การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี จุลินทรีย์ และการประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมโคและนมกระบือ

EFFECT OF MIXING COW'S MILK KEFIR WITH BUFFALO'S MILK KEFIR ON THE CHEMICAL, MICROBIAL PROPERTIES AND SENSORY EVAULUATION

จิดาภา เตชาธาราทิพย์

ปิ่น เตชะเพียวเลิศ

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม

คณะอุตสาหกรรมเกษตรอาหาร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2563

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี จุลินทรีย์ และการประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมโคและนมกระบือ

EFFECT OF MIXING COW'S MILK KEFIR WITH BUFFALO'S MILK KEFIR ON THE CHEMICAL,MICROBIAL PROPERTIES AND SENSORY EVAULUATION

จัดทำโดย

จิดาภา เตชาธาราทิพย์ รหัสนักศึกษา 59080066

ปิ่น เตชะเพียวเลิศ รหัสนักศึกษา 59080093

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา

.....

25 / กรกฎาคม / 2563

(ผศ.ดร. สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา)

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อปัญหาพิเศษ การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี จุลินทรีย์ และการประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมโคและนมกระบือ

ชื่อนักศึกษา จิดาภา เตชาธาราทิพย์ รหัสนักศึกษา 59080066

ปิ่น เตชะเพียวเลิศ รหัสนักศึกษา 59080093

หลักสูตร วิทยาศาตรบันทิต สาขาเทคโนลียีการหมักในอุตสากรรกรม

พ.ศ. 2563

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.ดร.สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา

บทคัดย่อ

คีเฟอร์ เป็นผลิตภัณฑ์นมหมักจากกลุ่มจุลินทรีย์แบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก แบคทีเรียที่สร้างกรดอะซิติก และยีสต์ มีประโยชน์ต่อสุขภาพหลายด้านทั้งฤทธิ์จากจุลินทรีย์โพรไบโอติก และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมัก อย่างไรก็ตามคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมแต่ละชนิดมีคุณสมบัติเด่นที่แตกต่างกัน ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์อย่างแรกเพื่อศึกษาปริมาณเมล็ดคีเฟอร์และระยะเวลาในการหมักของคีเฟอร์นมโค และคีเฟอร์นมกระบือที่ส่งผลต่อความพึงพอใจของผู้บริโภค พบว่าคีเฟอร์นมโค และนมกระบือที่ใช้ปริมาณเชื้อร้อยละ 5 น้ำหนักต่อปริมาตร และระยะเวลาการหมัก 14 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีรสชาติ และความข้นหนืดใกล้เคียงกับคีเฟอร์ที่ใช้ปริมาณเชื้อร้อยละ 10 น้ำหนักต่อปริมาตร และระยะเวลาการหมัก 12 ชั่วโมง ณ อุณหภูมิเดียวกัน แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ยิ่งไปกว่านั้นปริมาณเมล็ดคีเฟอร์ และระยะเวลาการหมักที่มากขึ้นส่งผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อเนื้อสัมผัสในคีเฟอร์นมกระบือ ($p<0.05$) วัตถุประสงค์อย่างที่สองคือหาอัตราส่วนผสมที่เหมาะสมของคีเฟอร์นมกระบือผสมกับคีเฟอร์นมโคทั้งหมด 3 สูตร ได้แก่ คีเฟอร์นมกระบือต่อคีเฟอร์นมโค 25:75 50:50 และ 75:25 โดยมีคีเฟอร์นมกระบือ และคีเฟอร์นมโคเป็นตัวอย่างควบคุม คะแนนความชอบโดยรวมของคีเฟอร์ที่ผสมนมกระบือและนมโคมากที่สุดอยู่ในคีเฟอร์นมที่ผสมนมกระบือต่อนมโคในอัตราส่วน 50:50 และ 75:25 เมื่อนำทั้งสองตัวอย่างไปวิเคราะห์ค่าทางเคมีพบว่า คีเฟอร์นมกระบือต่อคีเฟอร์นมโคในอัตราส่วน 50:50 มีค่าพีเอชต่ำว่า 75:25 คือ 4.87 และ 5.05 ตามลำดับ และยังมีความเข้มข้นของกรดแลคติกมากกว่า (ร้อยละ 0.69 น้ำหนักต่อปริมาตร และร้อยละ 0.60 น้ำหนักต่อปริมาตร ตามลำดับ) แต่คีเฟอร์นมกระบือต่อคีเฟอร์นมโคในอัตราส่วน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

75:25 พบแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก และยีสต์ (1.9×10^8 CFU/ml และ 1.9×10^7 CFU/ml ตามลำดับ) มากกว่าคีเฟอร์นมกระบือต่อคีเฟอร์นมโคในอัตราส่วน 50:50 (4.5×10^7 CFU/ml และ 1.6×10^6 CFU/ml ตามลำดับ) จากงานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าคีเฟอร์นมกระบือผสมนมโคสามารถพัฒนาคุณลักษณะทางเคมี จุลินทรีย์ และทางประสาทสัมผัสในผลิตภัณฑ์คีเฟอร์นมได้

คำสำคัญ: คีเฟอร์ ผลิตภัณฑ์นมหมัก คีเฟอร์นมโค คีเฟอร์นมกระบือ การทดสอบทางประสาทสัมผัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special problem title	Effect of mixing cow's milk kefir with buffalo's milk kefir on the chemical, microbial properties and sensory evaluation
Student name	Jidapha Techataratip Student ID 59080066
	Pin Techapeolers Student ID 59080093
Program	Bachelor of Science in Industrial Fermentation Technology
Year	2020
Advisor	Assist.Prof.Dr. Soisuda Pornpukdeewattana

ABSTRACT

Kefir is an acidic and slightly alcoholic fermented milk product, produced a mixture of lactic and acetic acid bacteria and yeasts. Kefir has numerous benefits to human health from probiotic bacteria and bioactive compounds which produced during fermentation. Therefore, the first part of a two-part synthesis research focuses on suitable ratio of kefir grains to milk for kefir made from cow and buffalo's milk and the effects of incubation time on sensory evaluation. Cow's milk kefir and buffalo's milk kefir made from 5% (wt/vol) kefir grains and incubated 14 hours were the same flavor and viscosity as kefir made from 10% (wt/vol) and incubated 12 hours, all milk kefir sample were incubated at 25℃, ($p>0.05$). In addition, the apparent viscosity of buffalo's milk kefir was high and texture significantly different ($p<0.05$) depended on increasing the incubation time and the concentration of kefir grains. The second part considers the preferred ratio of buffalo and cow's milk kefir between 25:75, 50:50 and 75:25, which kefir made from buffalo and cow's milk were control samples. Combining of buffalo's milk kefir with cow's milk kefir in 50:50 and 75:25 had highest general impression, it was found that the pH of 50:50 was 4.87 while 75:25 was 5.05, moreover, the amount of lactic acid in 50:50 was higher than 75:25 (0.69% w/v and 0.60% w/v, respectively). Whereas, the counts of lactic acid bacteria and yeast in the mixed buffalo and cow's milk kefir in the ratio 75:25 (1.9×10^8 CFU/ml and 1.9×10^7 CFU/ml, respectively) was higher than 50:50 (4.5×10^7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

CFU/ml and 1.6×10^6 CFU/ml, respectively). Based on results of this investigation, mix buffalo and cow's milk kefir can improve chemical, microbial and sensory characteristics of milk kefir.

Keywords: Kefir, Fermented milk products, Cow's milk kefir, Buffalo's milk kefir, Sensory characteristics

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ปัญหาพิเศษเรื่อง การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี จุลินทรีย์ และการประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมโคและนมกระบือ มิอาจสามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีหากขาดบุคคลสำคัญ ได้แก่ ผศ.ดร. สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา คอยแนะแนวทาง แนวคิด และการสนับสนุนตลอดการดำเนินงานให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณครอบครัว รุ่นพี่ เพื่อน และรุ่นน้องที่คอยให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจตลอดระยะเวลาดำเนินงาน

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่เอื้อเฟื้อเครื่องมือ อุปกรณ์ และสถานที่ในการดำเนินงานให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

จิดาภา เตชาธาราทิพย์

ปิ่น เตชะเพียวเลิศ

11 พฤษภาคม 2563

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

เรื่อง	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	VIII
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	VIII
กิตติกรรมประกาศ	VIII
สารบัญ	VIII
สารบัญตาราง	VIII
สารบัญภาพ	VIII
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	1
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	1
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
2.1 นมเปรี้ยวคีเฟอร์	2
2.2 เมล็ดคีเฟอร์	3
2.3 กระบวนการผลิตคีเฟอร์	5
2.4 ประโยชน์ของแบคทีเรียกรดแลคติก	6
2.5 นม	7
2.6 ปัจจัยที่มีผลต่อการทำคีเฟอร์	11
2.7 สารเมทาบอไลต์ที่ถูกสร้างขึ้นระหว่างกระบวนการหมักคีเฟอร์นม	13
2.8 ความหมายของเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์และการใช้ประโยชน์จากเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์	17
2.9 ความแตกต่างระหว่างคีเฟอร์และโยเกิร์ต	18
2.10 กฎหมายที่เกี่ยวข้องกับคีเฟอร์	18
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	20
3.1 วัตถุดิบและสารเคมี	20
3.2 อุปกรณ์	20
3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง	22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	25
4.1 การเพิ่มจำนวนคีเฟอร์ในนมกระบือและนมโค	25
4.2 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์นมที่ผลิตจากนมโคผสมนมกระบือ	26
4.3 การทดสอบปริมาณเมล็ดคีเฟอร์ที่ใช้ในการหมักและระยะเวลาในการหมักคีเฟอร์	27
4.4 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์นมที่ผลิตจากคีเฟอร์นมกระบือผสมคีเฟอร์นมโค	31
4.5 ค่าทางเคมี จุลินทรีย์ และคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์นมกระบือต่อคีเฟอร์นมโคในอัตราส่วน 50:50 และ75:25	34
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	43
บรรณานุกรม	45
ภาคผนวก	52
ภาคผนวก ก	53
ภาคผนวก ข	54
ภาคผนวก ค	57
ภาคผนวก ง	59
ภาคผนวก จ	62
ประวัติผู้เขียน	64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ส่วนประกอบของจุลินทรีย์ที่พบในคีเฟอร์และเมล็ดคีเฟอร์ในแหล่งที่มาต่างๆ	4
2.2	องค์ประกอบที่สำคัญในน้ำนมกระบือและน้ำนมโค (ต่อน้ำนม 100 กรัม)	10
4.1	ผลของปริมาณเมล็ดคีเฟอร์และระยะเวลาในการหมักต่อระยะเวลาในการไหล	29
4.2	ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์นมโคที่ใช้ปริมาณเมล็ดคีเฟอร์และระยะเวลาการหมักต่างกัน	30
4.3	ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์นมกระบือที่ใช้ปริมาณเมล็ดคีเฟอร์และระยะเวลาการหมักต่างกัน	31
4.4	การทดสอบทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมกระบือผสมนมโค	33
4.5	ระดับความเปรี้ยวและระยะเวลาของการไหลของคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมกระบือผสมนมโค	33
4.6	ค่าพีเอช ปริมาณกรดแลคติก และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ในคีเฟอร์หลังการหมัก	35
4.7	แบคทีเรียที่พบในคีเฟอร์ผสมระหว่างคีเฟอร์จากนมกระบือต่อคีเฟอร์จากนมโคในอัตราส่วน 75:25 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Agar	36
4.8	แบคทีเรียที่พบในคีเฟอร์ผสมระหว่างคีเฟอร์จากนมกระบือต่อคีเฟอร์จากนมโคในอัตราส่วน 50:50 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Agar	38
4.9	ยีสต์ที่พบในคีเฟอร์ผสมระหว่างคีเฟอร์จากนมกระบือต่อคีเฟอร์จากนมโคในอัตราส่วน 75:25 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD Agar	40
4.10	ยีสต์ที่พบในคีเฟอร์ผสมระหว่างคีเฟอร์จากนมกระบือต่อคีเฟอร์จากนมโคในอัตราส่วน 50:5 0บนอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD Agar	40
4.11	การทดสอบทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมกระบือผสมนมโค	42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	เมล็ดคีเฟอร์	4
2.2	Lactic Acid Bacteria	6
2.3	กระบือพันธุ์มูร่าห์	10
2.4	โครงสร้างโมเลกุลน้ำตาลแลคโตส	13
2.5	กระบวนการเปลี่ยนแลคโตสเป็นเอทานอล	14
2.6	กระบวนการเมทาบอลิซึมของแบคทีเรียแลคติกในวิถีทางเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟและวิถีโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ	15
2.7	กระบวนการสลายกลูโคสเป็นแลคเตท 2 โมล	16
2.8	กระบวนการเมทาบอลิซึมต่างๆ ที่นำไปสู่การสร้างแอซีทาลดีไฮด์ของแบคทีเรียแลคติก	17
3.1	โหลที่ทำการเตรียมเมล็ดคีเฟอร์นมโคและนมกระบือ ตามลำดับ	22
4.1	การเพิ่มจำนวนของเมล็ดคีเฟอร์ในนมกระบือและนมโค และค่าพีเอชของคีเฟอร์นมกระบือและคีเฟอร์นมโค	26
4.2	คีเฟอร์นมโคที่ใช้ปริมาณเชื้อร้อยละ 5 น้ำหนักต่อปริมารตรนมโดยใช้เวลาการหมัก 12 (ก) และ 14 ชั่วโมง (ข) และคีเฟอร์นมโคที่ใช้ปริมาณเชื้อร้อยละ 10 น้ำหนักต่อปริมาตรนมโดยใช้เวลาการหมัก 12 (ค) และ 14 (ง) ชั่วโมง ตามลำดับ	28
4.3	คีเฟอร์นมกระบือที่ใช้ปริมาณเชื้อร้อยละ 5 น้ำหนักต่อปริมาตรนม โดยใช้เวลาการหมัก 12 (ก) และ 14 (ข) ชั่วโมง และคีเฟอร์นมกระบือที่ใช้ปริมาณเชื้อร้อยละ 10 น้ำหนักต่อปริมาตรนม โดยใช้เวลาการหมัก 12 (ค) และ 14 (ง) ชั่วโมง ตามลำดับ	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

เนื่องจากคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมโคมีกลิ่นสดชื่นที่เป็นเอกลักษณ์ของคีเฟอร์มากกว่าคีเฟอร์นมกระบือ ส่วนคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมกระบือมีคุณค่าทางอาหารที่สูงกว่า (Gul และคณะ, 2018) แต่การผลิตคีเฟอร์โดยใช้นมกระบือมีต้นทุนการผลิตที่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมโค จึงมีความสนใจที่จะศึกษาการผสมกันระหว่างคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมโค และคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมกระบือเพื่อให้ได้คีเฟอร์ที่มีทั้งมีคุณประโยชน์ต่อร่างกาย และมีคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสที่ดี

งานวิจัยนี้ทำให้เข้าใจถึงองค์ประกอบทางเคมี การเจริญของจุลินทรีย์ และลักษณะทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์ที่ผสมกันระหว่างคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมโค และคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมกระบือซึ่งก่อให้เกิดคีเฟอร์ที่มีต้นทุนในการผลิตที่ต่ำลง และคาดว่าจะได้รับการยอมรับจากผู้บริโภค

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมกระบือและนมโคผสมกัน

1.2.2 ศึกษาการเจริญของจุลินทรีย์ของคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมกระบือและนมโคผสมกัน

1.2.3 ศึกษาคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมกระบือและนมโคผสมกัน

การทดลองอยู่ในช่วง COVID-19 จึงไม่สามารถดำเนินการทดลองในห้องปฏิบัติการได้ ในบางการทดลองจึงออกแบบการทดลองง่ายๆ ที่สามารถทำได้ที่บ้าน

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 การเพิ่มคุณประโยชน์แก่คีเฟอร์นมโดยการใช้วัตถุดิบตั้งต้นเป็นนมโคผสมกับนมกระบือซึ่งทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณประโยชน์ต่อร่างกายมากยิ่งขึ้นจากสารอาหารในนมกระบือที่มีอยู่สูง

1.3.2 รสชาติของคีเฟอร์ที่เป็นเอกลักษณ์มากขึ้นจากกลิ่นรสที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นจากนมโคผสมกับนมกระบือเพื่อให้คีเฟอร์เป็นที่ยอมรับจากผู้บริโภคมากยิ่งขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 นมเปรี้ยวคีเฟอร์

คีเฟอร์ หรือ เคเฟอร์(kefir) หมายถึง นมเปรี้ยว (fermented milk) ชนิดหนึ่งคาดว่ามีต้นกำเนิดมาจากบริเวณทางตอนเหนือของเทือกเขาคอเคซัส (Caucasus) ตั้งแต่ในยุค 200 ปีก่อนคริสตกาลซึ่งมีรากศัพท์มาจากคำในภาษาตุรกี “keyif” หมายถึง “good feeling หรือ ความรู้สึกดี” ซึ่งสื่อความหมายถึงผลในเชิงสุขภาพต่อผู้บริโภค

คีเฟอร์เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการหมักน้ำนม เช่น นมวัว นมแพะ (ใช้ในผลิตภัณฑ์ดั้งเดิม) นมแกะ นมกระบือ นมม้า และนมอูฐ โดยกิจกรรมทางเมตาบอลิซึม (metabolic activity) ของแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก ได้แก่ *Lactobacillus kefiri*, *Leuconostoc sp, Lactococcus sp* และแบคทีเรียที่สร้างกรดอะซีติกในสกุล *Acetobacter* ร่วมกับยีสต์กลุ่มที่สามารถหมักน้ำตาลแลคโตส ได้แก่ *Kluyveromyces marxianus* และยีสต์กลุ่มที่ไม่สามารถหมักน้ำตาลแลคโตส ได้แก่ *Saccharomycesunisporus*, *Saccharomyces cerevisiae* และ*Saccharomyces exiguous* โดยจุลินทรีย์กล้าเชื้อผสม (mixed starter cultures) ดังกล่าวอาศัยอยู่ร่วมกันแบบพึ่งพา (symbiosis) ในโครงสร้างที่เกิดจากการรวมตัวของชั้นพอลิแซ็กคาไรด์ที่เชื้อแบคทีเรียสร้าง และปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ซึ่งประกอบไปด้วยน้ำตาลกลูโคส และกาแลคโตสร่วมกับโปรตีนเคซีน และไขมันนม เรียกว่า คีเฟอราน (kefiran) ซึ่งทำให้จุลินทรีย์กล้าเชื้อผสมจับตัวเป็นกลุ่มก้อนมีลักษณะเป็นเม็ดสีขาว มีความเหนียว และยืดหยุ่น (gelatinous biomass) รูปร่างไม่แน่นอน คล้ายดอกกะหล่ำ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง 2 ถึง 30 มิลลิเมตร เรียกว่า เมล็ดคีเฟอร์ (kefir grains)

คีเฟอร์เป็นผลิตภัณฑ์อาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงประกอบไปด้วยสารอาหารหลักจากน้ำนม ได้แก่ โปรตีน และกรดอะมิโนจำเป็น เช่น ไลซีน ไอโซลิวซีน ฟีนิลลาลานีน วาลีน ทรีโอนีน เมทิโอนีน และทริปโตเฟน อีกทั้งยังอุดมไปด้วยแร่ธาตุ เช่น แคลเซียม แมคนีเซียม ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม และยังประกอบไปด้วยวิตามินอีกหลากหลายชนิด เช่น วิตามินเอ วิตามินบี วิตามินซี และวิตามินเคที่จำเป็นต่อร่างกายซึ่งมีรายงานว่ากิจกรรมการย่อยสลายโปรตีน (proteolytic activity) ของจุลินทรีย์กล้าเชื้อในระหว่างกระบวนการหมักส่งผลให้ปริมาณกรดอะมิโนอิสระ (free amino acid) ในคีเฟอร์เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเทียบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กับปริมาณที่พบในน้ำนมที่ใช้เป็นวัตถุดิบอีกทั้งน้ำตาลแลคโตสบางส่วนในน้ำนมจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ β-galactosidase จากจุลินทรีย์ทำให้ผู้ที่มีภาวะการย่อยแลคโตสผิดปกติ (lactose Intolerance) สามารถบริโภคผลิตภัณฑ์จากนมชนิดนี้ได้ (Hertzler และคณะ, 2003)

ประเด็นสำคัญอีกประการหนึ่งคือแบคทีเรียกรดแลคติก และยีสต์ที่เป็นองค์ประกอบในเมล็ดคีเฟอร์บางสายพันธุ์จัดเป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติก (probiotics) หมายถึง จุลินทรีย์ที่มีชีวิตซึ่งเมื่อผู้บริโภคได้รับเข้าสู่ร่างกายในปริมาณที่เพียงพอจะทำให้เกิดผลที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ เช่น ปรับให้เกิดสภาวะสมดุลในระบบลำไส้ ลดความเสี่ยงในการติดเชื้อจากจุลินทรีย์ก่อโรค อาการท้องเสีย มะเร็งลำไส้ ลดปริมาณคอเลสเตอรอลในเลือด และช่วยเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันให้กับร่างกาย เป็นต้น (Ahmed และคณะ, 2013)

จากเหตุผลดังกล่าวคีเฟอร์จึงถูกจัดให้เป็นผลิตภัณฑ์ในกลุ่มอาหารเชิงหน้าที่ (functional food) ซึ่งให้ประโยชน์หรือคุณสมบัติอื่นๆ ในด้านการส่งเสริมสุขภาพนอกเหนือจากคุณค่าทาง โภชนาการขั้นพื้นฐาน (Shiby และคณะ, 2013) นอกจากนี้มีรายงานว่าแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกในเมล็ดคีเฟอร์บางสายพันธุ์สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรค (bacteriocin) เช่น *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Listeria sp*, *Salmonella sp* และ*Staphylococcus sp* ในอาหาร ได้ (Kim และคณะ, 2016) สำหรับในประเทศไทยคีเฟอร์มีชื่อสามัญที่รู้จักกันโดยทั่วไปว่า “นมบัวหิมะ หรือ โยเกิร์ตบัวหิมะ (ทิเบต)” เป็นที่นิยมในกลุ่มผู้บริโภคอาหารเพื่อสุขภาพ (ศิริรัตน์, 2553)

2.2 เมล็ดคีเฟอร์

คีเฟอร์เป็นการการหมักนมโดยใช้เมล็ดคีเฟอร์ (ภาพที่ 2.1) ที่ประกอบไปด้วยจุลินทรีย์หลัก 3 ชนิด ได้แก่ แบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก (lactic acid bacteria, LAB) แบคทีเรียที่สร้างกรดอะซิติก (acetic bacteria) และยีสต์ ที่อยู่ร่วมกันแบบพึ่งพาอาศัยกัน (symbiosis) และยึดเกาะกันด้วยสารที่มีลักษณะเป็นเมือกเหนียวประเภทโพลีแซคคาไรด์จนเกิดการก่อตัวขึ้นเป็นรูปร่างคล้ายดอกกะหล่ำ มีสีขาวจนถึงเหลืองอ่อน โดยหลังจากการหมักนมด้วยเมล็ดคีเฟอร์จะได้กรดแลคติก คุณสมบัติความเป็นโพรไบโอติกของคีเฟอร์นั้นมาจากเมล็ดคีเฟอร์ซึ่งองค์ประกอบของเมล็ดคีเฟอร์จะต่างกันไปตามแหล่งที่มาและวิธีการผลิตดังแสดงใน ตารางที่ 2.1 และพบว่าความหลากหลายของจุลินทรีย์มีผลต่อลักษณะทางเคมีกายภาพและสมบัติทางชีวภาพ (Jianzhong และคณะ, 2009; Osman และคณะ, 2018; Pogagacic และคณะ, 2013)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 2.1 เมล็ดคีเฟอร์

ที่มา: Sumeyya (2019)

ตารางที่ 2.1 ส่วนประกอบของจุลินทรีย์ที่พบในคีเฟอร์และเมล็ดคีเฟอร์ในแหล่งที่มาต่างๆ

Microorganism	Source – Country	Reference
Lactobacillus kefiri, Lactobacillus kefiranofaciens, Leuconostoc mesenteroides, Lactococcus lactis, Lactobacillus paracasei, Lactobacillus helveticus,Gluconobacter japonicus, Lactobacillus uvarum, Acetobacter syzygii, Lactobacillus satsumensis, Saccharomyces cerevisiae, Leuconostoc sp, *Streptococcus* sp, *Acetobacter* sp, *Bifidobacterium* sp, *Halococcus* sp, *Lactobacillus amylovorus, Lactobacillus buchneri, Lactobacillus crispatus, Lactobacillus kefiranofaciens* ssp. *kefiranofaciens, Lactobacillus kefiranofaciens* ssp *kefirgranum, Lactobacillus parakefiri*	Kefir grains – Brazil	Miguel *et al*., 2010; Leite *et al*., 2012; Zanirati *et al*., 2015
Lactobacillus kefiranofaciens, Leuconostoc mesenteroides, Lactococcus lactis, Lactobacillus helveticus, Kluyveromyces marxianus, Saccharomyces	Kefir grains - China	Jianzhong *et al*., 2009; Gao *et al*., 2012, 2013a

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

cerevisiae, Pseudomonas sp, *Kazachstania unispora, Kazachstania exigua, Lactobacillus kefiri, Lactobacillus casei, Bacillus subtilis, Pichia kudriavzevii, Leuconostoc lactis, Lactobacillus plantarum, Acetobacter fabarum, Pichia guilliermondii, Lactococcus* sp, *Lactobacillus* sp, *Acetobacter* sp, *Shewanella* sp, *Leuconostoc* sp, *Streptococcus* sp, *Acinetobacter* sp, *Pelomonas* sp, *Dysgonomonas* sp, *Weissella* sp, *Shewanella* sp		
Lactobacillus kefiri, Lactobacillus kefiranofaciens, Leuconostoc mesenteroides, Lactococcus lactis, Escherichia coli, Pseudomonas sp, *Saccharomyces turicensis*	Kefir grains – Taiwan	Wyder *et al*., 1999; Chen *et al*., 2008; Wang *et al*., 2012

ที่มา: Prado M.R. และคณะ (2015)

2.3 กระบวนการผลิตคีเฟอร์

กระบวนการผลิตคีเฟอร์ด้วยวิธีดั้งเดิม (traditional method) ทำได้โดยการนำเมล็ดคีเฟอร์ (ร้อยละ 2-10) ใส่ในน้ำนมที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนเพื่อฆ่าเชื้อเบื้องต้น และนำบ่มในภาชนะปิดที่อุณหภูมิประมาณ 20-25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 18-24 ชั่วโมง จากนั้นกรองเพื่อแยกเอาเมล็ดคีเฟอร์ออก ซึ่งเมล็ดคีเฟอร์ดังกล่าวสามารถนำกลับมาใช้หมักซ้ำได้ใหม่

กระบวนการผลิตในระดับอุตสาหกรรมสมัยใหม่นิยมใช้กระบวนการหมักแบบรัสเซีย (Russian method) หรือ แบบยุโรป (European method) และมีการนำกล้าเชื้อผสมพร้อมใช้ (direct-vat-inoculation: DVI culture) ที่ผ่านการคัดเลือกสายพันธุ์ และเก็บรักษาในรูปแบบกล้าเชื้อแช่เยือกแข็ง (frozen culture) หรือ ทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dried culture) มาใช้แทนเมล็ดคีเฟอร์เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพสม่ำเสมอ และมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคซึ่งความหลากหลายของชนิด และสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่เป็นองค์ประกอบของกล้าเชื้อ ปริมาณ สัดส่วนกล้าเชื้อที่ใช้ต่อน้ำนม ชนิดของน้ำนมที่ใช้เป็นวัตถุดิบ และกระบวนการให้ความร้อน ตลอดจนระยะเวลา และสภาวะแวดล้อมในระหว่างกระบวนการหมักนับเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลให้คุณภาพทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์ที่ได้มีความแตกต่างกัน (Sakar, 2008) โดยทั่วไปผลิตภัณฑ์จะมีเนื้อสัมผัสเป็นของเหลวข้น สีขาวนวล มีความเป็นกรด และกลิ่นเปรี้ยวจากกระบวนการหมัก

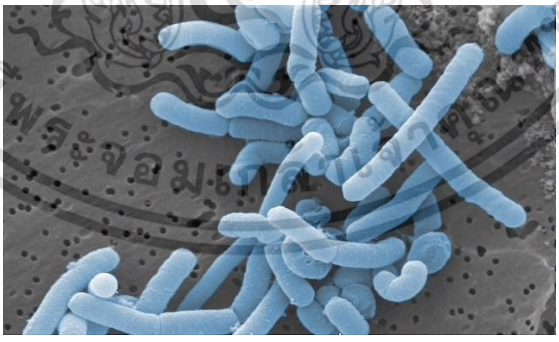
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดแลคติก (lactic acid fermentation) และกรดอะซีติก (acetic acid fermentation) ซึ่งเป็นผลจากกิจกรรมทางเมตาบอลิซึมของแบคทีเรีย มีกลิ่นแอลกอฮอล์และความซ่าเล็กน้อยจากก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นจาก กระบวนการหมักโดยกิจกรรมทางเมตาบอลิซึมของยีสต์ (alcoholic fermentation)

2.4 ประโยชน์ของแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก

แบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกมีหลายชนิด (ภาพที่ 2.2) ได้แก่ แลคโตบาซิลลัส (*Lactobacillus*) วาโกคอกคัส (*Vagococcus*) แลคโตคอกคัส (*Lactococcus*) เอนเทอโรคอกคัส(*Enterococcus*) พีดิโอคอกคัส (*Pediococcus*) ลูโคนอสทอค (*Leuconostoc*) เอโรคอกคัส (*Aerococcus*) ไวสเซลลา (*Weissella*) ออยโนคอกคัส (*Oenococcus*) สเตรปโตค็อกคัส (*Streptococcus*) และกลุ่มบิฟิโดแบคทีเรียม (*Bifidobacterium*)

จุลินทรีย์เหล่านี้มีประโยชน์ต่อสุขภาพหลายประการ ได้แก่ ช่วยรักษาสมดุลในระบบทางเดินอาหาร เช่น ช่วยลดอาการการแพ้น้ำตาลแลคโตส (lactose intolerance) โดยผู้ที่มีอาการนี้ร่างกายจะไม่สามารถผลิตเอนไซม์แลคเตสซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยน้ำตาลแลคโตส ส่งผลให้เมื่อดื่มนมจะทำให้เกิดอาการท้องเสีย แต่เมื่อดื่มนมที่มีการหมักด้วยแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกอาการแพ้นมจะลดน้อยลงเนื่องจากมีการเพิ่มการทำงานของเอนไซม์กาแลคโตซิเดส (galactosidase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ย่อยน้ำตาลแลคโตสทำให้กลายเป็นกรดแลคติกที่ย่อยได้ง่าย ดูดซึมได้ง่ายขึ้น และช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรค (pathogenic micro-organism) ในระบบทางเดินอาหาร (Shiby และ Mishra, 2013)



ภาพที่ 2.2 Lactic Acid Bacteria (LAB)

ที่มา: Perez และคณะ (2014)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 นม

นมและผลิตภัณฑ์นมหมักถูกพิจารณาว่าเป็นแหล่งอาหารที่มีโภชนาการสูง และยังช่วยในการต้านอนุมูลอิสระในร่างกายคนสามารถผลิตอนุมูลอิสระ และในอาหารหลายชนิดมีสารเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชั่น (pro-oxidants) ดังนั้นควรบริโภคอาหารที่มีความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่เหมาะสมเพื่อป้องกันอัตรายต่อสุขภาพ และการเกิดภาวะที่ไม่สมดุลของการเกิดอนุมูลอิสระ (oxidative stresses) (Halliwell และคณะ, 2015; Pereira และคณะ, 2016) ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระในนมและผลิตภัณฑ์นมหมักช่วยควบคุมอนุมูลอิสระ และยับยั้งการปฏิกิริยาออกซิเดชั่นที่เกิดขึ้นเอง (auto-oxidation) โดยเวย์โปรตีน (whey protein) เป็นแหล่งต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญที่สุดของนมซึ่งในนมมีสารต้านอนุมูลอิสระอยู่ 2 กลุ่ม คือ สารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายในน้ำ และสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลลายในไขมัน นอกจากนี้เอนไซม์ (enzyme) บางชนิดในนมมีความสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ เช่น กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดสและคะตะเลส (glutathione peroxidase and catalase) (Decker และคณะ, 2000; Khan และคณะ, 2020; Power และคณะ, 2013) และยังพบว่าไบโอแอคทีฟ เปปไทด์ (bioactive peptide) ที่ถูกสร้างระหว่างกระบวนการหมักนมมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่สูง ยิ่งไปกว่านั้นเมื่อเปรียบเทียบนมกับผลิตภัณฑ์นมหมักพบว่าผลิตภัณฑ์นมหมักมีคุณประโยชน์ต่อร่างกายมากกว่า เพราะว่าผลิตภัณฑ์นมหมักมีแคลเซียม (calcium) โพแทสเซียม (potassium) ไรโบฟลาวิน (riboflavin) ไทแอมีน (thiamin) วิตามินบี12 (vitamin B12) กรดโฟลิค (folic acid) และวิตามินบี6 (vitamin B6) สูงกว่านมธรรมดา (Amirdivani และคณะ, 2011; Connor และคณะ, 2006) ยิ่งไปกว่านั้นพบว่าจากทั่วทุกมุมโลกนมโคถูกใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์นมหมักมากที่สุด และนมกระบือถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในการเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์จากนม (Murtaz และคณะ, 2011) อย่างไรก็ตามจากการศึกษาล่าสุดพบว่าชนิดของนมส่งผลกระทบที่สำคัญต่อผลิตภัณฑ์นมหมักในด้านกายภาพ เคมี และคุณสมบัติทางประสาทสัมผัส (Gomes และคณะ, 2013)

2.5.1 นมโค เป็นของเหลวที่มีน้ำเป็นตัวทำละลาย และมีสารต่างๆละลายอยู่ซึ่งแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ ไขมัน จะกระจายตัวอยู่ในน้ำเป็นอิมัลชั่น (emulsion) มีโปรตีน เช่น เคซีน (casein) อัลบูมิน (albumin) และโกลบูลิน (globulin) ละลายอยู่ในรูปของสารแขวนลอย (Colloid) และน้ำตาล กรดอะมิโน วิตามินต่างๆ และเกลือแร่ต่างๆละลายอยู่ในรูปของ crystalloid หรือสารละลายแท้ ส่วนประกอบของน้ำนมโคแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือ ส่วนประกอบที่มีปริมาณมากและส่วนประกอบที่มีปริมาณน้อย ส่วนประกอบที่มีปริมาณมากได้แก่น้ำ ไขมัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรท และ แร่ธาตุต่างๆ ส่วนประกอบที่มีปริมาณน้อย ได้แก่ เอนไซม์ ฟอสโฟลิปิด (phospholipid) สเตอรอล (sterol) รงควัตถุ วิตามินต่างๆ สารที่ให้กลิ่น สารประกอบไนโตรเจนที่ไม่ใช่โปรตีน และแก๊ส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.1.1 ไขมัน ไขมันนมหรือ Milk fat หรือ Butter fat มีปริมาณแปรปรวนมากกว่าชนิดอื่นๆ มีค่าประมาณร้อยละ 3.9 การแปรปรวนขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆเช่นพันธุ์สัตว์ อาหาร ฤดูกาล ฯลฯ ไขมันนมประกอบด้วยไตรกลีเซอไรด์ (triglycerides) ร้อยละ 98-99 ส่วนอีกร้อยละ 1- 2 เรียกว่า milk lipids ซึ่งประกอบด้วย ฟอสโฟลิพิด (phospholipid) สเตอรอล (sterol) แคโรทีนอยด์ (carotenoid) วิตามินเอ วิมาตินดี วิตามินอี วิตามินเค และ free-fatty acid เล็กน้อย

2.5.1.2 โปรตีน โปรตีนในนมโคที่สำคัญ ได้แก่ เคซีน (casein) แล็กตัลบูมิน (lactalbumin) และ แล็กโทโกลบูลิน (lactoglobulin) โปรตีนเคซีนมีประมาณร้อยละ 80 ของโปรตีนทั้งหมด ส่วนแล็คตัลบูมินและแล็คโทโกลบูลิน รวมกันเรียกว่า Serum-protein

2.5.1.3 น้ำตาลและคาร์โบไฮเดรต น้ำตาลที่พบมากคือ น้ำตาลแล็กโทส (lactose) เป็นคาร์โบไฮเดรตชนิดเดียวที่มีเป็นจำนวนมากในนม เป็นส่วนของของแข็งที่มี มากที่สุดและมีปริมาณค่อนข้างคงที่ในนมโคมีปริมาณแล็กโทสร้อยละ 4.4-5.2 ค่าเฉลี่ยประมาณร้อยละ 4.9 ปัจจัยสำคัญที่ผลต่อระดับหรือปริมาณแล็กโทสในนมคือ สภาวะของเต้านม ถ้าเต้านมอักเสบจะมีผลทำให้เกลือคลอไรด์ในนมเพิ่มขึ้นและแล็คโทสลดลงและจะแปรผกผันกับปริมาณเถ้า แล็กโทสมี ความสำคัญต่อขบวนการหมักและการบ่มของผลิตภัณฑ์นม และเป็นตัวช่วยเพิ่มคุณค่าทางอาหารในนมและผลิตภัณฑ์นม นอกจากนั้นยังช่วยทำให้ผลิตภัณฑ์นมที่ต้องใช้ความร้อนสูงเกิดกลิ่นและสี เนื่องจากเกิดการไหม้

2.5.1.4 แร่ธาตุ (Minerals) ในนมมีแร่ธาตุต่างๆหลายชนิด เป็นแร่ธาตุอาหารที่สาคัญ และจำเป็นต่อร่างกาย (วิยดา, 2560)

2.5.1.5 วิตามิน (Vitamins) ในนมโคมีวิตามินเกือบทุกชนิดทั้งที่ละลายในไขมันและที่ละลายในน้ำ ยิ่งไปกว่านั้นยังพบรงควัตถุที่ละลายได้ในไขมัน ได้แก่ แคโรทีน (carotene) จะให้สีเหลืองหรือครีมแก่นม ส่วนไรโบฟลาวิน (riboflavin) ที่ละลายได้ในน้ำจะให้สีเหลืองอ่อนในนมที่ปราศจากไขมัน (สุรัสสา และคณะ, 2547)

2.5.2 นมกระบือ ปัจจุบันเริ่มมีกลุ่มคนไทยที่ให้ความสนใจการบริโภคนมกระบือ ในขณะที่ข้อมูลพื้นฐานเกี่ยวกับนมกระบือยังมีน้อย เนื่องจากคนไทยส่วนใหญ่คุ้นเคยกับการบริโภคนมโคและนมแพะ ซึ่งนมควายหรือนมกระบือที่ดื่มกันไม่ได้มาจากกระบือปลัก (Swam buffalo) ซึ่งเป็นสายพันธุ์กระบือที่พบเห็นและนิยมเลี้ยงในประเทศไทย แต่เป็นกระบือแม่น้ำ (water buffalo หรือ river buffalo) ที่นิยมเลี้ยงไว้สำหรับให้น้ำนม เช่น กระบือนมพันธุ์มูร่าห์ (Murrah breed) (ภาพที่ 2.3) จากประเทศอินเดีย ซึ่งได้ชื่อว่าเป็นราชินีของกระบือนม เนื่องจากมีความสามารถในการให้น้ำนมสูงกว่ากระบือนมพันธุ์อื่นๆ (นิกร, 2554) กระบือนมพันธุ์มูร่าห์นี้มีลักษณะเด่น คือ เขาโค้งงอ หัวมีขนาดใหญ่กว่ากระบือปลัก หน้าผากนูน (spiral) ผิวหนังและขนสีดำสนิท (jet black) หางสีขาว กระบือพันธุ์นี้จะเจริญเต็มวัยเมื่ออายุ 2 ปีครึ่ง ถึง 3 ปี ตัวเมียมีเต้านมขนาดใหญ่และเห็นได้ชัด กระบือตัวเมียอุ้มท้องเฉลี่ย 314 วัน และให้ น้ำนมเฉลี่ย 1,300 ถึง 2,300 ลิตร ในระยะให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำนม 8 ถึง 10 เดือน (ประสบ, 2531) ที่สำคัญน้ำนมกระบือยังมีแร่ธาตุแคลเซียม เหล็ก และฟอสฟอรัส (Bakht และ Iqbal, 2009) และวิตามินอีกลุ่มโทโคฟีรอล (tocopherol) ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (natural antioxidant) สูงเช่นเดียวกับปริมาณวิตามินเอในน้ำนมกระบือจะพบปริมาณสูงกว่าน้ำนมโคและน้ำนมแพะ เนื่องจากปริมาณสารแคโรทีน (carotene) ได้ถูกเปลี่ยนไปเป็นวิตามินเอเกือบหมด ด้วยเหตุนี้จึงทำให้น้ำนมกระบือมีสีขาวมากที่สุดเมื่อเทียบกับน้ำนมชนิดอื่น (Bulletin of the International Dairy Federation, 2008) นอกจากนี้น้ำนมกระบือมีของแข็งในนมสูง (milk solids) จึงเหมาะสำหรับการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์นม (daily products) และช่วยประหยัดพลังงานในกระบวนผลิตอย่างมีนัยสำคัญยิ่งไปกว่านั้นยังส่งผลให้ผลิตภัณฑ์นมหมักมีลักษณะข้นและแข็งตัวโดยปราศจากการเติมโปรตีนนมหรือสารที่ทำให้เกิดเจล (gelling agent) (Ahmad และคณะ, 2013)

2.5.2.1 ไขมัน ไขมันในน้ำนมกระบือมากกว่าในน้ำนมโคถึงสองเท่า ซึ่งทำให้ในน้ำนมกระบือให้พลังงานสูงและมีสารอาหารสูงตามไปด้วย โดยในน้ำนมกระบือมีไขมันประมาณ 8.3% และอาจสูงถึง 15% (Varrichio และคณะ, 2007)

2.5.2.2 โปรตีน โปรตีนในนมกระบือส่วนมากประมาณ 80% เป็นเคซีน (casein) และอีกประมาณ 20% เป็นเวย์โปรตีนและโปรตีนโมเลกุลเล็ก อย่างไรก็ตามเคซีนที่พบในน้ำนมกระบือส่วนมากจะอยู่ในรูปไมเซล่า (micellar) นอกจากนี้เวย์โปรตีนและโปรตีนโมเลกุลเล็กพบในหัวน้ำนม (colostrum) สูงกว่าในน้ำนมกระบือจากกระบือโตเต็มวัย (Laxminarayana และ Dastur, 1968; Sahai, 1996; Sirry และคณะ, 1984)

2.5.2.3 น้ำตาลและคาร์บไฮเดรต น้ำตาลที่พบในนมกระบือส่วนมากเป็นน้ำตาลแล็กโทส ซึ่งมีมากกว่าที่พบในนมโค นมแพะ นมแกะ และนมอูฐ ซึ่งถือเป็นแหล่งพลังงานที่ดีให้แก่ร่างกาย ยิ่งไปกว่านั้นน้ำตาลแล็กโทสสนับสนุนสมบัติคอลลิเกทีฟ (colligative) ในนมกระบือ เช่น ความดันออสโมติก (osmotic pressure) อุณหภูมิของจุดเยือกแข็งลดลง (freezing point depression) และการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิจุดเดือด (boiling point elevation) (Varman และ Sutherlan, 2001)

2.5.2.4 แร่ธาตุ นมกระบือมีแร่ธาตุหลักและแร่ธาตุที่จำเป็นอยู่จำนวนมากซึ่งช่วยสนับสนุนการดูดซึมแคลเซียมที่ผนังลำไส้เล็ก นอกจากนี้ในนมกระบือยังมีแคลเซียมสูงโดยส่วนมากจะอยู่ในรูปที่ไม่สามารถละลายได้ประมาณร้อยละ 67.6-82.6 ของแคลเซียมทั้งหมด (Ahmad และคณะ, 2008)

2.5.2.5 วิตามิน นมกระบือสามารถพบวิตามินเอ วิตามินบีหนึ่ง (thiamine) วิตมามินบีสิบสอง (cobalamin) วิตามินอี (tocopherol) และวิตามินซี (ascorbic acid) มากกว่าที่พบในนมโค แต่กลับมีวิตามินบีสอง (riboflavin) และกรดโฟลิก (folic acid) น้อยกว่านมโค (Sikka และคณะ, 1993)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 2.3 มกระบือพันธุ์มูร่าห์

ที่มา: Wikiwand (2019)

เมื่อทำการเปรียบเทียบองค์ประกอบในนมโค และนมกระบือ (แสดงในตารางที่ 2.2) พบว่าในน้ำนมโคมีเพียงคอเลสเตอรอลที่มากกว่าในน้ำนมกระบือ ส่วนในองค์ประกอบอื่น ได้แก่ โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต พลังงาน น้ำตาลแลคโตส กรดไขมัน และแคลเซียม ในน้ำนมกระบือมีมากกว่าในน้ำนมโค

ตารางที่ 2.2. องค์ประกอบที่สำคัญในน้ำนมกระบือและน้ำนมโค (ต่อน้ำนม 100 กรัม)

องค์ประกอบ	หน่วยวัด	นม	
		นมกระบือ	นมโค
โปรตีน	กรัม	5.4	2.3
ไขมัน	กรัม	0.8	2.3
คาร์โบไฮเดรต	กรัม	9.4	8.4
พลังงาน	กิโลแคลอรี	110	66
พลังงาน	กิโลจูล	463	275
น้ำตาลแลคโตส	กรัม	9.4	8.4
กรดไขมัน			
กรดไขมันอิ่มตัว	กรัม	2.4	4.2
กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว	กรัม	7.1	1.1
กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน	กรัม	2.0	1.0
คอเลสเตอรอล	มิลลิกรัม	8	14
แคลเซียม	IU	195	120

ที่มา: Bilal et at (2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 ปัจจัยที่มีผลต่อการทำคีเฟอร์

ปัจจัยที่มีผลต่อการทำคีเฟอร์ เช่น ชนิดของหัวเชื้อ ปริมาณเชื้อที่ใช้ในการหมัก อุณหภูมิในการหมัก ระยะเวลาการหมัก และชนิดของนม สามารถส่งผลต่อผลิตภัณฑ์คีเฟอร์ในด้านเคมี จุลินทรีย์ที่คงอยู่ในผลิตภัณฑ์ และคุณสมบัติทางประสาทสัมผัส นอกจากนี้ออกซิเจนที่อยู่ในบรรยากาศอาจส่งผลต่อการเจริญและความสมดุลของจุลินทรีย์ที่อยู่ในคีเฟอร์ (Tugba และคณะ, 2013)

2.6.1 ชนิดของหัวเชื้อที่ส่งผลต่อการทำคีเฟอร์

การผลิตคีเฟอร์ในปัจจุบันสามารถทำได้สองวิธี ได้แก่ วิธีดั้งเดิม และวิธีที่ใช้ในอุตสาหกรรม ซึ่งข้อแตกต่างที่สำคัญระหว่างสองวิธีนี้คือ วิธีดั้งเดิมจะใช้เมล็ดคีเฟอร์ในการผลิตซึ่งส่งผลให้คีเฟอร์ที่ได้แตกต่างกันไปตามวิธีการเก็บรักษา และต้นกำเนิดของเมล็ดคีเฟอร์ที่แต่ละแห่งจะมีชนิดจุลินทรีย์ที่แตกต่างกัน แต่ยังคงมียีสต์ (yeast) แล็กโทบาร์ซิไล (lactobacilli) และแล็กโทค็อกไค (lactococci) เป็นจุลินทรีย์กลุ่มหลัก ส่วนวิธีที่ใช้ในอุตสาหกรรมจะใช้กล้าเชื้อ (kefir starter cultures) ที่บรรจุเชื้อบริสุทธิ์ที่ใช้ผลิตคีเฟอร์ (Petersson และคณะ, 1985; García Fontán และคณะ, 2006) จากการศึกษาของ Assadi และคณะ (2000) พบว่าคีเฟอร์ที่ผลิตจากเมล็ดคีเฟอร์ปริมาณร้อยละ 5 มีความเป็นกรดมากกว่าคีเฟอร์ที่ผลิตจากกล้าเชื้อ ยิ่งไปกว่านั้นอุณหภูมิในการหมักอาจส่งผลต่อการสร้างกรด จากการบ่งชี้กรด (acid) ในคีเฟอร์ที่ผลิตจากกล้าเชื้อที่หมักในอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จะพบกรดสูงสุด (ร้อยละ 0.98) และที่อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส พบกรดได้น้อยที่สุด (ร้อยละ 0.51) จากผลการศึกษานี้คีเฟอร์ที่ผลิตจากกล้าเชื้อชนิดเดียว (individual starter culture) จึงไม่เป็นที่ยอมรับ เพราะมีความเป็นกรดและคาร์บอนไดออกไซด์ไม่เพียงพอจึงขาดความสดชื่นที่ควรมีในคีเฟอร์นม (Bahekar, 1975) อย่างไรก็ตามคีเฟอร์ที่ผลิตจากกล้าเชื้อโดยใช้จุลินทรีย์สายพันธุ์พื้นเมืองสามารถยอมรับได้ถ้ามีการใช้อัตราส่วนของเชื้อบริสุทธุ์แต่ละชนิดอย่างเหมาะสม แต่รสชาติของคีเฟอร์ที่ผลิตจากกล้าเชื้อกลับไม่ดีเท่าคีเฟอร์ที่ผลิตจากเมล็ดคีเฟอร์ที่มีความอร่อยและรสเปรี้ยวของกรดโดยไม่มีรสขม มีเนื้อสัมผัสที่นุ่มนวลและมีความซ่าเล็กน้อยของยีสต์จึงส่งผลให้คีเฟอร์เป็นเครื่องดื่มที่ให้ความสดชื่น

2.6.2 ปริมาณเชื้อที่ส่งผลต่อการทำคีเฟอร์

จากการศึกษาของ Garrote และคณะ (1998) เพื่อศึกษาผลกระทบที่มีต่อคีเฟอร์เมื่อใช้ปริมาณมล็ดคีเฟอร์ที่ต่างกันในการหมักในนม 1 ลิตร และได้พบว่าอัตราส่วนของเมล็ดคีเฟอร์ที่ใช้ต่อนม ส่งผลต่อคีเฟอร์อย่างมากในด้านของค่าพีเอชสุดท้าย และเนื้อสัมผัส จากการศึกษาพบว่าปริมาณของเมล็ดคีเฟอร์ที่ใช้ระหว่าง 10 กรัม และ 100 กรัม แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ดังนั้นปริมาณของเมล็ดคีเฟอร์สัมพันธ์กับเนื้อสัมผัสของคีเฟอร์ โดยพบว่าคีเฟอร์ที่ใช้ปริมาณเมล็ดคีเฟอร์ 10-50 กรัมในนม 1 ลิตร จะมีความหนืดสูงที่สุด และในคีเฟอร์ที่ใช้ปริมาณเมล็ดคีเฟอร์ 10 กรัม จะมีความเข้มข้นของแบคทีเรียแล็กโทค็อกไคมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่สุด แต่เมื่อใช้เมล็ดคีเฟอร์ 100 กรัม พบว่าความเป็นกรดสูงขึ้นอย่างรวดเร็วแต่ความหนืดน้อยและความเข้มข้นของแล็กโทค็อกไคลดลง ยิ่งไปกว่านั้นปริมาณเมล็ดคีเฟอร์ที่ใช้ในการผลิตคีเฟอร์ส่งผลต่อค่าพีเอชสุดท้าย ความเข้มข้นของแล็กโทค็อกไค ความข้นหนืด และปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์

2.6.3 อุณหภูมิในการหมักที่ส่งผลต่อการทำคีเฟอร์

อุณหภูมิที่ใช้ในการหมักคีเฟอร์นมส่งผลโดยตรงต่อสมบัติเชิงรีโอโลยี (rheology) ได้แก่ ความหนืด (viscosity) อุณหภูมิส่งผลต่อการสร้างพอลิแซ็กคาไรด์ของจุลินทรีย์ในเมล็ดคีเฟอร์เนื่องจากพอลิแซ็กคาไรด์มีคุณสมบัติในการจับกับน้ำและการทำปฏิกิริยากับโปรตีนจึงสนับสนุนให้คีเฟอร์มีความหนืดและคุณสมบัติของไหลแบบซูโดพลาสติก (pseudoplastic) (Amatayakul และคณะ, 2006) พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักคีเฟอร์อยู่ในช่วง 20-30 องศาเซลเซียส เมื่อเปรียบเทียบการหมักคีเฟอร์ในอุณหภูมิ 20 25 และ30 องศาเซลเซียส โดยใช้ระยะเวลาการหมักคีเฟอร์เท่ากันพบว่าที่ 25 องศาเซลเซียส คีเฟอร์มีความหนืดมากที่สุดและที่ 30 องศาเซลเซียส มีความหนืดน้อยที่สุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$) ยิ่งไปกว่านั้นอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เหมาะสมกับการเจริญของแบคทีเรีย โดยการหมักคีเฟอร์ปกติจะรอให้ค่าพีเอชอยู่ประมาณ 4.4 จึงถือว่าการหมักสิ้นสุดลง ดังนั้นถ้าอุณหภูมิที่ใช้ในการหมักลดลงจึงจำเป็นต้องเพิ่มระยะเวลาการหมักเนื่องจากอุณหภูมิการหมักที่ต่ำลงส่งผลให้การสร้างกรดของแบคทีเรียช้าลงตามไปด้วย (Georgia และคณะ, 2011; Ruas และคณะ, 2002)

2.6.4 ระยะเวลาการหมักที่ส่งผลต่อการทำคีเฟอร์

ระยะเวลาการหมัก (incubation time) ส่งผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) ในด้านความหนืด ความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity) ความชื้น (moisture content) คาร์โบไฮเดรต ค่าพีเอช ความเป็นกรด และจำนวนแบคทีเรียแลคติกแอซิด ระยะเวลาในการหมักที่มากขึ้นส่งผลให้ความเป็นกรด ความหนืด ความสามารถในการอุ้มน้ำ และจำนวนแบคทีเรียแลคติกแอซิด เพิ่มขึ้นด้วย ในขณะที่ค่าพีเอช ความชื้น และคาร์โบไฮเดรตลดลง (Bensmira และ Jiang, 2012)

2.6.5 ชนิดของนมที่ส่งผลต่อการทำคีเฟอร์

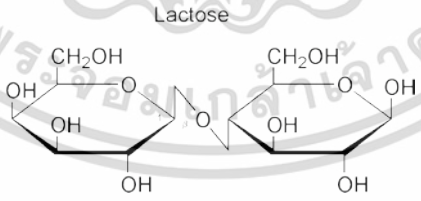
คีเฟอร์สามารถผลิตได้จากนมหลากหลายชนิด เช่น นมโค นมแกะ นมแพะ โดยพบว่าชนิดของนมส่งผลต่อคีเฟอร์ในด้านปริมาณของแข็งทั้งหมด ค่าพีเอช กรดอะมิโน ความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ (organic acid) จุลินทรีย์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่ปริมาณเอทานอลในคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมคนละชนิดแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) เมื่อกำหนดค่าพีเอชเริ่มต้นก่อนการหมักเท่ากัน แต่เมื่อเริ่มหมักคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมแพะค่าพีเอชต่ำลดอย่างรวดเร็วเมื่อเทียบกับคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมโคและนมแกะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมโคค่าพีเอชต่ำลดเร็วกว่าคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมกระบือ (Gul และคณะ, 2015; Öner และคณะ, 2010)

2.7 สารเมแทบอไลต์ (metabolite) ที่ถูกสร้างขึ้นระหว่างกระบวนการหมักคีเฟอร์นม

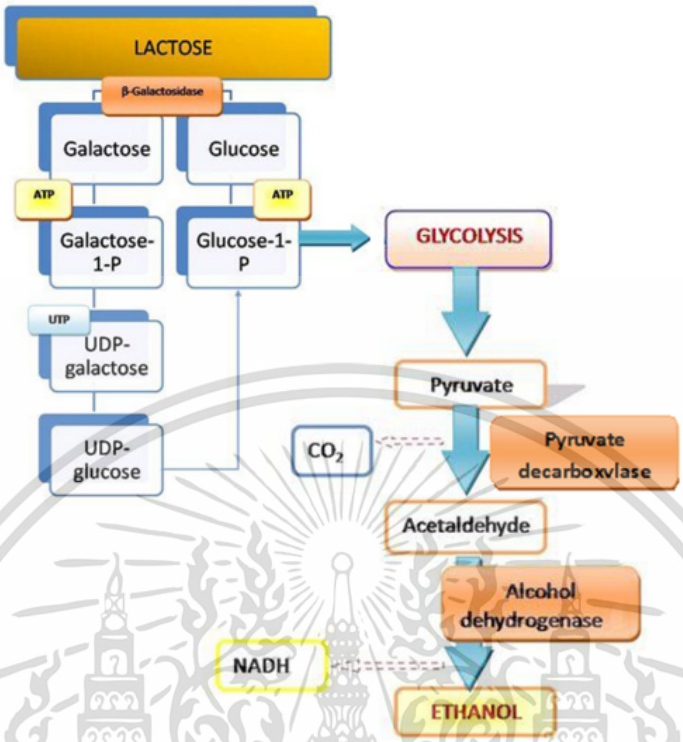
เมื่อทำการศึกษาปฏิกิริยาทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมักคีเฟอร์นมพบว่า น้ำตาลแลคโตส (ภาพที่ 2.4) ส่วนมากถูกเผาผลาญ (metabolize) อย่างรวดเร็วใน 24 ชั่วโมงแรกของกระบวนการหมักอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) จากนั้นจะใช้น้ำตาลแลคโตสช้าลง โดยพบว่าน้ำตาลแลคโตสถูกเปลี่ยนเป็นเอทานอลอย่างไรก็ตามพบว่าน้ำตาลแลคโตสถูกใช้ในกระบวนการเติบโตของเซลล์จุลินทรีย์ในคีเฟอร์นมจึงพบเอทานอลในจำนวนน้อย ยิ่งไปกว่านั้นยังไม่พบน้ำตาลกลูโคส (glucose) และ น้ำตาลกาแล็กโทส (galactose) ระหว่างกระบวนการหมักเป็นเพราะว่าหลังจากสลายน้ำตาลแลคโทสแล้วน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharide) ถูกเผาผลาญไปเป็นผลิตภัณฑ์อื่น (กรดแลคติก เอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์) อย่างรวดเร็ว แสดงดังภาพที่ 2.5 (Garcia Fontan และคณะ, 2006; Karina และคณะ, 2010) นอกจากนี้พบว่ากรดแลคติกที่อยู่ในรูป L (+) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เนื่องจากเปลี่ยนไปอยู่ในรูป D(-) ด้วยปฏิกิริยาเรซิไมเซชั่น (recemization) ของจุลินทรีย์ที่อยู่ในคีเฟอร์ แต่กรดแลคติกรูป D(-) มีบางส่วนถูกสร้างโดยจุลินทรีย์จากน้ำตาลกลูโคสและกาแล็กโทสโดยตรง และการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นรวมของ L(+)-lactate ถูกทำปฏิกิริยาโดยยีสต์ (Fox และคณะ, 1990; Kandler และ Weiss, 1986; Thomas และ Crow, 1983)



ภาพที่ 2.4 โครงสร้างโมเลกุลน้ำตาลแลคโทส

ที่มา: Wikipedia

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

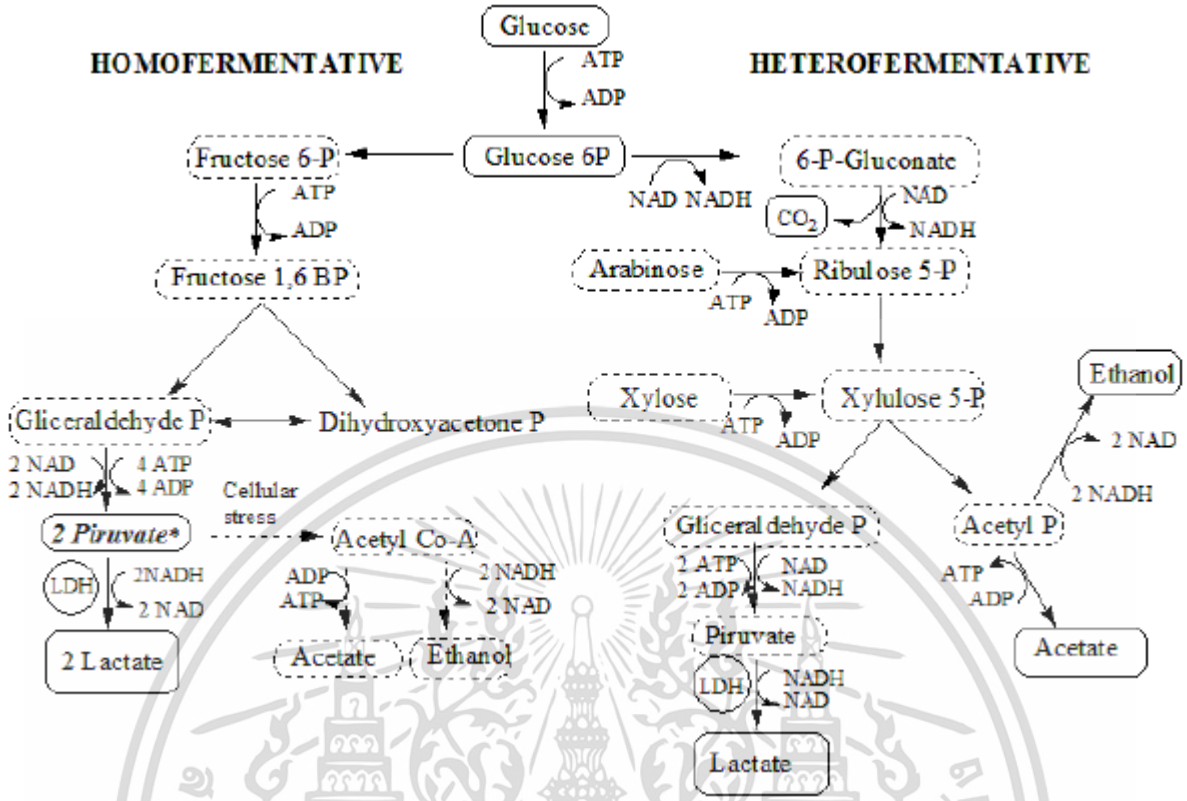


ภาพที่ 2.5 กระบวนการเปลี่ยนแลคโทสเป็นเอทานอล (lactose to ethanol transformation pathway)

ที่มา: Pavia (2009)

การผลิตกรดแลคติก (lactic acid) เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมตาบอลิซึมของแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก และกรดแลคติกสำคัญมากในคีเฟอร์นม เพราะช่วยในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสียและจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogenic microorganism) ในระหว่างกระบวนการหมักค่าพีเอชในคีเฟอร์นมจะต่ำลง ขณะที่ความเข้มข้นของกรดแลคติกเพิ่มมากขึ้น อย่างไรก็ตามพบว่าในคีเฟอร์นมมีความเข้มข้นของกรดแลคติกน้อยกว่าในโยเกิร์ตเนื่องจากแบคทีเรียสร้างกรดจากวิถีทางเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ (heterofermentative pathway) มากกว่าจากวิถีโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ (homofermentative pathway) ซึ่งแสดงให้เห็นด้วยการเกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ การพบกรดอะซิติกในผลิตฑ์นมหมักช่วยสนับสนุนว่าจุลินทรีย์ในเมล็ดคีเฟอร์ใช้วิถีวิถีทางเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ (Güzel-Seydim และคณะ, 2002; Magalhães และคณะ, 2010) ดังแสดงในภาพที่ 2.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



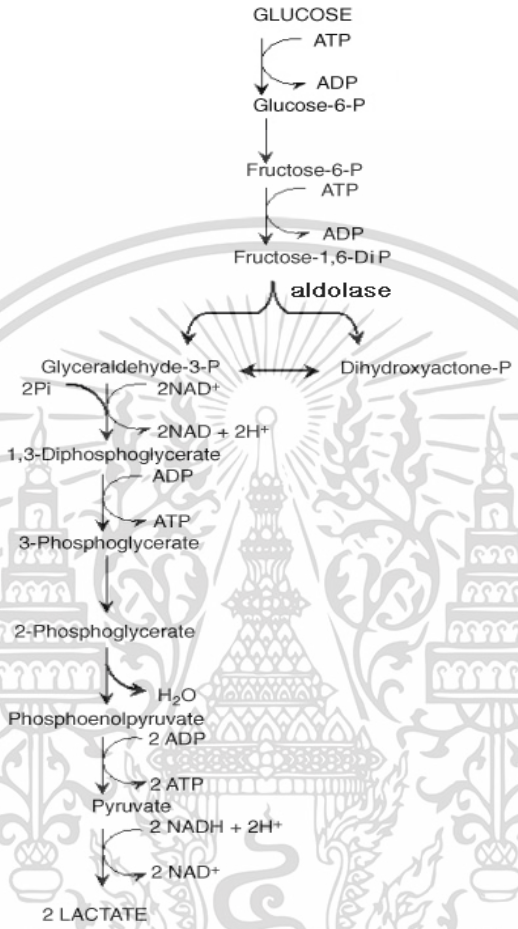
ภาพที่ 2.6 กระบวนการเมทาบอลิซึมของแบคทีเรียแลคติกในวิถีวิถีทางเฮทเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ และวิถีโฮโมเฟอร์เมนเททีฟ (Metabolism of lactic acid bacteria - homofermentative and heterofermentative pathway): P คือ phosphate ADP คือ adenosine 5'- diphosphate ATP คือ adenosine 5'- triphosphate NAD คือ nicotinamide adenine dinucleotide NADH คือ nicotinamide adenine dinucleotide

ที่มา: Juliana และคณะ (2019)

แอซีทาลดีไฮด์ (acetaldehyde) ถูกพิจารณาว่าเป็นสารหลักที่ให้กลิ่นรส (flavor) ที่สำคัญในผลิตภัณฑ์นมหมัก ซึ่งถูกผลิตด้วยเชื้อจุลินทรีย์กลุ่ม N *streptococci* ด้วยการสลายน้ำตาลแลคโทสเป็นน้ำตาลกลูโคสและกาแล็กโทส โดยน้ำตาลกลูโคสสามารถผ่านกระบวนการเมทาบอลิซึมไปเป็นไพรูเวท (pyruvate) วิถีโฮโมเฟอร์เมนเททีฟด้วยไกลโคไลซิส วิถี Embden–Meyerhof–Parnas (EMP pathway) ปฏิกิริยาแลคเตท 2 โมล ถูกสร้างจากกลูโคส 1 โมเลกุล (ภาพที่ 2.7) (Geroyiannaki และคณะ, 2007) โดยไพรูเวทที่เหลือจะถูกเปลี่ยนเป็นไดแอซีทิล (diacetyl) และ แอซีทาลดีไฮด์ และมี α-carboxylase เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา นอกจากนี้แอซีทาลดีไฮด์สามารถถูกสร้างจาก acetyl-CoA ด้วยเอนไซม์ aldehyde dehydrogenase ซึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

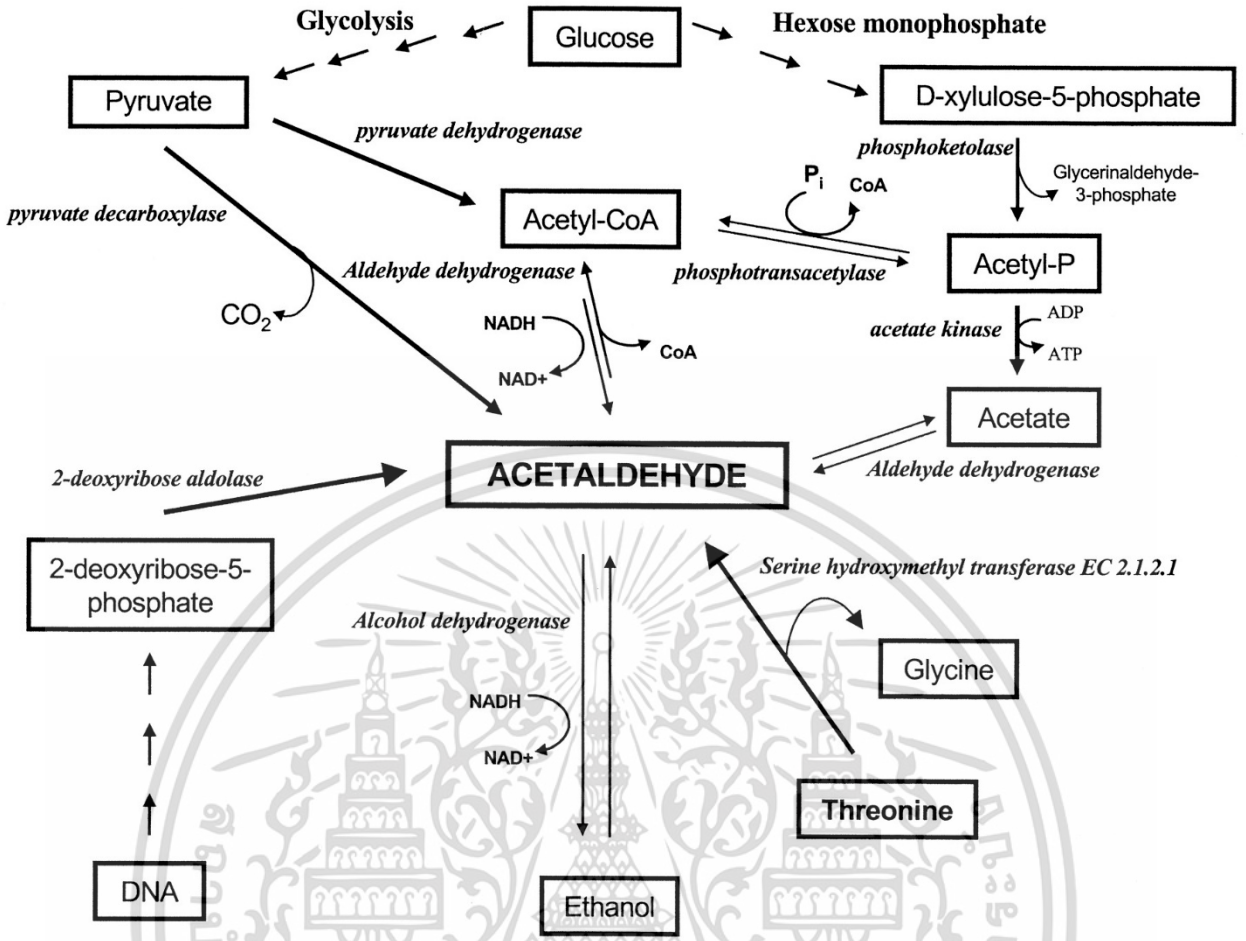
สร้างจากไพรูเวทด้วยปฏิกิริยาของเอนไซม์ pyruvate dehydrogenase (ภาพที่ 2.8) (Zourari และคณะ, 1992)



ภาพที่ 2.7 กระบวนการสลายกลูโคสไปเป็นแลคเตท 2 โมล

ที่มา: Kenneth (2020)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.8 กระบวนการเมทาบอลิซึมต่างๆ ที่นำไปสู่การสร้างแอซีทาลดีไฮด์ของแบคทีเรียแลคติก (Overview of the different metabolic pathways in LAB that could lead to acetaldehyde formation.)

ที่มา: Chaves (2002)

2.8 ความหมายของเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์และการใช้ประโยชน์จากเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์

เอ็กโซโพลีแซคคาไรด์เป็นโพลีแซคคาไรด์สายยาวส่วนใหญ่เป็นองค์ประกอบของน้ำตาลต่อกันเป็นสายหรือเป็นกิ่งและอาจมีส่วนประกอบของโปรตีน ไขมัน สารอินทรีย์หรือ อนินทรีย์ โลหะบางชนิด หรือ ดีเอ็นเอบ้างเล็กน้อย ถึงแม้ว่าเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์สามารถสร้างหรือผลิตขึ้นได้จากสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เช่น พืช สัตว์ และเชื้อจุลินทรีย์ เช่น เชื้อรา ยีสต์ สาหร่าย แบคทีเรีย เป็นต้น แต่ปัจจุบันเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตได้จากแบคทีเรียแลคติกได้รับความสนใจอย่างมากเนื่องจากแบคทีเรียแลคติกส่วนใหญ่จะเป็นแบคทีเรียที่มีประโยชน์ และไม่ก่อโรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอ็กโซโพลีแซคคาไรด์จากแบคทีเรียแลคติกเป็นสารเมือก (slime) หรือ แคปซูล (capsule) ที่แบคทีเรียแลคติกขับออกมานอกเซลล์ เพื่อเป็นเกราะป้องกันตัวเซลล์เองจากสิ่งแวดล้อมภายนอก เช่น ความแห้งแล้ง (desiccation) ยาปฏิชีวนะหรือสารพิษ (antibiotic and toxic compound) เป็นต้น นอกจากนี้ยังช่วยในการยึดเกาะกับพื้นผิว

แบคทีเรียแลคติกที่ผลิตเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์ส่วนใหญ่มีบทบาทสำคัญในอุตสาหกรรมนม เช่น การทำโยเกิร์ต (yogurt) ชีส (cheese) นมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัส (acidophilus milk) คีเฟอร์ (kefir) และขนมหวานที่มีนมเป็นองค์ประกอบหลัก เป็นต้น

การใช้ประโยชน์ของเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์จากแบคทีเรียแลคติกมีความหลากหลายแตกต่างกันไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบชนิดของพันธะ ระดับของกิ่งก้าน และขนาดน้ำหนักโมเลกุลของเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์ โดยส่วนใหญ่เอ็กโซโพลีแซคคาไรด์จะใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อเพิ่มคุณสมบัติบางประการ เช่น เพิ่มความหนืด เพิ่มเนื้อสัมผัส และเพิ่มความรู้สึกในปาก เป็นต้น (ศุภศิลป์ และธรรมนูญ, 2553)

2.9 ความแตกต่างระหว่างคีเฟอร์และโยเกิร์ต

โยเกิร์ตนั้นประกอบไปด้วยแบคทีเรียที่มีประโยชน์หลากหลายสายพันธุ์ แต่ในคีเฟอร์ก็พบแบคทีเรียที่มีประโยชน์หลายชนิดที่ไม่พบในโยเกิร์ต เช่น *Lactobacillus Caucasus*, *Leuconostoc* sp และ *Acetobacter sp* อีกทั้งคีเฟอร์ยังประกอบไปด้วยยีสต์ที่มีประโยชน์หลากหลายสายพันธุ์ซึ่งสามารถควบคุมและกำจัดยีสต์ที่ทำให้เกิดโรค เช่น ยีสต์สายพันธุ์ *Candida albicans* ที่ทำให้เกิดโรคเชื้อราในช่องคลอดทำให้เมื่อบริโภคคีเฟอร์ที่ประกอบไปด้วยยีสต์ที่มีประโยชน์สามารถควบคุมและกำจัดยีสต์ที่ก่อให้เกิดโรคได้ อีกทั้งยีสต์ที่พบในคีเฟอร์ยังสามารถทำให้ลำไส้แข็งแรงขึ้นซึ่งส่งผลให้มีความทนทานต่อการเจริญของเชื้อ *Escherichia coli* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ทำให้เกิดอาการท้องเสีย มากไปกว่านั้นข้อดีของคีเฟอร์อีกอย่างหนึ่งคือสามารถทำรับประทานได้เองที่บ้าน โดยสามารถเลือกใช้นมได้หลากหลายชนิด เช่น กะทิ นมถั่วเหลือง นมแพะ นมข้าว และนมอัลมอนด์ (Vinayak และคณะ, 2011)

2.10 กฎหมายที่เกี่ยวข้องกับคีเฟอร์

ตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุขปี 2556 เรื่อง นมเปรี้ยว โดยได้ให้ความหมายของนมเปรี้ยวว่า นมเปรี้ยว (Fermented milk) เป็นผลิตภัณฑ์นมที่ได้จากน้ำนมจากสัตว์ที่นำมาบริโภคได้ หรือส่วนประกอบของน้ำนมที่ผ่านการทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคแล้วหมักด้วยจุลินทรีย์ที่ไม่ทำให้เกิดโรค หรืออันตราย ทำให้ค่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้น และอาจปรุงแต่งกลิ่น รส สี หรือ เติมวัตถุเจือปนอาหาร สารอาหาร หรือ ส่วนประกอบอื่นที่มิใช่นมด้วยก็ได้ ทั้งนี้ให้รวมถึงนมเปรี้ยวที่นำมาผ่านการฆ่าเชื้อ การแช่แข็ง หรือ การ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำให้แห้งด้วย และยังให้ความหมายของคีเฟอร์ว่าเป็นนมเปรี้ยวที่ได้จากการหมักด้วยแบคทีเรียและยีสต์ ได้แก่ *Lactobacillus kefiri* หรือ *Lactococcus sp*, *Acetobacter sp*, *Kluyveromyces marxianus* และ *Saccharomyces unisporus* หรือ *Saccharomyces cerevisiae* หรือ *Saccharomyces exiguous* และได้มีการกำหนดคุณภาพ หรือ มาตรฐานของคีเฟอร์โดยต้องมีกลิ่นรสตามลักษณะของนมเปรี้ยว มีโปรตีนไม่น้อยกว่าร้อยละ 2.7 ของน้ำหนัก มีมันเนยน้อยกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนัก มีค่าความเป็นกรดโดยคำนวณเป็นกรดแลคติคไม่น้อยกว่าร้อยละ 0.6 มีแบคทีเรียไม่น้อยกว่า 10,000,000 โคโลนี และยีสต์ไม่น้อยกว่า 10,000 โคโลนี ต้องเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิไม่เกิน 8 องศาเซลเซียส ตลอดระยะเวลาหลังบรรจุจนถึงผู้บริโภค และระยะเวลาการบริโภคต้องไม่เกิน 30 วัน นับจากวันที่บรรจุในภาชนะพร้อมจำหน่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

นมโคพาสเจอร์ไรซ์ สูตรเต็มมันเนย ตราเมจิ

นมกระบือพาสเจอร์ไรซ์ ตรามูร่าห์

เมล็ดคีเฟอร์ จากเพจ Kefir at home

3.1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS

อาหารเลี้ยงเชื้อ YPD

3.1.3 สารเคมี

แคลเซียมคาร์บอเนต (Calcium carbonate; $CaCO_3$)

คริสตัลไวโอเลต (Crystal violet)

โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH)

ซาฟรานิน (Safranin)

ฟีนอฟทาลีน (Phenolpthalein)

น้ำกลั่น (Distilled water)

เปปโตน (Peptone),

เมทิลีน บลู (Methylene Blue)

ไอโอดีน (Iodine)

3.2 อุปกรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระจกสไลด์ (Microscope Slides)

กระชอน (Colander)

กล้องจุลทรรศน์ (Microscope)

กระบอกตวง (Cylinder)

ขาตั้งและแคลมป์ (Stand & Clamp)

เข็มเขี่ยเชื้อ (Loop, needle)

ขวดรูปชมพู่ (Erlenmayer flask)

เครื่องชั่ง (Analytical balance) ที่มีความละเอียด 0.0001 กรัม

เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer)

เครื่องวัดพีเอช (pH meter)

เครื่องวัดความหวานแบบส่อง (Hand Refractometer)

ช้อน (Spoon)

เทียน (Candle)

แท่งแก้วคนสาร (Stirring Rod)

แท่งแก้วรูปตัวแอล (L shaped glass rod)

บิวเรต (Buret)

บีกเกอร์ (Beaker)

ปิเปต (Pipette)

ปี๊บ (Bucket)

เพลทพาสติก (Plastic plate)

ไมโครปิเปต (Micropipette) ขนาด 100-1,000 ไมโครลิตร

หลอดทดลอง (Test tube)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โหลแก้ว (Glass jar)

3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

3.3.1 การเตรียมเมล็ดคีเฟอร์

การผลิตคีเฟอร์จะต้องมีการเตรียมหัวเชื้อก่อนการผลิตเพื่อกระตุ้นให้เชื้อทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยนำเมล็ดคีเฟอร์ใส่ในขวดโหล ใส่นมโคพาสเจอร์ไรซ์ สูตรเต็มมันเนย ตราเมจิ และนมกระบือพาสเจอไรซ์ ตรามูร่าห์ ปิดฝาขวดโหลโดยใช้ผ้าดิบ และใช้หนังยางรัด (ภาพที่ 3.1) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งสังเกตเห็นว่านมมีความข้นหนืดสูงคล้ายโยเกิร์ตชนิดแข็งตัว (set yogurt) จากนั้นทำการกรองเมล็ดคีเฟอร์โดยใช้กระชอนที่เป็นพลาสติก และผ่านการฆ่าเชื้อแล้วโดยการลวกน้ำเดือด หลังจากนั้นนำเมล็ดคีเฟอร์ที่ได้ใส่ในนมโคพาสเจอร์ไรซ์ สูตรเต็มมันเนย ตราเมจิ และนมกระบือพาสเจอร์ไรซ์ ตรามูร่าห์ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำซ้ำจนกว่าจะได้เมล็ดคีเฟอร์ในปริมาณที่ต้องการ โดยอัตราส่วนของเมล็ดคีเฟอร์ต่อนมที่ใช้ควรเป็น 5 กรัม:100 มิลลิลิตร (Gul และคณะ, 2015)

ก ข

ภาพที่ 3.1 โหลที่ทำการเตรียมเมล็ดคีเฟอร์นมโค (ก) และนมกระบือ (ข)

3.3.2 การผลิตคีเฟอร์

3.3.2.1 การผลิตคีเฟอร์โดยใช้นมโค

ใส่นมโคพาสเจอร์ไรซ์ สูตรเต็มมันเนย ตราเมจิ 100 มิลลิลิตร และเมล็ดคีเฟอร์ 5 กรัม ในโหลแก้วจากนั้นปิดฝาโหลแก้วโดยใช้ผ้าขาวบางและรัดด้วยหนังยาง และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นเวลา 14 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำคีเฟอร์นมโคที่ได้มากรองผ่ากระชอนพลาสติกที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเพื่อแยกเมล็ดคีเฟอร์ออกทั้งนี้สามารถนำเมล็ดคีเฟอร์ที่แยกออกมาไปเลี้ยงกับนมโคตามวิธีการขั้นต้นต่อได้ทันที นำคีเฟอร์นมโคที่ได้ใส่ขวดแก้วและนำไปเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นเป็นเวลา 12 ชั่วโมง

3.3.2.2 การผลิตคีเฟอร์โดยใช้นมกระบือ

ใส่นมกระบือพาสเจอร์ไรซ์ ตรามูร่าห์ 100 มิลลิลิตร และเมล็ดคีเฟอร์ 5 กรัม ในโหลแก้ว จากนั้นปิดฝาโหลแก้วโดยใช้ผ้าขาวบางและรัดด้วยหนังยาง และนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำคีเฟอร์นมกระบือที่ได้มากรองผ่านกระชอนพลาสติกที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเพื่อแยกเมล็ดคีเฟอร์ออก ทั้งนี้สามารถนำเมล็ดคีเฟอร์ที่แยกออกมาไปเลี้ยงกับนมโคตามวิธีการขั้นต้นต่อได้ทันที นำคีเฟอร์นมกระบือที่ได้ใส่ขวดแก้วและนำไปเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นเป็นเวลา 12 ชั่วโมง

3.3.3 การตรวจนับเชื้อและลักษณะทางกายภาพ

นำตัวอย่างคีเฟอร์ 1 มิลลิลิตรต่อสารละลายเปปโตน (ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์) 9 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองและทำการผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixer) จากนั้นทำการเจือจางตามระดับการเจือจางที่เหมาะสม โดยทำการตรวจวัดเชื้อกลุ่ม Lactobacilli บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar ที่มีส่วนผสมของแคลเซียมคาร์บอเนต (Calcium Carbonate) แยกเชื้อบริสุทธิ์โดยใช้วิธีทำให้เชื้อกระจายในจานเพาะเชื้อ (Spread plate technique) (ภาคผนวก ข.1) และบ่มที่อุณหภูมิห้องภายใต้สภาวะไร้อากาศเป็นเวลา 3 วัน (ภาคผนวก ข.4) จากนั้นดูลักษณะของโคโลนี การสร้างบริเวณใส (Clear zone) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อโดยการย้อมสีแกรม (ภาคผนวก ข.2) และนำไปส่องดูลักษณะด้วยกล้องจุลทรรศน์ ทดสอบการสร้างเอนไซม์แคตะเลส (ภาคผนวก ข.3) ส่วนการตรวจวัดยีสต์จะทำการเลี้ยงยีสต์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD agar โดยใช้วิธีทำให้เชื้อกระจายในจานเพาะเชื้อ (Spread plate technique) (ภาคผนวก ข.1) และบ่มที่อุณหภูมิห้องภายใต้สภาวะที่มีอากาศเป็นเวลา 2 วัน

3.3.4 การวิเคราะห์องค์ประกอบโดยประมาณ (Proximate Analysis)

3.3.4.1 การตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (พีเอช) (AOAC, 1990) (ภาคผนวก ง.1)

3.3.4.2 การวิเคราะห์ปริมาณกรดแลคติก (AOAC, 1990) (ภาคผนวก ง.2)

3.3.4.3 การวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (Total soluble solid; °Brix) (ภาคผนวก ง.3)

3.3.4.4 การจับเวลาระยะเวลาการไหล (ภาคผนวก ง.4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.5 การทดสอบคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัส

ทดสอบคุณลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสของคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมโค นมกระบือ และคีเฟอร์ที่ผสมระหว่างคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมกระบือต่อคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมโคในอัตราส่วน 25:75 50:50 และ75:25 ด้วยการให้คะแนนความชอบโดยใช้วิธี 9-point hedonic scale ในการทดสอบปริมาณเมล็ดคีเฟอร์ที่ใช้ในการหมักและระยะเวลาการหมักคีเฟอร์ของผู้บริโภคที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 4 คน และ5-point hedonic scale ในการทดสอบคีเฟอร์นมที่ผลิตจากคีเฟอร์นมกระบือผสมคีเฟอร์นมโคในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่นรส ลักษณะเนื้อสัมผัส รสชาติ การยอมรับโดยรวมของผู้บริโภคทั่วไปที่ไม่ผ่านการฝึกฝนจำนวน 8 คน (คนในครอบครัว)

3.3.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ สำหรับการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี และวิเคราะห์คุณลักษณะทางประสาทสัมผัสประมวลผลข้อมูลที่ได้ด้วยวิธี One way ANOVA ความหลากหลายช่วงของ Duncan โดยโปรแกรม IBM SPSS Statistic 24 ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

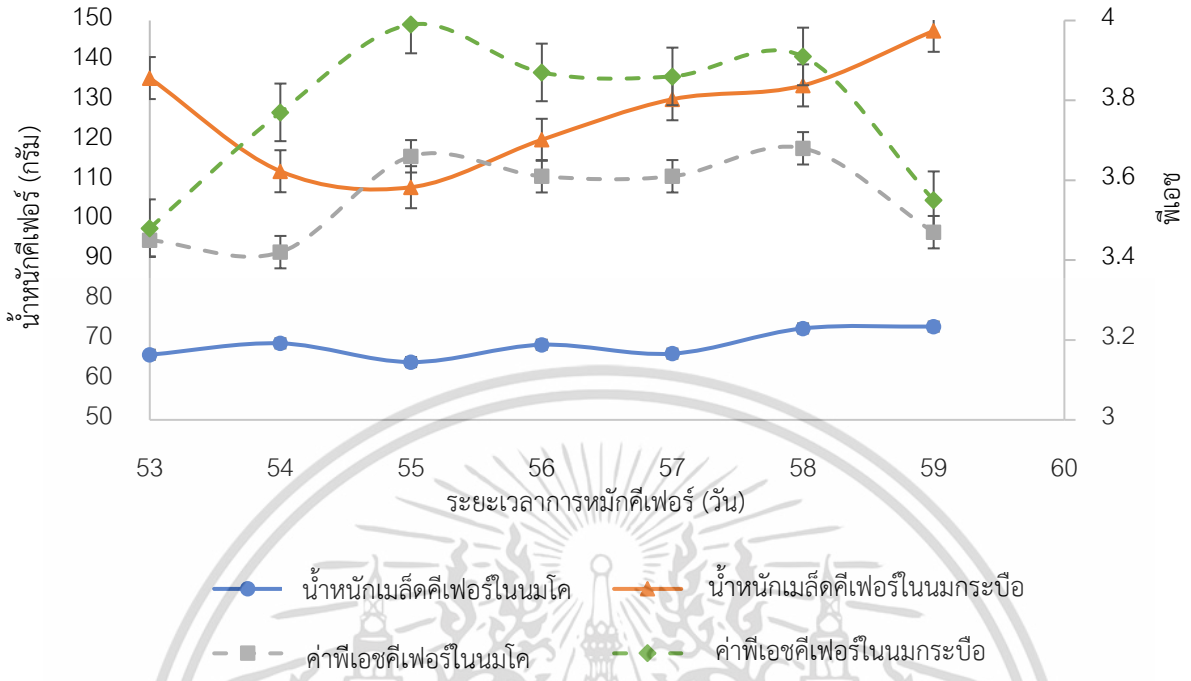
บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การเตรียมเมล็ดคีเฟอร์ในนมกระบือและนมโค

ศึกษาการเพิ่มจำนวนหรือการเจริญของเมล็ดคีเฟอร์ในนมกระบือและนมโคที่ตั้งต้นจากเมล็ดคีเฟอร์ปริมาณ 5 กรัม เพื่อเพิ่มจำนวนเมล็ดคีเฟอร์ให้เพียงพอกับความต้องการ โดยชั่งน้ำหนักเมล็ดคีเฟอร์ (กรัม) และวัดค่าพีเอชได้ผลดังภาพที่ 4.1 พบว่าเมล็ดคีเฟอร์ในนมกระบือมีน้ำหนักมากกว่าเมล็ดคีเฟอร์ในนมโคโดยในวันที่ 53 54 55 56 57 58 59 มีปริมาณเมล็ดคีเฟอร์ในนมกระบือ 135.59 112.26 108.26 120.13 130.28 133.75 และ 147.42 กรัม ตามลำดับ ส่วนปริมาณเมล็ดคีเฟอร์ในนมโค 66.31 69.16 64.47 68.81 66.59 72.9 และ 73.36 กรัม ตามลำดับ เนื่องจากสารอาหารในนมกระบือที่มีสูงกว่านมโค ส่งผลให้จุลินทรีย์ในเมล็ดคีเฟอร์เจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว จึงมีน้ำหนักเมล็ดคีเฟอร์มากกว่าในนมโค เมื่อระยะเวลาการเพิ่มจำนวนมากขึ้นส่งผลให้ปริมาณเมล็ดคีเฟอร์เพิ่มขึ้นตามไปด้วย ปริมาณเมล็ดคีเฟอร์ที่มากขึ้นควรสัมพันธ์กับปริมาณกรดที่จุลินทรีย์สร้างได้มากขึ้น ซึ่งค่าพีเอชควรน้อยลง แต่ค่าพีเอชในคีเฟอร์นมโคกลับมีค่าสูงกว่าในคีเฟอร์นมกระบือ เป็นเพราะสารอาหารในนมกระบือส่วนมากใช้ในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในเมล็ดคีเฟอร์มากกว่านำมาสร้างผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์ ยิ่งไปกว่านั้นนมกระบือมีความสามารถต้านทานการเปลี่ยนแปลงสภาพกรด-เบส (buffer capacity) มากกว่าในนมโค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.1 การเพิ่มจำนวนของเมล็ดคีเฟอร์ในนมกระบือและนมโค และค่าพีเอชของคีเฟอร์นมกระบือและคีเฟอร์นมโค

4.2 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์นมที่ผลิตจากนมกระบือผสมนมโค

จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์นมโค และคีเฟอร์นมกระบือ พบว่า ผู้บริโภคให้ผลตอบรับคีเฟอร์นมกระบือสูงกว่าคีเฟอร์นมโค อย่างไรก็ตาม นมกระบือมีค่าใช้จ่ายที่สูงกว่านมโค อีกทั้งคีเฟอร์นมโคให้กลิ่นสดชื่นที่เป็นเอกลักษณ์ของคีเฟอร์มากกว่าคีเฟอร์นมกระบือ (Gul และคณะ, 2018) ในหัวข้อนี้จึงศึกษาถึงอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมกระบือและคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมโค หลังจากเตรียมเมล็ดคีเฟอร์ได้จำนวนเพียงพอในการหมักคีเฟอร์ และนำมาทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์นมกระบือผสมนมโค โดยมีคุณลักษณะที่ใช้ในการประเมินดังนี้ ลักษณะที่ปรากฏ สี กลิ่น เนื้อสัมผัส รสชาติ และความชอบโดยรวม กับกลุ่มบุลคลทั่วไปจำนวน 4 คน โดยใช้ 9-point hedonic scale ในการทดสอบปริมาณเมล็ดคีเฟอร์ที่ใช้ในการหมักและระยะเวลาการหมักคีเฟอร์ และ กลุ่มบุลคลทั่วไปจำนวน 8 คน โดยใช้ 5-point hedonic scale ในการทดสอบคีเฟอร์นมที่ผลิตจากคีเฟอร์นมกระบือผสมนมโค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การทดสอบปริมาณเมล็ดคีเฟอร์ (kefir grains) ที่ใช้ในการหมักและระยะเวลาในการหมักคีเฟอร์

ศึกษาคุณลักษณะในด้านลักษณะที่ปรากฏ สี กลิ่นรส รสชาติ และเนื้อสัมผัสของคีเฟอร์ โดยใช้ปริมาณเมล็ดคีเฟอร์ร้อยละ 5 น้ำหนักต่อปริมาตรนม และร้อยละ 10 น้ำหนักต่อปริมาตรนม ทั้งในคีเฟอร์นมโคและคีเฟอร์นมกระบือ โดยหมักคีเฟอร์เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง และ 14 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ดังนั้นจึงมีคีเฟอร์นมทั้งหมด 8 สูตร พบว่าลักษณะที่ปรากฏ และสีของคีเฟอร์ที่ผลิตได้ทั้ง 8 สูตร ไม่แตกต่าง คือ มีสีขาวนวลแบบนม ในด้านกลิ่น และรสชาติพบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณเชื้อ และเพิ่มระยะเวลาในการหมักส่งผลให้มีกลิ่น และรสชาติที่ชัดเจนขึ้นคือ มีกลิ่นคีเฟอร์แรงขึ้น (กลิ่นคล้ายโยเกิร์ต) และมีความเปรี้ยวมากขึ้น และพบว่าคีเฟอร์นมโคมีเพียงรสเปรี้ยว ในขณะที่คีเฟอร์นมกระบือมีรสเค็มเล็กน้อยร่วมกับรสเปรี้ยวด้วย นอกจากนี้ทั้งคีเฟอร์นมโค และคีเฟอร์นมกระบือที่ใช้ปริมาณเชื้อร้อยละ 5 น้ำหนักต่อปริมาตรนม และใช้ระยะเวลาการหมัก 12 ชั่วโมง พบว่ายังคงมีรสชาติและกลิ่นของนมที่ใช้หมักคีเฟอร์หลงเหลืออยู่ และมีเนื้อสัมผัสที่ยังคงเหลวเหมือนนม อีกทั้งยังพบว่าทั้งในคีเฟอร์นมกระบือ และคีเฟอร์นมโคที่ใช้ปริมาณเชื้อร้อยละ 5 น้ำหนักต่อปริมาตรนม และหมักเป็นเวลา 14 ชั่วโมง จะมีลักษณะในด้านกลิ่นและรสชาติคล้ายคลึงกับคีเฟอร์ที่ใช้ปริมาณเชื้อร้อยละ 10 น้ำหนักต่อปริมาตรนม และหมักเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ส่วนในด้านเนื้อสัมผัสพบว่าคีเฟอร์ที่หมักจากนมกระบือจะมีความข้น และหนืดมากกว่าคีเฟอร์ที่หมักจากนมโค แต่ทั้งคีเฟอร์นมกระบือและคีเฟอร์นมโคเมื่อใช้ปริมาณเมล็ดคีเฟอร์ และระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้มีความข้นหนืดเพิ่มขึ้นตามไปด้วยซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Garrote และคณะ (1998) เมื่อเพิ่มปริมาณของเมล็ดคีเฟอร์ในการหมักจะส่งผลให้ความหนืดมากขึ้นโดยเมื่อใช้เมล็ดคีเฟอร์ปริมาณ 10-50 กรัมต่อลิตร พบว่ามีความหนืดสูง อย่างไรก็ตามการใช้เมล็ดคีเฟอร์ที่ความเข้มข้นสูงมากที่ 100 กรัมต่อลิตร พบว่าความหนืดลดลง คีเฟอร์นมโคที่ใช้ปริมาณเชื้อร้อยละ 5 น้ำหนักต่อปริมตรนม และใช้เวลาการในการหมัก 14 ชั่วโมง จะข้นขึ้นมาเพียงเล็กน้อยพอเพิ่มปริมาณเชื้อเป็นร้อยละ 10 น้ำหนักต่อปริมาตรนมในการใช้ระยะเวลาการหมัก 12 ชั่วโมง จะข้นเหมือนโยเกิร์ตพร้อมดื่ม (drinking yogurt) และในการหมัก 14 ชั่วโมง จะข้นเหมือนโยเกิร์ต (stirred yogurt) (ดังแสดงในภาพที่ 4.2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก ข ค ง

ภาพที่ 4.2 คีเฟอร์นมโคที่ใช้ปริมาณเชื้อร้อยละ 5 น้ำหนักต่อปริมาตรนม โดยใช้เวลาการหมัก 12 (ก) และ 14 ชั่วโมง (ข) และคีเฟอร์นมโคที่ใช้ปริมาณเชื้อร้อยละ 10 น้ำหนักต่อปริมาตรนม โดยใช้เวลาการหมัก 12 (ค) และ 14 (ง) ชั่วโมง ตามลำดับ

ในขณะที่ในคีเฟอร์นมกระบือที่ใช้ปริมาณเชื้อร้อยละ 5 น้ำหนักต่อปริมาตรนม และหมักเป็นเวลา 14 ชั่วโมง และในคีเฟอร์นมกระบือที่ใช้ปริมาณเชื้อร้อยละ 10 น้ำหนักต่อปริมาตรนม และหมักเป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่าจะมีความข้นหนืดมากคล้ายโยเกิร์ต (stirred yogurt) และในคีเฟอร์นมกระบือที่ใช้ปริมาณเชื้อร้อยละ 10 น้ำหนักต่อปริมาตรนม และหมักเป็นเวลา 14 ชั่วโมง จะมีความหนืดมากที่สุดเมื่อเทียบกับตัวอย่างอื่น ๆ (ดังแสดงในภาพที่ 4.3) ยิ่งไปกว่านั้นระยะเวลาการหมักส่งผลต่อการสะสมของเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์ซึ่งมีผลต่อเนื้อสัมผัส ความคงตัว และคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์นมหมักอย่างคีเฟอร์ (Chen และคณะ, 2014; Gul และคณะ, 2018)

ก ข ค ง

ภาพที่ 4.3 คีเฟอร์นมกระบือที่ใช้ปริมาณเชื้อร้อยละ 5 น้ำหนักต่อปริมาตรนม โดยใช้เวลาการหมัก 12 (ก) และ 14 (ข) ชั่วโมง และคีเฟอร์นมกระบือที่ใช้ปริมาณเชื้อร้อยละ 10 น้ำหนักต่อปริมาตรนม โดยใช้เวลาการหมัก 12 (ค) และ 14 (ง) ชั่วโมง ตามลำดับ

เมื่อนำตัวอย่างคีเฟอร์มา 50 มิลลิลิตร มาจับเวลาระยะเวลาการไหล (วินาที) เพื่อทดสอบความข้นหนืด ได้ผลดังตารางที่ 4.1 โดยเมื่อเพิ่มระยะเวลาการหมักจะใช้เวลาในการไหลช้าลงและปริมาณคีเฟอร์ที่มาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขึ้นส่งผลให้การไหลช้าลงด้วย ดังนั้นปริมาณเมล็ดคีเฟอร์ที่ใช้ในการหมักและระยะเวลาการหมักส่งผลต่อการไหล โดย Gul และคณะ (2018) ได้ทำการศึกษา รีโอโลยี (rheology) ของคีเฟอร์นมโค และนมกระบือพบว่า คีเฟอร์เป็นของไหลแบบซูโดพลาสติก (pseudoplastic fluid) ทำให้เมื่อเพิ่มอัตราเฉือน (shear rate) ส่งผลให้โครงสร้างเจล (gel structure) สลาย ความหนืด (viscosity) จึงลดลงซึ่งถือเป็นเรื่องปกติของผลิตภัณฑ์นมหมัก และจากผลการศึกษาพบว่าคีเฟอร์นมกระบือมีความหนืดสูงกว่าคีเฟอร์นมโค อย่างไรก็ตามชนิดของนมในการผลิตคีเฟอร์ส่งผลต่อค่า consistency index (K) หรือค่าดัชนีความข้นเหลว เป็นค่าที่ขึ้นกับอุณหภูมิแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

ตารางที่ 4.1 ผลของปริมาณเมล็ดคีเฟอร์ และระยะเวลาในการหมักต่อระยะเวลา ในการไหล

ชนิดนมที่ใช้	ระยะเวลาการไหล (วินาที)			
	ปริมาณเชื้อ 5% w/v		เชื้อ 10% w/v	
	12 ชั่วโมง	14 ชั่วโมง	12 ชั่วโมง	14 ชั่วโมง
นมโค	4.86	5.16	8.17	10.42
นมกระบือ	4	6.25	7.68	8.76

เมื่อทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมโค และนมกระบือที่ใช้ปริมาณเมล็ดคีเฟอร์ร้อยละ 5 น้ำหนักต่อปริมาตรนม และร้อยละ 10 น้ำหนักต่อปริมาตรนม โดยแต่ละตัวอย่างมีการหมักในระยะเวลา 12 ชั่วโมงและ 14 ชั่วโมง และทำการหมักที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จากนั้นนำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5-7 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง โดยใช้ 9-point hedonic scale ในการทดสอบ ได้ผลดังตารางที่ 4.2 และตารางที่ 4.3 พบว่าคะแนนความชอบแต่ละด้านในแต่ละตัวอย่างแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ยกเว้นในด้านเนื้อสัมผัสของคีเฟอร์นมกระบือ โดยพบว่าผู้บริโภคชอบเนื้อสัมผัสของทั้งคีเฟอร์นมโค และคีเฟอร์นมกระบือที่ใช้ปริมาณเมล็ดคีเฟอร์ร้อยละ 10 น้ำหนักต่อปริมาตรนมที่ใช้ระยะเวลาในการหมัก 14 ชั่วโมงมากที่สุด ในด้านรสชาติพบว่าคีเฟอร์นมโคที่ใช้ปริมาณเชื้อร้อยละ 5 น้ำหนักต่อปริมาตรนม และระยะเวลาการหมัก 14 ชั่วโมง และคีเฟอร์นมกระบือที่ใช้ปริมาณเชื้อร้อยละ 10 น้ำหนักต่อปริมาตรนม และระยะเวลาการหมัก 12 ชั่วโมง ได้คะแนนความชอบมากที่สุด เมื่อสอบถามผู้บริโภคพบว่ารสชาติของคีเฟอร์นมโค และนมกระบือที่ใช้ปริมาณเชื้อร้อยละ 5 น้ำหนักต่อปริมาตรนม และระยะเวลาการหมัก 14 ชั่วโมง กับใช้ปริมาณเชื้อร้อยละ 10 น้ำหนักต่อปริมาตรนม และระยะเวลาการหมัก 12 ชั่วโมง มีรสชาติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใกล้เคียงกันมาก และเมื่อพิจารณารวมกับคะแนนความชอบโดยรวม ผู้ทดลองจึงได้เลือกใช้คีเฟอร์ใช้ปริมาณเมล็ดคีเฟอร์ร้อยละ 5 น้ำหนักต่อปริมาตร โดยระยะการหมัก 14 ชั่วโมง สำหรับการทดลองในครั้งต่อไป เนื่องจากไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับคีเฟอร์ที่ใช้ปริมาณเมล็ดคีเฟอร์ร้อยละ 10 น้ำหนักต่อปริมาตรนม โดยระยะการหมัก 12 ชั่วโมง

ตารางที่ 4.2 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์นมโคที่ใช้ปริมาณเมล็ดคีเฟอร์และระยะเวลาการหมักต่างกัน

คุณลักษณะ	ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส			
	ปริมาณเชื้อ			
	ปริมาณเชื้อ 5% w/v		เชื้อ 10% w/v	
	ระยะเวลาในการหมัก			
	ชั่วโมง 12	ชั่วโมง 14	ชั่วโมง 12	ชั่วโมง 14
ลักษณะที่ปรากฏ	75.6±96.0[a]	6.75±0.96[a]	7.25±0.50[a]	75.7±50.0[a]
สี	00.7±63.1[a]	7.00±82.0[a]	7.25±0.50[a]	25.7±0.50[a]
กลิ่น	75.5±50.0[a]	5.75±96.0[a]	6.00±82.0[a]	6.25±96.0[a]
เนื้อสัมผัส	25.5±26.1[a]	5.50±1.29[a]	5.75±1.89[a]	6.50±1.73[a]
รสชาติ	25.4±96.0[a]	5.00±1.83[a]	50.4±1.73[a]	75.4±06.2[a]
ความชอบรวม	75.4±96.0[a]	5.00±1.83[a]	5.25±1.50[a]	5.50±1.73[a]

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันที่ตัวอย่างต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ค่าเฉลี่ยที่ได้มาจากผู้ทดสอบจำนวน 4 คน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์นมกระบือที่ใช้ปริมาณเมล็ดคีเฟอร์และระยะเวลาการหมักต่างกัน

คุณลักษณะ	ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส			
	ปริมาณเชื้อ			
	5% w/v		10% w/v	
	ระยะเวลาในการหมัก			
	ชั่วโมง 12	ชั่วโมง 14	ชั่วโมง 12	ชั่วโมง 14
ลักษณะปรากฏ	50.6±73.1^{a}	6.50±00.1^{a}	75.6±26.1^{a}	00.6±16.1^{a}
สี	00.7±41.1^{a}	00.7±41.1^{a}	00.7±41.1^{a}	00.7±41.1^{a}
กลิ่น	50.5±29.1^{a}	5.25±89.1^{a}	6.25±71.1^{a}	6.00±83.1^{a}
เนื้อสัมผัส	00.4±63.1^{a}	5.25±1.26^{ab}	5.00±1.41^{ab}	6.50±1.00^{ab}
รสชาติ	00.4±41.1^{a}	5.00±82.0^{a}	75.5±96.0^{a}	50.5±29.1^{a}
ความชอบรวม	00.5±82.0^{a}	5.50±1.00^{a}	6.25±96.0^{a}	5.75±1.50^{a}

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันที่ตัวอย่างต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ค่าเฉลี่ยที่ได้มาจากผู้ทดสอบจำนวน 4 คน

4.4 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์นมที่ผลิตจากคีเฟอร์นมกระบือผสมคีเฟอร์นมโค

คีเฟอร์ที่ผลิตจากนมโคจะมีกลิ่นที่หอมสดชื่นมากกว่าคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมกระบือ ในขณะที่คีเฟอร์นมกระบือมีความหนืดมากกว่าคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมโค ยิ่งไปกว่านั้นคีเฟอร์นมกระบือมีโอกาสในการแยกชั้นของเหลวสีเหลืองน้อย (serum separation) จึงเหมาะสำหรับการผลิตคีเฟอร์ในระดับอุสาหกรรม อย่างไรก็ตามนมกระบือมีค่าใช้จ่ายที่สูงกว่านมโคจึงได้นำคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมกระบือผสมกับคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมโคในอัตราส่วนต่าง ๆ โดยศึกษาคุณลักษณะในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่นรส รสชาติ และเนื้อสัมผัสของคีเฟอร์ โดยใช้ปริมาณเมล็ดคีเฟอร์ร้อยละ 5 น้ำหนักต่อปริมาตรนม หมักคีเฟอร์นมโค และนมกระบือเป็นระยะเวลา 14 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำคีเฟอร์ที่ได้มาผสมกันในอัตราส่วน คีเฟอร์นมกระบือต่อคีเฟอร์นมโค 25:75 50:50 และ 75:25 แล้วแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5-7 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง โดยมีตัวอย่างควบคุม คือ คีเฟอร์นมกระบือ และคีเฟอร์นมโค หลังจากนั้นนำมาทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยใช้ 5-point hedonic scale ในการทดสอบ ได้ผลดังตารางที่ 4.4 พบว่าตัวอย่างทั้ง 5 ตัวอย่างมีลักษณะปรากฏและสีคล้ายคลึงกันหมดคือมีสีขาวนวลเหมือนโยเกิร์ตรสธรรมชาติ แต่ในคีเฟอร์นมกระบือจะมีสีที่ขาวกว่า เป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลจากในนมกระบือมีไรโบฟลาวิน (riboflavin) น้อยกว่านมโคทำให้ค่า b* (สีเหลือง-สีฟ้า) ต่ำกว่า ในขณะที่ค่า a* (สีแดง-สีเขียว) ในทุกตัวอย่างคีเฟอร์มีค่าติดลบ อย่างไรก็ตามชนิดของนมที่ใช้ผลิตคีเฟอร์ส่งผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่อค่าความเข้มของสี (chroma, C*) (Gul และคณะ, 2018) และคะแนนความชอบด้านลักษณะที่ปรากฏได้เท่ากันหมด ส่วนคะแนนความชอบด้านสีมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ คะแนนความชอบด้านกลิ่นพบว่า ตัวอย่างคีเฟอร์มีกลิ่นที่เป็นเอกลักษณ์ของคีเฟอร์ที่คล้ายกับกลิ่นโยเกิร์ตแต่ในคีเฟอร์ที่หมักจากนมโค (ตัวอย่างควบคุม) และคีเฟอร์ผสมนมกระบือต่อนมโคในอัตราส่วน 25:75 มีกลิ่นหอมมากกว่า เนื่องจากคีเฟอร์นมโคมีความเป็นโฟม (foam) มากกว่าคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมกระบือ (Gul และคณะ, 2018) ซึ่งคะแนนความชอบด้านกลิ่นของผู้บริโภคให้คะแนนเท่ากันในคีเฟอร์นมโค (ตัวอย่างควบคุม) คีเฟอร์นมกระบือผสมคีเฟอร์นมโคในอัตราส่วน 25:75 และ 50:50 นอกจากนี้ยังมีรสชาติที่เปรี้ยวกว่าเล็กน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับคีเฟอร์นมกระบือ (ตัวอย่างควบคุม) และคีเฟอร์นมกระบือผสมคีเฟอร์นมโคในอัตราส่วน 75:25 อย่างไรก็ตาม คีเฟอร์นมกระบือ (ตัวอย่างควบคุม) และคีเฟอร์นมกระบือผสมคีเฟอร์นมโคในอัตราส่วน 75:25 มีความข้นหนืดมากกว่าตัวอย่างคีเฟอร์อื่นๆ ดังแสดงในตารางที่ 4.5 ความหนืดสูงสามารถอธิบายได้จากปริมาณไขมันในนมกระบือที่สูงกว่านมโคซึ่งสนับสนุนความสามารถในการอุ้มน้ำจึงส่งผลให้มีความหนืดมากจากโครงสร้างเจล (gel formation) ที่แข็งแรง และชนิดของนมที่ใช้ในการผลิตคีเฟอร์ส่งผลอย่างมีนัยสำคัญทางสภิติ ($p < 0.05$) ความคงตัวที่มากเป็นผลมาจากความหนืดที่มากซึ่งความคงตัวของคีเฟอร์ที่แตกต่างกันเป็นผลมาจากองค์ประกอบของไขมันและองค์ประกอบอื่นๆในนม เช่น ขนาดของ ไมเซลล์เคซีน (casein micelle) (Gul และคณะ, 2018) ยิ่งไปกว่านั้นการเปลี่ยนแปลงของคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสมีความสัมพันธ์กับค่าเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์ซึ่งส่งผลกับความคงตัว (firmer body) ความสามารถในการอุ้มน้ำ (Water holding capacity) ความเป็นครีม (creaminess) และความเป็นเมือก (ropiness) (Folkenberg และคณะ, 2005) อย่างไรก็ตามพบว่า คะแนนด้านเนื้อสัมผัสของคีเฟอร์นมโค (ตัวอย่างควบคุม) มีค่ามากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างอื่นๆ แต่แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และเมื่อทำการเรียงลำดับความชอบโดยรวมสามารถเรียงจากมากไปน้อยได้ดังนี้ คีเฟอร์นมโค คีเฟอร์กระบือต่อนมโค 50:50 คีเฟอร์กระบือต่อนมโค 75:25 คีเฟอร์กระบือต่อนมโค 25:75 และคีเฟอร์นมกระบือ คะแนนความชอบโดยรวมของคีเฟอร์ที่ผสมนมกระบือและนมโคมากที่สุดอยู่ในคีเฟอร์นมที่ผสมนมกระบือต่อนมโคในอัตราส่วน 50:50 และ 75:25 จึงนำคีเฟอร์นมที่ผสมคีเฟอร์นมกระบือต่อคีเฟอร์นมโคในอัตราส่วน 50:50 และ 75:25 มาศึกษาต่อในด้าน เคมี จุลินทรีย์และคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมกระบือผสมนมโค

คุณลักษณะ	คีเฟอร์นมกระบือผสมนมโค (นมกระบือ:นมโค)				
	นมโค	นมกระบือ	25: 75	50 : 50	75 : 25
ลักษณะที่ปรากฏ	4.13±0.84[a]	4.13±0.64[a]	4.13±0.64[a]	4.13±0.64[a]	4.13±0.64[a]
สี	4.33±0.52[a]	4.25±0.46[a]	4.25±0.46[a]	4.38±0.52[a]	4.25±0.46[a]
กลิ่น	3.50±0.76[a]	3.38±0.74[a]	3.50±1.07[a]	3.50±0.76[a]	3.25±0.71[a]
เนื้อสัมผัส	4.00±0.54[a]	2.88±1.13[a]	3.25±0.89[a]	3.25±0.71[a]	3.00±1.07[a]
รสชาติ	3.25±0.89[a]	2.87±1.13[a]	3.00±1.07[a]	3.25±0.71[a]	3.25±0.89[a]
ความชอบรวม	3.50±0.76[a]	3.13±0.99[a]	3.25±0.71[a]	3.38±0.52[a]	3.35±0.74[a]

หมายเหตุ : ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่แตกต่างกันที่ตัวอย่างต่างกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ค่าเฉลี่ยที่ได้มาจากผู้ทดสอบจำนวน 8 คน

ตารางที่ 4.5 ระดับความเปรี้ยวและระยะเวลาการไหลของคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมกระบือผสมนมโค

คุณลักษณะ	คีเฟอร์นมกระบือผสมนมโค (นมกระบือ:นมโค)				
	นมโค 100%	นมกระบือ 100%	25:75	50:50	75:25
ระดับความเปรี้ยว	4	1	4	3	1
ระยะเวลาการไหล (วินาที)	5.63	15.21	7.79	8.39	12.31

หมายเหตุ : กำหนดให้ระดับความเปรี้ยวดังนี้ 5 = เปรี้ยวมากที่สุด 4 = เปรี้ยวมาก 3 = เปรี้ยวปานกลาง 2 = เปรี้ยวน้อย 1 = เปรี้ยวน้อยที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 ค่าทางเคมี จุลินทรีย์และคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์นมกระบือต่อนมโคในอัตราส่วน 50:50 และ 75:25

คีเฟอร์นมโคมีกลิ่นสดชื่นที่เป็นเอกลักษณ์ของคีเฟอร์มากกว่าคีเฟอร์นมกระบือ แต่คีเฟอร์นมกระบือมีคุณค่าทางอาหารสูงกว่า (Gul และคณะ, 2018) จึงได้นำคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมกระบือผสมกับคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมโคในอัตราส่วนคีเฟอร์นมกระบือต่อคีเฟอร์นมโค 25:75 50:50 และ 75:25 โดยมีคีเฟอร์นมกระบือและคีเฟอร์นมโคเป็นตัวอย่างควบคุม เมื่อทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสกับผู้ทดลองจำนวน 8 คน พบว่าคะแนนความชอบโดยรวมของคีเฟอร์ที่ผสมนมกระบือและนมโคมากที่สุดอยู่ในคีเฟอร์นมที่ผสมนมกระบือต่อนมโคในอัตราส่วน 50:50 และ 75:25 จึงนำคีเฟอร์นมที่ผสมคีเฟอร์นมกระบือต่อคีเฟอร์นมโคในอัตราส่วน 50:50 และ 75:25 มาศึกษาต่อในด้าน เคมี จุลินทรีย์และคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส

4.5.1 ค่าทางเคมีหลังการหมักคีเฟอร์นมที่ผลิตจากนมกระบือผสมนมโค

ค่าพีเอช ปริมาณกรดแลคติก และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ของคีเฟอร์นมที่ใช้ปริมาณเมล็ดคีเฟอร์ร้อยละ 5 น้ำหนักต่อปริมาตรนม โดยหมัก 14 ชั่วโมง หมักที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นทำการผสมกันระหว่างคีเฟอร์นมกระบือและคีเฟอร์นมโคในอัตราส่วน 50:50 และ 75:25 แล้วนำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5-7 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แสดงดังตารางที่ 4.6 จากการศึกษาพบว่า ค่าพีเอช ปริมาณกรดแลคติก และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้มีค่าที่ใกล้เคียงกันทั้งสองตัวอย่าง โดยค่าพีเอชของตัวอย่างคีเฟอร์ที่มีส่วนผสมของนมกระบือต่อคีเฟอร์จากนมโคในอัตราส่วน 75:25 และ 50:50 มีค่าพีเอชเท่ากับ 5.05 และ 4.87 ตามลำดับ เนื่องจากคีเฟอร์ที่ผสมระหว่างคีเฟอร์นมกระบือต่อคีเฟอร์นมโคในอัตราส่วน 75:25 มีส่วนผสมของคีเฟอร์นมกระบือมากกว่าคีเฟอร์นมโค ซึ่งพบว่าค่าพีเอชของคีเฟอร์นมกระบือสูงกว่าคีเฟอร์นมโคอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (Gul และคณะ, 2015; Guzel และคณะ, 2000) และค่าความจุของการเป็นบัฟเฟอร์ (buffer capacity) ของนมกระบือสูงกว่านมโคจึงส่งผลให้ค่าพีเอชของคีเฟอร์นมกระบือลดลงช้ากว่าคีเฟอร์นมโค ยิ่งไปกว่านั้นคุณสมบัติความเป็นบัฟเฟอร์ของนมนั้นสัมพันธ์กับองค์ประกอบในสารประกอบกรด-เบส และสารประกอบอนินทรีย์ฟอสเฟตช่วยให้ความเป็นบัฟเฟอร์ของนมกระบือสูงกว่านมโค (Ahmad และคณะ, 2007) นอกจากนี้ในระหว่างการเก็บรักษาปริมาณของเชื้อแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกจะมีปริมาณที่ลดลงตามระยะเวลาซึ่งทำให้คีเฟอร์มีความเป็นกรดที่ลดลงด้วย (Irigoyen และคณะ, 2004) ในส่วนของปริมาณกรดแลคติก พบว่าคีเฟอร์นมที่มีส่วนผสมของคีเฟอร์นมกระบือต่อคีเฟอร์นมโคในอัตราส่วน 50:50 และ 75:25 มีปริมาณของกรดแลคติกร้อย 0.69 น้ำหนักต่อปริมาตร และร้อยละ 0.60 น้ำหนักต่อปริมาตร ตามลำดับ ซึ่งเป็นไปตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุข และสอดคล้องกับงานวิจัยของ Osman และคณะ (2015) ที่พบว่าปริมาณกรดแลคติกของคีเฟอร์นมโค และคีเฟอร์นมกระบือหลังสิ้นสุดการหมัก และในระหว่างการเก็บรักษาปริมาณกรดแลคติกที่พบในคีเฟอร์จะมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ร้อยละ 0.64 ถึง 0.76 น้ำหนักต่อปริมาตร เนื่องจากปริมาณของยีสต์ที่สูงไปยับยั้งการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก การสร้างกรดแลคติก และการสร้างกรดอะซิตริก

ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ของคีเฟอร์นมที่มีส่วนผสมของคีเฟอร์นมกระบือต่อคีเฟอร์นมโคในอัตราส่วน 50:50 และ 75:25 มีค่าเท่ากับ 6.67 และ 7 องศาบริกซ์ ตามลำดับ ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ของคีเฟอร์นมกระบือจะสูงกว่าในคีเฟอร์นมโคเพราะว่าในนมกระบือมีของแข็งทั้งหมด (total solid) อยู่ในช่วงร้อยละ 16.99-20.18 น้ำหนักต่อปริมาตร ซึ่งสูงกว่าในนมโคที่อยู่ในช่วงร้อยละ 11.23-14.26 น้ำหนักต่อปริมาตร อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.001$) (Asif และ Sumarai, 2010)

ตารางที่ 4.6 ค่าพีเอช ปริมาณกรดแลคติก และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ในคีเฟอร์หลักการหมัก

คีเฟอร์นมกระบือต่อคีเฟอร์นมโค	pH	LA (%w/v)	TSS (°Brix)
50:50	4.87±SD	0.69±SD	6.67±SD
75:25	5.05±SD	0.60±SD	7±SD

หมายเหตุ : ค่าที่ได้เป็นค่าเฉลี่ยน จากผลการทดลอง 3 ซ้ำ

4.5.2 สัณฐานวิทยาของเซลล์ รูปร่าง การจัดเรียง และการทดสอบการสร้างเอนไซม์แคตะเลสของแบคทีเรียที่พบในคีเฟอร์นมที่ผลิตจากนมกระบือผสมนมโค

ทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ รูปร่าง และการทดสอบการสร้างเอนไซม์แคตะเลสของแบคทีเรียที่พบในคีเฟอร์ที่ผสมกันระหว่างคีเฟอร์นมกระบือและคีเฟอร์นมโคในอัตราส่วนคีเฟอร์นมกระบือต่อคีเฟอร์นมโค 50:50 และ75:25 หลังจากการเก็บรักษา โดยคัดเลือกโคโลนีของแบคทีเรียจากอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Agar ที่มีส่วนผสมของแคลเซียมคาร์บอเนต พบว่าตัวอย่างคีเฟอร์ที่ผสมระหว่างคีเฟอร์นมกระบือและนมโคในอัตราส่วน 75:25 ดังตารางที่ 4.7 พบว่ามี 1 โคโลนีเป็นแบคทีเรียแกรมลบ ส่วนอีกโคโลนีเป็นแบคทีเรียแกรมบวก ส่วนตัวอย่างคีเฟอร์ที่ผสมในอัตราส่วนคีเฟอร์นมกระบือต่อคีเฟอร์นมโค 50:50 พบว่ามีลักษณะโคโลนีที่แตกต่างกัน 2 โคโลนีเหมือนกัน ดังตารางที่ 4.8 โดยทั้งสองโคโลนีเป็นแกรมบวก และพบว่ามีโคโลนีที่มีการสร้างบริเวณใส (clear zone) ทั้งตัวอย่างคีเฟอร์ที่ผสมในอัตราส่วนคีเฟอร์นมกระบือต่อคีเฟอร์นมโค 50:50 และ75:25 เนื่องจากมีการผสมแคลเซียมคาร์บอเนตในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Agar เพื่อดูการสร้างกรดแลคติกของเชื้อแบคทีเรียแลคติก เพราะเมื่อเชื้อแบคทีเรียแลคติกมีการสร้างกรดแลคติกขึ้นมานั้นเมื่อทำปฏิกิริยากับแคลเซียมคาร์บอเนต ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นอนุพันธ์เชิงซ้อนของ Ca $(C_3H_6O_3)_2$ น้ำ และ

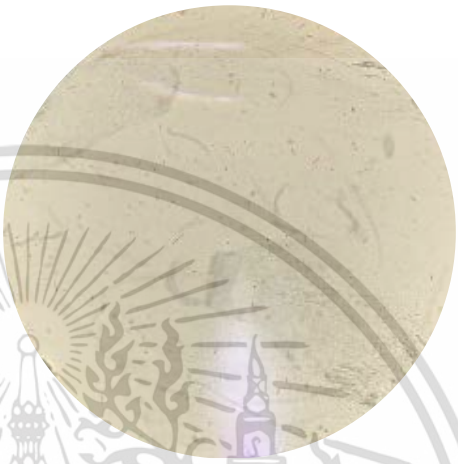
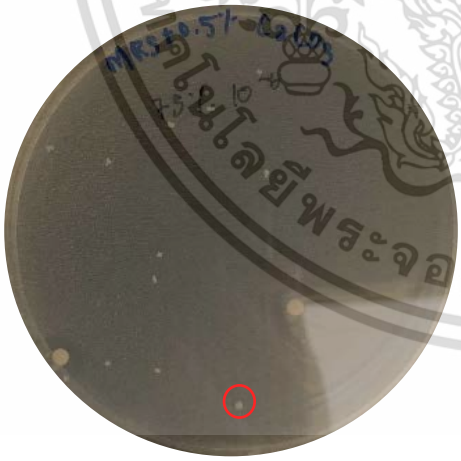
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้น (Moorehead และคณะ, 2008) ซึ่งสารเชิงซ้อน Ca $(C_3H_6O_3)_2$ ทำให้เกิดวงใสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังตารางที่ 4.7 และตารางที่ 4.8 ลักษณะวงใสที่เกิดขึ้นสามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้สำหรับการคัดเลือกเพื่อนำไปทดสอบด้วยวิธีอื่น ๆ และใช้พิสูจน์ว่าเป็นแบคทีเรียแลคติกจริงหรือไม่ต่อไป โดยเมื่อทำการทดสอบการสร้างเอนไซม์แคตะเลส พบว่าทุกโคโลนีไม่ทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งบ่งบอกว่าไม่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์แคตะเลสได้ เนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่ไม่ต้องการอากาศในการเจริญ (anaerobe) หรืออาจต้องการอากาศเล็กน้อยในการเจริญ (facultative anaerobe) จึงเกิดกระบวนการหมักขึ้น ดังนั้นแบคทีเรียทั้งสามชนิดที่พบจึงสามารถหมักน้ำตาลแลคโตสในนมเพื่อผลิตกรดแลคติก และสารอินทรีย์ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน หรือมีออกซิเจนเพียงเล็กน้อยได้

ตารางที่ 4.7 แบคทีเรียที่พบในคีเฟอร์ผสมระหว่างคีเฟอร์จากนมกระบือต่อคีเฟอร์จากนมโคในอัตราส่วน 75:25 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar

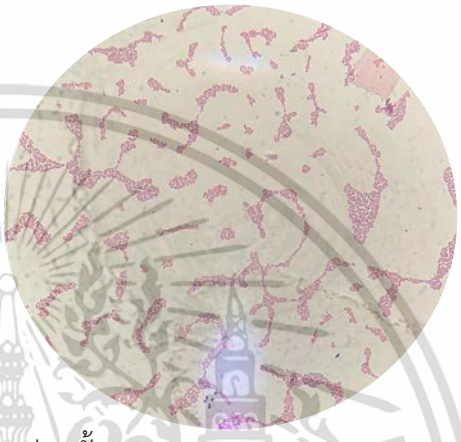
ลำดับที่	ลักษณะโคโลนี	ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์	การย้อมติดสีแกรม
1	 -โคโลนีสีขาวขุ่น -มีขอบชัดเจน -มีการสร้าง clear zone	 -รูปร่างท่อนสั้น -อยู่แบบเดี่ยว	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

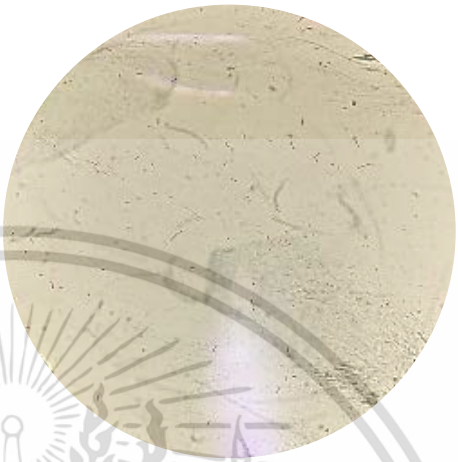
ลำดับที่	ลักษณะโคโลนี	ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์	การย้อมติดสีแกรม	การสร้างเอนไซม์แคตะเลส
2	 -โคโลนีสีขาวขุ่น -ขอบไม่ชัดเจน -ไม่มีการสร้าง clear zone	 -รูปร่างท่อนต่อกันเป็นสาย	+	-
3	 -โคโลนีสีขาวขุ่น -ขอบไม่ชัดเจน -ไม่มีการสร้าง clear zone	 -รูปร่างกลมต่อกันเป็นสาย	+	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 แบคทีเรียที่พบในคีเฟอร์ผสมระหว่างคีเฟอร์จากนมกระบือต่อคีเฟอร์จากนมโคในอัตราส่วน 50:50 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar

ลำดับที่	ลักษณะโคโลนี	ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์	การย้อมติดสีแกรม	การสร้างเอนไซม์แคตะเลส
1	 -โคโลนีสีขาวขุ่น -มีขอบชัดเจน -มีการสร้าง clear zone	 -ท่อนสั้น -อยู่แบบเดี่ยว	+	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลำดับที่	ลักษณะโคโลนี	ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์	การย้อมติดสีแกรม	การสร้างเอนไซม์แคตะเลส
	-โคโลนีสีขาวขุ่น -ขอบไม่ชัดเจน -ไม่มีการสร้าง clear zone	 -รูปร่างท่อนต่อกันเป็นสาย	+	-

หมายเหตุ:ภาพใต้กล้องจุลทรรศน์พื้นหลังสว่าง กำลังขยาย 100x กำลังขยายทั้งหมด 1000 เท่า

การย้อมติดสีแกรม + คือ แบคทีเรียแกรมบวก

การย้อมติดสีแกรม - คือ แบคทีเรียแกรมลบ

ผลการทดสอบเอนไซม์แคตะเลส + คือ สร้างเอนไซม์แคตะเลส

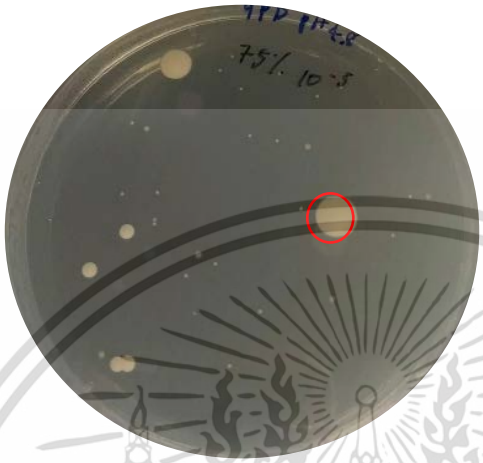
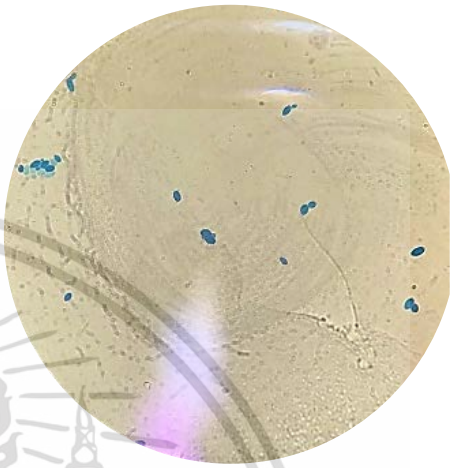
ผลการทดสอบเอนไซม์แคตะเลส - คือ ไม่สร้างเอนไซม์แคตะเลส

4.4.3 สัณฐานวิทยาของเซลล์ รูปร่าง ของยีสต์ที่พบในคีเฟอร์นมที่ผลิตจากนมกระบือผสมนมโค

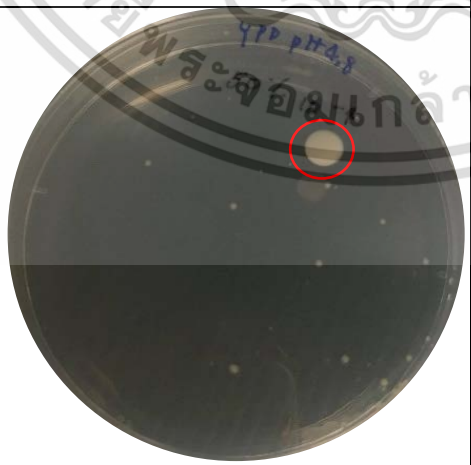
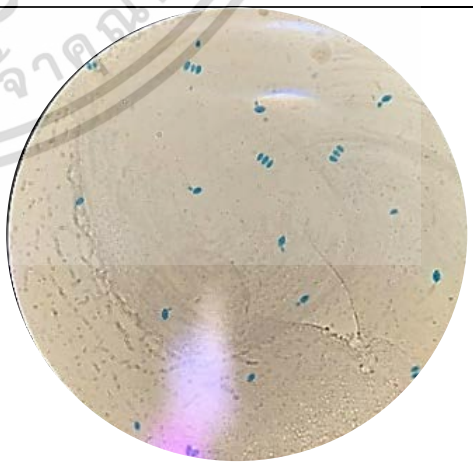
ทำการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ รูปร่าง ของยีสต์บนอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD Agar ของคีเฟอร์ที่ผสมกันระหว่างคีเฟอร์นมกระบือต่อเฟอร์นมโคในอัตราส่วน 50:50 และ 75:25 ตามลำดับ จึงได้ทำการคัดเลือกโคโลนีที่มีลักษณะสีขาวขุ่น และมีขอบชัดเจน จากนั้นนำไปย้อมสีโดยใช้ Methylene blue เพื่อดูรูปร่างของยีสต์พบว่ามีลักษณะที่บ่งชี้ว่าเป็นยีสต์ เช่น พบว่ามีการแตกหน่อ ดังภาพในตารางที่ 4.9 และตารางที่ 4.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.9 ยีสต์ที่พบในคีเฟอร์ผสมระหว่างคีเฟอร์จากนมกระบือต่อคีเฟอร์จากนมโคในอัตราส่วน 75:25 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD agar

ลำดับที่	ลักษณะโคโลนี	ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์
1	 -โคโลนีสีขาวขุ่น -มีขอบชัดเจน	

ตารางที่ 4.10 ยีสต์ที่พบในคีเฟอร์ผสมระหว่างคีเฟอร์จากนมกระบือต่อคีเฟอร์จากนมโคในอัตราส่วน 50:50 บนอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD agar

ลำดับที่	ลักษณะโคโลนี	ภาพภายใต้กล้องจุลทรรศน์
1	 -โคโลนีสีขาวขุ่น -มีขอบชัดเจน	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.3 จุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์คีเฟอร์นมที่ผลิตจากนมกระบือผสมนมโค

4.5.3.1 จำนวนของแบคทีเรียที่มีในคีเฟอร์นม

เมื่อทำการหมักคีเฟอร์โดยใช้ปริมาณเมล็ดคีเฟอร์ร้อยละ 5 น้ำหนักต่อปริมาตรนม เป็นเวลา 14 ชั่วโมง แล้วนำไปเก็บรักษาโดยการแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5-7 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จึงทำการติดตามจำนวนแบคทีเรียโดยใช้เทคนิค spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Agar ตามลำดับการเจือจางที่เหมาะสม บ่มเชื้อในสภาวะไร้อากาศเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าจำนวนของเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกในตัวอย่างของคีเฟอร์ที่ผสมกันระหว่างคีเฟอร์นมกระบือและคีเฟอร์นมโคในอัตราส่วน 75:25 มีปริมาณของเชื้อแบคทีเรียแลคติกเท่ากับ 1.9×10^{8} CFU/ml ซึ่งสูงกว่าตัวอย่างคีเฟอร์นมที่ผสมระหว่างคีเฟอร์นมกระบือและคีเฟอร์นมโคในอัตราส่วน 50:50 ที่มีจำนวนเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกเท่ากับ 4.5×0^{7} CFU/ml เป็นเพราะตัวอย่างคีเฟอร์นมกระบือผสมคีเฟอร์นมโคในอัตราส่วน 75:25 มีปริมาณของคีเฟอร์นมกระบือมากกว่าปริมาณของคีเฟอร์นมโค ซึ่งในนมกระบือมีสารอาหารสูงจึงทำให้เชื้อแบคทีเรียแลคติกสามารถเจริญได้รวดเร็วกว่าในนมโค (Han และคณะ, 2007)อย่างไรก็ตามชนิดของนมไม่ส่งผลต่อจำนวนเชื้อแบคทีเรียแลคติก ($p>0.05$) นอกจากนี้ยังพบว่าจำนวนแบคทีเรียแลคติกลดลงเล็กน้อยหลังเก็บรักษามาแล้ว 14 วัน ที่อุณภูมิ 4 องศาเซลเซียส เนื่องจากค่าพีเอชที่ลดลงจึงเกิดการสลายเซลล์ (cell proteolysis) (Gul และคณะ, 2015)

4.5.3.2 จำนวนของยีสต์ที่มีในคีเฟอร์นม

เมื่อทำการหมักคีเฟอร์โดยใช้ปริมาณเมล็ดคีเฟอร์ร้อยละ 5 น้ำหนักต่อปริมาตรนม เป็นเวลา 14 ชั่วโมง แล้วนำไปเก็บรักษาโดยการแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5-7 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง จึงทำการติดตามจำนวนยีสต์โดยใช้เทคนิค spread plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD ตามลำดับการเจือจางที่เหมาะสม บ่มเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง พบว่าจำนวนของยีสต์ในคีเฟอร์นมกระบือผสมคีเฟอร์นมโคในอัตราส่วน 75:25 มีจำนวนยีสต์ 1.9×10^{7} CFU/ml ซึ่งมากกว่าคีเฟอร์นมกระบือผสมคีเฟอร์นมโคในอัตราส่วน 50:50 ที่มีจำนวนยีสต์ 1.6×10^{6} CFU/ml เป็นเพราะว่าในตัวอย่างของคีเฟอร์นมกระบือผสมคีเฟอร์นมโคในอัตราส่วน 75:25 มีส่วนผสมของคีเฟอร์นมกระบือสูงกว่า อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบจำนวนยีสต์หลังการหมัก และระหว่างการเก็บรักษาคีเฟอร์นมกระบือและคีเฟอร์นมโคพบว่าคีเฟอร์นมกระบือที่ใช้เมล็ดคีเฟอร์ในการผลิตมีจำนวนยีสต์สูงที่สุดและจะเพิ่มจำนวนขึ้นเรื่อยๆจนถึงวันที่ 14 ของการเก็บรักษาที่อุณภูมิ 4 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นจำนวนยีสต์จะค่อยๆลดลงซึ่งเป็นผลมาจากแบคทีเรียกรดแลคติกเปลี่ยนกรดไพรูวิก (pyruvic acid) มาเป็นกรดแลคติก (lactic acid) และยังพบว่าจำนวนยีสต์หลังจากหมักเสร็จของคีเฟอร์นมกระบือและคีเฟอร์นมโคที่ผลิตจากเมล็ดคีเฟอร์แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งผลที่ขัดแย้งกันนี้เนื่องมาจากองค์ประกอบย่อยของนมคนละชนิด (Simova และคณะ, 20002; Wszolek และคณะ, 2001)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.4 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์นมที่ผลิตจากนมกระบือผสมนมโค

เมื่อทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมโคผสมนมกระบือที่ใช้ปริมาณเมล็ดคีเฟอร์ร้อยละ 5 น้ำหนักต่อปริมาตรนม หมักในระยะเวลา 14 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส จากนั้นผสมกันในอัตราส่วนคีเฟอร์นมกระบือต่อนมโค 50:50 และ 75:25 แล้วนำแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5-7 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโม แล้วนำมาทดสอบทางประสาทสัมผัสกับผู้ทดสอบจำนวน 8 คน ได้ดังตารางที่ 4.11 พบว่าในด้านลักษณะที่ปรากฏ สี กลิ่น มีคะแนนเท่ากัน ในขณะที่เนื้อสัมผัส รสชาติ และความชอบโดยรวมของคีเฟอร์นมกระบือต่อนมโค 75:25 สูงกว่าของคีเฟอร์นมกระบือต่อนมโค 50:50 เนื่องจากในคีเฟอร์นมกระบือต่อนมโค 75:25 มีส่วนผสมของคีเฟอร์นม กระบือสูงกว่าจึงมีคุณสมบัติทางเนื้อสัมผัส ความคงตัว และความหนืดสูง (Nahar และคณะ,2007) นอกจากนี้ยังพบว่ายีสต์สามารถเจริญในนมกระบือได้ดีกว่าซึ่งเป็นที่รู้กันดีว่ายีสต์โพรไบโอติก (probiotic yeasts) ส่งผลดีต่อสุขภาพ (Gökhan และคณะ, 2019)

ตารางที่ 4.11 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมกระบือผสมนมโค

คุณลักษณะ	คีเฟอร์นมกระบือผสมนมโค (นมกระบือ:นมโค)	
	50 : 50	75 : 25
ลักษณะที่ปรากฏ	3.88±0.84	3.88±0.64
สี	4.25±0.46	4.25±0.46
กลิ่น	3.38±0.92	3.88±64.0
เนื้อสัมผัส	3.50±0.93	00.4±0.76
รสชาติ	3.63±0.74	00.4±0.54
ความชอบรวม	63.3±0.74	00.4±0.54

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่ได้มาจากผู้ทดสอบจำนวน 8 คน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผล

จากการศึกษาผลของคีเฟอร์นมกระบือและคีเฟอร์นมโคที่ใช้ปริมาณเมล็ดคีเฟอร์ร้อยละ 5 น้ำหนักต่อปริมาตรนม และเชื้อร้อยละ 10 น้ำหนักต่อปริมาตรนม โดยหมักเป็นระยะเวลา 12 และ 14 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แล้วทำการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่าชนิดของนมที่ใช้ในการผลิตคีเฟอร์มีผลต่อความข้นหนืดและเนื้อสัมผัสของคีเฟอร์ โดยคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมกระบือมีความข้นหนืดมากกว่าคีเฟอร์ที่ผลิตจากนมโค นอกจากนี้ปริมาณเมล็ดคีเฟอร์และระยะเวลาในการหมักส่งมีผลต่อเนื้อสัมผัส รสชาติ และความชอบโดยรวมของผู้บริโภค ยิ่งไปกว่านั้นพบว่าปริมาณเมล็ดคีเฟอร์และระยะเวลาการหมักที่เพิ่มขึ้นในการผลิตคีเฟอร์นมกระบือส่งผลต่อเนื้อสัมผัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

คีเฟอร์นมกระบือและนมโคที่ผลิตจากเมล็ดคีเฟอร์ร้อยละ 5 น้ำหนักต่อปริมาตรนม หมักเป็นระยะเวลา 14 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส แล้วทำการผสมคีเฟอร์นมกระบือต่อคีเฟอร์นมโคในอัตราส่วน 25:75 50:50 และ 75:25 หลังจากนั้นทำการแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5-7 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง โดยมีคีเฟอร์นมกระบือและคีเฟอร์นมโคเป็นตัวอย่างควบคุม พบว่าผู้บริโภคให้ผลตอบรับคีเฟอร์นมกระบือต่อคีเฟอร์นมโคในอัตราส่วน 50:50 และ 75:25 ดีที่สุดและพบว่าชนิดของนมส่งผลต่อองค์ประกอบทางเคมีและจุลินทรีย์ นมกระบือมีคุณค่าทางอาหารที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์มากกว่านมโค แต่นมกระบือมีความสามารถในการต้านทานการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช (buffering capacity) มากกว่านมโค เมื่อทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสผู้บริโภคให้ผลตอบรับคีเฟอร์นมกระบือต่อคีเฟอร์นมโคในอัตราส่วน 75:25 ดีกว่าคีเฟอร์นมกระบือต่อคีเฟอร์นมโคในอัตราส่วน 50:50 ($p>0.05$)

ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าการผสมคีเฟอร์นมกระบือกับคีเฟอร์นมโคช่วยปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัสแก่คีเฟอร์นม อย่างไรก็ตามต้องมีการปรับปรุงและพัฒนาให้ได้คีเฟอร์ที่มีคุณภาพคงที่ในทุกรอบของการผลิต การผสมคีเฟอร์นมกระบือและนมโคเป็นอีกทางเลือกที่ช่วยพัฒนาผลิตภัณฑ์ในด้านประสาทสัมผัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรมีการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในผลิตภัณฑ์เพิ่มเติมและเพิ่มจำนวนผู้ทำการทดสอบทางประสาทสัมผัส

5.2.2 ควรมีการทดสอบทางเคมี จุลินทรีย์ และทางประสาทสัมผัส ในคีเฟอร์นมกระบือผสมคีเฟอร์นมโครระหว่างการหมักและระหว่างการเก็บรักษา

5.2.3 ควรมีการศึกษาอายุการเก็บรักษา การปรับปรุงรสชาติ และคุณค่าทางโภชนาการในคีเฟอร์นม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 353) พ.ศ. 2556 เรื่อง นมเปรี้ยว. ราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่มที่ 130, ตอนพิเศษ 87 ง (ลงวันที่ 24 กรกฎาคม 2556).

นิกร สางห้วยไพร. 2554. ปริมาณการให้นม ส่วนประกอบของน้ำนมในแม่กระบือพื้นเมืองและกระบือนม. กลุ่มวิจัยและพัฒนากระบือ กองบำรุงพันธุ์สัตว์ กรมปศุสัตว์. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.dld.go.th/breeding/buffalo/images/stories/pdf/data_milk.pdf. 16 มิถุนายน 2563.

วิยดา รักซ้อน. 2560. การเปรียบเทียบคุณสมบัติและองค์ประกอบทางเคมีของนมแพะและนมโค. วิทยานิพนธ์ปริญญาบัณฑิต. ภาควิชาสัตวศาสตร์. คณะทรัพยากรธรรมชาติ. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ประสบ บูรณมานัส. 2531. กระบือและการรักษา. หน้า 284. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: โรงพิมพ์ไทยวัฒนาพานิช.

ศิริรัตน์ ดีศีลธรรม. 2555. คีเฟอร์ (บัวหิมะ) ผลิตภัณฑ์นมหมักจากจุลินทรีย์หลายชนิด. วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 40(2): 366-379.

ศุภศิลป์ มณีรัตน์ และ ธรรมนูญ โปรดปราน. 2553. การพัฒนาฟิล์มและสารเคลือบจากเอ็กโซโพลีแซคคาไรด์ของ *Weissella confuse* NH02 ที่ผสมสารยับยั้ง จุลินทรีย์เพื่อยืดอายุการเก็บเนื้อหมูแช่เย็น. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพอุตสาหกรรม คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สุรัสสา สมิตะโยธิน, ชิดชนก นวลฉิมพลี และ ปิตุนาถ หนูเสน. 2547. การผลิตโค. คู่มือการเรียน สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ สานักเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

Ahmad, S., Gaucher, I., Rousseau, F., Beaucher, E., Piot, M., Grongnet, J. F., and Gaucheron, F. 2008. Effects of acidification on physico-chemical characteristics of buffalo milk: A comparison with cow's milk. Food Chemistry. 106(1): 11–17.

Ahmed, Z., Wang, Y., Ahmad, A., Khan, S.T., Nisa, M., Ahmad, H. and Afreen, A. 2013. Kefir and health: A contemporary perspective. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 53(5): 422-434.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Amatayakul, T., Halmos, AL., Sherkat, F. and Shah, NP. 2006. Physical characteristics of yogurts made using exopolysaccharide producing starter cultures and varying casein to whey protein ratios. International Dairy Journal. 16: 40-51.

Amirdivani, S. and Baba, AS. 2011. Changes in yogurt fermentation characteristics and antioxidant potential and in vitro inhibition of angiotensin-1 converting enzyme upon the inclusion of peppermint, dill and basil. Food Science and Technology. 44: 14,58–64

Assadi, M. M., Pourahmad, R., and Moazami, N. 2000. Use of isolate kefir starter cultures in kefir production. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 16(6): 541–543.

Bakht B. K. and A. Iqbal. 2009. The Water buffalo: An underutilized source of milk and meat: A review. Pakistan Journal Zool. Suppl. 9: 517-521.

Bensmira, M. and Jiang, B. 2012. Effect of some operating variables on the microstructure and physical properties of a novel Kefir formulation. Journal of Food Engineering, 108(4), 579–584.

Bilal M.Q., Suleman M. and Raziq A. 2006. Buffalo: Black gold of Pakistan. Department of Livestock Management, University of Agriculture Faisalabad, Pakistan.

Buchelly, J.R., Rodríguez, M. and Sánchez, F.O. 2019. Biotechnological valorization of agro industrial and household wastes for lactic acid production Colomb Botecnol vol.21 no.1 Bogotá

Bulletin of the International Dairy Federation. 2008. Milking management of dairy buffaloes. 426: 104.

Chaves, A. C. S. D., Fernandez, M., Lerayer, A. L. S., Mierau, I., Kleerebezem, M., and Hugenholtz, J. 2002. Metabolic engineering of acetaldehyde production by *Streptococcus thermophilus*. Applied and Environmental Microbiology. 68(11): 5656–5662.

Chen, Z., Shi, J., Yang, X., Nan, B., Liu, Y., and Wang, Z. 2015. Chemical and physical characteristics and antioxidant activities of the exopolysaccharide produced by Tibetan kefir grains during milk fermentation. International Dairy Journal. 43: 15–21.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Connor, T.P. and Brien, N.M. 2006. Lipid Oxidation. In Fox PF, McSweeney PLH, editors. Advanced dairy chemistry: Volume 2: Lipids. New York: Springer. 557-600.

Decker EA, Livisay SA and Zhou S. 2006. A re-evaluation of the antioxidant activity of purified carnosine. Biochemistry (Moscow). 65: 901–6.

Folkenberg D, Dejmek P, Skriver A and Ipsen R. 2005. Relation between sensory texture properties and exopolysaccharide distribution in set and in stirred yoghurts produced with different starter cultures. Journal of Texture Studies. 36(2): 174–189.

Fox, P. F., Lucey, J. A., and Cogan, T. M. 1990. Glycolysis and related reactions during cheese manufacture and ripening. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 29: 237–253.

García Fontán, M. C., S. Martínez, I. Franco, and J. Carballo. 2006. Microbiological and chemical changes during the manufacture of kefir made from cows' milk, using a commercial starter culture. Int. Dairy J. 16: 762–767.

Garrote, G. L., Abraham, A. G., and de Antoni, G. L. 1998. Characteristics of kefir prepared with different grain: milk ratios. Journal of Dairy Research. 65(1): 149–154.

Georgia Dimitreli and Kleio D. Antoniou. 2019. Procedia food science. Starch as Stabilizer. Nutrition Food Science Journal. Vol. 7(2): 547-554.

Geroyiannaki, M., Komaitis, M. E., Stavrakas, D. E., Polysiou, M., Athanasopoulos, P. E., & Spanos, M. 2007. Evaluation of acetaldehyde and methanol in greek traditional alcoholic beverages from varietal fermented grape pomaces (Vitis vinifera L.). Food Control. 18(8): 988–995.

Gomes JJL, Duarte AM, Batista ASM, de Figueiredo RMF, de Sousa EP, de Souza EL and Queiroga RCRE. 2013. Physicochemical and sensory properties of fermented dairy beverages made with goat's milk, cow's milk and a mixture of the two milks. LWT – Food Sci Technol. 54: 18–24.

Gul O., Atalar I., Mortas M. and Dervisoglu M. 2018. Rheological, textural, colour and sensorial properties of kefir produced with buffalo milk using kefir grains and starter culture: A

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

comparison with cows' milk kefir. International Journal of Dairy Technology. 71, 73–80.

Gul, O., Mortas, M., Atalar, I., Dervisoglu, M., and Kahyaoglu, T. 2015. Manufacture and characterization of kefir made from cow and buffalo milk, using kefir grain and starter culture. Journal of Dairy Science. 98(3): 1517–1525.

Guzel-Seydim, Z., Seydim, A. C., and Greene, A. K. 2000. Organic Acids and Volatile Flavor Components Evolved During Refrigerated Storage of Kefir. Journal of Dairy Science. 83(2), 275–277.

Güzel-Seydim, Z., Seydim, A. C., Greene, A. K., and Bodine, A. B. 2000. Determination of organic acids and volatile flavor substances in kefir during fermentation. Journal of Food Composition and Analysis. 13(1): 35–43.

Halliwell B and Gutteridge JMC. 2015. Free radicals in biology and medicine. 5th ed. New York: Oxford University Press.

Hertzler, S.R. and Clancy, S.M. (2003). Kefir improves lactose digestion and tolerance in adults with lactose maldigestion. Journal of the American Dietetic Association.103(5):

582-587.

Irigoyen, A. 2005. Microbiological, physicochemical, and sensory characteristics of kefir during storage. Food Chemistry, 90(4), 613–620.

Kandler, O. and Weiss, N. 1986. Genus *Lactobacillus*. in P. H. A. sneath, N. S. Mair, M. E. Sharpe, and J. G. Holt (Eds.). 1209-1234. Bergey's manual of systematic bacteriology. Vol 2. Baltimore, MD, USA: Williams & Wilkins Co.

Kesenkaş, H., Gürsoy, O. and Özbaş, H. 2017. Kefir. In: C. Martinez-Villaluenga and E. Peñas, (ed.), Fermented Foods in Health and Disease Prevention, Academic Press: Boston. pp. 339-361.

Kim, D.H., Jeong, D., Kim, H., Kang, I.B., Chon, J.W., Song, K.Y. and Seo, K.H. 2016. Antimicrobial activity of kefir against various food pathogens and spoilage bacteria. Korean Journal for Food Science of Animal Resources. 36(6): 787-790.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Krisnaningsih, A.T., Radiati, L.E., Purwadi, Evanuarini, H. and Rosyidi, D. 2019. The effect of incubation time to the physicochemical and microbial properties of yoghurt with local taro. Faculty of Animal Husbandry. Universitas Kanjuruhan, Faculty of Animal Science. Brawijaya University.

Lal, D. and K. M. Narayanan. 1983. Effect of lactation number on fatty acid and physico-chemical constants of milk fats. Asian J. Dairy Res. 2:191–195.

Magalhães, K.T., Dragone, G., de Melo Pereira, G.V., Oliveira, J.M., Domingues, L., Teixeira, J. A. and Schwan, R. F. 2011. Comparative study of the biochemical changes and volatile compound formations during the production of novel whey-based kefir beverages and traditional milk kefir. Food Chemistry. 126(1): 249–253.

Mahmood, A. and Usman, S. 2010. A Comparatively on the physicochemical parameters of milks samples collected from buffalo, cow, goat and sheep of gujrat, Pakistan. Pakistan Journal of Nutrition. 9(12): 1192-1197.

Mutaza, M.A., Rehman, S.U., Anjum, F. M., Huma, N., Tarar, O. M., and Mueen-UD-DIN, G. 2011. Organic acid contents of buffalo milk cheddar cheese as influenced by accelerated ripening and sodium salt. Journal of Food Biochemistry. 36(1): 99–106.

Pereira EPR, Faria JAF and Cavalcanti RN. 2016. Oxidative stress in probiotic petit Suisse: is the jabuticaba skin extract a potential option. Food Research International. 81:149–56.

Perez. 2014. Novel bacteriocins from lactic acid bacteria (LAB) : various structures and application. Microbial Cell Factories. 13(1) 3.

Petersson, H. E., A. Christiansson, and K. Ekelund. 1985. Making kefir without grains. Scand. Journal Dairy Technology. Know How. 2:58–60.

Power O., Jakeman P. and Fitzgerald R.J. 2013. Antioxidative peptides: enzymatic production, in vitro and in vivo antioxidant activity and potential applications of milk-derived antioxidative peptides. Amino Acids. 44: 797–820.

Prado M.R., Blandon Marcela Lina, Vandenberghe Luciana P. S., Rodrigues Cristine, Castro Guillermo R, Vanete Thomaz-Soccol and Soccol Carlos R. 2015. Milk kerfir:

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

composition, microbial cultures, biological activities, and related products. Front. Microbial. 6:1177.

Pravia the project. 2009. Microbial sources of galatosidase. [Online]. Available: http://2009.igem.org/Team:UNIPV-Pavia/Project/Solution. 25 June 2020.

Ruas, M.P., Tuinier R., Kanning M. and Zoon P. 2002. Role of exopolysaccharides produced by *Lactococcus lactis subsp. Cremoris* on the viscosity of fermented milks. International Dairy Journal. 12: 689-695.

Sahai, D. 1996. Buffalo milk: Chemistry and processing technology. Karnal: Shalini International (SI) Publications, India.

Sarkar, S. 2008. Biotechnological innovations in kefir production: A review. British Food Journal. 110(3): 283-295.

Shiby, V.K. and Mishra, H.N. 2013. Fermented milks and milk products as functional foods: A review. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 53(5): 482-496.

Sikka, P. R. Narayan and U. K. Atheya. 1993. Effect of feed and foder on milk riboflavin of sahwial, crossbred cows and Murrah buffaloes. Indian Veterinary Jouranl. 70: 79-80.

Simova, E., Beshkova, D., Angelov, A., Hristozova, T., Frengova, G., and Spasov, Z. 2002. Lactic acid bacteria and yeasts in kefir grains and kefir made from them. Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology. 28(1): 1–6.

Sirry, I., F. A. Salama, A. E. Salam, A. A. Mohamed, and H. A. Ahmed. 1984. Studies on the physicochemical properties of skim and standardized cow and buffalo milk. I. Effect of heating. Deutsche Lebensmittel-Rundschau. 8: 242-245.

Sumeyya I. 2019. What kefir actually is and why you are seeing it everywhere. [Online]. Available: https://www.goodfood.com/what kefir actually is and why you are seeing it everywhere. 19 June 2020.

Thomas, T. D., and Crow, W. L. 1983. Mechanism of D(-)-lactic acid formation in Cheddar cheese. New Zealand Journal of Dairy Science and Technology. 18: 131–141.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tugba Kok-Tas, Atif C. Seydim, Barbaros Özer and Zeynep B.Seydim. 2013. Effets of different fermentation parameters on quality characteristics of kefir. Journal Dairy Science. 96:780-789.

Varman, H. A., and J. P. Sutherland. 2001. Milk and milk products: technology, chemistry and microbiology. ASPEN Publishers Inc. USA.

Varricchio, M. L., Di Francia, A., Masucci, F., Romano, R., and Proto, V. 2010. Fatty acid composition of Mediterranean buffalo milk fat. Italian Journal of Animal Science, 6(1s).

Varrichio, M. L., A. Di Francia, F. Masucci, R. Romano and V. Proto. 2007. Fatty acid composition of mediterranean buffalo milk fat. Italian Journal of Animal Science. 6:509-511.

Vinayak, G., Kiran, K., Ramdas D., Kiran, D., Sachin, S., Vikrant, N., Atul, K. and Vivekanand K. 2011. The magic of kefir: A review. Pharmacologyonline. 1: 376-386.

Wszolek, M., Tamime, A. Y., Muir, D. D., and Barclay, M. N. I. 2001. Properties of Kefir made in Scotland and Poland using Bovine, Caprine and Ovine Milk with Different Starter Cultures. LWT – Food Science and Technology. 34(4): 251–261.

Zourari, A., Accolas, J. P., & Desmazeaud, M. J. 1992. Metabolism and biochemical characteristics of yogurt bacteria. A review . Le Lait, 72(1), 1–34.

Zübeyde Ö., Aynur G. K. and Mehmet L. 2010. Effects of different milk type and starter cultures on kefir. GIDA (2010) 35 (3): 177-182

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

วิธีเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ก.1 อาหารเลี้ยงเชื้อ De Man Rogosa and Sharpe (MRS) Agar ประกอบด้วย

MRS broth 55 กรัม

$CaCO_3$ 5 กรัม

Agar 20 กรัม

นำส่วนผสมทั้งหมดไปละลายในน้ำกลั่น คนให้เข้ากันจนเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่แรงดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตำรางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเทใส่จานเพาะเลี้ยงเชื้อประมาณ 20 มิลลิลิตร

ก.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ ประกอบด้วย Yeast Extract peptone Dextrose Agar (YPD agar) ประกอบด้วย

Yeast extract 10 กรัม

Peptone 20 กรัม

Dextrose 20 กรัม

Agar 15 กรัม

นำส่วนผสมทั้งหมดไปละลายในน้ำกลั่น คนให้เข้ากันจนเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งฆ่าเชื้อที่แรงดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตำรางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเทใส่จานเพาะเลี้ยงเชื้อประมาณ 20 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

วิธีการที่ใช้ในการทดสอบเชื้อ

ข.1 Spread plate technique

1. เจือจางตัวอย่างลำดับส่วนแบบ 10 เท่า จนได้ระดับความเจือจางที่ต้องการโดยทำการเปลี่ยนทิปอันใหม่ทุกครั้งที่เปลี่ยนระดับความเจือจาง พร้อมทั้งเขย่าสารละลายในหลอดทุกครั้งก่อนใช้ไมโครปิเปตดูดเพื่อถ่ายไปยังหลอดต่อไป

2. ใช้ทิปอันใหม่ดูดตัวอย่างที่ระดับความเจือจางที่ต้องการปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อโดยหยดลงบนกลางจานอาหาร

3. ใช้แท่งแก้วรูปตัวแอลเกลี่ยตัวอย่างบนผิวหน้าอำหารแข็งให้ตัวอย่างกระจายทั่วทั้งจานอาหารเลี้ยงเชื้อและทิ้งไว้สักครู่ให้ผิวหน้าอาหารแห้ง

4. นำจานอาหารเลี้ยงเชื้อวางเรียงใส่ปิ๊บและสร้างสภาวะไม่มีออกซิเจนนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 3 วัน

5. ตรวจผลปฏิบัติการโดยสังเกตลักษณะของโคโลนี นับจำนวน ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเซลล์และทดสอบการสังเคราะห์เอนไซม์แคตาเลส

ข.2 เทคนิคการย้อมสีแบคทีเรีย

1. การเตรียมการก่อนการย้อมสี

1.1 การเตรียมสไลด์ โดยการใช้นิ้วจุ่มน้ำให้เปียก แตะน้ำยาล้างจานถูบนสไลด์ให้ทั่วทั้ง 2 ด้าน ทิ้งไว้ให้แห้งพอหมาดๆ แล้วใช้ผ้าแห้งเช็ดให้สะอาด

1.2 การเตรียมสเมียร์จากเชื้อที่เพาะเลี้ยงในอาหารแข็ง โดยนำลูปจุ่มน้ำแตะลงบนสไลด์ 1-2 ลูป แล้วใช้ลูปเขี่ยเชื้อที่ลนไฟเพื่อฆ่าเชื้ออื่นแล้วเขี่ยเชื้อที่เจริญบนอาหารแข็งให้ติดมาเพียงเล็กน้อย จากนั้นแตะเชื้อลงบนหยดน้ำแล้วเกลี่ยเชื้อให้กระจายเป็นวงเล็กๆ ทิ้งไว้ให้รอยสเมียร์แห้งเอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 การตรึงรอยสเมียร์ ทำโดยนำสไลด์ที่มีรอยสเมียร์ที่แห้งแล้ว มาลนผ่านเหนือเปลวไฟโดยให้เปลวไฟผ่านใต้สไลด์ตรงรอยสเมียร์ โดยลนอย่างรวดเร็ว 2-3 ครั้ง

2. การย้อมสีแกรม

2.1 นำสไลด์ที่ผ่านการเตรียมเชื้อแล้ว มาวางบนที่ย้อมหยดด้วยสีย้อมคริสตัลไวโอเลตให้ท่วมรอยสเมียร์ปล่อยทิ้งไว้นาน 30-60 วินาที

2.2 เทสีออก ล้างด้วยน้ำยำแกรมไอโอดีน และหยดน้ำยำแกรมไอโอดีนไว้นำน 1-2 นำทีเพื่อช่วยให้สีติดดีขึ้น

2.3 ล้างด้วยน้ำก๊อกที่ไหลอ่อนๆ สลัดน้ำออกจากสไลด์จนหมด

2.4 ใช้แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ หยดให้ไหลผ่านสไลด์จนน้ำที่หยดผ่านไม่มีสีติดออกมาด้วย ขั้นนี้ใช้ เวลา 20 วินาทีถึง 1 นาที ขึ้นอยู่กับความหนาบางของเชื้อที่ทำลงบนสไลด์ ระวังอย่าล้างสีออกมากเกินควร เพราะจะทำให้ผลที่ได้ผิดพลาด

2.5 ล้างด้วยน้ำอย่างรวดเร็ว สลัดน้ำออกจากสไลด์จนหมด

2.6 หยดสีย้อมซาฟรานินให้ท่วมรอยสเมียร์ทิ้งไว้นำน 30-60 วินาที

2.7 ล้างออกด้วยน้ำ ซับบนน้ำออก และปล่อยให้สไลด์แห้ง แล้วดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ แบคทีเรียที่เป็นแกรมบวกจะติดสีม่วงหรือสีน้ำเงินของคริสตัลไวโอเลต ส่วนแบคทีเรียแกรมลบจะติดสีแดงหรือสีชมพูของซาฟรานิน

ข.3 การทดสอบการสร้างเอนไซม์แคตะเลส (Catalase test)

1. ใช้ลูปแตะโคโลนีของแบคทีเรียที่ต้องการทดสอบแตะลงบนแผ่นสไลด์ที่แห้ง

2. หยด 3 เปอร์เซ็นต์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide; H_2O_2)

3. สังเกตการณ์เกิดฟองฟู ถ้าเกิดฟองก๊าซขึ้นแสดงว่าแบคทีเรียสามารถสร้างเอนไซม์แคตะเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข.4 การบ่มเชื้อในกลุ่ม Lactobacilli

1. ทำความสะอาดปี๊บโดยเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ให้สะอาด

2. นำเศษกระดาษจุดไฟใส่ลงไปในปี๊บเพื่อเป็นการไล่แอลกอฮอล์

3. นำจานเพาะเชื้อเข้าไปวางเรียงในปี๊บ

4. นำเทียนที่มีถาดรองจุดไฟ และนำไปใส่ในปี๊บ

5. ปิดฝาปี๊บ

6. ใช้น้ำตาเทียนหยดปิดบริเวณขอบฝาปี๊บจนเทียนด้านในปี๊บดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การเตรียมสารเคมีและสีย้อม

ค.1 การเตรียมสารละลายสำหรับวิเคราะห์ปริมาณกรดในรูปกรดแลคติค

1. น้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์

เตรียมน้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์โดยการนำน้ำกลั่นไปต้มให้เดือดเป็นเวลา 20 นาที

2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH) 0.1 นอร์มัล

เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH) 0.1 นอร์มัล ได้โดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม ปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น นำมาหาความเข้มข้นก่อนนำไปใช้

การหาความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH) ก่อนนำไปใช้ โดยอบโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต (Potassium hydrogen phthalate; $C_8H_5KO_4$) ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต 0.3 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ 100 มิลลิลิตร หยดสารละลายฟีนอฟทาลีน 2-3 หยด ไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) 0.1 นอร์มัล ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์คำนวณได้จากสูตร

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ (นอร์มัล) =

$$\frac{\text{น้ำหนักโพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต (กรัม)} \times 1000}{\text{ปริมาตรของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (มิลลิลิตร)} \times 204.229}$$

ค.2 การเตรียมสีย้อม

1. คริสตัลไวโอเลต (Crystal violet)

เตรียมสารละลาย A โดยชั่งคริสตัลไวโอเลต 2 กรัม ลงในบีกเกอร์เติมแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ละลายจนหมดและเตรียมสารละลาย B โดยชั่งแอมโมเนียออกซาเลต (Ammonium

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

oxalate) 0.8 กรัม ลงในบีกเกอร์เติมน้ำกลั่น 80 มิลลิลิตร เมื่อได้สารละลาย A และสารละลาย B แล้วนำมาผสมให้เข้ากันทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงก่อนนำมาใช้งาน

2. แกรมไอโอดีน (Gram's Iodine)

เตรียมโดยชั่งไอโอดีน 1 กรัมลงในบีกเกอร์ และชั่งโพแทสเซียมไอโอไดด์ (Potassium iodide) จำนวน 2 กรัม จากนั้นเติมน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันเก็บในขวดสีชา

3. ซาฟรานิน (Safranin O)

เตรียมโดยชั่งซาฟรานิน 2.5 กรัม ลงในบีกเกอร์เติมแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติมน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชา

4. เมทิลีนบูล (Methylene Blue) เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์

เตรียมโดยชั่งเมทิลเรด 0.1 กรัม ละลายโดยใช้แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เก็บในขวดสีชา

ค.3 สารละลายอินดิเคเตอร์

1. 1,10 ฟีแนนโทรลีนเฟอร์รัสซัลเฟต (1, 10-Phenantroline ferrus sulfate)

เตรียมโดยชั่งเฟอรัสซัสเฟต 0.70 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เติมออโธฟีแนนโทรลีน (o-phenanthroline) 1.49 คนให้ละลายจากนั้นปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชา

2. การเตรียมฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein) เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์

เตรียมโดยชั่งฟีนอฟทาลีน 0.1 กรัม ละลายโดยใช้แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ผสมให้เข้า เก็บในขวดสีชา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

วิธีการวิเคราะห์

ง.1 การวัดพีเอช (AOAC, 1990)

อุปกรณ์

1. เครื่องวัดพีเอช (pH Meter)

วิธีวิเคราะห์

วัดค่าพีเอชของตัวอย่างคีเฟอร์ที่อุณหภูมิห้อง โดยใช้เครื่องพีเอชมิเตอร์ที่มีการสอบเทียบวัดพีเอชโดย การจุ่มหัวโพรบลงในตัวอย่างคีเฟอร์ที่มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน

ง.2 การวิเคราะห์ปริมาณกรดในรูปกรดแลคติค (AOAC, 1990)

อุปกรณ์

1. ขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 1,000 มิลลิลิตร
2. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmayer flask)
3. บิวเรต (Buret)
4. ขาตั้งและแคลมป์ (Stand & Clamp)

สารเคมี

1. น้ำกลั่นปลอดคาร์บอนไดออกไซด์
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide; NaOH) 0.1 นอร์มัล
3. โพแทสเซียมไฮโดรเจนพทาเลต (Potassium hydrogen phthalate; $C_8H_5KO_4$)
4. ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein)

วิธีวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. นำตัวอย่าง ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในฟลาสก์ขนาด 125 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร

2. หยดอินดิเคเตอร์ฟีนอฟทาลีน 3 หยด

3. ไตเตรทตัวอย่างกับโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) 0.1 นอร์มัล สังเกตสีที่เปลี่ยนและบันทึกปริมาณของโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้

4. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก

การคำนวณ ความเข้มข้นกรดแลคติก (เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) =

$$\frac{\text{น้ำหนักโมเลกุลของกรดแลคติก} \times \text{ปริมาตร NaOH ที่ใช้ (มิลลิลิตร)} \times \text{ความเข้มข้นของ NaOH (N)} \times 100}{1{,}000 \times \text{ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้ (มิลลิลิตร)}}$$

น้ำหนักโมเลกุลของกรดแลคติก ($C_3H_6O_3$) = 90.08

ง.3 การวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble solid; °Brix)

อุปกรณ์

1. เครื่องวัดความหวานแบบส่อง (Hand Refractometer)

วิธีวิเคราะห์

1. หยดน้ำกลั่นลงในเครื่องวัดความหวานแบบส่อง (Hand Refractometer) เพื่อปรับค่ามาตรฐาน

2. ทำการวัดตัวอย่างคีเฟอร์โดยหยดตัวอย่าง 1 หยด อ่านค่าที่ได้

3. ทำการทดลอง 3 ซ้ำ แล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย

ง.4 การจับระยะเวลาการไหล

อุปกรณ์

1. กระบอกตวง ขนาด 50 มิลลิลิตร

2. นาฬิกาจับเวลา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีวิเคราะห์

1. นำตัวอย่าง ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เทลงในภาชนะที่เตรียมไว้

2. เริ่มจับเวลา ณ หยดแรกของตัวอย่างที่ไหลลงมา

3. หยุดนาฬิกาจับเวลา ณ หยดสุดท้ายของตัวอย่างที่ไหลลงมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

การทดสอบทางประสาทสัมผัส

จ.1 วิธีการให้คะแนนแบบ 9-point hedonic scale

ผู้ทดสอบ.....วันที่.....

ผลิตภัณฑ์ นมเปรี้ยวคีเฟอร์

<u>คำแนะนำ</u> กรุณาชิมตัวอย่างแต่ละรหัสแล้วให้คะแนนตามลักษณะต่าง ๆ ที่กำหนดให้ แล้วให้คะแนนตามความชอบตรงตามความรู้สึก โดยให้คะแนนระดับความชอบ

ระดับความชอบ	ระดับคะแนน	ระดับความชอบ	ระดับคะแนน
ชอบมากที่สุด	๙	ไม่ชอบเล็กน้อย	๔
ชอบมาก	๘	ไม่ชอบปานกลาง	๓
ชอบปานกลาง	๗	ไม่ชอบมาก	๒
ชอบเล็กน้อย	๖	ไม่สอบมากที่สุด	๑
เฉยๆ	๕		

คุณลักษณะ	รหัสตัวอย่าง				
ลักษณะที่ปรากฏ					
สี					
กลิ่นรส					
ลักษณะเนื้อสัมผัส					
รสชาติ					
การยอมรับรวม					

<u>ข้อเสนอแนะ</u>

.....

.....

.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จ.2 วิธีการให้คะแนนแบบ 5-point hedonic scale

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มคีเฟอร์นม

เพศ ○ ชาย ○ หญิง

อายุ ○15-24 ปี ○25-34 ปี ○35-44 ปี ○ 45-54 ปี ○55 ปีขึ้นไป

กรุณาทดสอบผลิตภัณฑ์แล้วให้คะแนนคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์ ด้วยเกณฑ์การให้คะแนนดังนี้

ชอบมาก = 5 ชอบ = 4

เฉยๆ = 3 ไม่ชอบ = 2

ไม่ชอบมาก = 1

คุณลักษณะ	รหัสตัวอย่าง				
ลักษณะที่ปรากฏ					
สี					
กลิ่นรส					
ลักษณะเนื้อสัมผัส					
รสชาติ					
การยอมรับรวม					

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล จิดาภา เตชาธาราทิพย์

วัน เดือน ปี เกิด 7 พฤศจิกายน 2540

ประวัติการศึกษา ปี 2559 จบการศึกษาระดับมัธยมปลายจากโรงเรียนเซนต์โยเซฟ บางนา แผนการเรียนวิทยาศาสตร์-คณิตศาสตร์

ปี 2559 เข้าศึกษาต่อระดับปริญญาตรีสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง คณะอุตสากรรมเกษตร

ประสบการณ์การทำงาน ผู้ช่วยวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีการแพทย์หยวนเป่ย ไต้หวัน

ชื่อ-นามสกุล ปิ่น เตชะเพียวเลิศ

วัน เดือน ปี เกิด 12 กันยายน 2540

ประวัติการศึกษา ปี 2559 จบการศึกษาระดับมัธยมตอนปลายจากโรงเรียนเซนต์โยเซฟ บางนา แผนการเรียนวิทยาศาตร์-คณิตศาสตร์

ปี 2560 เข้าศึกษาต่อระดับปริญญาตรีสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง คณะอุตสากรรมเกษตร

ประสบการณ์การทำงาน ฝ่ายผลิต บริษัท ซีพีเอฟ จำกัด (มหาชน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้