การรอดชีวิตของแบคทีเรียโยเกิร์ตและแบคทีเรียโพรไบโอติกในโยเกิร์ต

VIABILITY OF YOGHURT AND PROBIOTIC BACTERIA IN YOGHURT

มนัสชนก ศากิยะ

MANATCHANOK SAKIYA

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาจุลชีววิทยาอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

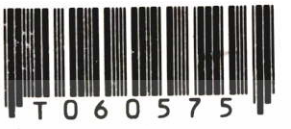
พ.ศ. 2543

ISBN 974-16-1853-5

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การรอดชีวิตของแบคทีเรียโยเกิร์ตและแบคทีเรียโพรไบโอติกในโยเกิร์ต

VIABILITY OF YOGHURT AND PROBIOTIC BACTERIA IN YOGHURT



มนัสชนก สากิยะ

MANATCHANOK SAKIYA

เลขหมู่.....60575
เลขทะเบียน.....
วัน,เดือน,ปี.....3 ก.ค. 2549

.b.....
.i.....

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาสุขาภิบาลอาหาร

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2548

ISBN 974-15-1859-5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

VIABILITY OF YOGHURT AND PROBIOTIC BACTERIA IN YOGHURT

MANATCHANOK SAKIYA

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN FOOD SANITATION

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2005

ISBN 974-15-1859-5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2005

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	**การรอดชีวิตของแบคทีเรียโยเกิร์ตและแบคทีเรียโพรไบโอติกในโยเกิร์ต**
นักศึกษา	นางสาวมนัสชนก สากิยะ
รหัสประจำตัว	44615707
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	สุขาภิบาลอาหาร
พ.ศ.	2548
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	รศ. ดร. วรรณา ตั้งเจริญชัย

บทคัดย่อ

จากการศึกษาอัตราการอยู่รอดของเชื้อโยเกิร์ตและเชื้อโพรไบโอติกในโยเกิร์ตไขมัน 1 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังกระบวนการหมักและระหว่างเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส พบว่าเชื้อโยเกิร์ต *Streptococus thermophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus* มีปริมาณลดลงในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของการเก็บรักษามีอิทธิพลต่อการอยู่รอดของเชื้อ *Streptococcus thermophilus* ระยะเวลาของการเก็บรักษาโยเกิร์ตที่อุณหภูมิ 4 หรือ 10 องศาเซลเซียส มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* และ *Bifidobacterium lactis* อุณหภูมิการเก็บรักษาที่แตกต่างกันไม่มีผลต่อการอยู่รอดของเชื้อโยเกิร์ตและเชื้อโพรไบโอติก โยเกิร์ตที่เก็บรักษาเป็นเวลา 35 วัน ที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียสมีปริมาณเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* เท่ากับ 1,893 และ 1,160 CFU/g เช่นเดียวกับ *Bifidobacterium lactis* ที่มีปริมาณการอยู่รอดเท่ากับ 2.1×10^6 และ 1.3×10^6 CFU/g โยเกิร์ตยังคงมีเชื้อโพรไบโอติกที่รอดชีวิตในปริมาณเพียงพอที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ ไม่พบเชื้อโคลิฟอร์มแบคทีเรียในตัวอย่างโยเกิร์ตที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส ซึ่งบ่งบอกถึงสุขลักษณะการผลิตโยเกิร์ตที่มีคุณภาพดี ออกซิเจนที่ละลายในโยเกิร์ตถูกใช้ไปในระหว่างกระบวนการหมัก ความเข้มข้นของออกซิเจนในโยเกิร์ตเพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา อุณหภูมิการเก็บรักษาไม่มีผลต่อปริมาณความเข้มข้นของออกซิเจน ความเป็นกรดและพีเอชของโยเกิร์ตในระหว่างการเก็บรักษาไม่เปลี่ยนแปลงตามระยะเวลาของการเก็บรักษานาน 35 วัน ความเข้มข้นของกรดแลคติกในโยเกิร์ตที่ผ่านกระบวนการหมักเท่ากับ 270.42 ppm และมีค่าคงที่ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 28 วัน อย่างไรก็ตาม ความเข้มข้นของกรดแลคติกเพิ่มขึ้นเป็น 357.19 และ 367.67 ppm ที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส ไม่พบกรดอะซีติกในนมก่อนเกิดกระบวนการหมัก ความเข้มข้นของกรดอะซีติกในโยเกิร์ตหลังเสร็จสิ้นกระบวนการหมักเท่ากับ 12.78 ppm และเพิ่มขึ้นเป็น 103.30 และ 124.69 ppm ภายหลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 35 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Viability of Yoghurt and Probiotic Bacterial in Yoghurt
Student	Miss Manatchanok Sakiya
Student ID.	44615707
Degree	Master of Science
Programme	Food Sanitation
Year	2005
Thesis advisor	Assoc. Prof. Dr. Wanna Tungjaroenchai

ABSTRACT

Survival of yoghurt and probiotic bacteria in low fat yoghurt (1% butterfat) during post-fermentation storage at temperatures of 4 and 10°C were investigated. Counts of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* declined during storage at both temperatures. Influence of temperature on survival of *Streptococcus thermophilus* was found. Storage time of yoghurt at either 4 or 10°C effected changes in counts of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium lactis*. Difference in storage temperatures did not influence the survival of both probiotic bacteria. Yoghurts that had been kept for 35 day at 4 and 10°C contained 1,893 and 1,160 CFU/g of *Lactobacillus acidophilus*. *Bifidobacterium lactis* could survive through 35 day storage at both temperatures. Counts of *Bifidobacterium lactis* at 4 and 10°C were 2.1×10^6 CFU/g and 1.3×10^6 CFU/g, respectively. These high counts indicated a potential benefit of the stored yoghurt. No coliform bacteria was detected in yoghurt at both temperatures. This reflected a high quality of sanitation during yoghurt manufacturing. Dissolved oxygen in yoghurt milk was utilized upon fermentation, the concentration increased upon storage. An influence of the storage temperature on oxygen concentration was not found. Both pH and titratable acidity of yoghurt during post-fermentation storage were not changed. Concentration of lactic acid after the complete fermentation of either temperature was 270.42 ppm. The concentration of this acid was constant during 28 day storage, however it increased to 357.19 ppm and 367.67 ppm at 4°C and 10°C, respectively. Acetic acid was not found in the yoghurt milk before fermentation. This acid was found to develop to the concentration of 12.78 ppm at both temperatures. Acetic acid development continued to 103.30 ppm and 124.69 ppm after 35 day storage at 4 and 10°C, respectively.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลุล่วงได้อย่างดี ด้วยคำปรึกษาและคำแนะนำต่าง ๆ รวมทั้งตรวจทานแก้ไขรูปเล่มวิทยานิพนธ์ จาก รศ.ดร.วรรณา ตั้งเจริญชัย อาจารย์ที่ปรึกษา ผู้จัดทำรู้สึกซาบซึ้งในความอนุเคราะห์และขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร.ประภาพร ขอไพบูลย์ และ ผศ.ดร.ประพันธ์ ปิ่นศิโรดม ที่ได้ให้เกียรติเป็นคณะกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ อีกทั้งช่วยตรวจสอบแก้ไขรวมทั้งให้คำปรึกษาแนะนำจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ คุณแก้วขวัญ วัชโรทัย ผู้อำนวยการโครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา คุณรสริน สมิตะพินทุ รองผู้อำนวยการโครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา คุณสุริยะ พันธุ์นรา ที่ปรึกษาโครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา ฝ่ายอุตสาหกรรม ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่างโยเกิร์ตเพื่อใช้ในการทำวิจัย

ขอกราบขอบพระคุณคุณชาญ ปานเหล็ง Managing Director บริษัทอ้อมานี คอร์ปอเรชั่น จำกัด ที่ให้ความอนุเคราะห์ใช้สถานที่ห้องปฏิบัติการ เป็นสถานที่ในการทำวิจัย และให้คำแนะนำในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่โรงเนยแข็งโครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดาทุกท่าน ที่ได้ช่วยเหลือในการทำงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ เจ้าหน้าที่เทคนิค และเจ้าหน้าที่ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่านที่ได้ช่วยเหลือในการทำงานวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ปริญญาโทที่เป็นกำลังใจและให้ความช่วยเหลือและเป็นกำลังใจให้ตลอดมา

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

มนัสชนก สากิยะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....II

กิตติกรรมประกาศ.....III

สารบัญ.....IV

สารบัญตาราง.....VII

สารบัญภาพ.....VIII

บทที่ 1 บทนำ.....1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....1

1.3 ขอบเขตการวิจัย.....1

1.4 สถานที่ทำการวิจัย.....2

บทที่ 2 วารสารปริทัศน์.....3

2.1 ผลิตภัณฑ์นมหมัก.....3

2.1.1 ผลิตภัณฑ์นมหมักจำแนกโดยชนิดของแบคทีเรีย.....3

2.1.2 ผลิตภัณฑ์นมหมักจำแนกตามลักษณะของผลิตภัณฑ์.....6

2.1.3 ประโยชน์ของผลิตภัณฑ์นมหมัก.....7

2.2 โยเกิร์ต.....9

2.2.1 ชนิดของโยเกิร์ต.....9

2.2.2 จุลินทรีย์ที่ใช้ผลิตโยเกิร์ต.....11

2.2.3 กระบวนการผลิตโยเกิร์ต.....11

2.2.4 ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักโยเกิร์ต.....15

2.2.5 ความบกพร่องของโยเกิร์ต.....15

2.3 จุลินทรีย์โพรไบโอติก.....17

2.3.1 คุณลักษณะของจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ใช้ในการผลิตโยเกิร์ต.....18

2.3.2 ประโยชน์ของจุลินทรีย์โพรไบโอติก.....19

2.4 การวิเคราะห์ปริมาณของกรดอินทรีย์ในโยเกิร์ต.....20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ 21

3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย 21

3.1.1 วัตถุดิบ 21

3.1.2 สารเคมี 21

3.1.3 เครื่องมือ อุปกรณ์ 22

3.2 วิธีการดำเนินงาน 22

3.2.1 เชื้อหมักโยเกิร์ต 22

3.2.2 การเตรียมเนื้อโยเกิร์ต 22

3.2.3 การวิเคราะห์คุณภาพ 22

3.2.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ 23

บทที่ 4 ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง 25

4.1 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี 25

4.1.1 ปริมาณออกซิเจน 25

4.1.2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง 25

4.1.3 ปริมาณกรด 27

4.1.4 ปริมาณกรดแลคติก 27

4.1.5 ปริมาณกรดอะซิติก 28

4.2 การวิเคราะห์คุณภาพด้านจุลินทรีย์ 29

4.2.1 Coliforms bacteria 29

4.2.2 *Streptococcus thermophilus* 29

4.2.3 *Lactobacillus bulgaricus* 30

4.2.4 *Lactobacillus acidophilus* 32

4.2.5 *Bifidobacterium lactis* 32

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บรรณานุกรม.....35

ภาคผนวก.....39

ประวัติผู้เขียน.....48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 เวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการให้ความร้อนแก่น้ำนมที่ใช้ในการเตรียมโยเกิร์ต.....13

4.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของโยเกิร์ตที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 10 องศาเซลเซียส.....26

4.2 ปริมาณกรด (%TA) ของโยเกิร์ตที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 10 องศาเซลเซียส..27

4.3 ปริมาณกรดแลคติก (ppm) ในโยเกิร์ตที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 10 องศาเซลเซียส.....28

4.4 ปริมาณกรดอะซิติก (ppm) ในโยเกิร์ตที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 10 องศาเซลเซียส.....29

4.5 ผลการตรวจเชื้อ coliforms ในโยเกิร์ตที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 10 องศาเซลเซียส.....30

4.6 ปริมาณเชื้อ *Streptococcus thermophilus* (log CFU/g) ในโยเกิร์ตที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 10 องศาเซลเซียส 31

4.7 ปริมาณเชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* (log CFU/g) ในโยเกิร์ตที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 10 องศเซลเซียส.....31

4.8 ปริมาณเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* (log CFU/g) ในโยเกิร์ตที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 10 องศาเซลเซียส.....32

4.9 ปริมาณเชื้อ *Bifidobacterium lactis* (log CFU/g) ในโยเกิร์ตที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 10 องศาเซลเซียส.....33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	กระบวนการผลิตโยเกิร์ต	14
2.2	Metabolism of lactic in lactic acid bacteria	16
2.3	Important alternative pathways	17
4.1	ปริมาณออกซิเจนในโยเกิร์ตที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 10 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ	26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

แบคทีเรียโพรไบโอติก (probiotics bacteria) เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้ของมนุษย์ และมีจำนวนหลายชนิด ชนิดที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายได้แก่ แบคทีเรียแลคติก (lactic bacteria) และบิฟีโดแบคทีเรีย (bifidobacteria) ซึ่งสามารถย่อยน้ำตาลกาแลคโตส ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคในลำไส้ ช่วยกระตุ้นการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน ลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือด แบคทีเรียโพรไบโอติกที่นิยมนำมาบริโภคส่วนใหญ่อยู่ในรูปของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตซึ่งมีการใช้แบคทีเรียชนิดนี้เพิ่มเข้าไปในกระบวนการหมัก พบว่าในระหว่างการเก็บรักษาโยเกิร์ตที่อุณหภูมิต่ำแบคทีเรียโพรไบโอติกจะมีจำนวนลดลง ซึ่งผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่มีส่วนประกอบของแบคทีเรียโพรไบโอติกควรมีจำนวนเชื้อที่มีชีวิตรอดอยู่เป็นจำนวน 10^{5}-10^{6} เซลล์ต่อกรัม เพื่อประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค (Dave and Shah, 1997)

ในประเทศไทยยังไม่พบรายงานการวิจัยของโยเกิร์ตทางการค้า ที่เกี่ยวข้องกับการอยู่รอดของจุลินทรีย์โพรไบโอติก แบคทีเรียแลคติก ขณะเก็บรักษา งานวิจัยการรอดชีวิตของแบคทีเรียโยเกิร์ตและแบคทีเรียโพรไบโอติกในโยเกิร์ต มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความอยู่รอดของแบคทีเรียโพรไบโอติก แบคทีเรียแลคติก และการเปลี่ยนแปลงของคุณภาพทางเคมีของโยเกิร์ตขณะเก็บรักษา

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

ศึกษาการรอดชีวิตของเชื้อ *Streptococcus thermophilus* เชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* เชื้อ *Lactobacillus acidophilus* และเชื้อ *Bifidobacterium lactis* และการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมีของโยเกิร์ตขณะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและ 10 องศาเซลเซียส

1.3 ขอบเขตการวิจัย

ศึกษาการรอดชีวิตของแบคทีเรียโพรไบโอติก แบคทีเรียแลคติก การเปลี่ยนแปลงของระดับกรดแลคติก กรดอะซิติก และออกซิเจนที่ละลาย (dissolved oxygen) ในโยเกิร์ตไขมันต่ำ (1%) ขณะเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 10 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 สถานที่ทำการวิจัย

1.4.1 โรงเนยแข็ง โครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา เลขที่ 191 ถ.ราชวิถี เขตดุสิต กรุงเทพฯ

1.4.2 ห้องปฏิบัติการ โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เลขที่ 3 หมู่ 2 ถ.ฉลองกรุง เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ

1.4.3 บริษัท อมานี คอร์ปอเรชั่น จำกัด เลขที่ 201/220 หมู่ 6 แขวงประเวศ เขตประเวศ กรุงเทพฯ 10250

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
วารสารปริทัศน์

2.1 ผลิตภัณฑ์นมหมัก (Fermented Dairy Products)

ผลิตภัณฑ์นมหมักเป็นผลิตภัณฑ์ที่เตรียมจากน้ำนมพร้อมมันเนย น้ำนมพร่องมันเนย หางนม น้ำนมเข้มข้น หรือน้ำนมที่ผสมด้วยหางนมผง โดยจะนำมาโฮโมจิไนส์หรือไม่ก็ได้ แล้วผ่านกระบวนการให้ความร้อน ทำให้เย็นลง และหมักด้วยจุลินทรีย์

2.1.1 ประเภทของผลิตภัณฑ์นมหมักจำแนกโดยชนิดของแบคทีเรีย

สามารถจำแนกประเภทของนมหมัก โดยอาศัยแบคทีเรียแลคติกในการหมักออกได้เป็น 4 ชนิดดังนี้ (Marshall, 1984)

2.1.1.1 ผลิตภัณฑ์นมหมักบัตเตอร์มิลค์ (Cultured Butter Milk)

บัตเตอร์มิลค์ เป็นซีรัมสดซึ่งเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตเนยสด (butter) บัตเตอร์มิลค์ประกอบด้วยคุณค่าทางอาหารสามารถนำมาใช้เป็นอาหารคน หรืออาหารสัตว์ได้ การผลิตบัตเตอร์มิลค์ เริ่มจากการนำบัตเตอร์มิลค์มาพาสเจอร์ไรส์ อาจปรับไขมันในบัตเตอร์มิลค์ประมาณร้อยละ 1.7 หลังการพาสเจอร์ไรส์แล้วทำให้เย็นลงที่ 22 องศาเซลเซียส จากนั้นจึงเติมเชื้อหมักร้อยละ 1 ซึ่งเชื้อหมักประกอบด้วย mesophilic Lactococci เช่น *Lactobacillus lactis* ssp. *lactis* *Lactobacillus lactis* ssp. *cremoris* และบางครั้งจะเติมเชื้อ Leuconostoc Bacteria เช่น *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris* ด้วย นอกจากนี้อาจเติมเชื้อ *Lactobacillus lactis* ssp. *lactis* var. diacetylactis โดยเลือกเฉพาะสายพันธุ์ที่ผลิตไดอะเซททิลได้ในปริมาณเล็กน้อย การผลิตบัตเตอร์มิลค์ที่มีรสชาติดีได้จากการควบคุมการผลิตปริมาณไดอะเซททิลต่ออะเซทตัลดีไฮด์ให้ได้อัตราส่วน 4:1 (Lindsay *et. al.*, 1965) การควบคุมการเจริญของแบคทีเรียที่ให้กลิ่นรส ให้อยู่ในสัดส่วนที่สมดุลย์กัน จำเป็นต้องบ่มบัตเตอร์มิลค์ที่อุณหภูมิ 21-24 องศาเซลเซียส เนื่องจากถ้าใช้อุณหภูมิสูงกว่า 24 องศาเซลเซียส แบคทีเรียที่ผลิตกรดจะเจริญได้เร็วกว่าแบคทีเรียที่ให้กลิ่นรส มีผลให้บัตเตอร์มิลค์ที่ได้มีแต่รสเปรี้ยวแต่ขาดกลิ่นรสจำเพาะ นมที่ใช้ผลิตบัตเตอร์มิลค์หมักควรมีคุณภาพดี ปริมาณกรดซิตริกในนมอยู่ระหว่างร้อยละ 0.15-0.19 โดยจะผันแปรไปตามฤดูกาล จึงนิยมเติมกรดซิตริกหรือโซเดียมซิเตรท เพื่อให้ผลิตภัณฑ์บัตเตอร์มิลค์มีปริมาณไดอะเซททิลที่เหมาะสม นอกจากนี้อาจเติมสารช่วยให้เกิดการคงตัว (stabilizers) สารให้ความหวาน สี นมผง หางนมผง เมื่อบ่มบัตเตอร์มิลค์นาน 14-16 ชั่วโมง เกิดการตกตะกอนของโปรตีนนมที่ pH 4.6-4.7 และได้กรดจากการไตเตรทร้อยละ 0.8 หากขาดความระมัดระวังในการเคลื่อนย้ายผลิตภัณฑ์สามารถทำให้ลิ่มนมแตก หลังจากได้ผลิตภัณฑ์บัตเตอร์มิลค์หมักแล้วจะลดอุณหภูมิลงมาที่ 5 องศาเซลเซียส บรรจุและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำหน่ายภายใน 24 ชั่วโมง ผลิตภัณฑ์บัตเตอร์มิลค์ที่ดีต้องมีลักษณะเป็นก้อนหนา มีเนื้อเนียนเรียบ มีความหนืดพอสมควร และไม่มีการแยกตัวของหางนม

ลางฟิล (langfil) เป็นผลิตภัณฑ์นมหมักของชาวสวีเดน และชาวฟินแลนด์เรียกว่า วิอิไล (viili) ใช้แบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์ที่สร้างเมือก ได้แก่ *Lactobacillus lactis* ssp. *lactis* และ ssp. *cremoris* ในการผลิตเพื่อให้เกิดสารที่คล้ายไกลโคโปรตีนในนม (Marshall, 1984)

2.1.1.2 ผลิตภัณฑ์นมหมักจากเชื้อแลคโตบาซิลลัส (*Lactobacillus* spp.)

ตัวอย่างนมหมักประเภทนี้ได้แก่ นมหมักของชาวบัลแกเรีย (Bulgaria) โดยจะใช้เชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* นมหมักของชาวญี่ปุ่นในชื่อการค้าว่า ยาคูลท์ (yakult) จะใช้แบคทีเรีย *Lactobacillus casei* สายพันธุ์ใหม่ที่แยกได้จากอุจจาระของผู้ป่วยโรคท้องร่วง (Marshall, 1984)

1) ผลิตภัณฑ์นมหมักของชาวบัลแกเรีย (Bulgarian milk)

เป็นนมเปรี้ยวในตระกูลโยเกิร์ตที่มีกรรมวิธีการผลิตได้รับการถ่ายทอดมาจากนักพันธุศาสตร์ที่อพยพมาจากเอเชียเข้ามาอยู่ในบัลแกเรียประมาณคริสศตวรรษที่ 5 นมหมักบัลแกเรียมีค่าความเป็นกรดสูง โดยเตรียมจากนมวัวหรือนมแพะต้ม ใช้นมหมักรุ่นก่อนๆ เป็นเชื้อหมัก (Marshall, 1984) การผลิตนมหมักบัลแกเรียเป็นการค้าใช้เชื้อหมักที่ประกอบด้วย *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* อย่างเดียว หรือใช้เชื้อผสมของ species นี้ อาจเติม *Streptococcus thermophilus* ลงไปด้วย ก่อนเติมเชื้อต้องพาสเจอร์ไรส์นมที่ 85 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาทีก่อน เมื่อเย็นลงจึงเติมกล้าเชื้อประมาณร้อยละ 2 และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จนได้ผลิตภัณฑ์ที่มีกรดแลคติกประมาณร้อยละ 1.4 อาจปล่อยไว้จนได้เปอร์เซ็นต์กรดแลคติกสูงถึงร้อยละ 4 ในกรณีนี้กรดแลคติกส่วนใหญ่จะอยู่ในรูป D(-) (Tamime and Deeth, 1980) จากนั้นเก็บนมเปรี้ยวไว้ที่ 7 องศาเซลเซียส นมหมักบัลแกเรียเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นรสไม่ชวนบริโภค สารที่ให้กลิ่นรสคืออะเซทตัลดีไฮด์เพียงอย่างเดียว ซึ่งเกิดจากการผลิตโดย *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ในระดับความเข้มข้นถึง 12 ppm (Tamime and Robinson, 1985) ผู้ผลิตบางรายใช้เชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ร่วมกับ *Lactobacillus lactis* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ใช้หมักบัตเตอร์มิลค์

2) ยาคูลท์ (Yakult)

เป็นนมหมักที่พัฒนาในประเทศญี่ปุ่นโดยใช้เชื้อ *Lactobacillus casei* ยาคูลท์ผลิตจากหางนมที่เติมน้ำตาลกลูโคสและสาหร่าย Chlorella ละลายในน้ำร้อน กรอง ฆ่าเชื้อ และเติม *L. casei* spp. *shirota* (เป็นแบคทีเรียพบในทางเดินอาหารมนุษย์ ซึ่งแยกได้จากอุจจาระ) ทำการหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน จนมีเปอร์เซ็นต์กรดร้อยละ 2.7 ปริมาณของแข็งในนมต่ำกว่านมทั่วไป คือมีโปรตีนร้อยละ 1.1 จึงมีการเติมแซคคาไรด์อื่นๆ จนทำให้ปริมาณของแข็งเพิ่มเป็นร้อยละ 14.1 ซึ่งช่วยให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพทางประสาทสัมผัสที่ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Tamime and Robinson, 1988) เชื้อ *L. casei* สามารถผลิตสารประกอบอื่นๆ ได้แก่ กรดซิตริก กรดซัคซินิก กรดมาลิก และอะซิโตอิน (acetoin) ในปริมาณเล็กน้อย พบว่าผู้ที่ดื่มยาคูลท์เป็นประจำมีความต้านทานโรคทางเดินอาหารได้ดีกว่าผู้ที่ไม่ดื่ม (Speck, 1976). ปัจจุบันมีความหลากหลายของกรรมวิธีการผลิตยาคูลท์ เพิ่มทางเลือกให้กับผู้บริโภค เช่น การเติมน้ำผักต่างๆ เช่น มะเขือเทศ กะหล่ำปลี ผักชี แครอท คื่นไช่ ในส่วนผสมสำหรับนำไปหมัก (Tamime and Robinson, 1988)

2.1.1.3 ผลิตภัณฑ์นมหมักที่ใช้เชื้อ thermophilic lactic acid bacteria ในการหมัก

จากการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียจากนมที่ผ่านความร้อนซึ่งผลิตในยุโรปตอนกลางและยุโรปตะวันออก ในฤดูร้อนอาจมีอุณหภูมิของอากาศสูงกว่า 40 องศาเซลเซียส กระนั้นก็ตามยังมีแบคทีเรีย 2 สปีชีส์ที่สามารถเจริญได้ คือ *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* แบคทีเรียทั้งสองแตกต่างกันด้านสมบัติทางกายภาพ และกิจกรรมการเมตาบอลิสึมที่ทำให้นมมีคุณค่าทางอาหาร และผลต่อสุขภาพแตกต่างกัน เช่นเดียวกับความแตกต่างในด้านสมบัติทางประสาทสัมผัส ปริมาณกรดแลคติกที่ *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* ผลิตได้ อาจสูงถึงร้อยละ 2-2.5 และส่วนใหญ่อยู่ในรูป D(-) ในขณะที่ *Streptococcus thermophilus* ส่วนมากผลิตกรดแลคติกในรูป L(-) ที่จำเป็นต่อร่างกาย แต่ผลิตได้น้อยกว่าสปีชีส์แรกมาก (ผลิตได้ร้อยละ 0.6-0.8) (Dellaglio, 1988) *S. thermophilus* เจริญได้ดีที่อุณหภูมิระหว่าง 38-45 องศาเซลเซียส ส่วน *L. bulgaricus* เจริญได้ดีทีอุณหภูมิที่แคบกว่า คืออยู่ระหว่าง 42-45 องศาเซลเซียส โยเกิร์ต (yoghurt) เป็นนมหมักที่ใช้แบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิสูงที่รู้จักกันมากที่สุด

2.1.1.4 ผลิตภัณฑ์นมหมักจากแบคทีเรียแลคติกและยีสต์

แบคทีเรียแลคติกที่ใช้เป็นแบคทีเรียชนิด mesophilic bacteria มีหลาย species ส่วนยีสต์มักได้แก่สายพันธุ์ Kulyveromyces นอกจากนี้อาจมี Candida และ Saccharomyces และยีสต์สายพันธุ์อื่น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับผลิตภัณฑ์และสภาพทางภูมิศาสตร์ของพื้นที่ที่ทำการผลิต ผลิตผลที่ได้จากกระบวนการหมักคือ กรดแลคติกและเอทธานอล ดังนั้น ผลิตภัณฑ์นี้จึงได้ชื่อว่า นมหมักประเภท เอซิด-แอลกอฮอล์ (acid-alcohol) ผลิตภัณฑ์นี้เป็นที่นิยมในทวีปเอเชียและในตะวันออกกลาง โดยจะมีชื่อเรียกแต่ต่างกันออกไปในแต่ละท้องถิ่น ผลิตภัณฑ์ที่รู้จักกันอย่างแพร่หลายคือ คีเฟอร์ (kefir)

1) คีเฟอร์ (Kefir)

เชื้อหมักคีเฟอร์ได้จากเมล็ดคีเฟอร์ ซึ่งเป็นธัญพืชชนิดหนึ่ง (kefir grains) มีสีขาวจนถึงสีเหลือง มีขนาด 0.3-2 ซม. มีรูปร่างไม่สม่ำเสมอ ผิวนอกมักจะยับยู่ยี่ เกาะกันเป็นก้อนคล้ายข้าวสุก หรือคล้ายกะหล่ำหมักในถุงที่ทำด้วยหนังหรือถังไม้โอ๊คที่บรรจุนม หมักทิ้งไว้จนนมเปรี้ยว การผลิตคีเฟอร์จะผลิตกล้าเชื้อคีเฟอร์เป็น 2 ระยะคือ ระยะแรกใช้เมล็ดคีเฟอร์เป็นหัวเชื้อ (mother culture) เพื่อนำมาผลิตเป็นกล้าเชื้อในปริมาณมาก (bulk starter) ในระยะที่สอง ใช้เมล็ดคีเฟอร์ต่อนมในอัตราส่วน 1:1 โดยน้ำหนัก (Libudzisz and Piatkiewicz, 1990) เมล็ดคีเฟอร์หลังการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรอง สามารถใช้เติมในนมสดเพื่อทำเชื้อหมักเก็บไว้ หรือล้างน้ำเย็นและเก็บในน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว หรือเก็บในสารละลายเกลือแกงร้อยละ 0.9 ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ได้ประมาณ 8-10 วัน อาจเก็บเมล็ดคีเฟอร์ในสภาพแห้ง ซึ่งมีอายุการเก็บนาน 12-18 เดือน สัดส่วนระหว่างแบคทีเรียและยีสต์ในคีเฟอร์ ขึ้นอยู่กับระยะเวลาของการหมัก เช่นหลังจากหมักไว้นาน 3 วัน จำนวนแบคทีเรียจะลดลง ขณะที่จำนวนของยีสต์จะเพิ่มขึ้น

เครื่องดื่มคีเฟอร์พร้อมดื่มมีลักษณะเป็นลิ่ม เนียน สม่ำเสมอ มีสีครีม รสเปรี้ยว ซ่าลิ้นเล็กน้อย ผลิตภัณฑ์คีเฟอร์ประกอบด้วยกรดแลคติกร้อยละ0.8-0.9 ส่วนมากอยู่ในรูป L(+) กรดฟอร์มิก (formic acid) กรดซัคซินิก (succinic acid) และกรดโปรปีโอนิก (propionic acid) ในปริมาณที่ใกล้เคียงกัน ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้นประมาณร้อยละ 0.08-0.2 เอทธิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 0.5-0.2 อัลดีไฮด์ชนิดต่างๆ ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (isoamylalcohol) และอะซิโตน (acetone) ในปริมาณเล็กน้อย ส่วนไดอะเซทติลซึ่งเป็นสารที่ทำให้เกิดกลิ่นรสนั้นสร้างจากแบคทีเรียที่ใช้เกลือซิเตรท คือ *Lactobacillus lactis* ssp. *lactis* var. *diacetylactis* และ *Leuconostoc mesenteroides* ssp. *cremoris* ในปริมาณ 1 ppm ไนโตรเจนร้อยละ 7 อยู่ในรูปเปปโตน และร้อยละ 2 อยู่ในรูปกรดอะมิโน องค์ประกอบทางเคมีของคีเฟอร์ขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น ชนิดของนม ชนิดของธัญพืช และเงื่อนไขของเทคโนโลยี

2) คูมิส (Koumiss)

คูมิสเป็นน้ำนมเปรี้ยวที่ประกอบด้วยทั้งกรดและแอลกอฮอล์คล้ายคีเฟอร์ ผลิตจากน้ำนมม้า โดยนำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90-93 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นทำให้เย็นก่อนเติมสตาร์ตเตอร์ 10-30% สตาร์ตเตอร์ที่ใช้ประกอบด้วยแบคทีเรียแลคติกและยีสต์ ได้แก่ *L. acidophilus L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* หรือ *Kluyveromyces marxianus* var. *lactis* (Marshall, 1984) บ่มที่อุณหภูมิ 26-28 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้กรดแลคติกและแอลกอฮอล์ตามต้องการ ส่วนใหญ่คูมิสจะมีปริมาณกรดแลคติก 0.6-1.0% และมีปริมาณแอลกอฮอล์ 0.7-2.5% หลังจากบ่มแล้วทำให้เย็นถึง 15 องศาเซลเซียส และกวนเพื่อให้ได้ลักษณะผลิตภัณฑ์ที่เนียน อยู่ตัว และมีอากาศผสมเล็กน้อย จากนั้นจึงบรรจุขวดและเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องระยะหนึ่ง เพื่อให้มีการสะสมของคาร์บอนไดออกไซด์ คูมิสที่ผลิตได้จะมีลักษณะเหลว ไม่เป็นลิ่ม (curd)

2.1.2 ผลิตภัณฑ์นมหมักจำแนกตามลักษณะของผลิตภัณฑ์ ได้ดังนี้

2.1.2.1 ผลิตภัณฑ์เหลวในรูปเครื่องดื่ม (liquid product) ได้แก่ acidophilus milk sweet acidophilus milk cultured butter milk kefir และ koumiss

2.1.2.2 ผลิตภัณฑ์กึ่งแข็ง (semi-solid product) ได้แก่ cultured cream และโยเกิร์ต

2.1.2.3 ผลิตภัณฑ์เนยแข็งที่ไม่ผ่านการบ่ม (unripened soft cheese) ได้แก่ cottage cheese bakers' cheese และ quarg

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 ประโยชน์ของผลิตภัณฑ์นมหมัก

2.1.3.1 เพิ่มประสิทธิภาพในการย่อย และคุณค่าทางโภชนาการของนม

นมหมักย่อยง่ายและมีคุณค่าทางโภชนาการมากกว่านมสดเนื่องจากแบคทีเรียที่ใช้ในการหมักย่อยนมไปแล้วบางส่วนจึงทำให้ร่างกายสามารถย่อยได้ง่ายขึ้น เช่น แบคทีเรียให้กรดแลคติกมีเอนไซม์ย่อยน้ำตาลแลคโตส (β-galactosidase) มีเอนไซม์ย่อยโปรตีน (protease) เป็นผลให้นมหมักมีสารอาหารโมเลกุลเล็กกว่าที่ร่างกายสามารถย่อยหรือนำไปใช้ได้มากกว่านมสด

กรดแลคติกที่แบคทีเรียสร้างขึ้นในนมหมักมีอิทธิพลต่อสมบัติทางกายภาพของตะกอนเคซีน ซึ่งเป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่มีอยู่มากในนม โดยช่วยให้ย่อยได้ง่ายขึ้น เอนไซม์ในกระเพาะอาหารและตับอ่อนช่วยให้การเคลื่อนตัวของลำไส้ดีขึ้น ตัวอย่างเช่น ในระหว่างการเจริญของเชื้อหมักนมเปรี้ยวคีเฟอร์ (kefir) จะเกิดก๊าซ CO_2 ขึ้นในปริมาณมาก เป็นผลให้เกิดการตกตะกอนของนม กรดแลคติกในรูป L(+) ที่แบคทีเรียสร้างขึ้นจะถูกดูดซึมเข้าสู่ลำไส้และใช้เป็นแหล่งของพลังงาน (Gurr, 1987) สำหรับกรดแลคติกที่ร่างกายสร้างขึ้นเองจะอยู่ในรูป D(-) ถ้ากรดแลคติกรูปนี้ถูกผลิตขึ้นในปริมาณมากจะเกิดสภาวะกรดในร่างกาย ซึ่งมีผลให้สมดุลของเกลือแร่ในร่างกายเสียไป ด้วยเหตุนี้องค์การอนามัยโลกจึงแนะนำให้ควบคุมปริมาณกรดแลคติกในร่างกายที่อยู่ในรูป D(-) ในแต่ละวันไม่ให้เกิน 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักตัว 1 กิโลกรัม ซึ่งโดยปกติกรดแลคติกในโยเกิร์ตราวร้อยละ 40-50 จะมีกรดแลคติกในรูปน้ำน้อยกว่านี้มาก เช่น คีเฟอร์มีร้อยละ 2-5 และบัตเตอร์มิลค์ (buttermilk) มีร้อยละ 3-6 ดังนั้น จึงแนะนำให้ใช้แบคทีเรียแลคติกในการผลิตนมหมัก เพราะให้กรดแลคติกในรูป L(+) เป็นส่วนใหญ่ (Gurr,1987)

2.1.3.2 ลดปริมาณของน้ำตาลแลกโตส

แลคโตสเป็นคาร์โบไฮเดรตที่สำคัญในนม แลคโตสจะต้องถูกย่อยเป็นน้ำตาลชั้นเดียว คือ กลูโคสและกาแลคโตสก่อน จึงจะสามารถดูดซึมได้โดยอาศัยเอนไซม์แลคเตสที่มีความจำเพาะจากลำไส้เล็ก ประชากรส่วนใหญ่ของโลก (ยกเว้นชาวยุโรปตอนเหนือ และประชากรในชุมชนแอฟริกันและอินเดียบางส่วน ขาดเอนไซม์แลคเตสเมื่อมีอายุมากกว่า 10 หรือ 20 ปี ปัญหานี้เกิดขึ้นมากกับชาวตะวันออกเฉียงใต้ (Fernandes and Shahani,1989) ผู้ที่มีปัญหาขาดเอนไซม์แลคเตสจากลำไส้เล็กมักมีอาการท้องเดิน มีแก๊สในกระเพาะมาก และปวดท้องหลังบริโภคแลคโตส ทั้งนี้เกิดจากการหมักแลคโตสโดยแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ ผู้ที่มีปัญหาดังกล่าวต้องบริโภคหรือได้รับเอนไซม์ β-galactosidase จากแบคทีเรียแลคติกที่รอดชีวิต ซึ่งผ่านกระเพาะอาหารไปสู่ลำไส้และอาจเกิดการย่อยแลคโตสขึ้นในลำไส้เล็ก เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียโยเกิร์ตไม่ทนน้ำดี จึงพบว่าจุลินทรีย์ดังกล่าวประมาณร้อยละ 15 เท่านั้น ที่มีชีวิตรอดผ่านกระเพาะอาหารไปได้ และมีเพียงร้อยละ 1 เท่านั้น ที่สามารถผ่านไปถึงลำไส้ใหญ่ (Pochart *et. al.*,1989) อย่างไรก็ตาม น้ำดีเพิ่มการดูดซึมของเซลล์แบคทีเรีย เป็นผลให้แบคทีเรียที่รอดชีวิตมีประสิทธิผลในการย่อยแลคโตสได้เร็วขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3.3 เพิ่มการดูดซึมของเกลือแคลเซียมและธาตุเหล็ก

การหมักมีผลต่อปริมาณเกลือแร่ในนมหมักเพียงเล็กน้อย อย่างไรก็ตามคุณค่าทางอาหารมิได้ขึ้นอยู่กับว่าในอาหารจะมีธาตุอาหารมากเท่านั้น แต่ยังขึ้นอยู่กับความสามารถในการนำธาตุอาหารเหล่านั้นไปใช้ การดูดซึมของแคลเซียมจะดีขึ้นถ้ามีแลคโตสประกอบอยู่ด้วย (Rusoff, 1987) ในกรณีของผู้สูงอายุที่มีความต้องการแคลเซียมเพิ่มขึ้น การหลั่งน้ำย่อยจากกระเพาะลดลงอย่างมีนัยสำคัญ การบริโภคนมหมักจะช่วยเพิ่มการละลายและการดูดซึมของแคลเซียมและเหล็กสืบเนื่องจากความเป็นกรดของกระเพาะอาหารลดลง

2.1.3.4 ควบคุมชนิดของจุลินทรีย์ในลำไส้และยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในทางเดินอาหาร

ในผลิตภัณฑ์นมหมักมีสารเมตาบอลไลท์ที่แบคทีเรียแลคติกขับออกมาสะสม สารเหล่านี้มีสมบัติยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ เช่น กรดแลคติก กรดอะซิติก กรดฟอร์มิก และกรดเบนโซอิก มีความสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้หลายชนิด โดยเฉพาะแบคทีเรียแกรมลบที่ทำให้เกิดโรค นอกจากนี้ แบคทีเรียแลคติกยังผลิตสารที่มีสมบัติทางปฏิชีวนะเรียกว่า Bacteriosin สามารถยับยั้งแบคทีเรียในลำไส้ที่ทำให้เกิดโรค เช่น *Salmonella* หรือ *Shigella* ด้วย (Daeschel, 1993) ไนซินส์ (nisins) เป็นสารปฏิชีวนะจากแบคทีเรียแลคติกเพียงชนิดเดียวที่ US.FDA ยอมให้ใช้ เพื่อควบคุมจุลินทรีย์ในอาหารได้ (21 CFR.Part. 178) แบคทีเรียแลคติกบางชนิดสร้างสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ยับยั้งแบคทีเรียจำพวก Clostridia Staphylococci และ Psychrotrope บางชนิดได้ นอกจากนี้ปัญหาจากการมีเชื้อจุลินทรีย์จากธรรมชาติที่ไม่สมดุลในลำไส้ซึ่งจำเป็นต้องใช้ยาปฏิชีวนะ สามารถแก้ไขได้โดยการดื่มนมหมัก แต่การที่แบคทีเรียแลคติกจะสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายในร่างกายนั้น ลำดับแรกแบคทีเรียชนิดนี้ต้องมีชีวิตรอดหลังผ่านกระเพาะอาหารที่มีความเป็นกรดสูง ตามปกตินมหมักใช้เวลาผ่านกระเพาะอาหารค่อนข้างสั้นคือประมาณ 1-2 ชั่วโมง pH อาจลดลงมาต่ำถึง 1.5 แต่หลังจากบริโภคอาหารเข้าไปแล้ว pH อาจเพิ่มขึ้นถึง 4-5 แบคทีเรียแลคติกแต่ละสายพันธุ์สามารถทนกรดได้แตกต่างกัน จึงมีความสามารถรอดชีวิตหลังผ่านกระเพาะอาหารได้ต่างกัน

2.1.3.5 ยับยั้งการเกิดเซลล์มะเร็งและกระตุ้นให้เกิดระบบภูมิคุ้มกัน

แบคทีเรียแลคติกมีกลไกซึ่งเชื่อว่าสามารถต้านการเกิดมะเร็งบางชนิดได้ โดยก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกับเซลล์มะเร็งโดยตรงหรือกำจัดเซลล์ที่จะกลายเป็นเซลล์มะเร็งต่อไป จากการทดลองในห้องปฏิบัติการ ปรากฏว่าแลคโตบาซิลลัสบางสายพันธุ์สร้างเอนไซม์ที่มีสมบัติลดไนไตรท์ ทำให้ปริมาณไนไตรท์มีอยู่ในอาหารลดน้อยลง จึงลดความเสี่ยงจากไนโตรซามีนส์ ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็ง และยังมีคุณสมบัติลดระดับของเอนไซม์ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปจากโปรคาร์ซิโนเจน (procarcinogens) ไปเป็นคาร์ซิโนเจน (carcinogens) จึงเป็นการลดความเสี่ยงของการเกิดเซลล์มะเร็งอีกทางหนึ่ง โดยปกติแบคทีเรียในลำไส้สร้างเอนไซม์ 3 ชนิด คือ azoreductase

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

β-galactosidase และ nitoreductaseซึ่งเอนไซม์ทั้งสามกระตุ้นการเปลี่ยนรูปของโปรคาร์ซิโนเจนไปเป็นสารคาร์ซิโนเจน (ทำให้เกิดโรคมะเร็ง) หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งว่า เร่งการเกิดโรคมะเร็ง ได้มีการศึกษาพบว่าการบริโภคนมที่มีเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* จะทำให้ระดับเอนไซม์ทั้งสามในอุจจาระลดลงประมาณ 2 ถึง 4 เท่า โดยการทดลองนี้ใช้นมอะซิโดฟิลลัสที่ผลิตเป็นการค้า (Goldin and Gorbach, 1984) นอกจากนี้ยังพบว่า *Lb. delbrueckii* ssp. *bugaricus* และแบคทีเรียจำพวกบิฟีโดแบคทีเรีย มีอิทธิพลต่อระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายในการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันชักนำให้เกิดสารแอลฟาอินเทอเฟอรอนขึ้น สารนี้ทำหน้าที่ต่อต้านไวรัสและการเพิ่มขึ้นของจำนวนเซลล์แปลกปลอม จึงมีสมบัติเป็นผู้ทำลาย (killer cells) (Simone *et. al.*, 1989

2.1.3.6 ช่วยลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือด

สมบัติในการลดโคเลสเตอรอล ความเสี่ยงในเรื่องโรคหัวใจ และระดับโคเลสเตอรอลในเลือดมีความสัมพันธ์กัน ป้องกันได้โดยการควบคุมระดับโคเลสเตอรอลในกระแสเลือด ซึ่งการบริโภคนมหมักช่วยลดระดับของโคเลสเตอรอลในเลือด (Mann and Spoerry, 1974) แบคทีเรีย *Lactobacillus acidophilus* สายพันธุ์หนึ่ง สามารถใช้โคเลสเตอรอลในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวในสภาะไร้อากาศที่มีเกลือน้ำดี (Gililand *et. al.*, 1985) อย่างไรก็ตาม ไม่มีความสัมพันธ์ระหว่างการทนเกลือน้ำดีกับการใช้โคเลสเตอรอลแบคทีเรีย (Gillind and Walker, 1990) ผลของแบคทีเรียแลคติกในการลดระดับของโคเลสเตอรอลยังไม่ชัดเจน ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์ (Marteau and Rambaud, 1993)

2.2 โยเกิร์ต (Yoghurt)

โยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์ที่ผลิตจากนมพาสเจอไรซ์ มีการเติมแบคทีเรียแลคติกที่ชอบอุณหภูมิสูง (thermophilic lactic acid bacteria) ซึ่งเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 38 – 42 องศาเซลเซียส หลังจากการหมักไม่มีการให้ความร้อนอีก (Speer,1995)

2.2.1 ชนิดของโยเกิร์ต (Type of Yoghurt)

การแบ่งชนิดของโยเกิร์ตสามารถแบ่งได้โดยอาศัยหลักการต่อไปนี้

- มาตรฐานกฎหมาย (Legal Standard)

ตามมาตรฐานขององค์กรการอาหารและเกษตร (Food and Agriculture Organization, FAO) และองค์การอนามัยโลก (World Health Organization, WHO) ปี ค.ศ. 1973 ได้กำหนดให้แบ่งชนิดโยเกิร์ตตามปริมาณไขมันดังนี้

1) Full fat yoghurt มีปริมาณไขมันมากกว่า 3.0%
2) Medium fat yoghurt มีปริมาณไขมันระหว่าง 0.5-3.0%
3) Low fat yoghurt มีปริมาณไขมันต่ำกว่า 0.5%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- **กรรมวิธีการผลิตโยเกิร์ต** (Methods of Yoghurt Processing)

สามารถแบ่งโยเกิร์ตตามกรรมวิธีการผลิตออกได้เป็น 2 ชนิด (ภาณุ 2527) โดยขึ้นกับระบบการผลิตและโครงสร้างทางกายภาพของมวลที่ตกตะกอน (coagulum) ดังนี้

1) โยเกิร์ตแบบอยู่ตัว (Set yoghurt) เป็นโยเกิร์ตที่ถูกบรรจุทันทีหลังจากการเติมจุลินทรีย์ลงในนม ปล่อยให้จุลินทรีย์เกิดการหมักภายในภาชนะบรรจุ ลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ได้จะเป็นมวลเนื้อเดียวกันต่อเนื่อง มีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว นิยมใช้วิธีนี้ในการผลิต plain yoghurt ซึ่งมีเนื้อเป็นลิ่มเนียนอยู่ตัว

2) โยเกิร์ตชนิดคน (Stirred yoghurt) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้หลังจากการหมักซึ่งเกิดขึ้นภายในถังหมักเรียบร้อยแล้ว หลังจากเสร็จสิ้นการหมักจะกวน หรือคนโยเกิร์ตผสมกับกลิ่นรสผลไม้ตามต้องการ จากนั้นจึงบรรจุลงภาชนะ มักใช้ในการผลิต fruit yoghurt และ flavored yoghurt

กลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ (Flavour)

การแต่งกลิ่นรสในโยเกิร์ต ทำให้เกิดลักษณะผลิตภัณฑ์ที่แตกต่างกันดังนี้(Tamime and Robinson, 1985)

1) Natural or plain yoghurt เป็นโยเกิร์ตชนิดที่ไม่มีการเติมสีหรือสารปรุงแต่งกลิ่นรสลงไปหลังจากการหมักเสร็จสิ้นลง

2) Fruit yoghurt เป็นโยเกิร์ตที่มีการเติมผลไม้และสารให้ความหวานลงไปใน plain yoghurt

3) Flavored yoghurt เป็นโยเกิร์ตที่ได้จากการเติมสารแต่งกลิ่น สารให้ความหวาน และสีลงใน plain yoghurt

กระบวนการหลังการหมัก (Post – Fermentation Process)

เป็นการแบ่งชนิดของโยเกิร์ตโดยอาศัยความแตกต่างของขั้นตอนหลังกระบวนการหมัก ซึ่งโยเกิร์ตที่ได้จะนำไปผ่านกระบวนการต่างๆ เช่นการให้ความร้อน การทำให้เข้มข้น การทำแห้ง หรือวิธีอื่นๆ ซึ่งสามารถจำแนกโยเกิร์ตได้ดังนี้ (Tamime and Robinson, 1985)

1) Pasteurized yoghurt เป็นโยเกิร์ตที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนโดยการพาสเจอร์ไรส์ มีจุดประสงค์เพื่อยืดอายุการเก็บรักษา วิธีนี้จะมีผลทำให้จุลินทรีย์ในโยเกิร์ตถูกทำลายไปด้วย ทำให้เนื้อสัมผัสมีคุณภาพลดลง และสูญเสียกลิ่นธรรมชาติของโยเกิร์ต

2) โยเกิร์ตแช่แข็ง (Frozen yoghurt) เป็นโยเกิร์ตที่มีโครงสร้างการกายภาพคล้ายไอศกรีม อาจเรียกว่าไอศครีมโยเกิร์ต ผลิตจากการนำโยเกิร์ตที่มีปริมาณกรดตามต้องการ นำมาปั่นและแช่แข็งด้วยเครื่องทำไอศกรีม เติมกลิ่นรสและผลไม้ก่อนการปั่นทำให้ได้ไอศกรีทโยเกิร์ตที่มีรสชาติแตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) โยเกิร์ตเข้มข้น (Concentrated yoghurt) เป็นโยเกิร์ตที่มีการระเหยของเหลวบางส่วนที่มีอยู่ในโยเกิร์ตออกไป จนทำให้มีปริมาณของแข็งทั้งหมด 24%

4) โยเกิร์ตผง (Dried yoghurt) เป็นโยเกิร์ตที่ผ่านกระบวนการทำให้แห้งโดยใช้แสงอาทิตย์ หรือเครื่อง Spray drying หรือ Freeze drying จนมีลักษณะเป็นผง และมีปริมาณของแข็งทั้งหมด 90-94% ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้สามารถเก็บไว้ได้นานขึ้น เนื่องจากเปอร์เซ็นต์ความชื้นในผลิตภัณฑ์ลดลง

2.2.2 จุลินทรีย์ที่ใช้ผลิตโยเกิร์ต

- *Streptococcus thermophilus*

เป็นแบคทีเรียแลคติกรูปร่างกลม มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กกว่า 2 ไมครอน มักเรียงตัวเป็นคู่หรือต่อกันเป็นสาย ติดสีแกรมบวก สามารถทนความร้อนที่อุณหภูมิสูง (สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิสูงถึง 49 องศาเซลเซียส) อุณหภูมิที่เหมาะสมได้แก่ 40 องศาเซลเซียส แต่ไม่เจริญที่ 10 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังสามารถเจริญได้ดีที่ pH 6.5 และจะหยุดการเจริญที่ pH 4.2-4.4 เมื่ออยู่เดี่ยวๆ จะสร้างกรดทำให้โปรตีนในน้ำนมตกตะกอนได้ดี แต่ปริมาณกรดที่สร้างขึ้นนั้นค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับแบคทีเรียแลคติกชนิดอื่น ในระหว่างการหมักน้ำนม *S. thermophilus* จะผลิตเอนไซม์ lactase และเอนไซม์ β-galactosidase มาย่อยแลคโตสให้เป็นกลูโคสกับกาแลคโตส และสามารถผลิตเอนไซม์ยูรีเอสมาย่อยสลายยูเรียในน้ำนม ทำให้เกิดคาร์บอนไดออกไซด์และแอมโมเนีย นอกจากนี้ *S. thermophilus* ยังผลิตแคปซูล และผลิตเมือกภายนอกเซลล์ซึ่งเป็นพอลิแซคคาไรด์ ช่วยให้โยเกิร์ตที่ผลิตได้มีลักษณะเนื้อที่เนียน ข้น ทำให้ผลไม้กระจายตัวได้ดีในโยเกิร์ต (Vedamuthu, 1991)

- *Lactobacillus bulgaricus*

เป็นแบคทีเรียรูปแท่ง ติดสีแกรมบวก อาจเปลี่ยนเป็นแกรมลบเมื่ออายุมากขึ้นและมีกรดมากขึ้น พบอยู่เป็นคู่หรือต่อกันเป็นสาย สามารถทนความร้อนได้ดี อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญประมาณ 45 องศาเซลเซียส จึงสามารถอยู่รอดหลังจากการพาสเจอร์ไรส์ หรือการให้ความร้อนอื่นๆ สามารถหมักน้ำตาลแลคโตสให้เป็นกรดแลคติกซึ่งนำไปใช้ในผลิตภัณฑ์นมหมัก ทำให้เชื้อชนิดนี้สามารถทนกรด สามารถเจริญได้ดีที่ pH 5.5 และหยุดการเจริญที่ 3.5-3.8 อุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตกรดประมาณ 43-46 องศาเซลเซียส เจริญได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจนเพียงเล็กน้อย หรือในสภาพที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ ดังนั้นในช่วงแรกของการหมัก *Lactobacillus bulgaricus* จะเจริญอย่างช้าๆ จนกว่าออกซิเจนจะถูกใช้ไปจนหมดโดยแบคทีเรียชนิดอื่น และแบคทีเรียชนิดนี้สามารถผลิตเมือกภายนอกเซลล์ ซึ่งเป็นพอลิแซคคาไรด์เช่นเดียวกับ *S. thermophilus* ช่วยให้โยเกิร์ตมีเนื้อเนียนและข้น (Vedamuthu, 1991)

2.2.3 กระบวนการผลิตโยเกิร์ต

1) การเตรียมส่วนผสมเบื้องต้น(คณิต, 2537)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การผลิตผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตให้มีคุณภาพสม่ำเสมอ และได้มาตรฐาน ต้องมีการปรับปรุงคุณภาพของน้ำนมก่อนการหมัก โดย ปรับปริมาณไขมันในนมให้มีปริมาณไขมันในน้ำนม 1-2 % โดยน้ำหนัก และปรับปริมาณของแข็งที่ไม่ใช่ไขมัน (SNF) ในนม โยเกิร์ตที่มีคุณภาพดีได้จากน้ำนมที่มีปริมาณของแข็ง 14-15 % ของแข็งที่เติมเพื่อปรับปริมาณของแข็งทั้งหมด ได้แก่ นมผงปราศจากไขมัน สารให้ความหวาน sodium caseinate สารที่ทำให้โยเกิร์ตเกิดความคงตัว (stabilizer) แคลเซียมในรูป caseinate lactates gluconate หรืออื่นๆ การใช้สารเหล่านี้ขึ้นอยู่กับผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ เช่นใน plain yoghurt จะไม่เติมสารให้ความหวาน (ซูโครส) แต่ใน flavoured yoghurt จะเติมซูโครส 4-6% เป็นต้น จากนั้น

2) กระบวนการทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน (Homoginization)

หลังจากการปรับส่วนผสมแล้ว จะมีการนำนมที่ได้มาผ่านกระบวนการทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน (Homoginization) โดยการให้นมผ่านเครื่องโฮโมจิไนเซอร์ ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่มีเนื้อเนียนมากขึ้น มีกลิ่นรสที่เป็นครีมและช่วยลดการเกิดครีมที่ผิวหน้า หรือการแยกชั้นของน้ำหางนม ซึ่งควรใช้อุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส และความดัน 100-200 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร จึงจะให้ผลดี (Tamime and Deeth, 1980)

3) การให้ความร้อน

การให้ความร้อนแก่นม มีจุดประสงค์เพื่อเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของนมโดยทำให้โปรตีนของน้ำหางนมที่มีอยู่ในนม ซึ่งได้แก่พวกอัลบูมินและโกลบูลินที่เสียสภาพ (denatured) และตกตะกอนเกิดการรวมตัวของโมเลกุลเคซีนเกิดเป็นร่างแหในลักษณะ 3 มิติ โดยร่างแหนี้จะจับกับโปรตีนของน้ำหางนม ทำให้โยเกิร์ตที่ได้มีความหนืด (consistency) มากขึ้น และโปรตีนในนมที่ถูกทำลายได้เป็นสารย่อยๆ ที่มีโมเลกุลเล็กลง ซึ่งเป็นสารที่เร่งกิจกรรมของเชื้อแลคติก และเป็นการทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคหรือจุลินทรีย์อื่นที่ไม่ต้องการ โดยระดับความร้อนที่ให้แก่น้ำนมสำหรับการผลิตโยเกิร์ตคือ อุณหภูมิ 85-95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-10 นาที ซึ่งสามารถทำลายจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนน้ำนมดิบเป็นส่วนใหญ่ แต่สปอร์หรือเอนไซม์ที่ทนต่อความร้อนยังคงเหลืออยู่ ระดับความร้อนและเวลาที่ใช้ดังแสดงในตารางที่ 2.1

4) กระบวนการหมักโยเกิร์ต

นมที่ผ่านการให้ความร้อนจะต้องทำให้เย็นลง หลังจากนั้นจะมีการถ่ายเชื้อโยเกิร์ตลงในส่วนผสม โดยจะต้องทำด้วยวิธีการปลอดเชื้อ (aseptic technique) ใช้ปริมาณหัวเชื้อ 5-10% หัวเชื้อโยเกิร์ตที่ใช้ประกอบด้วย *เชื้อ Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus* ในอัตราส่วนที่เท่ากัน อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการหมักหรือการบ่มโยเกิร์ตคือ 40-45 องศาเซลเซียส การบ่มจะมี 2 วิธี คือ บ่มระยะสั้น เป็นการบ่มที่ 40-45 องศาเซลเซียส นาน 2-8 ชั่วโมง สำหรับอีกวิธีหนึ่งเป็นการบ่มที่ระยะเวลานาน ใช้เวลาประมาณ 16-18 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส หรือสูงกว่าจนได้ปริมาณกรดที่ต้องการ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพของเชื้อที่ใช้ด้วย ในช่วงการบ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียจะทำการย่อยน้ำตาลแลคโตสในนมและสร้างกรดแลคติกขึ้น ทำให้โมเลกุลของเคซีนเกิดการรวมตัวกัน และเกิดเป็นเคิร์ด หรือลิ่มนม ที่ pH 4.6-4.7 ซึ่งเป็นจุด isoeletric point ของน้ำนม หลังจากนั้นจะบ่มต่อเพื่อให้ pH ลดลงอีกประมาณ 4.2-4.4 โดยใช้เวลาประมาณ 6-8 ชั่วโมง ลักษณะ curd ที่ดีจะเรียบเนียน ไม่เกิดการแยกตัวของน้ำเวย์ออกมา ภายหลังจากกระบวนการหมักโยเกิร์ตที่ดีควรมีปริมาณเชื้อ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* แต่ละชนิดไม่ต่ำกว่า 10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (Tamime and Robinson, 1999)

ตารางที่ 2.1 เวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการให้ความร้อนแก่น้ำนมที่ใช้ในการเตรียมโยเกิร์ต

เวลา	อุณหภูมิ (°C)	กระบวนการ	ผลที่ได้
30 นาที	65	Low temperature long time	ทำลายจุลินทรีย์ได้ 99 %
15 นาที	72	High temperature short time	
30 นาที	85	High temperature long time	ทำลายเซลล์ทั้งหมดและ
5 นาที	90-95	Very high temperature short time	สปอร์บางส่วน
20 นาที	110-115	Conventional sterilization (in bottle)	ทำลายเซลล์ทั้งหมดและ
			สปอร์เกือบทั้งหมด
3 วินาที	115	Low temperature UHT	ทำลายจุลินทรีย์และสปอร์ได้
16 วินาที	135	Long time UHT	ทั้งหมดยกเว้นกระบวนการ
1-2 วินาที	140	UHT	ฆ่าเชื้อแบบยูเอชทีที่อุณหภูมิ
0.8 วินาที	150	UHT French process	ต่ำ

ที่มา: Tamimme and Robinson, 1985

5) การทำให้เย็น

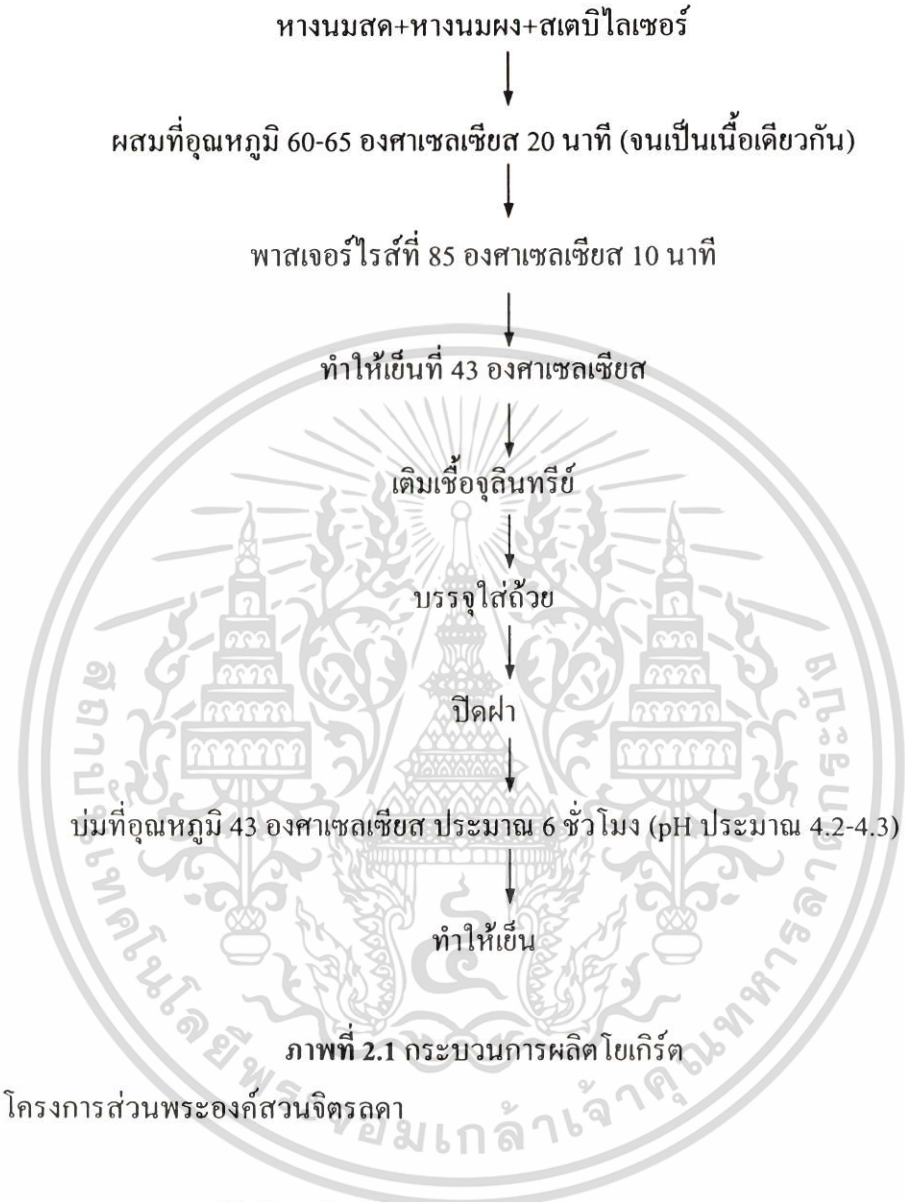
การทำให้โยเกิร์ตเย็นจนมีอุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส มีวัตถุประสงค์เพื่อควบคุมระดับความเป็นกรดสุดท้ายของผลิตภัณฑ์ การให้ความเย็นแก่ผลิตภัณฑ์ จะเริ่มตั้งแต่ผลิตภัณฑ์มีระดับความเป็นกรดตามที่ต้องการ คือ pH ประมาณ 4.6 หรือมีความเข้มข้นของกรดแลคติกประมาณ 0.9% การทำให้โยเกิร์ตเย็นทำได้โดยการให้โยเกิร์ตเย็นลงจาก 30-45 องศาเซลเซียส เป็นต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิที่ดีที่สุดประมาณ 5 องศาเซลเซียส)

6) การเติมองค์ประกอบของสารให้กลิ่นและสี

จุดประสงค์เพื่อจูงใจผู้บริโภค สารที่ใช้เติมได้แก่ ผลไม้ สารให้กลิ่นและสี และสารอื่นๆ เช่น ถั่วต่างๆ ธัญพืช น้ำผึ้ง มะเขือเทศ กาแฟ เป็นต้น ในทางอุตสาหกรรมนิยมทำให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โยเกิร์ตเย็นลงที่ 15-20 องศาเซลเซียส ก่อนที่จะนำไปผสมกับน้ำผลไม้หรือกลิ่นรส จากนั้นจึงเก็บไว้ในห้องเย็น เพื่อรอการจำหน่ายต่อไป



ภาพที่ 2.1 กระบวนการผลิตโยเกิร์ต

ที่มา : โครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา

7) การเก็บรักษาโยเกิร์ต

ควรเก็บรักษาโยเกิร์ตที่อุณหภูมิไม่เกิน 10 องศาเซลเซียส (ประมาณ 5 องศาเซลเซียส) สามารถเก็บไว้ได้นาน 1-2 สัปดาห์ ทั้งนี้ขึ้นกับสุขลักษณะในการผลิต เทคนิคในการผลิต ชนิดของภาชนะบรรจุ อุณหภูมิที่เก็บ และการใช้สารกันเสีย ปกติโยเกิร์ตจะมีอายุการเก็บรักษาประมาณ 10 วัน ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นปริมาณกรดในโยเกิร์ตจะเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากกิจกรรมของหัวเชื้อที่มีอยู่ในโยเกิร์ต ปริมาณกรดที่เพิ่มมากขึ้นนี้จะทำให้กลิ่นรสของโยเกิร์ตเปลี่ยนแปลงไป และไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค สุดท้ายแลคติกแบคทีเรียจะตาย และโยเกิร์ตจะเกิดการแยกชั้นของ curd และ whey เป็นผลให้จุลินทรีย์ชนิดอื่น เช่นยีสต์และราเจริญได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.4 ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักโยเกิร์ต

ในปัจจุบันการผลิตโยเกิร์ตนิยมใช้เชื้อ *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus* บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 40-45 องศาเซลเซียส จนผลิตภัณฑ์มี pH ราว 4.2-4.3 สองสปีชีส์มีการหมักแบบ homofermentative เมื่อการหมักดำเนินต่อไปจำนวนแบคทีเรียให้กรดแลคติกได้เพิ่มสูงขึ้น สามารถตรวจนับเชื้อได้ระหว่าง 200-1,000 ล้านต่อมิลลิกรัมของโยเกิร์ตสด การเก็บโยเกิร์ตไว้นานมีผลให้เชื้อแบคทีเรียแลคติกมีจำนวนลดลง

แบคทีเรียทั้ง 2 สปีชีส์ในโยเกิร์ตเสริมประโยชน์ซึ่งกันและกัน ทำให้การใช้เชื้อผสมจะมีผลให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีการเจริญเติบโตดีและให้กรดสูง ตัวอย่างเช่น Streptococci ที่เจริญอย่างรวดเร็วในตอนเริ่มต้นของการหมัก ทำให้เกิดการสะสมของกรดแลคติกและกรดอะซิติก อะเซทตัลดีไฮด์ ไดอะซิติกและกรดฟอร์มิก การมีเกลือฟอร์เมทและการเปลี่ยนแปลงความต่างศักย์ในการให้และรับอิเล็คตรอนในอาหารกระตุ้นให้ *L. bulgaricus* เจริญได้ดี ซึ่งบอกได้จากการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ย่อยโปรตีน แบคทีเรียนี้ทำให้กรดอะมิโนถูกปลดปล่อยออกมาจากโปรตีนในนมจำนวนมากเกินกว่าแบคทีเรีย *S. thermophilus* จะใช้หมด จึงมีกรดอะมิโนอิสระเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต กรดอะมิโนที่มีมากได้แก่ กรดกลูตามิก และโฟลีน ด้วยเหตุนี้ โยเกิร์ตจึงเป็นผลิตภัณฑ์นมหมักที่มีกรดอะมิโนอิสระสูง กระบวนการหมักต้องอาศัย NADH ซึ่งจะถูก oxidize ต่อไปเป็น NAD+ ดังนี้

$$NADH + H^+ + O_2 \xrightarrow{NADH : H_2O_2\ Oxidase} NAD^+ + H_2O_2$$

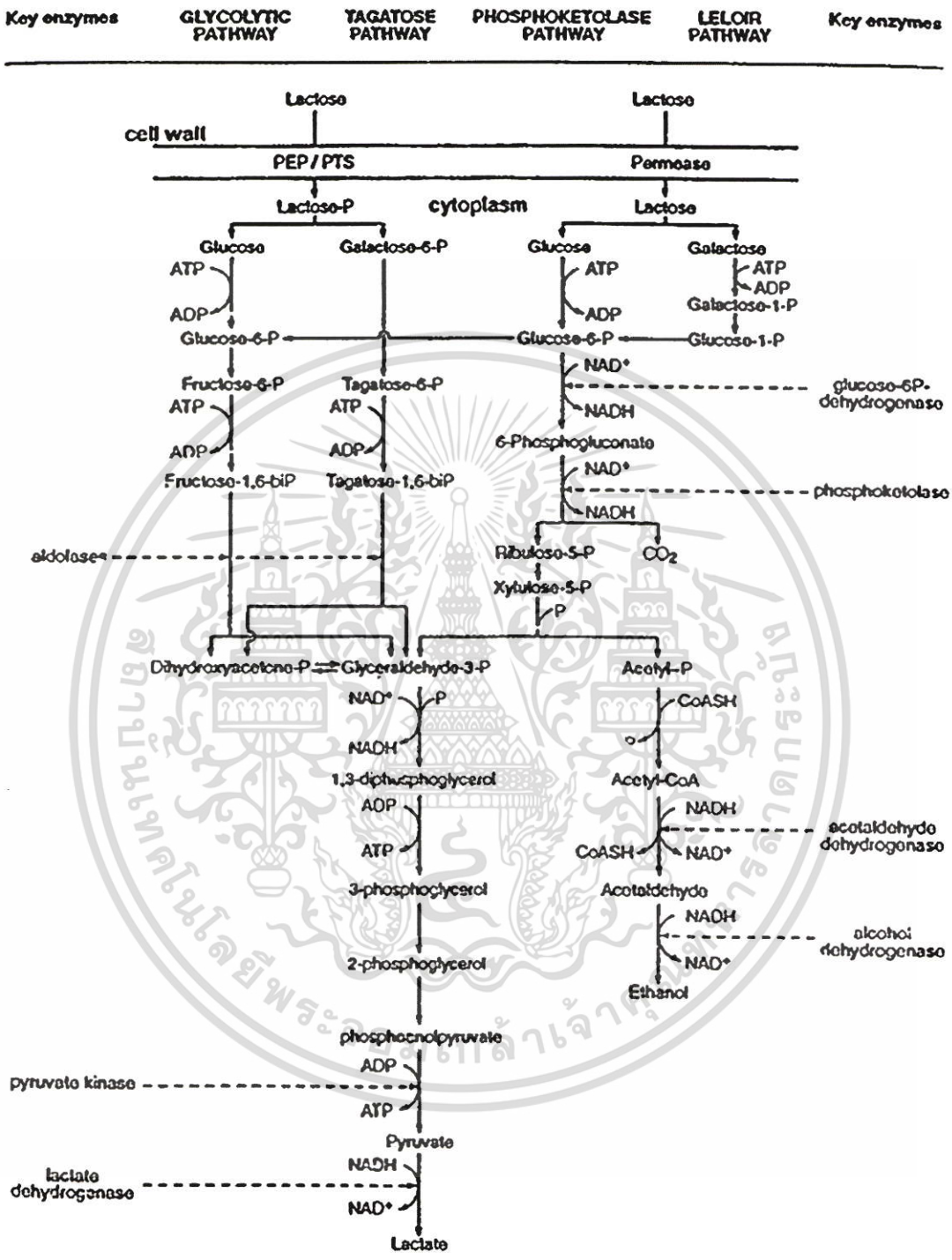
$$2\ NADH + 2\ H^+ + O_2 \xrightarrow{NADH : H_2O\ Oxidase} 2\ NAD^+ + 2\ H_2O_2$$

แบคทีเรียโยเกิร์ตโดยเฉพาะ *S. thermophilus* ไวต่อยาปฏิชีวนะและสารยับยั้งที่มีอยู่ในนม ระดับของเพนนิซิลินที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียแลคติกได้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของแบคทีเรีย บางครั้งพบว่าระดับของเพนนิซิลินต่ำเพียง 0.004-0.01 IU (ย่อมาจาก International Unit เป็นหน่วยของปริมาณสารปฏิชีวนะ) ก็เพียงพอในการยับยั้งแบคทีเรีย (Tamime and Robinson, 1985) นอกจากนี้แบคทีเรียอาจถูกทำลายโดยไวรัสที่เป็นแบคเทอริโอฟาดจ์

2.2.5 ความบกพร่องของโยเกิร์ต (Defects of yoghurt)(ทองยศ, 2529)

ในการเตรียมโยเกิร์ตบางครั้งอาจพบปัญหาต่างๆ เช่น นมไม่เกิดเป็นลิ่มนมเมื่อบ่มครบกำหนดเวลาแล้ว อาจเป็นเพราะนมที่ใช้เป็นนมขาดแคลเซียม หรือนมที่มีสารปฏิชีวนะปนในนม หรือได้ลิ่มนมที่ไม่แข็งตัว เป็นลิ่มนมที่อ่อน (soft curd หรือ weak curd) อาจเป็นเพราะเชื้อที่ใช้เป็น starter อ่อนแอหรือเก่าเกินไป หรือให้ความร้อนแก่นมสูงและนานเกินไป และลิ่มนมที่เกิดขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

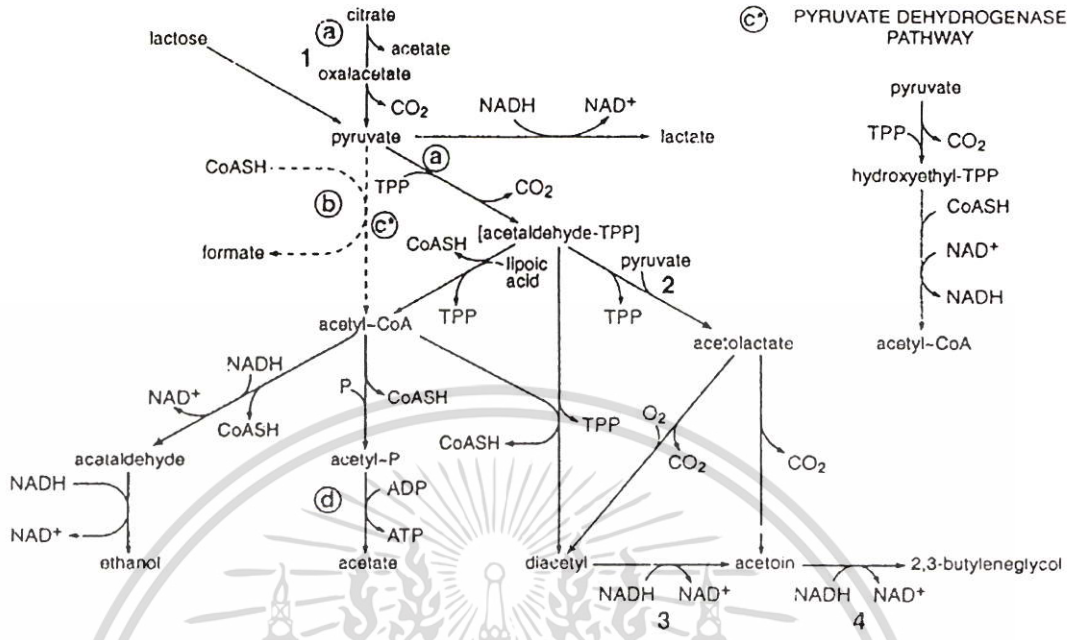


ภาพที่ 2.2 Metabolism of lactic in lactic acid bacteria

ที่มา : Walstra *et. al.*, 1999

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้า



ภาพที่ 2.3 Important alternative pathways

ที่มา : Walstra *et. al.*, 1999

อาจแยกออกจากน้ำและหดเป็นก้อนเล็กๆ เนื่องจากการคนนมแรงและนานเกินไป ในด้านรสชาติโยเกิร์ตที่ได้อาจมีรสอื่นปนมาด้วย เช่น รสฝาด รสขม ฯลฯ เป็นเพราะเชื้อที่ใช้ไม่บริสุทธิ์ และหากโยเกิร์ตที่ผลิตได้ขาดรสชาติ อาจเป็นเพราะอัตราส่วนของแบคทีเรียทั้งสองชนิดไม่ได้สัดส่วน

2.3 จุลินทรีย์โพรไบโอติก

โพรไบโอติก (probiotics) แปลว่า ชีวิต แบคทีเรียโพรไบโอติกเป็นแบคทีเรียที่เป็นประโยชน์ต่อระบบต่อทางเดินอาหาร มีการศึกษาเกี่ยวกับโพรไบโอติก ว่ามีผลดีต่อระบบภูมิคุ้มกัน การแพ้ และการติดเชื้อไวรัส (Ohr, 2003) รวมทั้งเป็นแหล่งเอนไซม์ที่ช่วยย่อยน้ำตาลกาแลคโตส เช่นเอนไซม์ β-galactosidase และช่วยปรับปรุงคุณค่าทางอาหารของน้ำนมซึ่งเกิดการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการหมักด้วยแบคทีเรียโพรไบโอติก (Hargrove และ Alford, 1980) นอกจากนี้ยังมีการรายงานว่าจุลินทรีย์ประเภทนี้ช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค ปรับสมดุลของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในลำไส้ ช่วยลดความเสี่ยงของการเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่ ช่วยกระตุ้นการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกัน ช่วยลดระดับคอเลสเทอรอลในเลือด และช่วยปรับปรุงเมแทบอลิซึมของแลคโตส (Sander, 1999; Shah, 2001) จากประโยชน์ที่ได้รับนี้จึงมีการนำแบคทีเรียโพรไบโอติกมาใช้เป็นส่วนหนึ่งของอาหาร เวชกรรม และอาหารสัตว์ แบคทีเรียโพรไบโอติกที่นิยมนำมาบริโภคนั้นส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
60575

ใหญ่อยู่ในรูปของโยเกิร์ตที่นำจุลินทรีย์โพรไบโอติก เช่น *Lactobacillus acidophilus* และ *Bifidobacterium* spp. มาใช้เป็นหัวเชื้อ โดยจุลินทรีย์โพรไบโอติกสามารถเจริญในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ได้แต่จุลินทรีย์โยเกิร์ต (*Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus*) ไม่สามารถเจริญได้(Hull *et. al.*, 1992)

จากการศึกษาโยเกิร์ตที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 35 วัน ค่าปริมาณกรด ค่า pH และปริมาณออกซิเจนมีแนวโน้มการลดลงและเพิ่มขึ้นคล้ายกันในระหว่างการเก็บรักษา ขณะที่ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์เพิ่มขึ้นในผลิตภัณฑ์ที่ได้จากเชื้อผสมที่มี *L. bulgaricus* เป็นส่วนประกอบ การเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์โพรไบโอติกในระหว่างการผลิตและการเก็บรักษาขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์โยเกิร์ต การรอดชีวิตของ *L. acidophilus* เกี่ยวข้องกับจำนวนของ *L. bulgaricus* ขณะที่ bifidobacteria มีความทนทานในโยเกิร์ตที่มี *L. bulgaricus* ได้ดีกว่า (Dave and Shah, 1997) การรอดชีวิตของแบคทีเรีย *L. bulgaricus S. thermophilus Bifidobacteria* ในน้ำนมหมักที่ผลิตในประเทศสเปน ระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส หลังจากเวลา 84 วัน *S. thermophilus* ลดลงเพียงเล็กน้อย ส่วน *L. bulgaricus* ลดลง 85.4% และ *Bifidobacteria* ลดลงถึง 92.6% (Medina and Jordano, 1994)

การรอดชีวิตของจุลินทรีย์ *L. bulgaricus S. thermophilus L. acidoph*ilus และ *Bifidobacteria* ใน fermented frozen dairy desserts ภายใต้สภาวะแช่แข็งที่อุณหภูมิ –18 องศาเซลเซียส หลังจากแช่แข็งเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ปริมาณจุลินทรีย์ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* ลดลง 1 log cycle ส่วน *L. acidophilus* และ *Bifidobacteria* ลดลง 5-6 log cycle (Ravula and Shah, 1998)

2.3.1 คุณลักษณะของจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ใช้ในการผลิตโยเกิร์ต

2.3.1.3 ลักษณะของเชื้อ Bifidobacteria

Bifidobacteria ถูกค้นพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1900 ในอุจจาระของเด็กทารก โดย Henry Tissier แล้วได้ตั้งชื่อเรียกว่า *Bacillus bifidus bommunis Bifidobacterium* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปแท่ง มีลักษณะโค้งงอ จัดอยู่ในแฟมิลี่ Actinomycetaceae เจริญได้บนอาหารเลี้ยงจุลินทรีย์ โคโลนีมีผิวหน้าเกลี้ยงนูน โค้ง ขอบเรียบ ไม่เว้า ไม่สร้างสปอร์ มีรูปร่างหลายแบบ มีลักษณะเป็นกิ่งก้านสาขา ไม่ต่อกันเป็นสายยาว เป็นแท่งยาวสั้นคล้ายตัว Y หรือตัว X หรือตัว V ขึ้นกับองค์ประกอบของอาหารที่ใช้ สายพันธุ์ที่แยกได้จากมนุษย์เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 41-43 องศาเซลเซียส และอาจสูงถึง 46 องศาเซลเซียส โดยจะไม่เจริญที่อุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส และไม่ทนต่ออุณหภูมิที่สูงกว่า46 องศาเซลเซียส ส่วน pH ที่เหมาะสมในการเจริญอยู่ระหว่าง 6.5-7.0 และไม่เจริญที่ pH ต่ำกว่า 5 หรือสูงกว่า 8.0 (Scardovi, 1924; Sgorbati *et. al.*, 1995) เชื้อ Bifidobacteria พบได้ในน้ำลาย กระเพาะอาหาร ลำไส้เล็ก และลำไส้ใหญ่ ปกติกระเพาะอาหารเป็นแหล่งปลอดเชื้อ หรือมีจุลินทรีย์เพียงปริมาณน้อย เนื่องจากในกระเพาะอาหารมีสภาวะเป็นกรดสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มาก ซึ่งจะทำให้แบคทีเรียอื่นไม่สามารถมีชีวิตรอดผ่านไปยังลำไส้เล็กได้ แต่ Bifidobacteria สามารถทนต่อสภาวะนั้นผ่านไปยังลำไส้เล็ก และทนต่อสภาวะที่เป็นด่างสูง ในอุจจาระ 30-50% จะพบ Bifidobacteria เป็นอันดับ 4 รองจาก Bacteriodaceae Eubacteria และ Peptostreptococcaceae ตามลำดับ (Barradd *et. al.*, 1991, Mitsuoka, 1992)

ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตโดยใช้ Bifidobacteria จะมีกลิ่นรสที่แตกต่างจากผลิตภัณฑ์นมหมักชนิดอื่นคือ จะมีกลิ่นรสของน้ำส้มสายชู เนื่องจากการผลิตอะซิเตท และแลคเตทจากเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต (Robinson and Tamime, 1990)

2.3.1.2 ลักษณะของเชื้อ Lactobacilli

Lactobacillus acidophilus เป็นจุลินทรีย์แกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ ผนังเซลล์หนา ประกอบด้วยชั้นของเปปติโดไกลแคน เซลล์มีลักษณะเป็นแท่งสั้นๆ ที่ปลายโค้งและโดยมากมีลักษณะเป็นโซ่สั้นๆ หรืออยู่เป็นเซลล์คู่ ส่วนที่ติดกับผนังเซลล์ของ *L. acidophilus* เป็นกรดกลีเซอรอล ไทโคอิค (glycerol teichoic acids) มีมีโซโซม (mesosomes) พบอยู่ในส่วนของไซโตพลาสมิด เห็นได้ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอน และเป็นจุลินทรีย์ที่มีความจำเพาะต่ออาหารต้องการสารอาหารที่ซับซ้อนในการเจริญเติบโต เป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศเพียงเล็กน้อยในการเจริญ ค่าpH ที่เหมาะสมของอาหารอยู่ที่ 4.5-6.4 อุณหภูมิที่เจริญได้ดีที่สุดคือ 45 องศาเซลเซียส เจริญได้บนอาหาร MRS โคโลนีที่ได้มีขนาดเล็กประมาณ 2-5 มิลลิเมตร มีลักษณะเรียบสะท้อนแสงเป็นมัน สามารถเจริญได้ทั้งในสภาพที่ไม่มีและมีออกซิเจน (facultative anaerobe) ผลิตกรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์หลังจากการใช้สารอาหารพวกคาร์โบไฮเดรต

2.3.2 ประโยชน์ของจุลินทรีย์โพรไบโอติก

สายพันธุ์ของ Lactobacilli และ Bifidobacteria สามารถต่อต้านสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคได้ เช่นเชื้อ *E. coli* โดยแบคทีเรียโพรไบโอติกจะสร้างกรดอินทรีย์ และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ไปยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในลำไส้พวก coliforms enterococci และ Clostridia เช่น *Salmonella Shigella Clotridium Bacillus cereus Staphylococcus aureus* และ *Candida albicans* (Tomada et.al., 1988, Anonymous, 2003) จากการแข่งขันกับแบคทีเรียอื่นๆ ในการแย่งอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญ และสามารถผลิตแบคเทอริโอซิน (bacteriocin) มีฤทธิ์ไปยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหารสามารถป้องกันการเกาะติด และเจริญของจุลินทรีย์เหล่านี้ โดยจุลินทรีย์โพรไบโอติกจะไปเกาะอยู่ที่ผนังลำไส้ มีการศึกษาในผู้สูงอายุพบว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติกช่วยรักษาโรคติดเชื้อได้หลายชนิด (Gordon *et. al.*, 1957) ในผู้สูงอายุจะมีปริมาณ Bifidobacteria น้อยกว่าในเด็ก มีการทดลองให้ผู้สูงอายุรับประทาน Bifidobacteria ที่มีชีวิตในปริมาณมากเป็นเวลา 5 สัปดาห์ พบว่าปริมาณของ *Clostridium perfringen* ผลิตสารพิษพวกเอมีนลดลง และมีปริมาณ Bifidobacteria เพิ่มมากขึ้น (Mitsuoka *et. al.*, 1992)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 การวิเคราะห์ปริมาณของกรดอินทรีย์ในโยเกิร์ต

การวิเคราะห์คุณภาพของโยเกิร์ตโดยศึกษาปริมาณกรดอินทรีย์ในโยเกิร์ต ที่นิยมใช้คือ HPLC (High Performance Liquid Chromatography) ซึ่ง HPLC เป็นเทคนิคการแยกสารประกอบโดยอาศัยหลักความแตกต่างของอัตราการเคลื่อนที่ของสารประกอบใน stationary phase ของคอลัมน์ โดยมี mobile phase เป็นตัวพาไป Dave และ Shah (1997) ศึกษาปริมาณกรดอะซิติก และแลคติกในโยเกิร์ต ระหว่างการหมักและการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 35 วัน พบว่าปริมาณกรดแลคติก และกรดอะซิติกในน้ำนมเพิ่มขึ้นภายหลังกระบวนการหมัก จาก 5 เป็น 380 ppm และ 5 เป็น 120 ppm ตามลำดับ และเพิ่มขึ้นเป็น 550 และ 190 ppm ตามลำดับในระหว่างการเก็บรักษาดังกล่าว Samona และคณะ (1996) ได้ทำการศึกษาการผลิตกรดของ Bifidobacteria และ แบคทีเรียโยเกิร์ตในระหว่างการหมักและการเก็บรักษาโยเกิร์ต พบว่าเมื่อใช้แบคทีเรียโยเกิร์ตร่วมกับ *Bifidobacterium bifidum* ภายหลังจากการหมักจะได้ปริมาณกรดแลคติก 50 mmol l^{-1} ซึ่งเมื่อใช้ *Bifidobacterium bifidum* เพียงอย่างเดียวจะได้ปริมาณกรดแลคติกเพียง 1 mmol l^{-1} และในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 วัน ปริมาณกรดในโยเกิร์ตเพิ่มขึ้นเป็น 225 และ 15 mmol l^{-1} ตามลำดับ โดยเชื่อว่าปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นภายหลังการหมักเป็นผลิตผลจาก Bifidobacteria และอีกงานวิจัยคือการศึกษาชนิดของกรดอินทรีย์ระหว่างการหมักและการเก็บรักษาโยเกิร์ตของ Garcia และ McGregor (1994) พบว่ากรดแลคติก และกรด อะซิติกเพิ่มขึ้นภายหลังกระบวนการหมักจาก 0 เป็น 700 ppm และ 5 เป็น 35 ppm ตามลำดับ และหลังจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 28 วัน กรดทั้งสองชนิดมีปริมาณเพิ่มขึ้นเป็น 1200 ppm และ 70 ppm ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

3.1.1 วัตถุดิบ

3.1.1.1 หางนมสด	โครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา
3.1.1.2 หางนมผง	Bonlac, Australia
3.1.1.3 สเตบิไลเซอร์	5842; Palsgaard, Denmark
3.1.1.4 เชื้อหมักโยเกิร์ต	ABY-2; Chr.Hansen, Denmark

3.1.1.5 ถ้วยพลาสติกขนาด 150 กรัม พร้อมฝาอลูมิเนียมฟอยล์

3.1.2 สารเคมี

3.1.2.1 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์ด้านเคมี

ก. 0.1N NaOH	Merck
ข. Phenolphthalein 1%	Carlo erba Reagenti
ค. 0.05M KH_2PO_4	Carlo erba Reagenti
ง. Phospheric acid	Merck
จ. Standard Lactic acid (HPLC)	Chemservices
ฉ. Standard Acetic acid (HPLC)	Chemservices

3.1.2.2 สารประกอบสำหรับวิเคราะห์ด้านจุลินทรีย์

ก. Lauryl Sulphate Tryptose Broth	Merck
ข. Brilliant Green Bile Lactose Broth	Scharlau
ค. EMB Agar	Merck
ง. M-17 Agar	Oxoid
จ. MRS Agar	Scharlau
ฉ. Lactose	Fluka
ช. HCl	Labscan
ซ. Tryptone	Merck
ฌ. Yeast Extract	Scharlau
ญ. Tween 80	Merck
ฎ. di-Potassium hydrogen phosphate	Carlo erba Reagenti
ฏ. Sodium acetate.$3H_2O$	Carlo erba Reagenti

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฐ. di-Ammonium hydrogen citrate	Merck
ฑ. Magnesium sulphate.$7H_2O$	Carlo erba Reagenti
ฒ. Manganese(II)-sulphate.$7H_2O$	Carlo erba Reagenti
ณ. Agar	S.P. Science
ด. Maltose	Merck
ต. Glucose	Merck
ถ. Dichloxallin	Sigma
ท. LiCl	Unilab
ธ. Cysteine hydrochloride	Fluka
น. Peptone	Merck

3.1.3 เครื่องมือ อุปกรณ์

3.1.3.1 Oxygen meter	QIS, Netherland
3.1.3.2 pH meter	InoLab, Germany

3.2 วิธีการดำเนินงาน

3.2.1 เชื้อหมักโยเกิร์ต

ใช้เชื้อสำเร็จรูป Freeze-dried (DVS) ประกอบด้วยเชื้อผสม 4 ชนิด ได้แก่ *Steptococcus thermophilus, Lactobacillus bulgaricus, Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium lactis*

3.2.2 การเตรียมเนื้อโยเกิร์ต

ผสมหางนมสดที่ปรับปริมาณไขมันเป็น 1 % จำนวน 30 ลิตรกับหางนมผงจำนวน 900 กรัม และสเตบิไลเซอร์จำนวน 210 กรัม (0.67%)ให้ความร้อนอุณหภูมิ 60-65 องศาเซลเซียส นาน 25 นาที (จนเป็นเนื้อเดียวกัน) จากนั้น พาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที แล้วทำให้เย็นที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส เติมเชื้อจุลินทรีย์ตามข้อ 3.2.1 จำนวน 6 กรัม บรรจุใส่ถ้วยปลอดเชื้อ ขนาดความจุ 150 มิลลิลิตร ปิดฝาและบ่มที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งมี pH ประมาณ 4.2-4.3 ทำให้เย็นลงถึงอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แล้วเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 35 วัน โดยสุ่มตัวอย่างก่อนกระบวนการหมัก หลังจากกระบวนการหมัก และทุกๆ 7 วันหลังจากการหมักเป็นเวลา 5 สัปดาห์ เพื่อนำมาตรวจวิเคราะห์ตามข้อ 3.2.3

3.2.3 การวิเคราะห์คุณภาพ

- **วิเคราะห์คุณภาพทางเคมี**

ก. ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในโยเกิร์ต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัดปริมาณออกซิเจนในโยเกิร์ต ขณะที่โยเกิร์ตยังเป็นลิ่ม (set form) (Dave and Shah, 1997)

ข. ค่าความเป็นกรด-ด่าง

วัดค่าความเป็นกรด-ด่างโดยใช้ pH meter (Dave and Shah, 1997)

ค. ค่าความเป็นกรด (Titratable acidity)

AOAC (1995)

ง. ปริมาณกรดแลคติกและกรดอะซิติก

วิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติกโดยวิธี HPLC โดยใช้คอลัมน์ของ Thermo ELECTRON CORPORATION รุ่น HyPURITY® AQUARSTAR™ ใช้ pump ของ Lab Alliance Isocratic มี UV detector ที่ความยาวคลื่น 210 nm และใช้ Mobile phase เป็น 0.05 M KH_2PO_4 pH 2.8 อัตราการไหลเท่ากับ 1.25 ml/min กรองโดยใช้ filter ขนาด 0.45 μm ใช้ตัวอย่างวิเคราะห์ครั้งละ 20 μl

เตรียม calibration curve โดยใช้ standard lactic acid และ standard acetic acid ที่ 4 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 20 200 500 และ800 ppm

กรองตัวอย่างโดยใช้ microfilter ขนาด 0.45 μm

- **การวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์**

ก. Coliform bacteria (AOAC, 1995)

Most Probable Number ดังแสดงใน ภาคผนวก ก.

ข. *Streptococcus thermophilus* (Chr. Hansen, 2002)

ดังแสดงใน ภาคผนวก ก.

ค. *Lactobacillus bulgaricus* (Chr. Hansen, 2002)

ดังแสดงใน ภาคผนวก ก.

ง. *Lactobacillus acidophilus* (Chr. Hansen, 2001)

ดังแสดงใน ภาคผนวก ก.

จ. *Bifidobacterium lactis* (Chr. Hansen, 2001)

ดังแสดงใน ภาคผนวก ก.

3.2.4 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

นำผลการวิเคราะห์จากข้อ 3.2.3 มาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของผลการวิเคราะห์ด้านจุลินทรีย์โดยใช้แผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์คุณภาพด้านเคมีและจุลินทรีย์ ของโยเกิร์ตทำการทดลอง 3 ซ้ำ ยกเว้น ค่าปริมาณออกซิเจน ทำการทดลอง 2 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

เมื่อนำโยเกิร์ตไขมันต่ำที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ก่อนเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 10 องศาเซลเซียส ในระยะเวลาเก็บแตกต่างกัน คือ หลังการเติมเชื้อ ABY-2 ก่อนการบ่ม (BF = Before Fermentation); หลังการบ่ม (AF = After Fermentation) ระยะเวลาเก็บนานตั้งแต่ 0 วัน (0) จากนั้นสุ่มเก็บตัวอย่างทุก 7 วัน จนกระทั่งครบอายุการเก็บรักษา 35 วัน ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี และจุลินทรีย์ของโยเกิร์ตได้ผลดังนี้

4.1 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

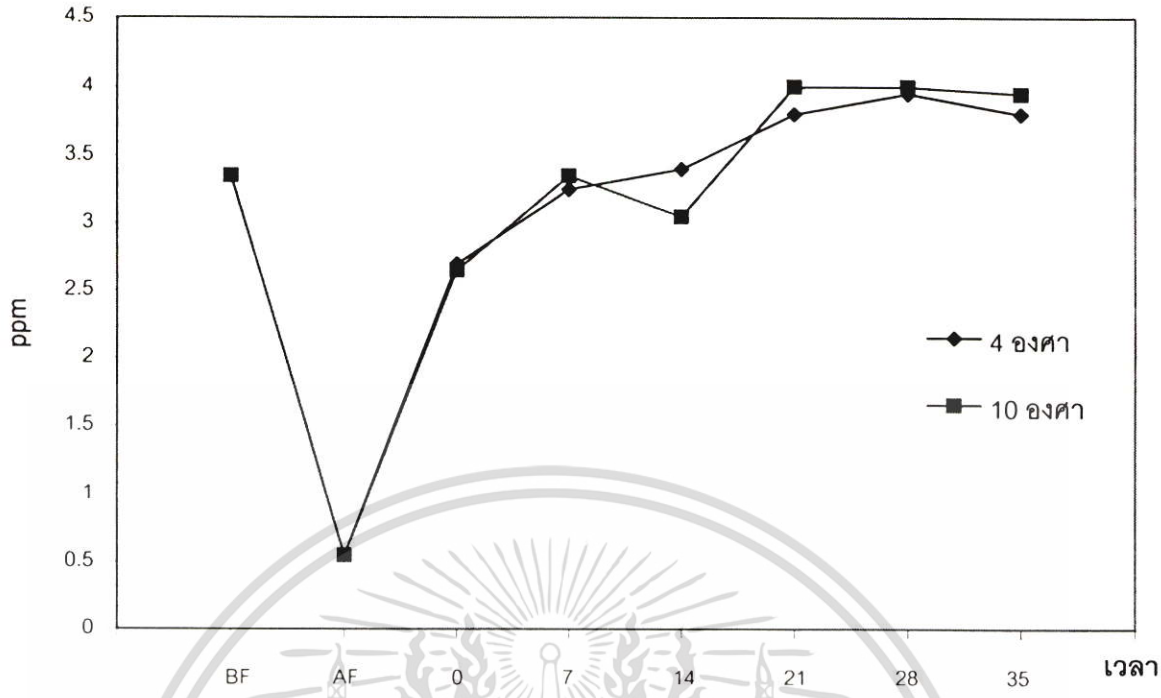
4.1.1 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายได้ (Dissolved Oxygen)

ปริมาณออกซิเจนที่ละลายได้ในโยเกิร์ตลดลงระหว่างกระบวนการหมักนาน 6 ชั่วโมง ณ อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) (ภาพที่ 4.1) ทั้งนี้ปริมาณออกซิเจนในนมเริ่มต้น (ก่อนเกิดกระบวนการหมัก) เท่ากับ 3.35 ppm และลดลงเหลือ 0.55 ppm หลังกระบวนการหมักสิ้นสุดลง เนื่องจากแบคทีเรียโยเกิร์ตและแบคทีเรียโพรไบโอติกที่เติมลงในนมใช้ออกซิเจนที่ละลายในนมในกระบวนการย่อยน้ำตาลแลคโตสในกระบวนการหมักเป็นกรดแลคติก ปริมาณออกซิเจนในโยเกิร์ตขณะเก็บที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียสเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เนื่องจากมีการปรับสมดุลของปริมาณออกซิเจนในโยเกิร์ตกับปริมาณออกซิเจนในภาชนะบรรจุ (Dave and Shah, 1997) วันที่ 21 ของการเก็บรักษาปริมาณออกซิเจนในโยเกิร์ต มีปริมาณ 3.8 ppm และ 4.00 ppm ที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส ตามลำดับ หลังจากนั้นปริมาณออกซิเจนในโยเกิร์ตมีค่าคงที่ทั้งสองอุณหภูมิการเก็บรักษา อันเนื่องมาจากความสมดุลของออกซิเจน(Dave and Shah ,1997) ไม่พบอิทธิพลของอุณหภูมิการเก็บรักษาที่ต่างกัน (4 และ 10 องศาเซลเซียส) ต่อปริมาณออกซิเจนในโยเกิร์ต ($P > 0.05$)

4.1.2 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

ค่าความเป็นกรด-ด่างของโยเกิร์ตลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) หลังจากกระบวนการหมักสิ้นสุด (ตารางที่ 4.1) ค่าความเป็นกรด-ด่างในนมก่อนกระบวนการหมักมีค่าประมาณ 6.7 ค่าดังกล่าวลดลงเป็น 4.33 และ 4.31 ที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส หลังกระบวนการหมัก ทั้งนี้จุลินทรีย์โยเกิร์ตสามารถใช้น้ำตาลแลกโตสไปเป็นกรดแลคติก ไม่พบปัจจัยของระยะเวลาเก็บต่อการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่างทั้งสองระดับอุณหภูมิ (ตารางที่ 4.1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.1 ปริมาณออกซิเจนในโยเกิร์ตที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 10 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลาการเก็บต่างๆ (BF = ก่อนการหมัก, AF = หลังการหมักที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส นาน 6 ชั่วโมง)

ตารางที่ 4.1 ค่าความเป็นกรด-ด่าง ของโยเกิร์ตที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 10 องศาเซลเซียส

ระยะเวลา (วัน)	4 องศาเซลเซียส	10 องศาเซลเซียส
BF	6.70 ± 0.04^{a}	6.67 ± 0.07^{a}
0	4.33 ± 0.00^{b}	4.31 ± 0.02^{b}
7	4.33 ± 0.04^{b}	4.26 ± 0.08^{b}
14	4.36 ± 0.04^{b}	4.33 ± 0.06^{b}
21	4.34 ± 0.02^{b}	4.28 ± 0.06^{b}
28	4.30 ± 0.03^{b}	4.37 ± 0.11^{b}
35	4.31 ± 0.04^{b}	4.27 ± 0.03^{b}

หมายเหตุ:

สัญญลักษณ์ a b c d .... ที่ต่างกันตามแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

BF = ก่อนกระบวนการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.3 ปริมาณกรด (Tritratable Acidity)

การเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดในโยเกิร์ตก่อนและหลังกระบวนการหมัก มีความสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณกรดของโยเกิร์ตเพิ่มขึ้นภายหลังกระบวนการหมักสิ้นสุดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยปริมาณกรดในนมก่อนเกิดกระบวนการหมักเท่ากับ 0.17 % ค่าดังกล่าวเพิ่มขึ้น เป็น 1.00% และ 1.02 % ในโยเกิร์ตที่เก็บ ณ อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส ไม่พบปัจจัยของอุณหภูมิต่อปริมาณกรดในโยเกิร์ตระหว่างการเก็บ (ตารางที่ 4.2) นอกจากนี้ระยะเวลาเก็บที่10 องศาเซลเซียส ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรด แต่พบการเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยของปริมาณกรดในโยเกิร์ตที่เก็บที่ 4 องศาเซลเซียส นาน 35 วัน โดยปริมาณกรดที่ได้จากกระบวนการหมักประกอบด้วยกรดหลายชนิดเช่น กรดแลคติก กรดไพรูวิก (pyruvic acid) กรดโพรพิโอนิก (propionic acid) กรดซิตริก (citric acid) และกรดอะซิติก (Garcia and McGregor, 1994) ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ปริมาณกรดเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่อเก็บโยเกิร์ตนาน 28 วันขึ้นไป ขณะที่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวในโยเกิร์ตที่เก็บในอุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ไม่พบอิทธิพลของอุณหภูมิการเก็บรักษาที่แตกต่างกัน (4 และ 10 องศาเซลเซียส) ต่อปริมาณกรดในโยเกิร์ต ($P > 0.05$)

ตารางที่ 4.2 ปริมาณกรด (%TA) ของโยเกิร์ตที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 10 องศาเซลเซียส

ระยะเวลา (วัน)	4 องศาเซลเซียส	10 องศาเซลเซียส
BF	0.17 ± 0.01^{a}	0.16 ± 0.01^{a}
0	1.00 ± 0.02^{b}	1.02 ± 0.01^{b}
7	1.02 ± 0.02^{bc}	1.02 ± 0.06^{b}
14	1.02 ± 0.02^{bc}	1.02 ± 0.04^{b}
21	1.03 ± 0.02^{bc}	1.03 ± 0.02^{b}
28	1.03 ± 0.01^{c}	1.00 ± 0.06^{b}
35	1.04 ± 0.01^{c}	1.03 ± 0.01^{b}

หมายเหตุ:

สัญญลักษณ์ a b c d .... ที่ต่างกันตามแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

BF = ก่อนกระบวนการหมัก

4.1.4 ปริมาณกรดแลคติก

ปริมาณกรดแลคติกในนมหลังจากเติมเชื้อ ABY-2 เท่ากับ 13.15 ppm ค่าดังกล่าวเพิ่มขึ้นในระหว่างกระบวนการหมักนาน 6 ชั่วโมง ปริมาณกรดแลคติกมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็น 270.42 ppm ($P \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.3) เนื่องจากจุลินทรีย์ที่เติมลงในนมใช้น้ำตาลแลคโตสเป็นอาหารและผลิตกรดแลคติก (Tamimme and Robinson, 1999) การผลิตกรดแลคติกเพิ่มมากขึ้นในวันที่ 35 ของการเก็บรักษาคือ 357.19 และ 367.67 ppm ที่ 4 และ 10 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Samona และคณะ (1996) ที่พบว่าเมื่อใช้เชื้อผสมระหว่าง *Bifidobacterium* spp. กับ *S. thermophilus* และ *L. bulgaricus* จะทำให้ปริมาณกรดแลคติกในโยเกิร์ตเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ และจากการทดลองนี้ไม่พบอิทธิพลของอุณหภูมิการเก็บรักษาที่แตกต่างกัน (4 และ 10 องศาเซลเซียส) ต่อปริมาณกรดแลคติกในโยเกิร์ต ($P > 0.05$)

ตารางที่ 4.3 ปริมาณกรดแลคติก (ppm) ในโยเกิร์ตที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 10 องศาเซลเซียส

ระยะเวลา (วัน)	4 องศาเซลเซียส	10 องศาเซลเซียส
BF	13.15 ± 0.58^{a}	13.15 ± 0.58^{a}
0	270.42 ± 3.21^{b}	270.42 ± 3.21^{b}
7	249.82 ± 40.05^{b}	262.75 ± 42.26^{b}
14	294.25 ± 5.76^{bc}	300.29 ± 32.06^{bc}
21	292.04 ± 23.15^{bc}	263.30 ± 49.54^{b}
28	295.66 ± 18.05^{bc}	249.40 ± 55.45^{b}
35	357.19 ± 47.53^{c}	367.67 ± 11.38^{c}

หมายเหตุ:
สัญญลักษณ์ a b c d .... ที่ต่างกันตามแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)
BF = ก่อนกระบวนการหมัก

4.1.5 ปริมาณกรดอะซิติก

ไม่พบการผลิตกรดอะซิติกในนมหลังจากเติมเชื้อ ABY-2 ทันที พบการผลิตกรดดังกล่าวในปริมาณ 12.78 ppm ในโยเกิร์ตหลังการบ่มนาน 6 ชั่วโมง ปริมาณกรดอะซิติกในโยเกิร์ตขณะเก็บที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียสเพิ่มขึ้นในระหว่างการเก็บรักษานาน 35 วัน ($P \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.4) โดยการผลิตกรดอะซิติกเป็นผลจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ ซึ่งส่วนใหญ่ กรดอะซิติกเป็นกรดที่เกิดเนื่องจากกระบวนการหมักที่มีเชื้อ *Bifidobacterium* spp. (Samona et. al., 1996) ในช่วงวันที่ 7-14 ของการเก็บรักษา ปริมาณกรดอะซิติกในโยเกิร์ตที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพิ่มขึ้น 58.82 ppm เป็น 99.57 ppm และที่ 10 องศาเซลเซียสเพิ่มขึ้น 59.58 ppm เป็น 101.43 ppm จากนั้นหลังจากวันที่ 14 ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 4 องศาเซลเซียสปริมาณกรดอะซิติกไม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปลี่ยนแปลง ส่วนที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ปริมาณกรดอะซิติกลดลงเป็น 53.03 ppm ในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา (ตารางที่ 4.4) และจากนั้นเพิ่มขึ้นเป็น 79.39 ppm ในวันที่ 28 ของการเก็บรักษา การปรวนแปรของปริมาณกรดดังกล่าว คาดว่ามีสาเหตุมาจากการเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์มากกว่าสาเหตุจากกลไกการผลิตกรด ไม่พบอิทธิพลอุณหภูมิการเก็บรักษาที่แตกต่างกัน (4 และ 10 องศาเซลเซียส) ต่อปริมาณกรดอะซิติก ($P > 0.05$)

ตารางที่ 4.4 ปริมาณกรดอะซิติก (ppm) ในโยเกิร์ตที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 10 องศาเซลเซียส

ระยะเวลา (วัน)	4 องศาเซลเซียส	10 องศาเซลเซียส
BF	0 ± 0.00^{a}	0 ± 0.00^{a}
0	12.78 ± 2.50^{a}	12.78 ± 2.50^{ab}
7	40.75 ± 19.04^{b}	41.85 ± 4.48^{bc}
14	99.57 ± 21.21^{cc}	101.43 ± 12.78^{df}
21	101.22 ± 3.69^{d}	53.03 ± 7.72^{cc}
28	102.28 ± 7.10^{cd}	79.39 ± 19.08^{de}
35	103.30 ± 2.80^{c}	124.69 ± 26.56^{f}

หมายเหตุ:

สัญญลักษณ์ a b c d ...ที่ต่างกันตามแนวตั้งแสดงถึง ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

BF = ก่อนกระบวนการหมัก

4.2 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

4.2.1 Coliform bacteria

ไม่พบ coliform bacteria ในโยเกิร์ตที่ผลิตและเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส (ตารางที่ 4.5) โดยตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 289) พ.ศ. 2548 เรื่องนมเปรี้ยว ระบุว่าแบคทีเรียชนิดโคลิฟอร์มต้องมีน้อยกว่า 3 โคโลนีต่อนมเปรี้ยว 1 กรัม เมื่อตรวจสอบโดยวิธี เอ็ม พี เอ็น (Most Probable Number) ผลจากการศึกษาครั้งนี้แสดงถึงสุขลักษณะที่ดีในการผลิตโยเกิร์ตของโรงเนยแข็ง โครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา

4.2.2 *Streptococcus thermophilus*

ปริมาณเชื้อ *Streptococcus thermophilus* ในโยเกิร์ตเพิ่มขึ้นในระหว่างกระบวนการหมักอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.6) โดยภายหลังจากกระบวนการหมัก ปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อ *S. thermophilus* เพิ่มขึ้นจาก 7.24 เป็น 9.54 log CFU/g ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 4 องศาเซลเซียสและ 7.15 เป็น 9.55 log CFU/g ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 10 องศาเซลเซียส เนื่องจากเชื้อ *S. thermophilus* สามารถใช้น้ำตาลแลคโตสและออกซิเจนที่มีในนมผลิตกรดแลคติก และเพิ่มจำนวนในระหว่างกระบวนการหมัก (Tamimme, 1977) *S. thermophilus* เป็นแบคทีเรียที่เจริญในช่วงต้นของกระบวนการหมัก และเป็นจุลินทรีย์ประเภท homofermentative lactic acid bacteria ซึ่งผลิตกรดแลคติกเป็นหลักได้รวดเร็วแต่ในปริมาณต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับ *Lactobacillus bulgaricus* (Tamime and Robinson, 1999) โดยภายหลังจากการบ่มพบว่าโยเกิร์ตที่ศึกษามีปริมาณออกซิเจนลดลง และปริมาณกรดเพิ่มมากขึ้น ดังแสดงในหัวข้อที่ 4.1 ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Dave และ Shah (1997) ระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าวันที่ 21 ของการเก็บรักษา ปริมาณเชื้อ *S. thermophilus* ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.6) และเพิ่มขึ้นในวันที่ 28 ของการเก็บรักษา ส่วนที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 10 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณเชื้อ *S. thermophilus* ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.6) โดยพบว่าในวันที่ 35 ของการเก็บรักษา มีเชื้อที่รอดชีวิตเป็นจำนวน 9.43 และ 9.09 log CFU/g ที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียสตามลำดับ

ตารางที่ 4.5 ปริมาณเชื้อ coliforms ในโยเกิร์ตที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 10 องศาเซลเซียส

ระยะเวลา (วัน)	4 องศาเซลเซียส	10 องศาเซลเซียส
BF	< 1 CFU/g	< 1 CFU/g
0	< 1 CFU/g	< 1 CFU/g
7	< 1 CFU/g	< 1 CFU/g
14	< 1 CFU/g	< 1 CFU/g
21	< 1 CFU/g	< 1 CFU/g
28	< 1 CFU/g	< 1 CFU/g
35	< 1 CFU/g	< 1 CFU/g

หมายเหตุ: ผลที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ

4.2.3 *Lactobacillus bulgaricus*

ปริมาณเชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* ในโยเกิร์ตก่อนและหลังกระบวนการหมักไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) (ตารางที่ 4.7) ในระหว่างการเก็บรักษาโยเกิร์ตเป็นเวลา 35 วันที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส ปริมาณเชื้อ *L. bulgaricus* ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) สอดคล้องกับการศึกษาของ Medina และ Jordano (1994) ซึ่งพบว่า น้ำนมหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ผลิตในประเทศสเปนมีปริมาณ *L. bulgaricus* ลดลงอย่างมีนัยสำคัญในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 7 องศาเซลเซียส โดยเชื้อ *L. bulgaricus* เป็นจุลินทรีย์ชนิด homofermentative lactobacilli ต้องการออกซิเจนเพียงเล็กน้อยในการเจริญ ดังนั้นปริมาณออกซิเจนที่เพิ่มขึ้นในโยเกิร์ตระหว่างการเก็บรักษา (หัวข้อ4.1.1) ไม่ได้เอื้ออำนวยต่อการรอดชีวิตของเชื้อ *L. bulgaricus* (Dave and Shah, 1997)

ตารางที่ 4.6 ปริมาณเชื้อ *Streptococcus thermophilus* (log CFU/g) ในโยเกิร์ตที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 10 องศาเซลเซียส

ระยะเวลา (วัน)	4 องศาเซลเซียส	10 องศาเซลเซียส
BF	7.24 ± 0.11^{a}	7.15 ± 0.05^{a}
0	9.54 ± 0.04^{b}	9.55 ± 0.11^{b}
7	9.47 ± 0.07^{bc}	9.50 ± 0.08^{bc}
14	9.49 ± 0.08^{bc}	9.31 ± 0.08^{cdc}
21	9.36 ± 0.10^{c}	9.36 ± 0.08^{bcd}
28	9.53 ± 0.05^{b}	9.16 ± 0.14^{dc}
35	9.43 ± 0.03^{bc}	9.09 ± 0.27^{c}

หมายเหตุ:

สัญญลักษณ์ a b c d ...ที่ต่างกันตามแนวตั้งแสดงถึง ระยะเวลาการเก็บรักษามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

BF = ก่อนกระบวนการหมัก

ตารางที่ 4.7 ปริมาณเชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* (logCFU/g) ในโยเกิร์ตที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 10 องศาเซลเซียส

ระยะเวลา (วัน)	4 องศาเซลเซียส	10 องศาเซลเซียส
BF	7.42 ± 0.07^{a}	7.40 ± 0.10^{a}
0	7.73 ± 0.08^{a}	7.59 ± 0.21^{a}
7	5.81 ± 0.21^{b}	4.97 ± 0.44^{b}
14	3.99 ± 0.23^{c}	3.34 ± 0.81^{c}
21	2.78 ± 0.18^{d}	3.19 ± 0.52^{c}
28	1.94 ± 0.48^{e}	2.76 ± 0.61^{cd}
35	1.65 ± 0.43^{e}	2.13 ± 0.79^{cd}

หมายเหตุ:

สัญญลักษณ์ a b c d .... ที่ต่างกันตามแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

BF = ก่อนกระบวนการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.4 *Lactobacillus acidophilus*

ปริมาณเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ในโยเกิร์ตเพิ่มขึ้นในระหว่างกระบวนการหมักอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.8) โดยภายหลังจากกระบวนการหมัก ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* เพิ่มขึ้นจาก 7.63 เป็น 9.54 และ 7.47 เป็น 9.43 log CFU/g ที่อุณหภูมิการเก็บรักษา 4 และ 10 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เชื้อ *L. acidophilus* สามารถใช้น้ำตาลแลคโตส และออกซิเจนในนมเพื่อผลิตกรดแลคติกและเพิ่มจำนวนมากขึ้นได้เช่นเดียวกับ *S. thermophilus* และ *L. bulgaricus* (Tamime and Robinson, 1999) ภายหลังจากการบ่มพบว่าโยเกิร์ตที่ศึกษามีปริมาณออกซิเจนลดลง และปริมาณกรดเพิ่มมากขึ้น ดังแสดงในหัวข้อที่ 4.1 ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Dave และ Shah (1997) ในระหว่างการเก็บรักษาโยเกิร์ตที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 35 วันปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) สำหรับการเก็บรักษาที่ 10 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 35 วัน ปริมาณเชื้อลดลงเล็กน้อยโดยในวันที่ 35 ของการเก็บรักษาโยเกิร์ตมีปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* เท่ากับ 9.24 และ 8.99 log CFU/g ที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

ตารางที่ 4.8 ปริมาณเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* (logCFU/g) ในโยเกิร์ตที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 10 องศาเซลเซียส

ระยะเวลา (วัน)	4 องศาเซลเซียส	10 องศาเซลเซียส
BF	7.63 ± 0.19^{a}	7.47 ± 0.09^{a}
0	9.54 ± 0.16^{b}	9.43 ± 0.16^{bc}
7	9.51 ± 0.05^{b}	9.61 ± 0.60^{c}
14	9.48 ± 0.09^{b}	9.33 ± 0.12^{bcd}
21	9.22 ± 0.16^{b}	9.27 ± 0.01^{bce}
28	9.36 ± 0.22^{b}	9.09 ± 0.05^{de}
35	9.24 ± 0.22^{b}	8.99 ± 0.36^{e}

หมายเหตุ:

สัญญลักษณ์ a b c d .... ที่ต่างกันตามแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

BF = ก่อนกระบวนการหมัก

4.2.5 *Bifidobacterium lactis*

ปริมาณเชื้อ *Bifidobacterium lactis* ในโยเกิร์ตเพิ่มขึ้นในระหว่างกระบวนการหมักอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) (ตารางที่ 4.9) โดยภายหลังจากกระบวนการหมัก ปริมาณเชื้อ *B. lactis* เพิ่มขึ้นจาก 3.12 เป็น 6.39 log CFU/g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และเพิ่มจาก 2.52 เป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.40 log CFU/g ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส *B. lactis* เป็นจุลินทรีย์ชนิด heterofermentative bacteria โดยใช้น้ำตาลแลกโตส และออกซิเจนในนมเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์แบคทีเรีย จุลินทรีย์ชนิดนี้สามารถผลิตกรดแลคติกและกรดอะซิติก ดังแสดงปริมาณการเปลี่ยนแปลงออกซิเจน ปริมาณกรดแลคติก ปริมาณกรดอะซิติกในหัวข้อ 4.1 ปริมาณออกซิเจนลดลง ส่วนปริมาณกรดแลคติกและกรดอะซิติกเพิ่มมากขึ้นภายหลังกระบวนการหมัก ($P \leq 0.05$) (Tamime and Robinson, 1999) ในระหว่างการเก็บรักษาปริมาณเชื้อ *B. lactis* มีค่าไม่เปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) วันที่ 35 ของการเก็บรักษามีปริมาณเชื้อรอดชีวิต 6.06 log CFU/g ที่ทั้งอุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 4.9 ปริมาณเชื้อ *Bifidobacterium lactis* (logCFU/g) ในโยเกิร์ตที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และ 10 องศาเซลเซียส

ระยะเวลา (วัน)	4 องศาเซลเซียส	10 องศาเซลเซียส
BF	3.12 ± 0.40^{a}	2.52 ± 1.28^{a}
0	6.39 ± 0.06^{b}	6.40 ± 0.36^{b}
7	7.17 ± 0.07^{c}	7.01 ± 0.24^{b}
14	6.67 ± 0.42^{bc}	6.78 ± 0.36^{b}
21	6.65 ± 0.45^{bc}	6.41 ± 0.02^{b}
28	6.53 ± 0.33^{bc}	6.59 ± 0.03^{b}
35	6.06 ± 0.72^{b}	6.06 ± 0.31^{b}

หมายเหตุ:

สัญญลักษณ์ a b c d .... ที่ต่างกันตามแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

BF = ก่อนกระบวนการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

พบการเพิ่มขึ้นของจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ *Streptococcus thermophilus, Lactobacillus acidophilus* และ *Bifidobacterium lactis* ในระหว่างการหมักนาน 6 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส ซึ่งตรงกันข้ามกับ *Lactobacillus* มีปริมาณเชื้อคงที่ 7.73 log CFU/g ภายหลังกระบวนการหมักสิ้นสุดไม่พบการเปลี่ยนแปลงของเชื้อ *B. lactis* ตลอดระยะเวลา 35 วัน (6.06 log CFU/g) ในทางตรงข้าม *L. Bulgaricus* และ *S. thermophilus* มีจำนวนจุลินทรีย์ลดลงในอุณหภูมิการเก็บรักษาแช่เย็นทั้ง 2 ระดับ ไม่พบปัจจัยของอุณหภูมิการเก็บรักษาที่แตกต่างกัน (4 และ 10 องศาเซลเซียส) ต่อความอยู่รอดของแบคทีเรีย *S. thermophilus, L. bulgaricus* และ *B. Lactis* พบอิทธิพลของอุณหภูมิการเก็บรักษาต่อการรอดชีวิตของเชื้อ *L. acidophilus* ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสไม่พบการเปลี่ยนแปลงของเชื้อ และที่ 10 องศาเซลเซียส จำนวนจุลินทรีย์ลดลงระหว่างการเก็บรักษา 35 วัน พบการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดแลคติก กรดอะซิติก และ titratable acidity ระหว่างการเก็บรักษานาน 35 วัน ไม่พบปัจจัยของอุณหภูมิระหว่างการเก็บรักษาต่อปริมาณกรดแลคติก กรดอะซิติก titratable acidity รวมทั้งค่าpH หลังกระบวนการหมักสิ้นสุดลงปริมาณออกซิเจนในโยเกิร์ตเพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 และ 10 องศาเซลเซียส ตลอดระยะเวลา 21 วันของการเก็บรักษา จากนั้นปริมาณออกซิเจนในโยเกิร์ตมีค่าคงที่จนถึง 35 วันของการเก็บรักษา ไม่พบปัจจัยของอุณหภูมิต่อปริมาณออกซิเจนในโยเกิร์ต ในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตไขมันต่ำยังคงมีปริมาณเชื้อโพรไบโอติกที่มากเพียงพอ (10^5-10^6 เซลล์ต่อกรัม) ที่จะเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคได้ กระบวนการผลิตโยเกิร์ตมีสุขลักษณะที่ดีและถูกต้องจึงไม่พบแบคทีเรียโคลิฟอร์มในผลิตภัณฑ์แต่อย่างใด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

คณิต พุฒถนอม. 2537. อุตสาหกรรมนมเปรี้ยวกระฉูด ดันตลาดพุ่งโตปีละเกือบ 30%. **วัฏจักรอุตสาหกรรม**. 5(177): 84-142.

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

ทองยศ อเนกะเวียง. 2529. **ปฏิบัติการนม**. ศิลปาบรรณาคาร. กรุงเทพ.

สุมณฑา วัฒนสินธุ์. 2545. จุลชีพเพื่อสุขภาพ. **วารสารจาร์พา**. 9(65): 41-45.

Anonymous. 2003. Dairy Ingredient. **Food & Beverage Asia**. 6. 24-27.

AOAC. 1995. **Official method of analysis of association of official analytical chemists**. 15th ed. Gaithersburg. Maryland.

Berradd, N., Lemeland, J.F., Laroche, G., Thoubenot, P. and Piaia, M.1991. *Bifidobacterium* from Fermented Milks: Survival During Gastric Transit. **Journal of diary Science**. 74: 104-143.

Chr. Hansen. 2001. *L. acidophilus, L. casei and Bifidobacteria* in Fermented Milk Products – **Guidelines method for counting probiotic bacteria**.Chr. Hansen Denmark.

Chr. Hansen. 2002. Method for Counting *Lactobacillus bulgaricus* in Yoghurt – F – 7 **Technical Bulletin**. Chr. Hansen Denmark.

Chr. Hansen. 2002. Method for Counting *Streptococcus thermophilus* in Yoghurt – F – 8 **Technical Bulletin**. Chr. Hansen Denmark.

Daeschel, M.A. 1993. Application and interactions of bacteriocins from lactic acid bacteria in foods and beverage. **Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria**. Academic Press. 63-91.

Dave R.I. and Shah N.P. 1997. Viability of Yoghurt and Probiotic Bacteria in Yoghurts Made from Commercial Starter Culture. **International Dairy Journal**. 7: 31-41.

Dellagio, F. 1988. Starter for fermented milks. **Bulletin of the International Dairy Federation**, 227: 27-34.

Fernandes, C.F., and K.M. Shahani. 1989. Lactose Intolerance and Its Modulation with Lactobacilli and Other Microbial Supplements. **Journal of Application Nutrition**. 42:50-64.

Garcia, E.F. and McGregor, J.C. 1994, Determination of Organic Acids During the Fermentation and Chemically treated Yoghurt. **Journal of diary Science**. 77: 2934-2939.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Gilliland, S.E., C.R.Nelson, and C. Maxwell. 1985. Assimilation of Cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. **Applied and Environmental Microbiology**. 49:377-381.

Gilliand, S.E. and D.K. Walker. 1990, Factors to Consider when Selection a Culture of *Lactobacillus acidophilus* as a Dietary Adjunct to Produce a Hypocholesterolemic Effect in Humans. **Journal of Dairy Science**. 73:905-911.

Goldin, B.R., and S.L. Gorbach. 1984. The Effect of Milk and *Lactobacillus* Feeding on Human Intestinal Bacteria Enzyme Activity. **American Journal of Clinical Nutrition**. 39:756-761.

Gorbach, S.I. 1990. Lactic Acid Bacteria and Human Health. **Annuals of Medicine**. 22:37-41

Gordon, D., Macreae, J. and Wheater, D.M., 1957. A *Lactobacillus* Preparation for Use with Antibiotics, pp.203. Cited by Gilliland, S.E. Fermented Milks and Probiotics. 195-212. in Marth, E.S. and Steele, J.L., ed. **Applied Dairy Microbiology**. Marcel Dekker, Inc.,U.S.A.

Gurr, M.I. 1987. Nutritional Aspects of Fermented Milk Products. **FEMS Microbiology Reviews**, 46:337-342.

Hargrove, R.E. and Alfrod, A.J. 1980. Growth Response of Weaning Rats to Heated, Aged, Fractionated and Chemically treated Yoghurt. **Journal of diary Science**. 63: 1065-1070.

Lindsay, R.C., E.A. Day, and W.E. Sandine, 1965. Studies on the Green Flavour Defect in Lactic Starter Culture. **Journal of Dairy Science**, 48:863-869.

Mann, G.V., and A. Spoerry. 1974. Studies of a Surfactant and Cholesteremia in the Massai. **American Journal of Clinical Nutrition**, 27:464-469.

Marshall, V.M. 1984. Flovour Development in Fermented Milks. In: **Advance in the Microbiology and biochemistry of Cheese and Fermented Milk (eds F.L. Davies and B.A. Law)**. Elsevier Applied Science. London. 153-186.

Marteau, P. and J.C. Rambaud. 1993. Potential of Using Lactic Acid Bacteria for Therapy and Immunomodulation in Man. **FEMS Microbiology Reviews**, 12:207-220.

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

Ohr, L.M. 2003. Probiotics and Dairy. **Food Technology**. 57(5): 82.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pochart, P., O Dewit and J.F. Desfeux. 1989. Viable Starter Culture. B-galactosidase Activity and Lactose in Duodenum after Yogurt Ingestion in Lactase-Deficient Humans. **American Jornal of Clinical Nutrition**, 49:828-831.

Ravula, R.R. and N.P Shah.. 1998. Viability of Probiotics in Fermented Dairy Desserts. **Food Australia**. 50(3): 136-139.

Robinson, R.K. and A.Y. Tamime. 1990. Microbiology of Fermented Milks. In: Robinson, R.K. (ed). **Dairy Microbiology. Vol. 2**. 2d ed. Elsevier Science Publisher Ltd. London

Rusoff, L.L. 1987. Calcium – osteoporosis and Blood Pressure. **Journal of Dairy Science**, 70:407-413.

Samona, A., R.K. Robinson and S. MaraKis. 1996. Acid Production by Bifidobacteria and Yoghurt Bacteria during Fermentation and Storage of Milk. **Food Microbiology**, 13: 275-280.

Sander, M.C. 1999. Probiotics. **Journal of Food Technology**. 53(11). 67-77.

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

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

Shah, N.P. 2001. Functional Foods from Probiotics and Prebiotics. **Food Technology**. 55(1): 46-53.

Simone, D C., B Sslvadori, E. Jirlo. 1989. Modulation of Immune Activities in Humans and Animals by Dietary Lactic Acid Bacteria. In Yogurt. **Nutritional and Health Properties** (ed. R.C. Chandan), NYA, McLean, VA, USA.

Speck, M.L. 1976. Interaction Amoung Lactobacilli and Man. **Journal of Dairy Science**, 59: 338-348.

Speer E. 1995. **Milk and Dairy Product Technology**. Translated from Technologie der Milchverabeitung. By Mixa Axel. Marcel Dekker. New York.

Tamime A.Y. 1977. **Some Aspects of the Production of Yogurt and Condensed Yogurt**. Ph.D. Thesis. University of Reading, UK.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tamime A.Y. and H.C. Deeth 1980. Yogurt Technology and Biochemistry. **Journal of Food Protection**. 43:939-977.

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

Tamime, A.Y., and R.K. Robinson. 1988. Technology of Thermophilic Fermented Milk. **Bulletin of the International Dairy Federation** . 227: 82-95.

Tamime, A.Y., and R.K. Robinson. 1999 **Yoghurt: Science and Technology**, second edition. Cambridge: Woodhead Publishing.

Vedamuthu, E.R. 1991. The Yoghurt Story- Past, Present and Future part3. **Dairy, Food and Environment Sanitation**. 11(6): 310-311.

Walstra, P.G., T.J. Noomen, A. Jellema, A. van Boekel. 1999. **Dairy Technology: Principles of Milk Properties and Process**. Marcel Dekker. New York.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
วิธีวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์หาปริมาณกรด (Titratable acidity) (AOAC 1995)

นำตัวอย่าง 10 กรัม ผสมน้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ (เตรียมจากน้ำกลั่นต้ม 20 นาที) 20 มิลลิลิตร เติมสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 1% ไตเตรทจนถึงจุดยุติ ปริมาณกรดคำนวณจาก (ใช้กรดแลคติกเป็นกรดมาตรฐาน)

$$\text{กรดทั้งหมด (กรัม/100กรัม)} = \frac{N \times V \times 90.08 \times 100}{1000 \times 10}$$

กำหนดให้ N = ความเข้มข้นมาตรฐาน 0.1N NaOH

V = มิลลิลิตรของสารละลายมาตรฐาน 0.1N NaOH

2. การตรวจวิเคราะห์ Coliforms โดยวิธี Most Probable Number (AOAC 1995)

ตัวอย่าง 1 กรัม + สารละลาย Peptone 0.1% 9 มิลลิลิตร

↓

dilution 10^{-2}, 10^{-3}, 10^{-4}

↓

Lauryl Sulphate Tryptose Broth

35°C 24-48 ชั่วโมง

↓

Brilliant Green Bile Lactose Broth

35°C 48 ชั่วโมง

↓

ประเมินค่า coliforms โดยเทียบจากตาราง MPN

3. การตรวจวิเคราะห์ *Streptococcus thermophilus* (Chr. Hansen, 2002)

Dilution 10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-7}, 10^{-8}

↓

M17 Agar

↓

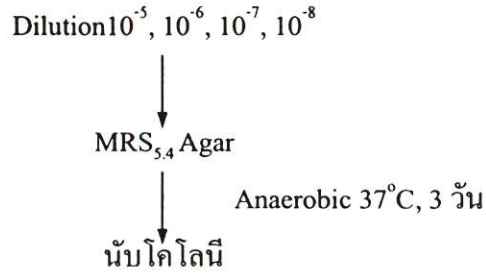
Aerobic 43°C, 3 วัน

↓

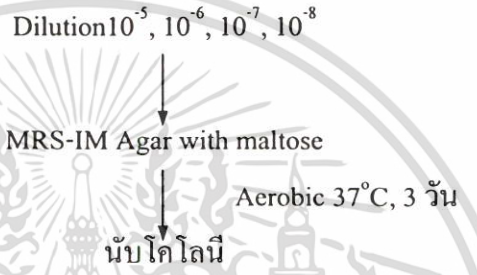
นับโคโลนี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

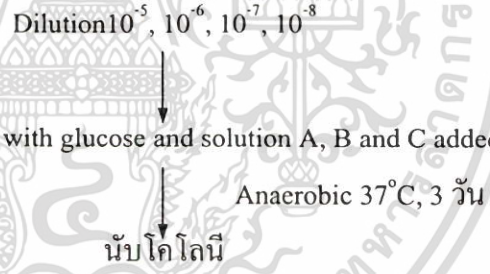
4. การตรวจวิเคราะห์ *Lactobacillus bulgaricus* (Chr. Hansen, 2002)



5. การตรวจวิเคราะห์ *Lactobacillus acidophilus* (Chr. Hansen, 2001)



6. การตรวจวิเคราะห์ *Bifidobacterium lactis* (Chr. Hansen, 2001)



7. การเตรียม $MRS_{5.4}$ Agar

7.1 เตรียมอาหาร MRS Agar โดยชั่ง MRS 52 กรัม Agar 15 กรัม และน้ำ 1 ลิตร

7.2 ให้ความร้อนเพื่อให้ส่วนผสมละลาย

7.3 ก่อนการนำไป clave ฆ่าเชื้อ ปรับ pH โดยใช้ HCl .ให้ pH เท่ากับ 5.4

7.4 นำไป clave ที่อุณหภูมิ 121 °C 15 นาที

8. การเตรียม MRS-IM with maltose

8.1 เตรียม MRS-IM โดยใช้สารดังนี้

-	Tryptone	10	กรัม
-	Yeast extract	5	กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

-	Tween 80	1	กรัม
-	di-Potassium hydrogen phosphate	3.407	กรัม
-	Sodium acetate. H_2O	3.015	กรัม
-	di-Ammonium hydrogen citrate.$7H_2O$	2	กรัม
-	Magnesium sulphate. $7H_2O$	0.2	กรัม
-	Manganese(II) sulphate.$7H_2O$	0.05	กรัม
-	Agar	13	กรัม
-	น้ำ	1000	มิลลิลิตร

8.2 ให้ความร้อนเพื่อให้ส่วนผสมละลาย

8.3 นำไป clave ที่อุณหภูมิ 121 °C 15 นาที

8.4 เตรียมสารละลาย maltose 20% โดยใช้ maltose 20 กรัม ผสมน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร นำไปกรอง (0.45 mm.)

8.5 เตรียมMRS-IM with maltose โดยใช้ MRS-IM 1000 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 47 °C เติมสารละลาย maltose 20% 100 มิลลิลิตร

9. การเตรียม MRS-IM with glucose solution A, B and C added

9.1 เตรียม MRS-IM ดังข้อ 8.1-8.3

9.2 เตรียมสารละลาย glucose 20% โดยใช้ glucose 20 กรัม ผสมน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร นำไปกรอง (0.45 mm.)

9.3 เตรียมสารละลาย A โดยใช้ Dicholxallin 10 mg ผสมน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร นำไปกรอง (0.45 mm.)

9.4 เตรียมสารละลาย B โดยใช้ LiCl 2 กรัม ผสมน้ำกลั่น 18 กรัม คนให้ละลายนำไปกรอง (0.45 mm.)

9.5 เตรียมสารละลาย C โดยใช้ Cysteine hydrochloride 10 กรัม ผสมน้ำกลั่น ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร นำไป clave ฆ่าเชื้อ

9.6 เตรียม MRS-IM with glucose solution A, B and C added โดยใช้ MRS-IM 1000 มิลลิลิตร อุณหภูมิประมาณ 47 °Cเติมสารละลาย A 5 มิลลิลิตร, สารละลาย B 10 มิลลิลิตร และสารละลาย C 5 มิลลิลิตร

9.7 เมื่อเติมสารละลายต่างๆ ในอาหารแล้วต้องใช้ทันที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข
(ฉบับที่ 289) พ.ศ. 2548
เรื่อง นมเปรี้ยว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(สำเนา)

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข
(ฉบับที่ 289) พ.ศ.2548
เรื่อง นมเปรี้ยว

โดยที่เป็นการสมควรปรับปรุงประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง นมเปรี้ยว

อาศัยอำนาจตามความในมาตรา 5 และมาตรา 6(1)(2)(4)(5)(6)(7) และ (10) แห่งพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ.2522 อันเป็นพระราชบัญญัติที่มีบทบัญญัติบางประการเกี่ยวกับการจำกัดสิทธิและเสรีภาพของบุคคล ซึ่งมาตรา 29 ประกอบกับมาตรา 35 มาตรา 39 มาตรา 48 และมาตรา 50 ของรัฐธรรมนูญแห่งราชอาณาจักรไทย บัญญัติให้กระทำได้โดยอาศัยอำนาจตามบทบัญญัติแห่งกฎหมาย รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุขออกประกาศไว้ ดังต่อไปนี้

ข้อ 1 ให้ยกเลิก

(1) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 46 (พ.ศ.2523) เรื่อง นมเปรี้ยว ลงวันที่ 28 มกราคม พ.ศ.2523

(2) ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 99 (พ.ศ.2529) เรื่อง นมเปรี้ยว (ฉบับที่ 2) ลงวันที่ 12 มีนาคม พ.ศ.2529

ข้อ 2 ให้นมเปรี้ยว เป็นอาหารควบคุมเฉพาะ

ข้อ 3 นมเปรี้ยว (Fermented milk) หมายความว่า ผลิตภัณฑ์นมที่ได้จากน้ำนมจากสัตว์ที่นำมาบริโภคได้ หรือส่วนประกอบของน้ำนมที่ผ่านการทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคแล้ว หมักด้วยจุลินทรีย์ที่ไม่ทำให้เกิดโรคหรืออันตราย ทำให้ค่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้น และอาจปรุงแต่งกลิ่น รส สี หรือเติมวัตถุเจือปนอาหาร สารอาหาร หรือส่วนประกอบอื่นที่มิใช่นมด้วยก็ได้ ทั้งนี้ให้รวมถึงนมเปรี้ยวที่นำมาผ่านการฆ่าเชื้อ การแช่แข็ง หรือการทำให้แห้งด้วย

ข้อ 4 นมเปรี้ยวแบ่งตามชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักได้ ดังนี้

(1) โยเกิร์ต (Yoghurt) หมายถึง นมเปรี้ยวที่ได้จากการหมักด้วยแบคทีเรีย สเตรปโทค็อกคัส เทอร์โมฟิลัส (*Streptococcus thermophilus*) และแล็กโทบาซิลลัส เดลบรึคคิไอ ซับสปีชีส์ บัลแกริคัส (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) หรือแล็กโทบาซิลลัส ซับสปีชีส์ อื่น

(2) นมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัส (Acidophilus Milk) หมายถึง นมเปรี้ยวที่ได้จากการหมักด้วยแบคทีเรีย แล็กโทบาซิลลัส แอซิโดฟิลัส (*Lactobacillus acidophilus*)

(3) นมเปรี้ยวเคเฟอร์ (Kefir) หมายถึง นมเปรี้ยวที่ได้จากการหมักด้วยแบคทีเรียและยีสต์ ได้แก่ แล็กโทบาซิลลัส เคฟิไร (*Lactobacillus kefiri*) หรือแล็กโทค็อกคัส (*Lactococcus*) และแอซีโทแบกเตอร์ (*Acetobacter*) และไคลเวอโรไมซีส มาร์เซียนัส (*Kluyveromyces marxianus*) และแซ็กคาโรไมซีส ยูนิสปอรัส (*Saccharomyces unisporus*) หรือแซ็กคาโรไมซีส เซรีวิซิอี (*Saccharomyces cerevisiae*) หรือแซ็กคาโรไมซีส แอซิกูอัส (*Saccharomyces exiguus*)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(4) นมเปรี้ยวคูมิส (Kumys) หมายถึง นมเปรี้ยวที่ได้จากการหมักด้วยแบคทีเรียและยีสต์ ได้แก่ แล็กโทบาซิลลัส เดลบรึคคิไอ ซับสปีชีส์ บัลแกริคัส (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) และไคลเวอโรไมซีส มาร์เซียนัส (*Kluyveromyces marxianus*)

(5) นมเปรี้ยวที่ได้จากการหมักด้วยจุลินทรีย์ชนิดที่แตกต่างหรือนอกเหนือจากที่กำหนดไว้ใน (1)-(4) เช่น แล็กโทบาซิลลัส คาเซอิ ซับสปีชีส์ ชิโรต้า (*Lactobacillus casei* subsp. *shirota*) บิฟิโดแบคทีเรียม (*Bifidobacterium*)

นมเปรี้ยวตาม (1)(2)(3) และ (4) อาจใส่จุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักชนิดอื่นเพิ่มเติมจากที่กำหนดได้

ข้อ 5 การเติมสารอาหารในนมเปรี้ยว ให้เป็นไปตามหลักเกณฑ์ที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาประกาศกำหนด โดยความเห็นชอบของคณะกรรมการอาหาร

ข้อ 6 นมเปรี้ยวที่จะนำไปผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมัก ต้องทำให้เป็นเนื้อเดียวกันและฆ่าเชื้อด้วยกรรมวิธีอย่างใดอย่างหนึ่ง ดังต่อไปนี้

(1) พาสเจอร์ไรส์ หมายความว่า กรรมวิธีฆ่าเชื้อด้วยความร้อนโดยใช้อุณหภูมิที่เหมาะสม ซึ่งจะไม่ทำให้ผลิตภัณฑ์สูญเสียลักษณะที่ต้องการเมื่อผ่านกรรมวิธีฆ่าเชื้อดังกล่าว โดยใช้อุณหภูมิและเวลาอย่างใดอย่างหนึ่งดังต่อไปนี้

(1.1) อุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 63 องศาเซลเซียส และคงอยู่ที่อุณหภูมินี้ไม่น้อยกว่า 30 นาที แล้วทำให้เย็นลงทันทีที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า หรือ

(1.2) อุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 72 องศาเซลเซียส และคงอยู่ที่อุณหภูมินี้ไม่น้อยกว่า 15 วินาที แล้วทำให้เย็นลงทันทีที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า

(2) ยูเอชที หมายความว่า กรรมวิธีฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่อุณหภูมิตั้งแต่ 100 องศาเซลเซียส ขึ้นไป และคงอยู่ที่อุณหภูมินี้ตามระยะเวลาที่เพียงพอจะทำลายจุลินทรีย์ที่สามารถเพิ่มจำนวนเมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิปกติ แล้วบรรจุในภาชนะและในสภาวะที่ปราศจากเชื้อ

(3) กรรมวิธีอย่างอื่นที่มีมาตรฐานเทียบเท่ากรรมวิธีตาม (1) หรือ (2) ตามที่ได้รับความเห็นชอบจากคณะกรรมการอาหาร

ข้อ 7 นมเปรี้ยวที่มิได้ปรุงแต่งต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐาน ดังต่อไปนี้

(1) มีกลิ่นรสตามลักษณะของนมเปรี้ยวนั้น

(2) มีโปรตีนไม่น้อยกว่าร้อยละ 2.7 ของน้ำหนัก สำหรับนมเปรี้ยวตามข้อ 4(1)(2)(3) และ (5)

(3) มีมันเนยดังนี้

(3.1) น้อยกว่าร้อยละ 15 ของน้ำหนัก สำหรับนมเปรี้ยวตามข้อ 4(1) และ (2)

(3.2) น้อยกว่าร้อยละ 10 ของน้ำหนัก สำหรับนมเปรี้ยวตามข้อ 4(3)(4) และ (5)

(4) มีค่าความเป็นกรด โดยคำนวณเป็นกรดแลกติก ดังนี้

(4.1) ไม่น้อยกว่าร้อยละ 0.6 ของน้ำหนัก สำหรับนมเปรี้ยวตามข้อ 4(1)(2) และ (3)

(4.2) ไม่น้อยกว่าร้อยละ 0.7 ของน้ำหนัก สำหรับนมเปรี้ยวตามข้อ 4(4)

(4.3) ไม่น้อยกว่าร้อยละ 0.3 ของน้ำหนัก สำหรับนมเปรี้ยวตามข้อ 4(5)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(5) มีจุลินทรีย์ที่ใช้ในกรรมวิธีการหมักคงเหลือในนมเปรี้ยวที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมัก 1 กรัม แล้วแต่กรณี ดังนี้

(5.1) แบคทีเรียไม่น้อยกว่า 10,000,000 โคโลนี

(5.2) ยีสต์ไม่น้อยกว่า 10,000 โคโลนี

(6) ไม่ใช้วัตถุกันเสีย

(7) ไม่มีจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค

(8) ตรวจพบแบคทีเรียชนิดโคลิฟอร์มน้อยกว่า 3 ต่อนมเปรี้ยว 1 กรัม โดยวิธี เอ็ม พี เอ็น (Most Probable Number)

(9) ตรวจพบเชื้อราได้ไม่เกิน 100 โคโลนี สำหรับนมเปรี้ยวที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมัก 1 กรัม

(10) ตรวจพบยีสต์ไม่เกิน 100 โคโลนี สำหรับนมเปรี้ยวที่ไม่ได้ใช้ยีสต์ในการหมัก และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมัก 1 กรัม

(11) ตรวจพบยีสต์และเชื้อราได้ไม่เกิน 10 โคโลนี สำหรับนมเปรี้ยวที่ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมัก 1 กรัม

ข้อ 8 นมเปรี้ยวที่ปรุงแต่ง ต้องมีนมเป็นส่วนผสมในปริมาณไม่น้อยกว่าร้อยละ 50 ของน้ำหนัก และมีคุณภาพหรือมาตรฐาน ดังนี้

(1) กรณีไม่ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมัก ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐานตามข้อ 7(1)(6)(7)(8)(9) และ (10) สำหรับคุณภาพหรือมาตรฐานตามข้อ 7(2)(3)(4) และ (5) ให้เป็นไปตามสัดส่วนของนมที่ใช้เป็นส่วนผสม

(2) กรณีที่ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมัก ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐานตามข้อ 7(1)(6)(7)(8) และ (11) สำหรับคุณภาพหรือมาตรฐานตามข้อ 7(2)(3) และ (4) ให้เป็นไปตามสัดส่วนของนมที่ใช้เป็นส่วนผสม

ข้อ 9 นมเปรี้ยวแช่แข็งเมื่อกลับคืนสภาพเดิมแล้ว (thawing) ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐาน ดังนี้

(1) กรณีที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมักและไม่ได้ปรุงแต่ง ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐานตามข้อ 7(1)(2)(3)(4)(6)(7)(8)(9) และ (10) และต้องมีจุลินทรีย์และยีสต์ที่ใช้ในการหมักเหลืออยู่และมีชีวิตด้วย

(2) กรณีที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมักและปรุงแต่ง ต้องมีนมเป็นส่วนผสมในปริมาณไม่น้อยกว่าร้อยละ 50 ของน้ำหนัก และมีคุณภาพหรือมาตรฐานตามข้อ 7(1)(6)(7)(8)(9) และ (10) และต้องมีจุลินทรีย์และยีสต์ที่ใช้ในการหมักเหลืออยู่และมีชีวิตด้วย สำหรับคุณภาพหรือมาตรฐานตามข้อ 7(2)(3) และ (4) ให้เป็นไปตามสัดส่วนของนมที่ใช้เป็นส่วนผสม

(3) กรณีที่ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมักและไม่ได้ปรุงแต่ง ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐานตามข้อ 7(1)(2)(3)(4)(6)(7)(8) และ (11)

(4) กรณีที่ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมักและปรุงแต่ง ต้องมีนมเป็นส่วนผสมในปริมาณไม่น้อยกว่าร้อยละ 50 ของน้ำหนัก และมีคุณภาพหรือมาตรฐานตามข้อ 7(1)(6)(7)(8) และ (11) สำหรับคุณภาพหรือมาตรฐานตามข้อ 7(2)(3)และ (4) ให้เป็นไปตามสัดส่วนของนมที่ใช้เป็นส่วนผสม

ข้อ 10 นมเปรี้ยวชนิดแห้งเมื่ออยู่ในสภาพพร้อมบริโภคตามวิธีละลายเพื่อบริโภคที่ระบุไว้บนฉลาก ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐานดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(1) กรณีไม่ปรุงแต่งต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐานตามข้อ 7(1)(2)(3)(4)(6)(7)(8) และ (11)

(2) กรณีปรุงแต่งต้องมีนมเป็นส่วนผสมในปริมาณไม่น้อยกว่าร้อยละ 50 ของน้ำหนัก และมีคุณภาพหรือมาตรฐานตามข้อ 7(1)(6)(7)(8) และ (11) สำหรับคุณภาพหรือมาตรฐานตามข้อ 7(2)(3) และ (4) ให้เป็นไปตามสัดส่วนของนมที่ใช้เป็นส่วนผสม

กรณีที่มีวัตถุประสงค์การใช้ต่างจากวรรคหนึ่ง อาจมีคุณภาพหรือมาตรฐานต่างจากวรรคหนึ่งได้ แต่ต้องเป็นไปตามที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาประกาศกำหนด โดยความเห็นชอบของคณะกรรมการอาหาร

ข้อ 11 นมเปรี้ยวที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมักและที่ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมักตามข้อ 6(1) ต้องเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิไม่เกิน 8 องศาเซลเซียส ตลอดระยะเวลาหลังบรรจุจนถึงผู้บริโภค และระยะเวลาการบริโภคต้องไม่เกิน 30 วัน นับจากวันที่บรรจุในภาชนะพร้อมจำหน่าย แต่ทั้งนี้ไม่รวมนมเปรี้ยวแช่แข็งหรือนมเปรี้ยวชนิดแห้ง

กรณีที่จะแสดงระยะเวลาการบริโภคเกินกว่าที่กำหนดตามวรรคหนึ่ง ต้องมีมาตรการในการควบคุมคุณภาพหรือมาตรฐานผลิตภัณฑ์ ตลอดระยะเวลาตั้งแต่หลังการบรรจุถึงการจำหน่ายถึงผู้บริโภค เป็นไปตามหลักเกณฑ์ที่ได้รับความเห็นชอบจากคณะกรรมการอาหาร

ข้อ 12 นมเปรี้ยวที่ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมักตามข้อ 6(2) ต้องเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิปกติ ในระยะเวลาไม่น้อยกว่า 5 วัน นับแต่วันที่บรรจุในภาชนะก่อนออกจำหน่าย เพื่อตรวจสอบว่ายังคงมีคุณภาพหรือมาตรฐานตามที่กำหนด และไม่เปลี่ยนแปลงไปจากลักษณะเดิมที่ทำขึ้น แต่ทั้งนี้ไม่รวมนมเปรี้ยวแช่แข็งหรือนมเปรี้ยวชนิดแห้ง

ข้อ 13 การใช้วัตถุเจือปนอาหารนอกจากวัตถุกันเสีย ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง วัตถุเจือปนอาหาร

กรณีตรวจพบวัตถุกันเสียที่ตกค้างมาจากวัตถุที่ใช้ปรุงแต่งกลิ่น รส สี หรือส่วนประกอบอื่นที่มิใช่นมที่เป็นส่วนผสมอยู่ด้วย ปริมาณที่ตรวจพบจะต้องไม่เกินปริมาณที่อนุญาตให้ใช้ในวัตถุดิบเหล่านั้น แล้วแต่กรณี

ข้อ 14 ผู้ผลิตหรือผู้นำเข้านมเปรี้ยวเพื่อจำหน่าย ต้องปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง วิธีการผลิต เครื่องมือเครื่องใช้ในการผลิต และการเก็บรักษาอาหาร

ข้อ 15 การใช้ภาชนะบรรจุนมเปรี้ยว ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง ภาชนะบรรจุ

ข้อ 16 การแสดงฉลากของนมเปรี้ยว ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง ฉลาก เว้นแต่การใช้ชื่ออาหารของนมเปรี้ยวและการแสดงข้อความสำหรับนมเปรี้ยวบางชนิดให้ปฏิบัติ ดังต่อไปนี้

(1) ชื่ออาหารของนมเปรี้ยว

(1.1) นมเปรี้ยวตามข้อ 4(1) ให้ใช้ชื่ออาหารว่า "โยเกิร์ต" หรือ "นมเปรี้ยวโยเกิร์ต" สำหรับกรณีที่ประสงค์จะใช้ชื่ออาหารว่า "นมเปรี้ยว" ต้องกำกับชื่ออาหารด้วยข้อความว่า "ชนิดโยเกิร์ต"

(1.2) นมเปรี้ยวตามข้อ 4(2) ให้ใช้ชื่ออาหารว่า "นมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัส" สำหรับกรณีที่ประสงค์จะใช้ชื่ออาหารว่า "นมเปรี้ยว" ต้องกำกับชื่ออาหารด้วยข้อความว่า "ชนิดแอซิโดฟิลัส"

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(1.3) นมเปรี้ยวตามข้อ 4(3) ให้ใช้ชื่ออาหารว่า "นมเปรี้ยวเคเฟอร์" สำหรับกรณีที่ประสงค์จะใช้ชื่ออาหารว่า "นมเปรี้ยว" ต้องกำกับชื่ออาหารด้วยข้อความว่า "ชนิดเคเฟอร์"

(1.4) นมเปรี้ยวตามข้อ 4(4) ให้ใช้ชื่ออาหารว่า "นมเปรี้ยวคูมิส" สำหรับกรณีที่ประสงค์จะใช้ชื่ออาหารว่า "นมเปรี้ยว" ต้องกำกับชื่ออาหารด้วยข้อความว่า "ชนิดคูมิส"

(1.5) "นมเปรี้ยว" สำหรับนมเปรี้ยวตามข้อ 4(5)

การใช้ชื่ออาหารของนมเปรี้ยวอาจใช้ชื่อทางการค้าได้ แต่ต้องมีข้อความตาม (1.1) (1.2) (1.3) (1.4) หรือ (1.5) แล้วแต่กรณี กำกับชื่ออาหารด้วย โดยจะแสดงอยู่ในบรรทัดเดียวกับชื่อทางการค้าก็ได้ และจะมีขนาดตัวอักษรต่างกับชื่อทางการค้าก็ได้ แต่ต้องสามารถอ่านได้ชัดเจน

(2) นมเปรี้ยวเคเฟอร์และนมเปรี้ยวคูมิส ต้องแสดงข้อความดังต่อไปนี้ด้วย

(2.1) "มีเอทธิลแอลกอฮอล์ไม่เกิน %" (ความที่เว้นไว้ให้ระบุปริมาณแอลกอฮอล์เป็นร้อยละของน้ำหนัก) ด้วยตัวอักษรที่อ่านได้ชัดเจน บริเวณเดียวกับชื่ออาหารหรือเครื่องหมายการค้า

(2.2) "เด็กและสตรีมีครรภ์ ไม่ควรรับประทาน" ด้วยตัวอักษรที่อ่านได้ชัดเจน

(3) นมเปรี้ยวที่ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมักตามข้อ 6 ต้องแสดงข้อความ "พาสเจอร์ไรส์" หรือ "ยูเอชที" เป็นส่วนหนึ่งของชื่ออาหารหรือกำกับชื่ออาหาร แล้วแต่กรณี

ข้อ 17 ให้ผู้ผลิตหรือผู้นำเข้านมเปรี้ยวที่ได้รับเลขสารบบอาหารอยู่ก่อนวันที่ประกาศนี้ใช้บังคับยื่นขอแก้ไขรายละเอียดให้ถูกต้องตามประกาศนี้ ภายในหนึ่งร้อยแปดสิบวัน นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ และยังคงใช้ฉลากเดิมต่อไปได้ แต่ต้องไม่เกินหนึ่งปีนับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ

ข้อ 18 ประกาศนี้ ให้ใช้บังคับตั้งแต่วันถัดจากวันประกาศในราชกิจจานุเบกษาเป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ 17 มกราคม พ.ศ. 2548

(ลงชื่อ) สุดารัตน์ เกยุราพันธุ์

(นางสุดารัตน์ เกยุราพันธุ์)

รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข

(คัดจากราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่ม 122 ตอนพิเศษ 021 ง ลงวันที่ 11 มีนาคม พ.ศ.2548)

รับรองสำเนาถูกต้อง

นางสาวพัชนี อินทรลักษณ์

(นางสาวพัชนี อินทรลักษณ์)

นักวิชาการอาหารและยา 8 ว.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นางสาวมนัสชนก สากิยะ เกิดเมื่อวันที่ 29 กรกฎาคม พ.ศ. 2521 ที่จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาวิทยาศาตรบัณฑิต (วิศวกรรมแปรรูปอาหาร) จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ปีการศึกษา 2541

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้