การใช้ *Lactobacillus casei* ในการผลิตนมเปรี้ยวโพรไบโอติก

The Use of *Lactobacillus Casei* for Probiotic Drinking Yoghurt Production

สุปรียา แสงทอง

Supreeya Saengthong

มยุรี ศิริมุณี

Mayuree Sirimunee

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ คณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร
2554

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร

หัวข้อ	การใช้ *Lactobacillus casei* ในการผลิตนมเปรี้ยวโพรไบโอติก
ชื่อและนามสกุล	นางสาวสุปรียา แสงทอง
	นางสาวมยุรี ศิริมุณี
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ
คณะ	เทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ชมภูนุช เผื่อนพิภพ

คณะกรรมการสอบโครงงานพิเศษได้ให้ความเห็นชอบโครงงานพิเศษฉบับนี้แล้ว

.....ประธานกรรมการ

(อาจารย์ชมภูนุช เผื่อนพิภพ)

..... กรรมการ

(อาจารย์วรลักษณ์ ปัญญาธิติพงศ์)

..... กรรมการ

(อาจารย์ดวงรัตน์ แซ่ตั้ง)

คณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร ให้นับโครงงานพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร

.....หัวหน้าสาขาวิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ

(อาจารย์เกศรินทร์ เพ็ชรรัตน์)

วันที่ ....30.... เดือน....พฤษภาคม.... พ.ศ. ....2555....

ชื่อแผนงานพิเศษ การใช้ *Lactobacillus casei* ในการผลิตนมเปรี้ยวโพรไบโอติก

ชื่อ-สกุล นางสาวสุปรียา แสงทอง

นางสาวมยุรี ศิริมุณี

ชื่อปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชา และคณะ วิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ คณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์

ปีการศึกษา 2554

บทคัดย่อ

การศึกษาการใช้ *Lactobacillus casei*ในการผลิตนมเปรี้ยวโพรไบโอติก มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณ *Lactobacillus casei*ที่เหมาะสมในการผลิตนมเปรี้ยวโพรไบโอติก ศึกษาลักษณะทางด้านกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ อายุการเก็บรักษา และศึกษาการยอมรับของผู้บริโภค โดยการทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยมาทำการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก (Randomized Completely Block Design ; RCBD) และทางกายภาพ ทางเคมี ทางจุลินทรีย์ของนมเปรี้ยวโพรไบโอติกโดยใช้ *Lactobacillus casei*ทำการทดลองในอัตราส่วน หางนมผง : น้ำ เท่ากับ 1.3 : 8.7 นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90 - 95 $^{\circ}$C เป็นเวลา 1.30 ชั่วโมง จากนั้นนำนมมา cooling ให้นมมีอุณหภูมิที่ 37 $^{\circ}$C ใส่ standard culture 20 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 $^{\circ}$C เป็นเวลา 3-5 วันทำการศึกษาปริมาณน้ำเชื่อมแตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 10 15 และ20 กรัม ทดสอบการยอมรับจากผู้บริโภคด้วยวิธีการให้คะแนนความชอบ 9 ระดับ (9-point hedonic scale) นำนมเปรี้ยวโพรไบโอติกที่ผู้บริโภคยอมรับมากที่สุด คือ 15 กรัม มาวัดค่าทางกายภาพ ทางเคมี และทางจุลินทรีย์ ผลการศึกษาพบว่า นมเปรี้ยวโพรไบโอติกมีสีครีมออกเหลือง มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำ 12.63 ± 0.01°Brix มีไขมันน้อยกว่า1เปอร์เซ็น มีความเป็นกรด–ด่าง 3.76 ± 0.02 มีกรดแลกติก1.07 ± 0.01 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณ *Lactobacillus casei* CFU/cm^{3}เท่ากับ 1.8×10^7 และมีอายุการเก็บรักษา นาน 7 วัน ที่อุณหภูมิ 4-8 $^{\circ}$C

คำสำคัญ:*Lactobacillus casei* โพรไบโอติก นมเปรี้ยว

ABSTRACT

This experiment is study on the use of *Lactobacillus casei* for probiotic drinking yoghurt production , there is the objective for study the ratio of *Lactobacillus casei* in doing probiotic drinking yoghurt , study the character of physical , chemistry , the microorganism, shelf life and study sensory so the plan was a randomized complete block. (Randomized Completely Block Design ; RCBD) physical chemical and microorganism. Ingredient's ratio of whey : water is 1.3 : 8.7. Heat at 90 - 95 ^{o}C for 1.30 hrs.and cooling at 37 ^{o}C. Add standard culture 20 ml. Incubate at 37 ^{o}C for 3-5 days. The results ofsucrose syrup 3 level is 10, 15 and 20 grams. Thenprobiotic drinking yoghurt is 15 grams study physical chemical and microorganism. The result physical are consist of probiotic drinking yoghurt color is cream and yellow, degree of brix 12.63 ± 0.01. The result chemical are consist of probiotic drinking yoghurt fat at least, pH is 3.76 ± 0.02, and lactic acid (person) is 1.07 ± 0.01. The result of microorganism it have Lactobacillus caseiis 1.8×107 CFU/cm^{3} and shelf life is 7 days in 4-8 ^{o}C

คำสำคัญ : *Lactobacillus casei* โพรไบโอติก นมเปรี้ยว

Keywords: *Lactobacillus casei* Probiotic Drinking yoghurt

**ผู้นิพนธ์ประสานงาน ไปรษณีย์อิเล็กทรอนิกส์ mayuree_tay_sirimunee@hotmail.com โทร 08-7587-6179*

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยได้รับแนวคิดริเริ่มในงานวิจัย และแนวทางการเขียนโครงงานพิเศษ เนื่องมาจากความร่วมมือ และความช่วยเหลือ สนับสนุนจากบุคลากรหลายฝ่ายทั้งจากทางมหาวิทยาลัยและสถานประกอบการ ดังนี้

1. อาจารย์สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์ทุกท่านที่ให้ความรู้และประสบการณ์ที่ดีเพื่อเป็นแนวทางในการนามาประยุกต์ใช้กับการปฏิบัติงาน

2. อาจารย์ชมภูนุช เผื่อนพิภพ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ

3. คุณสุบิน ป้อมโอชา ประธานกรรมการสหกรณ์โคนมหนองโพราชบุรี จากัด (ในพระบรมราชูปถัมภ์)

4. คุณยุพา สุขเจริญกิจจา หัวหน้าฝ่ายวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์

5. บริษัท ทินกรเคมีคอล แอนด์ ซัพพลาย จากัด สนับสนุนตัวอย่างเชื้อจุลินทรีย์ Lyofast BGP 93

6. คุณฐาปนี สงวนธนวิทย์ ผู้แทนฝ่ายขายด้านเทคนิค (อาหาร)

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากโครงการส่งเสริมสิ่งประดิษฐ์และนวัตกรรมเพื่อคนรุ่นใหม่ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ.2555 สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร คณะผู้จัดทำขอขอบพระคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนครเป็นอย่างมาก ซึ่งเป็นรากฐานอย่างดียิ่งในการศึกษาค้นคว้างานวิจัยครั้งนี้

ท้ายที่สุดนี้ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และทุกคนในครอบครัวที่ได้เลี้ยงดูให้การศึกษาอบรมแก่ลูกเป็นอย่างดีและเป็นแรงใจสำคัญที่สุดในการศึกษา และขอขอบใจเพื่อนๆ นักศึกษาคณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร ที่ให้ความร่วมมือในการให้ข้อมูลเป็นอย่างดี ตลอดจนทุกท่านที่มีส่วนสำคัญต่อความสำเร็จในครั้งนี้

นางสาวมยุรี ศิริมุณี

นางสาวสุปรียา แสงทอง

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(1)
กิตติกรรมประกาศ	(2)
สารบัญ	(3)
สารบัญตาราง	(5)
สารบัญภาพ	(6)
สารบัญแผนภูมิ	(7)
1. บทนำ	1
1.1 ความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขต	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
2. ตรวจสอบเอกสาร	3
2.1 *Lactobacillus casei*	3
2.2 โพรไบโอติก	3
2.3 นมเปรี้ยว	8
2.4 แลคโตส	10
3. อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	12
3.1 วัตถุดิบและอุปกรณ์	12
3.2 เครื่องมือสำหรับวิเคราะห์คุณภาพ	13
3.3 วิธีดำเนินการทดลอง	14
3.4 สถานที่และระยะเวลาดำเนินการทดลอง	20

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4. ผลการทดลอง	21
4.1 ผลการศึกษาปริมาณของ *Lactobacillus casei* ในการทำ Standard culture	21
4.2 ผลการศึกษาการใช้ *Lactobacillus casei* ในการเตรียม starter เพื่อผลิตนมเปรี้ยวโพรไบโอติก	22
4.3 ผลการศึกษาปริมาณน้ำเชื่อมที่ใช้ในการผลิตนมเปรี้ยวโพรไบโอติก	23
4.4 ผลการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมีและจุลินทรีย์ของนมเปรี้ยวโพรไบโอติก	25
4.5 ผลการศึกษาอายุการเก็บรักษานมเปรี้ยวโพรไบโอติก	26
5. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	29
5.1 สรุปผล	29
5.2 ข้อเสนอแนะ	30
บรรณานุกรม	30
ภาคผนวก	34
ภาคผนวก ก มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม	35
ภาคผนวก ข วิธีวิเคราะห์ทางกายภาพ เคมี และทางจุลินทรีย์	44
ภาคผนวก ค แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส	54
ภาคผนวก ง มาตรฐานหางนมผง	56
ภาคผนวก จ มาตรฐานเชื้อจุลินทรีย์ Lyofast BGP 93และข้อมูลการใช้ Lyofast BGP 93	59
ภาคผนวก ฉ ผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวโพรไบโอติก	64
ภาคผนวก ช เกณฑ์คุณภาพในกระบวนการผลิตและผลิตภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์	66

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

3.1 แสดงปริมาณการใช้ *Lactobacillus casei* ในการทำ Standard culture 5 ระดับ 14

3.2 แสดงการใช้ *Lactobacillus casei* ในการเตรียม starter เพื่อผลิตนมเปรี้ยวโพรไบโอติก 16

3.3 แสดงปริมาณน้ำเชื่อมที่ใช้ในการผลิตนมเปรี้ยวโพรไบโอติก 18

4.1 แสดงผลการศึกษาปริมาณของ *Lactobacillus casei* ในการทำ Standard culture 5 ระดับ 21

4.2 แสดงผลการศึกษาปริมาณการใช้ *Lactobacillus casei* ในการเตรียม starter เพื่อผลิตนมเปรี้ยวโพรไบโอติก 22

4.3 แสดงค่าเฉลี่ยคะแนนความชอบของนมเปรี้ยวโพรไบโอติกที่ใส่น้ำเชื่อม 3 ระดับ 24

4.4 แสดงผลการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมีและจุลินทรีย์ของนมเปรี้ยวโพรไบโอติก 26

4.5 แสดงผลการศึกษาอายุการเก็บรักษานมเปรี้ยวโพรไบโอติก 27

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

1 การทำเจือจางเป็นลำดับและวิธี pour plate 51

2 นมเปรี้ยวโพรไบโอติก 65

สารบัญแผนภูมิ

แผนภูมิที่	หน้า
3.1 ขั้นตอนการเตรียม Standard culture	15
3.2 ขั้นตอนการเตรียม Starter	17
3.3 ขั้นตอนการเตรียมนมเปรี้ยวโพรไบโอติก	18

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญของปัญหา

จากปัญหาน้ำนมดิบล้นตลาดซึ่งทวีความรุนแรงขึ้นในขณะนี้ เนื่องจากตลาดผลิตภัณฑ์นมมีแนวโน้มหดตัว โดยมีสาเหตุจากในช่วงที่ผ่านมาผู้ประกอบการในธุรกิจผลิตภัณฑ์นมต้องประสบปัญหาต้นทุนน้ำนมดิบในประเทศมีราคาสูง ขณะที่ราคานำเข้านมผงขาดมันเนยซึ่งผู้ประกอบการในธุรกิจผลิตภัณฑ์นมนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตนมพร้อมดื่มกลับมีแนวโน้มราคานำเข้าที่ลดลง (หนังสือพิมพ์ฐานเศรษฐกิจ, 2552) จึงทำให้ผู้ประกอบการในธุรกิจนมขยายการผลิตผลิตภัณฑ์นมใหม่ๆ โดยใช้นมผงขาดมันเนยมาผลิต เช่น นมผงอัดเม็ด ผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มที่ใช้แบคทีเรียที่ดีในการหมัก

Lactobacillus เป็นแบคทีเรียที่ดี มีประโยชน์ ซึ่งอาศัยอยู่ในลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่ ทำหน้าที่ช่วยย่อยอาหารและผลิตสารอาหารที่ดีมีประโยชน์ ได้แก่ กรดอะมิโน กรดแลคติก พลังงาน ไวตามิน เค ไวตามินบี และสารปฏิชีวนะธรรมชาติหลายชนิด ซึ่งจะก่อให้เกิดประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น กรดแลคติกที่แบคทีเรียผลิตออกมา จะทำให้สภาวะภายในลำไส้ มีความเป็นกรดมากพอที่จะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค ทำให้ระบบขับถ่ายดี ไม่เกิดการหมักหมมของของเสียในร่างกาย ช่วยยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง และกำจัดสารก่อมะเร็งบางชนิด ทำให้เซลล์ในระบบภูมิต้านทานทำงานอย่างมีประสิทธิภาพ ผลิตเอนไซม์แลคเตส ซึ่งช่วยย่อยน้ำตาลในนม ทำให้ไม่มีอาการท้องอืดจากการดื่มนม และช่วยให้การดูดซึมแคลเซียมดีขึ้น (Tamine and Robinson, 1998)

ปัจจุบันการเติบโตของอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์นมขึ้นกับปัจจัยสนับสนุนต่างๆ ทั้งจากตลาดนมเติบโตตามกระแสรักษ์สุขภาพของผู้บริโภค เนื่องจากผลิตภัณฑ์นมเป็นอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ อีกทั้งอัตราการบริโภคนมของไทยยังอยู่ในเกณฑ์ต่ำไม่ถึง 20 ลิตร/คน/ปี ดังนั้น ปัจจัยดังกล่าว จะช่วยให้ความต้องการบริโภคผลิตภัณฑ์นมของตลาดภายในประเทศยังมีโอกาสขยายตัวต่อไป ขณะเดียวกันผู้ประกอบการในธุรกิจนมมีการกระตุ้นตลาดอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นผู้ประกอบการจึงมีการพัฒนาผลิตภัณฑ์นมพร้อมดื่มเพื่อให้ทันต่อความต้องการของผู้บริโภคโดยการใช้นมผงขาดมันเนยในการผลิตผลิตภัณฑ์นมพร้อมดื่มเพื่อลดปริมาณการใช้น้ำนมดิบ ดังนั้นทางทีมวิจัยจึงได้แนวคิดที่จะนำ *Lactobacillus casei* มาใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์นมพร้อมดื่มนมเปรี้ยวโพรไบโอติก เพราะ *Lactobacillus casei* มีส่วนช่วยในระบบขับถ่าย ช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันของร่างกาย ต้านสารก่อมะเร็ง

และช่วยย่อยน้ำตาลในนม (Tamine and Robinson, 1998) และเพื่อเป็นการสร้างแนวทางในการใช้ *Lactobacillus casei* ในการผลิตนมเปรี้ยวโพรไบโอติกต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์

1. ศึกษาปริมาณ*Lactobacillus casei* ที่เหมาะสมในการผลิตนมเปรี้ยวโพรไบโอติก
2. ศึกษาลักษณะทางด้านกายภาพ เคมี จุลินทรีย์และอายุการเก็บรักษาของนมเปรี้ยวโพรไบโอติก
3. ศึกษาการยอมรับของผู้ทดสอบโดยการทดสอบทางประสาทสัมผัส

1.3 ขอบเขตการศึกษา

1. ศึกษาปริมาณ *Lactobacillus casei* ที่เหมาะสมในการผลิตนมเปรี้ยวโพรไบโอติก โดยใช้หางนมผงจาก Burra Foods Australia *Lactobacillus casei* จากบริษัท ทินกรเคมีคอล แอนด์ ซัพพลาย จำกัด และน้ำตาลทรายขาวตรามิตรผล
2. ทำการศึกษาคุณสมบัติทางด้านกายภาพ เคมี จุลินทรีย์และอายุเก็บรักษาของนมเปรี้ยวโพรไบโอติก
3. ทำการศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคโดยการทดสอบทางประสาทสัมผัสที่สหกรณ์โคนมหนองโพราชบุรี จำกัด (ในพระบรมราชูปถัมภ์) ผู้ที่ทำการทดสอบจำนวน 30 คน

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบปริมาณ*Lactobacillus casei* ที่เหมาะสมในการผลิตนมเปรี้ยวโพรไบโอติก
2. ได้ผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวโพรไบโอติกที่มีคุณภาพและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค
3. สร้างแนวทางในการใช้ *Lactobacillus casei* ในการผลิตนมเปรี้ยวโพรไบโอติก

บทที่ 2
ตรวจเอกสาร

2.1 *Lactobacillus casei*

2.1.1 นิยาม

Lactobacillus casei เรียกทั่วไปเป็น *L. casei* เป็นชนิดของแบคทีเรียที่ช่วยปกป้องร่างกายมนุษย์จากโรคและการเจ็บป่วยโดยการจำกัดการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่เป็นอันตรายที่ก่อให้เกิดการติดเชื้อและเป็นอันตรายต่อสุขภาพของแต่ละบุคคลตามที่องค์การอนามัยโลกและองค์การอาหารและเกษตรของสหรัฐ (วิเชียร, 2553)

Lactobacillus casei เป็นแบคทีเรียที่มีประโยชน์ที่เป็นธรรมชาติที่พบในทั้งปากและลำไส้ของมนุษย์ *L. casei* ผลิตกรดแลคติคซึ่งจะช่วยให้ระดับ pH ที่ลดลงในระบบย่อยอาหารและต้านการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียที่เป็นอันตราย *L. casei* อาจจะพบใน "นมดิบหรือหมักหรือผลิตภัณฑ์จากพืชหมัก"แหล่งที่มาเหล่านี้อาจรวมโยเกิร์ต ชีส และประเภทอื่น ๆ นักวิทยาศาสตร์ได้พบ *Lactobacillus casei* มีคุณสมบัติที่สนับสนุนประโยชน์ต่อสุขภาพของมนุษย์ สามารถที่จะปรับปรุงและส่งเสริมการย่อยอาหารบางสายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรียช่วยให้การควบคุมโรคอุจจาระร่วงในขณะที่สายพันธุ์อื่น ๆ ที่มีฤทธิ์ต้านการอักเสบในลำไส้ผลประโยชน์อื่น ๆ รวมถึงการลดการแพ้แลคโตสบรรเทาอาการท้องผูกและแม้แต่การปรับของระบบภูมิคุ้มกันเพราะแบคทีเรียที่เป็นมิตรมีความสำคัญกับการพัฒนาที่เหมาะสมของระบบภูมิคุ้มกันเพื่อป้องกันการพบเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจก่อให้เกิดโรค ช่วยย่อยอาหาร ช่วยดูดซึมอาหารและสารอาหารเป็นต้น

2.2 โพรไบโอติก

2.2.1 นิยาม

โพรไบโอติกมีรากศัพท์มาจากภาษากรีก มีความหมายว่าเพื่อชีวิต (Forlife) โพรไบโอติก หรือสารชีวนะมีผู้ให้ความหมายไว้หลายความหมาย เช่น Lilly and Stillwell ,(1965) ให้ความหมายว่า โพรไบโอติก (Probiotic) หรือสารเสริมชีวนะเป็นสารที่หลั่งออกมาจากจุลินทรีย์ชนิดหนึ่ง และมีผลกระตุ้นการเจริญเติบโตของสิ่งมีชีวิตอีกชนิดหนึ่ง Parker, (1974) ให้ความหมายว่า โพรไบโอติก (Probiotic) คือ กลุ่มของจุลินทรีย์หรือสสารซึ่งสามารถปรับสมดุลในทางเดินอาหารในความหมายนี้ได้รวมไปถึง miceoflora ในทางเดินอาหาร Fuller, (1987) ได้ให้คำจำกัดความที่มีความหมาย

เหมาะสมว่า โพรไบโอติก คือ อาหาร (เสริม) ซึ่งประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่ยังมีชีวิต คำจำกัดความใหม่ที่ปรับปรุงขึ้นมานี้จะเน้นความสำคัญของจุลินทรีย์ที่มีชีวิตว่าเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของโพรไบโอติกที่มีประสิทธิภาพ และยังช่วยขจัดความสับสนที่เกิดจากการใช้คำว่าสสาร สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาประเทศสหรัฐอเมริกา (The United Food add Drug Administration, 1989) ให้ความหมายโพรไบโอติก (Probiotic) ว่าคือสารเสริมชีวนะเป็นผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์ซึ่งเป็นอาหารที่ให้กินโดยตรงและจัดเป็นอาหารและสารที่เติมในอาหารที่ปลอดภัยสามารถใช้เป็นอาหารมนุษย์ได้ โดยผ่านการพิจารณาจากเภสัชกรและนักพิษวิทยาแล้ว Males and Johnson, (1990) ได้ให้ความหมายโพรไบโอติกว่าเป็นการสนับสนุนส่งเสริมสิ่งมีชีวิต พร้อมทั้งชี้ให้เห็นประโยชน์จากการใช้จุลินทรีย์ในทางเดินอาหารสัตว์ซึ่งมีจุดประสงค์ 3 ประการคือเพื่อถนอมอาหาร เพื่อปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารสัตว์ที่เกิดความเครียดและเพื่อการนำอาหารไปใช้ประโยชน์ได้ และHavenaar and et al., (1992) ได้กล่าวว่า ใช้โพรไบโอติกในรูปเซลล์เพาะเลี้ยงบริสุทธิ์สายพันธุ์เดียวหรือเชื้อผสมซึ่งให้ประโยชน์แก่มนุษย์และสัตว์ที่ได้รับโพรไบโอติก โดยช่วยปรับสมดุลของจุลินทรีย์ประจำถิ่นในระบบทางเดินอาหาร เป็นต้น (ธัชนนท์ และวิญญู, 2547)

2.2.2. คุณสมบัติของโพรไบโอติกที่ดี (สุจิตตรา, 2546)

2.2.2.1 เป็นจุลินทรีย์ที่ผ่านการคัดเลือกว่ามีความปลอดภัย (GRAS : Generally Recognized As Safe) โดยไม่ทำให้เกิดโรคและเป็นพิษ

2.2.2.2 ต้องมีความทนทานต่อสภาพแวดล้อมที่เป็นกรดของน้ำย่อย และทนน้ำดีในลำไส้เล็กตลอดจนทางเดินอาหาร

2.2.2.3 เป็นจุลินทรีย์ที่สามารถแข่งขันกับจุลินทรีย์ก่อโรค โดยการยึดเกาะติดอยู่กับผนังของทางเดินอาหารและดำรงชีวิตอยู่ในระบบทางเดินอาหารได้ดี

2.2.2.4 เป็นเซลล์ที่มีชีวิตและมีจำนวนมากพอที่จะเดินทางไปถึงทางเดินอาหารส่วนท้ายได้สามารถมีชีวิตและมีกิจกรรมของเซลล์ในระบบทางเดินอาหารได้

2.2.2.5 มีความสามรถในการผลิตสารต่างๆ ที่ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อื่นที่บุกรุกหรือก่อให้เกิดโทษและสารที่สร้างขึ้นสามารถเพิ่มความต้านทานต่อสภาวะติดเชื้อภายในลำไส้ได้

2.2.2.6 จุลินทรีย์โพรไบโอติกที่อยู่ในรูปของผลิตภัณฑ์ต้องมีชีวิตอยู่ได้นานเก็บรักษาได้ง่ายจนกว่าจะถึงเวลาใช้งาน

2.2.2.7 ต้องเป็นจุลินทรีย์ที่มีลักษณะทางพันธุกรรมที่คงที่ไม่มีการกลายพันธุ์

2.2.3 กลไกลการทำงานของโพรไบโอติก

2.2.3.1 การผลิตสารต้านจุลินทรีย์

1) กรดอินทรีย์ (Organic acid) กรดอินทรีย์ที่สร้างโดย lactic acid bacteria ได้แก่ กรดแลคติก กรดอะซิติก สำหรับกรดอะซิติกเป็นตัวยับยั้งที่แรงที่สุด และมีช่วงยับยั้งที่กว้างคือสามารถยับยั้งได้ทั้ง ยีสต์ ราและแบคทีเรีย มีกลไกการยับยั้ง คือ กรดอินทรีย์จะแพร่ผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ได้เพราะมันสามารถละลายได้ในไขมัน และเมื่อเข้าไปในเซลล์แล้วกรดอินทรีย์จะแตกตัวปล่อยโปรตอนเข้าไปใน cytoplasm ทำให้เกิดภาวะที่เป็นกรดจึงทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ กรดอินทรีย์มีผลยับยั้งกระบวนการเมตาบอลิซึมที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์โดยการเกิดปฏิกิริยากับเซลล์ มีผลทำลายเซลล์หรือหน่วงเหนี่ยวจุลินทรีย์นั้นๆมีรายงานว่ากรดอินทรีย์สามารถยับยั้ง จุลินทรีย์ก่อโรคได้ เช่น *Lactobacillus sake* ผลิตกรดอินทรีย์ยับยั้ง *Salmonella Typ* และ *staphylococcus aureus*, *L. salivarius* ผลิตกรดอินทรีย์ยับยั้ง *E. Coli* และ *Salmonella Enteritidis L. lactis* ผลิตกรดอินทรีย์ยับยั้ง *E. coli* O157:H7

2) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide) ในสภาวะที่มีออกซิเจน lactic acid bacteria จะสร้างสารไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ซึ่งเป็นตัวออกซิไดซ์ที่รุนแรงมีผลต่อเซลล์ของแบคทีเรีย โดยทำให้โครงสร้างของกรดนิวคลีอิกและโปรตีนในเซลล์เปลี่ยนไปจนไม่สามารถทำหน้าที่ได้ตามปกติ นอกจากนี้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ยังสามารถรวมตัวกับสารประกอบอื่นได้ เช่น ในน้ำนมดิบไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะรวมตัวกับไธโอไซยาเนต (SCN) โดยเอนไซม์แลคโตเปอร์ออกซิเดส เกิดเป็นไฮโปไธโอไซยาไนต์ (OSCN) ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้ออื่นได้

$$SCN + H_2O_2 \xrightarrow{\text{Lactoperoxidase}} OSCN + H_2O$$

สมการที่ 1 สมการการรวมตัวของไธโอไซนาเนตและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

โครงสร้างเมมเบรนของแบคทีเรียจะถูกทำลายหรือเปลี่ยนแปลงได้เมื่อทำปฏิกิริยากับไฮโปไธโอไซยาไนต์ (OSCN) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคได้ เช่น *Staphylococcus aureus* และ *Pseudomonas sp.*

3) คาร์บอนไดออกไซด์ (Carbondioxide) ส่วนมากคาร์บอนไดออกไซด์ จะเกิดจากกระบวนการหมักน้ำตาลเฮกโซส ให้เป็นกรดแลคติกแบบ heterofermentative fermentation ซึ่งคาร์บอนไดออกไซด์ที่ได้ในระหว่างกระบวนการหมักจะไปยับยั้งระบบเอนไซม์ของกระบวนการดีคาร์บอกซิเรชัน (Decarboxylayion) ทำให้มีการสะสมของคาร์บอนไดออกไซด์ ที่มีความเข้มข้นสูงๆ จะสามารถป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์บางชนิดได้และมีพิษโดยตรงกับ aerobic bacteria ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย

4) ไดอะซิทิล (Diacetyl) เป็นผลผลิตที่ได้จากการสังเคราะห์ไพรูเวท (Pyruvate) ของ lactic acid bacteria ไดอะซิทิลสามารถยับยั้งเชื้อยีสต์ รา และแบคทีเรียได้โดยสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกมากกว่าแบคทีเรียแกรมลบ กลไกการยับยั้งของไดอะซิทิลเกิดจากการทำปฏิกิริยากับองค์ประกอบของโปรตีนหรือเอนไซม์

5) แบคเทอริโอซิน (Bacteriocin) เป็นโปรตีนที่สร้างจากแบคทีเรีย มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่น คุณสมบัติของแบคเทอริโอซิน จะพิจารณาจากขนาด ความคงตัว ตำแหน่งทางพันธุกรรม และกลไกการทำงานของสารแบคเทอริโอซิน

2.2.4 ประโยชน์ของโพรไบโอติก

2.2.4.1 เป็นตัวสนับสนุนการเจริญเติบโต (growth promoter) ของคนหรือสัตว์โดยการเพิ่มประสิทธิ์ภาพการใช้อาหาร ควบคุมสุขภาพอนามัยในวัยอ่อน และวัยรุ่นให้แข็งแรงโดยเฉพาะการป้องกันโรคในทางเดินอาหาร

2.2.4.2 ช่วยลดการติดเชื้อจากจุลินทรีย์ก่อโรค โดยการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ได้แก่ การผลิตกรดแลคติกไปยับยั้งกลไกเมตาบอลิซึมของเชื้อก่อโรค ทำให้มีระดับความเป็นกรด-ด่าง ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อก่อโรค

2.2.4.3 เพิ่มจุลินทรีย์ช่วยย่อยแลคโตสโดยการสร้างเอนไซม์ เบต้ากาแลคโตซิเดส (β-galactosidase) และขับออกมาในลำไส้ช่วยย่อยสลายน้ำตาลแลคโตสได้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว คือ

กลูโคส และกาแลคโตส สามารถดูดซึมเข้าสู้ลำไส้เล็ก ทำให้ลดอาการท้องร่วง ดูดซึมแคลเซียมและวิตามินซีได้

2.2.4.4 ต้านการสังเคราะห์สารคลอเลสเตอรอล และลดระดับคลอเลสเตอรอลในเลือด โดยเชื่อว่าสารเคมี hydroxyl methylglutarate ที lactic acid bacteria สร้างขน มีคุณสมบัติในการยับยั้งการสังเคราะห์คลอเลสเตอรอลในร่างกาย แต่ยังไม่ทราบกลไกที่แน่ชัด

2.2.4.5 สารต่อต้านการเกิดมะเร็งซึ่งการต่อต้านการเกิดมะเร็งของ *Lactobacillus sp*. เกิดจากการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันการลดการผลิตสารก่อมะเร็งโดย Carcino gen-producting fecal enzyme ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์ภายในลำไส้ คือ β-galactosidase , nitroreductase และ azoreductase โดยกลไกการลดระดับเอนไซม์ 3 ชนิดนี้ช่วยในการยับยั้งหรือระงับสารก่อมะเร็ง

2.2.4.6 ทำให้ระบบขับถ่ายดีไม่เกิดการหมักหมมของเสียในร่างกายเป็นการลดอัตราเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งมะเร็งลำไส้ และมะเร็งตับ

2.2.4.7 วิตามินบีที่ได้ทำให้เซลล์ในระบบภูมิต้านทานทำงานอย่างมีประสิทธิภาพ และยังทำให้มีการผลิตเม็ดเลือดแดงดีขึ้นด้วย

2.2.5 จุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก

สารเสริมชีวนะหรือโพรไบโอติกก่อให้เกิดประโยชน์หลายด้านแต่การใช้โพรไบโอติกตามประกาศกระทรวงเกษตรและสหกรณ์ พ.ศ. 2539 โดยมีระดับการใช้ในอาหารสัตว์ผสมสำเร็จรูปไม่น้อยกว่า $1x10^6$ โคโลนีต่ออาหารสัตว์ 1 กรัม จุลินทรีย์ที่กำหนดให้ใช้เป็นโพรไบโอติกตามประกาศกระทรวงเกษตร และสหกรณ์ พ.ศ. 2539

2.3 นมเปรี้ยว

2.3.1 นิยาม

หมายถึง ผลิตภัณฑ์นมที่ได้จากการหมักของแบคทีเรียที่เรียกว่าเชื้อนมเปรี้ยวหรือแลกติกแอซิดแบคทีเรีย (lactic acid bacteria) (ไชยวัฒน์, 2553)

2.3.2 ประวัติความเป็นมา

เชื้อนมเปรี้ยวจะใช้สารอาหารในนมเพื่อการเจริญและผลิตกรดแลคติกออกมาทำให้นมมีรสเปรี้ยว นมเปรี้ยวที่มีจำหน่ายในประเทศไทยมี 2 ชนิด คือ ชนิดแรกเป็นนมเปรี้ยวที่มีลักษณะเป็นน้ำคล้ายเครื่องดื่ม อีกชนิดหนึ่งเป็นนมเปรี้ยวที่มีลักษณะเหลวข้นที่เรียกว่าโยเกิร์ต นักประวัติศาสตร์มีความเห็นว่า โยเกิร์ตเป็นอาหารที่รวมอยู่ในโภชนาการของชนเผ่าทราเซียน อันเป็นบรรพบุรุษเก่าแก่ที่สุดของชาวบัลแกเรีย ชาวทราเซียนเก่งในการเลี้ยงแกะ คำว่า yog ในภาษาทราเซียน แปลว่า หนาหรือข้น ส่วน urt แปลว่า น้ำนม คำว่า yoghurt น่าจะได้มาจากการสมาสของคำทั้งสองข้างต้น ในยุคโบราณราวศตวรรษที่ 4 ถึง 6 ก่อนคริสตกาล ชาวทราเซียนมีวิธีการเก็บรักษาน้ำนมไว้ในถุง ที่ทำจากหนังแกะ เวลาเดินทางก็เอาถุงนี้คาดเอวไว้ ความอบอุ่นจากร่างกายร่วมกับจุลชีพที่มีอยู่ในหนังแกะ ช่วยให้เกิดปฏิกิริยาการหมักขึ้น น้ำนมในถุงก็กลายสภาพเป็นโยเกิร์ตไป นักวิทยาศาสตร์บางคนสันนิษฐานว่า สิ่งที่มีมาก่อนโยเกิร์ตน่าจะเป็นน้ำนมหมักที่ใช้ดื่ม เรียกว่า คูมิส (Kumis) น้ำนมชนิดนี้ทำมาจากน้ำนมม้า โดยชนเผ่าที่มาอยู่ก่อนหน้าชาวบัลแกเรีย เช่น ชนเผ่าที่เร่ร่อนที่อพยพย้ายถิ่นฐานจากทวีปเอเชียมายังคาบสมุทรมัลข่าน ในปี ค.ศ.681 ในยุโรปตะวันตกโยเกิร์ตปรากฏขึ้นเป็นครั้งแรกในศตวรรษที่ 16 ในราชสำนักของกษัตริย์ฟรานซิสที่ 1 แห่งฝรั่งเศส ครั้งนั้นกษัตริย์พระองค์นี้ประชวร มีพระอาการปั่นป่วนในท้อง แพทย์ชาวตุรกีผู้หนึ่งจึงทำการรักษาโดยให้เสวยโยเกิร์ตที่นำมาจากบัลแกเรีย เรื่องนี้ศาสตราจารย์คริสโต โชมาคอฟ รายงานไว้ในหนังสือ Bulgarian Yoghurt-Health and Longerity

2.3.3 ประโยชน์และคุณค่าทางโภชนาการ

นมเปรี้ยวเป็นอาหารนมที่ย่อยง่ายกว่าน้ำนมธรรมดา เนื่องจากน้ำตาลแลคโตสในน้ำนมถูกย่อยไปแล้วส่วนหนึ่ง ทำให้เหมาะกับผู้ที่มีปัญหา Lactose malabsorption หรือ Lactose intolerance นอกจากนี้แล้วโปรตีนของนมเปรี้ยวยังย่อยง่ายกว่าเพราะมีค่า curd tension ต่ำ และ

นมเปรี้ยวยังมีคุณสมบัติทางยาเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้เป็น starter culture ในการทำนมเปรี้ยว เมื่อผ่านกระเพาะเข้าสู่ลำไส้แล้ว ก็จะสร้างความเป็นกรดขึ้นภายในลำไส้ได้ด้วย ซึ่งทำให้สภาวะภายในลำไส้มีฤทธิ์เป็นกรดไปด้วย ซึ่งสภาวะเช่นนี้ไม่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์พวกที่ไม่ทนกรด รวมทั้งจุลินทรีย์หลายๆ ชนิดที่เป็นสาเหตุของโรคด้วย นอกจากนี้แล้วเชื้อนมเปรี้ยวบางชนิดยังสามารถสร้างสรรค์คล้ายปฏิชีวนะบางชนิดได้ด้วย ซึ่งจะช่วยหยุดยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุที่ก่อให้เกิดโรคได้

นมเปรี้ยวเป็นอาหารที่ให้คุณค่าทางโภชนาการดีกว่านมสดหลายประการ เช่น โปรตีนเคซีนในนมเปรี้ยวจะถูกนำไปใช้ประโยชน์ต่อร่างกายได้ดีกว่าในนมสด เพราะย่อยสลายได้ง่ายกว่า ทั้งนี้เนื่องจากโมเลกุลของโปรตีนในนมเปรี้ยวจะถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์จากเชื้อนมเปรี้ยวให้มีโมเลกุลเล็กลงกว่าเดิม นอกจากนี้กรดแลคติก ในนมเปรี้ยวจะช่วยให้ร่างกายสามารถดูดซึมแคลเซียมและฟอสฟอรัสได้เพิ่มขึ้น จึงเหมาะสมสำหรับผู้บริโภคทุกวัย โดยเฉพาะวัยเด็กเพราะจะช่วยให้ได้แร่ธาตุแคลเซียมและฟอสฟอรัสเพิ่มขึ้นจึงมีประโยชน์ต่อการเสริมสร้างกระดูกและฟัน นอกจากนี้นมเปรี้ยวยังมีประโยชน์ในด้านอื่น ๆ ต่อผู้บริโภคอีกหลายประการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในด้านการส่งเสริมความสมบูรณ์แข็งแรงของร่างกาย เนื่องจากแบคทีเรียที่ใช้ผลิตนมเปรี้ยวจะไปเจริญและทวีจำนวนในลำไส้เป็นจำนวนมากและยึดเกาะกับผนังลำไส้อยู่ได้ เมื่อร่างกายได้รับแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหารเข้าไป เช่น อหิวาตกโรค บิด ไทฟอยด์ เชื้อโรคอุจจาระร่วง ฯลฯ เชื้อโรคเหล่านี้ไม่สามารถเจริญและทวีจำนวนในร่างกายได้ ร่างกายจึงไม่เป็นโรค ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากว่าในนมเปรี้ยวมีสารบางชนิดที่มีสมบัติยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในระบบทางเดินอาหาร

ผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวหรือนมเปรี้ยว ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 46 (พ.ศ. 2523) หมายถึง นมหรือผลิตภัณฑ์ที่ได้จากนมที่หมักด้วยจุลินทรีย์ ที่ไม่ทำให้เกิดโรคหรือไม่ทำให้เกิดพิษ และมีจุลินทรีย์ดังกล่าวที่มีชีวิตคงอยู่จากกรรมวิธีหมักนั้น หรืออาจเติมวัตถุอื่นที่จำเป็นต่อกรรมวิธีการผลิต หรืออาจปรุงแต่งสี กลิ่น รส ด้วยก็ได้ ต้องมีโปรตีนไม่น้อยกว่า 1.5 เปอร์เซนต์ ไม่ใช้วัตถุที่ให้ความหวานแทนน้ำตาล ไม่มีวัตถุกันเสีย และต้องเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิไม่เกิน 10 $^{\circ}$C และระยะเวลาในการจำหน่าย ต้องไม่เกิน 7 วัน นับแต่วันที่บรรจุในภาชนะบรรจุ

2.4 แลคโตส (Lactose) (บวรศักดิ์, 2548)

2.4.1 นิยาม

แลคโตสหรือน้ำตาลนม (milk sukar) เป็นส่วนของคาร์โบไฮเดรตที่สำคัญในนม โดยป็นพวกไดแซคคาไรด์ (disaccharide) ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลสองชนิด คือ กลูโคสและกาแลคโตส โดยแลคโตสเป็นน้ำตาลที่เกี่ยวของกับการผลิต ผลิตภัณฑ์นม เช่น เกี่ยวข้องกับการหมัก (fermentation) และการบ่ม (ripening) นอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องโดยตรงกับ สี กลิ่น และรสชาติ ของนมและผลิตภัณฑ์นมอีกด้วย ปริมาณแลคโตสโดยเฉลี่ยในนมจะแปรผันระหว่าง 4.7 และ 4.9 เปอร์เซ็นต์ โดยนมที่ได้จากโคแต่ละตัวอาจมีการแปรผันมากกว่านี้ หรือ หากโคเป็นโรคเต้านมอักเสบ ปริมาณแลคโตสก็จะลดลง (บวรศักดิ์, 2548)

2.4.2 ประโยชน์ของแลคโตส

แลคโตสเป็นแหล่งพลังงานสำหรับลูกโคโดยจะให้พลังงาน 4 แคลลอรี่ต่อแลคโตส 1 กรัมที่ถูกเมตาบอไลท์ โดยแลคโตสจะละลายน้ำได้น้อยกว่าซูโครสและมีความหวานน้อยกว่า แลคโตสสามารถถูกย่อยไปเป็นน้ำตาลกลูโคสและกาแลคโตส โดยอาศัยแบคทีเรียที่มีเอนไซม์เบต้ากาแลคโตซิเดส (β-galactosidase) จากนั้นกลูโคสและกาแลคโตสจะถูกหมักไปเป็นกรดแลคติค เช่น ในกรณีที่นมมีรสเปรี้ยว ภายใต้สภาวะที่มีการควบคุม แลคโตสอาจถูกหมักไปเป็นกรดอื่นๆ เพื่อให้กลิ่นรสที่ต้องการ เช่น การหมักกรดโพรพิโอนิค (Propionic fermentation) ในการผลิตเนยแข็งสวิส (Swiss cheese)

2.4.3 การหมักของแลคโตส

การหมักแลคโตสโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ หรือเชื้อจุลินทรีย์ย่อยแลคโตสเพื่อเอาไปใช้ประโยชน์ จุลินทรีย์ที่ชอบเจริญในนมซึ่งมีน้ำอยู่ปริมาณมากนี้ ส่วนมากคือ แบคทีเรีย ส่วนผลิตภัณฑ์นมอื่นที่มีน้ำไม่ค่อยมากนั้น จุลินทรีย์จะเจริญได้ทุกประเภท เช่น แบคทีเรีย รา และยีสต์ เป็นต้น เชื้อแบคทีเรียที่ใช้แลคโตสเป็นอาหารนี้ คือ แบคทีเรียพวกสร้างกรดแลคติก นิยมเรียกว่า lactose fermenting bacteria ซึ่งจัดเป็นพวก acid producer แบคทีเรียพวกนี้เจริญได้รวดเร็วในนม อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญ คือ อุณหภูมิ 37 $^{\circ}$C โดยที่แบคที่เรียจะเปลี่ยนแลคโตสไปเป็นกรดแลคติก และจากกรดแลคติกก็จะนำไปสลายเป็นพลังงานเพื่อนำไปใช้ประโยชน์ต่อไป การเจริญของแบคทีเรียในนมจะเป็นไปโดยสม่ำเสมอที่อุณหภูมิ 37 $^{\circ}$C เมื่อความเป็นกรดของนมเพิ่มขึ้นไปถึง 0.3-0.4 เปอร์เซ็นต์ (กรดแลคติก) นมจะเริ่มมีรสเปรี้ยว และเมื่อเพิ่มถึง 0.6-0.7 เปอร์เซ็นต์ นมจะแข็งตัว แต่เมื่อ

เปอร์เซ็นต์กรดเพิ่มถึง 1 เปอร์เซ็นต์ ที่แบคทีเรียสร้างขึ้นมานี้ จะใช้น้ำตาลแลคโตสในการหมักเพียง 1 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น เมื่อแบคทีเรียสร้างกรดขึ้นมามากพอ ก็จะสามารถดมกลิ่นเปรี้ยวได้ตามปกติ กรดแลคติกที่บริสุทธิ์จะไม่มีกลิ่นเหม็นเปรี้ยว กลิ่นเปรี้ยวนี้มาจากหลายสาเหตุรวมกัน เช่น อะซิติลเมทธิลคาร์บินอล(AMC), ไดอะซีติล(diacetyl) และก๊าซคาร์บอนไดออกไซค์ จากการคำนวณพบว่า แลคโตส 100 ส่วน ที่ใช้ไปในการหมักนั้น 95 ส่วน จะถูกใช้ไปในการสร้างกรดแลคติก อีก 5 ส่วน จะใช้ไปในการสร้างกลิ่นต่างๆ การให้ความร้อนแก่นมที่อุณหภูมิสูงกว่า 100 ^{0}C จะทำให้แลคโตสจับกับโปรตีนนมแบบไม่ผันกลับ ซึ่งจะมีผลไปลดคุณค่าทางอาหารของนมและทำให้นมเป็นสีน้ำตาล เนื่องจากแลคโตสละลายในน้ำได้น้อยกว่าซูโครส ดังนั้นการเติมซูโครสลงในนมจะเป็นการบังคับให้แลคโตสตกผลึกออกมาจากน้ำนม ซึ่งเป็นผลให้เกิดการสากลิ้น (sandiness) ในผลิตภัณฑ์นมบางชนิด เช่น ไอศกรีม นมข้นหวาน เป็นต้น หรือผลิตภัณฑ์บางอย่างต้องใช้ขั้นตอนการแปรรูปพิเศษเพื่อตกผลึกแลคโตสในกระบวนการผลิต เช่น นมผงขาดมันเนยชนิดละลายทันที (instrant skim milk powders)

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบและอุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบ

1. นมยูเอชทีรสจืด ตราหนองโพ
2. เชื้อจุลินทรีย์ผง Lyofast BGP 93 บริษัท ทินกรเคมีคอล แอนด์ ซัพพลาย จำกัด
3. หางนมผง Skim Milk Powder – Medium Heat ผลิตโดย Burra Foods Australia
4. น้ำตาลทรายขาว ตรามิตรผล

3.1.2 อุปกรณ์

1.เครื่องโฮโมจิไนซ์เซอร์ Wiggen Hauser รุ่น D-500
2. Pocket Refrectometer รุ่น ATA GO
3. pH meter Waterproof pH Testr 30
4. Thermometer
5. บิวเรต ขนาด 50 มิลลิลิตร Burettes [PE] scilling type
6. ปิเปต ขนาด 10 มิลลิลิตร Measuring Pipette
7. หลอด butyrometer สเกล 0 – 7 เปอร์เซนต์ Milk Butyrometer IsI marked
8. ขวดรูปชมพู่ปลอดเชื้อ ขนาด 2000 มิลลิลิตร Erlenmeyer Flask
9. แท่งแก้วคน Stirring Rod
10. สำลี
11. อะลูมิเนียมฟอยล์
12. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง Scaletec รุ่น SBA 51
13. กระบอกแสตนเลสขนาด 2000, 1000, 500 มิลลิลิตร
14. หม้อแสตนเลส
15. ขวดพลาสติก ชนิด HDPE

3.2 เครื่องมือสำหรับวิเคราะห์คุณภาพ

3.2.1 เครื่องมือสำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

1. เครื่องวัดค่าสี (Spectrophotometer) รุ่น CM-3500d KONICA MINOLTA

3.2.2 เครื่องมือสำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

1. เครื่องปั่นเหวี่ยง (FUNKE GERBER) รุ่น NOVA SAFETY
2. เครื่อง pH meter Waterproof pH Testr 30
3. ชุดไทเทรต (AOAC,1999)

3.2.3 เครื่องมือสำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

1. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave) sanyo lado Autoclave
2. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator) Binder BD 115
3. ตู้อบลมร้อนสำหรับฆ่าเชื้อ (Hot are Oven) Binder FD 115

3.2.4 เครื่องมือสำหรับวิเคราะห์คุณภาพ

1. เครื่องสำรวจ : แบบสอบถาม
2. เครื่องคอมพิวเตอร์ : โปรแกรมสำเร็จรูป

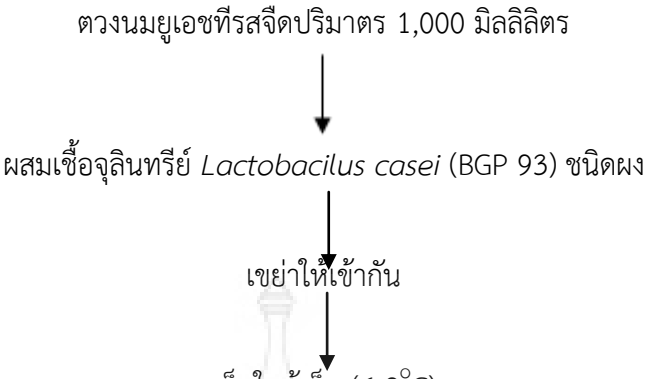
3.3 วิธีดำเนินการทดลอง

3.3.1 ศึกษาปริมาณของ *Lactobacillus casei* ในการทำ standard culture

นำเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* (BGP 93) ชนิดผงมาศึกษาหาปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* ในการทำ standard culture จำนวน 5 ระดับ คือ ที่ปริมาณ 0.42,0.44,0.46,0.48 และ 0.50 กรัม มาทำ standard culture แสดงดังแผนภูมิที่ 3.1 เพื่อหาปริมาณเชื้อจุลินทรย์ *Lactobacillus casei* ที่ดีที่สุดในการทำ standard culture โดยเลือกจากจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* ที่เจริญใน standard culture ตามมาตรฐานอุตสาหกรรมนมเปรี้ยว (มอก.2146 2546) ที่กำหนดให้มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ทำให้เกิดกรดไม่น้อยกว่า 10^7 CFU/cm^3 ขึ้นไป

ตารางที่ 3.1 แสดงปริมาณของ *Lactobacillus casei* ในการทำ standard culture 5 ระดับ

ส่วนผสม	**ปริมาณ *Lactobacillus casei* ที่ใช้ทำ standard culture 5 ระดับ**				
	1	2	3	4	5
นมยูเอชทีรสจืด(มิลลิลิตร)	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000
เชื้อ*Lactobacilus casei* (กรัม)	0.42	0.44	0.46	0.48	0.50



แผนภูมิที่ 3.1 ขั้นตอนการเตรียม standard culture

ที่มา: ฐาปนี, 2554

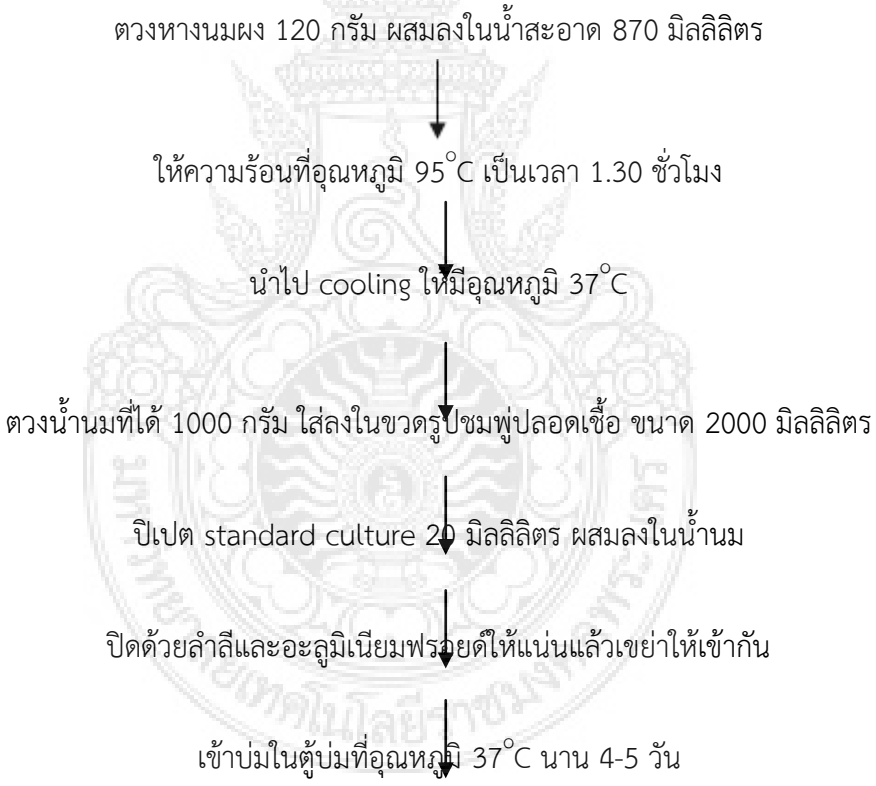
3.3.2 ศึกษาปริมาณการใช้ *Lactobacillus casei* ในการเตรียม starter เพื่อผลิตนมเปรี้ยวโพรไบโอติก

นำ standard culture จากข้อ 3.3.1 ทั้ง 5 ระดับ มาศึกษาปริมาณการใช้ *Lactobacillus casei* ในการเตรียม starter เพื่อผลิตนมเปรี้ยวโพรไบโอติก โดยวางแผนการทดลองสุ่มแบบตลอด (Completely Randomized Design; CRD) โดยศึกษาปริมาณการใช้ *Lactobacillus casei* ในการเตรียม starter จำนวน 3 ระดับ โดยใช้ standard culture (จากข้อ 3.3.1) คือ 0.46, 0.48 และ 0.50 กรัม เติมลงในน้ำนมที่ได้จากหางนมผงผสมน้ำสะอาด ดังตารางที่ 3.2 แล้วมาทำ starter แสดงดังแผนภูมิที่ 3.2 จากนั้นนำ starter ที่ผ่านการบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 4-5 วัน แล้วนำมาตรวจคุณสมบัติทางกายภาพได้แก่ ลักษณะที่สังเกตได้ของ starter ทางเคมี ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ค่าเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก และทางจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* (ภาคผนวก ข) ตามมาตรฐานอุตสาหกรรมนมเปรี้ยว (มอก.2146-2546) ที่กำหนดให้มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ทำให้เกิดกรดไม่น้อยกว่า 10^7 CFU/cm^3 ขึ้นไป เพื่อนำสูตรที่ดีที่สุดไปผลิตนมเปรี้ยวโพรไบโอติกต่อไป

ตารางที่ 3.2 แสดงปริมาณการใช้ *Lactobacillus casei* ในการเตรียม starter เพื่อผลิตนมเปรี้ยวโพรไบโอติก

ส่วนผสม	**ปริมาณ *Lactobacillus casei* ที่ใช้ทำ standard culture 3 ระดับ (กรัม)**		
	0.46	0.48	0.50
หางนมผง (กรัม)	130	130	130
น้ำสะอาด (มิลลิลิตร)	870	870	870
standard culture (มิลลิลิตร)	20	20	20

หมายเหตุ: standard culture 20 มิลลิลิตร แตกต่างกันที่ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่เติมลงไปใน standard culture



แผนภูมิที่ 3.2 ขั้นตอนการเตรียม starter

ที่มา: Sacco, 2554

3.3.3 ศึกษาปริมาณน้ำเชื่อมที่ใช้ในการผลิตนมเปรี้ยวโพรไบโอติก

นำ starter จากข้อ 3.3.2 ที่ผ่านการเลือกและมีคุณสมบัติดีที่สุดตามที่บริษัท SACCO กำหนด (ให้ starter มีค่ากรด-ด่าง ตั้งแต่ 3.5-3.8) เพื่อนำ starter ที่ได้มาผสมเป็นนมเปรี้ยวโพรไบโอติก นำมาวางแผนการทดลองสุ่มแบบตลอด (Completely Randomized Design; CRD) โดยศึกษาปริมาณน้ำเชื่อม 3 ระดับ (ใช้น้ำเชื่อมที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำ 63 °Brix) ได้แก่ 10, 15 และ 20 กรัม ตามลำดับ ดังตารางที่ 3.3 ซึ่งกรรมวิธีการผลิตนมเปรี้ยวโพรไบโอติก แสดงดังแผนภูมิที่ 3.2 นำมาทำการวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ในบล็อก (Randomized Completely Block Design; RCBD)

ตารางที่ 3.3 แสดงปริมาณน้ำเชื่อมที่ใช้ในการผลิตนมเปรี้ยวโพรไบโอติก

ส่วนผสม	**ปริมาณน้ำเชื่อม 3 ระดับ (กรัม)**		
	10	15	20
starter (กรัม)	70	70	70
น้ำต้มสุก (กรัม)	90	90	90

หมายเหตุ : น้ำเชื่อมที่ใช้ในการผลิตนมเปรี้ยวโพรไบโอติกมีปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำ 63 °Brix

ที่มา : ยุพา, 2554

นำstarter ที่ได้ตามเกณฑ์ที่กำหนด

↓

นำมาhomogenize จนเนื้อ curd เนียนละเอียด

↓

น้ำเชื่อมและน้ำต้มสุก (โดยอุณหภูมิของน้ำต้มสุกอยู่ที่ 37±2°C)

↓

บรรจุใส่ขวดพลาสติก ชนิด(HDPE) ขนาด 100 มิลลิลิตรที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วเก็บในตู้เย็น (8°C)

แผนภูมิที่ 3.3 กรรมวิธีการผลิตนมเปรี้ยวโพรไบโอติก

ที่มา : ยุพา, 2554

นำนมเปรี้ยวโพรไบโอติกที่ได้จากการผสมตามปริมาณที่กำหนด มาทดสอบทางประสาทสัมผัส ในด้าน สี กลิ่น รสชาติ (ความเปรี้ยว) เนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวม โดยวิธีการให้คะแนนความชอบ 9 ระดับ (9- points hedonic scale) โดยใช้ผู้ทดสอบ จากพนักงานฝ่ายผลิตและ

พนักงานฝ่ายตรวจสอบคุณภาพจำนวน 30 คน ของสหกรณ์โคนมหนองโพราชบุรี จำกัด และนำผลมาวิเคราะห์หาความแปรปรวน (Analysis of Variance – ANOVA) วิเคราะห์หาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan 's New Multiple 's Range test (DMRT)

3.3.4 ศึกษาคุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ ของนมเปรี้ยวโพรไบโอติก

นำนมเปรี้ยวโพรไบโอติกที่ผู้ทดสอบให้การยอมรับ(จากข้อ3.3.3) มาวิเคราะห์คุณภาพในด้านต่างๆ ซึ่งตรวจสอบคุณภาพของนมเปรี้ยวโพรไบโอติก ให้ตรงตามมาตรฐานอุตสาหกรรมนมเปรี้ยว (มอก.2146-2546) กำหนดไว้ ผู้วิจัยจึงนำนมเปรี้ยวโพรไบโอติกมาวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ การวัดค่าสีด้วยเครื่องวัดค่าสี (spectrophotometer) วิเคราะห์คุณภาพทางเคมี ได้แก่ การวัดค่าเปอร์เซ็นต์ไขมัน (Gerber Metthod) ด้วยเครื่อง Centrifuge ใช้ความเร็ว 1,100 รอบ/วินาที โดยวิธี Gerber Metthod วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) วัดปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำ (^{o}Brix)และวัดค่าเปอร์เซ็นต์กรดแลคติก (ไทเทรต) วิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ โดยตรวจหาจำนวน*Lactobacillus casei* ต่อปริมาณนมเปรี้ยวโพรไบโอติก 1 cm^3 โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus* MRS (ภาคผนวก ข) จากนั้นนำนมเปรี้ยวโพรไบโอติกที่ผ่านการตรวจสอบคุณภาพแล้วนำมาศึกษาอายุการเก็บรักษาของนมเปรี้ยวโพรไบโอติกต่อไป

3.3.5 ศึกษาอายุการเก็บรักษานมเปรี้ยวโพรไบโอติก

นำนมเปรี้ยวโพรไบโอติก (จากข้อ3.3.4) ที่ผ่านเกณฑ์ตามมาตรฐานอุตสาหกรรมนมเปรี้ยวกำหนด (มอก.2146-2546) โดยนำมาบรรจุใส่ขวดพลาสติกชนิด (HDPE) ขนาด 100 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปิดด้วยฝาอะลูมิเนียมฟรอยด์ เก็บที่อุณหภูมิ 4-8 ^{o}C แล้วทำการสุ่มตัวอย่างมาตรวจสอบคุณภาพ เป็นระยะเวลา 10 วัน คือ 0, 1, 3, 5, 7, 8, 9 และ10 วัน โดยการวัดคุณภาพทางกายภาพด้วยการสังเกต ได้แก่ การสังเกตลักษณะสีและลักษณะการตกตะกอน ทางเคมี ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) ค่าเปอร์เซ็นต์ความเป็นกรดแลคติก โดยวิธีการไทเทรต (AOAC, 1999) และจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดด้วยการตรวจปริมาณการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ตามมาตรฐานสหกรณ์โคนมหนองโพราชบุรี จำกัด (ในพระบรมราชูปถัมภ์) โดยผลิตภัณฑ์พาสเจอไรส์ประเภทนมเปรี้ยว ต้องพบจุลินทรีย์ทั้งหมดไม่เกิน $3.0x10^3$ CFU/cm^3

3.4 สถานที่และระยะเวลาดำเนินการทดลอง

3.4.1 สถานที่ทำการทดลอง

- เชิงปฏิบัติการ ณ สหกรณ์โคนมหนองโพราชบุรี จำกัด และคณะเทคโนโลยีคหกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร ห้องปฏิบัติการ 521และ 622

- เชิงทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัส ณ สหกรณ์โคนมหนองโพราชบุรี จำกัด (ในพระบรมราชูปถัมภ์)

3.4.2 ระยะเวลาดำเนินการทดลอง

ตั้งแต่ ตุลาคม 2554 – พฤษภาคม 2555

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลการศึกษาปริมาณของ *Lactobacillus casei* ในการทำ standard culture

ตวงนมยูเอชทีรสจืดปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ผสมเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacilus casei* (BGP 93) ชนิดผง ที่ปริมาณ 0.42,0.44,0.46,0.48 และ 0.50 กรัม เขย่าให้เข้ากัน แล้วคำนวณหาปริมาณเชื้อ *Lactobacillus casei* โดยการเทียบบัญญัติตยางค์ ซึ่งปริมาณ 0.46 กรัมจะมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ 1,000,000 CFU/g. (SACCO, 2554)

ตารางที่ 4.1 แสดงผลการศึกษาปริมาณของ *Lactobacillus casei* ในการทำ standard culture 5 ระดับ

ปริมาณ *Lactobacillus casei* (กรัม)	**จุลินทรีย์ใน standard culture (CFU/g.)**
0.42	913,043
0.44	956,521
0.46	1,000,000
0.48	1,043,478
0.50	1,086,956

จากตารางที่ 4.1 แสดงผลการศึกษาปริมาณของ *Lactobacillus casei* ในการทำ standard culture พบว่า ปริมาณ *Lactobacillus casei* ที่มีความเหมาะสมต่อการทำเป็น standard culture อยู่ที่ 0.46, 0.48 และ0.50 กรัม เนื่องจากมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างกรดแลคติกได้จำนวน 1,000,000 (CFU/g.)ขึ้นไป (ไม่มีการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ เนื่องจากยังไม่มีกระบวนการหมัก) จุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติก จะต้องมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ทำให้เกิดกรดไม่น้อยกว่า 10^7 CFU/cm^3 (มอก.2146 - 2546) จึงนำ standard culture ที่มีปริมาณ *Lactobacillus casei*

อยู่ในระดับ 0.46, 0.48 และ0.50 กรัม มาศึกษาปริมาณการใช้ *Lactobacillus casei* ในการเตรียม starter ซึ่งเป็นหัวเชื้อที่ใช้ผลิตเป็นนมเปรี้ยวโพรไบโอติกต่อไป

4.2 ผลการศึกษาปริมาณการใช้ *Lactobacillus casei* ในการเตรียม starter เพื่อผลิตนมเปรี้ยวโพรไบโอติก

ตวงหางนมผง 120 กรัม ผสมลงในน้ำสะอาด 870 มิลลิลิตร ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95°C เป็นเวลา 1.30 ชั่วโมง นำไป cooling ให้มีอุณหภูมิ 37°C จากนั้นตวงน้ำนมที่ได้ 1000 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ปลอดเชื้อ ขนาด 2000 มิลลิลิตร ปิเปต standard culture 20 มิลลิลิตร ผสมลงในน้ำนม ปิดด้วยลำลีและอะลูมิเนียมฟรอยด์ให้แน่น แล้วเขย่าให้เข้ากัน

ตารางที่ 4.2 แสดงผลการศึกษาปริมาณการใช้ *Lactobacillus casei* ในการเตรียม starter เพื่อผลิตนมเปรี้ยวโพรไบโอติก

ลักษณะ starter	**ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* (กรัม)**		
	0.46	0.48	0.50
ทางกายภาพ			
- ลักษณะที่สังเกตได้	curd แข็งตัวคล้ายเต้าหู้อ่อนสังเกตพบการแยกชั้นของโปรตีนเวย์บนผิวหน้าของ curd เล็กน้อย	curd แข็งตัวมาก สังเกตพบการแยกชั้นของโปรตีนเวย์บนผิวหน้าของ curd ในปริมาณมาก	curd แข็งตัวมาก สังเกตพบการแยกชั้นของโปรตีนเวย์บนผิวหน้าของ curd ในปริมาณมาก
ทางเคมี			
- ค่าความเป็นกรด-ด่าง	3.78±0.06^{a}	3.75±0.06^{a}	3.70±0.06^{b}
- เปอร์เซนต์กรดแลคติก	0.85±0.02^{b}	0.87±0.01^{a}	0.88±0.01^{a}
ทางจุลินทรีย์			
- ปริมาณ*Lactobacillus casei* (CFU/cm^{3})	2.1x10^{7}	2.7 x10^{7}	2.8 x10^{7}

หมายเหตุ : ตัวอักษรในแนวนอนที่แตกต่างกัน หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

จากตารางที่ 4.2 แสดงผลการศึกษาลักษณะทางกายภาพที่สังเกตได้ของ starter ที่มีปริมาณจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* ที่ 3 ระดับ คือ 0.46, 0.48และ0.50 กรัม พบว่าการใช้เชื้อ *Lactobacillus casei* จะใช้น้ำตาลแลคโตสในนมเป็นแหล่งพลังงานในการเจริญเติบโตและเกิดการได้จากกรดแลคติก และสารประกอบอื่นๆ กรดแลคติกที่มีจำนวนเพิ่มขึ้นนี้จะทำลายความคงตัวของเคซีนอีนไมเซลล์ และทำให้สารประกอบเชิงซ้อนของโปรตีนในนมสูญเสียสภาพธรรมชาติ ส่งผลให้เกิดการรวมตัวของเคซีอีนไมเซลล์ และเกิดการตกตะกอนบางส่วนออกมา อัลฟาแลคตาลบูมินและเบต้าแลคโตลบูลินซึ่งเป็นโปรตีนที่อยู่ในน้ำหางนมจะทำปฏิกิริยากับเคซีอีน ทำให้เคซีนอีนไมเซลล์คงตัวมากขึ้น ดังนั้น ร่างแหของเจลที่ประกอบด้วยโครงสร้างที่แน่นอนนี้ สามารถจับกับองค์ประกอบอื่นๆ ที่มีอยู่ในส่วนผสมที่ใช้เตรียมผลิตภัณฑ์ (อัยรา, 2549) พบว่า การใช้ starter ที่มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* 0.46 กรัม จะให้ curd ที่มีการแข็งตัวคล้ายเต้าหู้อ่อนพบการแยกชั้นของโปรตีนเวย์บนผิวหน้าของ curd เล็กน้อย และที่ปริมาณ 0.48 และ 0.50 กรัม ให้ curd ที่มีลักษณะการแข็งตัวมากเกินไปและเกิดการแยกชั้นของโปรตีนเวย์บนผิวหน้าของ curd ในปริมาณมาก ดังนั้น จากลักษณะที่สังเกตได้การใช้ *Lactobacillus casei* ที่ปริมาณ 0.46 กรัม เป็นระดับที่มีความเหมาะสมคือให้ curd ที่มีการแข็งตัวในลักษณะดีที่สุดเนื่องจากมีลักษณะนิ่มคล้ายเต้าหู้อ่อนไม่เหลวหรือแข็ง

จากผลการวิเคราะห์ทางเคมีของ starter ที่มีปริมาณจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* ที่ 3 ระดับ พบว่าการใช้ *Lactobacillus casei* ในปริมาณ 0.46 ,0.48และ0.50 กรัม มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำลง ซึ่งอยู่ในช่วงของเกณฑ์ที่กำหนดไว้ คือ 3.5-3.8 (SACCO, 2554) และปริมาณกรดแลคติก คือ ไม่น้อยกว่า 0.6 เปร์เซ็นต์ ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมนมเปรี้ยว (มอก.2146-2546) ที่กำหนด พบว่าทั้ง 3 ระดับ คือ 0.46, 0.48และ0.50 กรัม มีค่าเพิ่มขึ้นและอยู่ในระดับตามที่มาตรฐานกำหนด จากค่าความเป็นกรด-ด่าง และเปอร์เซ็นกรดแลคติกของเชื้อ *Lactobacillus casei* ทั้ง 3 ระดับ อยู่ในช่วงที่กำหนดทั้งหมด

จากผลการวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ของ starter ที่มีปริมาณจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* ที่ 3 ระดับ คือ 0.46, 0.48และ0.50 กรัม พบว่า ปริมาณ *Lactobacillus casei* (CFU/cm^3) มีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญทั้ง 3 ระดับ ตรงตามมาตรฐานอุตสาหกรรมนมเปรี้ยว (มอก.2146-2546) ที่กำหนดให้มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ทำให้เกิดกรดไม่น้อยกว่า 10^7CFU/cm^3 ขึ้นไป

ดังนั้น จากลักษณะที่สังเกตได้และปริมาณการใช้ *Lactobacillus casei* จึงทำให้สามารถใช้ *Lactobacillus casei* ที่ 0.46 กรัม ซึ่งเป็นการใช้ในปริมาณที่น้อยที่สุด curd มีการแข็งตัวในลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว เนื่องจากมีลักษณะนิ่มคล้ายเต้าหู้อ่อนไม่เหลวหรือแข็ง มีค่ากรด-ด่าง, เปอร์เซนต์กรดแลคติก และมีปริมาณจุลินทรีย์ *Lactobacillus casei* อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด จากนั้นจึงนำไปศึกษาปริมาณน้ำเชื่อมที่ใช้ในการผลิตนมเปรี้ยวโพรไบโอติกต่อไป

4.3 ผลการศึกษาปริมาณน้ำเชื่อมที่ใช้ในการผลิตนมเปรี้ยวโพรไบโอติก

การศึกษานมเปรี้ยวโพรไบโอติกที่ใช้ปริมาณน้ำเชื่อม (มีปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำ 63 °Brix) แตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 10, 15 และ 20 กรัม แสดงดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงค่าเฉลี่ยคะแนนความชอบของนมเปรี้ยวโพรไบโอติกที่ใส่น้ำเชื่อม 3 ระดับ

คุณลักษณะของผลิตภัณฑ์	**ปริมาณน้ำเชื่อม 3 ระดับ (ที่มีปรมาณ 63 °Brix)**		
	10 กรัม	**15 กรัม**	**20 กรัม**
สี^{ns}	6.17±1.60	6.63±1.81	6.03±1.54
กลิ่น	5.53^{b}±1.66	7.80^{a}±1.00	5.20^{b}±1.40
รสชาติ (ความเปรี้ยว)	5.43^{b}±1.68	8.07^{a}±0.87	4.83^{b}±1.68
เนื้อสัมผัส	5.50^{b}±1.89	7.20^{a}±1.52	5.07^{b}±1.86
ความชอบโดยรวม	5.77^{b}±1.65	7.87^{a}±0.90	5.53^{b}±1.43

หมายเหตุ: ตัวอักษรในแนวนอนที่แตกต่างกัน หมายถึง ค่าที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

ns คือ ค่าที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05)

จากตารางที่ 4.3 แสดงคะแนนความชอบเฉลี่ยในด้านต่างๆ ของนมเปรี้ยวโพรไบโอติก โดยการใส่น้ำเชื่อม (มีปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำ 63 °Brix) ในปริมาณที่แตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 10, 15 และ 20 กรัม นำไปประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส พบว่า น้ำเชื่อมมีอิทธิพลต่อคะแนนความชอบในปัจจัยด้าน กลิ่น รสเปรี้ยว เนื้อสัมผัสและความชอบโดยรวมของนมเปรี้ยวโพรไบโอติกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 โดยการใช้น้ำเชื่อมในปริมาณ 10, 15, และ 20 กรัมผู้ทดสอบให้การยอมรับความชอบในด้านสีไม่แตกต่างกัน ซึ่งสีของผลิตภัณฑ์ที่ดี คือ มีสีขาวจนถึงขาวอมเหลือง (Tamine and Robinson, 1998) ความชอบในด้านกลิ่นผู้ทดสอบที่ให้การยอมรับการใส่น้ำเชื่อมในปริมาณ 15 กรัม มากที่สุด เนื่องจากการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดแลคติกและสารให้กลิ่นรสที่สำคัญในผลิตภัณฑ์ เช่น acetaldehyde, acetone, acetoin, diacetyl และ สารประกอบคาร์บอนิลอื่นๆ เป็นต้น (Tamine and Robinson, 1998) ด้านรสชาติ (ความเปรี้ยว) ในการใส่น้ำเชื่อมปริมาณ 20 กรัมนมเปรี้ยวโพรไบโอติกมีรสชาติหวาน และ 10 กรัม นมเปรี้ยวโพรไบโอติกมีรสชาติเปรี้ยว เพราะกรดแลคติกจะให้รสชาติที่เฉพาะ คือ รสเปรี้ยวและแหลม (sharp and acidic taste) ในผลิตภัณฑ์ทำให้ได้กลิ่นรสที่หอม เชื้อแลคติกจะมีเอนไซม์แลคเตทดีไฮโดรจีเนส (lactate dehydrogenate: LDH) สำหรับสร้างกรดแลคติกจากไพรูวิคที่ได้ในระหว่างการหมักนม(อัยรา, 2549) ดังนั้น สารให้ความหวาน (sweetener) ที่เป็นส่วนผสมในวัตถุดิบเริ่มต้น มีผลต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัส Fermandez-Garcia et al. (1998) ซึ่งทดลองการใช้ข้าวโอ๊ตแทนสารให้ความหวานในโยเกิร์ต พบว่าสารให้ความหวานทำให้ลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ดีขึ้นและคะแนนการยอมรับด้านกลิ่นรสเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเติมน้ำตาลซูโครส

4.4 ผลการศึกษาคุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ ของนมเปรี้ยวโพรไบโอติก

นำนมเปรี้ยวโพรไบโอติกที่ผ่านกรรมวิธีการผลิตเรียบร้อยแล้วนำไปศึกษาคุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์

ตารางที่ 4.4 แสดงผลการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ของนมเปรี้ยวโพรไบโอติก

คุณภาพ	ผลการวิเคราะห์
ทางกายภาพ	
- ค่าสี	
ค่าความสว่าง (L^*)	7.72 ± 0.01
ค่าสีแดง (a^*)	12.14 ± 0.02
ค่าสีเหลือง (b^*)	12.29 ± 0.02
ทางเคมี	
- เปอร์เซ็นต์ไขมัน	<1
- ความเป็นกรด-ด่าง	3.76 ± 0.02
- เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก	1.07 ± 0.01
- ปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำ ($^{\circ}$Brix)	12.63 ± 0.01
ทางจุลินทรีย์	
- ปริมาณ *Lactobacillus casei* (CFU/cm^3) n=3	1.8×10^7

จากตารางที่ 4.4 แสดงผลการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ จากค่าสีมีค่าความสว่าง (L^*) 7.72, ค่าสีแดง (a^*) 12.14, ค่าสีเหลือง (b^*) 12.29 พบว่าผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวโพรไบโอติกมีสีขาวอมเหลืองนวลวาว มีลักษณะข้น และมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำ 12.63 $^{\circ}$Brix ผลการวิเคราะห์ทางเคมี พบไขมันน้อยกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากวัตถุดิบที่ใช้เป็นหางนมผง ซึ่งมีไขมันเริ่มต้น 0.9 เปอร์เซ็นต์, ค่าความเป็นกรด-ด่าง 3.76, มีปริมาณกรดแลคติก 1.07 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณ

Lactobacillus casei 1.8×10^7 CFU/cm^3 ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมนมเปรี้ยว (มอก.2146-2546) คือ จะต้องมีจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ทำให้เกิดกรดไม่น้อยกว่า 10^7 CFU/cm^3

4.5 ผลการศึกษาอายุการเก็บรักษานมเปรี้ยวโพรไบโอติก

จากการทดลองสุ่มตัวอย่างมาตรวจสอบคุณภาพ เป็นระยะเวลา 10 วัน คือ 0, 1, 3, 5, 7, 8, 9 และ10 วัน เพื่อวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพด้วยการสังเกต ได้แก่ การสังเกตลักษณะสี, ลักษณะการตกตะกอน ทางเคมี ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง, วัดค่าเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกโดยวิธีการไทเทรต (AOAC, 1999) และทางจุลินทรีย์โดยรวมโดยการหาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (TPC)

ตารางที่ 4.5 แสดงผลการศึกษาอายุการเก็บรักษานมเปรี้ยวโพรไบโอติก

ระยะเวลา (วัน)	กายภาพ		เคมี		จุลินทรีย์ทั้งหมด TPC (CFU/cm^3)
	ลักษณะสีที่สังเกตได้	ลักษณะการตกตะกอน	ความเป็นกรด-ด่าง	ปริมาณกรดแลคติก (เปอร์เซ็นต์)	
0	ขาวครีม	ไม่พบการตกตะกอน	3.76±0.01[a]	1.07±0.017[a]	14
1	ขาวครีม	ไม่พบการตกตะกอน	3.74±0.02[a]	1.09±0.007[a]	17
3	ขาวครีม	ไม่พบการตกตะกอน	3.70±0.02[a]	1.10±0.005[a]	20
5	ขาวครีม	ไม่พบการตกตะกอน	3.68±0.02[a]	1.11±0.005[a]	23
7	ขาวเหลือง	พบตะกอนสีเหลืองอ่อนเล็กน้อยบริเวณก้นขวด	3.64±0.00[b]	1.14±0.009[b]	0.7x10^2
8	ขาวเหลืองอ่อน	พบตะกอนสีเหลืองอ่อนเล็กน้อยบริเวณก้นขวด	3.50±0.00[c]	1.18±0.001[c]	3.1x10^3
9	ขาวเหลืองอ่อน	พบตะกอนสีเหลืองอ่อนบริเวณก้นขวด	3.46±0.01[d]	1.21±0.012[c]	1.0x10^4
10	ขาวเหลืองอ่อน	พบตะกอนสีเหลืองอ่อนบริเวณก้นขวด	3.42±0.01[d]	1.23±0.012[d]	2.0x10^4

หมายเหตุ: [a] ค่าเฉลี่ยที่ตามด้วยตัวอักษรต่างกันในแต่ละคอลัมน์มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมันเท่ากับ 95 เปอร์เซ็นต์

จากตาราที่ 4.5 แสดงผลการศึกษาอายุการเก็บรักษานมเปรี้ยวโพรไบโอติก พบว่า เมื่อเวลาผ่านไป 8 วัน ค่าความเป็นกรด-ด่าง และค่าความเป็นกรดแลคติก มีการเปลี่ยนแปลงค่อนข้างน้อย จากผลการสังเกตทางกายภาพ พบตะกอนที่ก้นขวดในระยะเวลาที่ 8 วัน นับจากวันแรกที่ผลิต ซึ่งการเกิดตะกอนลักษณะที่ไม่ดีของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวโพรไบโอติก เนื่องจากในขั้นตอนการผสม starter กับน้ำใช้เพียงเครื่องปั่นผสม แต่ในระดับอุตสาหกรรมหลังจากผ่านเครื่องปั่นผสมแล้วยังผ่านกระบวนการทำให้เป็นเนื้อเดียวกันอีกครั้ง ทำให้อนุภาคของนมเปรี้ยวโพรไบโอติกมีการกระจายตัวดีและมีความคงตัวสูง จากการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ที่ระยะเวลา 8 วัน มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด $3.1x10^{3}$ CFU/cm^{3} โดยเกินกว่าที่มาตรฐานสหกรณ์โคนมหนองโพราชบุรี จำกัด (ในพระบรมราชูปถัมภ์)กำหนดไว้ ซึ่งผลิตภัณฑ์พาสเจอไรส์ประเภทนมเปรี้ยวจะต้องมีจุลินทรีย์ทั้งหมด ไม่เกิน $3.0x10^{3}$ CFU/cm^{3} เนื่องจากการผลิตในระดับอุตสาหกรรม ใช้ระบบปิดในกระบวนการผลิตและมีการป้องกันการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ทำให้อายุการเก็บรักษานมเปรี้ยวโพรไบโอติกนานขึ้น (ฐากูล,2552) ดังนั้นแสดงให้เห็นว่า ผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวโพรไบโอติก มีอายุการเก็บรักษาที่ 7 วัน ซึ่งไม่เกิดการตกตะกอนของผลิตภัณฑ์ที่ดี มีความปลอดภัยและไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผล

5.1.1 การศึกษาปริมาณของ *Lactobacillus casei* ในการทำ Standard culture

จากการศึกษาปริมาณของ *Lactobacillus casei* (BGP 93) ในการทำ standard culture พบว่าปริมาณ *Lactobacillus casei* ที่เหมาะสมต่อการทำ standard culture อยู่ในช่วง 0.46, 0.48 และ0.50 ต่อนม 1,000 มิลลิลิตร เนื่องจากมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างกรดแลคติกได้จำนวน 1,000,000 (CFU/g.) ขึ้นไป ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุสาหกรรมนมเปรี้ยว (มอก.2146-2546) กำหนดไว้

5.1.2 การศึกษาการใช้ *Lactobacillus casei* ในการทำ starter เพื่อผลิตนมเปรี้ยวโพรไบโอติก

จากการศึกษาการใช้ *Lactobacillus casei* ในการเตรียม starter พบว่า *Lactobacillus casei* ที่ปริมาณ 0.46 กรัม มีความเป็นกรด-ด่าง 3.76, (ซึ่งอยู่ตามเกณฑ์ที่ SACCO กำหนด คือ 3.5-3.8), มีปริมาณกรดแลคติก 0.85 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณปริมาณ *Lactobacillus casei* $2.1x10^{7}$ CFU/cm^{3} ตรงตามมาตรฐานอุตสาหกรรมนมเปรี้ยว (มอก.2146-2546) ที่กำหนดให้มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ทำให้เกิดกรดไม่น้อยกว่า 10^{7} CFU/cm^{3} ขึ้นไป ทำให้ได้ starter ที่ดีที่สุด เนื่องจากมีลักษณะการเกิด curd ที่แข็งตัวคล้ายเต้าหู้อ่อน สังเกตพบการแยกชั้นของโปรตีนเวย์บนผิวหน้าของ curd เล็กน้อย

5.1.3 การศึกษาปริมาณน้ำเชื่อมที่ใช้ในการผลิตนมเปรี้ยวโพรไบโอติก

จากการศึกษานมเปรี้ยวโพรไบโอติก โดยการใส่น้ำเชื่อม (มีปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำ 63 °Brix) ในปริมาณที่แตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 10, 15 และ20 กรัม นำไปประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสในด้านสี กลิ่น รสชาติ (ความเปรี้ยว) เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม พบว่านมเปรี้ยวโพรไบโอติก ระดับน้ำเชื่อม 15 กรัม ได้การยอมรับสูงสุด คือ มีสีขาวอมเหลือง มีกลิ่นเฉพาะตัว และมีรสเปรี้ยวอมหวาน

5.1.4 การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมีและจุลินทรีย์ของนมเปรี้ยวโพรไบโอติก

จากการวิเคราะห์ทางกายภาพจากค่าสีมีค่าความสว่าง (L^*) 7.72, ค่าสีแดง (a^*) 12.14, ค่าสีเหลือง (b^*) 12.29 พบว่าผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวโพรไบโอติกมีสีขาวอมเหลืองนวลวาว มีลักษณะข้น ผลการวิเคราะห์ทางเคมี พบว่า มีค่าของแข็งที่ละลายได้ในน้ำ 12.63 $^{\circ}$Brix พบไขมันน้อยกว่า 1 ปอร์เซ็นต์ (เนื่องจากวัตถุดิบที่ใช้เป็นหางนมผงโดยมีไขมันเริ่มต้น 0.9 เปอร์เซ็นต์), มีความเป็นกรด- ด่าง 3.76, มีปริมาณกรดแลคติก 1.07 เปอร์เซ็นต์ และมีปริมาณ *Lactobacillus casei* 1.8×10^7 CFU/cm^3 ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมนมเปรี้ยว (มอก.2146-2546) ที่กำหนดให้มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดที่ทำให้เกิดกรดไม่น้อยกว่า 10^7 CFU/cm^3 ขึ้นไป

5.1.5 การศึกษาอายุการเก็บรักษานมเปรี้ยวโพรไบโอติก

จากการศึกษาอายุการเก็บรักษานมเปรี้ยวโพรไบโอติกที่อุณหภูมิ 4-8 $^{\circ}$C เป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นพบว่า นมเปรี้ยวโพรไบโอติกเกิดการตกตะตอน ซึ่งเป็นลักษณะที่ไม่ดีของผลิตภัณฑ์ และปริมาณกรดแลกติกในนมเปรี้ยวโพรไบโอติกจะเพิ่มขึ้น ซึ่งทำให้กลิ่นรสของนมเปรี้ยวเปลี่ยนแปลงไป นอกจากนี้ยังพบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด มากกว่า 3.0×10^3 CFU/cm^3 ซึ่งมากกว่าเกณฑ์มาตรฐานที่สหกรณ์โคนมหนองโพราชบุรี จำกัด (ในพระบรมราชูปถัมภ์) กำหนดไว้

5.2 ข้อเสนอแนะ

ในการศึกษาครั้งต่อไป แนะนำให้ใช้สารให้ความหวานแทนน้ำตาล เพื่อจะได้เพิ่มทางเลือกให้กับผู้บริโภคที่ต้องการจะลดน้ำหนัก

บรรณานุกรม

จงกมล จริยกุล. 2550. **“การผลิตกรดแลกติกจากเวย์โดยเชื้อ Lactobacillus casei TISTR 1341”** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ไชยวัฒน์ ไชยสุต. 2553. **สุขภาพดีด้วยโปรไบโอติก.** กรุงเทพฯ: พัฒนาวิทยาศาสตร์และ เทคโนโลยีแห่งชาติ.

ฐากูล กู้เกียรติกูล. 2547. **“การทำนายอายุของนมเปรี้ยวพร้อมดื่มพาสเจอไรส์โดยวิธีปั่นเหวี่ยงหนีศูนย์”** ภาควิชาวิศวกรรมการอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ฐาปนี สงวนวิทย์ 2554. ผู้แทนฝ่ายขายด้านเทคนิค (อาหาร). สัมภาษณ์. 30 กันยายน

นิรนาม. 2552. “*Lactobacillus casei*” [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก www.Probiotic.org

ธัชนนท์ พุ่มโภคัย ละมัย อรุณฉายและวิญญู วาสบุญมา. 2547. **“การคัดเลือกและศึกษาคุณสมบัติของเชื้อโพรไบโอติกที่แยกได้จากแหล่งตัวอย่างต่างๆ”** ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์. สถาบันราชภัฏนครปฐม.

บวรศักดิ์ ลีนานนท์. 2548. **“เทคโนโลยีผลิตภัณฑ์อาหารนม”** ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

บุญจันทร์ สายยิ้ม. 2530. **“การใช้นมถั่วเหลืองผสมนมโคในการผลิตนมเปรี้ยว”** ภาควิชาสัตวบาล. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บุษบา ยงสมิทธ์ อมรา จันทนโอ และวีระพล ธรรมคุณ. ม.ป.ป. **“การศึกษาทดลองทำเครื่องดื่มนมเปรี้ยวจากถั่วเหลือง”** ภาควิชาชีววิทยา. คณะวิทยาศาสตร์และอักษรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. และภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

บรรณานุกรม (ต่อ)

ปิยะนุช แปงสนิท. 2545. **“การหมักผลิตภัณฑ์คล้ายนมเปรี้ยวพร้มดื่มจากนมข้าวโพด”** วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยนเรศวร.

ยุพา สุขเจริญกิจจา. 2554. หัวหน้าฝ่ายวิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์. สัมภาษณ์. 30 กันยายน

วิเชียร ลีลาวัชรมาศ. 2553. “การคัดเลือกจุลินทรีย์เพื่อใช้เป็นโปรไบโอติก” [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก http://library.uru.ac.th/webdb/images/charpa_probio5.html.

วิลาวัลย์ เจริญจิระตระกูล. 2536. **“ผลิตภัณฑ์อาหารหมักจุลินทรีย์”** มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สมใจ ศิริโภค. 2544**. “อาหารเลี้ยงเชื้อ”** ภาควิชา ชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

สุมาพร สารพัน และศุภลักษณ์ เพาะผล. 2549. **“ศึกษาปริมาณสละที่เหมาะสมในการผลิตโยเกิร์ต”** สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก.

สุรีย์ นานาสมบัติ และคณะ. ม.ป.ป. **“การอยู่รอดของแบคทีเรียโพรไบโอติกที่ผ่านกระบวนการปรับตัวต่อกรดและไมโครเอนแคปซูเลชันในน้ำสลัดระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ”** ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์. คณะวิทยาศาสตร์. และ ภาควิชาวิศวกรรมอาหาร. คณะวิศวกรรมศาสตร์. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2547. **“มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมนมเปรี้ยว”** มอก. 2146-2546

หนังสือพิมพ์ฐานเศรษฐกิจ. 2552. **“ตลาดนมพร้อมดื่ม เผชิญหลายปัจจัยเสี่ยง แนวโน้มการเติบโตอาจติดลบ”** ฉบับที่ 2409. วันที่ 15 มี.ค. - 18 มี.ค.

บรรณานุกรม (ต่อ)

อัยรา พันอนุ. 2549. **“การเพิ่มปริมาณ conjugated linoleic acid (CLA) ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตโดยกระบวนการหมักด้วยแบคทีเรียกรดแลคติก”** วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

Fermadez-Garcia, E., Mc Gaegor, J.U., and Traylor, S. 1998. **The addition of oat fiber and natature alternative sweeteners in the manufacture of plain yoghurt.** J. Dairy Sci.

Tamine, A.Y.,and R.K. Robinson. 1998 **Yoghurt: Science and Technology**, second edition. Cambridge: Woodhead Publishing.

Sacco srl. 2011. Lyofast BGP 93. Sacco srl, Italy.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม

THAI INDUSTRIAL STANDARD

มอก. 2146-2546

นมเปรี้ยว

FERMENTED MILK

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม

กระทรวงอุตสาหกรรม ICS 67.100.99 ISBN 974-608-964-1

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม
นมเปรี้ยว

มอก. 2146-2546

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม
กระทรวงอุตสาหกรรม ถนนพระรามที่ 6 กรุงเทพฯ 10400
โทรศัพท์ 0 2202 3300

ประกาศในราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่ม 121 ตอนที่ 29ง
วันที่ 8 เมษายน พุทธศักราช 2547

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม
นมเปรี้ยว

1. ขอบข่าย

1.1 มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมนี้ ครอบคลุมนมเปรี้ยวทุกประเภท อาจมีการปรุงแต่ง กลิ่นรส สี และผ่านความร้อนหลังการหมักบ่มหรือไม่ก็ได้

2. บทนิยาม

ความหมายของคำที่ใช้ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมนี้ มีดังต่อไปนี้

2.1 นมเปรี้ยว (fermented milk) หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากนมและ/หรือผลิตภัณฑ์นมซึ่งเกิดจากการหมักบ่มด้วยจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดกรดแล็กติกเป็นหลัก เช่น *แล็กโตบาซิลลัส เดลบรูคิอิ ซับส์ บัลการิคัส (Lactobacillusdelbrueckii subsp bulgaricus) สเตรปโตค็อกคัส เทอร์โมฟิลัส (Streptococcus thermophilus)ไบฟิโดแบคทีเรียม (Bifidobacterium) แล็กโตบาซิลลัส อะซิโดฟิลัส (Lactobacillus acidophilus)* และ/หรือจุลินทรีย์อื่นที่ใช้ในการผลิตนมเปรี้ยว ทั้งนี้จะมีจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักบ่มที่มีชีวิตคงเหลืออยู่หรือไม่ก็ได้

2.2 โยเกิร์ต (yoghurt) หมายถึง นมเปรี้ยวตามข้อ 2.1 ซึ่งมีจุลินทรีย์ใช้ในการหมักบ่มที่มีชีวิตคงเหลืออยู่

2.3 โยเกิร์ตปรุงแต่ง (flavoured yoghurt or composite fermented milk) หมายถึงโยเกิร์ตตามข้อ 2.2 ที่ผ่านการปรุงแต่งกลิ่นรส สี หรือวัตถุอื่นที่ไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ เช่น ผลไม้ แยม เป็นต้น ซึ่งอาจแยกชั้นในภาชนะบรรจุ (set yoghurt) หรือผสมรวมเข้าด้วยกัน (stirred yoghurt) และมีจุลินทรีย์ใช้ในการหมักบ่มที่มีชีวิตคงเหลืออยู่

2.4 นมเปรี้ยวพร้อมดื่ม (fermented milk drink or drinking yoghurt) หมายถึง นมเปรี้ยวตามข้อ 2.1 ที่ผ่านการเจือจางและปรุงแต่งกลิ่นรส สี หรือวัตถุอื่นที่ไม่เป็นอันตรายต่อสุขภาพ เช่น น้ำผลไม้ น้ำผึ้ง เป็นต้นสำหรับดื่มโดยตรง และมีจุลินทรีย์ใช้ในการหมักบ่มที่มีชีวิตคงเหลืออยู่

2.5 นมเปรี้ยวพร้อมดื่มพาสเจอไรซ์ (pasteurized fermented milk drink or pasteurized drinking yoghurt) หมายถึงนมเปรี้ยวพร้อมดื่มตามข้อ 2.4 ที่ผ่านการทำลายจุลินทรีย์ ด้วยความร้อนโดยกระบวนการพาสเจอไรซ์ และมีจุลินทรีย์ใช้ในการหมักบ่มที่มีชีวิตจำนวนหนึ่ง

2.6 นมเปรี้ยวพร้อมดื่มยู เอช ที (UHT fermented milk drink or UHT drinking yoghurt) หมายถึงนมเปรี้ยวพร้อมดื่มตามข้อ 2.4 ที่ผ่านการทำลายจุลินทรีย์ด้วยความร้อนโดยกระบวนการยู เอช ที

3. ประเภท

3.1 นมเปรี้ยวแบ่งออกเป็น 5 ประเภท คือ

3.1.1 โยเกิร์ต

3.1.2 โยเกิร์ตปรุงแต่ง

3.1.3 นมเปรี้ยวพร้อมดื่ม

3.1.4 นมเปรี้ยวพร้อมดื่มพาสเจอไรซ์

3.1.5 นมเปรี้ยวพร้อมดื่มยู เอช ที

4. ส่วนประกอบ

4.1 ส่วนประกอบหลัก

4.1.1 นมและผลิตภัณฑ์ที่ได้จากนม เช่น นมสด นมผง

4.1.2 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตนมเปรี้ยว เช่น *แล็กโตบาซิลลัส เดลบรูคิอิ ซับส์ บัลการิคัส สเตรปโตค็อกคัสเทอร์โมฟิลัส ไบฟิโดแบคทีเรียม แล็กโตบาซิลลัส อะซิโดฟิลัส* เป็นต้น

4.2 ส่วนประกอบอื่น ๆ

4.2.1 สีผสมอาหาร

4.2.2 สิ่งปรุงแต่ง เช่น วัตถุแต่งกลิ่นรส ผลไม้ ธัญชาติ สารแต่งกลิ่น สารแต่งรส เป็นต้น

4.2.3 สเตบิไลเซอร์ เช่น เพกติน เจลาติน เป็นต้น

4.2.4 อื่น ๆ เช่น วิตามิน แร่ธาตุ

5. คุณลักษณะที่ต้องการ

5.1 คุณลักษณะทางเคมีและทางชีววิทยา

ตารางที่ 1 คุณลักษณะทางเคมีและทางจุลชีววิทยา

รายการ	โยเกิร์ต	โยเกิร์ตปรุงแต่ง	นมเปรี้ยวพร้อมดื่ม	นมเปรี้ยวพร้อมดื่มพาสเจอร์ไรส์	วิธีวิเคราะห์ตาม
โปรตีน ไม่น้อยกว่าร้อยละ	3	3	1.5	1.5	AOAC (2000) ข้อ 33.2.12
ความเป็นกรด ไม่น้อยกว่าร้อยละ (คำนวณเป็นกรดแล็กติก)	0.6	0.6	0.6	0.6	AOAC (2000) ข้อ 33.2.06
จุลินทรีย์ทั้งหมดที่ทำให้เกิดกรด ไม่น้อยกว่าโคโลนีต่อกรัมหรือโคโลนีต่อลูกบาศก์เซนติเมตร	10^7	10^7	10^4	น้อยกว่า 10	Standard Methods for the Examination of Dairy Products (1992)หน้า 277-280

6. วัตถุเจือปนอาหาร

6.1 วัตถุกันเสีย

ห้ามใช้วัตถุกันเสีย ยกเว้นวัตถุกันเสียที่ติดมากับวัตถุดิบในกระบวนการผลิตยอมให้มีรวมกันได้ไม่เกิน 50มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมการทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC (2000) ข้อ 47.3.03 และข้อ 47.3.37

7. สุขลักษณะ

7.1 สุขลักษณะ ให้เป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม กำหนดสุขลักษณะของอาหาร มาตรฐานเลขที่มอก.34

7.2 จุลินทรีย์ตรวจพบได้ไม่เกินเกณฑ์ที่กำหนดต่อไปนี้

7.2.1 โคลิฟอร์ม (Coliform) โดยวิธีเอ็มพีเอ็น (MPN) ต่อตัวอย่าง 1 กรัมหรือลูกบาศก์เซนติเมตร ต้องน้อยกว่า 3 การทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC (2000) ข้อ 17.2.01 ถึงข้อ 17.2.02

7.2.2 ซาลโมเนลลา (*Salmonella*) ในตัวอย่าง 25 กรัมหรือลูกบาศก์เซนติเมตร ต้องไม่พบ การทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC (2000) ข้อ 17.9.01 ถึงข้อ 17.9.03

7.2.3 *สตาฟิโลค็อกคัส ออเรียส (Staphylococcus aureus)* โดยวิธีเอ็มพีเอ็มต่อตัวอย่าง 1 กรัมหรือลูกบาศก์เซนติเมตร ต้องน้อยกว่า 3 การทดสอบให้ปฏิบัติตาม AOAC (2000) ข้อ 17.5.01

8. การบรรจุ

8.1 ให้บรรจุนมเปรี้ยวในภาชนะบรรจุที่สะอาด แห้ง ปิดได้สนิท

8.2 ปริมาณสุทธิของนมเปรี้ยวในแต่ละภาชนะบรรจุ ต้องไม่น้อยกว่าที่ระบุไว้ที่ฉลาก

9. เครื่องหมายและฉลาก

9.1 ที่ภาชนะบรรจุนมเปรี้ยวทุกหน่วยอย่างน้อยต้องมีเลข อักษร หรือเครื่องหมายแจ้งรายละเอียดดังต่อไปนี้ให้เห็นได้ง่าย ชัดเจน

(1) ประเภท

(2) ชนิดและ/หรือปริมาณส่วนประกอบ

- นมและ/หรือผลิตภัณฑ์ของนมที่ใช้และปริมาณเป็นร้อยละ
- น้ำตาล แยม ผลไม้ น้ำผลไม้ ระบุปริมาณ เป็นร้อยละ
- สารแต่งรส ระบุชนิด หรือประเภท
- สารแต่งกลิ่น สี ระบุชนิดที่ใช้ ธรรมชาติ หรือสังเคราะห์
- เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้

(4) ข้อแนะนำในการเก็บรักษา และระบุอุณหภูมิในการเก็บรักษาซึ่งต้องไม่สูงกว่า 8 องศาเซลเซียสยกเว้นนมเปรี้ยวยู เอช ที

(5) ปริมาตรสุทธิ เป็นลูกบาศก์เซนติเมตร หรือน้ำหนักสุทธิเป็นกรัม

(6) วัน เดือน ปีที่หมดอายุ

(7) ชื่อผู้ทำหรือโรงงานที่ทำและสถานที่ตั้ง หรือเครื่องหมายการค้าที่จดทะเบียน

ในกรณีที่ใช้ภาษาต่างประเทศ ต้องมีความหมายตรงกับภาษาไทยที่กำหนดไว้ข้างต้น

10. การชักตัวอย่างและเกณฑ์ตัดสิน

10.1 รุ่น ในที่นี้ หมายถึง นมเปรี้ยวประเภทเดียวกัน บรรจุในภาชนะบรรจุชนิดและขนาดเดียวกัน ที่ทำหรือส่งมอบหรือซื้อขายในระยะเวลาเดียวกัน

10.2 นมเปรี้ยวประเภทโยเกิร์ต โยเกิร์ตปรุงแต่ง นมเปรี้ยวพร้อมดื่ม และนมเปรี้ยวพร้อมดื่มพาสเจอไรซ์

เมื่อชักตัวอย่างแล้วต้องเก็บไว้ในที่ที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า 5 องศาเซลเซียสทันที และเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ

นั้นจนถึงเวลาวิเคราะห์ และต้องวิเคราะห์ตัวอย่างทางจุลชีววิทยาภายใน 36 ชั่วโมง หลังจากชักตัวอย่าง

10.3 การชักตัวอย่างและการยอมรับ ให้เป็นไปตามแผนการชักตัวอย่างที่กำหนดต่อไปนี้ หรืออาจใช้แผนการชักตัวอย่างอื่นที่เทียบเท่ากันทางวิชาการกับแผนที่กำหนดไว้

10.3.1 การชักตัวอย่างและการยอมรับสำหรับการทดสอบปริมาณสุทธิ และเครื่องหมายและฉลาก

10.3.1.1 ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน ตามจำนวนที่กำหนดในตารางที่ 2 นำตัวอย่างทั้งหมดไปตรวจสอบภาชนะบรรจุ และเครื่องหมายและฉลากก่อน แล้วจึงเปิดภาชนะบรรจุออกตรวจปริมาณ

ตารางที่ 2 แผนการชักตัวอย่าง (ข้อ 10.3.1)

ขนาดรุ่น ขนาดตัวอย่าง หน่วยภาชนะบรรจุ	ขนาดตัวอย่าง หน่วยภาชนะบรรจุ	เลขจำนวนที่ยอมรับ
น้อยกว่า 500	8	1
500 ถึง 35 000	13	2
มากกว่า 35 000	20	3

10.3.1.2 จำนวนตัวอย่างที่ไม่เป็นไปตามข้อ 8. ต้องไม่เกินเลขจำนวนที่ยอมรับในตารางที่ 2 จึงจะถือว่านมเปรี้ยวรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

10.3.2 การชักตัวอย่างและการยอมรับสำหรับการทดสอบคุณลักษณะที่ต้องการ และวัตถุเจือปนอาหาร

10.3.2.1 แบ่งตัวอย่างจากข้อ 10.3.1 ภาชนะบรรจุละเท่า ๆ กันทำเป็นตัวอย่างรวม ให้ได้ปริมาตรรวมไม่น้อยกว่า 1 ลูกบาศก์เดซิเมตร เก็บตัวอย่างในภาชนะที่สะอาด แห้ง และปิดได้สนิท

10.3.2.2 ตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 5. และข้อ 6. จึงจะถือว่านมเปรี้ยวรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

10.3.3 การชักตัวอย่างและการยอมรับสำหรับการทดสอบจุลินทรีย์

10.3.3.1 ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกันอีก 6 หน่วยภาชนะบรรจุ ให้ตรวจทุกหน่วยตัวอย่าง

10.3.3.2 ตัวอย่างทุกตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 7.2 และตารางที่ 1 จึงจะถือว่านมเปรี้ยวรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

10.4 เกณฑ์ตัดสิน ตัวอย่างนมเปรี้ยวต้องเป็นไปตามข้อ 10.3.1.2 ข้อ 10.3.2.2 และข้อ 10.3.3.2 ทุกข้อ จึงจะถือว่านมเปรี้ยวรุ่นนั้นเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมนี้

ภาคผนวก ข
วิธีการตรวจค่าทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์

วิธีการตรวจค่าทางกายภาพ

การวัดวัดค่าสี (Spectrophotometer)

<u>วิธีการ</u>

1) เปิดสวิทช์ เครื่องคอมพิวเตอร์และเครื่องวัดค่าสี

2) เข้าโปรแกรม Spectra Magic ที่หน้าจอเครื่องคอมพิวเตอร์

3) เข้าที่ปุ่ม Connect (ที่แถบข้างบน) เพื่อเป็นการเชื่อมต่อระหว่างเครื่องคอมพิวเตอร์และเครื่องวัดค่าสี จากนั้นลองสังเกที่แถบข้างล่างขวา เปลี่ยนจากสีแดง ⟶ สีเขียว

4) ทำการคาริเบตเครื่อง (Calibration) โดยคลิกที่ปุ่ม ⟶ Calibration (ที่แถบข้างบน) ใส่แผ่นกระจกใสไว้ที่ช่องข้างบนภายใน Target Mask

กรณีวัดค่าสะท้อนของวัตถุ (Reflectance Calibration) เหมาะสมสำหรับการวัดค่าแสงสะท้อนของตัวอย่างทึบแสง

Zero Calibration Box คือ นะกระบอกสีดำนำมาวางครอบไว้ด้านบนของเครื่อง คลิก OK

White Calibration Plate คือ ตลับสีขาว จะใช้หลังจากที่ Zero Calibration เสร็จแล้ว

วิธีการตรวจค่าทางเคมี

การหาปริมาณของแข็งทั้งหมด (Total solids) AOAC (2000)

<u>อุปกรณ์</u>

1) ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)
2) เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Analytical balance)
3) ปิเปต
4) กระดาษกรอง
5) อะลูมิเนียมฟอยด์
6) โถดูดความชื้น (Desicator)

<u>วิธีการ</u>

1) อบกระดาษกรองที่ห่อด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง
2) นำมาใส่โถดูดความชื้นเพื่อไล่ความชื้นออก นำมาชั่ง อบกระดาษกรองที่ห่อด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์จนได้น้ำหนักที่แน่นอน
3) ชั่งตัวอย่างหรือปิเปตนมเปรี้ยวลงบนกระดาษกรอง 5 กรัม หรือ 5 มิลลิลิตร
4) อบในตู้อบลมร้อน 105 องศาเซลเซียส ประมาณ 5 ชั่วโมง
5) นำมาทำให้เห็นในโถดูดความชื้น นำไปชั่งน้ำหนักที่เหลืออยู่
6) นำไปอบซ้ำจนน้ำหนักคงที่

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณของแข็งทั้งหมด (ร้อยละ)} = \frac{W_2\text{-}W}{W_1\text{-}W} \times 100$$

โดย W คือ น้ำหนักของจานอะลูมิเนียม (กรัม)

W_1 คือ น้ำหนักของจานอะลูมิเนียมและตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

W_2 คือ น้ำหนักของจานอะลูมิเนียมและตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

การหาความเป็นกรดแลคติก ด้วยวิธีการไตเตรท (Schmidt *et al.*, 2001)

<u>อุปกรณ์</u>

1) ปิเปต ขนาด 10 มิลลิลิตร
2) ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask ขนาด 250 มิลลิลิตร)
3) ชุดบิวเรต (Simplex titratable Equipment)
4) สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N (NaOH)
5) สารละลายฟีนอล์ฟธาลีน (1 % Phenolphthalein indicator)
6) น้ำกลั่น
7) กระบอกตวง

<u>วิธีการทดลอง</u>

1) ใช้ปิเปตดูดตัวอย่าง จำนวน 9±0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดรูปชมพู่
2) เติมน้ำกลั่น 18 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
3) หยดสารละลายฟีนอล์ฟธาลีนจำนวน 2-3 หยด
4) ไตเตรทด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 N โดยให้ตัวอย่างโยเกิร์ตเปลี่ยนจากสีขาวเป็นสีชมพูจางๆ อ่านผลภายใน 10 วินาทีน้ำหนักโมเลกุลของกรดกรดแลคติก 90.08 อ่านค่าบันทึกผล

การคำนวณ

$$\text{TA (\% Lactic acid)} = \frac{(\text{ml NaOH})(\text{Normality of NaOH})(\text{Equivalent Wt. of lactic acid}) \times 100}{(\text{Wt. of Sample})}$$

การวัดเปอร์เซ็นต์ไขมัน โดยวิธีของ Gerber method

<u>อุปกรณ์และสารเคมี</u>

1) Pipette ขนาด 10.75 มิลลิลิตร และขนาด 10 มิลลิลิตร

2) Sulfuric acid (H_2SO_4) ความเข้มข้น 90%

3) Amyl alcohol

4) หลอด Butyometer สเกล 0.7%

5) จุกยางและRackไม้

<u>วิธีตรวจ</u>

1) ปิเปต H_2SO_4 ใส่หลอดวิเคราะห์ไขมัน Butyometer ปริมาณ 10 มิลลิลิตร

2) ปิเปตนมตัวอย่างใส่ลงไป 10.75 มิลลิลิตร

3) เติม Amyl alcohol ลงไป 1 มิลลิลิตร

4) ปิดจุกยางให้แน่นแล้วเขย่าพร้อมRack โดยเอียงประมาณ 45 $^{\circ}C$ จนกว่าสารละลายในหลอดจะกลายเป็นสีน้ำตาลเข้มทั้งหมด

5) นำเข้าเครื่อง Centrifuge ใช้ความเร็ว 1,100 รอบ/วินาที โดยต้องใส่หลอดให้สมดุลกันทั้งสองด้านของเครื่องเป็นเวลานาน 5 นาที เพื่อแยกไขมัน

6) อ่านค่าที่ได้ตามสเกลข้างหลอด

การวัดค่าพีเอช ด้วย pH meter (AOAC, 1999)

วิธีการ

1) ชั่งตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่น 10 ml เขย่าให้เข้ากัน

2) วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยเครื่อง pH meter

วิธีการตรวจค่าทางจุลินทรีย์

การวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลกติก (lactic acid Bacteria) (AOAC, 1999)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1) อาหาร *Lactobacillus* MRS Agar

2) เปปโตน (peptone water) ร้อยละ 0.1 ในหลอดทดลอง 9 มิลลิลิตรในขวดฝาเกลียวปริมาตร 225 มิลลิลิตร

วิธีการ

1) ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างเจือจาง 10^{-1} มา 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดที่มีเปปโตนร้อยละ 0.1 ปริมาตร 9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันจะได้ตัวอย่างที่มีกำลังเจือจาง 10^{-2}

2) ทำให้ตัวอย่างเจือจางต่อไปเป็น 10^{-3} และ 10^{-4} ตามลำดับ

3) เขย่าตัวอย่างที่เจือจาง 10^{-4} อีกหลายๆ ครั้ง แล้วใช้ปิเปต 1 มิลลิลิตร ปิเปตตัวอย่างลงในจานเพาะเลี้ยงเชื้อ 2 จาน จานละ 1 มิลลิลิตร

4) ทำเช่นเดียวกับข้อ 4 โดยใช้ปิเปตอันเดิมแต่ใช้ตัวอย่างที่เจือจาง 10^{3}

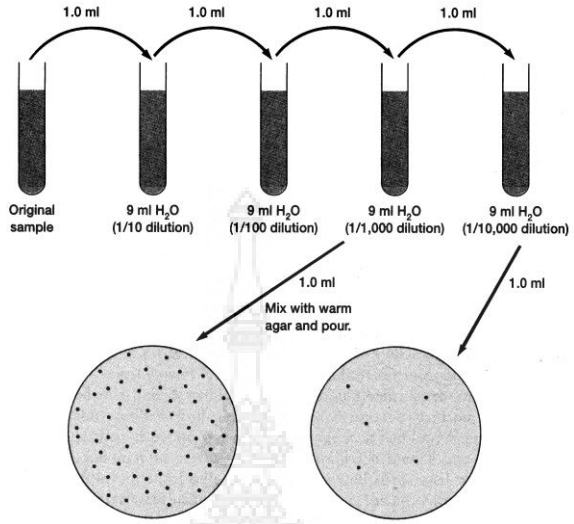
5) ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีวุ้นอยู่เทลงในจานเพาะเลี้ยง (ข้อ 4 และ ข้อ 5) ประมาณจานละ 15-20 มิลลิลิตร แกว่งจานเพาะเลี้ยงเบาๆ เพื่อให้ตัวอย่างกับวุ้นเข้ากันดีตั้งทิ้งไว้ให้วุ้นแข็ง กลับจานเพาะเลี้ยงและเก็บจานเพาะเลี้ยงไว้ที่อุณหภูมิ 37 $^{\circ}$C 24 ชั่วโมง

6) ตรวจนับจำนวนโคโลนีจากจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ระหว่าง 30-300 โคโลนี รายงานผลเป็นจำนวน CFU ต่อ cm^3 ตัวอย่าง

7) ให้เลือกจานอาหารที่มีจำนวนโคโลนีอยู่ประมาณ 30-300 โคโลนี แล้วนับจำนวนจากจานอาหารที่ระดับการเจือจางนั้น หาค่าเฉลี่ยบนจำนวนจานอาหารทั้ง 2 แล้วคำนวณหาจำนวนแบคทีเรียต่อมล. ของตัวอย่าง

จำนวนแบคทีเรียต่อ มิลลิลิตรของตัวอย่าง = ค่าเฉลี่ยของจำนวนแบคทีเรียบนจานอาหาร 2 จานที่ระดับ

การเจือจางเดียวกัน ส่วนกลับของระดับการเจือจาง มีหน่วยเป็น CFU (Colony forming unit) ต่อ cm^3



ภาพที่ 1 การทำเจือจางเป็นลำดับและวิธี pour plate

ที่มา: science.kmutt.ac.th/class/mic291lab7.doc

<u>วิธีการคำนวณ</u>

สูตรในการคำนวณจะมีมากกว่า 1 สูตร โดยมากแล้วไม่ควรจะให้ค่าคำนวณที่แตกต่างกัน หมายความว่า ในกรณีส่วนมากในการใช้งาน ไม่ควรจะสร้างปัญหาความสับสน อาจจะมีเพียงบางกรณียกเว้น เช่น มีปริมาณจุลินทรีย์มากกว่า 250/plate หรือ น้อยกว่า 25 cfu/plate เป็นต้น ที่อาจจะต้องอาศัยเกณฑ์กลางที่ทุกฝ่ายยอมรับได้ อย่างไรก็ตาม เช่น

ลำดับการเจือจางที่ 1:100 ทำ duplicate plate ได้ค่า 232 และ 244

ลำดับการเจือจางที่ 1:1,000 ทำ duplicate plate ได้ค่า 33 และ 28

เงื่อนไข คือ Pour plate ด้วยปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร

สูตร cfu/cm^3 = จำนวนโคโลนีเฉลี่ย*dilution factor

สูตรนี้ สามารถเลือกเฉลี่ยได้ 2 วิธี คือ

1. เฉลี่ยที่ ลำดับการเจือจาง 1:100

เมื่อต้องการเฉลี่ยที่ลำดับการเจือจางใด ก็ต้องปรับให้ลำดับการเจือจางอื่นมีระดับการเจือจางที่เท่ากันก่อน ดังนั้น จะต้องปรับลำดับการเจือจางของ 1:1,000 จาก 33 และ 28 มาเป็นลำดับการเจือจางที่ 1:100 ได้เป็น 330 (= 33x10) และ 280 (= 28x10) ทั้งนี้ เนื่องจาก ลำดับการ

เจือจางของ 1:100 เข้มข้นกว่า ลำดับการเจือจาง 1:1,000 อยู่ 10 เท่า ดังนั้น จึงต้องคูณค่า ของลำดับการเจือจาง 1:1,000 ด้วย 10

จากนั้น จึงทำการเฉลี่ยค่าทั้ง 4 คือ 232, 244 และ 330, 280 ได้เป็น 271.5 และเมื่อคูณด้วย dilution factor 1:100 หรือ 100 ก็จะได้เป็น 27,150/1.0 มล. = 2.7 x 10^4 cfu/cm^3

2. เฉลี่ยที่ ลำดับการเจือจาง 1:1,000

เมื่อต้องการเฉลี่ยที่ลำดับการเจือจางใด ก็ต้องปรับให้ลำดับการเจือจางอื่นมีระดับการเจือจางที่เท่ากันก่อน ดังนั้น จะต้องปรับลำดับการเจือจางของ 1:100 จาก 232 และ 244 มาเป็นลำดับการเจือจางที่ 1:1,00 ได้เป็น 23.3 (= 232/10) และ 24.4 (= 244/10) ทั้งนี้ เนื่องจาก ลำดับการเจือจางของ 1:1,000 เจือจางกว่า ลำดับการเจือจาง 1:100 อยู่ 10 เท่า ดังนั้น จึงต้องหารค่า ของลำดับการเจือจาง 1:100 ด้วย 10

จากนั้น จึงทำการเฉลี่ยค่าทั้ง 4 คือ 23.2, 24.4 และ 33, 28 ได้เป็น 27.15 และเมื่อคูณด้วย dilution factor 1:1,000 หรือ 1,000 ก็จะได้เป็น 27,150/1.0 มล. = 2.7 x 10^4 cfu/cm^3

การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (AOAC, 1999)

ภาคผนวก ค
แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ชุดที่.....

แบบประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

คำแนะนำ กรุณาชิมตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวโพรไบโอติกต่อไปนี้ แล้วให้คะแนนการยอมรับในแต่ละคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ดังนี้

ระดับการให้คะแนน

9	=	ชอบมากที่สุด	4	=	ไม่ชอบเล็กน้อย
8	=	ชอบมาก	3	=	ไม่ชอบปานกลาง
7	=	ชอบปานกลาง	2	=	ไม่ชอบมาก
6	=	ชอบเล็กน้อย	1	=	ไม่ชอบมากที่สุด
5	=	เฉยๆ			

กรุณาชิมตัวอย่างต่อไปนี้ตามลำดับ จากซ้ายไปขวาแล้วให้คะแนนความชอบ

รหัสของผลิตภัณฑ์			
สี			
กลิ่น			
รสชาติ (ความเปรี้ยว)			
เนื้อสัมผัส			
ความชอบโดยรวม			

ข้อเสนอแนะ_____

_____

_____

_____

ขอขอบคุณที่ให้ความร่วมมือ

ภาคผนวก ง

มาตรฐานหางนมผง

หางนมผง (Certificate of Analysis)

Product: Skim Milk Powder-Medium Heat

ผลิต: Burra Foods Australia

Chemical:	Phosphatase	ug./ml.	<2.0
	Milk Fat	%	0.9
	Moisture	%	3.6
	Titratable Acidity	%	0.13
	Insolubility Index	ml.	<0.1
	Scorched Particles	/32.5 g.	DiscA
	Protein	%MSNF	36.3
	UDWPNI	mg./g.	2.4
	Nitrates	mg./kg.	<4
	Nitrites	mg./kg.	<2
	Antibiotics	ug./ml.	Negative
Microorganism:	T.P.C	cfu/g.	16
	Bacillus Cereus	cfu/g.	<10
	Thermophilic Spores	cfu/g.	10
	Mesophilic Spores	cfu/g.	<10
	Yeast and Mould	cfu/g.	<10
	Coagulative Positive *Staphylococci*	/0.1 g.	Absent
	Clostridium Perfringens	/g.	Absent
	Salmonella	/3.75 g.	Absent
	E.coli	/0.1 g.	Absent
	Coliforms	/0.1 g.	Absent

ภาคผนวก จ

มาตรฐานเชื้อจุลินทรีย์ Lyofast BGP 93

และข้อมูลการใช้ Lyofast BGP 93 (COA)

Lyofast BGP 93

Description: Lyofast BGP 93 consis of a single stain of Lactobacillus casei. Lyofast BGP 93 non-starter culter in cheese, in meat product, and in feed. Furthermore, Lyofast BGP 93 might also be used for pharmaceutical purpose

Application: Sprinkle the culture powder directly into process under aseptic conditions ensuring that the culture is well dispersed by gentle stirring.

Culture information: Inoculation guideline for dairy application: sprinkle the culture powder directly into process milk under aseptic conditions ensuring that the culture is well dispersed by gentle stirring 1 dose is 1011 CFU and inoculated in 100/milk 1 dose gives approx 10^6 CFU/ml. milk 5 doses per 100 kg. meat give min. 5×10^6 CFU/g. Inoculation guideline for meat application: sprinkle the culture powder directly into the meat during Chopping together with a Lyoearni starter culture 5 doses BGP 93 per 100 kg. meat gives approx 5×10^6 CFU/g.

Optimal temperature for growth	34-40 °C	Acid tolerance	+++
Bile tolerance	+++	Adherence test	++
Gas production/citrate/urea	+		

Storage: Unopened pouches should be kept at or below-18 °C

Package data: The freeze-dried culture is packed in waterproof and airproof aluminium pouches. Lyofast BGP 93 is available in 1,5,10 and 50 UC

Shelf life: 18 months when stored at or below-18 °C. The shelf life includes up to 14 days of shipment at temperatures below 30 °C

Heavy metal: Pb (lead) <1 ppm

Specification: Hg (mercury) <0.03 ppm

Cd (cadmium) <0.1 ppm

Microbiological: Bacillus cereus <100 CFU/g.

Method: Sacco M10 (1) Coagulase positive staphylococci* <10 CFU/g.

Method: Sacco M11 (2) Enterobacteriaceae <10 CFU/g.

Method: Sacco M2 (3) Escherichia coli <1 CFU/g.

Method: Sacco M27 (4) Listeria monocytogenes* Not detected in 25 g.

Method: Sacco M13 (5) Mould & yeasts <10 CFU/g.

Method: Sacco M3 (6) Salmonella spp* Not detected in 25 g.

Method: Sacco M12 (7) *Analysed on regular basis. All analytical method are available upon request. (1) ISO 7932; (2) ISO 6888-1-2; (3) ISO 215281-2; (4) ISO11866-1-2/IDF170-1-2; (5) ISO 11290-1-2; (6) ISO 6611/IDF 94; (7) ISO 6785/IDF 93.

GMO: The microbial strains are not genetically modified (GMO) in accordance with the European Directive 90/220/EEC. The strains are isolated from natural sources. The raw materials used are also GMO free in accordance with Regulation (EC) No.1829/2003 and Regulation (EC) 1830/2003. Statement available upon request.

Allergens: The raw materials used are generally based on dairy ingredients .All material are free of the following components and their derivates: peanut, tree nut, sesame, egg. Fish, shellfish, mollusc. Crustacean, sulphite, wheat, celery, mustard, soy and lupine. Statement available upon request.

Safety: Material Safety Date Sheet information available on www.saccosrl.it

Certificate: Lot certificate available upon request

ISO Kosher approval: Sacco S.r.l. is UNI EN ISO 9001: 2000 certified since 1998. Sacco cultures are generally Kosher approved except for surface ripening cultures.

Service: Please contact your distributor for guidance and instructions for your choice of culture and processing. Information about additional package size and sales units is also available upon request.

Liability: This information is based on our knowledge trustworthy and presented. in good faith. No guarantee against patent infringement is implied or inferred.

ข้อมูลการทดลอง Lyofast BGP 93 (COA)

Standard for use culture : BGP 93 = 1 dose per raw milk 100 liters

จากข้อมูลที่แจ้ง net weight of BGP 93 ที่เหลืออยู่ขณะนี้ คือ 4.41 g

ขอแนะนำว่า ให้ชั่ง BGP 93 (net weight) จำนวน 0.46 g คิดเป็น 1 dose (1 g = 10^6 CFU per cm^3) นำมาละลายในนม 1 liter

จากนั้นปิเปตสารละลายออกมา 2 ปริมาณ คือ 500 มิลลิลิตร or 1000 มิลลิลิตร ดังนี้

- ปิเปตสารละลายออกมา 10 มิลลิลิตร / นมทดลอง 500 มิลลิลิตร
- ปิเปตสารละลายออกมา 20 มิลลิลิตร / นมทดลอง 1000 มิลลิลิตร

Original Casei Process (Long time)

Raw milk 12-15% NFS

↓

Heat 90-95 °C 1.30 hrs.

↓

Cooling 37 °C

↓

Inoculate 5% bulk Starer

↓

Ferment 3-5 days, 37 °C pH 3.5-3.8

ภาคผนวก ฉ
ผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวโพรไบโอติก

ภาพที่ 2 นมเปรี้ยวโพรไบโอติก

ภาคผนวก ช
เกณฑ์คุณภาพในกระบวนการผลิตและผลิตภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์

ตารางที่ 3 เกณฑ์คุณภาพในกระบวนการผลิตและผลิตภัณฑ์ด้านจุลินทรีย์

ชนิดตัวอย่าง	Streak plate	TPC (CFU/ML)	Coliform (CFU/ML)	*E.coli* by biochem	*B. cereus*	Yeast and Mold	Pathogenic bacteria
1.น้ำนมดิบก่อนเข้า thermization		≤ 600,000	≤ 10,000	ไม่พบ			
2. น้ำนมดิบหลังเข้า thermization		≤ 50,000	≤ 100	ไม่พบ			
3. น้ำนมดิบใน Silo tank		≤ 50,000	≤ 100	ไม่พบ			
4. ผลิตภัณฑ์นมพาส-เจอร์ไรส์							
- นมสด , นมปรุงแต่ง		≤ 10,000	≤ 100	ไม่พบ	≤ 100		ไม่พบ
- นมเปรี้ยว		≤ 3,000	3 MPN /100 ml	ไม่พบ		≤ 10	ไม่พบ
5. ผลิตภัณฑ์นม U.H.T.							
- นมสด , นมปรุงแต่ง	ไม่พบ						ไม่พบ
- นมเปรี้ยว						ไม่พบ	ไม่พบ