18754

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การศึกษาปริมาณแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต

(Study on Yogurt Quality using Lactic Acid Bacterial Number as indicator)

T096968

โดย

นางสาวสมพร	บุญทองโต	รหัสประจำตัว	44045064
นางสาวสุกัญญา	ตุ่มศรียา	รหัสประจำตัว	44045067

ปพ. ส265ก 2545

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต
สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
2545

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....96968.....
วัน.เดือน.ปี.....- 5 มิ.ย. 2545

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การศึกษาปริมาณแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต

(Study on Yogurt Quality using Lactic Acid Bacterial Number as indicator)

โดย

นางสาวสมพร บุญทองโต รหัสประจำตัว 44045064

นางสาวสุกัญญา ตุ่มศรียา รหัสประจำตัว 44045067

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

..../...../..... **อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ**

(อาจารย์นิตยา พิระภัทรุ่งสุริยา)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมพร บุญทองโต, สุกัญญา ตุ่มศรียา. การศึกษาปริมาณแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต (Study on Yogurt Quality using Lactic Acid Bacterial Number as indicator). ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, 2545.
อาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์นิตยา พิระภัทรุ่งสุริยา

บทคัดย่อ

ศึกษาปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติก (LAB) ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตและนมเปรี้ยว โดยทำการตรวจนับจำนวน LAB บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และ M17 วัดค่า pH โดยใช้ pH meter และวิเคราะห์ปริมาณกรดโดยวิธีไตเตรท ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตและนมเปรี้ยวรวม 6 ชนิด พบว่าผลิตภัณฑ์ 5 ชนิด (ดัชชี่, เนสท์เล่, เนสท์เล่ LC1, ยาคูลท์, บีทาเก้น) มีปริมาณ LAB ประมาณ log 7-9 CFU/ml อีก 1 ชนิด (เมจิ-ไพเกน) มีปริมาณ LAB น้อยกว่า log 2 CFU/ml ค่า pH อยู่ในช่วง 3.7-4.5 ปริมาณกรดมีค่า 0.6-1.2 %

จากการเปรียบเทียบการตรวจนับจำนวน LAB โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และ M17 พบว่าแตกต่างกันเล็กน้อย แต่ให้ผลการตรวจนับไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 โดย M17 ให้ผลการตรวจนับจำนวน LAB ได้สูงกว่า MRS แต่ลักษณะโคโลนีของ LAB บน MRS มีขนาดใหญ่กว่า และมี clear zone ชัดเจนกว่าใน M17 จากการศึกษาลักษณะของ LAB ในโยเกิร์ตและนมเปรี้ยว พบว่ามี 5 ชนิด เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปท่อน ท่อนสั้น ไม่มีสปอร์ การเรียงตัวเป็นคู่และสาย และอีก 1 ชนิด เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปกลม เรียงตัวเป็นสาย

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณ LAB ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส ของตัวอย่างโยเกิร์ตและนมเปรี้ยวอย่างละ 1 ชนิด พบว่า ปริมาณ LAB ในนมเปรี้ยวบีทาเก้น จากวันที่เริ่มเก็บรักษา วันหมดอายุ และหลังวันหมดอายุ 5 วัน มีจำนวน log 9.04 CFU/ml, log 8.92 CFU/ml และ log 8.91 CFU/ml ตามลำดับ ส่วนค่า pH เท่ากับ 3.92, 3.49 และ 3.52 ตามลำดับ ปริมาณกรด เท่ากับ 0.72, 0.77 และ 0.76 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ปริมาณ LAB ในโยเกิร์ตเนสท์เล่ LC1 จากวันที่เริ่มเก็บรักษา วันหมดอายุ และหลังวันหมดอายุ 5 วัน มีจำนวน log 9.20 CFU/ml, log 8.53 CFU/ml และ log 8.60 CFU/ml ตามลำดับ ส่วนค่า pH เท่ากับ 4.53, 4.61 และ 4.62 ตามลำดับ ปริมาณกรดเท่ากับ 0.90, 0.85 และ 0.82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมพร บุญทองโต

(นางสาวสมพร บุญทองโต)

สุกัญญา ตุ่มศรียา		5 พ.ค. 65
(นางสาวสุกัญญา ตุ่มศรียา)	(อาจารย์นิตยา พิระภัทรุ่งสุริยา)	
ลายมือชื่อนักศึกษา	ลายมืออาจารย์ที่ปรึกษา	วัน/เดือน/ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การจัดทำปัญหาพิเศษในหัวข้อเรื่อง การศึกษาปริมาณแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต สามารถสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี ทางคณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณท่านอาจารย์นิตยา พิระภัทรุ่งสุริยา ซึ่งได้กรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ และกรุณาสละเวลาอันมีค่าคอยให้คำปรึกษาและแนะนำในทุกเรื่อง รวมทั้งแก้ไขรายงานปัญหาพิเศษฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น และกราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่คอยแนะนำและช่วยให้การทำปัญหาพิเศษในครั้งนี้สำเร็จไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้กำลังใจและกำลังทรัพย์ในการศึกษา และ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่คอยให้ความช่วยเหลือในการเบิกอุปกรณ์และเปิด-ปิด ห้องปฏิบัติการ และขอขอบคุณเพื่อน ๆ ทุกคนที่ช่วยให้กำลังใจมาโดยตลอด

นางสาวสมพร บุญทองโต
นางสาวสุกัญญา ตุ่มศรียา
15 พฤศจิกายน 2545

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ฉ
สารบัญภาพ	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 วารสารปริทัศน์	3
2.1 ผลิตภัณฑ์นมหมัก	3
2.2 โยเกิร์ตและนมเปรี้ยว	3
2.3 ลักษณะของโยเกิร์ตที่ดี	4
2.4 คุณค่าทางโภชนาการ	5
2.5 หลักการผลิตนมเปรี้ยว	7
2.6 ประเภทของนมเปรี้ยว	8
2.7 กระบวนการผลิตโยเกิร์ต	9
2.8 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการผลิตโยเกิร์ต	13
2.9 จุลินทรีย์ในโยเกิร์ต	14
2.10 การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของการหมักโยเกิร์ต	19
2.11 การเก็บรักษาคุณภาพของโยเกิร์ต	25
2.12 ประโยชน์ของจุลินทรีย์ในโยเกิร์ต	25
2.13 อาหารเลี้ยงเชื้อ	27
2.14 ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	27
บทที่ 3 อุปกรณ์และการทดลอง	29
3.1 อุปกรณ์	29
3.2 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ	29
3.3 การทดลอง	30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการทดลอง 33

4.1 การตรวจนับปริมาณแบคทีเรียแลคติก ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตและนมเปรี้ยว ที่วางขายในท้องตลาด 33

4.2 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียแลคติก ในระหว่างการเก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส 38

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 41

5.1 สรุปผลการทดลอง 41

5.2 วิจารณ์ผลการทดลอง 41

5.3 ข้อเสนอแนะ 42

เอกสารอ้างอิง 43

ภาคผนวก 45

ประวัติผู้เขียน 51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่	1	แสดงคุณค่าของนมเปรี้ยวเปรียบเทียบกับนมสด (100 กรัม)	6
ตารางที่	2	แสดงคุณค่าทางอาหารของนมเปรี้ยว (ในส่วนที่บริโภคได้ 100 กรัม)	7
ตารางที่	3	แสดงนมเปรี้ยวชนิดต่าง ๆ จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้อง และประเทศที่นิยมบริโภค	14
ตารางที่	4	แสดงจำนวนจุลินทรีย์ของหัวเชื้อโยเกิร์ตที่ใช้ในการผลิต	19
ตารางที่	5	แสดงปริมาณของสารประกอบคาร์บอนิล (พีพีเอ็ม) ที่สร้างขึ้นจากหัวเชื้อโยเกิร์ต	22
ตารางที่	6	แสดงปริมาณแบคทีเรียแลคติก ค่า pH ปริมาณกรดในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตและนมเปรี้ยวชนิดต่าง ๆ	33
ตารางที่	7	แสดงผลการเปรียบเทียบทางสถิติของอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และ M17	34
ตารางที่	8	แสดงอุณหภูมิในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ของแต่ละแหล่งจำหน่าย	38
ตารางที่	9	แสดงปริมาณแบคทีเรียแลคติก ค่า pH และปริมาณกรดในผลิตภัณฑ์บีทาเก้นในระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส	40
ตารางที่	10	แสดงปริมาณแบคทีเรียแลคติก ค่า pH และปริมาณกรดในผลิตภัณฑ์เนสท์ LC1 ในระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส	40
ตารางที่	11	แสดงปริมาณแบคทีเรียแลคติก ค่า pH ปริมาณกรดในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตและนมเปรี้ยวชนิดต่าง ๆ จากการทดลอง 3 ครั้ง	49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 1 แสดงกระบวนการผลิตโยเกิร์ต 12

ภาพที่ 2 แสดงอัตราการสร้างกรดของเชื้อโยเกิร์ตสายพันธุ์เดี่ยวและสายพันธุ์ผสม เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในนมขาดมันเนย (10% TS) และใช้หัวเชื้อ 2% 16

ภาพที่ 3 แสดงอัตราการผลิตกรดแลคติกของหัวเชื้อสายพันธุ์เดี่ยว และสายพันธุ์ผสม ที่อุณหภูมิการหมักต่าง ๆ กัน 17

ภาพที่ 4 แสดงแนวทางการเปลี่ยนแปลงการใช้น้ำตาลแลคโตสของหัวเชื้อ *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus* 20

ภาพที่ 5 แสดงแผนภูมิของปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องในการสร้าง acetaldehyde 23

ภาพที่ 6 แสดงแนวทางการเปลี่ยน Methionine ไปเป็น Acetaldehyde ของเชื้อ *Streptococcus thermophilus* 24

ภาพที่ 7 แสดงปริมาณแบคทีเรียแลคติกที่เจริญบน อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และ M17 ของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตและนมเปรี้ยว 34

ภาพที่ 8 แสดงลักษณะของแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จาก บีทาเก้น 35

ภาพที่ 9 แสดงลักษณะของแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จาก ยาคูลท์ 35

ภาพที่ 10 แสดงลักษณะของแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จาก ดัชชี่ 36

ภาพที่ 11 แสดงลักษณะของแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จาก เนสท์เล่ 36

ภาพที่ 12 แสดงลักษณะของแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จาก เนสท์เล่ LC 1 36

ภาพที่ 13 แสดงลักษณะของแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จาก เมจิ-ไพเกน 37

ภาพที่ 14 แสดงลักษณะของโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และ M17 39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

การดื่มนมเปรี้ยวเริ่มตั้งแต่อายุรแพทย์สมัยโบราณของเปอร์เซีย กรีซ ซีเรีย และฮินดู ใช้ประโยชน์ของนมหมักเพื่อรักษาความผิดปกติเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร ควบคุมอุณหภูมิของเลือด และทำให้ผิวพรรณดี ต่อมาผู้ที่ได้ศึกษาและตระหนักถึงบทบาทของจุลินทรีย์ในนมเปรี้ยวเป็นคนแรกในปี พ.ศ. 2441 ก็คือ เม็ทชนิคอฟ (METCHNIKOFF) โดยเล็งเห็นว่าชาวบอลข่านเป็นชนชาติที่มีสุขภาพดีและอายุยืนเนื่องจากการดื่มนมเปรี้ยวเป็นประจำ แบคทีเรียในนมเปรี้ยวของชาวบอลข่าน คือ แลคโตบาซิลลัส บุลการิคัส (*Lactobacillus bulgaricus*) เม็ทชนิคอฟพบว่า มนุษย์ไม่สบายมีสาเหตุจากพิษต่าง ๆ ที่เกิดจากจุลินทรีย์ต่าง ๆ ในลำไส้ แต่ถ้าหากสิ่งเป็นพิษถูกกำจัดออกไป มนุษย์จะมีอายุยืนนานขึ้น นอกจากนี้การรับประทานนมเปรี้ยวเป็นประจำเชื่อว่าสามารถป้องกันเส้นโลหิตตีบ

ภายหลังการค้นพบของเม็ทชนิคอฟ ก็มีผู้ทำการศึกษาแบคทีเรียแลคติกและปรับปรุงนมเปรี้ยวเรื่อยมา ทั้งด้านเทคนิควิธีการใหม่ ๆ รวมทั้งปรับปรุงกลิ่นรสให้ดีขึ้น เพื่อจูงใจผู้บริโภค นมเปรี้ยวเป็นที่รู้จักในสหรัฐอเมริกาและแคนาดาเป็นครั้งแรกในปี พ.ศ. 2483 ต่อจากนั้นจึงมีผู้คิดค้นศึกษาแบคทีเรียแลคติกอื่น ๆ ที่มีประโยชน์ในการผลิตนมเปรี้ยวได้เช่นกัน รูปแบบของนมเปรี้ยวแต่เดิมมาจะเป็นครีมข้นใช้ช้อนตักรับประทาน จนกระทั่งบริษัทยาคูลท์ของญี่ปุ่นมองเห็นแนวโน้มของตลาด จึงคิดเทคนิคผลิตโยเกิร์ตพร้อมดื่มโดยใส่จุลินทรีย์แลคโตบาซิลลัสพันธุ์พิเศษ คือ *Lactobacillus casei var.shirota* ทำให้ปัจจุบันตลาดโยเกิร์ตพร้อมดื่มตื่นตัวอย่างมาก อย่างไรก็ตามในปัจจุบันนิยมใช้จุลินทรีย์ 2 ชนิด คือ แลคโตบาซิลลัส บุลการิคัส และสเตรปโตค็อกคัส เทอร์โมฟีลัส

โยเกิร์ต เป็นผลิตภัณฑ์นมหมักชนิดหนึ่ง หลายคนอาจเข้าใจว่าโยเกิร์ตนั้นเป็นนมเสียที่มีการบูดเน่าเกิดขึ้น จึงทำให้มีรสเปรี้ยว แต่แท้ที่จริงแล้วไม่ใช้ สาเหตุที่โยเกิร์ตมีรสเปรี้ยวเกิดมาจากส่วนประกอบของสารอาหารในนมดิบถูกจุลินทรีย์ หรือแบคทีเรียที่มีอยู่ในนมดิบย่อยสลายน้ำตาลแลกโตสในน้ำนม ให้เปลี่ยนเป็นกรด เรียกว่ากรดแลคติก หรืออาจมีการเติมจุลินทรีย์จำนวนมาก และเมื่อความเปรี้ยวถึงระดับหนึ่ง จะทำให้เกิดการแข็งตัวของโปรตีนในน้ำนม ทำให้น้ำนมที่มีลักษณะเหลวเปลี่ยนเป็นลักษณะข้น เรียกว่าโยเกิร์ต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบบางอย่างในโยเกิร์ต ช่วยให้โยเกิร์ตเป็นอาหารที่มีประโยชน์ต่อคนทุกเพศทุกวัย เพราะมีคุณค่าทางอาหารสูงเทียบเท่าหรือเท่ากับนม เนื่องจากร่างกายจะดูดซึมและนำสารเหล่านี้ไปใช้ได้ง่ายกว่า และมีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคต่ำกว่านม ด้วยเหตุที่มีความเป็นกรดค่อนข้างสูง

ประโยชน์ของโยเกิร์ต คือ จุลินทรีย์ในโยเกิร์ตสามารถรักษาอาการท้องเสีย ซึ่งจะสามารถทำให้เชื้อจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารเข้าสู่สภาวะปกติ นอกจากนี้ จุลินทรีย์ที่ผสมลงในน้ำนมยังช่วยย่อยอาหารบางส่วนในน้ำนม ทำให้สารอาหารมีขนาดเล็กลงสะดวกต่อการย่อย และดูดซึมอาหารของร่างกาย และในบางงานวิจัยได้กล่าวว่าจุลินทรีย์ในโยเกิร์ตสามารถช่วยยับยั้งการเกิดเนื้องอกได้ และยังพบว่าโยเกิร์ตสามารถลดปริมาณ serum cholesterol เนื่องมาจากสารเคมี 3 – hydroxy –3methylglutaric acid และ orotic acid ในผลิตภัณฑ์ การบริโภคโยเกิร์ตอย่างสม่ำเสมอติดต่อกัน จะช่วยลดการเกิดมะเร็งชนิด Sarcoma, carcinoma, bowel และ colon cancer เป็นต้น (I.G.Bagdanov และคณะ, ม.ป.ป.)

จากข้างต้นจะเห็นว่าจุลินทรีย์ในโยเกิร์ตมีความสัมพันธ์โดยตรงกับคุณภาพและประโยชน์ของโยเกิร์ตที่จะได้รับจากการรับประทาน กล่าวคือ จุลินทีย์โยเกิร์ตจะเอื้อประโยชน์นานาประการแก่ผู้บริโภค ดังนั้น โยเกิร์ตที่ดีจึงควรมีจุลินทรีย์ในปริมาณที่สูงตามเกณฑ์ แต่โดยทั่วไปแล้วมีการตรวจสอบพบว่าโยเกิร์ตที่ขายทั่วไปตามท้องตลาด มักจะไม่มีจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์เหลืออยู่หรืออาจเหลืออยู่ในปริมาณที่น้อยจนเกินไป ซึ่งอาจจะเกิดจากปัจจัยสำคัญหลาย ๆ อย่าง เช่น การเก็บรักษาที่ไม่เหมาะสม เก็บรักษาไว้นานเกินไป เป็นต้น ดังนั้นเมื่อผู้บริโภคต้องจ่ายเงินซื้อโยเกิร์ตที่มีราคาแพงกว่าน้ำนมดิบธรรมดาแล้ว ก็ควรพิจารณาเลือกซื้อโยเกิร์ตให้ได้ประโยชน์มากที่สุด

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาจุลินทรีย์ในกลุ่ม Lactic acid bacteria ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต
2. เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณ Lactic acid bacteria, pH, ปริมาณกรด ของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตในระหว่างการเก็บรักษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 ผลิตภัณฑ์นมหมัก (Fermented Dairy Product) (ทิพสุดน, 2539)

ผลิตภัณฑ์นมหมัก หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบอันเป็นผลมาจากเชื้อจุลินทรีย์ตั้งแต่หนึ่งชนิดขึ้นไป ทำให้เกิดกลิ่นรส เนื้อสัมผัสที่แตกต่างกันไป ความแตกต่างของผลิตภัณฑ์นมหมักขึ้นอยู่กับ วัตถุดิบ กระบวนการผลิต และที่สำคัญคือ จุลินทรีย์ที่เป็นกล้าเชื้อในการหมัก นอกจากเนยแข็งแล้ว ยังมีผลิตภัณฑ์นมหมัก อีก 3 ประเภท (Friend และ Shahani, 1985) ได้แก่

- ผลิตภัณฑ์ในรูปเครื่องดื่ม (liquid product) ได้แก่ Acidophilus milk, Sweet acidophilus milk, Culture butter milk, Kefir และ Koumiss
- ผลิตภัณฑ์กึ่งแข็ง (semi – solid product) ได้แก่ Culture cream และ โยเกิร์ต
- ผลิตภัณฑ์เนยแข็งที่ไม่ผ่านการบ่ม (Unripened soft cheese) ได้แก่ Cottage cheese, Bakers' cheese และ Quarg

2.2 โยเกิร์ตและนมเปรี้ยว

2.2.1 โยเกิร์ต

โยเกิร์ต เป็นผลิตภัณฑ์นมหมักที่เก่าแก่ ที่เกิดจากเคซีนตกตะกอนจนมีลักษณะข้น (curd) มีความเป็นกรดค่อนข้างสูง เป็นที่รู้จักกันดีและนิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลายในประเทศแถบยุโรป เอเชีย และแอฟริกา โดยมีต้นกำเนิดในแถบบอลข่าน สามารถเรียกชื่อได้แตกต่างกันในแต่ละท้องถิ่น เช่น ในอินเดียจะเรียก Dadhi หรือในอาร์มาเนีย เรียกว่า Mazen เป็นต้น (Silliker, 1980)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2 นมเปรี้ยว (สำนักวิจัยเกษตรกรรม ฝ่ายวิชาการ ธนาคารกสิกรไทย, 2533)

ตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 46 (พ.ศ.2523) เรื่องนมเปรี้ยว กำหนดว่า นมเปรี้ยว (Cultured milk) หมายถึง นมหรือผลิตภัณฑ์นมที่ได้จากนมที่หมักด้วยจุลินทรีย์ที่ไม่ทำให้เกิดโรคหรือไม่ทำให้เกิดพิษ และจุลินทรีย์ดังกล่าวยังคงมีชีวิตเหลืออยู่จากกรรมวิธีการหมักนั้น อาจจะเติมวัตถุอื่นที่จำเป็นต่อกรรมวิธีการผลิต หรือ อาจปรุงแต่งสี กลิ่น รส ด้วยก็ได้

การผลิตนมเปรี้ยวนี้มีในทุกประเทศที่ดื่มนมเป็นอาหารหลัก บางชนิดก็เป็นของพื้นเมือง บางชนิดก็เป็นสากล แต่ผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวที่เป็นที่รู้จักกันอย่างดี คือ โยเกิร์ต (Yoghurt หรือ Yogurt) ซึ่งเป็นนมเปรี้ยวที่มีการผลิตมาตั้งแต่สมัยโบราณแถบประเทศบัลกาเลีย โยเกิร์ตเป็นภาษาพื้นเมืองของภูมิภาคนี้ มีความหมายว่ายาอายุวัฒนะ นอกจากโยเกิร์ตแล้ว ยังมีนมเปรี้ยวอีกหลายประเภท เช่น บัตเตอร์มิลล์ (Butter milk) หรือ คัลเจอร์บัตเตอร์มิลล์ (Cultured Butter milk) อาซิโดฟิลลัส มิลล์ (Acidophillus milk) บัลกาเรียนบัตเตอร์มิลล์ (Bulgarian Butter milk) เป็นต้น

นมเปรี้ยวต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐานดังต่อไปนี้

1. โปรตีนไม่น้อยกว่าร้อยละ 1.5 ของน้ำหนัก
2. ตรวจไม่พบแบคทีเรียชนิด E. coli ในอาหาร 0.1 กรัม
3. ไม่ใช้วัตถุที่ให้ความหวานแทนน้ำตาล
4. ไม่มีวัตถุกันเสีย
5. ไม่มีจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคและไม่มีสารเป็นพิษจากจุลินทรีย์ในปริมาณที่อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพ

2.3 ลักษณะของโยเกิร์ตที่ดี (สำนักวิจัยเกษตรกรรม ฝ่ายวิชาการ ธนาคารกสิกรไทย, 2533)

2.3.1 ลักษณะของโยเกิร์ตที่ดี

โยเกิร์ตที่มีลักษณะที่ดี พอที่จะสังเกตได้ดังต่อไปนี้ คือ

1. เคิร์ดของนมเปรี้ยวต้องเป็นเคิร์ดที่แข็งแกร่งไม่อ่อนเหลว
2. เคิร์ดของนมเปรี้ยวต้องไม่หดตัวเป็นก้อนแยกอยู่ต่างหาก
3. นมเปรี้ยวต้องไม่เปรี้ยวเกินไป
4. นมเปรี้ยวต้องมีกลิ่นอะโรมาเฉพาะ
5. นมเปรี้ยวต้องไม่มีรสฝาด รสขม หรือรสอื่นใด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2 ความบกพร่องของโยเกิร์ต

1. บ่มครบตามเวลากำหนดแล้ว นมไม่ยอมเคิร์ดขึ้นมา ทั้งนี้เป็นเพราะเชื้อนมเปรี้ยวอ่อนแอ หรืออุณหภูมิที่บ่มนมร้อนหรือเย็นเกินไป หรือนมที่นำมาผลิตเป็นนมแมสไตติส หรือนมที่นำมาผลิตนั้นมีสารปฏิชีวนะ เช่น เพนนิซิลินปะปนมา

2. เคิร์ดของนมเปรี้ยวเป็นเคิร์ดที่อ่อน (Weak curd) ทั้งนี้เป็นเพราะนมที่นำมาผลิตเป็นนมประเภทผิดปกติ (Abnormal milk) หรือการอุ่นนมใช้ความร้อนสูงหรือนานเกินไป

3. นมเปรี้ยวมีรสชาติไม่ดี ทั้งนี้เป็นเพราะนมที่นำมาผลิตนั้นคุณภาพไม่ดี หรือเชื้อนมเปรี้ยวไม่บริสุทธิ์

2.4 คุณค่าทางโภชนาการ (สำนักวิจัยเกษตรกรรม ฝ่ายวิชาการ ธนาคารกสิกรไทย, 2533)

นมเปรี้ยวเป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงกว่านมสด โดยเฉพาะอย่างยิ่งโปรตีนเคซีนในนมเปรี้ยวมีประโยชน์ต่อร่างกายมาก เนื่องจากถูกย่อยสลายง่ายกว่าโปรตีนเคซีนในน้ำนมสดถึง 2-3 เท่า ทั้งนี้เป็นผลจากแบคทีเรียที่ใช้ในกระบวนการผลิต จะช่วยย่อยสลายโปรตีนเคซีนในบางส่วนทำให้โปรตีนเคซีนอยู่ในสภาพที่ร่างกายย่อยได้ง่ายและดูดซึมไปใช้ประโยชน์ได้มาก นอกจากนี้ นมเปรี้ยวยังมีแคลเซียมในปริมาณค่อนข้างสูงจึงช่วยเสริมสร้างกระดูกและฟันให้แข็งแรง รวมทั้งมีกรดแลคติกที่จะช่วยให้ร่างกายสามารถดูดซึมแคลเซียมและฟอสฟอรัสได้ดียิ่งขึ้น

จากการศึกษาวิจัยของหลายสถาบันพบว่า ผู้ที่บริโภคนมเปรี้ยวเป็นประจำจะมีสุขภาพสมบูรณ์ แข็งแรง และอายุยืน โดยคุณประโยชน์ของนมเปรี้ยวสามารถสรุปได้ดังนี้

1. ช่วยระบบย่อย หายท้องผูก หยุดอาการท้องร่วง คนสูงอายุมักจะมีกรดในกระเพาะน้อย กรดแลคติกในโยเกิร์ตจะเข้าไปแทนที่กรดในกระเพาะที่ขาดไป โดยเฉพาะอย่างยิ่งในคนสูงอายุทำให้การย่อยดีขึ้น

2. มีวิตามินบีมาก ช่วยให้มีภูมิต้านทานโรคและช่วยสร้างเม็ดเลือด นอกจากนี้ยังช่วยให้อารมณ์แจ่มใส

3. มีแคลเซียมมาก ทำให้คนแก่ช้าลง ฟันและกระดูกแข็งแรง

4. ทำลายวิตามินซึ่งเป็นสารที่มีอยู่ในลำไส้ ที่ทำให้เกิดอาการแพ้ต่างๆ เช่น ลมพิษ เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ช่วยลดระดับคลอเรสเตอรอลในเลือด โดยเชื่อกันว่า ไฮดรอกซีเมทิลกลูตาเรต (Hydroxy methylglutarate) ที่ได้จากการสร้างของเชื้อนมเปรี้ยวซึ่งสารนี้จะมีคุณสมบัติยับยั้งการสังเคราะห์คลอเรสเตอรอลในร่างกาย

ตารางที่ 1 แสดงคุณค่าของนมเปรี้ยวเปรียบเทียบกับนมสด (100 กรัม)

รายการ	นมสด	โยเกิร์ต	โยเกิร์ตปรุงรสผลไม้ (น้ำตาลทราย 5%)
แคลอรี	66	84	90
หางนม (%)	8.7	13.1	14.0
โปรตีน (%)	3.2	4.8	52
วิตามินบี 2 (มิลลิกรัม)	0.15	0.26	0.23
แคลเซียม (มิลลิกรัม)	120	180	192
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม)	95	142	153
โพแทสเซียม (มิลลิกรัม)	160	240	254

ที่มา : สำนักวิจัยเกษตรกรรม ฝ่ายวิชาการ ธนาคารกสิกรไทย, 2533

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 แสดงคุณค่าทางอาหารของนมเปรี้ยว (ในส่วนที่บริโภคได้ 100 กรัม)

รายการ	นมเปรี้ยวจากหางนม	นมเปรี้ยวจากหางนมเป็นบางส่วน
ความชื้น (gm.)	80.0	77.0
แคลอรี (หน่วย)	76.0	90.0
ไขมัน (กรัม)	0.1	0.8
คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	15.5	17.6
ไฟเบอร์ (กรัม)	-	-
โปรตีน (กรัม)	3.5	3.6
แคลเซียม (มิลลิกรัม)	120.0	140.0
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม)	100.0	130.0
เหล็ก (มิลลิกรัม)	0.10	0.10
วิตามินเอ (IU.)	-	33.0
บีหนึ่ง (มิลลิกรัม)	0.03	0.03
บีสอง (มิลลิกรัม)	0.15	0.15
ไนอาซีน (มิลลิกรัม)	0.10	0.10
วิตามินซี (มิลลิกรัม)	-	-

ที่มา : สำนักวิจัยเกษตรกรรม ฝ่ายวิชาการ ธนาคารกสิกรไทย, 2533

2.5 หลักการผลิตนมเปรี้ยว (วรรณา, 2541)

นมเปรี้ยวเป็นผลิตภัณฑ์นมชนิดหนึ่ง ซึ่งนำมาเติมเชื้อจุลินทรีย์ที่พบปกติในทางเดินอาหารของคนลงไป แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 45-50 องศาเซลเซียส นาน 4-5 ชั่วโมง โดยระหว่างนี้จุลินทรีย์จะเพิ่มจำนวนมากขึ้นและมีการใช้น้ำตาลแล็กโทสในนม และสร้างกรดแลคติกขึ้นมาทำให้นมมีรสเปรี้ยว ดังสมการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียที่นิยมใช้ได้แก่ แล็กโตบาซิลลัส บูลการิคัส (*Lactobacillus bulgaricus*) แล็กโตบาซิลลัส อะซิโดฟิลัส (*Lactobacillus acidophillus*) สเตรปโตค็อคคัสแล็กติส(*Streptococcus lactis*) สเตรปโตค็อคคัสเทอร์โมฟิลัส (*Streptococcus thermophillus*) หรือ บิฟีดัส (*Bifidus*)

2.6 ประเภทของนมเปรี้ยว (วรรณา, 2541)

ประเภทของนมเปรี้ยวอาจจำแนกออกไปหลายแบบโดยมีหลักเกณฑ์การจำแนกนมเปรี้ยวออกตามปริมาณไขมัน พลังงาน ความคงตัวของผลิตภัณฑ์ และอายุการเก็บ

สำหรับประเทศไทย มีการจำแนกนมเปรี้ยวตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขออกเป็น 2 ประเภท ตามลักษณะความคงตัวของผลิตภัณฑ์ คือ

1. นมเปรี้ยวชนิดกึ่งแข็งกึ่งเหลว มีลักษณะคล้ายครีมมักบรรจุในภาชนะถ้วยปากกว้างซึ่งปิดสนิทด้วยแผ่นอะลูมินัมฟอยล์ แบ่งเป็น 2 ประเภทตามกรรมวิธีการผลิต คือ

1.1 เซทโยเกิร์ต (Set yogurt) เป็นนมเปรี้ยวที่บรรจุได้จากส่วนผสมพร้อมเชื้อจุลินทรีย์ในภาชนะบรรจุ ปล่อยให้เกิดปฏิกิริยาการหมักไม่มีการคนแต่อย่างใด เป็นนมเปรี้ยวแบบฝรั่งเศส

1.2 สเตอร์โยเกิร์ต (Stirred yogurt) เป็นนมเปรี้ยวที่ให้มีปฏิกิริยาการหมักในถังก่อนปั๊มหรือบรรจุในภาชนะบรรจุภายหลัง นมเปรี้ยวซึ่งมีผลไม้กระจายในเนื้อนมเปรี้ยวจะเรียกว่าแบบสวิส ส่วนผสมของเนื้อผลไม้ทำให้สเตอร์โยเกิร์ตได้รับความนิยมมาก รวมทั้งในประเทศไทย แต่ถ้าบรรจุผลไม้ไว้ที่ก้นภาชนะ จะเป็นแบบฝรั่งเศส

2. นมเปรี้ยวชนิดพร้อมดื่ม (Drinking yogurt) มีลักษณะข้นกว่านมสดธรรมดาเล็กน้อย ทำให้สามารถดื่มได้ ซึ่งเมื่อบ่มได้กรดตามต้องการแล้ว จึงนำมาผสมกับน้ำผลไม้หรือน้ำเชื่อมในสัดส่วนที่แตกต่างกันร้อยละ 30-85 ของนมโค และทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วจึงนำไปผ่านกรรมวิธีการผลิต ซึ่งอาจจำแนกได้เป็น 3 ประเภท ตามอายุการเก็บรักษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1 ประเภทที่เชื้อยังมีชีวิตอยู่ นมเปรี้ยวที่ผ่านกระบวนการโฮโมจีไนซ์แล้ว จะทำให้เย็นและบรรจุขวดปิดฝาอะลูมินัมฟอยล์ สามารถเก็บไว้ในตู้เย็นได้ประมาณ 2-3 สัปดาห์ ซึ่งนมเปรี้ยวประเภทนี้ จะมุ่งให้ผู้บริโภคได้รับประโยชน์จากเชื้อแบคทีเรียที่เติมลงไปมากกว่าประโยชน์จากนมสด จึงไม่เหมาะสำหรับเด็กเล็กในการบริโภค

2.2 ประเภทผ่านการพาสเจอไรซ์ นมเปรี้ยวที่ผ่านการผสมน้ำผลไม้หรือน้ำเชื่อม แล้วผ่านการพาสเจอไรซ์ โฮโมจิไนซ์ และบรรจุขวดปิดฝาอะลูมินัมฟอยล์ สามารถเก็บไว้ในตู้เย็นได้นานกว่า 1 เดือน ผู้บริโภคจะได้รับประโยชน์จากปริมาณน้ำตาลแลคโตส เท่านั้น ส่วนประโยชน์จากเอนไซม์กาแลคโตซิเดสและเชื้อแบคทีเรียจะหมดไปเนื่องจากถูกทำลายด้วยความร้อน

2.3 ประเภทผ่านกระบวนการยูเอชที นมเปรี้ยวที่ผ่านการผสมน้ำผลไม้หรือน้ำเชื่อม แล้วผ่านการโฮโมจิไนซ์ และฆ่าเชื้อด้วยกระบวนการยูเอชทีบรรจุในกล่องกระดาษ สามารถเก็บไว้ได้ที่อุณหภูมิห้องได้ไม่น้อยกว่า 6 เดือน ส่วนประโยชน์ที่ได้รับเหมือนกับนมเปรี้ยวพาสเจอไรซ์

2.7 กระบวนการผลิตโยเกิร์ต (วรรณา, 2541)

การผลิตเซทโยเกิร์ตและสเตอร์โยเกิร์ต มีขั้นตอนดังต่อไปนี้ (ดังแสดงในภาพที่ 1)

1. การเตรียมวัตถุดิบ ในการผลิตแบบชุด จะปล่อยส่วนผสมเหลวลงในถัง ตามด้วยส่วนผสมแห้ง ซึ่งประกอบด้วย นมผง น้ำตาล สเตอบิไลเซอร์ คนส่วนผสมเบาๆ ป้องกันการตกตะกอน และเพื่อให้การอุ้มน้ำ และการละลายเป็นไปอย่างช้า ๆ ส่วนผสมที่ไม่ละลายน้ำทันทีอาจใช้ความร้อนช่วย ส่วนในกระบวนการต่อเนื่อง จะเทส่วนผสมแห้งลงในนมหรือน้ำบางส่วนก่อน จากนั้นจึงเทนมร้อนส่วนที่เหลือลงโดยการใช้ปั๊ม สามารถเติมน้ำเชื่อมในขั้นตอนนี้ได้

2. ทำให้อุ่น ให้ความร้อนส่วนผสมที่อุณหภูมิ 45-70 องศาเซลเซียส โดยแผ่นแลกเปลี่ยนความร้อนทั้งนี้ช่วยการละลายและอุ้มน้ำของส่วนผสมแห้งได้ดี ตลอดจนยังช่วยทำให้ไขมันเนยละลาย

3. โฮโมจิไนเซชั่น โฮโมจิไนซ์ 2 ครั้งด้วยความดัน 15 เมกกะพาสคาล (Mega Pascal, Mpa) และ 4 เมกกะพาสคาล ตามลำดับ

4. การให้ความร้อน ให้ความร้อนส่วนผสมโดยแผ่นแลกเปลี่ยนความร้อน อุณหภูมิตั้งแต่ 80 องศาเซลเซียส ถึงอุณหภูมิ 125-145 องศาเซลเซียส ระยะเวลาแตกต่างกันตั้งแต่ 1 วินาที ขนถึง 30 นาที ทั้งนี้ขึ้นกับความสามารถ ของแผ่นแลกเปลี่ยนความร้อน วัตถุประสงค์ของการให้ความร้อนก็เพื่อทำให้เวย์โปรตีนสูญเสียสภาพธรรมชาติ เป็นผลให้ได้นมเปรี้ยวเนื้อแข็งแรง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และอุ้มซีรัมได้ดี ช่วยให้สเตบิไลเซอร์อุ้มน้ำและกระจายตัวได้ดีกว่า และสุดท้ายคือ ทำลายจุลินทรีย์ในนมหรือที่ปนเปื้อนมากับส่วนผสมแห้ง

5. การทำให้เย็น ทำส่วนผสมให้เย็นโดยแผ่นแลกเปลี่ยนความร้อน จนมีอุณหภูมิสูงกว่าอุณหภูมิของการหมักเพียง 1-2 องศาเซลเซียส เท่านั้น

6. การเติมสตาร์ตเตอร์ วิธีการเติมเชื้อหรือสตาร์ตเตอร์ขึ้นกับลักษณะของสตาร์ตเตอร์ว่าเป็นชนิดผงที่ผ่านการทำแห้งแบบแช่แข็ง (Freeze-dried) หรือสตาร์ตเตอร์เหลว ในทุกๆกรณี ต้องคนหรือผสมเพื่อช่วยการกระจายตัวของเชื้อ โดยมากมักเติมเชื้อในเวลาเดียวกับเติมส่วนผสมลงในถังหมักเพื่อลดขั้นตอนการผสมอีกครั้ง หลังเทเชื้อลงในถังหมัก

7. การหมัก การหมักนมเปรี้ยวแบบสเตอร์โยเกิร์ตนั้นจะเกิดขึ้นก่อนทำการบรรจุในถังหมักซึ่งต่างจากการหมักเซทโยเกิร์ต ซึ่งเกิดในถ้วยหรือภาชนะบรรจุสำหรับจำหน่ายปลีก ไม่มีการคนส่วนผสมขณะหมักจนกระทั่งได้ isoelectric pH 4.6 เริ่มสังเกตเห็นลิ่มและง่ายต่อการถูกรบกวน โปรตีนนมละลายได้น้อยที่สุดด้วย และสามารถอุ้มน้ำได้น้อยที่สุด มักปล่อยให้การหมักดำเนินต่อไปจน pH 4.2-4.4 และบางครั้งจน pH 3.8 ซึ่งจะได้กลิ่นรสเปรี้ยว

8. การคนลิ่ม การคนลิ่มให้แตกออกจะทำเฉพาะสเตอร์โยเกิร์ตเท่านั้น หลังจากลิ่มแตกจะรวมตัวกับเวย์ที่แยกออกอีกครั้ง การทำให้ลิ่มแตกใช้ใบพัดความเร็วปานกลางและใช้เวลานาน 5-10 นาทีจนได้ส่วนผสมเป็นเนื้อเดียวกัน การคนก็สามารถยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ทำให้สร้างกรดได้ช้าลงและยังลดปัญหาของการหมักนานเกินไป (over- fermentation)

9. การปรับเนื้อสัมผัส ขั้นตอนนี้จะทำเฉพาะสเตอร์โยเกิร์ตเท่านั้น โดยจะผ่านนมเปรี้ยวที่ยังอุ่นๆ ผ่านตะแกรงละเอียดของเครื่องมือที่เรียกว่า Texturizer เพื่อกรองหรือแยกอนุภาคใด ๆ ออกจากนมเปรี้ยว ส่วนที่ได้เป็นนมเปรี้ยวที่มีเนื้อเนียน ขั้นตอนนี้ควรทำขณะอุ่นเพื่อป้องกันการแยกตัวของเวย์และไม่มีผลต่อการลดความหนืดของนมเปรี้ยวลง

10. การทำให้เย็น นมเปรี้ยวถูกทำให้เย็นโดยแผ่นหรือท่อแลกเปลี่ยนความร้อนเพื่อทำให้เย็นลงมากพอที่จะยับยั้งกิจกรรมของเชื้อก่อนที่จะผ่านขั้นตอนการผลิตต่อไป ความเย็นทำให้โปรตีนนมหดตัว และมีความอยู่ตัวต่อแรงกล อุณหภูมิของการทำให้เย็นแตกต่างกันไปขึ้นกับส่วนผสมของนมเปรี้ยวและความทนต่อแรงกลในระหว่างการทำให้เย็น การบรรจุและสุขลักษณะของผู้ผลิต ระยะเวลาของการเก็บนมเปรี้ยวในช่วงสั้น ๆ และประสิทธิภาพของการทำให้เย็นหลังการบรรจุ อุณหภูมิของการบรรจุอยู่ระหว่าง 4-30 องศาเซลเซียส

กรณีของเซทโยเกิร์ต จะทำให้นมเปรี้ยวเย็นขณะอยู่ในภาชนะบรรจุเรียบร้อยแล้ว ในทางปฏิบัติมักทำให้เย็นก่อนจะถึง pH สุดท้ายที่ต้องการ ควรระมัดระวังขณะเคลื่อนย้ายจากตู้บ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มายังตู้เย็นเนื่องจากลิ่มมีความอ่อน ในระหว่างทำให้เย็นลิ่มจะแน่นตัวขึ้น และถ้าคำนวณสูตรได้ถูกต้อง เวย์ที่ผิวหน้าจะถูกดูดซับโดยลิ่มภายใน 24 ชั่วโมงขณะทำให้เย็น

11. การเก็บสเตอร์โยเกิร์ตระยะสั้น บ่อยครั้งที่อัตราการผลิตและการบรรจุไม่สอดคล้องกัน การเก็บระยะสั้นอาจเป็นเวลาหลายชั่วโมง หรือข้ามคืนแต่ไม่แนะนำให้เก็บนานกว่า 24 ชั่วโมง อุณหภูมิขณะเก็บอยู่ระหว่าง 10–20 องศาเซลเซียส และเพื่อให้เกิดผลดีควรเก็บนมเปรี้ยวในเวลาที่สั้นที่สุด เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพมีผลต่อคุณภาพสุดท้ายของผลิตภัณฑ์ อาจมีการแยกตัวของเวย์ซึ่งยากต่อการซึมกลับเข้าดังเดิมความสามารถของนมเปรี้ยวในการกักเก็บเวย์จะลดลงเมื่อได้รับความเย็นเป็นเวลานาน

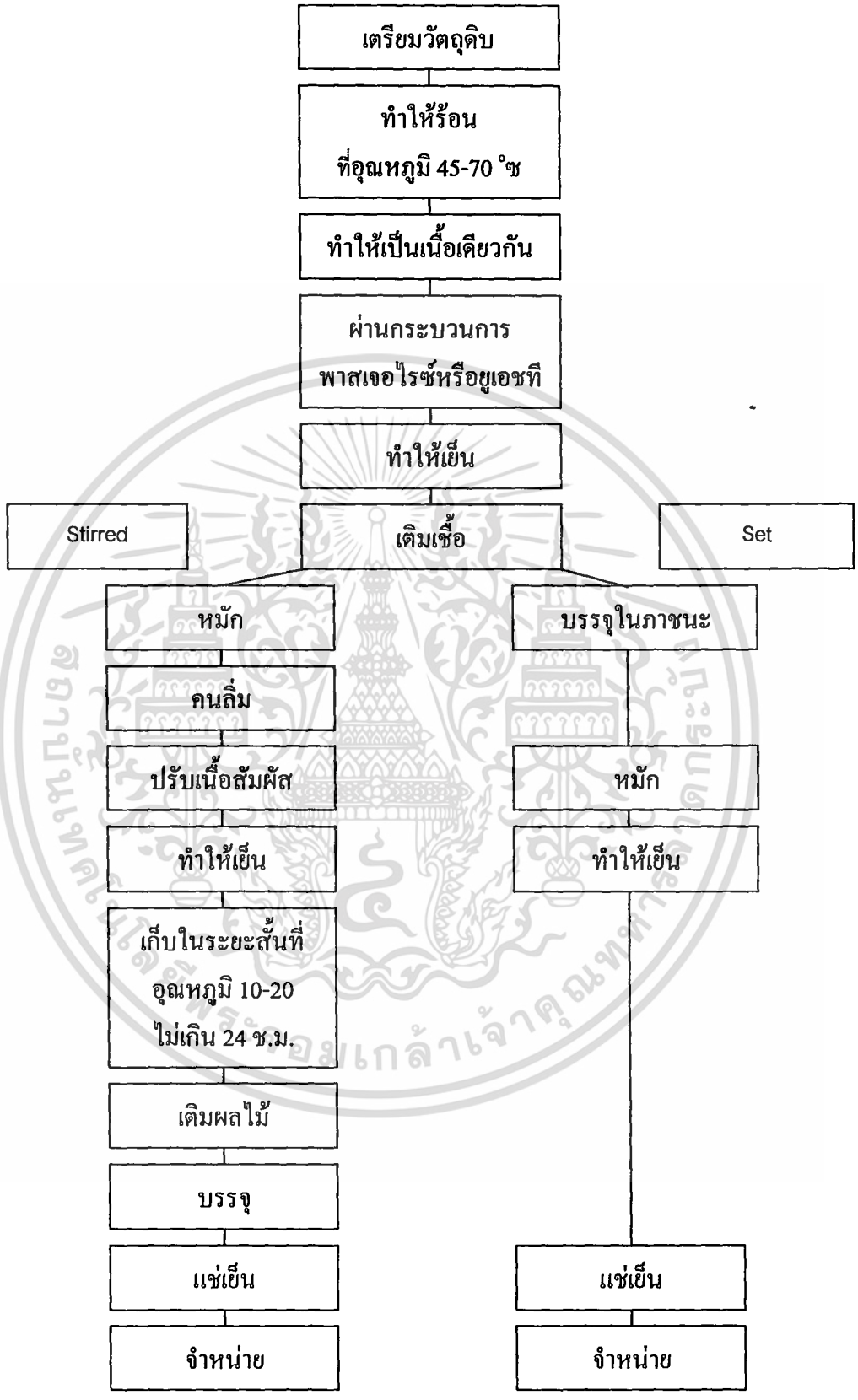
12. การเติมผลไม้ ผลไม้จะถูกปั๊มผสมกับนมเปรี้ยวทันทีที่ถูกปั๊มออกจากถังเก็บชั่วคราวเพื่อบรรจุ

13. การบรรจุ ผลไม้จะถูกบรรจุในกรวยบรรจุ (filler hopper) หรือในถังรอที่จะบรรจุพร้อม ๆ กับส่วนของนมเปรี้ยว ความหนืดของนมเปรี้ยวมีบทบาทสำคัญที่จะสามารถกระจายส่วนของผลไม้ได้อย่างสม่ำเสมอ ถ้าความหนืดของนมเปรี้ยวต่ำเกินไป ชิ้นผลไม้จะนอนก้นภาชนะบรรจุ

14. การแช่เย็น การแช่เย็นทำให้อุณหภูมิของนมเปรี้ยวลดลงและทำให้ความหนืดและเนื้อสัมผัสดีขึ้นโดยทั่วไปจะประเมินความหนืดผลิตภัณฑ์ที่แช่เย็นอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมงหลังบรรจุ

15. การจำหน่าย มักเก็บผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวไว้ไม่เกิน 48 ชั่วโมงหลังบรรจุ ขณะขนส่งบนถนนขรุขระหรือเป็นหลุมเป็นบ่อทำให้เกิดแรงเครียดต่อนมเปรี้ยว จำเป็นต้องทดสอบสูตรที่ทนต่อแรงกระแทกขณะขนส่ง อุณหภูมิภายในห้องเย็นที่เปลี่ยนแปลงบ่อย ๆ ทำให้เกิดผลคล้าย ๆ กับที่เกิดจากการขนส่งข้างต้น เซทโยเกิร์ตมีความอ่อนไหวต่อการขนส่ง ถ้าคำนวณสูตรไม่เหมาะสมลิ่มจะแตกออกและเวย์แยกตัวทันที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



<u>ภาพที่ 1</u> แสดงกระบวนการผลิตโยเกิร์ต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการผลิตโยเกิร์ต

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโยเกิร์ตส่วนใหญ่เป็นหัวเชื้อผสมระหว่างแบคทีเรียในกลุ่ม Lactobacillus และ Streptococcus ซึ่งแบคทีเรียดังกล่าวมีคุณสมบัติทางกายภาพ ดังนี้

1. Lactobacillus

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก อาจเปลี่ยนเป็นแกรมลบเมื่ออายุมากขึ้นและมีกรดมากขึ้น ลักษณะของเซลล์รูปท่อน เรียงตัวต่อกันเป็นคู่หรือสาย โดยทั่วไปไม่เคลื่อนที่ ถ้าเมีจะใช้แฟลเจลลา รอบตัว ไม่สร้างสปอร์ไม่สร้างเอนไซม์คาตาเลส แต่อาจมีบางสายพันธุ์สลายเพอร์ออกไซด์ โดยใช้เอนไซม์ซูโดคาตาเลส ส่วนใหญ่ไม่สร้างสารสี ถ้าสร้างจะมีสีเหลือง ส้ม จนถึงสีแดงอิฐ หรือสีสนิม เป็นพวกต้องการอาหารในการเติบโตซับซ้อน อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเติบโตโดยทั่วไป 30-40 องศาเซลเซียส ช่วงอุณหภูมิในการเติบโต 5-53 องศาเซลเซียส พีเอชที่เหมาะสมโดยปกติ 5.5-5.8 หรือต่ำกว่า และโดยทั่วไปเติบโตที่พีเอช 5.0 หรือต่ำกว่า ในพีเอชที่เป็นกลางหรือเริ่มเป็นด่าง ระยะแรกของการเติบโตจะยาวขึ้นหรือการเติบโตลดลง (วิลาวัณย์, 2539)

ส่วนใหญ่ในกระบวนการผลิตโยเกิร์ตมักใช้ *Lactobacillus bulgaricus* ในการผลิต ซึ่งโดยทั่วไปมักเป็นตัวที่สร้างกรด และกลิ่นรสที่ดีให้กับโยเกิร์ต

2. Streptococcus

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ลักษณะของเซลล์รูปกลม เส้นผ่าศูนย์กลางเล็กกว่า 2 ไมโครเมตร มักเรียงตัวต่อกันเป็นคู่หรือสาย ไม่สร้างเอนไซม์คาตาเลส ส่วนใหญ่ไม่สร้างสารสี เป็นพวกเฟคัลเททีฟ อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเติบโต 37 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิสูงสุด ต่ำสุดสำหรับการเจริญเติบโตแตกต่างกันในแต่ละชนิด เป็นพวกฮอมอเฟอร์เมนเททีฟ ผลิตภัณฑ์หลักที่ได้จากการหมักกลูโคสคือ กรดแลคติก (วิลาวัณย์, 2539)

ส่วนใหญ่ในกระบวนการผลิตโยเกิร์ตมักใช้ *Streptococcus thermophilus* ในการผลิต ซึ่งโดยทั่วไปมักเจริญได้ดีในช่วงแรกของการหมัก และสร้างกรดในผลิตภัณฑ์

นอกจากแบคทีเรียสองกลุ่มที่ได้กล่าวมาแล้วยังพบว่า ในบางผลิตภัณฑ์ยังมีการเติมเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มอื่น ๆ อีก เช่น

3. Bifidobacterium

เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ลักษณะของเซลล์รูปท่อนสั้น เรียงตัวกันเป็นคู่หรือสาย ซึ่งโดยทั่วไปแบคทีเรียชนิดนี้จะไม่มีความสำคัญในแง่ของการผลิต แต่เป็นที่เชื้อกันว่ามีประโยชน์โดยตรงต่อสุขภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ในผลิตภัณฑ์นมหมักชนิดอื่น ๆ ยังอาจมีการเติมเชื้อแบคทีเรียชนิดอื่นนอกเหนือจากที่ได้กล่าวมาแล้ว เช่น ในยาคูลท์ จะมีการเติมเชื้อ *Lactobacillus casei var.shirota* เป็นต้น ซึ่งชนิดของเชื้อที่เติมลงไปขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์

ตารางที่ 3 แสดงนมเปรี้ยวชนิดต่าง ๆ จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้อง และประเทศที่นิยมบริโภค

ชื่อนมเปรี้ยว	จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้อง	ประเทศที่นิยมบริโภค
โยเกิร์ต	*Streptococcus thermophilus* *Lactobacillus bulgaricus*	ทั่วๆ ไป
อะซิโดฟิลัสมิลล์ (Acidophillus milk)	*Lactobacillus acidophillus*	ยุโรป สหรัฐอเมริกา
รีฟอร์มโยเกิร์ต	*Lactobacillus acidophillus*	ยุโรป สหรัฐอเมริกา
ไฟโอเกิร์ต	*Lactobacillus acidophillus*	ยุโรป สหรัฐอเมริกา
ยาคูลท์	*Lactobacillus spp. Shirota strain*	ญี่ปุ่น ไทย
เต(Taette)	*Streptococcus lactis* *Lactobacillus casei* *saccharomyces*	แถบสแกนดิเนเวีย
คีเฟอร์(Kefir)	แบคทีเรียแลคติก แบคทีเรียอะซิติก และยีสต์	แถบคอเคซัส
คีรินกา(Kyrynga)	คล้ายคลึงกับคีเฟอร์	รัสเซีย
ซัล(Chal)	*Streptococcus thermophilus* *Lactobacillus bulgaricus* *Streptococcus lactis* ยีสต์	แถบเอเชียตะวันออก

ที่มา : บุษบา, 2527

2.9 จุลินทรีย์ในโยเกิร์ต (Microbiology of natural yogurt) (วราวุฒิ, 2532)

หัวเชื้อเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในการผลิตโยเกิร์ต ลักษณะที่ต้องการของหัวเชื้อโยเกิร์ต คือ ปลอดจากการปนเปื้อน เจริญได้ดีในส่วนผสมของนมที่ใช้เตรียมโยเกิร์ต ให้กลิ่นรสที่ต้องการ โครงสร้างลักษณะเนื้อดี และต้านทานต่อ phages และสารปฏิชีวนะ ในการสร้างกลิ่นรส (flavor)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และลักษณะของเนื้อสัมผัส (texture) ต้องใช้หัวเชื้อผสมของ *Lactobacillus bulgaricus* และเชื้อ *Streptococcus thermophilus* โดยทั่วไปจะใช้หัวเชื้อทั้งสองชนิดนี้ในอัตราส่วนที่เท่ากัน (จำนวนเซลล์)

เมื่อใช้หัวเชื้อที่แช่แข็งในการผลิตโยเกิร์ต จำเป็นต้องบ่มหัวเชื้อเป็นเวลา 5 ชั่วโมงที่ 45 องศาเซลเซียส หรือ 11 ชั่วโมง ที่ 32 องศาเซลเซียสหรือ 14-16 ชั่วโมงที่ 29-30 องศาเซลเซียส เสียก่อน

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

ลักษณะการพึ่งพาอาศัยกันของจุลินทรีย์เหล่านี้ในหัวเชื้อโยเกิร์ต คือเริ่มแรกเชื้อ Streptococci มีอุณหภูมิการหมักที่เหมาะสมที่ 40 องศาเซลเซียส ทำให้เชื้อเจริญขึ้นอย่างเด่นชัด ระหว่างการหมักช่วงแรกนี้จะเกิดการเปลี่ยนแปลงหลายอย่างขึ้นมา เชื้อ Streptococci เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิด diacetyl และ สารประกอบที่คล้ายกันซึ่งมีผลต่อกลิ่นรสของครีมเนย (creamy/buttery) ในผลิตภัณฑ์สุดท้าย

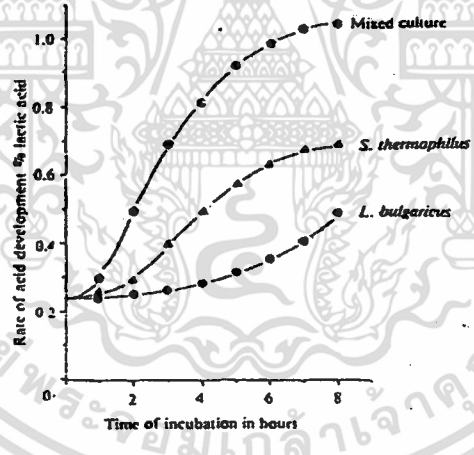
เชื้อ Streptococci นี้จะช่วยกำจัดออกซิเจนจากนมซึ่งถ้าหากเหลืออยู่อาจก่อให้เกิดไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ การเจริญจะดำเนินไปจนกระทั่งความเป็นกรดถึง pH 5.5 จะมีสารอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อ Lactobacilli ต่อไป

เชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* มีอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญที่ 45 องศาเซลเซียส และยังให้ปริมาณกรดแลคติกที่มากพอที่จะสร้าง acetaldehyde ซึ่งให้กลิ่นรสเฉพาะของโยเกิร์ตได้ ในกรณีของโยเกิร์ตที่มีกลิ่นรสดีมากจะมีปริมาณ acetaldehyde อยู่ 23-41 ppm คิดเป็นสัดส่วนของสารประกอบที่ให้กลิ่น (volatile flavour compound) ถึง 90% นอกจากนี้แล้วเชื้อ Lactobacilli จะปล่อยกรดอะมิโนบางตัวที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ Streptococci อีกด้วย

หลังจากหมักเสร็จสิ้นแล้ว โยเกิร์ตที่ได้จะมีลักษณะเนื้อที่แน่นขึ้นเรียกว่า thickened yogurt ซึ่งจะถูกทำให้เย็นลงเป็น 4.5 องศาเซลเซียส และคงไว้ที่อุณหภูมินี้ตลอดระยะเวลาการจำหน่าย ณ อุณหภูมินี้แบคทีเรียยังคงมีชีวิตอยู่ แต่กิจกรรมค่อนข้างจำกัด ทำให้การแบ่งตัวและสร้างกรดจะช้าลงมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังกล่าวมาแล้วว่าจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในการผลิตโยเกิร์ตคือ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* แต่ในบางประเทศ เช่น นิวซีแลนด์หรือสวิตเซอร์แลนด์อาจยอมให้เชื้อแลคติกชนิดอื่นร่วมอยู่ด้วย อย่างไรก็ตาม จะต้องมีจุลินทรีย์ที่สำคัญสองชนิดนี้เสมอ ซึ่งลักษณะนี้ทำให้โยเกิร์ตมีลักษณะเด่น ลักษณะการพึ่งพาอาศัยของหัวเชื้อทั้งสองนี้อาจจะพิจารณาจากการสร้างกรดแลคติกจะเพิ่มขึ้นในระหว่างการผลิตโยเกิร์ตเมื่อใช้สายพันธุ์ผสมของเชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เชื้อดังกล่าวเพียงสายพันธุ์เดียวเท่านั้น ดังภาพที่ 2 นอกจากนี้จำนวนเซลล์ที่เพิ่มขึ้นต่อหนึ่งหน่วยของหัวเชื้อสายพันธุ์ผสม จะเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมาก เมื่อเปรียบเทียบกับหัวเชื้อที่มีสายพันธุ์เดี่ยว ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อทั้งสองสายพันธุ์มีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยกัน (symbiosis relationship) นั่นเอง ในความเป็นจริงแล้วในหัวเชื้อผสมนี้จำนวนเชื้อ *Streptococcus thermophilus* จะมีการเพิ่มจำนวนมากกว่า *Lcctobacillus bulgaricus* เนื่องจากเชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* จะย่อยโปรตีนแล้วให้กรดอะมิโนพวก valine, glycine และ histidine ออกมาในนม ซึ่งเป็นสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของเชื้อ *Streptococcus thermophilus* อีกต่อหนึ่ง



ภาพที่ 2 แสดงอัตราการสร้างกรดของเชื้อโยเกิร์ตสายพันธุ์เดี่ยวและสายพันธุ์ผสมเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ในนมขาดมันเนย (10% TS) และใช้หัวเชื้อ 2%

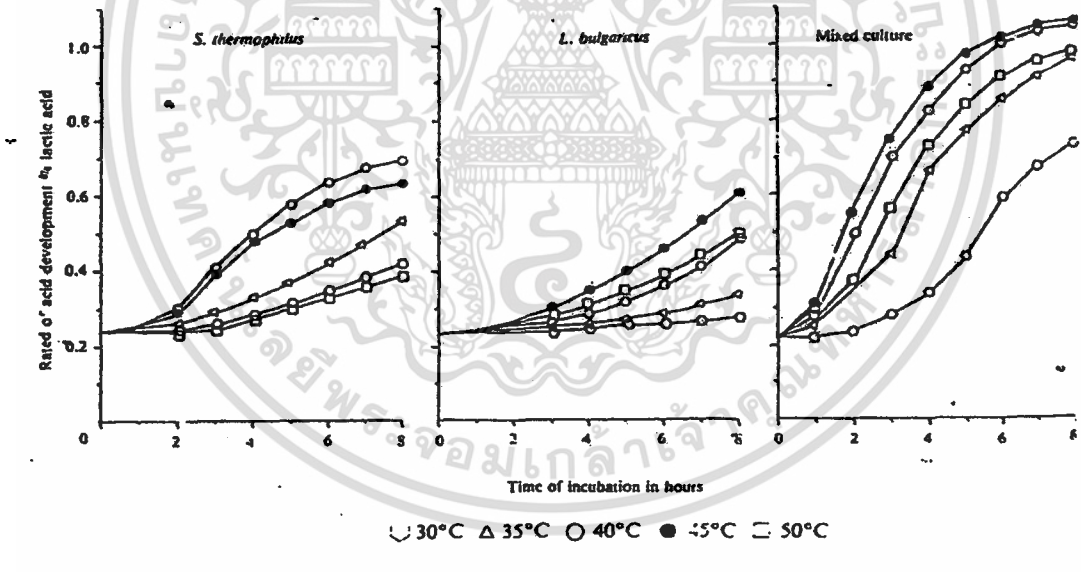
ที่มา : Tamime, 1977

ในการสร้างสารให้กลิ่นรสของโยเกิร์ตโดยหัวเชื้อสายพันธุ์ผสม พบว่าเชื้อ *Streptococcus thermophilus* จะสร้างกรดฟอร์มิคออกมา ซึ่งเชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* จะนำกรดฟอร์มิคนี้ไปใช้ในการสร้างสารที่ให้กลิ่นรสรวมทั้ง acetaldehyde ออกมาด้วย ดังนั้นจะเห็นได้ว่าเชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* นี้เป็นตัวการสำคัญในการสร้างสารที่ให้กลิ่นรสในโยเกิร์ต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แต่อย่างไรก็ตาม เชื้อ *Streptococcus thermophilus* ก็สามารถสร้างสารให้กลิ่นรสพวก acetaldehyde ได้ด้วย แต่ปริมาณของ acetaldehyde ที่ได้จากเชื้อ *Streptococcus thermophilus* จะน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณของสารดังกล่าวที่ได้จากเชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* เมื่อการเปลี่ยนแปลงของสารเกิดขึ้นที่อุณหภูมิการหมักปกติประมาณ 40 องศาเซลเซียส

ในระหว่างการหมัก อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเชื้อสายพันธุ์ผสมจะเท่ากับ 40-42 องศาเซลเซียส เนื่องจากอุณหภูมินี้หัวเชื้อโยเกิร์ตที่ผสมกันสามารถมีกิจกรรมร่วมกันได้สูงสุด เนื่องจากหัวเชื้อทั้งสองชนิดมีอุณหภูมิการหมักที่เหมาะสมสำหรับแต่ละสายพันธุ์แตกต่างกัน คือ ที่อุณหภูมิการหมักเป็น 45 องศาเซลเซียส จะเหมาะสมสำหรับการสร้างกรดของเชื้อสายพันธุ์ *Lactobacillus bulgaricus* และที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส จะเหมาะสมสำหรับการสร้างกรดของเชื้อสายพันธุ์ *Streptococcus thermophilus* ดังแสดงในภาพที่ 3 ซึ่งเปรียบเทียบอัตราการสร้างกรดแลคติกของหัวเชื้อสายพันธุ์ผสมและสายพันธุ์เดี่ยวที่อุณหภูมิต่าง ๆ กัน ในนมขาดมันเนยที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมด 10% และใช้หัวเชื้อ 2%



<u>ภาพที่ 3</u> แสดงอัตราการผลิตกรดแลคติกของหัวเชื้อสายพันธุ์เดี่ยว และสายพันธุ์ผสมที่อุณหภูมิการหมักต่าง ๆ กัน

ที่มา : Tamime, 1977

จะเห็นว่าอัตราการสร้างกรดของหัวเชื้อ *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus* จะเพิ่มขึ้น เมื่ออุณหภูมิการหมักสูงขึ้น และสูงสุดที่อุณหภูมิ 40 และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
96968

45 องศาเซลเซียสตามลำดับ โดยที่เชื้อ *Streptococcus thermophilus* จะมีการสร้างกรดที่มากกว่า อย่างไรก็ตามเพื่อให้สัดส่วนของหัวเชื้อทั้งสองเป็น 1:1 ควรจะเลือกใช้อุณหภูมิการหมักเป็น 42 องศาเซลเซียส แม้ว่าการสร้างกรดของหัวเชื้อผสมทั้งสองจะสูงสุดที่อุณหภูมิการหมักที่ 45 องศาเซลเซียสก็ตาม

ดังนั้น สามารถสรุปลักษณะของหัวเชื้อโยเกิร์ตได้ดังนี้

1. เชื้อ *Streptococcus thermophilus* จะมีกิจกรรมสูงในการปล่อยกรดแลคติกในช่วงแรกของการหมัก ดังนั้นถ้าสามารถคัดเลือกเชื้อสายพันธุ์นี้ให้สามารถสร้างกรดได้อย่างรวดเร็วจะทำให้สามารถลดระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก

2. สารอื่น ๆ ที่ได้จากการเปลี่ยนแปลงของเชื้อ นอกจากกรดแลคติกแล้วยังมีสารที่มีความสำคัญต่อการสร้างกลิ่นรส (aroma and flavor) ของโยเกิร์ตซึ่งสารประกอบเหล่านี้ได้จากหัวเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ จึงจำเป็นต้องให้เชื้อทั้งสองชนิดนี้เจริญในสัดส่วนที่สมดุลกัน

ดังนั้น สิ่งที่สำคัญของหัวเชื้อโยเกิร์ตนอกจากจะให้แบคทีเรียที่มีชีวิตจำนวนมากแล้ว หัวเชื้อยังจำเป็นต้องมีจำนวนเซลล์ที่สมดุลกันอีกด้วย อัตราการถ่ายเชื้อโดยทั่วไปจะใช้ประมาณ 2% (v/v) ซึ่งสามารถทำให้การหมักเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ภายใน 4 ชั่วโมง เพื่อให้นมมีจำนวนเชื้อแลคติก 30-40$\times 10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร การเลี้ยงเชื้อทั้งสองชนิดแยกกันจะเจริญได้ดีที่สุดแล้วจึงผสมกันเป็นหัวเชื้อก่อนการใช้ แต่ในทางปฏิบัติจะนิยมใช้หัวเชื้อผสมที่มีอัตราส่วนระหว่างเชื้อ *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus* เท่ากัน

อย่างไรก็ตาม แม้ว่าอัตราส่วนระหว่างจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดเริ่มต้นเท่ากับ 1:1 แต่อัตราส่วนนี้จะเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วเมื่อเชื้อ *Streptococcus thermophilus* เริ่มเข้าสู่การเจริญในระยะ loga-rithmic phase และจะมีเพียงกรดแลคติกที่สะสมอยู่ในนมเท่านั้น หลังจากนี้เชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* จะเจริญเป็นเชื้อที่เด่นขึ้นมา เมื่อสิ้นสุดการหมักจะมีระดับกรดแลคติกประมาณ 0.90-0.95% และจำนวนเซลล์ในหัวเชื้อจะกลับมาสมดุลอีกครั้งหนึ่ง ปริมาณเซลล์ทั้งหมด (total colony count) ของเชื้อแลคติกอาจเกิน 2,000$\times 10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร ซึ่งมีผลต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัส (organoleptic quality) ของผลิตภัณฑ์สุดท้าย ผลที่ได้จากกิจกรรมของหัวเชื้อซึ่งเป็นปัจจัยสำคัญอย่างหนึ่งที่จำเป็นต้องระมัดระวังในการเลือกใช้สายพันธุ์เชื้อแบคทีเรียและกิจกรรมที่เกิดขึ้นของหัวเชื้อในการเตรียมหัวเชื้อระดับใหญ่ (bulk starter) นอกจากนี้ในหัวเชื้อที่จะถ่ายลงสู่ถังหมักยังจำเป็นต้องระมัดระวังในเรื่องของสารปฏิชีวนะที่ตกค้าง รวมทั้งสายพันธุ์ของเชื้อที่เข้ากันไม่ได้หรือไม่สมดุลกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในปัจจุบันแม้สภาวะของหัวเชื้อที่ใช้ในการผลิตโยเกิร์ต ยังไม่มีกำหนดมาตราฐาน แต่ปริมาณที่ใช้กันอยู่นั้นจะใช้พิจารณาจำนวนจุลินทรีย์ดังในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 แสดงจำนวนจุลินทรีย์ของหัวเชื้อโยเกิร์ตที่ใช้ในการผลิต

	Satisfactory	Doubtful	Unsatisfactory
Streptococcus thermophilus	10^8/g	10^7-10^8/g	10^7/g
Lactobacillus bulgaricus	10^8/g	10^7-10^8/g	10^7/g

ในประเทศอังกฤษที่มีการจำหน่ายโยเกิร์ตชนิดธรรดาหรือชนิดที่มีการเติมกลิ่นรสไปด้วย จะมีความเป็นกรด-ด่าง (pH) อยู่ระหว่าง 3.7-4.2 และพบว่าที่ pH 4.2 หัวเชื้อทั้งสองชนิดจะมีจำนวนเซลล์ในสัดส่วนที่เท่ากันด้วย

2.10 การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของการหมักโยเกิร์ต (biochemistry of yogurt fermentation) (วราวุฒิ, 2532)

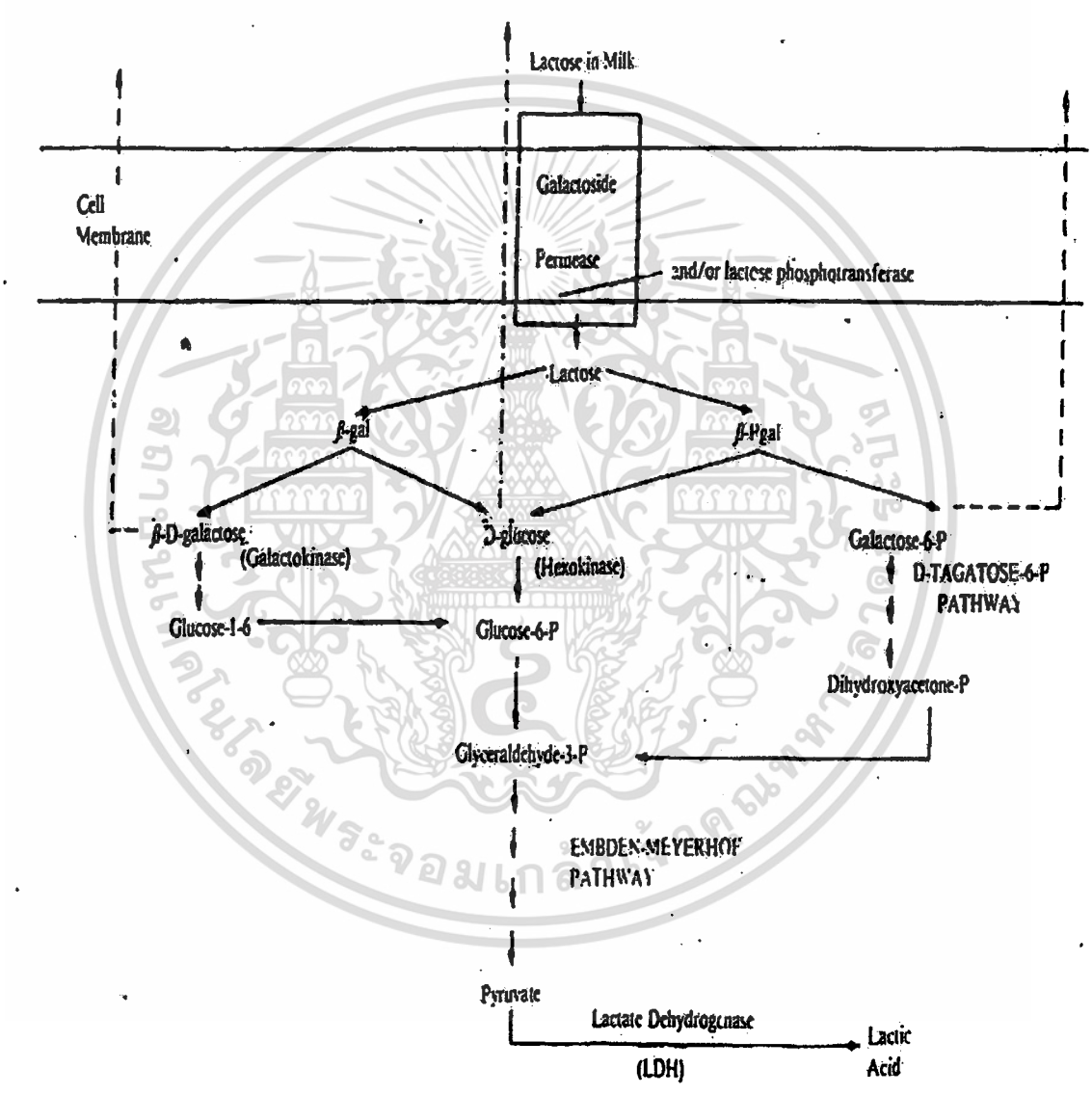
แนวทางการเปลี่ยนแปลง (metabolic pathway) ที่เกิดขึ้นในจุลินทรีย์ ประกอบด้วยปฏิกิริยาหลายชนิด ซึ่งควบคุมโดยเอนไซม์ชนิดต่าง ๆ กัน การย่อยสลายสารอาหารที่มีอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อพวกคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน และสารอื่น ๆ ให้มีโมเลกุลที่เล็กลง ก็จัดว่าเป็นการเปลี่ยนแปลงดังกล่าว องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อจึงมีส่วนสำคัญต่อการเจริญและแบ่งตัวของหัวเชื้อ *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus* รวมทั้งกลิ่นรสและคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ได้ ดังนั้นการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นโดยหัวเชื้อทั้งสองนี้ย่อมนำไปสู่การผลิตโยเกิร์ตที่มีคุณภาพสูง ในที่นี้จะพิจารณาเฉพาะการเปลี่ยนแปลงของคาร์โบไฮเดรตที่เกิดขึ้นเท่านั้น

2.10.1 แนวทางการเปลี่ยนแปลง (metabolic pathway)

เชื้อแลคติกจะได้รับพลังงานจากการหมักคาร์โบไฮเดรต ซึ่งได้แก่ น้ำตาลแลคโตสที่มีอยู่ในนม ซึ่งการย่อยสลายน้ำตาลแลคโตสจะเกิดขึ้นภายในเซลล์ของหัวเชื้อ *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus* โดยการนำน้ำตาลแลคโตสผ่านผนังเซลล์ของหัวเชื้อทั้งสอง ซึ่งในกรณีนี้สันนิษฐานว่าจะอาศัยเอนไซม์กาแลคโตไซด์ เปอร์มีเอส (galactoside permease) จากนั้นเอนไซม์บีตา-ดี-กาแลคโตซิเดส (bata-D-galactosidase : β-gal) จะย่อยน้ำตาลแลคโตสภายในเซลล์นี้ให้เป็นน้ำตาลดี-กลูโคส (D-glucose) และบีตา-ดี-กาแลคโตส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(β-D-galactose) น้ำตาลดี-กลูโคสที่ได้จะเปลี่ยนไปเป็นกรดแลคติกภายในเซลล์ของหัวเชื้อทั้งสอง นอกจากนี้ เอนไซม์อีกชนิดหนึ่ง คือ บีตา-ดี-ฟอสโฟกาแลคโตซิเดส (beta-D-phosphogalactosidase : β -Pgal) ก็จะย่อยน้ำตาลแลคโตสให้น้ำตาล-ดี-กลูโคสด้วยเช่นเดียวกัน ซึ่งแสดงแนวทางการเปลี่ยนแปลงหลัก ๆ ที่เป็นไปได้ ในภาพที่ 4



ภาพที่ 4 แสดงแนวทางการเปลี่ยนแปลงการใช้น้ำตาลแลคโตสของหัวเชื้อ *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus*

ที่มา : Tamine และ Robinson, 1985

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

18954

2.10.2 การสร้างกรดแลคติค (production of lactic acid)

หัวเชื้อ *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus* จะย่อยสลายน้ำตาลแลคโตสให้เป็นกรดแลคติกดังกล่าวมาแล้ว (ภาพที่ 4) ซึ่งสรุปได้ดังสมการต่อไปนี้

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

แล็กโทส น้ำ แบคทีเรีย กรดแล็กติก

กรดแลคติกที่ได้มีความสำคัญต่อโยเกิร์ตคือ

1. ย่อยสลาย casein micelles และตกตะกอนเคซีอินที่ พีเอช 4.6-4.7 รวมทั้งทำให้เกิดเจลของโยเกิร์ตดังกล่าวมาแล้วในต้อนต้น

2. กรดแลคติกจะให้รสชาติที่เฉพาะคือรสเปรี้ยวและแหลม (sharp and acidic taste) ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต ทำให้ได้กลิ่นรสที่หอม

เชื้อแลคติกจะมีเอนไซม์แลคเตท ดีไฮโดรจีเนส (lactate dyhydrogenase : LDH) สำหรับสร้างกรดแลคติกจากกรดไพรูวิคที่ได้ในระหว่างการหมักนม กรดแลคติกที่ได้จะมีรูป (isomers) ที่แตกต่างกันคือเป็น L(+) หรือ D(-) ซึ่งจะมีโครงสร้างของอะตอมแตกต่างกันเฉพาะอะตอมคาร์บอนที่สอง ดังนี้

L (+) Lactic acid D (-)Lactic acid

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(+) จะเกิดขึ้นก่อนแล้วจึงเกิดกรดแลคติกในรูป D(-) ภายหลัง ด้วยเหตุนี้ เปอร์เซ็นต์ของกรดแลคติกรูปต่างๆ ในโยเกิร์ตนี้สามารถสรุปสภาพของการหมักที่เกิดขึ้นได้ ดังนี้ คือ

1. โยเกิร์ตที่มีกรดแลคติกในรูป L(+) มากกว่า 70% แสดงว่าหัวเชื้อโยเกิร์ตที่ใช้ส่วนใหญ่เป็นพวก *Streptococcus thermophilus* หรืออุณหภูมิการหมักเกิดขึ้นที่ต่ำกว่า 40 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง

(ซึ่งเป็นอุณหภูมิการหมักที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Streptococcus thermophilus*) หรือโยเกิร์ตจะถูกทำให้เป็นขณะที่ความเป็นกรดต่ำประมาณ 0.8% หรือน้อยกว่า

2. โยเกิร์ตที่ได้มีกรดแลคติกในรูป D(-) มากกว่ากรดแลคติกในรูป L(+) แสดงว่าจะบ่มหัวเชื้อที่อุณหภูมิค่อนข้างสูงคือ 45 องศาเซลเซียส หรือมากกว่า หรือหมักเป็นเวลานานเกินไปทำให้ได้โยเกิร์ตที่มีความเป็นกรดค่อนข้างสูง หรือหัวเชื้อมี *Lactobacillus bulgaricus* มากกว่าเชื้อ *Streptococcus thermophilus*

โดยทั่วไปโยเกิร์ตมักจะมีกรดแลคติกในรูป L(+) ประมาณ 45-60% และกรดแลคติกในรูป D(-) ประมาณ 40-55 % ซึ่งอัตราส่วนของ L(+) : D(-) จะใช้ในการประเมินคุณภาพของโยเกิร์ต ทั้งนี้จากการหาอัตราส่วนของ L(+) : D(-) ดังกล่าว ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่มีจำหน่ายในท้องตลาด พบว่าจะมีค่าตั้งแต่ 0.35 (เปรี้ยวมาก) ถึง 8.28 (กรดแลคติกในรูป L(+) เด่น) แต่โยเกิร์ตที่ดี ควรมีอัตราส่วนนี้เท่ากับสอง อย่างไรก็ตาม การประเมินคุณภาพด้วยวิธีนี้ยังขึ้นกับความต้องการของผู้บริโภคในแต่ละท้องถิ่นด้วย

2.10.3 การเกิดสารให้กลิ่นรส (production of flavor compounds)

หัวเชื้อจะสร้างสารประกอบที่ให้กลิ่นรสต่าง ๆ ในโยเกิร์ตซึ่งจะพิจารณาตัวที่เป็นสารประกอบหลัก ๆ คือ กรดแลคติกและสารประกอบคาร์บอนิล (carbonyl compounds) พวก acetadehyde, acetone, acetoin หรือ diacetyl จากการศึกษาเกี่ยวกับการสร้างกลิ่นรสของหัวเชื้อพบว่ากลิ่นรสของโยเกิร์ตเกิดจาก acetaldehyde และสารประกอบอื่น ๆ ที่ยังแยกไม่ได้ และยังพบอีกด้วยว่า ระดับของ acetaldehyde ในโยเกิร์ตจะสูงขึ้นเมื่อใช้หัวเชื้อผสมของเชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงปริมาณของสารประกอบคาร์บอนิล (พีพีเอ็ม) ที่สร้างขึ้นจากหัวเชื้อโยเกิร์ต

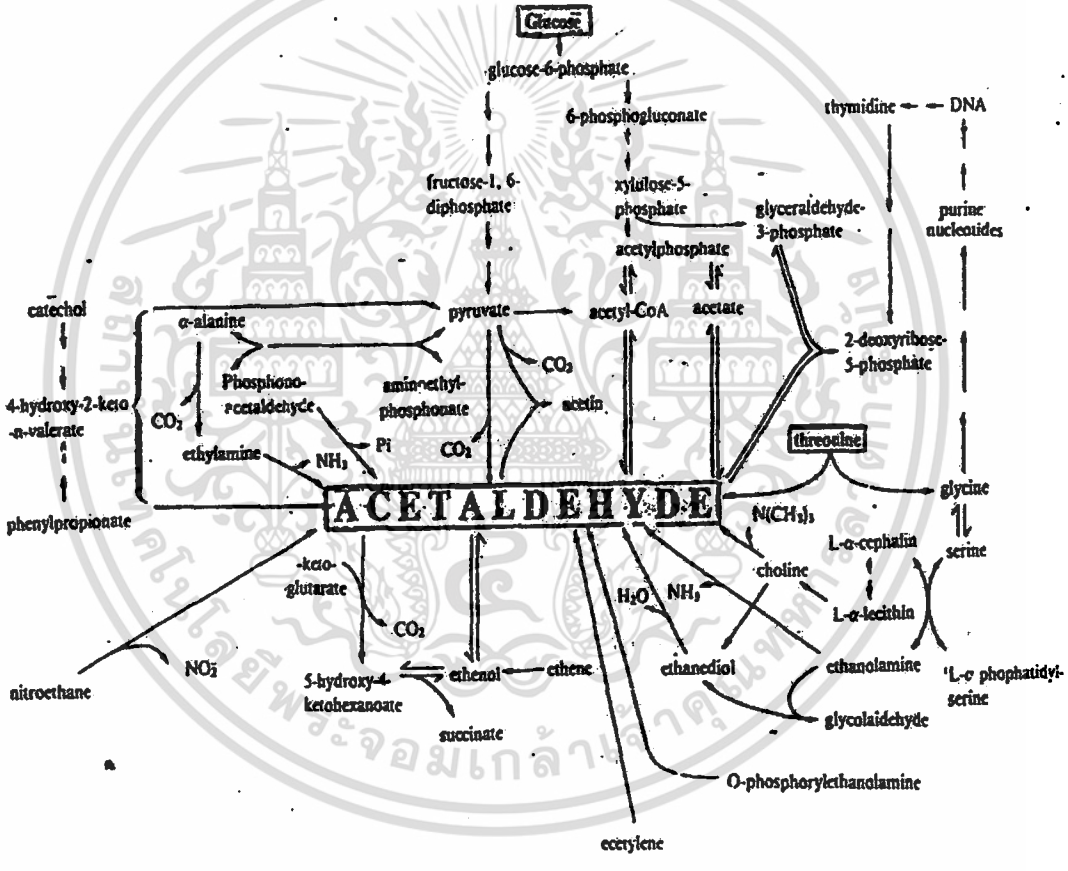
Organism	Acetaldehyde	Acetone	Acetoin	Diacetyl
S.thermophilus	1.0-8.3	0.2-5.2	1.5-7.0	0.1-13.0
L.bulgaricus	1.4-12.2	0.3-3.2	Trace-2.0	0.5-13.0
Mixed cultures	2.0-41.0	1.3-4.0	2.2-5.7	0.4-0.9

ที่มา : วราวุฒิ, 2532.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อย่างไรก็ตาม โยเกิร์ตที่มีกลิ่นรสที่ดีต้องมีปริมาณ acetaldehyde และ diacetyl รวมอยู่ด้วยซึ่งพบว่าโยเกิร์ตที่มี acetaldehyde เพียง 7 พีพีเอ็ม ไม่เพียงพอต่อการให้กลิ่นรสของโยเกิร์ตที่ต้องการ และระดับของ diacetyl ในนมหมักจะสูงขึ้นได้เมื่อมีเชื้อ *Streptococcus lactis* var. diacetylactis ผสมอยู่ในหัวเชื้อ

ปริมาณ acetaldehyde ที่มีในโยเกิร์ตจะขึ้นกับชนิดของนมที่ใช้ การให้ความร้อนและชนิดของนมที่ได้จากสัตว์ต่าง ๆ กัน โดยวัวจะให้ปริมาณของ acetaldehyde มากที่สุด

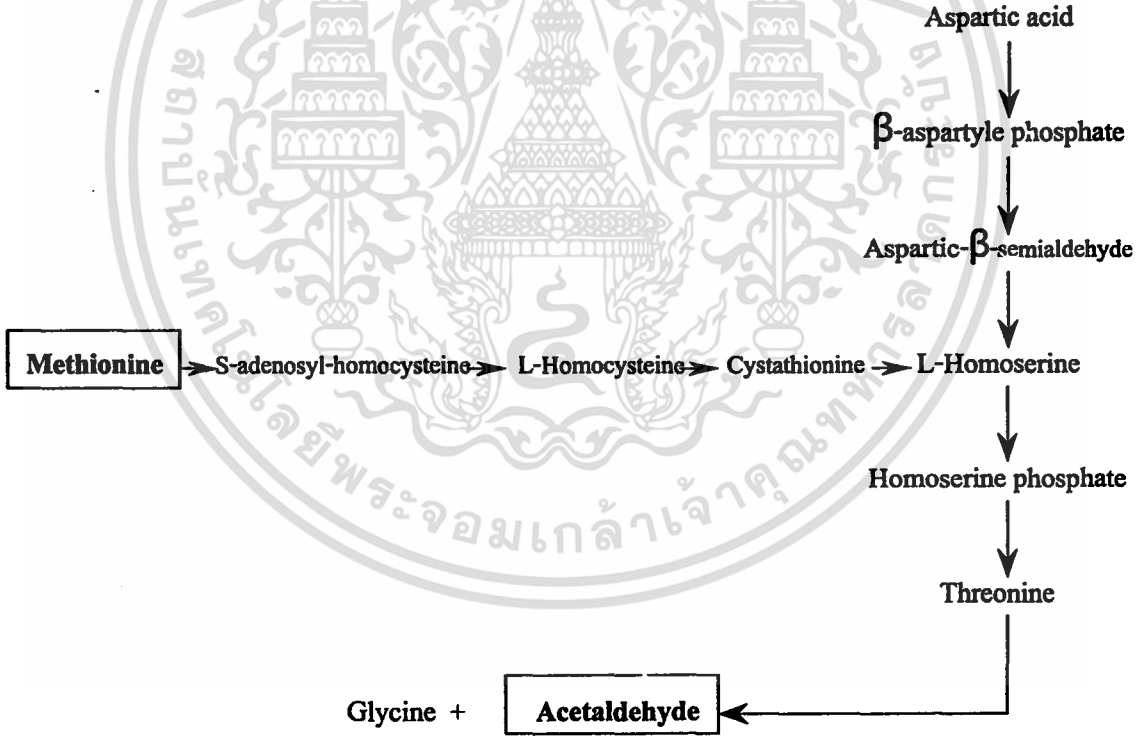


<u>ภาพที่ 5</u> แสดงแผนภูมิของปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องในการสร้าง acetaldehyde

ที่มา : Tamime และ Robinson, 1985

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวเชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* จะสร้างสารให้กลิ่นรสในระหว่างการหมัก และระดับของสารต่าง ๆ ที่ได้ จะขึ้นกับเอนไซม์ที่ใช้สังเคราะห์สารประกอบคาร์บอนิลจากองค์ประกอบที่มีอยู่ในนม ซึ่งองค์ประกอบของนมที่สำคัญในการสร้าง acetaldehyde คือ น้ำตาลแลคโตส(โดยเฉพาะในส่วนของน้ำตาลกลูโคส) กรดอะมิโนพวก threonine และ methionine จากภาพที่ 5 จะแสดงปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องในการผลิต acetaldehyde โดยที่หัวเชื้อทั้งสองจะสร้างสาร acetaldehyde และ ethanol จากกลูโคส ด้วยเอนไซม์อัลดีไฮด์ดีไฮโดรจีเนส (aldehyde dehydrogenase) และแอลกอฮอล์ ดีไฮโดรจีเนส (alcohol dehydrogenase) ตามลำดับ ส่วนการเปลี่ยนแปลงของ threonine เกิดจากเอนไซม์ทรีโอนิน อัลโดเลส (threonine aldolase) ซึ่งจะเกิดใน lactobacilli มากกว่า Streptococci และการเปลี่ยนแปลงของ methionine ไปเป็น acetaldehyde จะแสดงในภาพที่ 6 และจะเกิดขึ้นในเชื้อ *Streptococcus thermophilus* เท่านั้น



<u>ภาพที่ 6</u> แสดงแนวทางการเปลี่ยน Methionine ไปเป็น Acetaldehyde ของเชื้อ *Streptococcus thermophilus*

ที่มา : Tamime และ Robinson, 1985

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11 การเก็บรักษาคุณภาพของโยเกิร์ต (keeping qualities) (วราวุฒิ, 2532)

ปกติโยเกิร์ตจะมีอายุการเก็บรักษาประมาณ 10 วัน เมื่อเก็บที่อุณหภูมิประมาณ 5 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นปริมาณกรดในโยเกิร์ตจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเนื่องจากกิจกรรมของหัวเชื้อที่มีอยู่ในโยเกิร์ตนั่นเอง แม้ว่ากิจกรรมของหัวเชื้อดังกล่าวจะต่ำมากก็ตาม ปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นนี้ทำให้กลิ่นรสของโยเกิร์ตเปลี่ยนแปลงไปและไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค สุดท้ายหัวเชื้อแบคทีเรียจะถูกทำลายและโยเกิร์ตจะเกิดการแยกชั้นของ curd และ wiicy ซึ่งมีผลทำให้เชื้อจุลินทรีย์อื่น ๆ เช่น ยีสต์และราเจริญได้ ดังนั้นในการผลิตจึงควรระมัดระวังในเรื่องการปนเปื้อนของเชื้อราและยีสต์ในหัวเชื้อโยเกิร์ต รวมทั้งในระหว่างการบรรจุด้วย

2.12 ประโยชน์ของจุลินทรีย์ในโยเกิร์ต

จุลินทรีย์ที่ยังมีชีวิตอยู่ในโยเกิร์ต จัดเป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มของ Lactic acid bacteria ซึ่งจัดเป็นจุลินทรีย์จำพวกโพรไบโอติก ซึ่งมักจะพบในระบบทางเดินอาหาร

โพรไบโอติกมักแบ่งออกเป็น 2 พวก คือ Health promoting และ Harmful pathogenic โดย Health promoting จะเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ ยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค ช่วยระบบย่อยอาหาร และสร้างเอนไซม์ที่จำเป็น ซึ่งจุลินทรีย์ในโยเกิร์ตนั้นจัดเป็นจุลินทรีย์ในกลุ่มนี้ ส่วน Harmful pathogenic จะเป็นจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโทษต่อร่างกาย ดังนั้น หากในลำไส้มีจุลินทรีย์พวก Harmful pathogenic เจริญเป็นจำนวนมากก็จะส่งผลเสียต่อระบบทางเดินอาหาร ในทางกลับกันหากมีการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร โดยการลดจำนวนแบคทีเรียที่ให้โทษในลำไส้ลง และให้เชื้อจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกายเจริญเติบโตได้ดีก็จะเป็นผลดีต่อร่างกาย

โดยทั่วไปการที่จะรับประทานผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตให้ได้ประโยชน์จากจุลินทรีย์โพรไบโอติกนั้น จะต้องรับประทานผลิตภัณฑ์ที่มีจุลินทรีย์ที่ยังมีชีวิตอยู่ในผลิตภัณฑ์ประมาณ 10^6-10^8 CFU/ml (Salminen และคณะ, 1998)

ประโยชน์และกลไกการทำงานของจุลินทรีย์ในโยเกิร์ตภายในร่างกาย

1. ปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้

การปรับสมดุลของจำนวนจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารเป็นการลดจำนวนแบคทีเรียที่ให้โทษในลำไส้ โดยกลไลการยับยั้งเมทาบอลิซึมของจุลินทรีย์นั่น การผลิตสารพิษและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การบีบคลายตัวของลำไส้และการสร้างสารยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่น เช่น *Lactobacillus bugalicus* จะผลิตสาร bulcagarin โดยจะช่วยเสริมการแก่งแย่งและยึดติดกับผนังลำไส้ได้ดีกว่าแบคทีเรียอื่น ๆ (Yukuchi และคณะ, 1992)

Chen และคณะ (1999) ทำการทดลองเพิ่มจำนวนของ *Bifidobacterium* ในลำไส้ เพื่อให้ไปมีผลต่อการยับยั้งแบคทีเรียพวก Coliform โดยการให้ผู้ทดลองจำนวน 34 คน บริโภคโยเกิร์ตที่เติมจุลินทรีย์โพรไบโอติก จากนั้นนำอุจจาระมาตรวจ พบว่า แบคทีเรียพวกที่ไม่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต (anaerobic bacteria) มีจำนวนเพิ่มมากขึ้นและในขณะเดียวกันแบคทีเรียที่ต้องการอากาศในการเจริญ (aerobic bacteria) มีจำนวนลดลง

นอกจากนี้ กรดอินทรีย์ที่เกิดจากเมทาบอลิซึมของจุลินทรีย์ เช่น กรดแลคติกมีผลในการลดและทำลายแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค เช่น *E.coli, Salmonella spp.* ซึ่งสามารถเจริญได้ดีที่ระดับความเป็นกรดด่างที่เป็นกลางและผลิตสารที่ก่อให้เกิดอันตราย ได้แก่ เอมีน ฟีนอล อินโดล และไฮโดรเจนซัลไฟด์ ความสามารถในการลดและทำลายเชื้อแบคทีเรียเนื่องจากกรดอินทรีย์ที่สร้างขึ้นมีผลให้ระดับความเป็นกรดด่างลดต่ำลงซึ่งเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค และกรดแลคติกมีผลในการทำลายแบคทีเรียที่ไม่ทนกรด นอกจากนี้สารเคมีที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ เช่น เมทธานอลและอะซีโตนที่ผลิตจาก *S.thermophilus* สามารถทำหน้าที่ต้าน *E.coli, Salmonella spp., Shigella* และ *Pseudomonas spp.* ได้ (Yukuchi และคณะ, 1992)

2. ปรับปรุงการย่อยสลายน้ำตาลแลกโตส

Montes และคณะ (1995) พบว่า การใช้จุลินทรีย์โยเกิร์ตซึ่งมีกิจกรรมของเอนไซม์ β-galactosidase เป็นแนวทางหนึ่งที่สามารถแก้ปัญหาผลิตภัณฑ์นมที่ก่อให้เกิดการย่อยและการดูดซึมน้ำตาลแลคโตสบกพร่องในเด็กที่ขาดเอนไซม์ดังกล่าว โดยเชื้อจุลินทรีย์จะขับเอนไซม์ออกมาในลำไส้ได้และช่วยในการย่อยน้ำตาลแลคโตส กิจกรรมของจุลินทรีย์ในโยเกิร์ตนี้สามารถลดอาการท้องร่วง ซึ่งเป็นผลจากการหมักน้ำตาลแลคโตสโดยแบคทีเรียในลำไส้ส่วนโคลอน ได้ก๊าซไฮโดรเจน คาร์บอนไดออกไซด์ เอทธิลีน และกรดอินทรีย์โซ่สั้น ๆ เป็นสาเหตุให้เกิดอาการท้องร่วง ก๊าซไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นจะถูกดูดซับเข้าสู่ปอดและขับออกจากร่างกายทางลมหายใจ

3. ยับยั้งสารก่อมะเร็ง

จากรายงานถึงคุณสมบัติทางอายุรเวชของเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ตในการต่อต้านหรือระงับมะเร็ง Adachi (1992) กล่าวว่า การต่อต้านมะเร็งของ *Lactobacillus* เกิดจากการกระตุ้นให้เกิดระบบภูมิคุ้มกัน การลดการผลิตสารก่อมะเร็งโดยเอนไซม์ carcinogen-producing fecal enzyme

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ในลำไส้ คือ β-galactosidase, nitroreductase และ azoreductase ซึ่งเอนไซม์ทั้งสามชนิดช่วยในการยับยั้งหรือการระงับสารก่อมะเร็ง

4. ลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือด

ในปี 1992 Yukuchi และคณะ รายงานว่าผู้ที่ดื่มโยเกิร์ตที่หมักด้วย *Lactobacillus* สายพันธุ์ทั่วไปวันละ 8.33 ลิตร จะมีระดับโคเลสเตอรอลในเลือดต่ำ อาจกล่าวได้ว่า *Lactobacillus* สามารถทำให้ระดับโคเลสเตอรอลในเลือดลดลง และลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหัวใจที่เกิดจากระดับโคเลสเตอรอลสูง โดยเชื่อว่าสาร hydroxy methyl glytarate ที่จุลินทรีย์โยเกิร์ตสร้างขึ้นมีคุณสมบัติในการยับยั้งการสังเคราะห์โคเลสเตอรอลในร่างกาย

2.13 อาหารเลี้ยงเชื้อ

จากการศึกษาของ DE MAN ROGOSA และ SHARPE (1960) ได้กล่าวว่า อาหารที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต และใช้แยกระบุ สปีชีย์ของ Lactobacilli ได้จากตัววัตถุดิบหรืออาหาร คือ MRS broth

จากการศึกษาของ TERZAGHI และ SANDINE (1975) ได้ระบุว่าอาหารเลี้ยงเชื้อ M17 เหมาะสำหรับใช้ศึกษาพวก Streptococci ที่สร้างกรดแลคติค ในนมและผลิตภัณฑ์นม เพื่อแยกความแตกต่างของแบคทีเรีย

2.14 ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ภวัต (2544) ได้ทำการศึกษาการพัฒนาผลิตภัณฑ์นมหมักคล้ายโยเกิร์ต โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก เป็นเชื้อเริ่มต้นในการหมักโดยปราศจากการใช้เชื้อเริ่มต้นที่เป็นจุลินทรีย์โยเกิร์ตดั้งเดิม เชื้อเริ่มต้นที่ใช้ประกอบด้วย *Lactobacillus acidophilus* La-5, *Lactobacillus casei* Lc-01 และ *Bifidobacterium bifidum* Bb-12 พบว่า ผลิตภัณฑ์นมหมักคล้ายโยเกิร์ตที่ผลิตได้ มีปริมาณกรดทั้งหมดร้อยละ 1.38 ค่าความเป็นกรดด่าง 4.67 มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นรวม 2.03×10^9 CFU/g ปริมาณเชื้อเริ่มต้น *L. acidophilus* 1.18×10^9 CFU/g ปริมาณเชื้อเริ่มต้น *L. casei* 1.95×10^8 CFU/g ปริมาณเชื้อเริ่มต้น *B. bifidum* 6.85×10^8 CFU/g และจากการศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์นมหมักเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า อายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์นมหมักคล้ายโยเกิร์ตสามารถเก็บรักษาได้นาน 2 สัปดาห์ ภายใต้อุณหภูมิการเก็บรักษาที่ 5 องศาเซลเซียส เพราะมีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้านต่าง ๆ ไม่มาก ถ้าเก็บรักษานานกว่าสองสัปดาห์ปริมาณเชื้อเริ่มต้น *B. bifidum* จะมีปริมาณลดลงต่ำกว่า 10^7 CFU/g

สุชาดา (2543) ได้ทำการศึกษา Bifidobacterium ทั้ง 5 สายพันธุ์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 7 ชนิด คือ Tryticase Peptone Yeast extract medium (TPY), Tomato juice broth (ATCC medium 433) , Eugon broth (Eugon broth ™), Reinforced Clostridial medium, Bifidobacterium medium, Lactobacilli MRS broth (Lactobacilli Deman-Rogosa-Sharpe broth) และLactobacilli MRS broth + cystein 0.05 เปอร์เซ็นต์ พบว่า อาหาร Lactobacilli MRS broth + cystein 0.05 เปอร์เซ็นต์ เหมาะกับการเจริญของ Bifidobacteria มากที่สุด โดยที่สายพันธุ์ *B. bifidum* GTM 6 สามารถเจริญได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับสายพันธุ์อื่น และได้นำสายพันธุ์นี้มาทดลองผลิตผลิตภัณฑ์นมหมักร่วมกับจุลินทรีย์โยเกิร์ต (*Lactobacillus delbreukii* subsp. *Bulgaricus* และ *Steptococcus* salivarius subsp. *thermophius*) ในอัตราส่วน 1 ต่อ 0, 1 ต่อ 1, 2 ต่อ 1 และ 0 ต่อ 1 โดยใช้กล้าเชื้อเริ่มต้น 4 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีปริมาณจุลินทรีย์ที่นับได้อยู่ในช่วง 10^7 ถึง 10^8 CFU/ml ผลการทดลองพบว่า ผลิตภัณฑ์นมหมักที่ได้มีลักษณะเนื้อสัมผัส สี และกลิ่นที่ดี เมื่อหมักน้ำนมในสภาพไร้อากาศ Bifidobacteria ที่เลี้ยงร่วมกับจุลินทรีย์โยเกิร์ตในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 มีการเจริญสูงสุด คือ มีปริมาณ 1.88 log CFU/ml ที่เวลา 16 ชั่วโมง ค่าพีเอช 4.39 ค่าความเป็นกรด 0.72 เปอร์เซ็นต์ นำตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมหมักที่ 16 ชั่วโมง มาเก็บในตู้เย็นอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน พบว่าผลิตภัณฑ์นมหมักที่ใช้ Bifidobacteria เพียงอย่างเดียวเมื่อบ่มในสภาพไร้อากาศ มีอัตราการรอดชีวิตสูงที่สุด เท่ากับ 20.75 เปอร์เซนต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และการทดลอง

3.1 อุปกรณ์

1. ถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ
2. เครื่องตีปั่น stomacher
3. ขวดน้ำยาสำหรับเจือจางปริมาตร 225 และ 9 มิลลิลิตร
4. จานเพาะเชื้อที่ปราศจากเชื้อ
5. ปิเปตปลอดเชื้อ ขนาด 1, 5 และ 10 มล.
6. Candle jar
7. ตู้บ่มเพาะเชื้ออุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส
8. แท่งแก้วรูปตัว L
9. เข็มหรือลูบเขี่ยเชื้อ
10. แผ่นสไลด์
11. เครื่องชั่ง
12. ขวดใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ
13. ตะเกียงแอลกอฮอล์
14. กระบอกน้ำกลั่น
15. เครื่องแก้ว
16. เครื่อง pH meter
17. กล้องจุลทรรศน์

3.2 สารเคมีและอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. MRS Broth
2. M 17 Broth
3. Agar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. Crystal violet
5. Gram's iodine
6. แอลกอฮอล์ 95%
7. safranin
8. 0.1 N NaOH
9. ฟีนอฟทาลีน

3.3 การทดลอง

3.3.1 การตรวจนับปริมาณแบคทีเรียแลคติก ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตและนมเปรี้ยว ที่วางขายในท้องตลาด

แบ่งการทดลองเป็น 5 ขั้นตอน

3.3.1.1 การเลือกชนิดผลิตภัณฑ์

1. โยเกิร์ต : ดัชชี่ เนสท์เล่ เนสท์เล่ LC1
2. นมเปรี้ยว : ยาคูลท์ บีทาเก้น เมจิ-ไพเกน

3.3.1.2 การนับจำนวนแบคทีเรียแลคติก

โดยวิธี spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และ M17 บ่มที่ 35-37 °ซ ใน candle jar เป็นเวลา 2-3 วัน

ตรวจนับจำนวน Lactic acid bacteria ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต ตามวิธีดังนี้

— เตรียมตัวอย่างโยเกิร์ต 25 กรัม ในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ

— เทน้ำยาเจือจาง 225 มิลลิตร ตีปั่นให้เข้ากันด้วย Stomacher

— ทำการเจือจางตัวอย่างเพิ่มขึ้นอีก 1-2 ระดับ ตามความเหมาะสมด้วยน้ำยาสำหรับเจือจางปริมาตร 9 มิลลิลิตร

— ดูดตัวอย่างแต่ละระดับความเจือจางใส่ลงในจานเพาะเชื้อที่มีอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และ M17 ระดับความเจือจางละ 2 จาน จานเพาะเชื้อละ 0.1 มล.

— ใช้แท่งแก้วรูปตัว L เกลี่ยตัวอย่างอาหารแต่ละระดับความเจือจางให้ทั่วจาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

– คว่ำจานเพาะเชื้อ นำจานเพาะเชื้อทั้งหมดไปใส่ไว้ใน Candle jar เพื่อขจัดออกซิเจนออกจาก Candle jar

– นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 35-37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 – 3 วัน ตรวจนับจำนวนโคโลนีที่มี clear zone (บริเวณใส) ล้อมรอบ

– นำค่าปริมาณ Lactic acid bacteria ที่ได้จากการตรวจสอบมาเปรียบเทียบในแต่ละผลิตภัณฑ์

3.3.1.3 การศึกษาลักษณะแบคทีเรียแลคติค

โดยสุ่มโคโลนีที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ จานละ 5 โคโลนีแล้วนำมาย้อมแกรม แล้วส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 1000 เท่า

3.3.1.4. การวัด pH และ เปอร์เซนต์กรด

1. การวัดค่า pH โดยใช้ pH meter (ภาคผนวกข้อ 1)
2. ปริมาณกรด โดยวิธีไตเตรท (ภาคผนวกข้อ 2)

3.3.1.5. การวัดอุณหภูมิของตู้เก็บผลิตภัณฑ์ ณ แหล่งจำหน่าย

ทำการวัดอุณหภูมิของผลิตภัณฑ์ ณ แหล่งจำหน่ายก่อนนำมาทดลอง

3.3.2. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียแลคติกในระหว่างการเก็บรักษา

การศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียแลคติก ในระหว่างการเก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียแลคติก pH เปอร์เซ็นต์กรด ทุก ๆ 5 วันจนถึงวันหมดอายุ และหลังวันหมดอายุ 5 วัน

3.3.2.1 การเลือกชนิดผลิตภัณฑ์

1. เลือกผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต 1 ชนิด
2. เลือกผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยว 1 ชนิด

โดยเลือกผลิตภัณฑ์จากการทดลองที่ 3.3.1 ที่พบว่ามีปริมาณแบคทีเรียแลคติกสูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.2.2 การเลือกอาหารเลี้ยงเชื้อ

เลือกอาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ชนิด จากการทดลองที่ 3.3.1 ที่ให้ผลการตรวจนับดีที่สุด

3.3.2.3 การเก็บรักษา

เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ในตู้เย็น โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา โดยควบคุมอุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส วัดอุณหภูมิทุกวัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การตรวจนับปริมาณแบคทีเรียแลคติก ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตและนมเปรี้ยว ที่วางขายในท้องตลาด

4.1.1 การนับจำนวนแบคทีเรียแลคติก, ค่า pH และปริมาณกรด

เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแลคติกในอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ชนิด คือ อาหาร MRS และ M17 ในผลิตภัณฑ์ในกลุ่มโยเกิร์ต 3 ชนิดและในกลุ่มนมเปรี้ยว 3 ชนิด พบว่า มีปริมาณแบคทีเรียแลคติกอยู่ในช่วง log 7- log 9 CFU/ml ยกเว้น 1 ชนิดที่มีปริมาณแบคทีเรียแลคติก น้อยกว่า log 2 CFU/ml และค่า pH อยู่ในช่วง 3.7 – 4.5 และปริมาณกรดอยู่ในช่วง 0.6 – 1.2 % ดังแสดงในตารางที่ 6

จากการเปรียบเทียบการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และ M17 ในการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต พบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 6 แสดงปริมาณแบคทีเรียแลคติก ค่า pH ปริมาณกรดในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตและนมเปรี้ยวชนิดต่าง ๆ

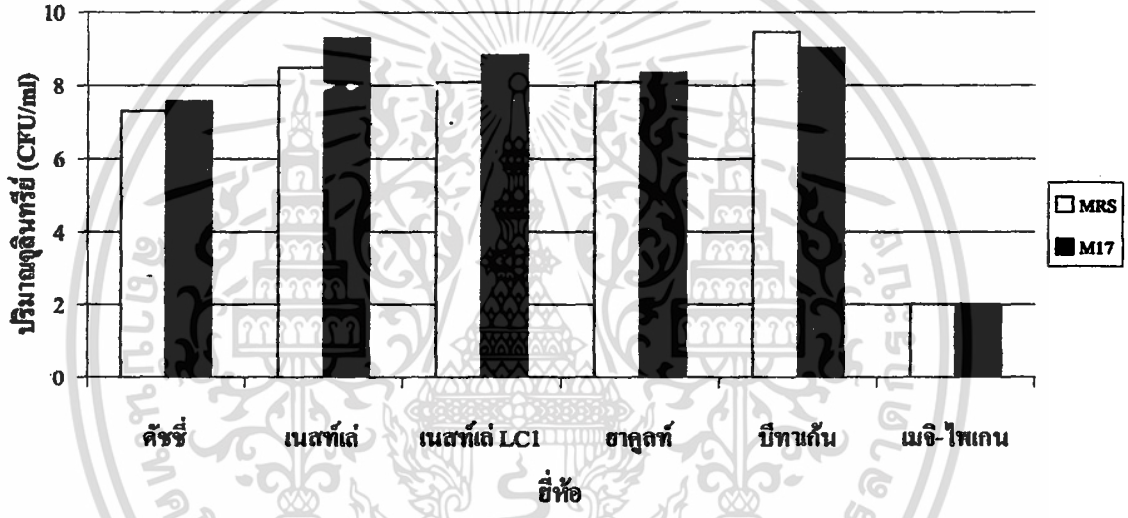
ตัวอย่าง	ปริมาณแบคทีเรียแลกติค (log CFU/ml)		pH	% กรด
	อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS	อาหารเลี้ยงเชื้อ M 17		
โยเกิร์ต				
ดัชชี่	7.29 ± 0.41	7.56 ± 0.16	4.50 ± 0.06	1.01 ± 0.20
เนสท์เล่	8.49 ± 0.27	9.31 ± 0.05	4.43 ± 0.12	1.36 ± 0.35
เนสท์เล่ LC1	8.08 ± 0.12	8.85 ± 0.42	4.40 ± 0.08	1.17 ± 0.07
นมเปรี้ยว				
ยาคูลท์	8.09 ± 0.09	8.35 ± 0.28	3.76 ± 0.03	0.68 ± 0.01
บีทาเก้น	9.47 ± 0.59	9.04 ± 0.11	3.81 ± 0.05	0.72 ± 0.11
เมจิ-ไพเกน	2.00 ± 0.00	2.00 ± 0.00	3.83 ± 0.04	1.84 ± 0.02

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 แสดงผลการเปรียบเทียบทางสถิติ ของอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และ M 17

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
BACT	Equal variances assumed	.285	.598	-1.565	28	.129	-.4773	.3051	-1.1022	.1476
	Equal variances not assumed			-1.565	24.943	.130	-.4773	.3051	-1.1057	.1510



ภาพที่ 7 เปรียบเทียบปริมาณแบคทีเรียแลคติกที่เจริญบน อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และ M17 ของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตและนมเปรี้ยว

4.1.2 การศึกษาลักษณะแบคทีเรียแลคติค

จากการศึกษาลักษณะเซลล์ของแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์แต่ละชนิด โดยทำการสุ่มโคโลนี ในจานเลี้ยงเชื้อจานละ 5 โคโลนีแล้วนำมาย้อมแกรมจากนั้นส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ ที่กำลังขยาย 1000 เท่า พบว่า

- แบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จาก บีทาเก้น มีลักษณะเป็นแกรมบวก รูปท่อน การเรียงตัวเป็นสาย ไม่มีสปอร์ ดังแสดงในรูปที่ 8

- แบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จาก ยาคูลท์ มีลักษณะเป็นแกรมบวก รูปท่อน การเรียงตัวเป็นคู่ ไม่มีสปอร์ ดังแสดงในรูปที่ 9

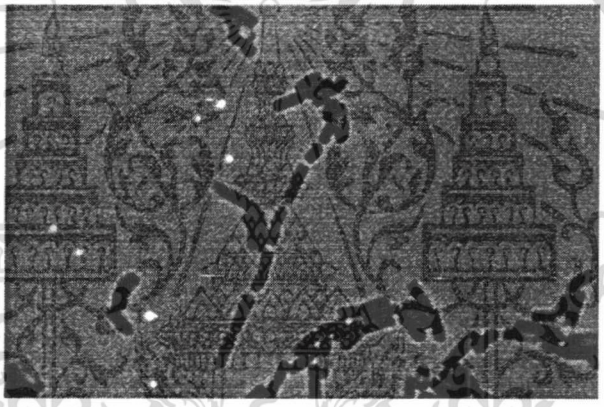
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- แบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จาก ดัชชี่ มีลักษณะเป็นแกรมบวก รูปท่อนสั้น การเรียงตัวเป็นสาย ไม่มีสปอร์ ดังแสดงในรูปที่ 10

- แบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จาก เนสท์เล่ มีลักษณะเป็นแกรมบวก รูปท่อนสั้น การเรียงตัวเป็นคู่ ไม่มีสปอร์ ดังแสดงในรูปที่ 11

- แบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จาก เนสท์เล่ LC1 มีลักษณะเป็นแกรมบวก รูปท่อน การเรียงตัวเป็นสาย ไม่มีสปอร์ ดังแสดงในรูปที่ 12

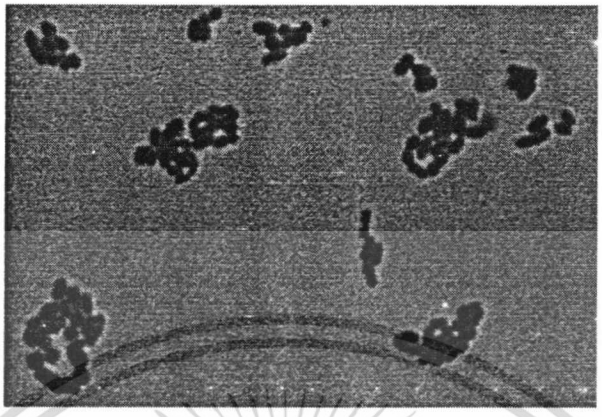
- แบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จาก เมจิ-ไพเกน มีลักษณะเป็นแกรมบวก รูปกลม การเรียงตัวเป็นสาย ดังแสดงในรูปที่ 13



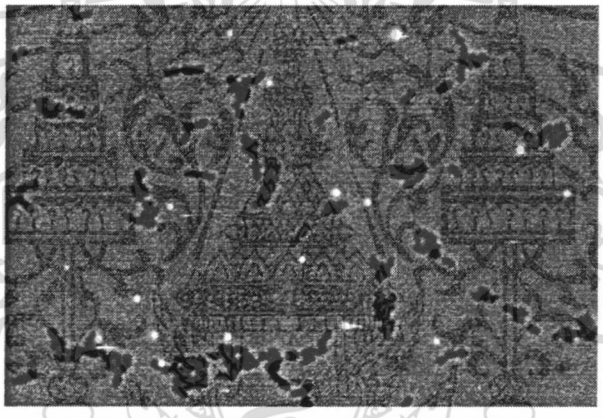
ภาพที่ 8 แสดงลักษณะของแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จาก บีทาเก้น

ภาพที่ 9 แสดงลักษณะของแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จาก ยาคูลท์

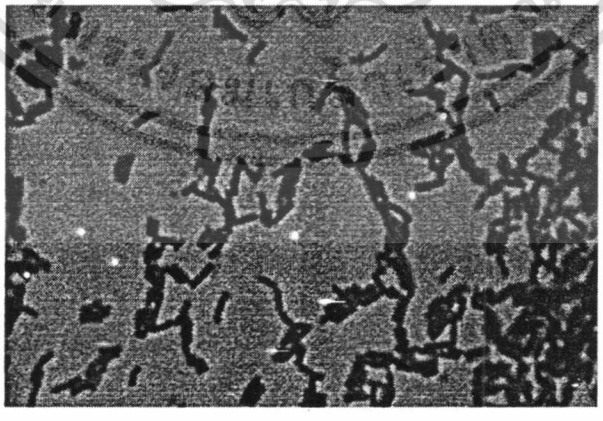
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 10 แสดงลักษณะของแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จาก ดัชชี่

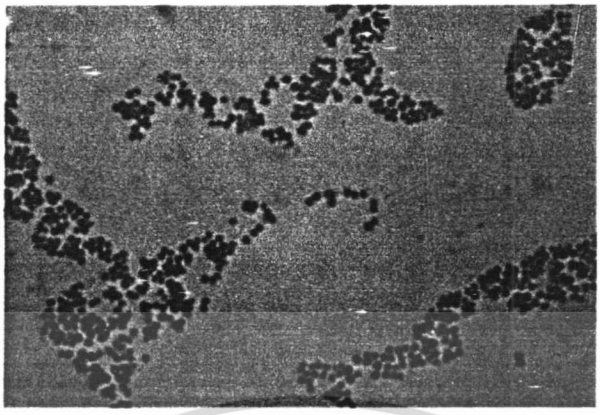


ภาพที่ 11 แสดงลักษณะของแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จาก เนสท์เล่



ภาพที่ 12 แสดงลักษณะของแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จาก เนสท์เล่ LC 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 13 แสดงลักษณะของแบคทีเรียแลคติกที่แยกได้จาก เมจิ-ไพเกน

4.1.2 การวัดอุณหภูมิของตู้เก็บผลิตภัณฑ์ ณ แหล่งจำหน่าย

การศึกษาอุณหภูมิในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ของแต่ละแหล่งจำหน่าย พบว่า อุณหภูมิในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ของแต่ละแหล่งจำหน่าย อยู่ในช่วง 3-5 องศาเซลเซียส ยกเว้นในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยว ยาคูลท์ที่มีอุณหภูมิ 8 องศาเซลเซียส เนื่องจากผลิตภัณฑ์เป็นลักษณะหิ้วจำหน่ายโดยใช้กล่องเก็บรักษาความเย็น ทำให้การควบคุมอุณหภูมิเป็นไปได้ยาก ดังแสดงในตารางที่ 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 แสดงอุณหภูมิในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ของแต่ละแหล่งจำหน่าย

ผลิตภัณฑ์	ครั้งที่	อุณหภูมิ (^{o}C)	แหล่งจำหน่าย
โยเกิร์ต			
ดัชชี่	1	3	BB betterway
	2	4	7-ELEVEN
	3	4	อิศรัตน์ มินิมาร์ท
เนสท์เล่	1	3	BB betterway
	2	3	7-ELEVEN
	3	5	อิศรัตน์ มินิมาร์ท
เนสท์เล่ LC1	1	3	BB betterway
	2	4	7-ELEVEN
	3	3	อิศรัตน์ มินิมาร์ท
นมเปรี้ยว			
ยาคูลท์	1	8	ร้านขายของชำ
	2	8	หิ้วจำหน่าย
	3	8	หิ้วจำหน่าย
บีทาเก้น	1	3	BB betterway
	2	3	7-ELEVEN
	3	5	อิศรัตน์ มินิมาร์ท
เมจิ-ไพเกน	1	3	BB betterway
	2	4	7-ELEVEN
	3	5	อิศรัตน์ มินิมาร์ท

4.2 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียแลคติก ในระหว่างการเก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส

4.2.1 การเลือกชนิดผลิตภัณฑ์

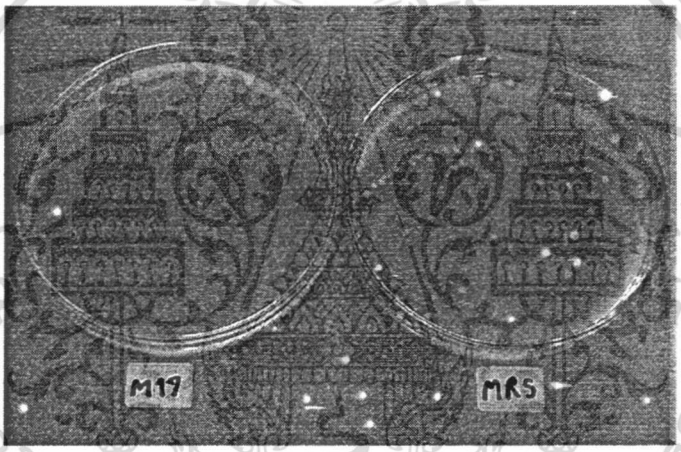
จากผลการตรวจนับปริมาณแบคทีเรียแลคติกใน โยเกิร์ต 3 ชนิด และนมเปรี้ยว 3 ชนิด พบว่าปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์บีทาเก้น และเนสท์เล่ LC 1 มีปริมาณสูงที่สุด จึงทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเลือกผลิตภัณฑ์ทั้งสองชนิดนี้มาทำศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียแลคติก ในระหว่างการเก็บรักษา

4.2.2 การเลือกอาหารเลี้ยงเชื้อ

จากการศึกษาปริมาณแบคทีเรียแลคติก บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และ M17 พบว่าถ้าพิจารณาเปรียบเทียบการตรวจนับแบคทีเรียแลคติก บนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 2 ชนิด พบว่าการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ M17 ให้ผลการตรวจนับที่สูงกว่า บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS แต่มีข้อสังเกตว่าลักษณะการเจริญของโคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS จะมีขนาดใหญ่และมองเห็น clear zone ได้ชัดเจนว่าบนอาหารเลี้ยงเชื้อ M17 ดังแสดงในภาพที่ 14



ภาพที่ 14 แสดงลักษณะของโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียแลคติกที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และ M17

ฉะนั้นจึงเลือกศึกษาปริมาณแบคทีเรียแลคติก ในระหว่างการเก็บรักษาที่ อุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS

4.2.3 การเก็บรักษา

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณแบคทีเรียแลคติก ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส พบว่า ในผลิตภัณฑ์บีทาเก้นและเนสท์เล่ LC1 มีปริมาณแบคทีเรียแลคติกจากวันที่เริ่มเก็บรักษา จนถึงวันหมดอายุ และหลังวันหมดอายุ 5 วัน จะลดลงจาก log 9 CFU/ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็น log 8 CFU/ml โดยจะลดลงเพียงเล็กน้อย ส่วนค่า pH และปริมาณกรด ลดลงเพียงเล็กน้อยเช่นกัน ดังแสดงในตารางที่ 9 และ 10

ตารางที่ 9 แสดงปริมาณแบคทีเรียแลคติก ค่า pH และปริมาณกรดในผลิตภัณฑ์บีทาเก้นในระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส

ตัวอย่าง	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	วันหมดอายุ	หลังหมดอายุ 5 วัน
บีทาเก้น	8.04	9.72	9.15	8.92	8.91
pH	3.92	3.85	3.57	3.49	3.52
% กรด	0.72	0.74	0.76	0.77	0.76

ตารางที่ 10 แสดงปริมาณแบคทีเรียแลคติก ค่า pH และปริมาณกรดในผลิตภัณฑ์เนสท์เล่ LC1 ในระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส

ตัวอย่าง	ครั้งที่ 1	ครั้งที่ 2	ครั้งที่ 3	ครั้งที่ 4	ครั้งที่ 5	วันหมดอายุ	หลังหมดอายุ 5 วัน
เนสท์เล่ LC1	9.20	9.34	8.99	8.67	8.65	8.53	8.60
pH	4.53	4.42	4.44	4.63	4.67	4.61	4.62
% กรด	0.90	0.97	0.82	0.92	0.93	0.85	0.82

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตและนมเปรี้ยวทั้ง 6 ชนิด มีปริมาณแบคทีเรียแลคติกอยู่ในช่วง log 7 – log 9 CFU/ml ยกเว้น 1 ชนิดที่มีปริมาณแบคทีเรียแลคติก น้อยกว่า log 2 CFU/ml และค่า pH อยู่ในช่วง 3.7 – 4.5 และปริมาณกรดอยู่ในช่วง 0.6 – 1.2 %

ลักษณะของ แบคทีเรียแลคติก ที่ตรวจพบเป็นแกรมบวก รูปท่อน การเรียงตัวเป็นคู่หรือสาย ไม่มีสปอร์ คาดว่าเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม Lactobacillus รูปท่อนสั้น การเรียงตัวเป็นคู่หรือสาย ไม่มีสปอร์ คาดว่าเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม Lactococcus และแกรมบวก รูปกลม การเรียงตัวเป็นสาย คาดว่าเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม Streptococcus

ปริมาณแบคทีเรียแลคติก ในผลิตภัณฑ์บีทาเก้นและเนสท์เล่ LC1 ในช่วงอายุการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส พบว่า ปริมาณแบคทีเรียแลคติก จากวันที่เริ่มเก็บรักษา จนถึงวันหมดอายุ และหลังวันหมดอายุ 5 วัน จะลดลงจาก log 9 CFU/ml เป็น log 8 CFU/ml โดยจะลดลงเพียงเล็กน้อย ส่วนค่า pH และปริมาณกรด ลดลงเพียงเล็กน้อยเช่นกัน และจะเห็นว่าที่อุณหภูมิ 3 องศาเซลเซียส สามารถที่จะรักษาปริมาณแบคทีเรียแลคติก ค่า pH และปริมาณกรดเอาไว้ได้แต่ไม่นาน

5.2 วิจารณ์ผลการทดลอง

จากผลการทดลองที่ 4.1 พบว่า ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตและนมเปรี้ยวที่ศึกษาโดยส่วนใหญ่มีคุณภาพตามเกณฑ์ คือ มีจำนวนแบคทีเรียแลคติกในช่วง log 8-9 CFU/ml ยกเว้นในผลิตภัณฑ์เมจิ-ไพเกน มีปริมาณต่ำกว่าเกณฑ์ที่กำหนด คือ น้อยกว่า log 2 CFU/ml ในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 2 ชนิด อาจเป็นไปได้ว่า อาหารเลี้ยงเชื้อไม่เหมาะสมต่อการตรวจนับจำนวนแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์ดังกล่าว หรือในกระบวนการผลิตนมเปรี้ยวนั้นไม่เหมาะสม ซึ่งสาเหตุประการหลังนี้ไม่น่าจะเกิดขึ้นได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการทดลองที่ 4.2 อุณหภูมิในการเก็บรักษาที่ 3 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่สามารถคงปริมาณแบคทีเรียแลคติกในผลิตภัณฑ์ไว้ได้นาน

5.3 ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการศึกษาการเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูงกว่านี้ เนื่องจากจะได้ทราบปริมาณแบคทีเรียแลกติคที่เปลี่ยนแปลงไปตามอุณหภูมิการเก็บรักษา

2. ควรเก็บหลังวันหมดอายุต่อไปนี้อีก เพื่อแสดงว่า ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตและนมเปรี้ยวสามารถเก็บไว้ได้นานกว่านี้ เพื่อเป็นผลในการขยายอายุของผลิตภัณฑ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ทิพสุคนธ์ มูสิกพันธุ์. 2539. โยเกิร์ตพร้อมดื่มจากมะพร้าว. ปัญหาพิเศษระดับปริญญาตรี สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

บุญเทียม พันธุ์เพ็ง. 2543. ปฏิบัติการจุลชีววิทยาของอาหารและผลิตภัณฑ์. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

บุษบา ยงสมิทธ์. 2527. "นมเปรี้ยว" กสิกร กรกฎาคม-สิงหาคม ปีที่ 57, ฉบับที่ 4: 217.

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข. 2523. ฉบับที่ 46.

ภวัต สังขะวัฒนะ. 2544. การพัฒนาผลิตภัณฑ์นมหมักคล้ายโยเกิร์ตโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์โปรไบโอติก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.

วรรณา ตั้งเจริญชัย. 2541. เอกสารสอนชุดวิชาที่ 8-15 ผลิตภัณฑ์อาหาร. มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช, กรุงเทพฯ.

วราวุฒิ ครูส่ง และ รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. 2532. เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล. 2539. จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญด้านอาหาร. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, กรุงเทพฯ.

สำนักวิจัยเกษตรกรรม ฝ่ายวิชาการ ธนาคารกสิกรไทย. 2533. "อาหารเสริมสุขภาพ" เอกสารวิชาการ ปีที่ 11 ฉบับที่ 1.

สุชาดา อรุณไวกิจ. 2543. การคัดเลือก Bifidobacteria เพื่อการผลิตผลิตภัณฑ์นมหมักร่วมกับจุลินทรีย์โยเกิร์ต. ปัญหาพิเศษระดับปริญญาตรี. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Adachi.S. 1992. Lactic acid bacteria and the control of tumors. Elsevier Appl. Sci.Pub. London. 233-261.

DE MAN ROGOSA และ SHARPE. 1960. อ้างถึงใน E.Merck, Darmstadt. 1994. Microbiology Manual. Germany.

Friend และ Shahani. 1985. อ้างถึงใน ทิพสุคนธ์ มูสิกพันธุ์. 2539. โยเกิร์ตพร้อมดื่มจากมะพร้าว. ปัญหาพิเศษระดับปริญญาตรี. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

I.G. Bagdanov และคณะฯ. ม.ป.ป. อ้างถึงใน ฝ่ายวิชาการ ศูนย์วิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ. 2537. "โยเกิร์ต." เดลินิวส์ (13 พฤษภาคม).

Montes และคณะ. 1995. อ้างถึงใน Holzapfel,H.W., Haberer,P., Snel,J., Schillinger,U. and Huis in't Veld,H.J.J. 1998. Overview of gut flora and probiotics. Internation J. Food Microbio. 41: 85-101.

Robinson, R.K. and A.Y. Tamine. 1981. Microbiology of Fermented Milks. In Datry Microbiology of Milk Products. R.K. Robinson (Editor). Applied Science Publishers. London.

R.M.Chen., J.J.Wu., S.c.Lee., A.H.Huang and H.M.Wu. 1999. Increase of Intestinal *Bifidobacterium* and Suppression of Coliform Bacteria with Short-term Yogurt Ingestion. J. Dairy Sci. 82: 2308-2314.

Salmlnen,S., Wright,A.V., Morelli,L., Marteau,P., Brassart,D., M. de Vos,W., Fonden,R., Saxelin,M., Collins,K., Mogensen,G., Birkeland, Sand Sandholm,M.T. 1998. Demonstration of safety of probiotoice-a review. International J. Food Microbio. 44: 93-106.

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

Tamime, A.Y. 1977. in Some Aspects of the Production of Yoghurt and Condensed Yogurt, Ph.D. Thesis, University of Reading, United Kingdom.

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

TERZAGHI และ SANDINE. 1975. อ้างถึงใน E.Merck, Darmstadt. 1994. Microbiology Manual. Germany.

Yukuchi และคณะ. 1992. อ้างถึงใน Holzapfel,H.W., Haberer,P., Snel,J., Schillinger,U. and Huis in't Veld,H.J.J. 1998. Overview of gut flora and probiotics. Internation J. Food Microbio. 41: 85-101.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

1. การวัดค่า pH โดยใช้ pH meter

1.1 ทำการ Calibrate เครื่อง pH meter โดยใช้มาตราฐาน pH 4 และ 7

1.2 ล้างแท่งอิเล็กโทรดด้วยน้ำกลั่นให้สะอาด และซับด้วยกระดาษให้แห้ง

1.3 จุ่มแท่งอิเล็กโทรดลงในตัวอย่างที่ต้องการวัด โดยให้ตัวอย่างท่วมกระเปราะ

1.4 อ่านค่าที่ได้จากเครื่อง pH meter

1.5 ล้างแท่งอิเล็กโทรดด้วยน้ำกลั่นให้สะอาด และซับด้วยกระดาษให้แห้งอีกครั้ง

2. การวิเคราะห์หาปริมาณกรด (Direct titration method)

2.1 สารเคมี

1. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N
2. ฟีนอฟทาลีนอินดิเคเตอร์ 1%
3. น้ำกลั่น

2.2 อุปกรณ์ที่ใช้

1. erlenmeyer flask 250 ml
2. ปิเปต
3. บิวเรต
4. อุปกรณ์ที่จำเป็นอื่น ๆ

2.3 วิธีการ

1. ปิเปตโยเกิร์ตมา 9 มล. ใส่ลงใน erlenmeyer flask เติมน้ำกลั่นให้มีปริมาตรเท่ากับ 25 มล.

2. หยดฟีนอฟทาลีน 2-3 หยด แล้วนำไปไตเตรทกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน จนได้สารละลายสีชมพูอ่อน

3. บันทึกปริมาณ 0.1 N NaOH ที่ใช้ เพื่อนำไปคำนวณตามสูตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{ปริมาณกรดแลคติก (\%)} = \frac{N \times V \times 90 \times 100}{W \times 1000}$$

เมื่อ N = นอร์มัลลิตี้ของสารละลายมาตราฐาน NaOH

V = ปริมาณของ NaOH ที่ใช้ (ml.)

W = ปริมาณตัวอย่างผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ใช้ในการไตเตรท

90 = มวลโมเลกุลของกรดแลคติก

3. การย้อมแกรม (บุญเทียม, 2543)

- ล้างสไลด์ด้วยน้ำสะอาด จุ่มแอลกอฮอล์ 95% นำออกมาวางบนกระดาษซับแล้วทิ้งไว้ให้แห้ง
- ทำการสเมียร์เชื้อแบคทีเรีย
- วางสไลด์ลงบนลวดวางสไลด์บนถาดสำหรับย้อมสี
- หยด Crystal violet ให้ท่วมรอยสเมียร์ ทิ้งไว้ 1 นาที
- ล้างด้วยน้ำกลั่น
- หยด Gram's iodine ให้ท่วมรอยสเมียร์ ทิ้งไว้ 1 นาที
- ล้างด้วยน้ำกลั่น
- ล้างสีด้วยแอลกอฮอล์ 95%
- ล้างน้ำกลั่น
- หยด safranin ให้ท่วมรอยสเมียร์ ทิ้งไว้ 45 วินาที
- ล้างฉีดน้ำกลั่น
- ใช้กระดาษซับ ซับสไลด์เบา ๆ
- นำสไลด์ไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์
- บันทึกลักษณะแบคทีเรียที่ตรวจพบ คือ การติดสี, รูปร่าง และการเรียงตัวของเซลล์

4. สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

4.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS

<u>ส่วนผสม</u>

Peptone form casein	10.0 g.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Meat extract	8.0	g.
Yeast extract	4.0	g.
D(+)-glucose	20.0	g.
Dipotassium hydrogen phosphate	2.0	g.
Tween 80	1.0	g.
di-ammonium hydrogen citrate	2.0	g.
Sodium acetate	5.0	g.
Magnesium sulfate	0.2	g.
Manganese sulfate	0.04	g.
Agar-agar(not present in MRS broth)	14.0	g.

วิธีการเตรียม

1. เตรียมส่วนผสม 66.2 g. ต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร สำหรับ MRS Agar หรือ เตรียมส่วนผสม 52.2 g. ต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร สำหรับ MRS Broth

2. ฆ่าเชื้อใน Autoclave ที่อุณหภูมิ 118 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ปรับ pH 5.7 $\pm$ 0.2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (อาหารมีลักษณะใสสีน้ำตาล)

4.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ M i7

ส่วนผสม

Peptone from soymeal	5.0	g.
Peptone from meat	8.5	g.
Peptone from casein	2.5	g.
Yeast extract	2.5	g.
Meat extract	5.0	g.
Lactose monohydrate	5.0	g.
Ascorbic acid	0.5	g.
Sodium B-glycerophosphate	19.0	g.
Magnesium sulfate	0.25	g.
Agar-agar(not present in broth)	12.75	g.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการเตรียม

1. เตรียมส่วนผสม 55 g. ต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร สำหรับ M17 Agar หรือ เตรียมส่วนผสม 42.5 g. ต่อน้ำกลั่น 1 ลิตร สำหรับ M17 Broth

2. ฆ่าเชื้อใน Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ปรับ pH 7.2 ± 0.2 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส (ควรเก็บอาหารเลี้ยงเชื้อในอุณหภูมิแช่เย็น (ช่วงที่เหมาะสม คือ 6-8 องศาเซลเซียส) เก็บได้นาน 10 วัน)

5. สูตร Diluent

ส่วนผสม

Sodium chloride	0.85	g.
Disstilled water	100.00	ml.

วิธีการเตรียม

1. ผสมส่วนผสมเข้าด้วยกัน
2. บรรจุในภาชนะ (ขวดหรือหลอดทดลอง)
3. นำเข้า Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. <u>ตารางที่ 11</u> แสดงปริมาณแบคทีเรียแลคติก ค่า pH ปริมาณกรดในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตและนมเปรี้ยวชนิดต่าง ๆ จากการทดลอง 3 ครั้ง

ตัวอย่าง	ปริมาณแบคทีเรียแลกติค (log CFU/ml)		pH	% กรด
	อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS	อาหารเลี้ยงเชื้อ M 17		
โยเกิร์ต				
ดัชชี่				
ครั้งที่ 1	7.76	7.70	4.43	0.85
ครั้งที่ 2	7.11	7.59	4.52	1.24
ครั้งที่ 3	7.00	7.38	4.54	0.94
เฉลี่ย	7.29 ± 0.41	7.56 ± 0.16	4.50 ± 0.06	1.01 ± 0.20
เนสท์เล่				
ครั้งที่ 1	8.66	9.34	4.41	1.20
ครั้งที่ 2	8.62	9.34	4.32	1.75
ครั้งที่ 3	8.18	9.26	4.55	1.13
เฉลี่ย	8.49 ± 0.27	9.31 ± 0.05	4.43 ± 0.12	1.36 ± 0.35
เนสท์เล่ LC1				
ครั้งที่ 1	7.94	8.36	4.39	1.20
ครั้งที่ 2	8.11	9.08	4.33	1.09
ครั้งที่ 3	8.18	9.11	4.49	1.23
เฉลี่ย	8.08 ± 0.12	8.85 ± 0.42	4.40 ± 0.08	1.17 ± 0.07
นมเปรี้ยว				
ยาคูลท์				
ครั้งที่ 1	8.04	8.41	3.80	0.67
ครั้งที่ 2	8.20	8.60	3.74	0.69
ครั้งที่ 3	8.04	8.04	3.75	0.68
เฉลี่ย	8.09 ± 0.09	8.35 ± 0.28	3.76 ± 0.03	0.68 ± 0.01

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11 (ต่อ)

ตัวอย่าง	ปริมาณแบคทีเรียแลกติค (log CFU/ml)		pH	% กรด
	อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS	อาหารเลี้ยงเชื้อ M 17		
บีทาเก้น				
ครั้งที่ 1	10.15	9.15	3.82	0.62
ครั้งที่ 2	9.11	8.94	3.75	0.84
ครั้งที่ 3	9.15	9.04	3.85	0.71
เฉลี่ย	9.47 ± 0.59	9.04 ± 0.11	3.81 ± 0.05	0.72 ± 0.11
เมจิ-ไพเกน				
ครั้งที่ 1	2.00	2.00	3.82	0.60
ครั้งที่ 2	2.00	2.00	3.79	0.60
ครั้งที่ 3	2.00	2.00	3.87	0.64
เฉลี่ย	2.00 ± 0.00	2.00 ± 0.00	3.83 ± 0.04	1.84 ± 0.02

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นางสาวสมพร บุญทองโต เกิดวันที่ 17 มิถุนายน พ.ศ. 2523 ที่จังหวัดสระบุรี สำเร็จการศึกษาระดับอนุปริญญาสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร จากสถาบันราชภัฏนครราชสีมา ในปีการศึกษา 2543 สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ.) สาขาอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง ในปีการศึกษา 2545

นางสาวสุกัญญา ตุ่มศรียา เกิดวันที่ 19 กันยายน พ.ศ. 2523 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับอนุปริญญาสาขาเคมีปฏิบัติการ-ปิโตรเคมี จากสถาบันเทคโนโลยีราชมงคลวิทยาเขตเทคนิคกรุงเทพ ในปีการศึกษา 2543 สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (วท.บ.) สาขาอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง ในปีการศึกษา 2545

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้