตะกอนเป็นลิ่ม(curd) เนื้อสัมผัสกึ่งแข็งกึ่งเหลว มีสีขาวหรือขาวนวล มีกลิ่นเฉพาะตัว รสชาติค่อนข้างเปรี้ยว (Tamime and Robinson,1985) นอกจากกรดแลคติกที่ได้จากการผลิตโดยจุลินทรีย์แล้วยังมีสารอื่นๆที่เกิดขึ้นด้วยแต่มีปริมาณน้อย ได้แก่ สารประกอบที่ระเหยได้ (volatile compounds) สารเหล่านี้ทำให้เกิดกลิ่นรสเฉพาะตัวของโยเกิร์ต

2.2 ชนิดของโยเกิร์ต

การแบ่งชนิดของโยเกิร์ตอาจทำได้โดยอาศัยหลักการต่อไปนี้ (วราวุฒิ และ รุ่งนภา, 2532)

2.2.1 มาตรฐานกฎหมาย (legal standard)

มาตรฐานกฎหมายของโยเกิร์ตขึ้นกับองค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์ เช่น เปอร์เซ็นต์ไขมัน ปริมาณของแข็งไม่รวมไขมัน (Solid-non-fat ; SNF) หรือปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total solid ; TS) ซึ่งเกณฑ์ต่างๆ ที่กำหนดขึ้นจะแตกต่างกันไปในแต่ละประเทศ แต่เกณฑ์ที่นิยมใช้กันโดยทั่วไป คือ ปริมาณไขมันในผลิตภัณฑ์ ซึ่งตามมาตรฐานของ FAO/WHO ปีค.ศ.1973 ได้กำหนดให้แบ่งชนิดของโยเกิร์ตตามปริมาณไขมันดังนี้

- ไขมันเต็ม (full fat) มีปริมาณไขมันสูงกว่า 3.0 %
- ไขมันปานกลาง (medium fat) มีปริมาณไขมันประมาณ 0.5-3.0 %
- ไขมันต่ำ (low fat) มีปริมาณไขมันต่ำกว่า 0.5%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2 กรรมวิธีการผลิต (methods of production)

ลักษณะของโยเกิร์ตรวมทั้งรสชาติและกลิ่นจะมีหลายชนิดด้วยกัน คือ ลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว ลักษณะกึ่งแข็ง ลักษณะเหลว บางชนิดผลิตออกมาในรูปของการแช่แข็ง ทำให้มีลักษณะคล้ายเยลลี่ การผลิตโยเกิร์ตในอุตสาหกรรมมี 2 ลักษณะใหญ่ๆ ขึ้นกับระบบการผลิตและโครงสร้างทางกายภาพของมวลที่ตกตะกอน (Coagulum) ดังนี้ (นรินทร์,2528)

2.2.2.1 โยเกิร์ตแบบอยู่ตัว (set yoghurt) เป็นโยเกิร์ตที่ผลิตได้จากการหมักที่เกิดขึ้นในภาชนะบรรจุที่จะจัดจำหน่าย ทั้งนี้รวมส่วนผสมหลังจากการเติมจุลินทรีย์แล้ว จะถูกนำมาเติมในภาชนะที่อาจเติมผลไม้และน้ำเชื่อมที่ผ่านการฆ่าเชื้อ แล้วทำการปิดฝา นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องและระยะเวลาการบ่มตามที่กำหนดโดยไม่มีการคนแต่อย่างใด หลังจากนั้นจึงนำมาเก็บไว้ในห้องเย็น เพื่อรอการจำหน่ายต่อไป

หลังจากเสร็จสิ้นการบ่ม ลักษณะของ coagulum ที่ได้จะเป็นเนื้อเดียวกันอย่างต่อเนื่องและมีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว วิธีนี้มักใช้ในการผลิต plain yoghurt โยเกิร์ตที่ผลิตด้วยกระบวนการนี้ส่วนใหญ่จะมีการเติมผลไม้ เพราะผลไม้และน้ำเชื่อมจะอยู่ตอนล่างของภาชนะ เวลารับประทานจะต้องคนให้ทั่วก่อน เพื่อให้ผลไม้และน้ำเชื่อมผสมเข้ากับเนื้อโยเกิร์ตได้ดี

2.2.2.2 โยเกิร์ตแบบบรรจุภายหลัง (stirred yoghurt) เป็นโยเกิร์ตที่ผลิตโดยให้มีปฏิกิริยาการหมักเกิดขึ้นในถังหมักขนาดใหญ่จนได้ปริมาณกรดตามต้องการก่อนจึงทำให้เย็นลง แล้วบรรจุลงในภาชนะที่จะจัดจำหน่าย ปิดฝาแล้วเก็บในห้องเย็นเพื่อรอการจำหน่ายต่อไป

หลังเสร็จสิ้นการบ่ม ลักษณะของ coagulum ที่ได้จะแตกหรือแยกออกจากกัน มีลักษณะเป็นครีม เนื่องจากภายหลังเสร็จสิ้นการหมัก กวนหรือคนโยเกิร์ตผสมกับกลิ่นผลไม้และน้ำเชื่อมให้เข้ากันก่อนการบรรจุ ทำให้เนื้อผลไม้กระจายอยู่ในโยเกิร์ตอย่างสม่ำเสมอ นิยมใช้วิธีนี้ผลิต fruit yoghurt และ flavor yoghurt

2.2.3 กลิ่นรส (flavor)

ในการผลิตโยเกิร์ตในระยะต้นๆ ไม่มีการเพิ่มกลิ่นหรือรสอื่นใด มักนิยมจะให้มีกลิ่นและรสตามธรรมชาติ แต่อาจจะทำให้ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตไม่เป็นที่แพร่หลาย จึงมีการเพิ่มกลิ่นเพื่อให้น่ารับประทานมากขึ้น กลิ่นและรสที่นิยมเพิ่มและเป็นที่ยอมรับกันทั่วไป คือ ผลไม้ ผลไม้อาจจะใช้ในรูปของผลไม้สด หรืออาจเป็นผลไม้ที่ใส่น้ำเชื่อม ปริมาณผลไม้ที่เติมตามปกติประมาณ 15 % (นรินทร์ , 2528) นอกจากผลไม้แล้วยังนิยมเพิ่มกลิ่น เช่น วานิลา กาแฟ และอื่นๆ บางครั้งสารที่ให้สีหรือน้ำตาลก็มีการเติมเพื่อให้ถูกใจผู้บริโภค

ดังนั้นการแต่งกลิ่นรสในโยเกิร์ต จึงทำให้เกิดลักษณะผลิตภัณฑ์ที่แตกต่างกันไป (Tamime and Robinson, 1985) สามารถแบ่งเป็นประเภทต่างๆ ได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.3.1 Natural หรือ Plain Yoghurt เป็นโยเกิร์ตที่ที่ผลิตได้ตามวิธีดั้งเดิมมีรสชาติเปรี้ยว เป็นโยเกิร์ตตามธรรมดาที่ไม่มีการเติมกลิ่นรสหรือผลไม้ลงไป

2.2.3.2 Fruit หรือ Flavoured Yoghurt

- โยเกิร์ตชนิด Fruit yoghurt เป็นโยเกิร์ตที่มีการเติมผลไม้ต่างๆ และสารให้ความหวานลงไปใน natural yoghurt

- Flavour yoghurt เป็นโยเกิร์ตที่ได้จากการเติมกลิ่นรสและสีแทนส่วนของผลไม้ ซึ่งโยเกิร์ตประเภทนี้อาจแบ่งได้อีก 2 แบบคือ แบบสวิส (swiss or stirred yoghurt) เป็นโยเกิร์ตที่มีเนื้อผลไม้ปนอยู่ในเนื้อโยเกิร์ตที่มีการปรุงแต่งรสชาติและสีให้สวยงาม อีกแบบหนึ่งคือซันเดย์ หรือผลไม้รองก้นถ้วย (sunday or fruit on the bottom หรือ set yoghurt) เป็นโยเกิร์ตที่มีครีมอยู่ด้านบนและมีเนื้อผลไม้อยู่ด้านล่าง ส่วนใหญ่จะเป็นโยเกิร์ตธรรมชาติและโยเกิร์ตที่มีรสต่างๆ

2.2.3.3 โยเกิร์ตผสมน้ำตาล (sweetened yoghurt) เพื่อให้มีรสหวานชวนรับประทาน หรือบางทีอาจเติมรสผลไม้ลงไปด้วย

2.2.4 กระบวนการหลังหมัก (Post-incubation processing)

ภายหลังการหมักเกิดขึ้นแล้ว โยเกิร์ตที่ได้อาจนำไปผ่านกระบวนการต่างๆ เช่น การให้ความร้อน การแช่แข็ง การทำให้เข้มข้น การทำแห้ง หรือวิธีอื่นๆ โดยสามารถแบ่งโยเกิร์ตออกเป็นประเภทต่างๆ ได้ ดังนี้ (วราวุฒิและรุ่งนภา, 2532)

2.2.4.1 พาสเจอร์ไรซ์โยเกิร์ต (pasteurized yoghurt) มีจุดประสงค์เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้วิธีหนึ่ง โดยนำโยเกิร์ตไปผ่านการให้ความร้อนด้วยกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์ ซึ่งวิธีนี้จุลินทรีย์ในโยเกิร์ตก็จะถูกทำลายไปด้วย ข้อเสียของโยเกิร์ตประเภทนี้คือ ทำให้คุณภาพเนื้อสัมผัสด้อยลง และยังสูญเสียกลิ่นของโยเกิร์ตไปด้วย

2.2.4.2 โยเกิร์ตแช่แข็ง (frozen yoghurt) เป็นโยเกิร์ตที่มีลักษณะโครงสร้างทางกายภาพคล้ายไอศกรีม แต่องค์ประกอบและวิธีการผลิตตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงช่วงการบ่มคล้ายกับโยเกิร์ต ส่วนที่ต่างกันคือ มีการเพิ่มช่วงของการแช่แข็งและเพิ่มอากาศเข้าไปในผลิตภัณฑ์ในช่วงท้ายของการผลิต เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะคล้ายไอศกรีม มีการเพิ่มสารให้ความหวาน และสเตบิไลเซอร์เพื่อให้เซลล์อากาศในโครงสร้างมีความคงตัว

2.2.4.3 โยเกิร์ตเข้มข้น (concentrated yoghurt) เป็นโยเกิร์ตที่มีการระเหยของเหลวบางส่วนในโยเกิร์ตออกไป จนมีปริมาณของแข็งทั้งหมด 24 %

2.2.4.4 โยเกิร์ตผง (dried yoghurt) เป็นโยเกิร์ตที่ผ่านขั้นตอนของกระบวนการทำแห้งจนมีลักษณะเป็นผง และมีปริมาณของแข็งทั้งหมด 90-94 % การอบแห้งอาจใช้วิธีการตากแห้งด้วยแสงอาทิตย์ spray drying หรือ freeze drying ซึ่งอาจมีผลทำให้กลิ่นรสและเชื้อจุลินทรีย์บางส่วนถูก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำลายไป แต่ก็สามารถทำให้เก็บไว้ได้นานขึ้น เนื่องจากเปอร์เซ็นต์ความชื้นในผลิตภัณฑ์ลดลง จนจุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญได้

2.2 โยเกิร์ตพร้อมดื่มหรือนมเปรี้ยว (Drinking Yoghurt)

โยเกิร์ตพร้อมดื่มหรือนมเปรี้ยวจัดเป็น stirred yoghurt ประเภทหนึ่งซึ่งมีปริมาณของแข็งเพียง 11 % หรือน้อยกว่า มีลักษณะข้นกว่านมสดธรรมดาเล็กน้อย ทำให้สามารถดื่มได้ เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำโยเกิร์ตที่บ่มจนได้ปริมาณกรดตามต้องการแล้ว จึงนำมาผสมกับน้ำผลไม้หรือน้ำเชื่อมในสัดส่วนที่แตกต่างกันร้อยละ 30-85 ของนมโค และทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน โดยผ่านการโฮโมจีไนเซชั่น (Homogenization) แล้วจึงนำไปผ่านกรรมวิธีการผลิต ซึ่งอาจจำแนกได้เป็น 3 ประเภทตามอายุการเก็บ คือ

2.3.1 ประเภทที่มีเชื้อยังมีชีวิตอยู่ นมเปรี้ยวที่ผ่านกระบวนการโฮโมจไนซ์แล้ว จะทำให้เย็นแล้วมาบรรจุขวดปิดฝาอะลูมิเนียมฟอยล์ สามารถเก็บไว้ในตู้เย็นได้ประมาณ 2-3 สัปดาห์ ซึ่งนมเปรี้ยวประเภทนี้จะมุ่งให้ผู้บริโภคได้รับประโยชน์จากเชื้อแบคทีเรียที่เติมลงไปมากกว่าประโยชน์จากนมสด จึงไม่เหมาะสำหรับเด็กเล็กในการบริโภค

2.3.2 ประเภทผ่านการพาสเจอไรส์ นมเปรี้ยวที่ผ่านการผสมน้ำผลไม้หรือน้ำเชื่อมแล้วผ่านการพาสเจอไรซ์ โฮโมจีไนซ์ และบรรจุปิดฝาอะลูมิเนียมฟอยล์ สามารถเก็บไว้ในตู้เย็นได้นานกว่า 1 เดือน ผู้บริโภคจะได้รับประโยชน์จากปริมาณน้ำตาลแลคโตสเท่านั้น ส่วนประโยชน์จากเอนไซม์กาแล็กโตซิเดสและแบคทีเรียจะหมดไปเนื่องจากถูกทำลายด้วยความร้อน

2.3.4 ประเภทผ่านกระบวนการยูเอชที นมเปรี้ยวที่ผ่านการผสมน้ำผลไม้หรือน้ำเชื่อมแล้วผ่านการโฮโมจีไนซ์และฆ่าเชื้อด้วยกระบวนการยูเอชทีบรรจุในกล่องกระดาษสามารถเก็บไว้ได้ที่อุณหภูมิห้องได้ไม่น้อยกว่า 6 เดือน ส่วนประโยชน์ที่ได้รับเหมือนนมเปรี้ยวพาสเจอไรซ์

โยเกิร์ตพร้อมดื่มหรือนมเปรี้ยวซึ่งเตรียมได้จากการผสมโยเกิร์ตกับน้ำเชื่อมในอัตราส่วนที่เท่าๆ กัน ผลิตภัณฑ์ที่ได้จึงมีความหนืดต่ำ อาจมีการปรุงแต่งกลิ่นรสโดยการเติมน้ำผลไม้ (fruit juice) หรือสารแต่งกลิ่นรสลงไป ลักษณะของโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ดีต้องมีเนื้อเนียน (smooth) มีความมันเงา (silky body) และเนื้อสัมผัสมีลักษณะคล้ายนมผสมไอศกรีม (milk shake) การที่จะทำให้ได้โยเกิร์ตพร้อมดื่มที่มีลักษณะที่ดีตามต้องการนั้น นอกจากจะขึ้นกับคุณภาพที่ดีของโยเกิร์ตแล้วจะต้องมีการเลือกใช้สารให้ความคงตัว (stabilizer) ที่เหมาะสมด้วย (จิตติมาและคณะ, 2538)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโยเกิร์ต

หัวเชื้อเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในการผลิตโยเกิร์ต ลักษณะที่ต้องการของหัวเชื้อโยเกิร์ตคือ ปลอดจากการปนเปื้อน เจริญได้ดีในส่วนผสมของนมที่ใช้เตรียมโยเกิร์ต ให้กลิ่นรสที่ต้องการ โครงสร้างลักษณะเนื้อดี และต้านทานต่อ phages และสารปฏิชีวนะ ในการสร้างกลิ่น (flavour) และลักษณะของเนื้อสัมผัส (texture) ต้องใช้หัวเชื้อผสมของ *Lactobacillus bulgaricus* และเชื้อ *Streptococcus thermophilus* โดยทั่วไปจะใช้หัวเชื้อทั้งสองชนิดนี้ในอัตราส่วนที่เท่ากัน

โดยทั่วไปหัวเชื้อที่ใช้ประกอบด้วยเชื้อสายพันธุ์ผสมของ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Steptococcus thermophilus* ในสัดส่วนที่เท่ากัน แบคทีเรียเหล่านี้จะมีความสัมพันธ์แบบพึ่งพากันเมื่อใช้ร่วมกันที่เรียกว่า symbiosis โดยปกติจะใช้เชื้อทั้งสองเจริญด้วยกันภายใต้สภาวะที่ควบคุมเพื่อให้ได้เชื้อจุลินทรีย์ที่มีสมดุลที่ถูกต้อง (วราวุฒิและรุ่งนภา, 2532)

ลักษณะการพึ่งพาอาศัยกันของจุลินทรีย์เหล่านี้ในหัวเชื้อโยเกิร์ต คือ เริ่มแรกเชื้อ *Streptococcus thermophilus* มีอุณหภูมิการหมักที่เหมาะสมที่ 40 องศาเซลเซียส ทำให้เชื้อเจริญขึ้นอย่างเด่นชัด ระหว่างการหมักช่วงแรกนี้จะเกิดการเปลี่ยนแปลงหลายอย่างขึ้นมา เชื้อ Streptococci เป็นจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดไดอะเซทิล diacetyl กลิ่นรสคล้ายครีมเนย (creamy/buttery) ในผลิตภัณฑ์สุดท้าย (วราวุฒิและรุ่งนภา, 2532)

เชื้อ Streptococci นี้จะช่วยกำจัดออกซิเจนออกจากนมซึ่งถ้าหากเหลืออยู่อาจทำให้เกิดไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ การเจริญจะดำเนินต่อไปจนกระทั่งความเป็นกรดถึง pH 5.5 จะมีสารอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อ Lactobacilli ต่อไป

เชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* มีอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญที่ 45 องศาเซลเซียส และยังให้ปริมาณกรดแลคติกที่มากพอที่จะสร้างอะซีตัลดีไฮด์ (acetaldehyde) ซึ่งให้กลิ่นรสที่เฉพาะของโยเกิร์ตได้ ในกรรีของโยเกิร์ตที่มีกลิ่นรสดีมากจะมีปริมาณอะซีตัลดีไฮด์ อยู่ 23-41 ppm คิดเป็นสัดส่วนของสารประกอบที่ให้กลิ่นรส (volatile flavour compound) ถึง 90% นอกจากนี้แล้วเชื้อ *L. bulgaricus* จะปล่อยกรดอะมิโนที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ Streptococci อีกด้วย (วราวุฒิและรุ่งนภา, 2532)

ในระหว่างการหมัก อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเชื้อสายพันธุ์ผสมจะเท่ากับ 40-42 องศาเซลเซียส เนื่องจากอุณหภูมินี้หัวเชื้อโยเกิร์ตที่ผสมกันสามารถทำกิจกรรมร่วมกันได้สูงสุด เนื่องจากหัวเชื้อทั้งสองชนิดนี้มีอุณหภูมิการหมักที่เหมาะสมสำหรับแต่ละสายพันธุ์แตกต่างกัน ที่อุณหภูมิการหมัก 45 องศาเซลเซียส จะเหมาะสมต่อการสร้างกรดของเชื้อสายพันธุ์ *Lactobacillus bulgaricus* และที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียสจะเหมาะสมสำหรับการสร้างกรดของเชื้อสายพันธุ์ *Streptococcus thermophilus* (วราวุฒิและรุ่งนภา, 2532)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสร้างกรดแลคติก (production of lactic acid)

หัวเชื้อ *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus* จะย่อยสลายน้ำตาลแลคโตสให้เป็นกรดแลคติกดังกล่าวมาแล้ว ซึ่งสรุปดังสมการต่อไปนี้

$$C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O \longrightarrow 4C_3H_6O_3$$

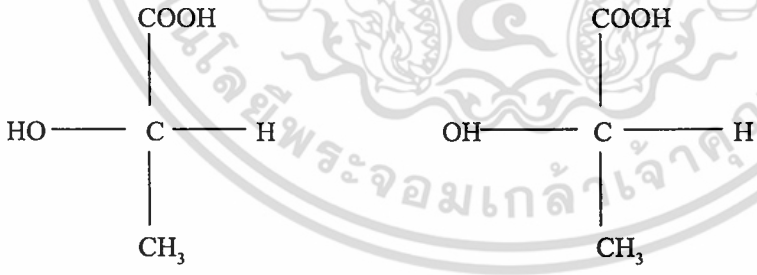
Lactose water Lactic acid

ภาพที่ 2.1 แสดงการเปลี่ยนน้ำตาลแลคโตสเป็นกรดแลคติก
ที่มา : วราวุฒิและรุ่งนภา (2532)

กรดแลคติกที่ได้มีความสำคัญต่อโยเกิร์ตคือ

1. casein micelles ตกตะกอนที่ pH 4.6-4.7 รวมทั้งทำให้เกิดลักษณะของโยเกิร์ตดังกล่าวมาแล้วในตอนต้น
2. กรดแลคติกจะให้รสชาติที่เฉพาะคือรสเปรี้ยวและแหลม (sharp and acidic taste) ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต ทำให้ได้กลิ่นรสที่หอม

เชื้อแลคติกจะมีเอนไซม์แลคเตส ดีไฮโดรจีเนส (lactate dehydrogenase : LDH) สำหรับสร้างกรดแลคติกจากกรดไพรูวิคที่ได้ในระหว่างการหมักนม กรดแลคติกที่ได้จะมีรูป (isomers) ที่แตกต่างกันคือเป็น L(+) หรือ D(-) ซึ่งมีโครงสร้างของอะตอมแตกต่างกันเฉพาะอะตอมคาร์บอนที่สองดังนี้



L(+) lactic acid D (-) lactic acid

ภาพที่ 2.2 แสดงโครงสร้างกรดแลคติกชนิด L(+) และ ชนิด D(-)
ที่มา : วราวุฒิและรุ่งนภา (2532)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยทั่วไปในการหมักโยเกิร์ต หัวเชื้อโยเกิร์ตที่ใช้นั้น *Streptococcus thermophilus* จะให้กรดแลคติกในรูป L (+) (L(+) lactic acid) ขณะที่เชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* จะให้กรดแลคติกในรูป D(-) (D(-) lactic acid) แต่ในการหมักโยเกิร์ตนี้เชื้อ *Streptococcus thermophilus* จะเจริญได้เร็วกว่าเชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* ดังนั้นกรดแลคติกในรูปของ L(+) จะเกิดขึ้นก่อน แล้วจึงเกิดกรดแลคติกในรูป D(-) ภายหลัง ด้วยเหตุนี้ เปอร์เซ็นต์ของกรดแลคติกรูปต่างๆในโยเกิร์ตนี้สามารถสรุปสภาพของการหมักที่เกิดขึ้นได้ดังนี้

(1) โยเกิร์ตที่มีกรดแลคติกในรูป L(+) มากกว่า 70% แสดงว่าหัวเชื้อโยเกิร์ตที่ใช้ส่วนใหญ่เป็นพวก *Streptococcus thermophilus* หรืออุณหภูมิที่ใช้ในการหมักเกิดขึ้นที่ต่ำกว่า 40 องศาเซลเซียส (ซึ่งเป็นอุณหภูมิการหมักที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *Streptococcus thermophilus*) หรือโยเกิร์ตจะถูกทำให้เย็นในขณะที่เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกต่ำกว่าประมาณ 0.8% หรือน้อยกว่า

(2) โยเกิร์ตที่มีกรดแลคติกในรูป D(-) มากกว่ากรดแลคติกในรูป L(+) แสดงว่าจะบ่มหัวเชื้อที่อุณหภูมิค่อนข้างสูงคือ 45 องศาเซลเซียส หรือมากกว่า หรือหมักเวลานานเกินไปทำให้ได้โยเกิร์ตที่มีเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกสูงขึ้น หรือหัวเชื้อมี *Lactobacillus bulgaricus* มากกว่าเชื้อ *Streptococcus thermophilus*

โดยทั่วไปโยเกิร์ตมักจะมีกรดแลคติกในรูป L(+) ประมาณ 45-60% และกรดแลคติกในรูป D(-) ประมาณ 40-55% ซึ่งอัตราส่วนของ L(+) :D(-) จะใช้การประเมินคุณภาพของโยเกิร์ต ทั้งนี้จากการหาอัตราส่วนของ L(+) : D(-) ดังกล่าว ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่มีจำหน่ายในท้องตลาด พบว่ามีค่าตั้งแต่ 0.35 (เปรี้ยวมาก) ถึง 8.25 (กรดแลคติกในรูป D (+) เด่น) แต่โยเกิร์ตที่ดีควรมีอัตราส่วนนี้เท่ากับสอง อย่างไรก็ตาม การประเมินคุณภาพด้วยวิธีนี้ยังขึ้นกับความต้องการของผู้บริโภคในท้องถิ่นด้วย (วรวุฒิและรุ่งนภา, 2532)

ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่มีแบคทีเรียแลคติกที่มีชีวิตมีแนวโน้มเป็นที่นิยมสำหรับผู้บริโภคมากขึ้น เนื่องจากแบคทีเรียแลคติกบางสายพันธุ์สามารถเจริญได้ในลำไส้ของมนุษย์ และช่วยในระบบการย่อยอาหารทำให้มีสุขภาพดีตัวอย่างเช่น *Lactobacillus acidophilus* และ *Bifidobacterium bifidum* ซึ่งใช้ในการผลิตนมหมักที่เรียกว่า Acidophilus milk และผลิตภัณฑ์นมหมักที่คล้ายโยเกิร์ต (Yoghurt like milk)

จากการที่จุลินทรีย์แลคติกยังสามารถมีชีวิตอยู่ได้หลังจากการหมัก (ยกเว้นชนิดพาสเจอร์ไรซ์หรือ สเตอริไลซ์ เพื่อยืดอายุการเก็บรักษา) และยังสามารถทำหน้าที่มีคุณสมบัติในการส่งเสริมสุขภาพ จุลินทรีย์เหล่านี้ถูกนำมาใช้เป็นโพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์อีกหลายชนิดรวมทั้งโยเกิร์ตด้วย จึงก่อให้เกิดผลดีแก่ผู้บริโภคทั้งผู้ที่มีสุขภาพดีอยู่แล้วเพื่อยังคงมีสุขภาพดีต่อไปตลอดจนผู้ที่มีปัจจัยเสี่ยงต่อโรคเกี่ยวกับทางเดินอาหาร หรือแม้กระทั่งผู้บริโภคที่เป็นโรคแพ้น้ำตาลแลคโตส (lactose intolerance) (จารุวรรณ์, 2543)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในระบบทางเดินอาหารจะมีจุลินทรีย์มากกว่า 50 ชนิด ทั้งที่มีประโยชน์และเป็นโทษต่อร่างกาย ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้จะอาศัยอาหารโดยเฉพาะคาร์โบไฮเดรตที่เหลือจากการย่อยและดูดซึมของมนุษย์เอง จุลินทรีย์สุขภาพ คือ จุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย ได้แก่ bifidobacteria และ lactobacilli ซึ่งหลังจากได้ย่อยสารอาหารคาร์โบไฮเดรตบางชนิดจะสร้างกรด acetate และ amine สร้างวิตามินบี และน้ำย่อยบางชนิด สร้างสาร immunomodulator เพิ่มความต้านทานต่อเซลล์มะเร็งและปรับจำนวนจุลินทรีย์อื่นๆที่เป็นประโยชน์ต่อลำไส้ให้คงอยู่หลังจากได้ยาปฏิชีวนะ จุลินทรีย์สุขภาพเหล่านี้เรียกว่าเป็น โพรไบโอติก (จารุวรรณ์, 2543)

2.5 เชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก (Probiotic cultures) ที่ใช้ในผลิตภัณฑ์นมหมัก

จุลินทรีย์โพรไบโอติก คือเชื้อจุลินทรีย์ที่เมื่อบริโภคเข้าไปจะให้ผลที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภคโดยเฉพาะระบบทางเดินอาหาร เชื้อจุลินทรีย์ที่จัดเป็นเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก คือเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก (Lactic acid bacteria) ที่พบในทางเดินอาหารของคนและสัตว์ และในอาหารหมักดองต่างๆ ซึ่งอยู่ในจีนัส (Genus) *Lactobacillus, Enterococcus* และ *Bifidobacterium* (Klein *et al.*,1999)

เชื้อแบคทีเรียในจีนัส *Lactobacillus* ที่จัดเป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติกได้แก่ *L. Acidophilus, L. crispatus, L. amylovorus, L. gallinarum, L. gasseri, L. johnsonii, L. casei, L. paracasei, L. ramnosus, L. reuteri* และ *L. fermentum*

เชื้อแบคทีเรียในจีนัส *Enterococcus* ที่จัดเป็นเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก ได้แก่ *Ec. faecalis* และ *Ec.faecium* (ทั้งสองชนิดนี้แต่เดิมถูกจัดอยู่ในจีนัส *Streptococcus*)

เชื้อแบคทีเรียในจีนัส *Bifidobacterium* เกือบทุกชนิดจัดเป็นเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก สัตว์แต่ละชนิดจะมีชนิดและสายพันธุ์ของ Bifidobacteria เฉพาะ แต่มีที่สำคัญที่ใช้ในปศุสัตว์และคนคือ *B. animalis, B.longum, B. bifidum,* และ *B. infantis* (Klein *et al.*,1999)

***Bifidobacterium* spp.**

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (Gram-positive) ย้อมสี Acid fast ไม่ติด เคลื่อนที่ด้วยตนเองไม่ได้ (Non-motile) และไม่สร้างสปอร์ (Non-spore forming) ลักษณะของเซลล์เป็นรูปแท่งที่มีหลายรูปแบบ เช่น เป็นแท่งสั้น เป็นแท่งปกติ อาจเป็นเซลล์ผอมหรือมีปลายเรียวแหลม (Pointed end) เป็นต้น และยังจัดเป็นแบคทีเรียประเภทไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic bacteria) ไม่เจริญเติบโตในสภาพที่มีออกซิเจนเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37-41 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำสุดที่สามารถเจริญได้ คือที่ 25-28 องศาเซลเซียส อุณหภูมิสูงสุดที่สามารถเจริญได้ คือที่ 43-45 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตคือที่ 6.5-7.0 ไม่เจริญที่ค่าความกรด-ด่าง 4.5-5.0 หรือที่ 8.0-8.5 หมักน้ำตาลกลูโคสให้เป็น

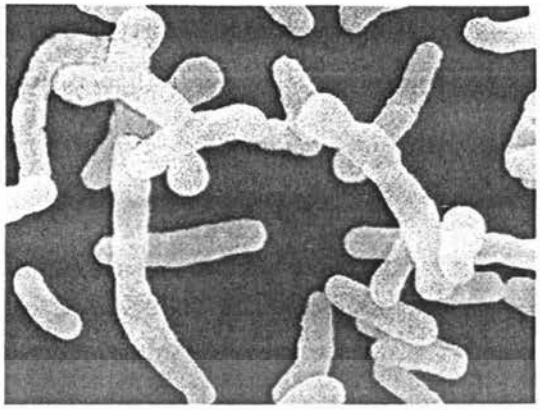
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดอะซิติกและกรดแลคติกในอัตราส่วน 3:2 ไม่สังเคราะห์คาร์บอนไดออกไซด์ (Scardovi, 1986) ถูกค้นพบครั้งแรกในปีค.ศ. 1900 โดย Henry Tissier แห่งสถาบันห้องปฏิบัติการปาสเตอร์ (Pasteur Laboratory) ในอุจจาระของเด็กทารก (Huges and Hoover, 1991) Bifidobacteria ในคนเริ่มเจริญเติบโตหลังจากทารกได้รับน้ำนมจากแม่ เนื่องจากน้ำนมแม่จะมี N-acetylglucosamine เป็น Growth factor จะมีปริมาณมากที่สุดในวัยทารกนี้ แล้วมีปริมาณลดลงเมื่อมีอายุมากขึ้น

คุณประโยชน์ของ *Bifidobacterium* spp. ซึ่งจำแนกออกมาได้ดังนี้ (Huges and Hoover, 1991)

- รักษาสมดุลของเชื้อจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหาร เช่นควบคุมการเจริญเติบโตของเชื้อโคลิฟอร์ม (Colifirm) Enterocooci และ Clostridia ในทารกที่ได้รับน้ำนมแม่ เด็กที่มีปริมาณ Bifidibacteria สูงสามารถต้านทานต่อการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารได้ดี
- บรรเทาอาการแพ้น้ำตาลแลคโตส อันเนื่องมาจากร่างกายไม่ผลิตเอนไซม์ β-galactosidase ที่ย่อยน้ำตาลแลคโตสซึ่งส่วนใหญ่เป็นคนเชื้อชาติเอเชียและอัฟริกา ตัวอย่างงานวิจัยเช่นการให้ผู้ทดสอบดื่มนมที่มีเชื้อ *Bifidobacterium longum* B6 อยู่ พบว่าสามารถลดอาการแพ้น้ำตาลแลคโตสลงได้
- กิจกรรมการต่อต้านสารก่อเนื้องอก (Anti-tumerigenic activity) และกิจกรรมการต่อต้านสารก่อมะเร็งของ Bifidobacteria ทั้งทางตรงและทางอ้อม ทางตรงเช่น การลดปริมาณของสารไนโตรซามีน (Nitrosamine) ของ *B. breve* ที่ผลิตขึ้นเป็นต้น ทางอ้อมได้แก่ การลดแหล่งของ Procarcinogens หรือเอนไซม์ที่สร้างสารก่อมะเร็ง โดยการควบคุมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่สังเคราะห์สารเหล่านี้
- ลดระดับปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือด โดยกลไกของการลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือดของ Bifidobacteria ยังไม่แน่ชัด แต่ได้มีงานวิจัยที่ให้หนูกิน Bifidobacteria แล้วระดับคอเลสเตอรอลในเลือดของหนูลดลง
- สังเคราะห์วิตามินบี (B-complex vitamins) Bifidobacteria สามารถสังเคราะห์วิตามินบีได้หลายชนิด เช่น วิตามินบีหนึ่ง, บีสอง และบีหก รวมทั้งวิตามินเค เมื่ออาศัยอยู่ในลำไส้ วิตามินจะถูกดูดซึมอย่างช้าๆเข้าสู่ร่างกาย
- กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย (Immunumodulating effect)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

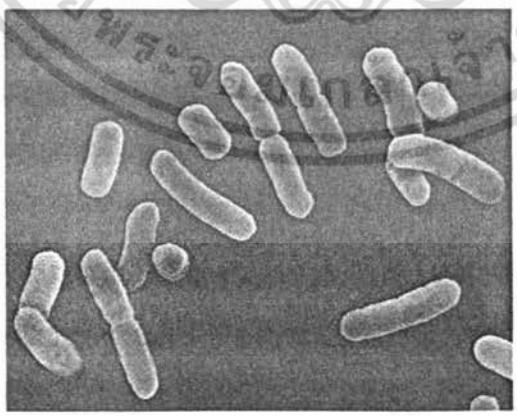


ภาพที่ 2.3 แสดงลักษณะของ เชื้อ Bifidobacteria

ที่มา : www.reptilerooms.com/section+index-reg-viewarticle-art

Lactobacillus acidophilus

เป็นแบคทีเรียชนิดแกรมบวก เซลล์มีลักษณะเป็นแท่งปลายมน เซลล์อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว เป็นคู่ หรือเป็นสายสั้นๆ มีการหมักน้ำตาล Hexose แบบ Homofermentative แยกได้จากลำไส้ของคนและสัตว์ ปาก และช่องคลอดของคน (Kandler and Weiss, 1986) เคยถูกจัดให้อยู่ใน Subgenus *Thermobacterium* ที่แบ่งโดยช่วงอุณหภูมิในการเจริญเติบโต และรูปแบบในการหมักน้ำตาล Hexose (Homofermentative หรือ Heterofermentative) ซึ่งปัจจุบันไม่ใช้แล้ว แต่จะแบ่งแบบ Molecular based subgroup ดังตารางที่ 2.1 เจริญเติบโตได้ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 15-45 องศาเซลเซียส จัดเป็นแบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิสูง (Thermophilic bacteria)



ภาพที่ 2.4 แสดงลักษณะของเชื้อ *L. acidophilus*

ที่มา : www.reptilerooms.com/section+index-reg-viewarticle-art

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 การจัดแบ่งกลุ่มแบคทีเรียในจีนัส *Lactobacillus* เป็น Subgenus และแบบ Molecular Subgroup

กลุ่มของ Lactobacillus	รูปแบบการหมัก Hexose	อุณหภูมิในการเจริญ	ชนิดที่ใช้เป็นโพรไบโอติก
Subgenus			
Thermobacterium	Homofermentative	15 °C ไม่เจริญ 20 °C ไม่เจริญ 45 °C ไม่เจริญ	*L. acidophilus* group
Streptobacterium	Homofermentative	15 °C 45 °C	*L. casei group* *L. sake / curvatus*
Betabacterium	Heterofermentative	ไม่มีกฎตายตัว	*L. reuteri/ l. fermrntum*
Molecular based subgroups			
Group A	เป็นHomofermentative ทั้งหมด (หมักน้ำตาล Pentose ไม่ได้)	ไม่ใช้	*L. acidophilus* group
Group B	เป็น Heterofermentative บ้าง (หมักน้ำตาล Pentose ได้ก๊าซ)	ไม่ใช้	*L. casei* group *L. sake / curvatus*
Group C	เป็น Heterofermentative ทั้งหมด (หมักกลูโคส และ Pentose ได้ก๊าซ)	ไม่ใช้	*L. reuteri / L. fermentum*

ที่มา : Klein *et al.* (1999)

คุณประโยชน์ของ *L. acidophilus* ซึ่งจำแนกออกมาได้ดังนี้ (Gililand ,1989)

- รักษาสมดุลของเชื้อจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหาร และการควบคุมเชื้อโรคที่ติดต่อทางระบบทางเดินอาหาร มีรายงานวิจัยมาตั้งแต่ปี ค.ศ. 1900 แล้วว่า *L. acidophilus* และ *B.bifidum* มีบทบาทในการยับยั้งเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหารทั้งในสิ่งมีชีวิต (*in vivo*) และในห้องทดลอง *(in vitro) L. acidophilus* หลายสารพันธุ์สามารถสังเคราะห์ยาปฏิชีวนะได้เช่น *L. acidophilus* 11088 ผลิต Lactacin F *L. acidophilus* LAPT ผลิต Acidophilucin A เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ควบคุมระดับคอเลสเตอรอลในเลือด *L.acidophilus* เมื่อเจริญเติบโตในสภาพที่เหมาะสม คือ อยู่ในสภาพไร้ออกซิเจน (Anaerobic condition) และมีน้ำดี (Bile) เป็นส่วนประกอบ จะสามารถใช้โคเลสเตอรอล (Cholesterol assimiation) ได้

- ปรับปรุงความสามารถในการย่อยน้ำตาลแลคโตสในคนที่ไม่สามารถย่อยน้ำตาลแลกโตสได้ *L.acidophilus* สามารถสังเคราะห์เอนไซม์ β-galactosidase ได้เช่นเดียวกับ Bifidobacteria

- การต่อต้านสารก่อมะเร็ง (Anticarcinogenic actions) และสารก่อกลายพันธุ์ (Antimutagenicity) แบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกส่วนใหญ่สามารถต่อต้านการเกิดสารก่อมะเร็ง เช่น การใช้นมหมักโดยเชื้อ *L. acidophilus* LA-2 ให้คนดื่ม

- การกระตุ้นภูมิคุ้มกันของร่างกาย (Immunomodulating effects) มีสมมติฐานว่าแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกหลายสายพันธุ์มีความสามารถในการกระตุ้นภูมิคุ้มกันของร่างกาย

2.6 ชาเขียว (Green tea)

ชาเขียว หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากส่วนที่เป็นใบอ่อน ยอดอ่อนที่ยังไม่คลี่ และก้านใบที่ยังอ่อนอยู่ของต้นชาที่มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Camellia sinensis* ซึ่งนำมาผึ่งให้อ่อนตัวอบหรือคั่วพอหมาด บดคลึงให้ม้วนตัวแล้วทำให้แห้งโดยการอบหรือคั่วหรืออย่างอีกครั้งหนึ่ง (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2526)

ชนิดของใบชา

ชาเป็นพืชเครื่องดื่ม (beverage crop) ที่ได้ความนิยมมากชนิดหนึ่ง ซึ่งมีความเป็นมาเก่าแก่ที่สุดของโลก จีนเป็นชาติแรกที่นิยมดื่มน้ำชา จากนั้นก็ได้แพร่กระจายไปทั่วโลกจนเป็นเครื่องดื่มนิยมบริโภคกันอย่างกว้างขวาง (สัณห์, 2535)

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (2526) กล่าวถึง ใบชาที่ขายในท้องตลาดในปัจจุบันว่ามี 2 ชนิด ซึ่งได้จากใบชาชนิดเดียวกันแต่แตกต่างกันตามกรรมวิธีการผลิต ได้แก่

1. ชาจีน (Chinese Tea , Leave Tea) ส่วนใหญ่ได้จากประเทศจีนและญี่ปุ่น ชาวจีน นิยมดื่มชาประเภทนี้กันมาก จึงเรียกว่าชาจีน ใบชาที่เก็บมาแล้วต้องรีบนำมาคั่วให้แห้งโดยเร็วเพื่อทำลายเอนไซม์และป้องกันไม่ให้เกิดการหมัก ชาจีนที่มีคุณภาพดีเมื่อชงแล้วจะได้ชาที่มีสีเหลืองปนเขียว ชาจีนมีทั้งชากลิ่นและชาคอ ชากลิ่นจะมีกลิ่นหอม ส่วนชาคอเมื่อชงน้ำดื่มจะชุ่มคอมากกว่า ชาจีนได้ถูกแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

1.1 ชาเขียว (Green tea, non-Fermented Tea) เป็นชาที่ไม่ผ่านการหมักหรือไม่มีขั้นตอนการหมักในระหว่างกระบวนการผลิต มีชื่อต่างๆ เช่น ชาญี่ปุ่น (Sencha, Sentya) ชุนหมี่ (Chun-Mee) หลงจิ่ง (Lung Ching) ไปหลอชุน (Pilochun) เป็นต้น แบ่งตามกรรมวิธีการผลิตออกเป็น 2 ประเภท คือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.1.1 ชาเขียวแบบญี่ปุ่น (Japanese Green Tea, Sen-Cha)

1.1.2 ชาเขียวแบบจีน (Chinese Green Tea)

1.2 ชากึ่งหมัก (Semi-Fermented Tea, Partially-Fermented Tea) เป็นชาที่มีการหมักใบชาสดระหว่างขั้นตอนกระบวนการผลิตเพียงบางส่วน แยกได้เป็น 3 กลุ่ม คือ

1.2.1 กลุ่มหมักอ่อน : ผ่านการหมัก 10-15% ได่แก่ ชาเปาจ้งหรือชาชินชา (Pouchong, Chincha) ชาขาว (White Tea)

1.2.2 กลุ่มหมักปานกลาง : ผ่านการหมักประมาณ 20% ได้แก่ ชาตุงติง (Tong-Ting) เตไกวอิน(Tekuanwin) สุ้ยเซียน (Sueishen)

1.2.3 กลุ่มหมักแก่ : ผ่านการหมักไม่ต่ำกว่า 30% ได้แก่ ชาแมนดารินอูหลง (Mandarin Oolong) เพนฝั้น (Penfun)

2. ชาฝรั่ง (Black Tea) มักได้จากประเทศอินเดียและศรีลังกา ใบชาที่เก็บมาจะนำมากองสุมให้เกิดการหมักเพื่อให้เกิดกลิ่นหอม ใบชาจะถูกขยี่ให้เซลล์แตกเพื่อเป็นการเร่งปฏิกริยาการหมักให้เร็วขึ้น เมื่อได้กลิ่นตามต้องการแล้วนำใบชาที่ได้มาทำให้แห้งด้วยความร้อน ชาที่ได้จึงมีสีดำ

<u>องค์ประกอบทางเคมีของใบชา</u>

องค์ประกอบทางเคมีของใบชามีความสำคัญเกี่ยวข้องกับปฏิกริยาเคมีต่างๆที่เกิดขึ้นในขบวนการผลิตชา และมีผลกระทบต่อคุณภาพสี กลิ่น และรสชาติของน้ำชา ใบชาสดประกอบด้วยสารอินทรีย์ (Organic compounds) และสารประกอบอนินทรีย์ (Inorganic compounds) ในปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับพันธุ์ การปฏิบัติดูแลรักษา สภาพแวดล้อมและอายุใบ การที่จะให้ผลิตภัณฑ์ชามีคุณภาพดีนั้นนอกจากทุกขั้นตอนของขบวนการผลิตต้องควบคุมให้ละเอียดถูกต้องแล้ว วัตถุดิบยอดชาสดที่นำมาแปรรูปต้องมีองค์ประกอบทางเคมีที่เหมาะสมด้วย (สัณฑ์, 2535)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 แสดงองค์ประกอบทางเคมีของยอดชา

องค์ประกอบทางเคมี	เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้งรวม(%)
Protein	15
Fiber	26
Pigment	2
Fatty acid	7
Cafein	4
Polyphenol	30
Amino acid	4
Mineral salt	5
Carbohydrate	7
Valotile oil	0.1

ที่มา : สัณห์ (2535)

1. สารอนินทรีย์ในใบชา (Inorganic compounds)

สารอนินทรีย์ที่พบในใบชาส่วนใหญ่อยู่ในรูปเกลือภายใน cell sap สารอนินทรีย์ที่พบในปริมาณสูงได้แก่ ธาตุโปแตสเซียม รองลงมาได้แก่ ธาตุแคลเซียม ฟอสฟอรัสและแมกนีเซียม ส่วนธาตุเหล็ก แมงกานีส ซัลเฟอร์ อลูมิเนียม โซเดียม ซิลิคอน สังกะสี และทองแดง พบในปริมาณต่ำมาก

2. สารอินทรีย์ในใบชา (Organic compounds)

สารอินทรีย์ที่พบในปริมาณสูงและมีผลต่อคุณภาพของใบชา ได้แก่ โพลีฟีนอล โปรตีน คาเฟอีน กรดอะมิโนและสารให้กลิ่น

Polyphenol : สารโพลีฟีนอลในใบชาสดอยู่ใน cell sap ของเซลใบชาชั้น Palisade ซึ่งเกี่ยวข้องกับการเกิดรสฝาด (Atrigent Taste) และสีของน้ำชา สารโพลีฟีนอลที่พบส่วนใหญ่ ได้แก่แทนนิน ซึ่งเป็นสารฟลาโวนอยด์ชนิดหนึ่ง แทนนินในใบชาสามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่ม คือ

1. Catechin
2. Flavanols และ Flavanol glycosides
3. Flavones (Leucoanthocyanins)
4. Phenolic acids และ Depsides

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แทนนินทั้ง 4 กลุ่มนี้ มีทั้งชนิดที่สามารถแตกตัวได้ด้วยน้ำ (Hydrolysable Tennins) เมื่อถูกความร้อนหรือกรดเจือจาง และชนิดที่ไม่แตกตัวในน้ำ (Condensed Tennins)

<u>สารประกอบและผลต่อร่างกายของชาเขียว</u>

1. คาเทชิน (Catechins) เป็นสารฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ชนิดพิเศษ ตัวที่สำคัญคือเอพิแกลโลคาเทชิน กาเลท (Epigallocatechin Gallate, EGCG) ซึ่งเกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่าง epi-catechin และ epi-gallocatechin โดยจะพบถึง 30% ของฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่มีในชาเขียว
   - ช่วยลดภาวะเป็นพิษของสารก่อมะเร็ง
   - แทรกแซงกระบวนการเกาะยึดของสารก่อมะเร็งที่มีผลต่อดีเอ็นเอ (DNA)ของเซลล์
   - เป็นสารแอนติออกซิแดนท์จึงช่วยป้องกันร่างกายจากอนุมูลอิสระ
   - ป้องกันไม่ให้เซลล์เนื้องอกก่อตัว โดยจะทำงานร่วมกับสารแอนติออกซิแดนท์และเอนไซม์อื่นๆในลำไส้ ในตับ และในปอด และกำจัดการลุกลามของเซลล์เนื้องอก
   - ลดปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือด
   - ยับยั้งการเพิ่มขึ้นของความดันโลหิต
   - ยับยั้งการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลในเลือด
   - มีฤทธิ์ฆ่าเชื้อแบคทีเรีย และไวรัสหวัด (Influenza Virus)
   - ลดกลิ่นปาก
2. คาเฟอีน (Caffeeine)
   - ช่วยกระตุ้นให้ร่างกายรู้สึกสดชื่น กระปรี้กระเปร่า มีชีวิตชีวามากขึ้น
   - ไม่ทำมลห่างกายรู้สึกเหนื่อยอ่อน
   - ช่วยขับปัสสาวะ
3. กาบา (GABA – Gamma Amino Butyric Acid)
   - ช่วยลดความดันโลหิต
4. ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)
   - เป็นสารแอนติออกซิแดนท์ที่ดี โดยการช่วยดักจับอนุมูลอิสระออกซิเจนโมเลกุลเดี่ยวและเปอร์ออกไซด์ เพื่อป้องกันเซลล์เนื้อเยื่อถูกทำลาย
   - ช่วยเสริมสร้างความแข็งแรงให้แก่ผนังเซลล์เลือด
5. วิตามินซี (Vitamin C)
   - เป็นสารแอนติออกซิแดนท์ที่ดี
   - ช่วยลดความเครียด
   - ต่อต้านภาวะติดเชื้อและเสริมการทำงานของระบบภูมิคุ้มกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

97007

6. วิตามินบีรวม (Vitamin B Complex)
   - ช่วยเสริมการทำงานในกระบวนการเมตาบอลิซึมคาร์โบไฮเดรต
7. วิตามินอี (Vitamin E)
   - เป็นสารแอนติออกซิแดนท์ที่ดี
   - ช่วยชะลอความแก่
8. เบตาแคโรทีน (Beta-Carotene)
   - ป้องกันเยื่อเมือกในช่องปาก โพรงจมูก หลอดอาหาร และในปอด
9. โพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharides)
   - ช่วยเสริมความแข็งแรงให้กับเคลือบฟัน
10. โพลีแซคคาไรด์ (Polysaccharides)
   - ช่วยลดปริมาณน้ำตาลในเลือด
11. คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll)
   - ช่วยทำความสะอาด
   - ช่วยชะลอความแก่ และถนอมความสวยงามของร่างกาย
12. กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric Acid)
   - ทำให้ระบบการเผาผลาญอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายดีขึ้น
   - บรรเทาอาการเจ็บอันเนื่องจากโรคไทรอยดี
13. แร่แมงกานีส
   - ทำให้ระบบการเผาผลาญอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายดีขึ้น
   - มีความสุขทางเพศมากขึ้น
   - ลดอาการปวดประจำเดือน
14. เทนนิน (Tannin)
   - ยับยั้งจุลินทรีย์ชนิด Colon bacillus และ *Staphylcoccus aureus*
   - เพิ่มความยืดหยุ่นของกล้ามเนื้อหัวใจ และผนังหลอดเลือด

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

นงค์นภา (2544) ศึกษาถึงอิทธิพลของสมุนไพรต่อการเจริญของจุลินทรีย์โยเกิร์ตในโยเกิร์ตพร้อมดื่มผสมสมุนไพร รสขิง รสชาหม่อน รสตะไคร้ รสส้มแขก และผลของสมุนไพรต่อคุณภาพการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ 18 วัน พบว่าสีของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตพร้อมดื่มสมุนไพรทั้ง 4 ชนิดไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อสังเกตด้วยตาเปล่า แต่กลิ่นของสมุนไพรมีกลิ่นลดลงตามระยะเวลาในการเก็บรักษา ผลิตภัณฑ์เริ่มเกิดการแยกชั้นในวันที่ 12 และแยกชั้นอย่างชัดเจนในวันที่ 14 ของการเก็บรักษา สำหรับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าความเป็นกรด มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ค่าความเป็นกรด-ด่างมีค่าลดลงอย่างช้าๆ ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตพร้อมดื่มสูตรควบคุมและโยเกิร์ตพร้อมดื่มผสมสมุนไพรสูตรต่างๆ และเมื่อทำการวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ พบว่าสมุนไพรที่ใช้เป็นส่วนผสมในการทำโยเกิร์ตพร้อมดื่มคือ ขิง ชาหม่อน ตะไคร้ และส้มแขก ไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โยเกิร์ตและอายุการเก็บรักษา

Song และคณะ (1992) ได้ทำการศึกษากลิ่นรสของโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่มีการเติมโสมแดงสกัดที่ระดับ 0.1 0.5 และ 1.0 % โดยทำการวิเคราะห์ผลปัจจัยด้านต่างๆ ที่ 3 , 6 , 9 , 12 , 15 และ 18 ชั่วโมงของการบ่มเชื้อ พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของทุกตัวอย่างมีค่าลดลงในระหว่างการบ่ม โดยตัวอย่างที่มีโสมแดงสกัด 0.5 % มีค่าความเป็นกรด-ด่าง ลดลงต่ำกว่าตัวอย่างอื่นๆอย่างมากและมีเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกสูงสุดในชั่วโมงสุดท้ายของการบ่มเชื้อ เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกของทุกตัวอย่างมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วที่ชั่วโมงการบ่มที่ 6 และ 9 ในด้านการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ต พบว่า ปริมาณโสมแดงสกัดที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้การเจริญของจุลินทรีย์โยเกิร์ต ในระหว่างการบ่ม โดยโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่มี 0.5 % ของโสมแดงสกัด มีปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ตสูงสุดหลังจากการบ่ม 9 ชั่วโมง มีลักษณะปรากฏ เนื้อสัมผัส และกลิ่นรส ที่ดีกว่าตัวอย่างอื่น รวมทั้งยังมีปริมาณของ อะเซตัลดีไฮด์ , ไดอะซิทิล , 2-เฮปเทน และ ฟอร์มัลดีไฮด์ มากสุด

Dave และ Shah (1996) ได้ศึกษาการรอดชีวิตของแบคทีเรียโยเกิร์ต และแบคทีเรียโพรไบโอติกระหว่างการผลิตและการเก็บรักษา 35 วัน ในโยเกิร์ตที่ผลิตจากเชื้อสำเร็จรูป 4 ชนิด พบว่าเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกและความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณออกซิเจนมีแนวโน้มลดลงและเพิ่มขึ้นคล้ายกันระหว่างการผลิตและการเก็บรักษา ขณะที่ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มขึ้น การเพิ่มจำนวนของเชื้อโพรไบโอติกระหว่างการผลิตและการรอดชีวิตระหว่างการเก็บรักษาขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์โยเกิร์ตที่ใช้ด้วย การอยู่รอดของ *L. acidophilus* เกี่ยวข้องกับจำนวนของ *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ขณะที่ Bifidobacteria มีความทนทานในโยเกิร์ตที่มี *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ได้ดีกว่า จุลินทรีย์โพรไบโอติกทั้งสองชนิดรอดชีวิตมากขึ้นในผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณออกซิเจนน้อยลง อุณหภูมิในการเก็บรักษามีผลต่อการอยู่รอดชีวิตของ Bifidobacteria แต่ไม่มีผลต่อ *L. acidophilus* การเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์กรดและความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณออกซิเจนและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส และ 10 องศาเซลเซียส มีค่าใกล้เคียงกันมาก เชื้อสำเร็จรูปมีปริมาณ Bifidobacteria ลดลง 3 log cycle จากเชื้อเริ่มต้นมากกว่า 10^6 cell/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วัตถุดิบ อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 นมพร่องมันเนย ตราโฟร์โมสต์

3.1.2 หางนมผง (NZMP, Newzealand)

3.1.3 เพคติน (Food & Cosmetic Sytem Co.,LTD.)

3.1.4 เชื้อจุลินทรีย์ทางการค้า (DVS-Freeze dried)(Chr. Hansen, Denmark)

3.2 สารเคมี

3.2.1 สารสำหรับวิเคราะห์ด้านเคมี

3.2.1.1 โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 นอร์มอล

3.2.1.2 Phenolphthalein 0.5%

3.2.2 สารสำหรับวิเคราะห์ด้านจุลินทรีย์

3.2.2.1 Tryptone

3.2.2.2 Yeast Extract

3.2.2.3 Tween 80

3.2.2.4 Di-Potassium hydrogen phosphate

3.2.2.5 Sodium acetate, $3H_2O$

3.2.2.6 di-Ammonium hydrogen citrate

3.2.2.7 Magnesium sulphate, $7H_2O$

3.2.2.8 Manganese(II) - sulphate, H_2O

3.2.2.9 Agar

3.2.2.10 Maltose

3.2.2.11 Glucose

3.2.2.13 Dichloxallin

3.2.2.14 LiCl

3.2.2.15 Cystein hydrochloride

3.2.2.16 Peptone 0.1 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.3.1 pH meter (Inolab, Germany)

3.3.2 water bath (Memmert, Germany)

3.3.3 Blender สำหรับปั่นผสมน้ำนม (Philips, Thailand)

3.3.4 Thermometer (60 องศาเซลเซียส)

3.3.5 ตู้บ่มเชื้ออุณหภูมิ (43 ± 1 , 37 ± 1 องศาเซลเซียส) (Kendo, Germany)

3.3.6 เครื่องวัดความหนืด (Brookfield RV, USA)

3.3.7 เครื่องวัดสี (Minolta, Japan)

3.4 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

3.4.1 เชื้อหมักโยเกิร์ต

ใช้เชื้อสำเร็จรูป (Freeze-dried (DVS)) ประกอบด้วยเชื้อ 4 ชนิด ได้แก่ *Streptococcus thermophilus , Lactobacillus bulgaricus , Lactobacillus acidophilus* และ *Bifidobacteria* spp.

3.4.2 การเตรียมโยเกิร์ตพร้อมดื่ม

อุ่นน้ำนมไขมัน 2% ปริมาณ 100 กรัม ให้มีอุณหภูมิในช่วง 60-65 องศาเซลเซียส

↓

เติมหางนมผง 3%(โดยน้ำหนัก)

↓

พาสเจอไรซ์ที่ 85 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที

↓

ทำให้เย็นที่ 43±1 องศาเซลเซียส

↓

เติมหัวเชื้อ Freeze dried 0.02 % (โดยน้ำหนัก)

↓

บรรจุลงในถ้วย

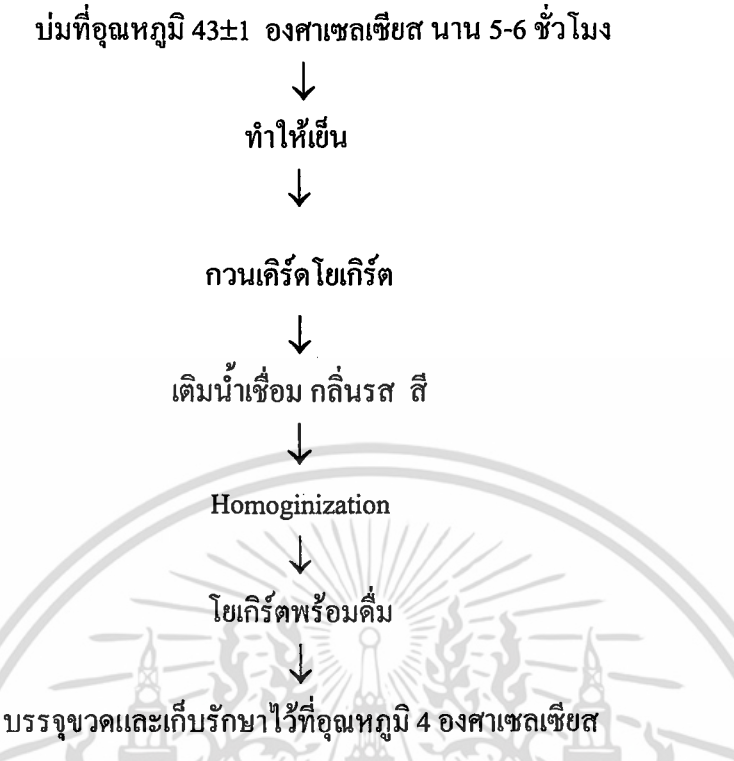
↓

ปิดฝา

↓

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ จันทบุรี



ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการเตรียมโยเกิร์ตพร้อมดื่ม
ที่มา : ดัดแปลงจาก Spreer (1995)

3.4.3 ศึกษาการเจริญและพฤติกรรมการผลิตกรดของเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ตและเชื้อโพรไบโอติก เพื่อระยะเวลาและปริมาณเชื้อที่เหมาะสมในการทำโยเกิร์ตพร้อมดื่ม

ศึกษาอัตราการเจริญเติบโตและการผลิตกรดแลคติกของเชื้อโพรไบโอติกในโยเกิร์ตโดยการนำโยเกิร์ตที่มีการเติมหัวเชื้อ Freeze dried มาทำการบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 43±1 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก (titratable acidity, %lactic acid) ความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณเชื้อ โดยเก็บตัวอย่างที่ 0 , 2 , 4 , 6 , 8 , 10 ชั่วโมง

3.4.3.1 วิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

- เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก โดยไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล ใช้ฟีนอล์ทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ (Schmidt *et al*, 2001)
- วัดความเป็นกรดด่าง (pH) ของโยเกิร์ตด้วยเครื่องวัด pH Meter (Schmidt *et al*., 2001)

3.4.3.2 วิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

3.4.3.2.1 ตรวจนับเชื้อ Lactic acid bacteria ทั้งหมดในโยเกิร์ต ด้วยวิธี pour plate บนอาหาร MRS agar และสารประกอบ $CaCO_3$ แล้วบ่มในตู้บ่มอุณหภูมิ 43±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วันจึงทำการตรวจนับโคโลนี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.3.2.2 ตรวจนับเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ทั้งหมดในโยเกิร์ต ด้วยวิธี pour plate บนอาหาร MRS-IM agar พร้อมด้วยสารละลาย maltose ที่ทำการผสมขึ้นเองด้วยวิธีปลอดเชื้อแล้วบ่มในตู้บ่มอุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วันจึงทำการตรวจนับโคโลนี (Chr. Hansen , 2001)

3.4.3.2.3 ตรวจนับเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ทั้งหมดในโยเกิร์ต ด้วยวิธี pour plate บนอาหาร MRS-IM Agar ที่มีองค์ประกอบของสารละลายกลูโคส สารละลาย dichloxallin สารละลาย LiCl และสารละลาย cysteine hydrochloride ที่ทำการผสมขึ้นเองด้วยวิธีปลอดเชื้อแล้วบ่มในตู้บ่มอุณหภูมิ 37±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน จึงทำการตรวจนับโคโลนี (Chr. Hansen , 2001)

3.4.4 ประเมินระดับความชอบของผู้ชิมที่มีต่อโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียว

3.4.4.1 ทำการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่มีระดับความหวานของน้ำเชื่อม 3 ระดับ คือ 20 , 22 และ 24 °Brix และปริมาณชาเขียว 2 ระดับ คือ 0.3 และ 0.5 %(โดยน้ำหนัก) โดยวางแผนการทดลองแบบ Factorial in Randomized Complete Block Design ขนาด 2×3 โดยใช้ผู้ทดสอบที่ไม่ได้รับการฝึกฝน จำนวน 30 คน และทดสอบด้วยวิธี Hedonic Scale 7 point (1= ไม่ชอบมากที่สุด , 7=ชอบมากที่สุด) โดยใช้แบบทดสอบดังภาคผนวก ข

3.4.4.2 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยนำข้อมูลมาประเมินผลหาความแตกต่างโดยวิเคราะห์ความแปรปรวนของคะแนนโดยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ด้วยโปรแกรม SPSS version 11.0

ตารางที่ 3.1 แสดงสูตรโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ระดับความหวานน้ำเชื่อมและปริมาณชาเขียวต่างๆ

สูตรที่	ระดับความหวานน้ำเชื่อม (°Brix)	ปริมาณชาเขียว (%)
1	20	0.3
2	20	0.5
3	22	0.3
4	22	0.5
5	24	0.3
6	24	0.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.5 ศึกษาผลของสารสกัดชาเขียวต่อการเจริญของเชื้อโพรไบโอติกบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.4.5.1 เตรียมสารสกัดชาเขียว

สกัดสารจากชาเขียวด้วยน้ำร้อนที่มีอุณหภูมิประมาณ 80 องศาเซลเซียสปริมาณ 100 มิลลิลิตรละลายผงชาเขียวจำนวน 1 กรัม คนชาเขียวและน้ำร้อนให้เข้ากัน ปิดฝาแล้วทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที จากนั้นจึงกรองน้ำชาที่ได้ด้วย microfilter (0.45 ไมครอน)

3.4.5.2 เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนประกอบของสารสกัดชาเขียว

นำสารสกัดชาเขียวมาผสมรวมกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วในปริมาณ 3 % และ 5 %(โดยน้ำหนัก) ตามลำดับ โดยการอุ่นอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีอุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส แล้วจึงเติมสารสกัดชาเขียวปลอดเชื้อผสมให้เข้ากัน โดยอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทำการผสมกับน้ำชาเขียวสกัดแล้วควรใช้ทำการทดลองทันที ไม่ควรทำเก็บไว้หรือเก็บไว้ใช้ในครั้งต่อไป

3.4.5.3 ศึกษาผลของสารสกัดชาเขียวต่อการเจริญของเชื้อโพรไบโอติกบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

นำเชื้อโพรไบโอติกเริ่มต้นที่เตรียมไว้(ทำการบ่มในอาหารเฉพาะของแต่ละเชื้อเป็นเวลา 6 และ 12 ชั่วโมง) มาทำการเลี้ยงเชื้อบนอาหารที่มีสารสกัดชาเขียวที่ระดับปริมาณ 0 , 3 และ 5 % (โดยน้ำหนัก) ตามลำดับ

3.4.5.3.1 ตรวจนับเชื้อ Lactic acid bacteria ทั้งหมดในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารสกัดชาเขียวเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีสารสกัดชาเขียว (วิธีการเหมือนข้อ 3.4.3.2.1)

3.4.5.3.1 ตรวจนับเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ทั้งหมดในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารสกัดชาเขียวเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีสารสกัดชาเขียว (วิธีการเหมือนข้อ 3.4.3.2.2)

3.4.5.3.2 ตรวจนับเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ทั้งหมดในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารสกัดชาเขียวเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีสารสกัดชาเขียว (วิธีการเหมือนข้อ 3.4.3.2.3)

3.4.6 ศึกษาผลของศึกษาผลของสารประกอบในชาเขียวที่มีผลต่อการอยู่รอดของเชื้อโพรไบโอติกในโยเกิร์ตพร้อมดื่มและคุณภาพการเก็บรักษาโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียว

นำโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวซึ่งมีปริมาณชาเขียวต่างกัน คือ 0% (control) ,0.3% และ 0.5% (โดยน้ำหนัก) มาทำการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ทางกายภาพ และทางจุลินทรีย์ ทำการวิเคราะห์ทุกๆ 3 วัน เป็นเวลา 18 วัน โดยการเก็บรักษาโยเกิร์ตพร้อมดื่มนี้ไว้ที่ 4±1 องศาเซลเซียส

3.4.6.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี (วิธีการเหมือนข้อ 3.4.3.1)

3.4.6.2 การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

- วัดค่าความหนืดของโยเกิร์ตพร้อมดื่มด้วยเครื่องวัดความหนืด
- วัดสีของโยเกิร์ตพร้อมดื่มด้วยเครื่องวัดสี

3.4.6.3 การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ (วิธีการเหมือนข้อ 3.4.3.2)

3.4.6.3.1 ตรวจนับเชื้อ Lactic acid bacteria ทั้งหมดในอาหารเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อที่มีสารสกัดชาเขียวเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีสารสกัดชาเขียว (วิธีการเหมือนข้อ 3.4.3.2.1)

3.4.6.3.2 ตรวจนับเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ทั้งหมดในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารสกัดชาเขียวเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีสารสกัดชาเขียว (วิธีการเหมือนข้อ 3.4.3.2.2)

3.4.6.3.3 ตรวจนับเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ทั้งหมดในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารสกัดชาเขียวเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีสารสกัดชาเขียว (วิธีการเหมือนข้อ 3.4.3.2.3)

3.4.6.3.4 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ โดยนำข้อมูลของจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่เหลือรอดที่ระยะเวลาในการเก็บต่างๆ ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่มีปริมาณชาเขียวต่างกัน มาทำการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ โดยใช้แผนการทดลองแบบ Randomized Complete Block Design และประเมินผลหาความแตกต่างของจำนวนเชื้อที่เหลือรอด โดยวิธี Analysis of Variance (ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ด้วยโปรแกรม SPSS version 11.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ศึกษาการเจริญและพฤติกรรมการผลิตกรดของเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ตและเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกเพื่อหาระยะเวลาและปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมในการผลิตโยเกิร์ตพร้อมดื่ม

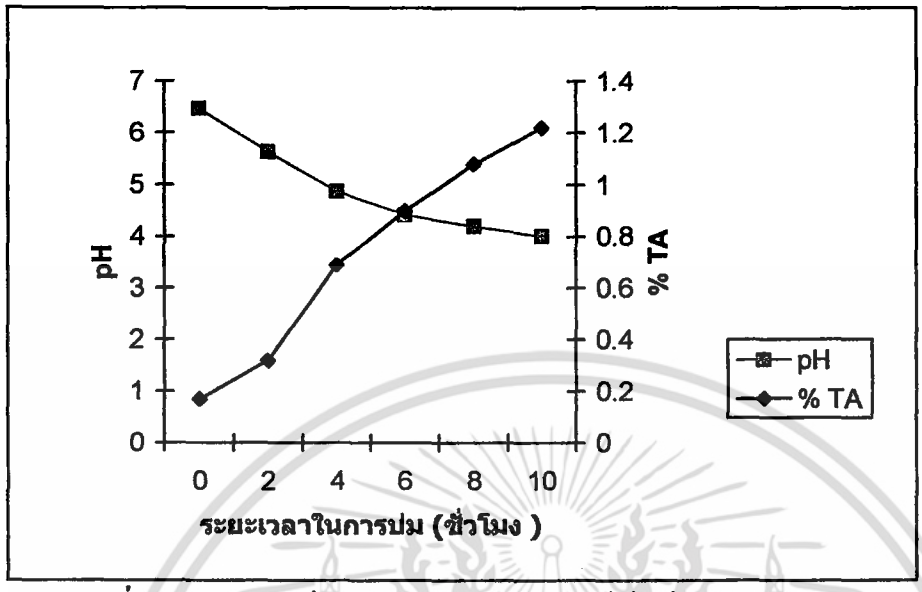
จากการทดลองผลิตโยเกิร์ตโดยใช้เชื้อผสมของเชื้อทั้ง 4 ชนิด คือ *S. thermophilus* , *L. bulgaricus* , *L. acidophilus* และ Bifidobacteria ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 43±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 ชั่วโมง แล้วทำการตรวจวิเคราะห์ทางด้านเคมี โดยการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก และทำการวิเคราะห์ด้านจุลินทรีย์ โดยตรวจนับจำนวนโคโลนีของเชื้อ Lactic acid bacteria ทั้งหมด เชื้อจุลินทรีย์ *L. acidophilus* และ Bifidobacteria ทุก ๆ 2 ชั่วโมง ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 แสดงคุณภาพของโยเกิร์ตและจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์ Lactic acid bacteria และเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกในโยเกิร์ตที่บ่ม ณ อุณหภูมิ 43±1 องศาเซลเซียส ใช้ระยะเวลาในการบ่มทั้งหมด 10 ชั่วโมง

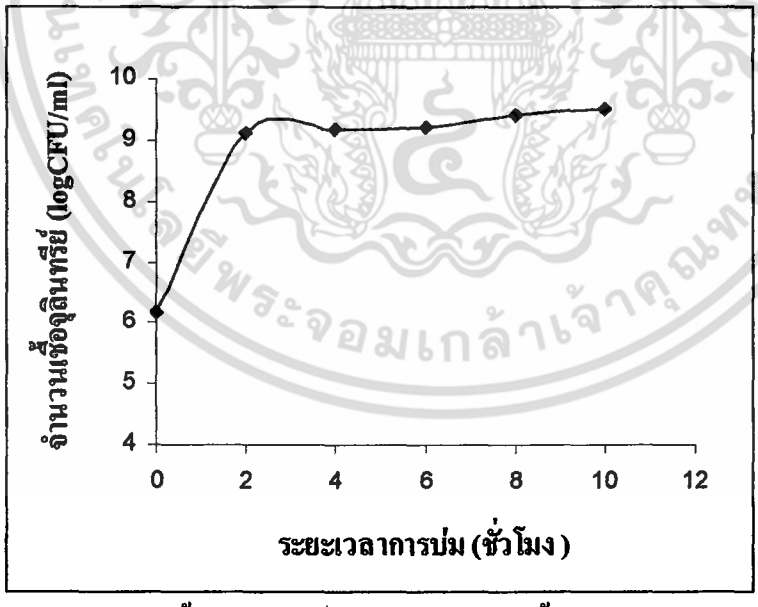
เวลา (ชั่วโมง)	เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก	ค่าความเป็นกรด-ด่าง	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ Total LAB		จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ *L. acidophilus*	
			CFU/ml	logCFU/ml	CFU/ml	logCFU/ml
0	0.17	6.47	$1.5x10^6$	6.18	$1.3x10^6$	6.11
2	0.32	5.63	$1.3x10^9$	9.11	$1.4x10^9$	9.15
4	0.69	4.88	$1.6x10^9$	9.20	$1.7x10^9$	9.23
6	0.90	4.42	$1.7x10^9$	9.23	$2.0x10^9$	9.30
8	1.08	4.20	$2.6x10^9$	9.41	$2.3x10^9$	9.36
10	1.22	4.01	$3.2x10^9$	9.50	$3.0x10^9$	9.48

หมายเหตุ สำหรับจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก *Bifidobacterium* spp. นั้น ตรวจพบจำนวนน้อยกว่า 1 โคโลนี ในทุกๆ ระยะเวลาในการบ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

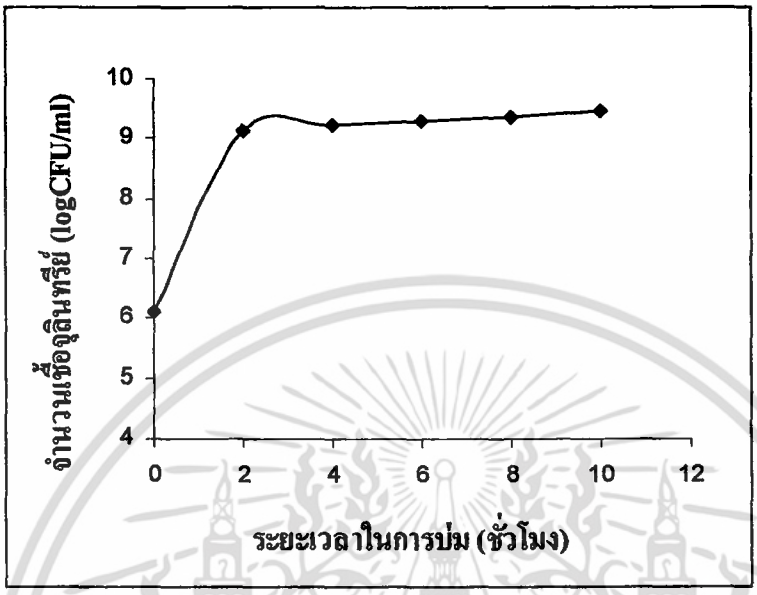


ภาพที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง (pH) และเปอร์เซ็นต์กรดแลกติก (%TA)ในระหว่างการบ่มโยเกิร์ตที่ 43±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0-10 ชั่วโมง



ภาพที่ 4.2 การเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ lactic acid bacteria ทั้งหมด ในระหว่างการบ่มโยเกิร์ต เป็นเวลา 0 - 10 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 43±1 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.3 การเจริญเติบโตของเชื้อ *L. acidophilus* ในระหว่างการบ่มโยเกิร์ตที่อุณหภูมิ 43±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 - 10 ชั่วโมง

จากการทดลองพบว่าเมื่อใช้ระยะเวลาในการบ่มนานขึ้นค่าความเป็นกรด-ด่าง เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกของโยเกิร์ตมีการเปลี่ยนแปลงคือ ความเป็นกรด-ด่าง ของโยเกิร์ตมีค่าลดลง และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกมีค่าสูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากกระบวนการหมักโยเกิร์ตทำให้น้ำตาลแลคโตสในน้ำนมเปลี่ยนเป็นกรดแลคติกโดยการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ตและเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก พบว่าความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรด-ด่าง และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก มีความสัมพันธ์กันในเชิงลบ โดยค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.978 สำหรับปริมาณ lactic acid bacteria และเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* มีแนวโน้มเพิ่มมากขึ้นตามระยะเวลานานขึ้น ดังนั้นในการผลิตโยเกิร์ตเพื่อให้ได้โยเกิร์ตที่มีคุณภาพดี คือมี pH อยู่ในช่วง 4.2-4.4 ควรทำการผลิตโยเกิร์ตเมื่อใช้หัวเชื้อในกลุ่มดังกล่าว โดยทำการบ่มที่อุณหภูมิ43±1 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง ทำให้มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 4.42 เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก เท่ากับ 0.90 และมีปริมาณเชื้อ lactic acid bacteria และ เชื้อ *Lactobacillus acidophilus* เท่ากับ 1.7×10^{9} CFU/ml. และ 2.0×10^{9} CFU/ml. ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การประเมินระดับความชอบของผู้ชิมที่มีต่อโยเกิร์ตพร้อมดื่มรสชาเขียว

จากการประเมินระดับความชอบของผู้ชิมที่มีต่อผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตพร้อมดื่มโดยการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผู้ชิมจำนวน 30 คน ด้วยวิธี 7- point Hedonic Scale ได้ผลแสดงดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 แสดงระดับคะแนนการยอมรับทางประสาทสัมผัสของนมเปรี้ยวพร้อมดื่มรสชาเขียว

สูตรที่	°Brix	ปริมาณชาเขียว (%)	ปัจจัยคุณภาพ				
			สี	กลิ่น	ความหวาน	ความฝาด	การยอมรับโดยรวม
1	20	0.3	3.93 ± 0.98^{b}	4.03 ± 0.85^{d}	4.80 ± 0.85^{b}	4.20 ± 0.76^{c}	4.86 ± 0.73^{b}
2	20	0.5	3.80 ± 1.15^{b}	4.13 ± 0.73^{d}	4.76 ± 0.77^{b}	0.96 ± 0.76^{b}	4.90 ± 1.02^{b}
3	22	0.3	3.16 ± 0.84^{c}	4.09 ± 0.71^{c}	5.46 ± 0.89^{a}	5.76 ± 0.8^{a}	5.70 ± 0.9^{a}
4	22	0.5	5.36 ± 0.96^{a}	5.43 ± 1.07^{ab}	5.67 ± 0.96^{a}	5.53 ± 0.73^{a}	5.76 ± 0.67^{a}
5	24	0.3	3.63 ± 1.09^{bc}	5.03 ± 0.88^{bc}	4.70 ± 0.97^{b}	4.83 ± 1.04^{b}	4.60 ± 0.95^{b}
6	24	0.5	5.00 ± 1.17^{a}	5.60 ± 1.00^{a}	4.93 ± 0.64^{b}	4.70 ± 1.13^{b}	4.73 ± 0.84^{b}

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ยกขึ้นในแนวตั้งที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

จากการทดลองทางประสาทสัมผัสพบว่า คะแนนความชอบด้านสี กลิ่น ความหวาน ความฝาด และการยอมรับโดยรวมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($P<0.05$) โดยที่โยเกิร์ตพร้อมดื่มสูตรที่ 4 (น้ำเชื่อม 22 °Brix ชาเขียว 0.5%) ได้รับคะแนนความชอบทางด้านสี ความหวาน และความชอบโดยรวมมากที่สุด คือ คุณสมบัติแต่ละด้านมีเกณฑ์ความชอบเล็กน้อยถึงชอบมาก แต่คะแนนความชอบด้านความหวาน ความฝาด และการยอมรับโดยรวมไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P> 0.05$) กับโยเกิร์ตพร้อมดื่มสูตรที่ 3 (น้ำเชื่อม 22 °Brix ชาเขียว 0.3%)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ศึกษาผลของสารสกัดชาเขียวต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

เมื่อทำการบ่มเชื้อจุลินทรีย์ Lactic acid bacteria ทั้งหมดในอาหารเหลว MRS และ $CaCO_3$ เชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก *L. acidophilus* ในอาหารเหลว MRS ที่ประกอบด้วยสารละลาย maltose และเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก *Bifidobacterium* spp. ในอาหารเหลว MRS ที่ประกอบด้วยสารละลาย glucose สารละลาย Dichloxallin สารละลาย LiCl และ สารละลาย Cysteine hydrochloride เป็นระยะเวลา 6 และ 12 ชั่วโมง แล้วทำการตรวจนับจำนวนเชื้อบนอาหารที่มีชาเขียวเป็นส่วนผสม ได้ผลดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารสกัดชาเขียวที่ระดับ 0 , 3 และ 5 % (โดยน้ำหนัก) เป็นส่วนผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อนั้น

ระยะเวลาในการบ่มเชื้อในอาหารเหลว (ชั่วโมง)	จำนวนโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์ (logCFU/ml)								
	Total LAB			*L.acidophilus*			*Bifidobacterium* spp.		
	0%	3%	5%	0%	3%	5%	0%	3%	5%
6	6.92	7.02	6.97	6.96	7.10	7.04	*	*	*
12	8.07	8.00	7.99	8.84	8.89	9.15	*	*	*

หมายเหตุ * หมายถึง ตรวจพบโคโลนีของเชื้อน้อยกว่า 1 โคโลนี

จากการทดลองพบว่า จุลินทรีย์ lactic acid bacteria และจุลินทรีย์ *Lactobacillus acidophilus* สามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนผสมของสารสกัดชาเขียวอยู่ 3 และ 5% จากตารางที่ 4.3 ปริมาณเชื้อ lactic acid bacteria ที่เลี้ยงบนอาหารที่มีส่วนผสมของชาเขียว 3 และ 5% (โดยน้ำหนัก) มีปริมาณเชื้อใกล้เคียงกันคือ 7.02 และ 6.97 (logCFU/ml) ตามลำดับที่ระยะเวลาในการบ่มเชื้อในอาหารเหลว 6 ชั่วโมง 8.00 และ 7.99 (logCFU/ml) ตามลำดับที่ระยะเวลาในการบ่มเชื้อในอาหารเหลว 12 ชั่วโมง โดยมีปริมาณเชื้อไม่แตกต่างจากการเลี้ยงเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณชาเขียว 0% สำหรับเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* มีแนวโน้มการเจริญของเชื้อเช่นเดียวกับ เชื้อ lactic acid acid โดยปริมาณเชื้อดังกล่าวไม่แตกต่างจากการเลี้ยงเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณชาขียว 0 , 3 และ 5%(โดยน้ำหนัก) แสดงว่าสารสกัดชาเขียวไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ lactic acid bacteria และ *Lactobacillus acidophilus* สำหรับเชื้อ *Bifidobacterium* spp.จำนวนจุลินทรีย์ที่ตรวจพบน้อยกว่า 1 CFU/ml จึงไม่สามารถสรุปผลได้ว่าสารสกัดชาเขียวมีผลต่อการเจริญของเชื้อดังกล่าวหรือไม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ศึกษาผลของสารประกอบในชาเขียวที่มีผลต่อการอยู่รอดของเชื้อโพรไบโอติกในโยเกิร์ตพร้อมดื่มและคุณภาพการเก็บรักษาโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียว

<u>การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีและทางจุลินทรีย์</u>

ผลิตโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ไม่มีส่วนผสมของชาเขียวและโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่มีส่วนผสมของชาเขียวในปริมาณ 0.3 และ 0.5 %(โดยน้ำหนัก) แล้วทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 18 วัน วิเคราะห์คุณภาพทางด้านเคมีและทางจุลินทรีย์ ทุก ๆ 3 วัน ได้ผลแสดงดังตารางที่ 4.4 และตารางที่ 4.5

ตารางที่4.4 ความเป็นกรด-ด่าง และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกของโยเกิร์ตพร้อมดื่มในปริมาณชาเขียวต่างกันที่เก็บรักษา ณ อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส ในระยะเวลาการเก็บต่างๆ

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	ความเป็นกรด-ด่าง			เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก		
	ชาเขียว 0%	ชาเขียว 0.3%	ชาเขียว 0.5%	ชาเขียว 0%	ชาเขียว 0.3%	ชาเขียว 0.5%
0	4.10	4.08	4.07	0.58	0.60	0.62
3	4.08	4.07	4.05	0.60	0.63	0.64
6	4.05	4.02	4.01	0.64	0.65	0.68
9	3.99	3.96	3.96	0.65	0.67	0.69
12	3.96	3.95	3.93	0.67	0.68	0.70
15	3.92	3.91	3.91	0.68	0.71	0.72
18	3.89	3.88	3.87	0.71	0.72	0.73

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.4 ความเป็นกรด-ด่าง ของโยเกิร์ตพร้อมดื่มรสชาเขียวที่มีระดับความหวานของน้ำเชื่อม 22 °Brix และมีปริมาณชาเขียว 0, 0.3 และ 0.5%(โดยน้ำหนัก) เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส นาน 18 วัน โดยทุกๆ 3 วันทำการวัดค่าดังกล่าวด้วยเครื่อง pH meter พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างมีแนวโน้มลดลง โดยโยเกิร์ตพร้อมดื่มรสชาเขียวที่มีปริมาณชาเขียว 0 , 0.3 ละ 0.5 %(โดยน้ำหนัก) ที่อายุการเก็บรักษา 0 วัน มีค่า pH เท่ากับ 4.10, 4.08 และ 4.07 ตามลำดับและที่อายุการเก็บรักษา 18 วัน ค่าความเป็นกรด-ด่าง ลดลงเท่ากับ 3.89 , 3.88 และ 3.87 และที่อายุการเก็บรักษานานเท่ากันแต่ปริมาณชาเขียวในโยเกิร์ตพร้อมดื่มต่างกันพบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่าง มีค่าใกล้เคียงกัน สำหรับค่าเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกของโยเกิร์ตพร้อมดื่มรสชาเขียว พบว่ามีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นตามอายุ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเก็บรักษา โดยโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่มีปริมาณชาเขียว 0, 0.3 และ 0.5 % ที่อายุการเก็บรักษา 0 วัน มีเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกเท่ากับ 0.58 , 0.60 และ0.62 ตามลำดับ และที่อายุการเก็บรักษา 18 วัน มีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 0.71 , 0.72 และ0.73 และที่อายุการเก็บรักษาเดียวกันแต่ปริมาณชาเขียวโยเกิร์ตต่างกัน พบว่ามีเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกใกล้เคียงกัน ทั้งนี้ค่าความเป็นกรด-ด่าง และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกที่เปลี่ยนแปลงแสดงให้เห็นว่ายังเกิดการสร้างกรดแลคติก ดังนั้นในโยเกิร์ตพร้อมดื่มรสชาเขียวนี้ยังมีเชื้อจุลินทรีย์เหลือรอดอยู่ตลอดอายุการเก็บรักษา

ตารางที่ 4.5 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มในปริมาณชาเขียว 0 , 0.3 และ 0.5 %(โดยน้ำหนัก) จากวันที่ 0 – 18 ของการเก็บรักษาที่ 4±1 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	Total LAB (CFU/ml)			*L.acidophilus* (CFU/ml)		
	ชาเขียว 0%	ชาเขียว 0.3%	ชาเขียว 0.5%	ชาเขียว 0%	ชาเขียว 0.3%	ชาเขียว 0.5%
0	$21x10^8$	$15x10^8$	$20x10^8$	$21x10^8$	$20x10^8$	$21x10^8$
3	$18x10^8$	$15x10^8$	$15x10^8$	$12x10^8$	$11x10^8$	$96x10^7$
6	$11x10^8$	$12x10^8$	$12x10^8$	$88x10^7$	$94x10^7$	$84x10^7$
9	$75x10^7$	$80x10^7$	$85x10^7$	$92x10^7$	$99x10^7$	$11x10^8$
12	$62x10^7$	$67x10^7$	$65x10^7$	$68x10^7$	$63x10^7$	$63x10^7$
15	$42x10^7$	$50x10^7$	$50x10^7$	$66x10^7$	$59x10^7$	$65x10^7$
18	$36x10^7$	$38x10^7$	$21x10^7$	$52x10^7$	$56x10^7$	$62x10^7$

หมายเหตุ สำหรับจำนวนเชื้อของ *Bifidobacterium* spp. นั้น ตรวจพบโคโลนีของเชื้อน้อยกว่า 1 โคโลนี ในทุกๆ ระยะเวลาในการเก็บรักษา

จากการทดลองพบว่า เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาโยเกิร์ตพร้อมดื่มนานขึ้น ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ lactic acid bacteria ทั้งหมด และเชื้อ *L. acidophilus* มีปริมาณลดลงอย่างต่อเนื่อง แต่จำนวนเชื้อที่เหลืออยู่ในแต่ละวันของการเก็บรักษาของเชื้อจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดดังกล่าวมีปริมาณเชื้อใกล้เคียงกัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มในปริมาณชาเขียวต่างกัน คือ 0 , 0.3 และ 0.5 %(โดยน้ำหนัก) ดังแสดงในตารางที่ 4.6 และ 4.7 แสดงว่าชาเขียวในโยเกิร์ตพร้อมดื่มไม่มีผลต่อการเจริญและการอยู่รอดของเชื้อ lactic acid bacteria และเชื้อโพรไบโอติก *L. acidophilus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ปริมาณเชื้อ Lactic acid bacteria ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่มีปริมาณชาเขียว 0 , 0.3 และ 0.5 % (โดยน้ำหนัก) จากวันที่ 0 – 18 ของการเก็บรักษาที่ 4±1 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	จำนวนเชื้อ (logCFU/ml)		
	ชาเขียว 0%^{ns}	ชาเขียว 0.3%	ชาเขียว 0.5%
0^{a}	9.32	9.17	9.30
3^{a}	9.25	9.17	9.18
6^{ab}	9.04	9.08	9.08
9^{bc}	8.87	8.90	8.93
12^{bc}	8.79	8.83	8.81
15^{cd}	8.62	8.70	8.70
18^{d}	8.55	8.58	8.32

ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ยกขึ้นในแนวตั้งที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

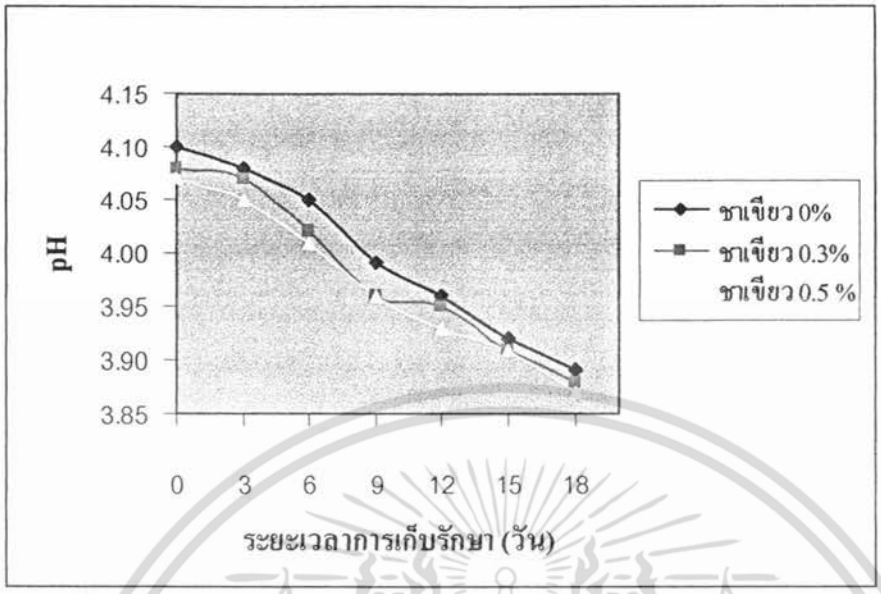
ตารางที่ 4.7 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวที่มีปริมาณชาเขียว 0 , 0.3 และ 0.5 %(โดยน้ำหนัก) จากวันที่ 0 – 18 ของการเก็บรักษาที่ 4±1 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	จำนวนเชื้อ (logCFU/ml)		
	ชาเขียว 0%^{ns}	ชาเขียว 0.3%	ชาเขียว 0.5%
0^{a}	9.32	9.30	9.32
3^{ab}	9.08	9.04	8.98
6^{ab}	8.94	8.97	8.92
9^{b}	8.96	8.99	9.04
12^{b}	8.83	8.80	8.80
15^{b}	8.82	8.77	8.81
18^{b}	8.72	8.75	8.79

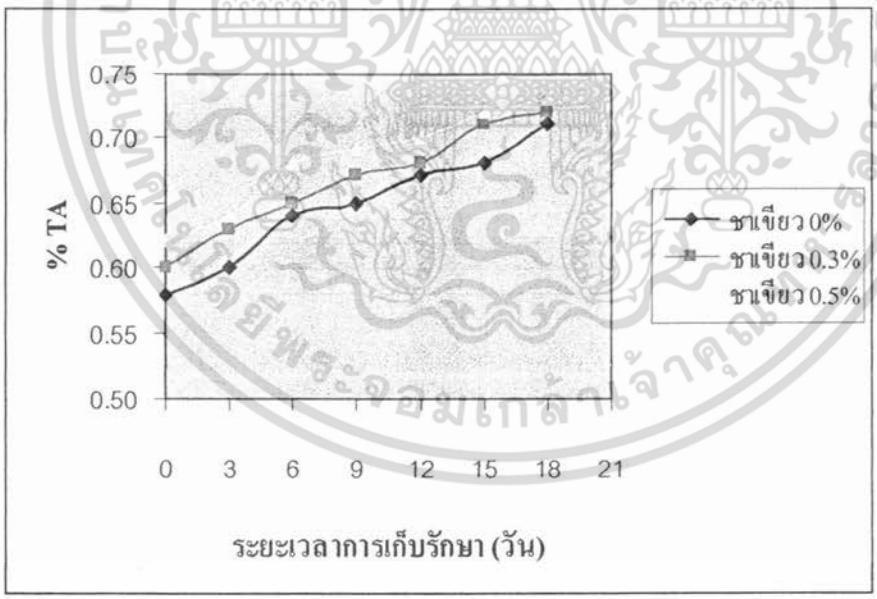
ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05)

ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ยกขึ้นในแนวตั้งที่ต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

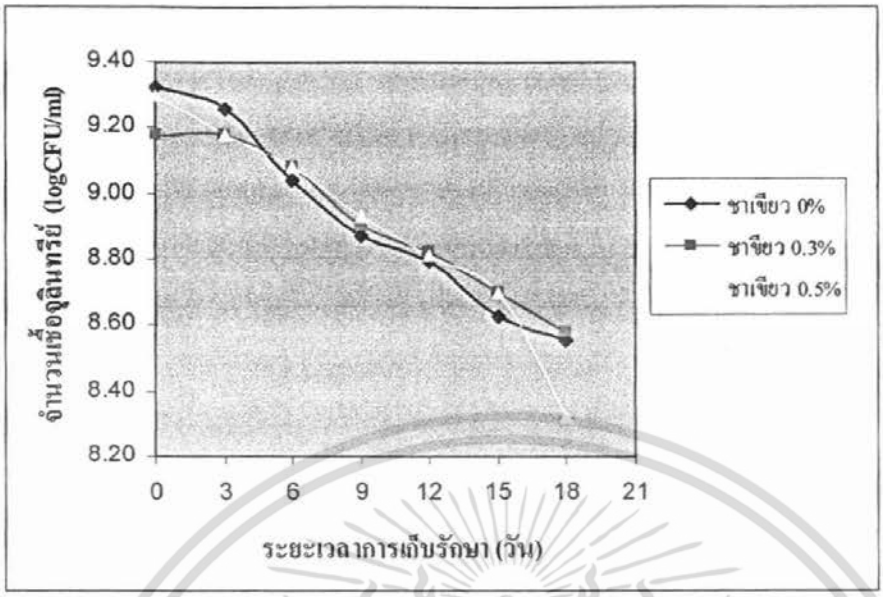


ภาพที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง ของโยเกิร์ตพร้อมดื่มในปริมาณชาเขียว 0, 0.3 และ 0.5% (โดยน้ำหนัก) จากวันที่ 0 – 18 ของการเก็บรักษาที่ 4±1 องศาเซลเซียส

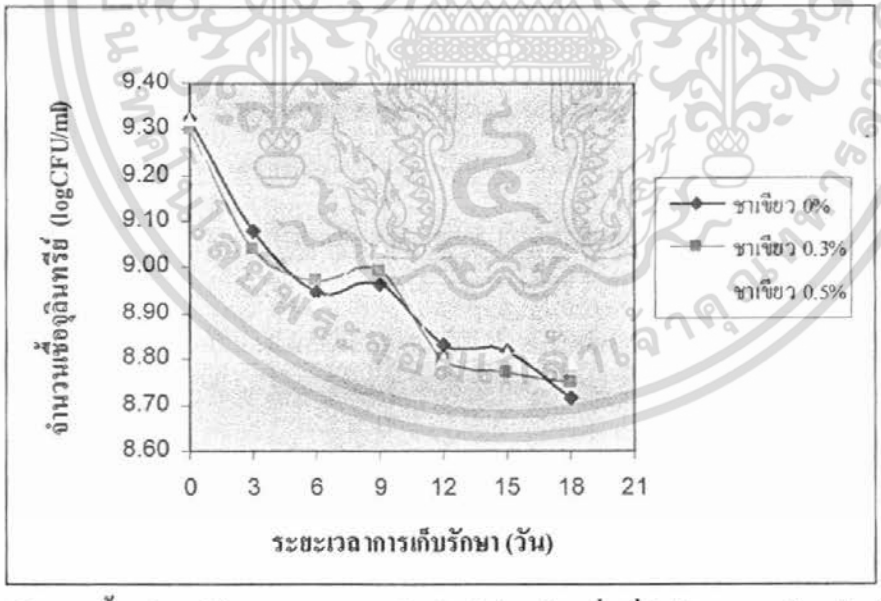


ภาพที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกของโยเกิร์ตพร้อมดื่มในปริมาณชาเขียว0, 0.3 และ 0.5% (โดยน้ำหนัก) จากวันที่ 0 – 18 ของการเก็บรักษาที่ 4±1 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.6 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ lactic acid bacteria รวมในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่มีปริมาณชาเขียวต่างกัน จากวันที่ 0 – 18 ของการเก็บรักษาที่ 4±1 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 4.7 ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ *L. acidophilus* ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่มีปริมาณชาเขียวต่างกัน จากวันที่ 0 – 18 ของการเก็บรักษาที่ 4±1 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

โยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ไม่มีส่วนผสมของชาเขียวและโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่มีส่วนผสมของชาเขียวในปริมาณ 0.3 และ 0.5 % ทำการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18 วัน วิเคราะห์คุณภาพทางด้านกายภาพ ทุก ๆ 3 วัน ได้ผลแสดงดังตารางที่ 4.8 และ ตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.8 ค่าความหนืดที่วัดได้ด้วยเครื่อง brook field ของโยเกิร์ตพร้อมดื่มในปริมาณชาเขียว 0, 0.3 และ 0.5% (โดยน้ำหนัก) เป็นเวลา 18 วัน โดยใช้หัววัดเบอร์ 1 ความเร็วรอบ 100 rpm

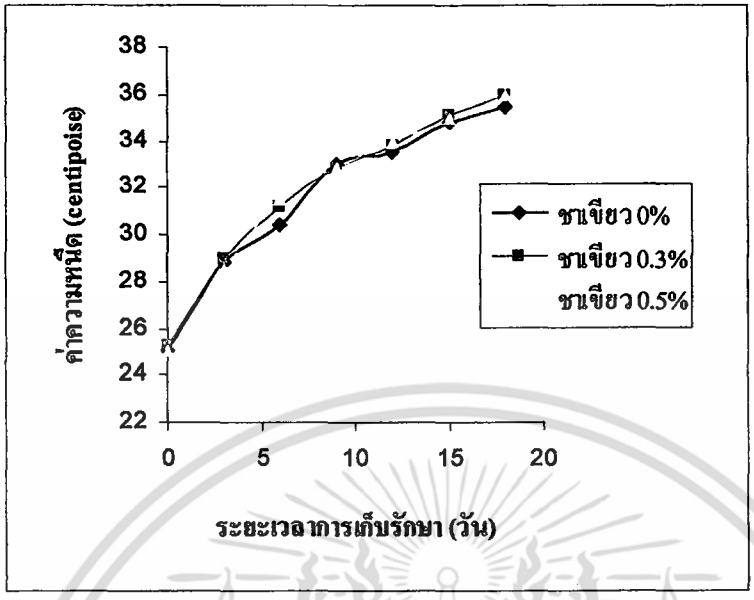
ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	ค่าความหนืดที่วัดได้ (centipoises)		
	ชาเขียว 0%	ชาเขียว 0.3%	ชาเขียว 0.5%
0	25.0	25.3	25.0
3	28.8	29.0	28.6
6	30.4	31.2	31.5
9	33.0	32.9	32.9
12	33.5	33.8	34.0
15	34.8	35.1	35.0
18	35.5	36.0	36.0

ตารางที่ 4.9 ค่าสีที่วัดได้ด้วยเครื่อง colorimeter ของโยเกิร์ตพร้อมดื่มในปริมาณชาเขียว 0, 0.3 และ 0.5% (โดยน้ำหนัก) จากวันที่ 0 – 18 ของการเก็บรักษาที่ 4±1 องศาเซลเซียส

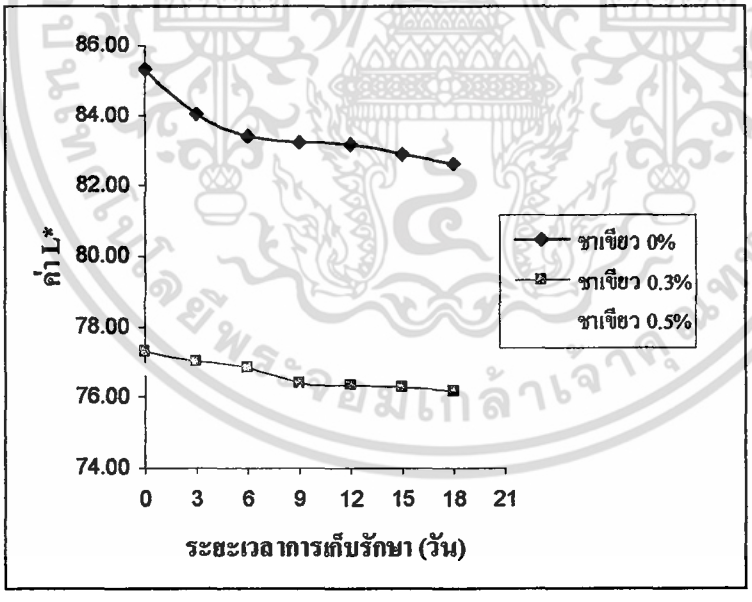
ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)	ค่าสีที่วัดได้								
	L^*			a^*			b^*		
	0%	0.3%	0.5%	0%	0.3%	0.5%	0%	0.3%	0.5%
0	85.35	77.30	76.78	-3.77	-5.36	-5.76	+3.84	+14.20	+15.29
3	84.01	77.03	76.51	-3.68	-5.19	-5.64	+3.67	+13.43	+15.04
6	83.41	76.85	76.36	-3.44	-5.16	-5.53	+3.64	+13.37	+15.00
9	83.24	76.41	76.19	-3.30	-5.04	-5.31	+3.47	+13.35	+14.94
12	83.21	76.35	75.99	-3.27	-4.87	-5.12	+3.38	+13.32	+14.89
15	82.92	76.31	75.83	-3.23	-4.75	-5.03	+3.22	+13.26	+14.80
18	82.64	76.17	75.48	-2.75	-4.49	-4.82	+2.71	+13.09	+14.72

หมายเหตุ L^* = lightness a^* = +red / - green b^* = + yellow / - blue

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

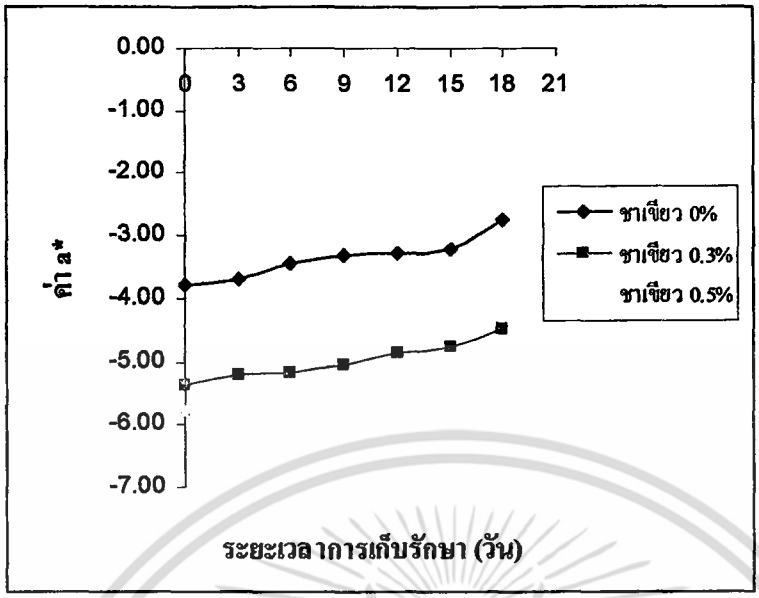


ภาพที่ 4.8 ค่าความหนืดของโยเกิร์ตพร้อมดื่มในปริมาณชาเขียว 0, 0.3 และ0.5% (โดยน้ำหนัก) จากวันที่ 0 – 18 ของการเก็บรักษาที่ 4±1 องศาเซลเซียส

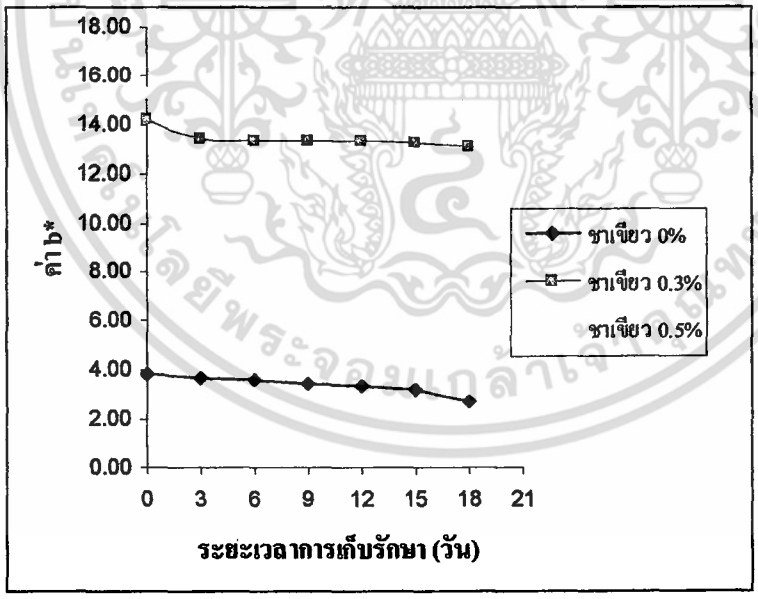


ภาพที่ 4.9 ค่าสี (ค่า L*) ของโยเกิร์ตพร้อมดื่มในปริมาณชาเขียว 0, 0.3 และ0.5% (โดยน้ำหนัก) จากวันที่ 0 – 18 ของการเก็บรักษาที่ 4±1 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.10 ค่าสี (ค่า a*) ของโยเกิร์ตพร้อมดื่มในปริมาณชาเขียว 0, 0.3 และ 0.5% (โดยน้ำหนัก) จากวันที่ 0 – 18 ของการเก็บรักษาที่ 4±1 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 4.11 ค่าสี (ค่า b*)ของโยเกิร์ตพร้อมดื่มในปริมาณชาเขียว 0, 0.3 และ 0.5% (โดยน้ำหนัก) จากวันที่ 0 – 18 ของการเก็บรักษาที่ 4±1 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองพบว่าค่าความหนืดของโยเกิร์ตพร้อมดื่มซึ่งเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 18 วัน ที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส มีค่าเพิ่มขึ้นตามอายุการเก็บรักษา และมีค่าใกล้เคียงกันที่อายุการเก็บรักษาเดียวกัน แต่ปริมาณชาเขียวต่างกัน โดยค่าความหนืดที่อายุการเก็บรักษา 0 วัน มีค่าเท่ากับ 25.0 , 25.3 และ 25.0 cps และที่อายุการเก็บรักษา 18 วันมีค่าเท่ากับ 35.5 , 36.0 และ 36.0 cps ที่ระดับชาเขียว 0 , 0.3 และ 0.5% (โดยน้ำหนัก) ตามลำดับ สำหรับค่าสีซึ่งเป็นค่าที่บอกถึงลักษณะทางกายภาพอีกค่าหนึ่ง พบว่า โดยค่า L ของโยเกิร์ตพร้อมดื่ม ที่อายุการเก็บรักษา 0 วัน มีค่า L เท่ากับ 85.35 , 77.30 และ 76.78 และที่อายุการเก็บรักษา 18 วัน มีค่า L เท่ากับ 82.64 , 76.17 และ 75.48 ที่ระดับชาเขียว 0 , 0.3 และ 0.5% (โดยน้ำหนัก) ตามลำดับ สำหรับค่า a ของโยเกิร์ตพร้อมดื่มรสชาเขียวมีค่าเป็นลบแสดงว่าจะให้ค่าสีเขียว โดยที่อายุการเก็บรักษา 0 วัน มีค่า a เท่ากับ -3.77, -5.36 และ -5.76 และที่อายุการเก็บรักษา 18 วัน มีค่าเท่ากับ -2.75 , -4.49 และ -4.82 ที่ระดับชาเขียว 0 , 0.3 และ 0.5%(โดยน้ำหนัก) ตามลำดับ ส่วนค่า b มีค่าเป็นบวก แสดงว่าจะให้ค่าสีเหลือง โดยที่อายุการเก็บรักษา 0 วัน มีค่า b เท่ากับ +3.84 , +14.20 และ +15.29 และที่อายุการเก็บรักษา 18 มีค่าเท่ากับ +2.71 , +13.09 และ+14.72 ในปริมาณชาเขียว 0 , 0.3 และ 0.5%(โดยน้ำหนัก) ตามลำดับ แสดงว่าโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ไม่มีชาเขียวจะมีความสว่างมากกว่าโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่มีชาเขียว และความสว่างจะลดลงเมื่อปริมาณชาเขียวเพิ่มขึ้น ในขณะที่ความเป็นสีเขียวและสีเหลืองจะเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณชาเขียวมากขึ้น และค่าสีของโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่มีชาเขียว 0 , 0.3 และ 0.5%(โดยน้ำหนัก) ที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส จะมีค่าลดลงตามอายุการเก็บรักษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการทดลอง

1. การศึกษาการเจริญและพฤติกรรมการผลิตกรดของเชื้อจุลินทรีย์ผสมระหว่างเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ตและเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก พบว่าในการหมักโยเกิร์ตที่อุณหภูมิ 43±1 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง ทำให้ได้โยเกิร์ตมีความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.42 และเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก เท่ากับ 0.90 จำนวนเชื้อ lactic acid bacteria รวมเท่ากับ 1.7×10^9 CFU/ml และเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* เท่ากับ 2.0×10^9 CFU/ml

2. การประเมินด้านความชอบของผู้ชิมโดยการทดสอบทางประสาทสัมผัสที่มีต่อโยเกิร์ตพร้อมดื่มรสชาเขียว พบว่าสูตรที่ได้รับการยอมรับมากที่สุดคือ สูตรที่ระดับความหวานของน้ำเชื่อมเท่ากับ 22 °Brix และปริมาณชาเขียวเท่ากับ 0.3 และ 0.5% (โดยน้ำหนัก)

3. การศึกษาผลของสารสกัดชาเขียวต่อการเจริญของเชื้อโพรไบโอติกบนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ lactic acid bacteria รวมและเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus acidophilus* สามารถเจริญได้บนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารสกัดชาเขียวโดยมีปริมาณของเชื้อที่เจริญใกล้เคียงกับเชื้อที่เลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีสารสกัดชาเขียวเป็นส่วนผสม แสดงว่าสารสกัดชาเขียวไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ lactic acid bacteria รวมและ เชื้อ *Lactobcillus acidophilus*

4. การศึกษาผลของสารประกอบในชาเขียวที่มีผลต่อการอยู่รอดของเชื้อโพรไบโอติกในโยเกิร์ตพร้อมดื่ม และคุณภาพการเก็บรักษาโยเกิร์ตพร้อมดื่มรสชาเขียว ที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส นาน 18 วัน พบว่าจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ lactic acid bacteria รวมและเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus acidophilus* มีปริมาณลดลงตามอายุการเก็บรักษา และที่อายุการเก็บรักษาเดียวกันแต่มีปริมาณชาเขียวในโยเกิร์ตพร้อมดื่มต่างกัน ปริมาณของเชื้อที่เหลือรอดมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P> 0.05$) แสดงว่าสารประกอบในชาเขียวไม่มีผลต่อการอยู่รอดของเชื้อโพรไบโอติกในโยเกิร์ตพร้อมดื่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. โยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวมีความเป็นกรด-ด่าง และมีสีเขียวลดลงอย่างต่อเนื่อง ตามระยะเวลาการเก็บรักษา ส่วนเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกและความหนืดของโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวเพิ่มขึ้นเล็กน้อยตามระยะเวลาการเก็บรักษา โดยค่าความเป็นกรด-ด่างมีค่าต่ำลงและเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกมีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณชาเขียวเพิ่มขึ้น ที่ระยะเวลาการเก็บรักษาเดียวกัน

ข้อเสนอแนะ

1. จากการทดลองศึกษาถึงอิทธิพลของสารประกอบชาเขียวที่มีผลต่อการอยู่รอดของเชื้อโพรไบโอติก Bifidobacteria พบว่าจำนวนโคโลนีของเชื้อมีค่าน้อยกว่า 1 โคโลนี ตลอดการทดลอง ดังนั้นควรมีการศึกษาถึงวิธีการและเทคนิคที่ดี เพื่อทำการเลี้ยงและนับจำนวนโคโลนีของเชื้อชนิดนี้

2. ในการศึกษาคุณภาพการเก็บรักษาของโยเกิร์ตพร้อมดื่มรสชาเขียว จากการทดลองได้ศึกษาคุณภาพทางกายภาพ คือ สี และ ความหนืด ซึ่งยังไม่สามารถบอกได้ว่าที่อายุการเก็บรักษา 18 วัน ผลิตภัณฑ์ยังเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค และเกิดการเสื่อมเสียหรือไม่ ดังนั้นควรมีการทดสอบทางประสาทสัมผัสและตรวจหาปริมาณเชื้อยีสต์และเชื้อราที่เป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียของโยเกิร์ตพร้อมดื่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

จารุวรรณ์ ศิริพรรณพร. 2543. โยเกิร์ตอาหารเพื่อสุขภาพ. **อาหาร.** 30(4) : 292-297.

จิตติมา สิงหวณิช อุมาพร ศิริพินธุ์ และพูลทรัพย์ วิรุฬหกุล. 2538. **เอกสารประกอบการเรียนการสอนชุดวิชาวิทยาศาสตร์การอาหารเบื้องต้น/สาขาวิชาคหกรรมศาสตร์.** มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมธิราช. นนทบุรี.

นรินทร์ ทองศิริ. 2528. **เทคโนโลยีอาหารนม.** นำอักษรการพิมพ์. กรุงเทพมหานคร.

นงค์นภา มาสง่า. 2544. **อิทธิพลของสมุนไพรต่อการเจริญของจุลินทรีย์ในโยเกิร์ตพร้อมดื่มผสมสมุนไพร.** ปัญหาพิเศษ. โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ภานุ ลิ่มทอง. 2527. นมเปรี้ยว. **กสิกร.** 57 (4) : 1-8.

วราวุฒิ ครูส่ง และ รุ่งนภา พงสวัสดิ์มานิต. 2532. **เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม.** กรุงเทพ : โอเดียนสโตร์.

วิฑูรย์ ปัญญากุลและคณะ. 2545. ชาเขียวใบไม้จากสวรรค์ . **เกษตรกรรมธรรมชาติ** . 5 : 14 – 17.

สัณฑ์ ละอองศรี. 2535. **ชา.** พิมพ์ครั้งที่ 1. สำนักพิมพ์รั้วเขียว. เชียงใหม่.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2526. **มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชาใบ(ชาจีน).** มอก. 460-2526. กระทรวงอุตสาหกรรม. กรุงเทพ.

อภิญญา เจริญกุล. 2542. **เอกสารคำสอนวิชานมและผลิตภัณฑ์นม.** คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยหอการค้าไทย. กรุงเทพมหานคร. 96 หน้า.

Chandan, R.C. 1982. Other Fermented Dairy Product. **Prescott & Dunn's Industial Microbiology**. 2 nd ed. AVI Publishing Company, Inc. Westpot, Connecticut

Chr. Hansen. 2001. **Method for Counting Probiotic Bacteria.** Technical Bulletin : 1-4 .

Dave, R.I. and N.P. Shah. 1996. Viability of Yoghurt and Probiotic Bacteria in Yoghurt Made from Commercial Starter Cultures. **International Dairy Journal.** 7 : 31-41.

Gililand, S.E. 1989. Acidophilus Milk Product : A Review of Potential Benefits to Consumers. **Journal of Dairy Science.** 72 : 2483-2494.

Hoover, D.G. 1993. BIFIDOBACTERIA : Activity and potential benefits. **Food Technology.** 47(6) : 120-124.

Huges, D.B. and D.G. Hoover. 1991. BIFIDOBACTERIA : Their potential for use in American Dairy Product. **Food Technology.** 45(4) : 74-80.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kandler, O. and N. Weiss. 1986. The Genus *Lactobacillus*. "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology". ed. J.G. Holt, Vol.2 Williams and Willkins Co., Baltimore. MD.

Klein, G., A. Pack, C. Bonaparte and G. Reuter. 1999. Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. **International Journal of Microbiology**. 41 : 103-112.

Nakazawa, Y. and A. Hosono. 1992. **Functions of Fermented Milk**. Translated by Howells, B. W. Elsevier Science Publishers Ltd. Essex.

Scardovi, V. 1986. The Genus *Bifidobacterium*. "Bergey's Manual of Systematic Bacteriology". ed. J.G. Holt, Vol.2 Williams and Willkins Co., Baltimore. MD.

Schmidt, K.A., T.J. Herald and K.A. Khatib. 2001. Modified Wheat Starches Used as Stabilizer in Set-Style Yoghurt. **Journal of Food Quality**. 24 : 421-434.

Song, G.S., K.I. Lee, S.C. Baick and J.H. Yu. 1992. Studies on the flavor of plain drinking yoghurt added with red ginseng extract. **Journal of Dairy Science**. 14(1) : 59-69.

Spreer Edgar. 1995. **Milk and Dairy Product Technology.** Translated from Technologie der Milchverabeitung. by Mixa Alex. Marcel Dekker. New York .

Tamime, A.Y. and R.K.Robinson. 1985. **Yoghurt Science and Technology**. Pergamon Press Ltd. Exeter, Great Britain.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

1. การตรวจวิเคราะห์จำนวนเชื้อแบคทีเรียแลคติกทั้งหมด (นงค์นภา, 2544)

อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS medium ประกอบด้วย

MRS	52	กรัม
Calcium carbonate	5	กรัม
Agar	15	กรัม

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดให้เข้ากัน แล้วนำไปต้มจนได้สารละลายใส ระวังอย่าให้วุ้นจับตัวกันเป็นก้อน ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร เก็บใส่ภาชนะแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อภายใต้ความดันไอ(autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

0.1% Peptone

เตรียมโดยละลาย peptone 1.0 กรัม ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร แบ่งใส่หลอดทดลองหลอดละ 9 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อภายใต้ความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องสาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

วิธีวิเคราะห์

เตรียมความเจือจางของโยเกิร์ตพร้อมดื่ม control และโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียว 10^{-1} โดยปิเปตตัวอย่างละ 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่มี 0.1% peptone ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันและนำมาเตรียมจนได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม ปิเปตสารละลายที่ระดับความเจือจางที่เตรียมไว้ปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงบนจานเลี้ยงเชื้อก่อนเทอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar ที่เตรียมไว้ลงไป จากนั้นทำการ pour plate แล้วนำไปบ่มในตู้บ่มอุณหภูมิ 43±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมงและทำการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้น

การคำนวน

$$\text{จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/ml)} = \frac{\text{จำนวนโคโลนีที่นับได้} \times \text{dilution factor}}{1.00 \text{ ml.}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การวิเคราะห์จำนวนเชื้อ *Lactobacillus acidophilus*

อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS-IM agar ที่ประกอบด้วยสารละลาย maltose

<u>การเตรียม MRS-IM agar</u>

Trytone	10	กรัม
Yeast extract	5	กรัม
Tween 80	1	กรัม
di-Potassium hydrogen phosphate	2.6	กรัม
Sodium acetate,$3H_2O$	5	กรัม
di-Ammonium hydrogen citrate	2	กรัม
Maganese(||)-sulphate, H_2O	0.05	กรัม
Magnesium sulphate, $7H_2O$	0.2	กรัม
Agar	13	กรัม

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดให้เข้ากัน แล้วนำไปต้มจนได้สารละลายใส ระวังอย่าให้วุ้นจับตัวกันเป็นก้อน ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร เก็บใส่ภาชนะแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อภายใต้ความดันไอ (altoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

<u>การเตรียม 20%(w/v) maltose solution</u>

Maltose	20	กรัม
น้ำกรอง	100	มิลลิลิตร

นำสารละลาย maltose ที่เตรียมได้มากรองโดย Sterilise by filtration (0.45 ไมครอน) แล้วเก็บในภาชนะที่ผ่านการฆ่าเชื้อ เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส

<u>การเตรียมอาหาร MRS-IM Agar ที่ประกอบด้วยสารละลาย maltose</u>

นำอาหาร MRS-IM 1000 ml ที่เตรียมไว้มาทำให้ละลาย แล้วรอให้อุณหภูมิประมาณ 47 องศาเซลเซียส จึงเติม 20% maltose ลงไป ปริมาตร 100 ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีวิเคราะห์

เตรียมความเจือจางของโยเกิร์ตพร้อมดื่ม control และโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียว 10^{-1} โดยปิเปตตัวอย่างละ 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่มี 0.1% peptone ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันและนำมาเตรียมจนได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม ปิเปตสารละลายที่ระดับความเจือจางที่เตรียมไว้ปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงบนจานเลี้ยงเชื้อก่อนเทอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS-IM agar with maltose ที่เตรียมไว้ลงไป จากนั้นทำการ pour plate แล้วนำไปบ่มในตู้บ่มอุณหภูมิ37±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง และทำการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้น

การคำนวน

$$\text{จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/ml)} = \frac{\text{จำนวนโคโลนีที่นับได้} \times \text{dilution factor}}{1.00 \text{ ml.}}$$

3. การวิเคราะห์จำนวนเชื้อ *Bifidobacterium* spp.

อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS-IM agar ที่ประกอบไปด้วยสารละลายกลูโคส สารละลาย Dichloxallin สารละลาย LiCl และสารละลาย Cysteine hydrochloride

การเตรียม MRS-IM agar

Trytone	10	กรัม
Yeast extract	5	กรัม
Tween 80	1	กรัม
di-Potassium hydrogen phosphate	2.6	กรัม
Sodium acetate,$3H_2O$	5	กรัม
di-Ammonium hydrogen citrate	2	กรัม
Maganese(||)-sulphate, H_2O	0.05	กรัม
Magnesium sulphate, $7H_2O$	0.2	กรัม
Agar	13	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ละลายส่วนประกอบทั้งหมดให้เข้ากัน แล้วนำไปต้มจนได้สารละลายใส ระวังอย่าให้วุ้นจับตัวกันเป็นก้อน ปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร เก็บใส่ภาชนะแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อภายใต้ความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

การเตรียม 20% (w/v) glucose solution

Glucose	20	กรัม
น้ำกรอง	100	มิลลิลิตร

นำสารละลาย glucose ที่เตรียมได้มากรองโดย Sterilize by filtration (0.45 ไมครอน) เก็บในภาชนะที่ผ่านการฆ่าเชื้อ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส

การเตรียมสารละลาย A

Dichloxallin	10	มิลลิกรัม
น้ำกรอง	100	มิลลิลิตร

นำสารละลาย A ที่เตรียมได้มากรองโดย Sterilize by filtration (0.45 ไมครอน) เก็บในภาชนะที่ผ่านการฆ่าเชื้อ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส

การเตรียมสารละลาย B

LiCl	2	กรัม
น้ำกรอง	100	มิลลิลิตร

นำสารละลาย B ที่เตรียมได้มากรองโดย Sterilize by filtration (0.45 ไมครอน) เก็บในภาชนะที่ผ่านการฆ่าเชื้อ และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส

การเตรียมสารละลาย C

Cysteine hydrochloride	10	กรัม
น้ำกรอง	100	มิลลิลิตร

นำสารละลาย C ที่เตรียมได้มาทำการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เสร็จแล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมอาหาร MRS-IM Agar ที่มีสารละลายกลูโคส และสารละลาย A , B และ C

นำอาหาร MRS-IM 1000 ml ที่เตรียมไว้มาทำให้ละลาย แล้วรอให้อุณหภูมิประมาณ 47 องศาเซลเซียสจึงจะเติม 20% glucose ปริมาตร 100 ml สารละลาย A ปริมาตร 5 ml สารละลาย B ปริมาตร 10 ml และสารละลาย C ปริมาตร 5 ml

วิธีวิเคราะห์

เตรียมความเจือจางของโยเกิร์ตพร้อมดื่ม control และโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียว 10^{-1} โดยปิเปตตัวอย่างละ 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่มี 0.1% peptone ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันและนำมาเตรียมจนได้ระดับความเจือจางที่เหมาะสม ปิเปตสารละลายที่ระดับความเจือจางที่เตรียมไว้ปริมาตร 1 มิลลิลิตรลงบนจานเลี้ยงเชื้อก่อนเทอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS-IM agar with glucose and solutions A,B and C ที่เตรียมไว้ลงไป จากนั้นทำการ pour plate ทิ้งให้อาหารแข็งตัวแล้วเทอาหารเลี้ยงเชื้อทับลงไปอีก 2-3 มิลลิเมตร แล้วนำไปบ่มในตู้บ่มอุณหภูมิ37±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง และทำการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้น

การคำนวน

$$\text{จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (CFU/ml)} = \frac{\text{จำนวนโคโลนีที่นับได้} \times \text{dilution factor}}{1.00 \text{ ml.}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

ผลิตภัณฑ์ นมเปรี้ยวพร้อมดื่มชาเขียว

ชื่อ..... เพศ..... อายุ..... วัน/เดือน/ปี.....

<u>คำชี้แจง</u> 1. ตรวจสอบคุณลักษณะของตัวอย่าง และให้คะแนนความชอบตามลำดับ

7 : ชอบมากที่สุด 3 : ไม่ชอบเล็กน้อย

6 : ชอบมาก 2 : ไม่ชอบมาก

5 : ชอบเล็กน้อย 1 : ไม่ชอบมากที่สุด

4 : เฉย ๆ

2. ควรบ้วนปากทุกครั้งในระหว่างการทดสอบแต่ละตัวอย่าง

ตัวอย่าง	สี	กลิ่นรส	ความหวาน	ความฝาดเฝื่อน	ความชอบรวม
.....	.....	.....	.....	.....	.....
.....	.....	.....	.....	.....	.....
.....	.....	.....	.....	.....	.....
.....	.....	.....	.....	.....	.....
.....	.....	.....	.....	.....	.....
.....	.....	.....	.....	.....	.....

ข้อเสนอแนะและวิจารณ์.....

.....

.....

.....

.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การประเมินผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส

ตารางที่ ค1 การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนความชอบทางด้านสีของโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวที่มีความหวานน้ำเชื่อม และปริมาณชาเขียวต่างกัน

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: COLOR

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	134.633[a]	34	3.960	3.537	.000
Intercept	3100.050	1	3100.050	2769.323	.000
TREAT	108.183	5	21.637	19.328	.000
NUMBER	26.450	29	.912	.815	.735
Error	162.317	145	1.119		
Total	3397.000	180			
Corrected Total	296.950	179			

a. R Squared = .453 (Adjusted R Squared = .325)

ตารางที่ ค2 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของคะแนนความชอบทางด้านสีของโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวที่มีความหวานน้ำเชื่อม และปริมาณชาเขียวต่างกัน

COLOR

Duncan[a,b]

TREAT	N	Subset 1	Subset 2	Subset 3
3.00	30	3.1667		
5.00	30	3.6333	3.6333	
2.00	30		3.8000	
1.00	30		3.9333	
6.00	30			5.0000
4.00	30			5.3667
Sig.		.090	.305	.182

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square(Error) = 1.119.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

b. Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค3 การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนความชอบทางด้านกลิ่นของโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวที่มีความหวานน้ำเชื่อม และปริมาณชาเขียวต่างกัน

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: ODOR

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	102.156[a]	34	3.005	3.957	.000
Intercept	4243.756	1	4243.756	5589.525	.000
TREAT	63.578	5	12.716	16.748	.000
NUMBER	38.578	29	1.330	1.752	.017
Error	110.089	145	.759		
Total	4456.000	180			
Corrected Total	212.244	179			

a. R Squared = .481 (Adjusted R Squared = .360)

ตารางที่ ค4 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของคะแนนความชอบทางด้านกลิ่นของโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวที่มีความหวานน้ำเชื่อม และปริมาณชาเขียวต่างกัน

ODOR

Duncan[a,b]

TREAT	N	Subset 1	2	3	4
1.00	30	4.0333			
2.00	30	4.1333			
3.00	30		4.9000		
5.00	30		5.0333	5.0333	
4.00	30			5.4333	5.4333
6.00	30				5.6000
Sig.		.657	.554	.078	.460

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square(Error) = .759.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

b. Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค5 การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนความชอบทางด้านความหวานของโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวที่มีความหวานน้ำเชื่อม และปริมาณชาเขียวต่างกัน

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: FLAVOR

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	44.422[a]	34	1.307	1.738	.013
Intercept	4600.556	1	4600.556	6118.758	.000
TREAT	24.978	5	4.996	6.644	.000
NUMBER	19.444	29	.670	.892	.628
Error	109.022	145	.752		
Total	4754.000	180			
Corrected Total	153.444	179			

a. R Squared = .290 (Adjusted R Squared = .123)

ตารางที่ ค6 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของคะแนนความชอบทางด้านความหวานของโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวที่มีความหวานน้ำเชื่อม และปริมาณชาเขียวต่างกัน

FLAVOR

Duncan[a,b]

TREAT	N	Subset 1	Subset 2
5.00	30	4.7000	
2.00	30	4.7667	
1.00	30	4.8000	
6.00	30	4.9333	
3.00	30		5.4667
4.00	30		5.6667
Sig.		.350	.373

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square(Error) = .752.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

b. Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค7 การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนความชอบทางด้านความฝาดของโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวที่มีความหวานน้ำเชื่อม และปริมาณชาเขียวต่างกัน

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: ASTRINGT

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	73.967[a]	34	2.175	3.063	.000
Intercept	4470.050	1	4470.050	6293.807	.000
TREAT	50.183	5	10.037	14.132	.000
NUMBER	23.783	29	.820	1.155	.284
Error	102.983	145	.710		
Total	4647.000	180			
Corrected Total	176.950	179			

a. R Squared = .418 (Adjusted R Squared = .282)

ตารางที่ ค8 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของคะแนนความชอบทางด้านความฝาดของโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวที่มีความหวานน้ำเชื่อม และปริมาณชาเขียวต่างกัน

ASTRINGT

Duncan[a,b]

TREAT	N	Subset 1	Subset 2	Subset 3
1.00	30	4.2000		
6.00	30		4.7000	
5.00	30		4.7333	
2.00	30		4.9667	
4.00	30			5.5333
3.00	30			5.7667
Sig.		1.000	.252	.285

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square(Error) = .710.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

b. Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค9 การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนความชอบทางด้านการยอมรับโดยรวมของโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวที่มีความหวานน้ำเชื่อม และปริมาณชาเขียวต่างกัน

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: ACCEPT

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	78.722[a]	34	2.315	3.623	.000
Intercept	4671.606	1	4671.606	7309.448	.000
TREAT	38.494	5	7.699	12.046	.000
NUMBER	40.228	29	1.387	2.170	.001
Error	92.672	145	.639		
Total	4843.000	180			
Corrected Total	171.394	179			

a. R Squared = .459 (Adjusted R Squared = .333)

ตารางที่ ค10 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างของคะแนนความชอบทางด้านการยอมรับโดยรวมของโยเกิร์ตพร้อมดื่มชาเขียวที่มีความหวานน้ำเชื่อม และปริมาณชาเขียวต่างกัน

ACCEPT

Duncan[a,b]

TREAT	N	Subset 1	Subset 2
5.00	30	4.6000	
6.00	30	4.7333	
1.00	30	4.8667	
2.00	30	4.9000	
3.00	30		5.7000
4.00	30		5.7667
Sig.		.190	.747

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square(Error) = .639.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

b. Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การประเมินผลการตรวจวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

ตารางที่ ค11 การวิเคราะห์ทางสถิติของจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ Lactic acid bacteria ทั้งหมดในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่มีปริมาณชาเขียวต่างกัน (0 , 0.3 และ 0.5 %) และที่ระยะเวลาการเก็บต่างกัน

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: YIELD

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	1.996[a]	8	.249	2.221	.040
Intercept	5044.884	1	5044.884	44899.82	.000
GREENTEA	7.088E-04	2	3.544E-04	.003	.997
DAY	1.995	6	.333	2.960	.014
Error	6.067	54	.112		
Total	5052.948	63			
Corrected Total	8.063	62			

a. R Squared = .248 (Adjusted R Squared = .136)

ตารางที่ ค12 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ Lactic acid bacteria ทั้งหมดในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่มีปริมาณชาเขียวต่างกัน (0 , 0.3 และ 0.5 %) และที่ระยะเวลาการเก็บต่างกัน

YIELD

Duncan[a,b]

DAY	N	Subset 1	Subset 2
18.00	9	8.752200	
15.00	9	8.799611	
12.00	9	8.810367	
6.00	9	8.947267	
9.00	9	9.000133	9.000133
3.00	9	9.014967	9.014967
.00	9		9.315689
Sig.		.152	.063

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square(Error) = .112.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

b. Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค13 การวิเคราะห์ทางสถิติของจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ *L. acidophilus* ทั้งหมดในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่มีปริมาณชาเขียวต่างกัน (0 , 0.3 และ 0.5 %) และที่ระยะเวลาการเก็บต่างกัน

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: YIELD

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4.347[a]	8	.543	7.246	.000
Intercept	5007.589	1	5007.589	66776.98	.000
GREENTEA	5.193E-03	2	2.597E-03	.035	.966
DAY	4.342	6	.724	9.650	.000
Error	4.049	54	7.499E-02		
Total	5015.986	63			
Corrected Total	8.396	62			

a. R Squared = .518 (Adjusted R Squared = .446)

ตารางที่ ค14 ผลการวิเคราะห์ความแตกต่างจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ Lactic acid bacteria ทั้งหมดในโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่มีปริมาณชาเขียวต่างกัน (0 , 0.3 และ 0.5 %) และที่ระยะเวลาการเก็บต่างกัน

YIELD

Duncan[a,b]

DAY	N	Subset 1	2	3	4
18.00	9	8.486100			
15.00	9	8.673667	8.673667		
12.00	9		8.810467	8.810467	
9.00	9		8.902500	8.902500	
6.00	9			9.066600	9.066600
3.00	9				9.202500
.00	9				9.266433
Sig.		.152	.099	.065	.150

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
Based on Type III Sum of Squares
The error term is Mean Square(Error) = 7.499E-02.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

b. Alpha = .05.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การประเมินผลการตรวจวิเคราะห์ทางเคมี

ตารางที่ ค15 การวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของความสัมพันธ์ระหว่าง pH และ %TA ใน ระหว่างการผลิตโยเกิร์ต ที่อุณหภูมิ 43±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0-10 ชั่วโมง

Correlations

		PH	TA
PH	Pearson Correlation	1	-.978**
	Sig. (2-tailed)	.	.001
	N	6	6
TA	Pearson Correlation	-.978**	1
	Sig. (2-tailed)	.001	.
	N	6	6

**. Correlation is significant at the 0.01 level

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

ข้อกำหนดทางกฎหมาย

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข
ฉบับที่ ๔๖ (พ.ศ. ๒๕๒๓)
เรื่องนมเปรี้ยว

อาศัยอำนาจตามความในมาตร ๕ และมาตรา ๖ (๑) (๒) และ (๗) แห่งพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. ๒๕๒๒ รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุขออกประกาศไว้ดังนี้

ข้อ ๑ ให้ยกเลิกประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ ๒๗ (พ.ศ. ๒๕๒๒) เรื่องกำหนดนมเปรี้ยวเป็นอาหารควบคุมเฉพาะ และกำหนดคุณภาพหรือมาตรฐาน ลงวันที่ ๑๓ กันยายน พ.ศ. ๒๕๒๒

ข้อ ๒ ให้นมเปรี้ยวเป็นอาหารควบคุมเฉพาะ

ข้อ ๓ นมเปรี้ยว (Culture milk) หมายความว่า นมหรือผลิตภัณฑ์ที่ได้จากนมที่หมักด้วยจุลินทรีย์ที่ไม่ทำให้เกิดโรคหรือที่ไม่ทำให้เกิดพิษ และมีจุลินทรีย์ดังกล่าวที่มีชีวิตคงเหลืออยู่จากกรรมวิธีการหมักนั้น หรืออาจเติมวัตถุที่จำเป็นต่อกรรมวิธีการผลิต หรืออาจปรุงแต่งสี กลิ่น รสด้วยก็ได้

ข้อความในข้อ ๓ ถูกยกเลิก และให้ใช้ความใหม่แทนแล้วโดยข้อ ๑ แห่งประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ ๙๙ (พ.ศ. ๒๕๒๗)

ข้อ ๔ นมเปรี้ยวต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐานดังต่อไปนี้

(๑) มีโปรตีนไม่น้อยกว่าร้อยละ ๑.๕ ของน้ำหนัก

(๒) ตรวจไม่พบบักเตรีชนิด *E.coli* ในอาหาร ๐.๑ กรัม

(๓) ไม่ใช้วัตถุที่ให้ความหวานแทนน้ำตาล

(๔) ไม่มีวัตถุกันเสีย

(๕) ไม่มีสารเป็นพิษจากจุลินทรีย์ในปริมาณที่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ

ข้อ ๕ นมเปรี้ยว ต้องเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิไม่เกิน ๑๐ องศาเซลเซียส และระยะเวลาที่จำหน่ายจะต้องไม่เกิน ๗ วัน นับตั้งแต่วันที่บรรจุในภาชนะบรรจุ

ข้อ ๖ ภาชนะบรรจุที่ใช้บรรจุนมเปรี้ยว ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง ภาชนะบรรจุ

ข้อ ๗ การแสดงฉลากของนมเปรี้ยวให้ปฏิบัติตามประกาศตามกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง ฉลาก

ประกาศฉบับนี้ ให้ใช้บังคับตั้งแต่วันถัดจากวันประกาศในพระราชกิจจานุเบกษาเป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ ๒๘ มกราคม ๒๕๒๓
บุญสม มาร์ติน
รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข
ฉบับที่ ๕๕ (พ.ศ. ๒๕๒๕)
เรื่อง นมเปรี้ยว (ฉบับที่ ๒)

อาศัยอำนาจตามความในมาตร ๕ และมาตรา ๖ (๑) (๒) และ (๗) แห่งพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. ๒๕๒๒ รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุขออกประกาศไว้ดังต่อไปนี้

ข้อ ๑ ให้ยกเลิกความในข้อ ๓ ของประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับวันที่ ๔๖ (พ.ศ๒๕๒๓) เรื่อง นมเปรี้ยว ลงวันที่ ๒๘ มกราคม ๒๕๒๓ และให้ใช้ความต่อไปนี้แทน

ข้อ ๓ นมเปรี้ยว (Cultured milk) หมายความว่า นมหรือผลิตภัณฑ์ที่ได้จากนมที่หมักด้วยจุลินทรีย์ที่ไม่ทำให้เกิดโรคหรือไม่ทำให้เป็นพิษ อาจเติมวัตถุที่จำเป็นต่อกรรมวิธีการผลิต หรืออาจปรุงแต่งสี กลิ่น รส ด้วยก็ได้

ข้อ ๒ ให้ยกเลิกความในข้อ ๕ ของประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ ๔๖ (พ.ศ.๒๕๒๓) เรื่อง นมเปรี้ยว ลงวันที่ ๒๘ มกราคม ๒๕๒๓ และให้ใช้ความต่อไปนี้แทน

ข้อ ๕ นมเปรี้ยวที่มีจุลินทรีย์ที่ใช้ในกรรมวิธีการหมักมีชีวิตคงเหลืออยู่ต้องเก็บรักษาที่อุณหภูมิไม่เกิน ๑๐ องศาเซลเซียส และระยะเวลาจำหน่ายจะต้องไม่เกิน ๗ วัน นับตั้งแต่วันที่บรรจุลงในภาชนะบรรจุ

ประกาศฉบับนี้ไม่กระทบกระเทือนถึงใบสำคัญการขึ้นทะเบียนตำหรับอาหารที่ออกให้ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ ๖๒ (พ.ศ. ๒๕๒๔) เรื่อง เครื่องดื่มในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท ลงวันที่ ๗ กันยายน ๒๕๒๔ ให้ผู้ได้รับความสำคัญการขึ้นทะเบียนตำรับอาหารตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับดังกล่าวมาดำเนินการแก้ไขตำรับอาหารให้มีความละเอียดถูกต้องตามประกาศฉบับนี้ภายในเก้าสิบวันนับตั้งแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ

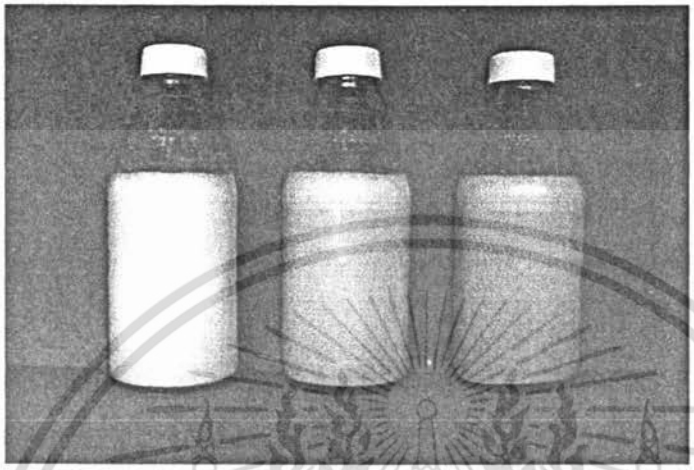
ประกาศฉบับนี้ ใช้บังคับตั้งแต่วันถัดจากวันประกาศในราชกิจจานุเบกษาเป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ ๑๒ มีนาคม ๒๕๒๕
มารุต บุนนาค
รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

แสดงภาพโยเกิร์ตพร้อมดื่มรสชาเขียว ภาพรูปเชื้อจุลินทรีย์ Lactic acid bacteria และภาพรูปเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก



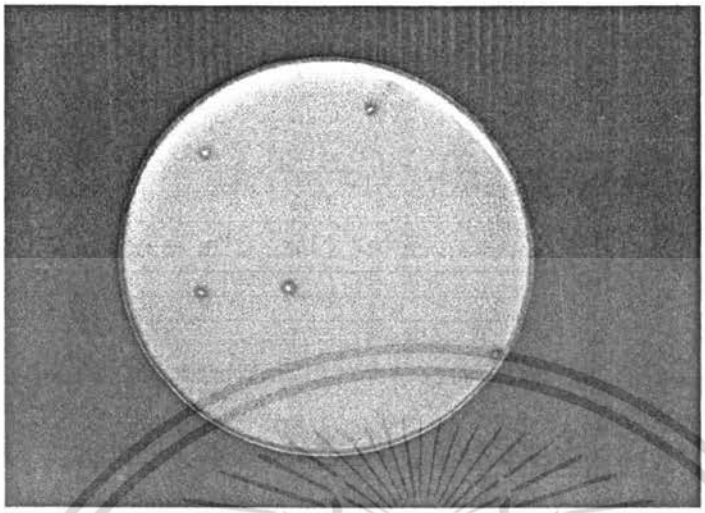
(0 %) (0.3 %) (0.5 %)

ภาพที่ จ1 แสดงลักษณะของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตพร้อมดื่มที่มีปริมาณชาเขียวต่างกัน (0 , 0.3 และ 0.5 %) ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 0 วัน

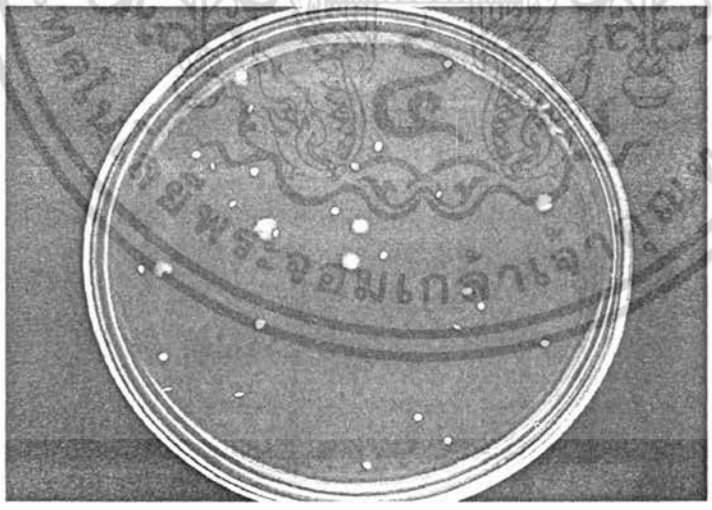
(0 %) (0.3 %) (0.5 %)

ภาพที่ จ2 แสดงลักษณะของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตพร้อมดื่มที่มีปริมาณชาเขียวต่างกัน (0 , 0.3 และ 0.5 %) ที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 18 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

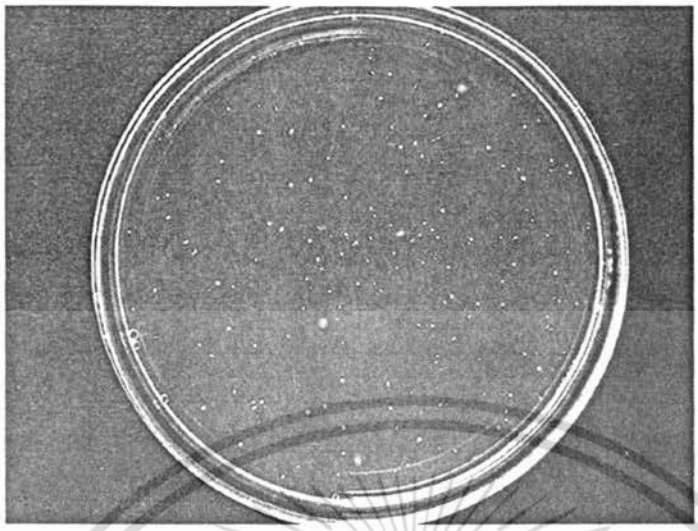


ภาพที่ จ3 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อ Lactic acid bacteria บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Agar + $CaCO_3$ บ่มที่ 43±1 องศาเซลเซียส 72 ชั่วโมงในสภาพไร้ออกซิเจน

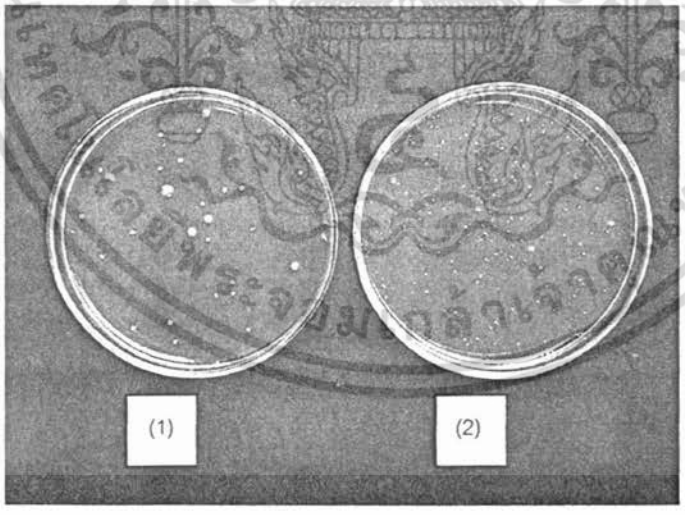


ภาพที่ จ4 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อ *L. acidophilus* บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS-IM Agar พร้อมด้วยสารละลาย maltose บ่มที่ 37±1 องศาเซลเซียส 72 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ จ5 แสดงลักษณะโคโลนีของเชื้อ Bifidobacteria บนอาหาร MRS-IM Agar พร้อมด้วยสาร สารละลาย glucose สารละลาย Dichloxallin สารละลาย LiCl และสารละลาย Cysteine hydrochloride บ่มที่ 37± 1 องศาเซลเซียส 72 ชั่วโมงในสภาพไร้ออกซิเจน



ภาพที่ จ6 เปรียบเทียบลักษณะโคโลนีของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* (1) และ Bifidobacteria (2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้