โครงการ
การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ การพัฒนาโยเกิร์ตจากถั่วลูกไก่

ชื่อนิสิต

นางสาวภัทร์ธีนันท์	สุวิสุทธิเกษม	6032550823
นางสาวจิรวรรณ	ผ่องจำปา	6032509123
นางสาวสิรีมาส	อาจหาญ	6032574923

ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร

ปีการศึกษา 2563

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การพัฒนาโยเกิร์ตจากถั่วลูกไก่

โดย

นางสาวภัทร์ธีนันท์ สุวิสุทธิเกษม

นางสาวจิรวรรณ ผ่องจำปา

นางสาวสิรีมาส อาจหาญ

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กิติพงศ์ อัศตรกุล

รองศาสตราจารย์ ดร.สุเมธ ตันตระเธียร

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประจำปีการศึกษา 2563

DEVELOPMENT OF YOGURT FROM CHICKPEA

Patteenan Suvisutikasem
Chirawan Phongchampa
Sireemas Arthan

Project Advisor

Assistant Professor Kitipong Assatarakul, Ph.D.
Associate Professor Sumate Tantratian, Ph.D.

A Report Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Bachelor of Science Program in Food Technology
Department of Food Technology
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2020

หัวข้องานวิจัย	การพัฒนาโยเกิร์ตจากถั่วลูกไก่
โดย	นางสาวภัทร์ธีนันท์ สุวิสุทธิเกษม
	นางสาวจิรวรรณ ผ่องจำปา
	นางสาวสิรีมาส อาจหาญ
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กิติพงศ์ อัศตรกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร.สุเมธ ตันตระเธียร
ปีการศึกษา	2563

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
อนุมัติให้รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์
ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
ประจำปีการศึกษา 2563

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.ขนิษฐา ธนานุวงศ์)
หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

.....

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กิติพงศ์ อัศตรกุล)
อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ

หัวข้องานวิจัย	การพัฒนาโยเกิร์ตจากถั่วลูกไก่
โดย	นางสาวภัทร์ธีนันท์ สุวิสุทธิเกษม
	นางสาวจิรวรรณ ผ่องจำปา
	นางสาวสิรีมาส อาจหาญ
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กิติพงศ์ อัศตรกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร.สุเมธ ตันตระเธียร
ปีการศึกษา	2563

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการทดแทนนมวัวด้วยนมถั่วลูกไก่ในโยเกิร์ต ผลการแปรปริมาณโปรตีนถั่วเหลือง (5, 6 และ 7% w/v) ต่อสมบัติทางเคมีและทางกายภาพของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ และผลของการเก็บรักษาโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลืองต่อสมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยาเปรียบเทียบกับโยเกิร์ตนมวัว ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน โดยวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา ดังนี้ ค่าสี (L*, a* และ b*) ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณกรดทั้งหมด ความหนืด ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และวิธี FRAP ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ปริมาณยีสต์และรา ปริมาณโคลิฟอร์มและ *E. coli* จากการทดลองในการหาสูตรของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่มีการแปรปริมาณโปรตีนถั่วเหลือง พบว่าโยเกิร์ตที่มีการแปรปริมาณโปรตีนถั่วเหลือง 5% w/v และ 6% w/v มีค่าความเป็นกรด-ด่างไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) และการแปรปริมาณโปรตีนถั่วเหลืองทั้ง 3 ระดับไม่ส่งผลต่อปริมาณกรดทั้งหมดและค่าความหนืดอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) จากนั้นเลือกโยเกิร์ตที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v ไปใช้ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่เปรียบเทียบกับโยเกิร์ตนมวัวในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพพบว่าค่า L* a* และ b* ของทุกตัวอย่างมีค่าลดลงตลอดการเก็บรักษา เช่นเดียวกับค่าความหนืด และการศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีพบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัวมีค่าลดลงเล็กน้อย และปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัวมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) ทั้งนี้สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v มีปริมาณสูงกว่าในโยเกิร์ตนมวัวในระยะเวลาการเก็บ 14 วันแรกอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v มีค่าสูงกว่าในโยเกิร์ตนมวัว อีกทั้งฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

ด้วยวิธี FRAP แสดงให้เห็นว่าโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าโยเกิร์ตนมวัวในวันแรกหลังจากการผลิต โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัวมีแนวโน้มลดลงตลอดระยะการเก็บรักษา นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในโยเกิร์ตนมวัวมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ตลอดระยะการเก็บรักษา ในขณะที่ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v ลดลงตั้งแต่วันที่ 1 จนถึงวันที่ 7 และเพิ่มขึ้นในวันที่ 14 จากนั้นลดลงอีกครั้งในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา ไม่พบการเจริญของยีสต์และราในทุกตัวอย่าง และปริมาณโคลิฟอร์มมีค่าน้อยกว่า 1 MPN/mL และไม่พบ *E. coli* ในทุกตัวอย่างตลอดการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน

Project Title	Development of yogurt from chickpea
Student	Patteenan Suvisutikasem
	Chirawan Phongchampa
	Sireemas Arthan
Study Program	Bachelor of Science in Food Technology
Advisor	Assistant Professor Kitipong Assatarakul, Ph.D.
Co-advisor	Associate Professor Sumate Tantratian, Ph.D.
Academic Year	2020

ABSTRACT

This study aimed to study the replacement of cow milk with chickpea in yogurt, the effect of soy protein isolate at different concentrations (5, 6 and 7% w/v) on the physical and chemical properties of chickpea yogurt, and the changes in quality of chickpea yogurt supplemented with soy protein isolate compared with cow milk yogurt during the storage at 4 °C (21 days). Physical, chemical and microbiological properties of yogurt including color (L*, a* and b*), pH, titratable acidity, viscosity, total phenolic content, antioxidant activity (DPPH and FRAP assays), total plate count, yeast and mold, coliform and *E. coli* count during storage were evaluated. The results showed that the pH of chickpea yogurt supplemented with 5% w/v and 6% w/v soy protein was not significantly different ($p>0.05$). Different concentrations of soy protein in chickpea yogurt did not significantly affect titratable acidity and viscosity ($p>0.05$). As the result, chickpea yogurt supplemented with 6% w/v soy protein was selected to be investigated the quality changes compared with cow milk yogurt during storage at 4 °C. It was found that L*, a*, b* and viscosity of all samples decreased during storage and pH of chickpea yogurt and cow milk yogurt slightly decreased while titratable acidity of both samples significantly increased ($p\leq 0.05$). However, chickpea yogurt had higher total phenolic content in the first 14 days of storage than cow milk yogurt. It revealed that chickpea yogurt had higher level of antioxidant activity by DPPH assay compared to cow milk yogurt and antioxidant activity by FRAP assay of chickpea yogurt was also higher in the first day of storage. Both total phenolic content and antioxidant activity tendencies of chickpea yogurt supplemented with

soy protein declined throughout the overall storage period. In addition, total plate count of cow milk yogurt tended to decrease during storage, while there was fluctuation of total plate count in chickpea yogurt which decreased in the first 7 days, then increased and decreased again in the last 7 days of storage. Yeast and mold growth was not detected in all samples during storage whereas coliform count was lower than 1 MPN/mL and *E. coli* was not detected throughout 21 days of storage at 4 ℃.

กิตติกรรมประกาศ

โครงการนี้เป็นส่วนหนึ่งของการเรียนการสอนตามหลักสูตรในระดับปริญญาตรีของภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยได้รับเงินอุดหนุนจากงบประมาณของโครงการเรียนการสอนเพื่อส่งเสริมประสบการณ์ ปีการศึกษา 2563 โดยมีผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กิติพงศ์ อัศตรกุล และรองศาสตราจารย์ ดร.สุเมธ ตันตระเธียร เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ

คณะผู้วิจัยสามารถดำเนินโครงการการเรียนการสอนเพื่อส่งเสริมประสบการณ์นี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีต้องขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.กิติพงศ์ อัศตรกุล และรองศาสตราจารย์ ดร.สุเมธ ตันตระ-เธียร เป็นอย่างสูงที่กรุณาสละเวลาให้คำปรึกษา คำแนะนำ ข้อคิด และคำติชมต่าง ๆ ในระหว่างการดำเนินการวิจัย รวมทั้งการแก้ไขตรวจทานรายงานวิจัยเล่มนี้ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบพระคุณคณาจารย์ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารทุกท่านที่ให้คำปรึกษา แนะนำในทุกๆด้านที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัย ตลอดจนผู้ทรงคุณวุฒิ เจ้าของตำราทุกเล่มที่ผู้ทำการวิจัยนำมาอ้างอิงประกอบในงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหารที่ให้คำปรึกษา คำแนะนำและช่วยอำนวยความสะดวกด้านสถานที่ วัสดุ อุปกรณ์ และสารเคมีตลอดระยะเวลาที่ดำเนินการวิจัย

ผู้ดำเนินงานวิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่า งานวิจัยฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ เป็นข้อมูลพื้นฐานต่อการศึกษาและพัฒนาในงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ และงานวิจัยอื่น ๆ ที่เกี่ยวข้องต่อไป

ด้วยความเคารพอย่างสูง

นางสาวภัทร์ธีนันท์ สุวิสุทธิเกษม
นางสาวจิรวรรณ ผ่องจำปา
นางสาวสิรีมาส อาจหาญ

สารบัญ

	หน้า
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์งานวิจัย	2
1.3 ขอบเขต/แนวคิดของการวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย	2
บทที่ 2 วารสารปริทัศน์	
2.1 ถั่วลูกไก่	3
2.1.1 ข้อมูลทั่วไปและความเป็นมา	3
2.1.2 ชนิดของถั่วลูกไก่	4
2.1.3 คุณค่าทางโภชนาการของถั่วลูกไก่	6
2.1.4 ประโยชน์ต่อสุขภาพ	7
2.2 โยเกิร์ต	9
2.2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับโยเกิร์ต	9
2.2.2 ชนิดของโยเกิร์ต	10
2.2.3 โยเกิร์ตจากพืช	12
2.2.4 กรรมวิธีการผลิตโยเกิร์ต	12
2.1.4.1 การตรวจสอบคุณภาพนมดิบ	12
2.1.4.2 การปรับมาตรฐานน้ำนมโดยปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ไม่รวมไขมัน	13
2.1.4.3 การทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน	14
2.1.4.4 กระบวนการพาสเจอไรซ์	14
2.1.4.5 กระบวนการหมัก	15
2.1.4.6 การรักษาอุณหภูมิและการทำให้เย็น	16

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
2.2.5 ประโยชน์ของโยเกิร์ต	16
2.2.6 จุลินทรีย์ในโยเกิร์ต	17
2.2.6.1 แลคติกแอสิดแบคทีเรีย	17
2.2.6.2 โพรไบโอติก	19
2.3 โปรตีนถั่วเหลือง	21
2.3.1 ข้อมูลทั่วไปของถั่วเหลือง	21
2.3.2 องค์ประกอบของโปรตีนถั่วเหลือง	21
2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	22
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	
สารเคมี	25
วัสดุอุปกรณ์	25
อาหารเลี้ยงเชื้อ	26
การเตรียมตัวอย่างนมถั่วลูกไก่	26
การแปรปริมาณโปรตีนถั่วเหลือง	26
การเตรียมตัวอย่างโยเกิร์ตถั่วลูกไก่	26
การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมีของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่แปรปริมาณโปรตีนถั่วเหลือง	26
การศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยาของโยเกิร์ต ถั่วลูกไก่ที่เลือกเปรียบเทียบกับโยเกิร์ตนมวัวในระหว่างการเก็บรักษา	27
การประเมินผลทางสถิติ	27
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	
4.1 การศึกษาผลการแปรปริมาณโปรตีนถั่วเหลืองต่อสมบัติทางกายภาพและเคมีของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่	28
4.2 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพในโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v เปรียบเทียบกับโยเกิร์ตนมวัวในระหว่างการเก็บรักษา	29
4.3 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีในโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v เปรียบเทียบกับโยเกิร์ตนมวัวในระหว่างการเก็บรักษา	32

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
4.4 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v เปรียบเทียบกับโยเกิร์ตนมวัวในระหว่างการเก็บรักษา	35
4.5 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางจุลชีววิทยาในโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v เปรียบเทียบกับโยเกิร์ตนมวัวในระหว่างการเก็บรักษา	39
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	42
เอกสารอ้างอิง	43
ภาคผนวก ก	49
ภาคผนวก ข	50
ภาคผนวก ค	56
ประวัติผู้วิจัย	61

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	องค์ประกอบทางเคมีของถั่วลูกไก่ชนิด Kabuli และ Desi (% dry matter basis)	5
2	ลักษณะของถั่วลูกไก่ชนิด Kabuli และ Desi	5
3	คุณภาพน้ำนมดิบตามมาตรฐาน มกอช.	13
4	สารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผลิตจากแลคติกแอสิดแบคทีเรีย	18
5	จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นแบคทีเรียโพรไบโอติก	20
6	องค์ประกอบและปริมาณของ isolate soy protein	22
7	ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ปริมาณกรดทั้งหมด (TA) และอัตราการไหลของโยเกิร์ตที่เติมโปรตีนถั่วเหลืองในระดับต่างๆ	29
8	ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัวในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน	33
9	ปริมาณโคลิฟอร์มและ *E. coli* ของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัวในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน	41
10	3 tubes each at 0.1, 0.01, and 0.001 g inocula, the MPNs per gram and 95 percent confidence intervals.	60

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	เมล็ดถั่วลูกไก่	4
2	ถั่วลูกไก่ชนิด Kabuli และ Desi	6
3	ลักษณะของโยเกิร์ตชนิดคงตัว	11
4	ลักษณะของโยเกิร์ตและโยเกิร์ตปรุงแต่งชนิดกวน	12
5	ค่าอัตราการไหลของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัวในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน	30
6	ค่า L* ของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัว ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน	31
7	ค่า a* ของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัว ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน	31
8	ค่า b* ของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัว ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน	32
9	ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัว ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน	34
10	ปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัวในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน	34
11	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัว ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน	36
12	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัว ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน	38
13	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัว ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน	38
14	ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัว ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน	40
15	ปริมาณยีสต์และราของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัว ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน	40

สารบัญภาพ(ต่อ)

ภาพที่		หน้า
16	กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity	51
17	กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP)	53
18	กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน gallic acid	55

บทที่ 1
บทนำ

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

จากกระแสความนิยมอาหารเพื่อสุขภาพในปัจจุบันที่กำลังเพิ่มมากขึ้น ประเทศไทยได้มีการตอบรับต่อกระแสความนิยมนี้โดยมีการพัฒนารูปแบบผลิตภัณฑ์และรสชาติให้เป็นอาหารเพื่อสุขภาพมากขึ้น ผู้บริโภคต้องการอาหารเพื่อสุขภาพเพื่อเป็นทางเลือกหนึ่งในการดูแลสุขภาพและป้องกันโรค แต่อาหารเพื่อสุขภาพในปัจจุบันส่วนใหญ่มีราคาแพง ไม่รองรับพฤติกรรมการบริโภคของคนทุกกลุ่ม นอกจากนี้ยังมีปัญหาการขาดแคลนอาหารที่คาดการณ์ว่าจะเกิดขึ้นในอนาคต จากการศึกษาเกี่ยวกับถั่วลูกไก่พบว่าถั่วลูกไก่เป็นแหล่งโปรตีนและสารอาหารที่มีประโยชน์ต่าง ๆ มากมาย อาทิ เส้นใยอาหาร ไอโซฟลาโวน โฟเลท และสารอื่น ๆ อีกมากมายซึ่งมีส่วนช่วยในการทำงานของอวัยวะต่าง ๆ ในร่างกาย อีกทั้งยังมีผลในการป้องกันโรค ในราคาที่ไม่แพงและหาซื้อได้ง่าย ซึ่งในปัจจุบันผู้บริโภคถั่วลูกไก่มักรับประทานในรูปแบบการนำถั่วลูกไก่ไปเป็นวัตถุดิบส่วนผลิตภัณฑ์จากถั่วลูกไก่แปรรูปพบได้น้อย โยเกิร์ตซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์นมหมักที่รับประทานง่าย มีประโยชน์ในการช่วยย่อยอาหาร ขับถ่าย ลดกรดในกระเพาะอาหาร ทำให้ระดับคอเลสเตอรอล (cholesterol) ในเลือดลดลง เมื่อรวมประโยชน์ของถั่วลูกไก่และโยเกิร์ตเข้าด้วยกัน ประโยชน์ของผลิตภัณฑ์ต่อสุขภาพจะยิ่งมากขึ้น ได้ผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพที่หาซื้อง่ายและราคาไม่แพง อีกทั้งยังเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญ

จากประโยชน์และคุณสมบัติของถั่วลูกไก่ข้างต้น ทางผู้จัดทำโครงการจึงมีแนวความคิดที่จะพัฒนาโยเกิร์ตจากถั่วลูกไก่ เพื่อเป็นทางหนึ่งในการเพิ่มมูลค่าถั่วลูกไก่ และเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของโยเกิร์ตทั่วไป เพื่อตอบรับกระแสนิยมอาหารเพื่อสุขภาพดังกล่าว และเป็นการตั้งรับต่อภาวะการณ์ขาดแคลนอาหารในอนาคต ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะอุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการของถั่วลูกไก่และโยเกิร์ต รับประทานง่าย ช่วยเสริมสร้างสุขภาพตามกระแสนิยม เป็นอาหารของคนยุคใหม่ที่ให้พลังงานและสารอาหารจำนวนมากในปริมาณหน่วยบริโภคที่น้อย

วัตถุประสงค์งานวิจัย

1. เพื่อศึกษาผลการทดแทนนมวัวด้วยนมถั่วลูกไก่ในการผลิตโยเกิร์ตถั่วลูกไก่
2. เพื่อศึกษาผลการแปรปริมาณโปรตีนถั่วเหลืองต่อสมบัติทางกายภาพ และเคมี ของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่
3. เพื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา ของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง เปรียบเทียบกับโยเกิร์ตนมวัว ในระหว่างการเก็บที่ 1, 7, 14 และ 21 วัน ที่อุณหภูมิ 4 ℃

ขอบเขต/แนวคิดของการวิจัย

1. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพ และเคมี ของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตถั่วลูกไก่โดยแปรปริมาณโปรตีนถั่วเหลือง 4 ระดับ ได้แก่ 0% w/v, 5% w/v, 6% w/v และ 7% w/v
2. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยา ของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง เปรียบเทียบกับโยเกิร์ตนมวัวในระหว่างการเก็บที่ 1, 7, 14 และ 21 วัน ที่อุณหภูมิ 4 ℃

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย

1. ได้ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตจากถั่วลูกไก่ที่มีคุณภาพ
2. เพิ่มทางเลือกในการบริโภคให้กลุ่มผู้ไม่บริโภคเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากสัตว์ ได้ผลิตภัณฑ์สำหรับผู้ที่แพ้โปรตีนเคซีนและน้ำตาลแลคโตสในน้ำนมวัว
3. พัฒนาทักษะและกระบวนการคิดวิเคราะห์ทางวิทยาศาสตร์ รวมถึงการวางแผนการทำงานอย่างเป็นระบบทำให้การทำงานเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ

บทที่ 2
วารสารปริทัศน์

2.1 ถั่วลูกไก่

2.1.1 ข้อมูลทั่วไปและความเป็นมา

ถั่วลูกไก่ (*Cicer arietinum* L.) เป็นพืชตระกูลถั่วสำคัญที่ปลูกเพื่อเก็บเกี่ยวเมล็ดในแถบลุ่มน้ำเมดิเตอเรเนียน เอเชีย และออสเตรเลีย ถั่วลูกไก่มีการผลิตเป็นอันดับที่ 3 ของโลกในประเภทถั่วที่เมล็ดไม่มีน้ำมัน (อาคม กาญจนประโชติ และคณะ, 2547) พืชชนิดนี้เป็นพืชหน้าหนาว โตไว มีกิ่งก้านสาขาและมีความสูงได้ถึง 20-60 cm และอาจสูงได้ถึง 1 m มีรากที่ลึกลงไปในดินถึง 2 m ใบยาว 2 cm โดยมีใบ 10-20 ใบติดกับฐาน ดอกมีสีขาว ชมพูถึงม่วง หรือฟ้า ฝักในวัยเจริญพันธุ์จะพองและเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้า มีเมล็ด 2-3 เมล็ดซึ่งมีหลากหลายขนาดตั้งแต่เส้นผ่านศูนย์กลาง 5-10 mm (Heuzé และคณะ, 2015) ถั่วลูกไก่เป็นแหล่งของคาร์โบไฮเดรตและโปรตีน โดยโปรตีนในถั่วลูกไก่เป็นโปรตีนที่ดีกว่าเมล็ดพืชผลอื่น ๆ อีกทั้งยังเป็นแหล่งสำคัญของกรดอะมิโนจำเป็นหลายชนิด และมีกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่มีความสำคัญในด้านโภชนาการ รวมทั้งวิตามินและเกลือแร่ชนิดต่าง ๆ ถั่วลูกไก่จึงมีประโยชน์ในด้านสุขภาพ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อรับประทานร่วมกับเมล็ดพืชและธัญพืชอื่น ๆ (Jukanti และคณะ, 2012)

จีนัส *Cicer* มีทั้งหมด 44 สปีชีส์ โดย 43 สปีชีส์ขึ้นตามธรรมชาติ และอีกหนึ่งสปีชีส์เป็นพืชปลูก (Mohar, 2020) สปีชีส์ในธรรมชาติที่ใกล้เคียงที่สุด ได้แก่ *C. bijugum, C. echinospermum* และ *C. reticulatum* ซึ่งเป็นที่สนใจของนักวิทยาศาสตร์ในช่วงแรก เพราะขนาดเมล็ดของ *C. bijugum* และ *C. reticulatum* นั้นค่อนข้างพอเหมาะ และเมล็ดไม่แตกละเอียดทันทีในช่วงการสุก ไม่เหมือนกับสปีชีส์อื่น ๆ

ถั่วลูกไก่คือหนึ่งในพืชตระกูลถั่วชนิดแรก ๆ ที่พบใน ยุโรป เอเชียและแอฟริกา มีความเป็นไปได้สูงที่จะมีแหล่งกำเนิดบริเวณที่ปัจจุบันอยู่ในประเทศตุรกีทางตะวันออกเฉียงใต้ที่มีเขตแดนติดกับประเทศซีเรีย ในปีค.ศ. 1883 De Candolle ได้ติดตามหาต้นกำเนิดของถั่วลูกไก่ไปยังบริเวณทางใต้ของเทือกเขาคอเคซัสและทางเหนือของประเทศเปอร์เซีย ในปีค.ศ. 1926 และ 1949-1950 Vavilov ได้ระบุศูนย์กลางแหล่งกำเนิด 2 แห่งแรก ได้แก่ เอเชียตะวันตกเฉียงใต้กับแถบเมดิเตอเรเนียน และแหล่งที่สองคือประเทศเอธิโอเปีย ซึ่งสังเกตเห็นว่าพันธุ์ที่เมล็ดใหญ่จะขึ้นหนาแน่นรอบ ๆ ลุ่มน้ำเมดิเตอเรเนียน เช่นเดียวกันกับพืชตระกูลถั่วอื่น ๆ ในทางตรงกันข้าม พันธุ์ที่เมล็ดเล็กจะขึ้นหนาแน่นทางตะวันออก (Van Der Maesen, 1988)

รูปที่ 1 เมล็ดถั่วลูกไก่

ที่มา : https://www.myjewishlearning.com/recipe/chickpeas/

2.1.2 ชนิดของถั่วลูกไก่

ถั่วลูกไก่ที่มีลักษณะเมล็ดใหญ่ สีครีม ถูกพบในอินเดียครั้งแรกเมื่อ 200 ปีก่อน และกระจายไปทั่วประเทศอัฟกานิสถานในชื่อภาษาฮินดีว่า Kabuli chana โดยมีการอ้างถึงชื่อเมืองหลวงของอัฟกานิสถานคือเมือง Kabul ส่วนถั่วลูกไก่ที่มีขนาดเล็กสีดำคนพื้นเมืองจะเรียกว่า Desi การตั้งชื่อเหล่านี้ปัจจุบันค่อนข้างใช้อย่างแพร่หลายเพื่อจำแนกความแตกต่างระหว่างพืช 2 กลุ่มใหญ่นี้ (Van Der Maesen, 1988)

- Kabuli หรือ macrosperma (Purushothaman, 2014) จะมีขนาดใหญ่กว่า สีครีม มีปริมาณเส้นใยอาหารน้อยกว่า ปรุงสุกเร็วกว่า และเป็นที่ต้องการมากกว่า ดอกสีขาว เจริญในแถบเมดิ-เตอเรเนียน ใช้เป็นส่วนผสมของสลัด และบรรจุกระป๋อง ทั้งเมล็ดและฝักสามารถบริโภคสด ๆ ได้
- Desi หรือ microsperma (Purushothaman, 2014) จะมีขนาดเม็ดเล็ก สีเข้มกว่า และผิวมีลักษณะเรียบหรือเป็นรอยย่น ต้นเป็นพุ่ม ใบและดอกเล็ก ที่ลำต้นและดอกสีม่วงน้ำเงินมีเม็ดสีม่วงของ anthocyanin ส่วนใหญ่เจริญในเอเชียใต้และประเทศเอธิโอเปีย โดยทั่วไปถั่วลูกไก่ชนิด Desi จะบริโภคแบบแห้ง ทั้งเมล็ด แบบผ่า หรือป่นเป็น dhal หรือ แป้ง และในซอส เช่น hummus หรือซุป (Heuzé และคณะ, 2015)

ถั่วลูกไก่ทั้ง 2 ชนิด มีองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกันเพียงเล็กน้อย ดังแสดงในตารางที่ 1 และมีคุณลักษณะที่ต่างกันโดยเปรียบเทียบดังตารางที่ 2

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของถั่วลูกไก่ชนิด Kabuli และ Desi (% dry matter basis)

องค์ประกอบ	**Kabuli**	**Desi**	**ความแตกต่าง**
Dry matter (DM)	92.08	91.17	NS
Organic matter (OM)	97.84	97.15	NS
Crude protein (CP)	24.63	22.76	*
Crude fiber (CF)	6.49	9.94	**
Neutral detergent fiber (NDF)	16.70	20.47	**
Ether extract (EE)	7.38	7.11	NS
Total tannin	0.09	0.125	*
Total Phenolic compounds (TPC)	0.270	0.265	NS
Non fibrous carbohydrate (NFC)	49.13	46.81	*
Starch	39.12	38.48	NS
Soluble sugars	8.43	7.53	*

NS: not significant; *: $p < 0.05$; **: $p < 0.01$

ที่มา: Naser และคณะ, 2008

ตารางที่ 2 ลักษณะของถั่วลูกไก่ชนิด Kabuli และ Desi

ลักษณะ	**Desi**	**Kabuli**
พื้นที่เพาะปลูก	มากกว่า	น้อยกว่า
สีเมล็ด	เหลืองถึงน้ำตาลเข้ม	ขาวหรือครีม
ขนาดเมล็ด	เล็ก	ใหญ่ หนา
รูปร่างของเมล็ด	ไม่ปกติและยับย่น	เรียบ
โครงสร้างลำต้น	เล็ก เป็นพุ่ม	กิ่งแผ่ขยายถึงกิ่งตรง
Yield	ค่อนข้างสูงกว่า Kabuli (2.2 t/ha)	ค่อนข้างต่ำกว่า Desi (1.8 t/ha)
ค่าใช้จ่ายในการผลิตต่อหน่วย	ต่ำกว่า	สูงกว่า
ราคาหนึ่งหน่วยต่อกิโลกรัม	ต่ำกว่า	สูงกว่า

t/ha: tons per hectare

ที่มา: Cynthia และคณะ, 2015

รูปที่ 2 ถั่วลูกไก่ชนิด Kabuli (ด้านซ้าย) และ Desi (ด้านขวา)
ที่มา : https://myfavouritepastime.com/2017/08/24/chickpeas/

2.1.3 คุณค่าทางโภชนาการของถั่วลูกไก่

ถั่วลูกไก่จัดว่าเป็นถั่วชนิดหนึ่งที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ประกอบด้วยสารอาหาร ดังนี้

- **คาร์โบไฮเดรต** ในถั่วลูกไก่สามารถพบปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดประมาณ 60.7% (dry matter basis) ซึ่งมีปริมาณสูงมากเมื่อเทียบกับถั่วแขกและถั่วลันเตา
- **โปรตีน** เมล็ดถั่วลูกไก่อบแห้งมีปริมาณโปรตีนอยู่ประมาณ 17-22% และ 25.3-28.9% หลังกะเทาะเปลือก
- **ไขมัน** เมล็ดถั่วลูกไก่ดิบมีปริมาณไขมัน 2.70-6.48% สามารถแบ่งได้เป็นกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่หลายพันธะ (polyunsaturated fatty acid, PUFA) 66%, กรดไขมันชนิดชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่หนึ่งพันธะ (monounsaturated fatty Acid, MUFA) 19% และกรดไขมันชนิดชนิดอิ่มตัว (saturated fatty acid, SFA) 15% และไม่มีคอเลสเตอรอล ถั่วลูกไก่ไม่สามารถจัดอยู่ในกลุ่มเมล็ดพืชน้ำมันได้เพราะมีปริมาณไขมันค่อนข้างต่ำเพียง 3.8-10% เท่านั้น
- **วิตามิน** ถั่วลูกไก่มีวิตามินเพียงพอต่อความต้องการวิตามินของแต่ละบุคคลในแต่ละวันเมื่อบริโภคร่วมกับอาหารอื่น ๆ เป็นแหล่งสำคัญของกรดโฟลิก และ tocopherol นอกจากนี้ ในถั่วลูกไก่ยังพบว่ามี riboflavin (B_2), pantothenic acid (B_5) และ pyridoxine (B_6) ในระดับที่ใกล้เคียงหรือสูงกว่าในเมล็ดถั่วอื่น ๆ

- **เกลือแร่** มีส่วนประกอบของเกลือแร่หลายชนิด ในเมล็ดถั่วลูกไก่ดิบ 100 g พบปริมาณธาตุเหล็ก 5 mg สังกะสี 4.1 mg แมกนีเซียม 138 mg และ แคลเซียม 160 mg และมีรายงานว่ามีอลูมินัม โครเมียม นิเกิล ตะกั่วและแคดเมียม แต่มีอยู่ในปริมาณที่ไม่เสี่ยงต่อการเป็นพิษ
- **เส้นใยอาหาร** เมล็ดถั่วลูกไก่ดิบพบเส้นใยอาหารอยู่ประมาณ 18-22% โดยสามารถแบ่งเป็นเส้นใยที่ละลายน้ำได้ 4-8% และเส้นใยที่ไม่ลายน้ำ 10-18% ซึ่งเส้นใยอาหารมีประโยชน์อย่างมากในระบบการขับถ่าย (Jukanti และคณะ, 2012)
- **แคโรทีนอยด์** เป็นรงควัตถุหรือสารสี ที่เกิดจากการสังเคราะห์โดยพืช สาหร่ายและแบคทีเรียสังเคราะห์แสง ซึ่งจะให้สารสีเหลือง ส้ม และแดง แคโรทีนอยด์ที่พบได้บ่อยในอาหาร มีหลายชนิด ได้แก่ α-carotene, β-carotene, β-cryptoxanthin, lutein, zeaxanthin และ lycopene (Higdon และคณะ, 2004) แคโรทีนอยด์ถูกนำมาใช้เป็นสีผสมอาหารจากธรรมชาติในอุตสาหกรรมอาหารเพราะเป็นกลุ่มสารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพและช่วยต้านอนุมูลอิสระ (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์, 2561)
- **ไอโซฟลาโวน** คือ กลุ่มของสารประเภทฟลาโวนอยด์ (flavonoid) ซึ่งเป็นสารรงควัตถุ ไม่จัดเป็นสารอาหารเพราะไม่ให้พลังงาน และไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของร่างกาย พบตามธรรมชาติในอาหาร เช่น ถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง เช่น เต้าหู้ เต้าเจี้ยว ถั่วเน่า น้ำเต้าหู้ นอกจากนี้ยังพบในถั่วเมล็ดแห้ง (legume) ชนิดอื่น เช่น ถั่วเขียว ถั่วลันเตา (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์, 2561)
- **กรดโฟลิกหรือโฟเลทหรือวิตามินบี 9** เป็นวิตามินที่จัดอยู่ในกลุ่มของวิตามินที่ละลายในน้ำ มีหน้าที่ในการเป็นโคเอนไซม์ในปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องกับกรดนิวคลีอิกและกรดอะมิโน (สุปราณี แจ้งบำรุง และคณะ, 2546) โฟเลทในอาหารตามธรรมชาติจะถูกดูดซึมได้น้อยกว่ากรดโฟลิกที่มีการเสริมในอาหารหรือในผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร และเนื่องจากในอาหารที่บริโภคทั่วไปจะพบกรดโฟลิกในปริมาณน้อย ดังนั้นการมีพฤติกรรมบริโภคอาหารแบบไม่หลากหลายจึงมีความเสี่ยงต่อการขาดโฟเลท (นิธิยา รัตนาปนนท์, 2551)

2.1.4 ประโยชน์ต่อสุขภาพ

แม้ว่าการบริโภคพืชตระกูลถั่วจะมีมาหลายพันปี แต่กระแสความสนใจในเรื่องของผลต่อสุขภาพเพิ่งได้รับความสนใจอย่างมากในช่วงระหว่าง 20-30 ปี ที่ผ่านมา มีรายงานว่าการบริโภคถั่วลูกไก่มีประโยชน์ต่อการทำงานของอวัยวะต่าง ๆ ในร่างกายบางประการที่อาจลดความเสี่ยงของโรคเรื้อรัง ดังนั้น ถั่วลูกไก่จึงจัดเป็นอาหารฟังก์ชัน พร้อมด้วยการเป็นแหล่งให้โปรตีนและเส้นใยอาหาร อีกทั้งยังเป็นแหล่งของวิตามินเกลือแร่หลากหลายชนิด และสารประกอบที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่ราคาไม่แพง ซึ่งสามารถช่วยลดความเสี่ยง

ในการเกิดโรคเรื้อรังได้อย่างมีประสิทธิภาพ ด้วยคุณค่าทางโภชนาการเหล่านี้ของถั่วลูกไก่ การยอมรับของผู้บริโภคในการเป็นอาหารฟังก์ชันจึงเพิ่มมากขึ้น โดยรายงานที่ผ่านมาเกี่ยวกับความสำคัญในการบริโภคถั่วลูกไก่เกี่ยวกับสุขภาพมีตัวอย่างดังต่อไปนี้

โรคหัวใจและหลอดเลือด (cardiovascular disease, CVD) โรคหลอดเลือดหัวใจ (coronary heart disease, CHD) และการควบคุมคอเลสเตอรอล

โดยทั่วไปแล้วการบริโภคเส้นใยที่มีในอาหารสามารถลด serum total cholesterol และ low density lipoprotein-cholesterol (LDL-C) ได้ และมีความสัมพันธ์ที่ตรงกันข้ามกับอัตราการตายของโรคหลอดเลือดหัวใจ ถั่วลูกไก่นั้นนอกจากมีสารอาหารดังที่ได้กล่าวมาข้างต้นแล้วนั้นยังเป็นอาหารที่มี glycemic index ที่ต่ำ ซึ่งอาจช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด ถั่วลูกไก่มีปริมาณเส้นใยอาหารรวมสูงกว่าเมื่อเทียบกับข้าวสาลี และมีปริมาณไขมันที่สูงกว่าเมื่อเทียบกับเมล็ดถั่วหรือธัญพืชอื่น ๆ กรดไขมันที่มีอยู่ในถั่วลูกไก่นั้นมีประโยชน์ต่อ serum lipids, insulin sensitivity และ hemostatic factors ด้วยเหตุนี้จึงช่วยในการลดความเกิดการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจได้ การรับประทานอาหารจำพวกถั่วที่มีถั่วลูกไก่ที่มีเส้นใยอาหารสูงนั้นมีรายงานว่าสามารถลดระดับ total plasma cholesterol ในผู้ทดสอบที่อ้วนได้

โรคเบาหวานและความดันโลหิต

สตาร์ชในถั่วลูกไก่สามารถต้านทานต่อการย่อยในลำไส้ใหญ่ได้ ส่งผลให้การได้รับน้ำตาลกลูโคสของร่างกายน้อยลง และ bioavailability ที่น้อยของน้ำตาลกลูโคสส่งผลให้น้ำตาลกลูโคสที่เข้ากระแสเลือดน้อยลงไปด้วย ดังนั้นจึงสามารถลดความต้องการอินซูลินได้ และส่งผลให้ glycemic index และการตอบสนองของอินซูลินหลังอาหารลดลง การลดลงของค่า glycemic index เป็นสิ่งสำคัญที่ช่วยลดทั้งการเกิดและความรุนแรงของโรคเบาหวานประเภทที่ 2 ยิ่งไปกว่านั้นการบริโภคแป้งทนการย่อยที่เพิ่มขึ้นนั้นสัมพันธ์กับการส่งเสริมความทนทานต่อน้ำตาลและความไวของอินซูลิน และกรดลิโนเลอิกในถั่วลูกไก่มีความสำคัญทางด้านชีวภาพเนื่องจากมีส่วนเกี่ยวข้องในการผลิต prostaglandins ซึ่งเกี่ยวกับการลดความดันโลหิตและการหดตัวของกล้ามเนื้อเรียบ

โรคมะเร็ง

butyrate เป็นกรดไขมันสายสั้นที่สำคัญซึ่งได้จากการบริโภคอาหารที่มีถั่วลูกไก่ในผู้ใหญ่สุขภาพดี butyrate สามารถหยุดยั้งการเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วของเซลล์ในร่างกายได้และมีอิทธิพลต่อการตายของเซลล์ในร่างกาย ซึ่งอาจช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดมะเร็งลำไส้ได้ อีกทั้งยังสามารถยับยั้ง histone

deacetylase ซึ่งช่วยยับยั้งการอัดแน่นของ DNA และมีอิทธิพลต่อการแสดงออกของยีน มีการเสนอว่า butyrate นั้นสับเปลี่ยนเซลล์ตามกระบวนการที่ผันกลับไม่ได้ของการเจริญเติบโตซึ่งนำไปสู่การตายของเซลล์

การลดน้ำหนักและโรคอ้วน

การได้รับอาหารที่มีเส้นใยอาหารสูงนั้นสัมพันธ์กับดัชนีมวลกายที่ต่ำลง สามารถช่วยให้อิ่มเร็วขึ้นและเป็นความอิ่มที่นานขึ้นเพราะอาหารที่มีเส้นใยสูงนั้นต้องใช้เวลาในการเคี้ยวและย่อยที่นานกว่า นอกจากนี้ การบริโภคอาหารที่มี glycemic index ต่ำยังส่งผลให้เกิดการเพิ่มขึ้นของ cholecystokinin (เพปไทด์ในทางเดินอาหารและสารระงับความหิว) และเพิ่มความอิ่ม อีกทั้งยังลดระดับอินซูลินและลดน้ำหนักได้มากขึ้นเมื่อเทียบกับอาหารที่มี glycemic index สูงกว่า เนื่องจากถั่วลูกไก่จัดเป็นอาหารที่มี glycemic index ต่ำ ดังนั้นจึงอาจช่วยในการลดน้ำหนักและลดความอ้วนได้ (Jukanti และคณะ, 2012)

2.2 โยเกิร์ต

2.2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับโยเกิร์ต

โยเกิร์ตหรือนมเปรี้ยวเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการนำหัวเชื้อจุลินทรีย์ไปหมักในน้ำนม โดยโยเกิร์ตมีต้นกำเนิดขึ้นตั้งแต่ยุคเมโสโปเตเมียเมื่อ 5,000 ปีก่อนคริสตกาล โยเกิร์ตเป็นส่วนผสมหลักในอาหารของชาวกรีกโบราณ รับประทานกับน้ำผึ้งที่ลักษณะและเนื้อสัมผัสคล้ายกับกรีกโยเกิร์ตในปัจจุบัน (Kitchenpedia, 2561) คำว่า yog ในภาษาทราเซียน แปลว่า หนาหรือข้น ส่วน urt แปลว่า น้ำนม จึงรวมเป็นคำว่า “yogurt” โดยชาวทราเซียนมีวิธีการเก็บรักษาน้ำนมไว้ในถุงที่ทำจากหนังแกะและคาดไว้ที่เอว ความอบอุ่นจากร่างกายร่วมกับจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในหนังแกะทำให้เกิดปฏิกิริยาการหมักขึ้น น้ำนมที่อยู่ภายในถุงกลายสภาพเป็นโยเกิร์ต แล้วเกิดความนิยมแพร่หลายในยุโรปตะวันตก ยุโรปตะวันออก และยุโรปกลาง (ศิริบุญ พูลสวัสดิ์, 2552) โยเกิร์ตโดยทั่วไปจะใช้น้ำนมวัวเป็นวัตถุดิบ หรือน้ำนมจากสัตว์ชนิดอื่น เช่น น้ำนมแพะ หรือผลิตภัณฑ์จากพืช เช่น น้ำนมถั่วเหลือง (สุนัดดา โยมญาติ, 2557) ซึ่งจะหมักน้ำนมด้วยจุลินทรีย์กลุ่มที่ผลิตกรดแลคติก (lactic acid bacteria) ได้แก่ *Lactobacillus bulgaricus และ Streptococcus thermophilus* โดยเชื้อดังกล่าวมีความสามารถในการหมักน้ำตาลแลคโตสที่อยู่ในน้ำนมและเปลี่ยนให้เป็นกรดแลคติก เมื่อมีกรดแลคติกเพิ่มมากขึ้น ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง มีความเป็นกรดมากขึ้นส่งผลให้โยเกิร์ตมีรสเปรี้ยว และค่าความเป็นกรด-ด่างที่ลดลงส่งผลให้โปรตีนที่อยู่ในน้ำนมเสียสภาพ (denature) และมีสภาพการตกตะกอนเป็นเคิร์ด (curd) ทำให้เกิดน้ำนมที่มีลักษณะข้น โยเกิร์ตจึงเหมาะกับผู้ที่มีปัญหาการแพ้น้ำตาลแลคโตส (lactose intolerance) ในน้ำนม เนื่องจากร่างกายไม่สามารถย่อยน้ำตาลแลคโตส ซึ่งเกิดจากภาวะการขาดเอนไซม์แลคเตส ให้สามารถบริโภคโยเกิร์ตได้โดยไม่เกิดปัญหาท้องร่วงหรือเกิดแก๊สขึ้น ทั้งยังช่วยให้ลำไส้เคลื่อนตัวช้าลง ทำให้ดูดซึมธาตุอาหารได้มากยิ่งขึ้น (อำพรรณ ชัยกุลเสรีวัฒน์, 2555)

2.2.2 ชนิดของโยเกิร์ต

ในปัจจุบันโยเกิร์ตมีหลายชนิด โดยการแบ่งชนิดของโยเกิร์ตอาศัยหลักการต่อไปนี้

1. มาตรฐานกฎหมาย (legal standards)

มาตรฐานกฎหมายโยเกิร์ตขึ้นกับองค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์ เช่น ปริมาณไขมัน ปริมาณของแข็งที่ไม่ใช่ไขมัน (solid-not–fat หรือ SNF) หรือปริมาตรของแข็งทั้งหมด ตามมาตรฐานของ FAO/WHO กำหนดให้แบ่งชนิดของโยเกิร์ตตามปริมาณของไขมันดังนี้

- full fat มีปริมาณไขมันสูงกว่า 3.0 %
- medium fat มีปริมาณไขมันประมาณ 3.0-0.5%
- low fat มีปริมาณไขมันต่ำกว่า 0.5%

2. กลิ่นรส (flavor)

ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก.) ให้นิยามโยเกิร์ตที่ผ่านการปรุงแต่งกลิ่น รส สี หรือเติมผลไม้ว่า โยเกิร์ตปรุงแต่ง (flavored yogurt) (สุนัดดา โยมญาติ, 2557) การเติมกลิ่นรสลงในโยเกิร์ตทำให้เกิดลักษณะผลิตภัณฑ์ที่แตกต่างกัน ซึ่งแบ่งได้ 3 ประเภท คือ

- natural/plain yogurt เป็นวิธีดั้งเดิม มีรสชาติ เปรี้ยว แหลม
- fruit yogurt ได้จากการเติมผลไม้ และสารให้ความหวานใน natural yogurt
- flavor yogurt ได้จากการเติมกลิ่นรส และสีแทนส่วนผลไม้

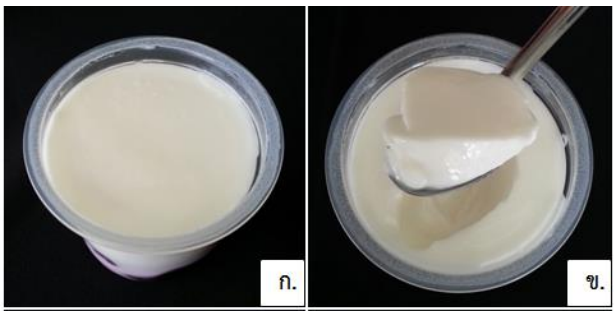
3. กระบวนการหลังการหมัก (post–incubation processing)

ภายหลังการหมัก โยเกิร์ตที่ได้อาจนำไปผ่านกระบวนการต่าง ๆ เช่น การให้ความร้อน การแช่แข็ง การทำให้เข้มข้น การทำแห้งหรือวิธีอื่น ๆ

4. กรรมวิธีการผลิต (methods of production)

กรรมวิธีการผลิตโยเกิร์ตในอุตสาหกรรมมี 2 ลักษณะใหญ่ ๆ แบ่งตามลักษณะเนื้อสัมผัส คือ โยเกิร์ตชนิดคงตัว และโยเกิร์ตชนิดกวน ขึ้นกับระบบการผลิตและโครงสร้างทางกายภาพของมวลที่ตกตะกอน (coagulum) (สุรัตน์ วังพิกุล และคณะ, 2558)

โยเกิร์ตชนิดคงตัว (set yogurt) เป็นโยเกิร์ตชนิดที่เกิดกระบวนการหมักในบรรจุภัณฑ์ ผลิตโดยเติมหัวเชื้อลงในน้ำนมที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว อาจมีการแต่งกลิ่น รสและสีลงในน้ำนมหรือมีการเติมผลไม้ที่ผ่านการปรุงลงที่ด้านล่างของบรรจุภัณฑ์แล้วบรรจุน้ำนมลงไป นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 40-45 °C จะเกิดการหมักภายในภาชนะที่บรรจุ ได้โยเกิร์ตที่มีลักษณะจับตัวเป็นก้อนกึ่งแข็งกึ่งเหลวและผิวหน้าเรียบ ดังรูปที่ 3



รูปที่ 3 ลักษณะของโยเกิร์ตชนิดคงตัว (ก. ผิวหน้าเรียบ, ข. เนื้อโยเกิร์ตจับตัวเป็นก้อน)
ที่มา : http://biology.ipst.ac.th/wp-content/uploads/sites/16/2014/07/57-3-3.jpg

โยเกิร์ตชนิดคงตัว (set yogurt) เช่น โยเกิร์ตกรีก โยเกิร์ตบัลแกเรีย ซึ่งเกิดจากกระบวนการผลิตที่ต่างกันดังนี้

- โยเกิร์ตกรีก เกิดจากการกรองและคั้นหางโยเกิร์ต น้ำ รวมถึงน้ำตาลแลคโตสออก หรือการใส่สารเพิ่มความข้น เช่น เพ็กติน ทำให้เนื้อโยเกิร์ตมีความเข้มข้นมาก และแข็งตัวเป็นก้อน ซึ่งมีปริมาณโปรตีนและโพรไบโอติกสูงกว่าโยเกิร์ตธรรมดา แต่มีปริมาณแคลเซียมและคาร์โบไฮเดรตต่ำ และมีปริมาณไขมันมากกว่าโยเกิร์ตธรรมดา 3 เท่า (ปรางวลัย พูลทวี, 2561)

- โยเกิร์ตบัลแกเรีย มีรสชาติที่เป็นเอกลักษณ์ โดยมักทำจากน้ำนมแกะ และเกิดจากการบ่มหมักที่ไม่ผ่านการกวน (สลิลา มหันต์เชิดชูวงศ์, 2561)

โยเกิร์ตชนิดกวน (stirred yogurt) เป็นโยเกิร์ตชนิดที่เกิดกระบวนการหมักในถังหมัก ผลิตโดยเติมหัวเชื้อลงในน้ำนมที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว หมักในถังหมักจนได้เป็นโยเกิร์ต ทำให้เย็นเพื่อหยุดกระบวนการหมัก มีการคนหรือกวนเพื่อให้เนื้อโยเกิร์ตเข้ากัน อาจมีการแต่งกลิ่น รสและสีหรือเติมผลไม้ได้เป็นโยเกิร์ตรสชาติต่าง ๆ ก่อนที่จะเทโยเกิร์ตลงในบรรจุภัณฑ์ โยเกิร์ตที่ได้จะมีผิวหน้าไม่เรียบ ดังรูปที่ 4 และค่อนข้างเหลวไม่จับตัวเป็นก้อน (สุนัดดา โยมญาติ, 2557)

รูปที่ 4 ลักษณะของโยเกิร์ตและโยเกิร์ตปรุงแต่งชนิดกวน (ก. ผิวหน้าไม่เรียบและเนื้อโยเกิร์ตไม่จับตัวเป็นก้อน)
ที่มา : http://biology.ipst.ac.th/wp-content/uploads/sites/16/2014/07/57-3-4.jpg

2.2.3 โยเกิร์ตจากพืช

โยเกิร์ตจากพืชได้รับความนิยมอย่างมาก โดยโยเกิร์ตชนิดนี้มีการพัฒนาส่วนผสมจากพืชหลายชนิด เช่น พืชตระกูลถั่ว ธัญพืชและผลไม้ ซึ่งเป็นอาหารทางเลือกของคนรักสุขภาพ คนบริโภคเจและคนบริโภคมังสวิรัติ ทั้งนี้การพัฒนาโยเกิร์ตจากพืชต้องมีการคำนึงถึงเนื้อสัมผัส รสชาติและความสามารถในการเจริญของแลคติกแอสิดแบคทีเรียในระหว่างการเก็บรักษา โดยจะต้องมีการคัดเลือกสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ให้เหมาะสม เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพและมีคุณค่าทางโภชนาการตามที่ต้องการ (Montemurro และคณะ, 2021)

2.2.4 กรรมวิธีการผลิตโยเกิร์ต

2.2.4.1 การตรวจสอบคุณภาพน้ำนมดิบ

น้ำนมดิบ (raw milk) เป็นวัตถุดิบหลักเพื่อการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์นมหลายชนิด เช่น น้ำนมพาส-เจอไรซ์ นมเปรี้ยว โยเกิร์ต นมผง เนยแข็ง คุณภาพน้ำนมดิบมีผลโดยตรงต่อคุณภาพของผลิตภัณฑ์ ต้องมีการตรวจสอบคุณภาพทางกายภาพและเคมี โดยตรวจลักษณะสี ค่าความเป็นกรด-ด่าง ซึ่งในน้ำนมดิบจะมีค่า 6.6-6.8 (สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ [มกอช.], 2553) และกำหนดให้น้ำนมดิบคุณภาพดีควรมีส่วนประกอบในน้ำนมดังนี้ (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์, ม.ป.ป.)

องค์ประกอบของน้ำนมที่ได้จากสัตว์ชนิดต่าง ๆ มีความแตกต่างกัน เมื่อนำมาผ่านกระบวนการหมักจะทำให้ได้โยเกิร์ตที่มีคุณภาพแตกต่างกัน เช่น เมื่อไขมันในนมมีปริมาณสูงกว่านมจากสัตว์ชนิดต่าง ๆ จะทำให้โยเกิร์ตที่มีความเป็นครีมสูงตามไปด้วย หัวเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ต จะใช้น้ำตาลแลคโตสที่มีอยู่ในนมเป็นแหล่งอาหาร ส่วนโปรตีนทำให้เกิดการตกตะกอนเป็นก้อน ซึ่งมีผลเกี่ยวข้องกับความหนืด (viscosity) ของผลิตภัณฑ์ ดังนั้นเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่มีคุณภาพมาตรฐาน จึงต้องปรับคุณภาพของนมก่อนเข้ากระบวนการหมัก (สุรัตน์ วังพิกุล และคณะ, 2558)

ตารางที่ 3 คุณภาพน้ำนมดิบตามมาตรฐาน มกอช.

องค์ประกอบ	**ค่ามาตรฐาน มกอช.**
% ไขมัน (fat)	ไม่น้อยกว่า 3.5
% โปรตีน (protein)	ไม่น้อยกว่า 2.8
% น้ำตาลแลคโตส (lactose)	ไม่น้อยกว่า 4.5 (ค่าทั่วไป)
% ของแข็งในน้ำนมที่ไม่ไม่รวมไขมันนม (solid not fat, SNF)	ไม่น้อยกว่า 8.25
% ของแข็งทั้งหมด (total solid, TS)	ไม่น้อยกว่า 12
การตรวจนับจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวในน้ำนมดิบ (somatic cell count, SCC)	ไม่เกิน 500,000 cell/mL
จุลินทรีย์ทั้งหมด (standard plate count)	ไม่เกิน 600,000 colony/mL
จุลินทรีย์โคลิฟอร์ม (coliform)	ไม่เกิน 10,000 colony/mL
แบคทีเรียทนร้อน (thermophilic bacteria)	ไม่เกิน 1,000 colony/mL
จุดเยือกแข็ง (freezing point)	-0.52 ถึง 0.525 °C
ความถ่วงจำเพาะ (specific gravity)	1.028 ถึง 1.034

ที่มา: พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์ (ม.ป.ป.)

2.2.4.2 การปรับมาตรฐานน้ำนม (standardization) โดยปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ไม่รวมไขมัน (solid not fat, SNF)

การปรับให้ได้มาตรฐานในผลิตภัณฑ์นม คือ การปรับส่วนประกอบของน้ำนมให้มีปริมาณของแข็งที่ไม่รวมไขมันให้ได้ค่าตามที่มาตรฐานต้องการ (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์, ม.ป.ป.) โดยสัดส่วนของการปริมาณของแข็งที่ไม่ใช่ไขมัน ได้แก่ โปรตีน น้ำตาลแลคโตส และเกลือแร่ในนมที่ใช้ในการผลิตโยเกิร์ตจะมีผลโดยตรงต่อคุณภาพทางกายภาพและกลิ่นรสของโยเกิร์ตโดยเฉพาะความหนืดของ coagulum โดยทั่วไปปริมาณของแข็งในของผสมที่ใช้เตรียมโยเกิร์ตยิ่งสูงผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้จะมีความหนืดมากขึ้นด้วย โยเกิร์ตที่มีคุณภาพดีได้จากนมที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมด (total solid หรือ TS) เท่ากับ 15-16% มีผลทำให้ได้โยเกิร์ตที่มี TS 14-15% แต่หาก TS สูงกว่า 25% ขึ้นไป จะทำให้ความชื้นลดลงและมีผลให้กิจกรรมของเชื้อลดลงด้วย การเพิ่มปริมาณของแข็งอาจทำโดยอาศัยวิธีการต่าง ๆ เช่น การให้ความร้อนเพื่อ

เพิ่มความเข้มข้น การเติมนมผง เคซีน ผงเวย์ หรือ buttermilk powder เป็นต้น (สุรัตน์ วังพิกุล และคณะ, 2558)

2.2.4.3 การทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน (homogenization)

เมื่อได้ส่วนผสมของนมจากการเตรียมโยเกิร์ตเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพตามต้องการแล้ว จึงนำมาผ่านกระบวนการทำให้เป็นเนื้อเดียวกันซึ่งจะมีผลต่อคุณภาพของนม ทั้งนี้กระบวนการดังกล่าวสามารถกระทำโดยการให้นมผ่านเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ด้วยความเร็วสูงโดยผ่านช่องเปิดเล็ก ๆ ภายใต้ความดันสูง สำหรับการเลือกใช้เครื่องโฮโมจีไนเซอร์แบบ 1 หรือ แบบ 2 stage ที่มีอุณหภูมิ 50-70 °C และมีความดันระหว่าง 1,500-2,500 psi อาจเติมสารอิมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) และสารที่ทำให้คงตัว (stabilizer) ซึ่งมีสมบัติที่ดี คือ ไม่มีกลิ่น มีประสิทธิภาพสูงในช่วงค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำ และกระจายตัวได้ดีในอุณหภูมิที่ใช้ในการหมักนม การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นหลังการทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน ซึ่งมีผลทำให้โยเกิร์ตที่ได้หลังการหมักมีเนื้อเนียนมากขึ้น มีกลิ่นรสที่เป็นครีมและช่วยลดการเกิดครีมที่ผิวหน้าหรือแยกชั้นของน้ำนม (wheying-off)

2.2.4.4 กระบวนการพาสเจอไรซ์ (pasteurization)

พาสเจอไรซ์เป็นการตั้งชื่อเพื่อให้เกียรติแก่นักวิทยาศาสตร์ชาวฝรั่งเศสชื่อ หลุยส์ ปาสเตอร์ (Louis Pasteur) ซึ่งเป็นคนแรกที่คิดค้นการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่ในไวน์ระหว่างปี พ.ศ. 2407-2408 โดยการใช้ความร้อนประมาณ 50-60 °C ซึ่งการค้นพบนี้ก่อให้เกิดประโยชน์อย่างมากในการถนอมอาหาร (food preservation) โดยวัตถุประสงค์ของการพาสเจอไรซ์การทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค (pathogen) ทุกชนิดและเอนไซม์ (enzyme) ที่เป็นสาเหตุให้อาหารเสื่อมเสีย เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร ทำให้อาหารปลอดภัยต่อการบริโภค เวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการพาสเจอไรซ์ต้องเพียงพอที่จะทำลายจุลินทรีย์ก่อโรคที่ทนต่อความร้อนให้ปลอดภัยต่อการบริโภค ในระยะเวลาการเก็บรักษาที่กำหนด โดยจุลินทรีย์ 2 กลุ่มที่อาจจะมีชีวิตรอดจากการทำลายด้วยการพาสเจอไรซ์คือ จุลินทรียที่ทนต่อความร้อน (thermoduric microorganism) และจุลินทรีย์ที่ชอบเจริญที่อุณหภูมิสูง (thermophilic microorganism) จึงต้องเก็บรักษาอาหารที่ผ่านการพาสเจอไรซ์แล้วไว้ที่อุณหภูมิต่ำ (cold storage) หรือหากต้องการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง ต้องใช้วิธีการถนอมอาหารอื่นร่วมด้วย เช่น การลดวอเตอร์แอคทิวิตี (water activity, a_w) การใช้น้ำตาล เกลือ ความเข้มข้นสูง การปรับให้เป็นกรด (acidification) การใช้สารกันเสีย (preservative) เป็นต้น (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์, 2562)

กระบวนการพาสเจอไรซ์แบ่งเป็น 2 วิธี

1. วิธีใช้ความร้อนต่ำ-เวลานาน (LTLT : low temperature-long time) วิธีนี้ใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 62.8-65.6 °C เป็นเวลา 30 min เมื่อผ่านความร้อนโดยใช้เวลาตามที่กำหนดแล้ว ต้องเก็บอาหารไว้ในที่เย็นซึ่งมี

อุณหภูมิต่ำกว่า 7.2 ℃ กรรมวิธีการนี้นอกจากจะทำลายแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคแล้วยังยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ย่อยไขมันชนิดไลเปส (lipase) ซึ่งเป็นตัวการทำให้เกิดกลิ่นหืนในน้ำนมด้วย (Nectec, ม.ป.ป.)

2. วิธีใช้ความร้อนสูง-เวลาสั้น (HTST : high temperature-short time) วิธีนี้ใช้ความร้อนที่อุณหภูมิในช่วง 70-100 ℃ เป็นเวลา 15-30 s อาหารที่ผ่านความร้อนแล้วจะได้รับการบรรจุลงกล่องหรือขวดโดยวิธีปราศจากเชื้อแล้วนำไปแช่เย็นที่อุณหภูมิ 7.2 ℃

ชนิดของอาหารที่เหมาะสำหรับการฆ่าเชื้อระบบ HTST

(1) อาหารที่เป็นกรด (acid food, ค่าความเป็นกรด-ด่างน้อยกว่า 4.6) เช่น น้ำผลไม้ หลังการฆ่าเชื้อด้วย HTST process แล้วบรรจุแบบปลอดเชื้อ (aseptic packaging) เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีอายุการเก็บรักษาได้นาน (shelf stable) สามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องได้โดยไม่ต้องแช่เย็น

(2) อาหารกรดต่ำ (low acid food, ค่าความเป็นกรด-ด่างมากกว่า 4.6) เช่น น้ำนม น้ำกะทิ การใช้ HTST เป็นการฆ่าเชื้อระดับการพาสเจอไรซ์ ไม่เพียงพอที่จะทำลายสปอร์ของแบคทีเรีย (bacterial spore) ได้ หลังการบรรจุจึงต้องเก็บรักษาอาหารนี้ไว้แบบอาหารแช่เย็น อุณหภูมิต่ำกว่า 4 ℃ (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์และนิธิยา รัตนาปนนท์, 2562)

เมื่อได้น้ำนมที่ได้ทำการปั่นส่วนผสมต่าง ๆ ให้เข้ากันแล้วมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 ℃ นาน 30 min หรือที่อุณหภูมิ 95 ℃ นาน 10 min การให้ความร้อนแก่น้ำนมนั้นจะทำให้โปรตีนเสียสภาพและจับตัวเป็นตะกอนเป็นก้อน เพื่อป้องกันการแยกตัวของน้ำในระยะของการเก็บรักษา นอกจากนี้ยังช่วยลดปริมาณของเชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของน้ำนม ซึ่งการลดปริมาณของเชื้อดังกล่าวจะช่วยสร้างสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกล้าเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ (starter culture) ที่จะใส่ลงไป (Amki Green, 2562)

2.2.4.5 กระบวนการหมัก (fermentation process)

เมื่อได้นมที่ผ่านการให้ความร้อน จะต้องทำให้เย็นลงถึงอุณหภูมิที่เหมาะสมแล้วส่งไปยังถังหมักเพื่อทำการหมักด้วยหัวเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์ผสมของ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ในอัตราส่วนที่เท่ากัน ซึ่งหัวเชื้อจุลินทรีย์เป็นส่วนประกอบที่สำคัญในการผลิตโยเกิร์ต และหัวเชื้อโยเกิร์ตต้องปลอดจากการปนเปื้อน เจริญได้ดีในส่วนผสมของนมที่ใช้เตรียมโยเกิร์ต ให้กลิ่นรสที่ต้องการ โครงสร้างลักษณะเนื้อดี และต้านทานต่อการเกิด phages และสารปฏิชีวนะ ในการสร้างกลิ่น (flavor) และลักษณะของเนื้อสัมผัส (texture) ต้องใช้เชื้อผสมโดยทั่วไปจะใช้หัวเชื้อทั้งสองชนิดในอัตราส่วนที่เท่ากัน

เชื้อ *Streptococcus thermophilus* นี้จะช่วยกำจัดออกซิเจนออกจากนมซึ่งถ้าหากเหลืออยู่ อาจก่อให้เกิดไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ การเจริญเติบโตจะดำเนินต่อไปจนกระทั่งค่าความเป็นกรด-ด่างถึง 5.5 จะมีสารอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* ต่อไป

เชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* มีอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญที่ 45 °C และยังให้ปริมาณกรดแลคติกที่มากพอที่จะสร้างแอซีทัลดีไฮด์ซึ่งให้กลิ่นรสเฉพาะของโยเกิร์ตได้ ในกรณีที่มีกลิ่นรสดีมาก จะมีปริมาณแอซีทัลดีไฮด์อยู่ประมาณ 23-41 ppm คิดเป็นสัดส่วนของสารประกอบที่ให้กลิ่น (volatile flavor compound) ถึง 90% นอกจากนี้แล้ว *Lactobacillus bulgaricus* จะสร้างกรดอะมิโนบางตัวที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ *Streptococcus thermophilus* อีกด้วย โดยทั่วไปหัวเชื้อจะใช้ประมาณ 0.5-2% หลังการถ่ายเชื้อแล้ว ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37-44 °C เป็นเวลา 4-6 hr หรือที่ 32 °C เป็นเวลา 12 hr แต่อย่างไรก็ตามสภาพที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของหัวเชื้อสายพันธุ์ผสมจะหมักที่อุณหภูมิ 40-50 °C

ขั้นตอนการหมักจะเกิดขึ้นได้สองลักษณะคือ ในกรณีที่ผลิตโยเกิร์ตชนิดคงตัว จะเกิดการหมักในภาชนะที่บรรจุที่จะจำหน่ายปลีก หรือในกรณีของโยเกิร์ตชนิดกวน จะเกิดการหมักขึ้นในถังหมักใหญ่จนกระทั่งการหมักเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์แล้ว จึงนำไปบรรจุเพื่อจำหน่ายต่อไป อย่างไรก็ตามไม่ว่าลักษณะการผลิตโยเกิร์ตจะเป็นลักษณะใด การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของการเกิดก้อนเจลจะมีลักษณะเหมือนกัน แตกต่างกันเพียงคุณสมบัติการไหลของ coagulum เท่านั้น ลักษณะเนื้อของโยเกิร์ตที่ได้จากโยเกิร์ตชนิดคงตัวจะไม่ถูกรบกวน ก้อนเจลที่ได้จึงเป็นของแข็งกึ่งของเหลวตลอดทั้งภาชนะบรรจุ ในขณะที่โยเกิร์ตชนิดกวนจะเป็นก้อนเจลที่มีลักษณะแตกต่างกันเมื่อสิ้นสุดการหมักก่อนที่จะทำให้เย็น (วราวุฒิ ครูส่ง และรุ่งนภา พงสวัสดิ์มานิต, 2532)

2.2.4.6 การรักษาอุณหภูมิและการทำให้เย็น

น้ำนมจะถูกรักษาอุณหภูมิให้อยู่ที่อุณหภูมิ 42 °C จนกว่าค่าความเป็นกรด-ด่างจะถึง 4-5 เพื่อให้กล้าเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ (starter culture) เกิดการหมัก เกิดน้ำตาลแลคโตสในน้ำนม และเกิดลักษณะข้นที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัวของโยเกิร์ตขึ้นที่เรียกว่า thickened yogurt หลังจากนั้นลดอุณหภูมิของโยเกิร์ตให้อยู่ที่ 4-5 °C เพื่อหยุดการทำงานของกล้าเชื้อแบคทีเรียบริสุทธิ์ และคงไว้ที่อุณหภูมินี้ตลอดระยะเวลาการจำหน่าย ณ อุณหภูมินี้แบคทีเรียยังคงมีชีวิตอยู่

2.2.5 ประโยชน์ของโยเกิร์ต

1. สำหรับผู้ที่ไม่สามารถดื่มน้ำนมได้เนื่องจากขาดเอนไซม์แลคเตสที่ย่อยแลคโตสในน้ำนมสามารถรับประทานได้ เนื่องจากแบคทีเรียแลคติกผลิตเอนไซม์เพื่อย่อยน้ำตาลแลคโตสในนมให้เป็นกรดแลคติก

2. เมื่อรับประทานทานโยเกิร์ต จุลินทรีย์ที่อยู่ในโยเกิร์ตจะช่วยเพิ่มแบคทีเรียชนิดที่เกิดประโยชน์ในระบบทางเดินอาหาร โดยปรับสมดุลให้กลับคืนมาในเวลาอันรวดเร็ว และโยเกิร์ตยังสามารถป้องกันอาการท้องเดินได้

3. โยเกิร์ตช่วยยกระดับภูมิคุ้มกันโรค ช่วยกระตุ้นการสร้างแอนติบอดี้ และสารต้านโรคอื่น ๆ และเพิ่มปริมาณอินเตอร์เฟอรอนให้เป็น 3 เท่า (อินเตอร์เฟอรอน เป็นสารเคมีที่ร่างกายสร้างโดยธรรมชาติจะช่วยต่อสู้กับโรคติดเชื้อ)

4. ช่วยลดการเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งบริเวณเนื้อเยื่อกระดูก

5. โยเกิร์ตอุดมไปด้วยสารไขมันธรรมชาติที่มีฤทธิ์คล้ายฮอร์โมน ที่เรียกว่า พรอสตาแกลนดิน อี2 (prostaglandin E2) ซึ่งทำหน้าที่ช่วยปกป้องผนังกระเพาะจากสารกระตุ้นหลายตัว เช่น แอลกอฮอล์ และบุหรี่ ปัจจุบัน prostaglandin E2 สังเคราะห์จำหน่ายเป็นยารักษาโรคแผลในกระเพาะอาหาร

6. ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด (สุรัตน์ วังพิกุล และคณะ, 2558)

2.2.6 จุลินทรีย์ในโยเกิร์ต (microbiology of natural yoghurt)

2.2.6.1 แลคติกแอสิดแบคทีเรีย

แลคติกแอสิดแบคทีเรีย (lactic acid bacteria : LAB) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่เคลื่อนที่ (non-motile) ไม่สร้างเอนไซม์คะตะเลส (catalase negative) ไม่สร้างสปอร์ (non-spore forming) ลักษณะทางสัณฐานวิทยาพบว่ามีทั้งรูปร่างแท่งและรูปร่างกลม ผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้จากการใช้น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลแลคโตสเป็นแหล่งคาร์บอนได้ผลิตภัณฑ์หลักเป็นกรดแลคติก ตัวอย่างของแลคติกแอสิดแบคทีเรียที่พบ ได้แก่ *Lactobacillus, Pediococcus, Streptococcus* และ *Leuconostoc* ปัจจุบันแลคติกแอสิดแบคทีเรียถูกจัดจำแนกเป็น 12 สกุล ตามลักษณะทางสัณฐานวิทยา กระบวนการหมักน้ำตาล ความสามารถในการเจริญที่สภาวะต่าง ๆ ชนิดไอโซเมอร์ของกรดแลคติก รวมถึงข้อมูลด้านพันธุกรรม ซึ่งได้แก่ *Streptococcus, Vagococcus, Lactococcus, Enterococccus, Pediococcus, Tetragenococcus, Aerococcus, Leuconostoc, Oenococcus, Weissella, Lactobacillus* และ *Carnobacterium* และปัจจุบันได้มีการพัฒนาการใช้ประโยชน์ของแบคทีเรียกลุ่มนี้เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อในกระบวนการผลิตอาหารหมักหลายชนิด เช่น ไส้กรอกหมัก ผลิตภัณฑ์นมหมัก เป็นต้น

กิจกรรมหลักของแลคติกแอสิดแบคทีเรียต่อผลิตภัณฑ์อาหารคือ เปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตในส่วนผสมของอาหารให้เป็นผลิตภัณฑ์ชนิดต่าง ๆ ได้แก่ กรดแลคติก กรดแอซีติก เอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งสารเหล่านี้ทำให้เกิดกลิ่นรสเฉพาะ นอกจากนี้ยังได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติเป็นสารต่อต้านจุลินทรีย์ชนิดอื่น เช่น แบคเทอริโอซิน (สุรัตน์ วังพิกุล และคณะ, 2558)

กระบวนการหมักของแลคติกแอสิดแบคทีเรียมี 2 กระบวนการ คือ homolactic fermentation ซึ่งเป็นกระบวนการหมักที่ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นกรดแลคติกเป็นส่วนใหญ่ โดย *L. plantarum* จัดเป็น

homofermentative lactic acid bacteria ซึ่งมีรูปแบบการผลิตกรดแลคติก คือการเปลี่ยน glucose เป็น pyruvic acid โดยเอนไซม์ dehydrogenase ด้วยวิถี glycolysis แล้วจึงเปลี่ยน pyruvic acid เป็นกรดแลคติก อีกหนึ่งกระบวนการ คือ heterolactic fermentation ซึ่งเป็นกระบวนการหมักที่จะเกิดกรดแลคติกได้เพียง 50% เท่านั้น และเกิดเอทานอล คาร์บอนไดออกไซด์ หรือกรดแอซีติก โดย *Leuconostoc mesenteroides* จัดเป็น heterofermentative lactic acid bacteria

ประโยชน์ของแลคติกแอสิดแบคทีเรีย

แลคติกแอสิดแบคทีเรียถูกนำมาใช้ในการหมักอาหาร ในผลิตภัณฑ์นม เช่น โยเกิร์ต นมเปรี้ยว เนยแข็ง ผลิตภัณฑ์หมักจากเนื้อสัตว์ เช่น แหนม ไส้กรอกเปรี้ยว ซาลามี รวมทั้งผลิตภัณฑ์หมักจากผัก และ ผลไม้ เช่น ผักผลไม้ดอง กิมจิ แตงดอง ซาวเคราต์ (sauerkraut) และผลิตภัณฑ์หมักจากถั่วเหลือง เช่น ซีอิ๊ว เต้าเจี้ยว และยังช่วยในการถนอมอาหาร เพราะกรดที่ได้จากการหมักทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารลดลง ช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ทำให้อาหารมีความปลอดภัยสูงขึ้น เช่น แบคทีเรีย โดยเฉพาะแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรค รา และยีสต์ เนื่องจาก H^+ จะซึมผ่านเยื่อหุ้มเซลล์เข้าสู่ภายในทำให้ไซโตพลาสซึมมีสภาวะภายในเซลล์ของจุลินทรีย์เป็นกรดสูง ซึ่งส่งผลให้ electrochemical proton gradient ภายในเซลล์ของจุลินทรีย์เสียไป เซลล์จึงถูกทำลายและยับยั้งการนำเข้ากรดอะมิโน (amino acid uptake) ของเซลล์จุลินทรีย์ รวมไปถึงยังได้ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์และ diacetyl ที่มีฤทธิ์เป็นสารกันเสีย (preservative) อีกทั้งยังเป็นโพรไบโอติกที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ แลคติกแอสิดแบคทีเรียบางชนิดจัดเป็นโพรไบโอติกซึ่งเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในลำไส้ของมนุษย์ สามารถผลิตแบคเทอริโอซิน ซึ่งยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคในสำไส้ใหญ่ (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์, ม.ป.ป.)

ตารางที่ 4 สารยับยั้งจุลินทรีย์ที่ผลิตจากแลคติกแอสิดแบคทีเรีย

สารยับยั้งจุลินทรีย์	สายพันธุ์ของแลคติกแอสิดแบคทีเรีย
hydrogen peroxide	*Lactobacillus* sp., *Pediococcus* sp.
nisin และ diplococcin	*Streptococcus* sp.
lactocin และ lactobacillin	*Lactobacillus plantarum*
lactobrevin	*Lactobacillus brevis*
bulgarican	*Lactobacillus bulgaricus*
acidophilin, lactocidin	*Lactobacillus acidophillus*

ที่มา: สุรัตน์ วังพิกุล และคณะ, 2558

แลคติกแอสิดแบคทีเรียมีกิจกรรมในการลดปริมาณคอเลสเตอรอลในกระแสเลือด มีรายงานโดย Adam และ Moss ในปี ค.ศ. 1995 ว่าการบริโภคผลิตภัณฑ์นมหมักจะช่วยยับยั้งการเกิดคอเลสเตอรอลได้ นอกจากนี้ยังมีผลในการลดน้ำหนักได้ประมาณ 2.3-2.7 kg ภายใน 3 สัปดาห์ ซึ่งจะต้องบริโภคผลิตภัณฑ์พร้อมกับการออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอ นอกจากนั้นในโยเกิร์ตยังมีองค์ประกอบของสารที่ยับยั้งการสังเคราะห์คอเลสเตอรอล ดังนั้นการบริโภคผลิตภัณฑ์นมหมักที่มีเชื้อ *L. acidophilus* จะช่วยให้คอเลสเตอรอลในเลือดลดลงกว่าการบริโภคนมที่ไม่มีเชื้อดังกล่าว (สุรัตน์ วังพิกุล และคณะ, 2558)

2.2.6.2 โพรไบโอติก

โพรไบโอติกถูกนำมาใช้เป็นครั้งแรกในงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์ของ Lilly และ Stillwell ในปี พ.ศ. 2508 เพื่อกล่าวถึงสารที่จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งขับออกมา และช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นการทำงานที่ตรงข้ามกับการทำงานของยาปฏิชีวนะ (antibiotic) ที่สามารถทำลายจุลินทรีย์เกือบทุกชนิด ในปี พ.ศ. 2517 Parker ได้ให้คำจำกัดความว่า โพรไบโอติก คือสิ่งมีชีวิตและสารเคมีที่มีผลต่อสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ คำจำกัดความล่าสุดซึ่งเสนอโดย Fuller ในปี พ.ศ. 2532 อธิบายคำว่า โพรไบโอติก คืออาหารเสริมซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิต สามารถก่อประโยชน์ต่อร่างกายของสิ่งมีชีวิตที่มันอาศัยอยู่ โดยการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบลำไส้ มีรายงานโดย Wilhelm และ Schillinger (2001) ว่าส่วนประกอบที่สำคัญในผลิตภัณฑ์โพรไบโอติก คือ จุลินทรีย์กลุ่มแลคติกแอสิดแบคทีเรียรวมทั้ง Bifidobacteria และ Lactobacilli ซึ่งจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ใช้กันมากจะอยู่ในกลุ่มของเชื้อแลคติกแอสิดแบคทีเรีย (Senthil และ Arulkanna, 2010) แบคทีเรียกลุ่มนี้พบในผลิตภัณฑ์อาหารหมัก เช่น นมเปรี้ยว แหนม กิมจิ ช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค ช่วยย่อยอาหารที่มนุษย์ย่อยไม่ได้ หรือย่อยได้ไม่หมด ช่วยการดูดซึมของสารอาหาร คอเลสเตอรอล และสร้างวิตามินที่เป็นประโยชน์กับร่างกาย อาหารที่แบคทีเรียกลุ่มโพรไบโอติกนำไปใช้ได้เรียกว่า พรีไบโอติก (prebiotic) เช่น ใยอาหารประเภท soluble fiber เช่น เพกทิน กัม (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิม-พงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์, ม.ป.ป.) และยังมีแบคทีเรียสายพันธุ์อื่น ๆ เช่น Enterococcus หรือยีสต์ เช่น *Saccharomyces boulardii* ที่จัดเป็นโพรไบโอติก (สุรัตน์ วังพิกุล และคณะ, 2558) ดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นแบคทีเรียโพรไบโอติก

***Lactobacillus* species**	***Bifidobacterium* species**
L. acidophilus	*B. adolescentis*
L. bugaricus	*B. animalis*
L. casei	*B. bifidum*
L. crispatus	*B. breve*
L. fermentum	*B. infantis*
L. gallinarum	*B. lactis*
L. gasseri	*B. longum*
L. johnsonii	
L. lactis	
L. paracasei	
L. plantarum	
L. reuteri	
L. rhamnosus	
lactic acid bacteria อื่น ๆ	**Nonlactic acid bacteria**
Enterococcus faecalis	*Bacillus cereus* var. *toyoi*
E. faecium	*Escherichia coli* strain nissle
Lactococcus lactis	*Propionibacterium freudenreichii*
Leuconostoc mesenteroides	*Saccharomyces cerevisiae*
Pediococcus acidilactici	*S. boulardii*
Sporolactobacillus inulinus	
Streptococcus thermophilus	

ที่มา: สุรัตน์ วังพิกุล และคณะ, 2558

2.3 โปรตีนถั่วเหลือง

2.3.1 ข้อมูลทั่วไปของถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองเป็นพืชพื้นเมืองในแถบเอเชียตะวันออก เป็นส่วนประกอบสำคัญในอาหารของชาวเอเชีย และมีการบริโภคมากว่าพันปี ถั่วเหลืองมีแหล่งปลูกสำคัญอยู่ที่เอเชีย อเมริกาเหนือ และอเมริกาใต้ ถั่วเหลือง ประกอบด้วยโปรตีนเป็นหลัก และยังประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตและไขมันในปริมาณที่เหมาะสม โดยในถั่วเหลือง 100 g ประกอบไปด้วย โปรตีน 16.6 g คาร์โบไฮเดรต 9.9 g น้ำตาล 3 g เส้นใยอาหาร 6 g ไขมัน 9 g และน้ำ 93% ซึ่งมีปริมาณโปรตีนในถั่วเหลือง 36-56% ของน้ำหนักแห้ง แม้ว่าคุณภาพของโปรตีนถั่วเหลืองจะไม่ดีเท่าโปรตีนในสัตว์แต่คุณค่าทางโภชนาการของโปรตีนถั่วเหลืองจัดอยู่ในเกณฑ์ดี ชนิดของโปรตีนหลักที่อยู่ในถั่วเหลืองได้แก่ glycinin และ conglycinin ซึ่งมีอยู่ประมาณ 80% ของปริมาณโปรตีนทั้งหมด อย่างไรก็ตามอาจกระตุ้นปฏิกิริยาการแพ้ในบางคน (Atli, 2019) นอกจากนี้ถั่วเหลืองยังมีสารต้านอนุมูลอิสระ กรดอะมิโนชนิดจำเป็น (essential amino acid) หลายชนิด ซึ่งช่วยเสริมสร้างกล้ามเนื้อ และมีไฟโตอีสโทรเจน เช่น ไอโซฟลาโวน ซึ่งมี เจนิสทีน และเดดซีน ในปริมาณสูงจึงช่วยบำรุงผิวพรรณ บำรุงกระดูก และบรรเทาอาการของผู้หญิงวัยหมดประจำเดือน อีกทั้งยังมีสารไฟโตสเตอรอล และซาโพนิน ในปริมาณสูง ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอล ป้องกันโรคหลอดเลือดและหัวใจ จากข้อมูลขององค์การอาหารและยาประเทศสหรัฐอเมริกากล่าวว่า การได้รับโปรตีนถั่วเหลือง 25 g ต่อวันร่วมกับอาหารที่มีไขมันอิ่มตัว และคอเลสเตอรอลต่ำ สามารถลดอัตราเสี่ยงการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือดได้ (สุภาภรณ์ วงศ์พิพันธ์, 2550)

2.3.2 องค์ประกอบของโปรตีนถั่วเหลือง

โปรตีนถั่วเหลือง (soy protein) เป็นโปรตีนที่สกัดจากถั่วเหลือง ซึ่งเป็นโปรตีนที่สกัดได้จากพืช (plant extract protein) จึงเหมาะสำหรับผู้ที่รับประทานเจและมังสวิรัติ ซึ่งโปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองมีการนำไปใช้เป็นส่วนผสมในอาหารหลายชนิดเพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ

ประเภทของผลิตภัณฑ์โปรตีนถั่วเหลือง

- soy protein concentrate
- soy protein isolate (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์, 2553)

Soy protein isolate

isolated soy protein (ISP) เป็นผลิตภัณฑ์โปรตีนถั่วเหลืองสำเร็จรูปแบบหนึ่ง ได้จากการนำโปรตีนถั่วเหลืองมาทำให้บริสุทธิ์ จะมีปริมาณโปรตีนมากกว่า 90% ขึ้นไป ส่วนประกอบหลักคือกรดอะมิโนชนิด glycinin และ conglycinin

องค์ประกอบของโปรตีนถั่วเหลืองไอโซเลท

AAFCO (association of American feed control officials, Inc.) ให้คำจำกัดความ isolate soy protein ว่าเป็นส่วนของโปรตีนที่แยกได้จากถั่วเหลืองที่ผ่านการเอาเปลือกออก โดยแยกเอาส่วนที่ไม่ใช่โปรตีนออก และเหลือส่วนที่เป็นโปรตีนอยู่ไม่น้อยกว่า 90% ต่อน้ำหนักแห้ง (อรอนงค์ นัยวิกุล, 2538) โดยองค์ประกอบของ isolate soy protein แสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 องค์ประกอบและปริมาณของ isolate soy protein

องค์ประกอบ	**ปริมาณ (ร้อยละต่อน้ำหนักแห้ง)**
โปรตีน	90
ไขมัน	0.5
เถ้า	0.2
คาร์โบไฮเดรต	0.3

ที่มา: อรอนงค์ นัยวิกุล, 2538

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Hussein และคณะ (2020) ได้ทำการศึกษากระบวนการผลิตโยเกิร์ตจากถั่วลูกไก่ เพื่อตรวจสอบผลของถั่วลูกไก่ในการเป็นพรีไบโอติก สารต้านอนุมูลอิสระและสารเพิ่มความข้นหนืด ความสามารถในการรอดชีวิตและเจริญได้ของโพรไบโอติก และคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของโยเกิร์ตชีวภาพชนิดกวน โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติก (*Bifidobacterium bifidum* และเชื้อผสมของ *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* และ *Lactobacillus acidophilus)* กับแป้งถั่วลูกไก่ที่ความเข้มข้นต่างกัน (1, 2 และ 3%) มีการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ สมบัติการไหล สมบัติทางจุลชีววิทยา และการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตชีวภาพชนิดกวนในระหว่างการเก็บรักษา ผลการวิจัยพบว่าแป้งถั่วลูกไก่ช่วยกระตุ้นการเจริญของแบคทีเรียโพรไบโอติก โดยมีจำนวนแบคทีเรียในโยเกิร์ตชีวภาพเป็นตัวชี้วัด โยเกิร์ตที่มีการเติมแป้งถั่วลูกไก่ 3, 2, 1% และตัวอย่างควบคุม ร่วมกับการเติม *Bifidobacterium bifidum* มีปริมาณแบคทีเรียเท่ากับ 8.28, 8.12, 8.04 และ 7.32 log CFU/g ตามลำดับ โยเกิร์ตชีวภาพชนิดกวนที่มีการเสริมด้วยแป้งถั่วลูกไก่มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่สูง โดยมีค่าเท่ากับ 91, 83 และ 76.6% ในโยเกิร์ตที่เสริมแป้งลูกไก่ 3%, 2% และ 1% ตามลำดับ และความหนืดของโยเกิร์ตชีวภาพชนิดกวนที่เสริมด้วยถั่วลูกไก่มีคุณภาพที่ดีขึ้น โดยในการประเมินทางประสาทสัมผัสพบว่าตัวอย่างที่มีแป้งลูกไก่ 1% และ 2% เป็นที่ชื่นชอบของผู้ทดสอบในด้านเนื้อสัมผัสและกลิ่นรส ผลการวิจัยสรุปได้ว่าแป้งถั่วลูกไก่ที่ความเข้มข้น 1% หรือ 2% สามารถทดแทนนมผงขาดมันเนยได้ เพื่อเพิ่มคุณภาพของโยเกิร์ตชีวภาพชนิดกวนและลดต้นทุนการผลิต

สุภาภรณ์ วงศ์พิพันธ์ (2550) ศึกษากระบวนการพัฒนาโยเกิร์ตจากถั่วเหลือง โดยเปรียบเทียบปริมาณไอโซฟลาโวนในรูปเดดซีนและเจนิสทีนในเทมเป้ ซึ่งหมักด้วยเชื้อรา *Rhizopus oligosporus* และปริมาณไอโซฟลาโวนในรูปเดดซีนและเจนิสทีนในโยเกิร์ตจากถั่วเหลืองซึ่งหมักด้วยเชื้อ 2 กลุ่ม คือ เชื้อผสมระหว่าง *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* และเชื้อผสมระหว่าง *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* และ *Bifidobacterium bifidum* จากผลการทดลองพบว่าโยเกิร์ตจากถั่วเหลืองที่หมักด้วยเชื้อผสมระหว่าง *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* และ *Bifidobacterium bifidum* เป็นระยะเวลา 4 hr มีปริมาณไอโซฟลาโวนในรูปเดดซีนและเจนิสทีนสูงกว่า โยเกิร์ตจากถั่วเหลืองที่หมักเป็นระยะเวลา 2, 6, 8, 10 และ 12 hr และยังมีปริมาณสูงกว่าในเทมเป้ น้ำนมถั่วเหลือง และโยเกิร์ตจากถั่วเหลืองที่หมักด้วยเชื้อผสมระหว่าง *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* คือ มีปริมาณไอโซฟลาโวนในรูปเดดซีนและเจนิสทีนอยู่ในช่วง 40.03 ถึง 70.38 และ 88.74 ถึง 174.09 µg/g น้ำหนักแห้งตามลำดับ ผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพจากโยเกิร์ตถั่วเหลือง 1 ชิ้น (น้ำหนักประมาณ 4 g) มีค่า A_w เท่ากับ 0.711 และมีปริมาณไอโซฟลาโวนในรูปเดดซีนและเจนิสทีนเท่ากับ 4.71 และ 5.94 µg น้ำหนักแห้งตามลำดับ ผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพจากโยเกิร์ตถั่วเหลืองสามารถเก็บได้นาน 1 เดือน เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 8 °C

ปิยนุสร์ น้อยด้วง และปัทมา คล้ายจันทร์ (2547) ศึกษาการผลิตโยเกิร์ตกล้วยหอมโดยใช้เชื้อโยเกิร์ตที่เหมาะสมต่อการเกิดเคิร์ด คือ 12 g ต่อน้ำนม 100 g และแปรปริมาณกล้วยหอมที่แตกต่างกัน คือ 5, 10, 15 และ 20 g ต่อนม 100 g ตามลำดับ เมื่อทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่าโยเกิร์ตที่เติมกล้วยหอม 10 g ผู้บริโภคให้การยอมรับมากที่สุด แต่พบว่าโยเกิร์ตที่ผลิตได้ทุกสูตรมีสีน้ำตาลเกิดขึ้น ดังนั้นจึงศึกษาวิธีการควบคุมการเกิดสีน้ำตาลในกล้วยหอม โดยวิธีทางกายภาพและเคมี ซึ่งวิธีทางกายภาพทำโดยการลวกที่อุณหภูมิ 85 °C และพบว่าการลวกเป็นเวลานาน 8 min สามารถควบคุมการเกิดสีน้ำตาลได้ดีกว่า 6 min ในขณะที่วิธีทางเคมีทำโดยการแช่ในสารเคมี และพบว่ากล้วยหอมที่แช่ใน 0.5% ascorbic acid นาน 20 min สามารถป้องกันการเกิดสีน้ำตาลได้ดีกว่า 0.5% citric acid นาน 20 min ดังนั้นในการผลิตโยเกิร์ต จึงเลือกใช้ ascorbic acid ในการป้องกันการเกิดสีน้ำตาลที่เกิดขึ้น และทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของโยเกิร์ตกล้วยหอม โดยพบว่าตัวอย่างมีความชื้น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน และเถ้าเท่ากับ 81.99, 11.84, 3.27, 2.31 และ 0.55% ตามลำดับ และเมื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโยเกิร์ตกล้วยหอมในระหว่างการเก็บรักษาพบว่าความคงตัวของโยเกิร์ตไม่มีการเปลี่ยนแปลง เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C นาน 3 สัปดาห์

สุรัตน์ วังพิกุล และคณะ (2558) ศึกษาและพัฒนาการผลิตโยเกิร์ตน้ำนมข้าวโพดเสริมโพรไบโอติกแบคทีเรีย (*Lactobacillus casei* TISTR 1340) และเติมผงพืช ได้แก่ ผงข้าวกล้องงอก ผงฟักทอง และผงแก่นตะวัน เปรียบเทียบกับ น้ำผึ้ง และน้ำตาล ใช้อัตราส่วนน้ำนมและน้ำนมข้าวโพดเป็น 1:0, 1:1, 1:2, 1:3, 1:4 และ 1:5 ตามลำดับ โดยตัวอย่างที่ไม่เติมน้ำนมข้าวโพดให้เป็นตัวอย่างควบคุม บ่มที่อุณหภูมิ 43 °C เป็นเวลา 5 hr เก็บตัวอย่างทุกชั่วโมง จากนั้นทำการตรวจวัดปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด ค่าความเป็นกรด-ด่าง

ปริมาณกรดแลคติก และน้ำตาลรีดิวซ์ จากผลการศึกษาพบว่า โยเกิร์ตน้ำนมข้าวโพดอัตราส่วน 1:5 (น้ำนมต่อน้ำนมข้าวโพด) ให้ปริมาณการรอดชีวิตของจุลินทรีย์สูงที่สุดที่อุณหภูมิ 43 °C เป็นเวลา 5 hr (10.05 log CFU/mL) สูตรการผลิตที่เติมน้ำผึ้งให้ค่าทางเคมีสูงที่สุด คือ ของแข็งที่ละลายได้ (11.5 °Brix) ความชื้น (6.0%) โปรตีน (3.4%) และไขมัน (0.45%) ในขณะที่การทดสอบสมบัติทางประสาทสัมผัสพบว่าผู้ทดสอบส่วนใหญ่ให้การยอมรับ โดยโยเกิร์ตน้ำนมข้าวโพดสูตรที่เติมผงแก่นตะวัน ผงข้าวกล้องหอมมะลิงอก และน้ำผึ้งได้รับการยอมรับสูงสุด

จากข้อมูลที่กล่าวมาข้างต้นจะเห็นได้ว่าถั่วลูกไก่เป็นถั่วที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีสารต้านอนุมูลอิสระ และมีประโยชน์ต่อสุขภาพในหลาย ๆ ด้าน และโยเกิร์ตซึ่งมีจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอล ลดโอกาสเสี่ยงในการเป็นมะเร็งกระดูก และอื่น ๆ อีกมากมาย แต่การบริโภคถั่วลูกไก่ในปัจจุบันจะเน้นการบริโภคถั่วลูกไก่แบบไม่แปรรูป โยเกิร์ตจากถั่วลูกไก่จึงเป็นการเพิ่มมูลค่าของถั่วลูกไก่ เพิ่มทางเลือกให้กับผู้บริโภคมังสวิรัติ และเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการ โดยมีงานวิจัย Impact of chickpea as prebiotic, antioxidant and thickener agent of stirred bio-yoghurt ของ Hussein และคณะ (2020) ซึ่งเป็นการพัฒนาโยเกิร์ตจากนมวัวและมีการผสมแป้งถั่วลูกไก่ในอัตราส่วนต่าง ๆ โดยให้ผลลัพธ์ที่ดีเมื่อมีการเติมถั่วลูกไก่ ปัจจัยเหล่านี้แสดงให้เห็นถึงช่องว่างทางการวิจัยซึ่งสามารถนำมาต่อยอดเป็นโยเกิร์ตจากน้ำนมถั่วลูกไก่

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

สารเคมี

2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Fluka, USA)

6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid (trolox) (Fluka, Denmark)

Folin-Ciocalteu reagent (Carlo Erba, France)

gallic acid (Fluka, Spain)

sodium carbonate (A. R. grade, Ajex Finechem, Australia)

methanol 99.9% (A. R. grade, Fisher Scientific, UK)

sodium chloride (NaCl) (Fisher Chemical, Belgium)

sodium hydroxide (NaOH) (Ajax Finechem, New Zealand)

gram stain reagents (Medic, Philippines)

ethanol 95% (A. R. grade, QRëC, New Zealand)

Kovacs' reagent (Himedia, India)

Voges-Proskauer (VP) reagents (Hardy Diagnostics, USA)

10% w/v tartaric acid (Ajax Finechem, Newzealand)

0.85% w/v NaCl water (Fisher Chemical, Belgium)

วัสดุอุปกรณ์

เครื่องวัดอัตราการไหล Bostwick consistometer (CSC Scientific, USA)

เครื่องวัดสี chroma meter (Minolta, Model CR-300 series, Japan)

เครื่องปั่น (TEFAL, BL307, Thailand)

เครื่อง pH meter (Inobab, TetraCon 325, Germany)

เครื่อง centrifuge (Hettich, Universal 320R, USA)

เครื่อง spectrophotometer (Thermo Spectronic, Genesys 10 UV, USA)

เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Mettler Toledo, Switzerland)

เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 3 ตำแหน่ง (Mettler Toledo, Switzerland)

เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Ohaus, PA214C, USA)

ตู้บ่ม (Heraeus, B5042, Germany)

water bath (Memmert, WNB Series, Germany)

อาหารเลี้ยงเชื้อ

plate count agar (PCA) (Sigma Aldrich, USA)

potato dextrose agar (PDA) (Sigma Aldrich, USA)

lauryl tryptose broth (Himedia, India)

lactose broth (Himedia, India)

EC broth (Himedia, India)

Levine's Eosin-Methylene Blue (L-EMB) agar (Himedia, India)

tryptone (tryptophane) broth (Himedia, India)

MR-VP broth (Himedia, India)

Koser's citrate broth (Himedia, India)

1. **การเตรียมตัวอย่างนมถั่วลูกไก่**

ซื้อถั่วลูกไก่จากห้างสรรพสินค้าในกรุงเทพฯ แช่ถั่วลูกไก่ในน้ำในอัตราส่วนถั่วลูกไก่ 600 g ต่อน้ำ 1 L ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 16 hr จากนั้นกรองน้ำออก แกะเปลือกแล้วแบ่งถั่วลูกไก่เป็น 3 ส่วนผสมกับน้ำในอัตราส่วน 1:3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (g:mL) แล้วปั่นด้วยความเร็วต่ำ 2 min นำไปกรองด้วยผ้าขาวบาง 3 รอบ

2. **การแปรปริมาณโปรตีนถั่วเหลือง**

เติมโปรตีนถั่วเหลืองในน้ำนมถั่วลูกไก่จากข้อ 1 โดยแปรปริมาณโปรตีนถั่วเหลือง 4 ระดับ ได้แก่ 0% w/v, 5% w/v, 6% w/v และ 7% w/v

3. **การเตรียมตัวอย่างโยเกิร์ตจากถั่วลูกไก่**

พาสเจอไรซ์น้ำนมถั่วลูกไก่ด้วยการให้ความร้อน 90 °C เป็นเวลา 5 min ใน water bath จากนั้นลดอุณหภูมิลงจนถึง 43-45 °C แล้วเติมหัวเชื้อ Lyoflora SYAB 1 (Sacco, Italy) 0.3 g/L บ่มที่อุณหภูมิ 43 °C เป็นเวลา 5 hr หรือจนโยเกิร์ตมีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.5 แล้วทำให้เย็นลงทันทีที่อุณหภูมิ 4±1 °C

4. **การวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมีของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่แปรปริมาณโปรตีนถั่วเหลือง**

วิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมีของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่แปรปริมาณโปรตีนถั่วเหลืองดังนี้

4.1 อัตราการไหลโดยใช้เครื่อง Bostwick consistometer (CSC Scientific, USA) (ภาคผนวก ก.2)

4.2 ความเป็นกรด-ด่างโดยใช้เครื่อง pH meter (Inobab, TetraCon 325, Germany) (ภาคผนวก ก.3)

4.3 ความเป็นกรดจากการไทเทรต (titratable acidity, TA) ตามวิธีของ (A.O.A.C., 2000) (ภาคผนวก ก.4)

5. การศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลชีววิทยาของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เลือกเปรียบเทียบกับโยเกิร์ตนมวัวในระหว่างการเก็บ

ผลิตโยเกิร์ตจากนมถั่วลูกไก่โดยใช้ปริมาณโปรตีนถั่วเหลืองที่เลือกจากการทดลองแปรปริมาณโปรตีนถั่วเหลือง เก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ 4±1 °C เปรียบเทียบกับโยเกิร์ตนมวัว ในระหว่างการเก็บที่ 1, 7, 14 และ 21 วัน โดยวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมีของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ตามข้อ 4 และวิเคราะห์เพิ่มเติมดังนี้

5.1 ค่าสีโดยใช้เครื่อง chroma meter (Minolta, Model CR-300 series, Japan) ระบบ CIE LAB แล้วบันทึกค่า L*, a*, b* (ภาคผนวก ก.1)

5.2 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity ตามวิธีของ Brand-williams และคณะ (1995) (ภาคผนวก ข.1)

5.3 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay ดัดแปลงจากวิธีของ Benzie และ Strain (1996) (ภาคผนวก ข.2)

5.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetry ดัดแปลงตามวิธีของ Waterhouse (2002) (ภาคผนวก ข.3)

5.5 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดตามวิธีของ AOAC 990.12 (2012) (ภาคผนวก ค.1)

5.6 ปริมาณยีสต์และราทั้งหมดตามวิธีของ AOAC 997.02 (2009) (ภาคผนวก ค.2)

5.7 ปริมาณโคลิฟอร์มและ *E. coli* โดยดัดแปลงจากวิธีของ BAM (2001) (ภาคผนวก ค.3)

การประเมินผลทางสถิติ

ออกแบบการทดลองแบบ complete randomized design (CRD) สำหรับการประเมินผลด้านสมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance, ANOVA) เปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยใช้วิธี Duncan’s multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

บทที่ 4
ผลการวิจัยและอภิปรายผล (Results and Discussion)

4.1 การศึกษาผลการแปรปริมาณโปรตีนถั่วเหลืองต่อสมบัติทางกายภาพและเคมีของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่

งานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาโยเกิร์ตจากถั่วลูกไก่ เพื่อเป็นการเพิ่มทางเลือกให้กับผู้บริโภคที่ไม่สามารถบริโภคนมวัวได้ โดยการพัฒนาโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ทำโดยเติมโปรตีนถั่วเหลืองลงในนมถั่วลูกไก่ 200 mL ที่แปรปริมาณถั่วเหลืองที่ 5, 6 และ 7% w/v และเติมน้ำตาล 6% w/v จากนั้นพาสเจอไรซ์ที่อุณหภูมิ 90 °C เป็นเวลา 5 min และลดอุณหภูมิลงจนถึง 43-45 °C แล้วเติมหัวเชื้อ Lyoflora SYAB1 หลังจากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 43 °C เป็นเวลา 5 hr และวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและกายภาพของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลืองเพื่อเลือกสูตรไปศึกษาผลของการเก็บรักษาโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน เปรียบเทียบกับโยเกิร์ตนมวัว โดยวิเคราะห์สมบัติต่าง ๆ ทุก 7 วัน จากการทดลองพบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของโยเกิร์ตที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 5% w/v และ 6% w/v ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) และปริมาณโปรตีนถั่วเหลืองทุกระดับในโยเกิร์ตไม่ส่งผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง และค่าอัตราการไหลอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) จากการวิเคราะห์สมบัติทางเคมีและกายภาพ พบว่าโยเกิร์ตที่เติมปริมาณโปรตีนถั่วเหลือง 5, 6 และ 7% w/v มีปริมาณกรดทั้งหมดเป็นไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 353 พ.ศ. 2556 เรื่อง นมเปรี้ยว ที่ระบุว่าโยเกิร์ตหรือนมเปรี้ยวที่ได้จากการหมักด้วยแบคทีเรีย สเตรปโทค็อกคัส เทอร์โมฟิลัส (*Streptococcus thermophilus*) และแล็กโทบาซิลลัส เดลบรึคคิไอ ซับสปีชีส์ บัลแกริคัส (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*) หรือแล็กโทบาซิลลัส ซับสปีชีส์อื่น ต้องมีค่าความเป็นกรดโดยคำนวณเป็นกรดแลกติกไม่น้อยกว่า 0.6% ของน้ำหนัก (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 353, 2556) เนื่องจากน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนในการเกิดกิจกรรมของแลคติกแอสิดแบคทีเรียในการสร้างกรดแลคติก (ธัญรัตน์ ประชามอญ, มัลลิกา บุญมี และกรกช ฮามสุโพธิ, 2551) และโยเกิร์ตที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v มีค่าอัตราการไหลเท่ากับ 2.23 ± 0.50 mm/s (ตารางที่ 7) ซึ่งมีลักษณะใกล้เคียงกับโยเกิร์ตถั่วเหลืองที่ขายในท้องตลาดที่มีค่าอัตราการไหล 2.30 mm/s ดังนั้นจึงสามารถอนุมานได้ว่าโยเกิร์ตที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v มีความหนืดใกล้เคียงกับโยเกิร์ตถั่วเหลืองที่ขายในท้องตลาด ดังนั้นจึงเลือกสูตรโยเกิร์ตที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v ไปใช้ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลืองเปรียบเทียบกับโยเกิร์ตนมวัวในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน

ตารางที่ 7 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ปริมาณกรดทั้งหมด (TA) และอัตราการไหลของโยเกิร์ตที่เติมโปรตีนถั่วเหลืองในระดับต่าง ๆ

สูตร	ความเป็นกรด-ด่าง	ปริมาณกรดทั้งหมด (%)	อัตราการไหล (mm/s)
control	$4.53^{c} \pm 0.05$	$0.353^{b} \pm 0.01$	ไม่สามารถวัดค่าได้
โปรตีนถั่วเหลือง 5%	$4.63^{ab} \pm 0.08$	$0.676^{a} \pm 0.06$	2.63 ± 0.59
โปรตีนถั่วเหลือง 6%	$4.67^{ab} \pm 0.11$	$0.743^{a} \pm 0.10$	2.23 ± 0.51
โปรตีนถั่วเหลือง 7%	$4.79^{a} \pm 0.14$	$0.781^{a} \pm 0.05$	1.93 ± 0.59

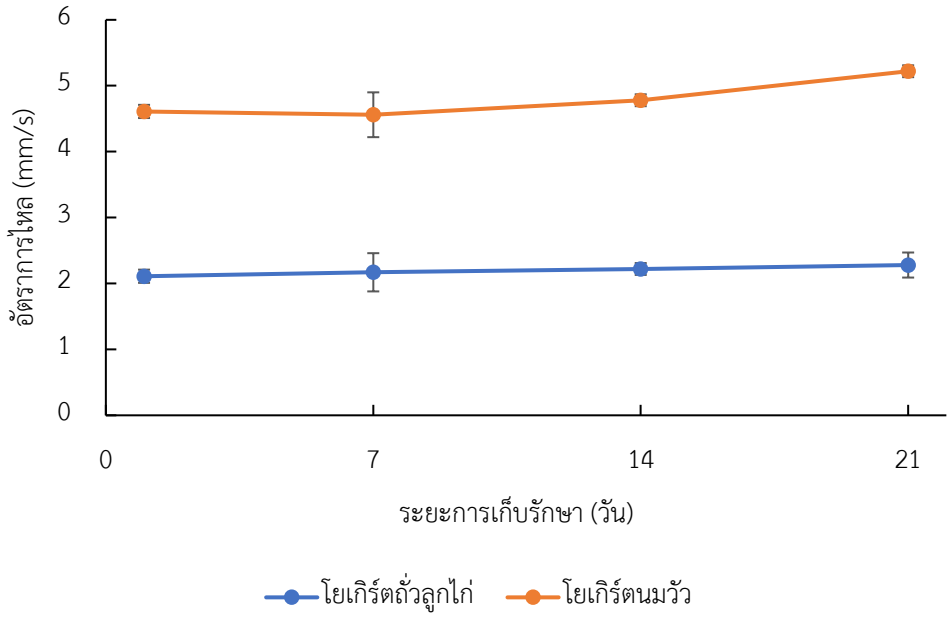
*ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

a, b, ... คือตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

*ไม่สามารถวัดค่าได้ คือ ของเหลวไหลไปจนถึงขอบของ Bostwick consistometer ก่อนหมดเวลา

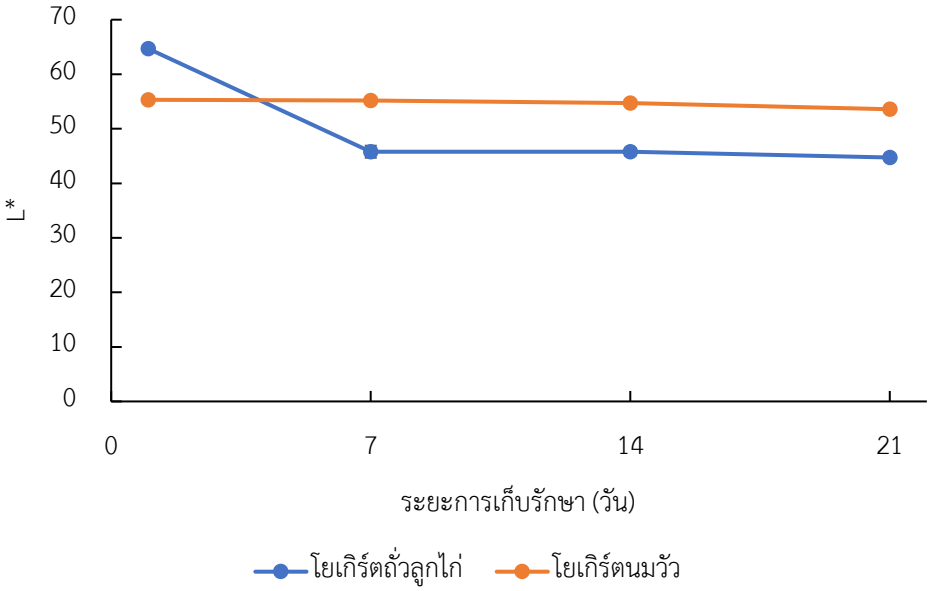
4.2 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพในโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v เปรียบเทียบกับโยเกิร์ตนมวัวในระหว่างการเก็บรักษา

การวัดอัตราการไหลเป็นการวิเคราะห์เพื่อประเมินความต้านทานต่อการไหลของโยเกิร์ต โดยระยะการไหลขึ้นอยู่กับความหนืดและยังขึ้นอยู่กับคุณสมบัติการยืดหยุ่นและการยึดเกาะของผลิตภัณฑ์กับพื้นผิวของเครื่องด้วย (Monnet และคณะ, 2008) จากผลการทดลองพบว่าอัตราการไหลของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เก็บที่อุณหภูมิ 4 °C ไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ในวันที่ช่วง 7 วันแรกของการเก็บรักษาและมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ในวันที่ 7 ถึง 21 ของการเก็บรักษา และอัตราการไหลของโยเกิร์ตนมวัวไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ในช่วง 14 วันแรกของการเก็บรักษาและมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ในวันที่ 14 ถึง 21 ของการเก็บรักษา ซึ่งอัตราการไหลมีความสัมพันธ์กับความหนืดแบบผกผัน โดยการลดลงของความหนืดอาจมีผลมาจากจากโครงสร้างภายในคือ เมทริกซ์ในโยเกิร์ตที่ดักจับเฟสเซรั่มทั้งหมดไม่ได้ ทำให้โครงสร้างเจลอ่อนแอลง ความหนืดของโยเกิร์ตจึงลดลง (Cruz และคณะ, 2013)

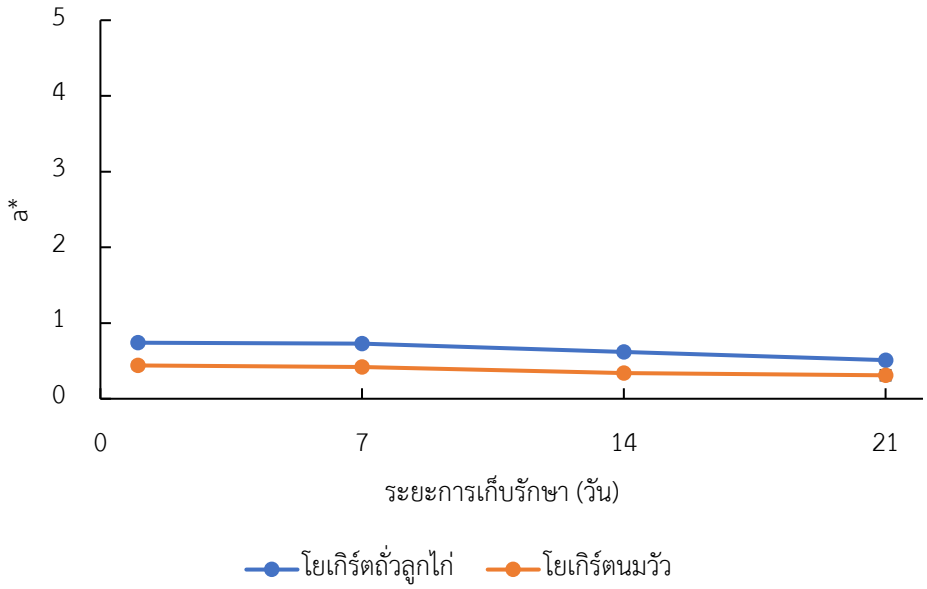


รูปที่ 5 ค่าอัตราการไหลของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัว ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน

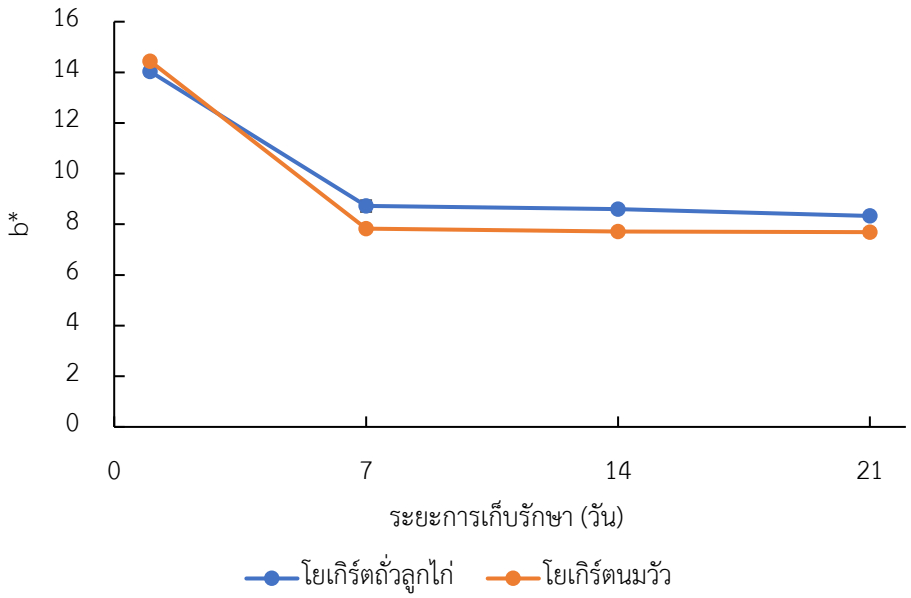
สีของโยเกิร์ตมีอิทธิพลอย่างมากต่อการยอมรับของผู้บริโภคและคุณภาพของผลิตภัณฑ์ อีกทั้งยังเป็นตัวบ่งชี้การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระหว่างการเก็บรักษา โดยรูปที่ 6, 7 และ 8 แสดงแนวโน้มของค่าสีของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่และโยเกิร์ตนมวัวระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน ซึ่งจากการวิเคราะห์ค่าสี พบว่าค่า L* a* และ b* ของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่และโยเกิร์ตนมวัวแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา เมื่อเก็บรักษาโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่อุณหภูมิต่ำส่งผลให้ใยอาหารในโยเกิร์ตเกิดความเปลี่ยนแปลง โดยเมื่อลดอุณหภูมิลงส่งผลให้โครงสร้างของโยอาหารถูกกักเก็บไว้ในเจลทำให้ลักษณะสีเปลี่ยนแปลงไป (Garcia-Perez และคณะ, 2005)



รูปที่ 6 ค่า L* ของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัว ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน



รูปที่ 7 ค่า a* ของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัว ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน



รูปที่ 8 ค่า b* ของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัว ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน

4.3 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางเคมีในโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v เปรียบเทียบกับโยเกิร์ตนมวัวในระหว่างการเก็บรักษา

ค่าความเป็นกรด-ด่างและปริมาณกรดทั้งหมดของตัวอย่างโยเกิร์ตมีอิทธิพลต่อการยอมรับของผู้บริโภคในด้านรสชาติและกลิ่น อีกทั้งยังส่งผลต่อภาวะการเจริญของแลคติกแอสิดแบคทีเรียในระหว่างการเก็บรักษา จากผลการทดลองพบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัวมีค่าลดลงเล็กน้อยระหว่างการเก็บรักษา โดยโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v มีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ระหว่างการเก็บรักษาที่ 7 ถึง 21 วัน (4.64 ± 0.05 ถึง 4.05 ± 0.07) และโยเกิร์ตนมวัวมีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา (4.19 ± 0.12 ถึง 3.82 ± 0.07) (ตารางที่ 8) ในขณะที่ปริมาณกรดทั้งหมดของทุกตัวอย่างมีปริมาณเพิ่มขึ้น โดยโยเกิร์ตนมวัวมีปริมาณกรดทั้งหมดอยู่ในช่วง 0.94%-1.07% ซึ่งมากกว่าโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แม้ว่าโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v จะมีปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้น โดยมีค่าอยู่ในช่วง 0.68%-0.82% อย่างไรก็ตามก็ยังมีค่าต่ำกว่าโยเกิร์ตนมวัว ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Hussein และคณะ (2020) ได้รายงานว่าค่าความเป็นกรด-ด่างของทุกตัวอย่างไบโอโยเกิร์ตชนิดคนที่เสริมแป้งถั่วลูกไก่มีค่าลดลง และปริมาณกรดทั้งหมดของทุกตัวอย่างไบโอโยเกิร์ตชนิดคนที่เสริมแป้งถั่วลูกไก่มีค่าเพิ่มขึ้น โดยปริมาณกรดทั้งหมดของไบโอโยเกิร์ตมีค่ามากกว่าในไบโอโยเกิร์ตที่ใส่แป้งถั่วลูกไก่ อีกทั้ง สุรัตน์ วังพิกุล และคณะ (2558) ได้รายงานว่าแลคติกแอสิด

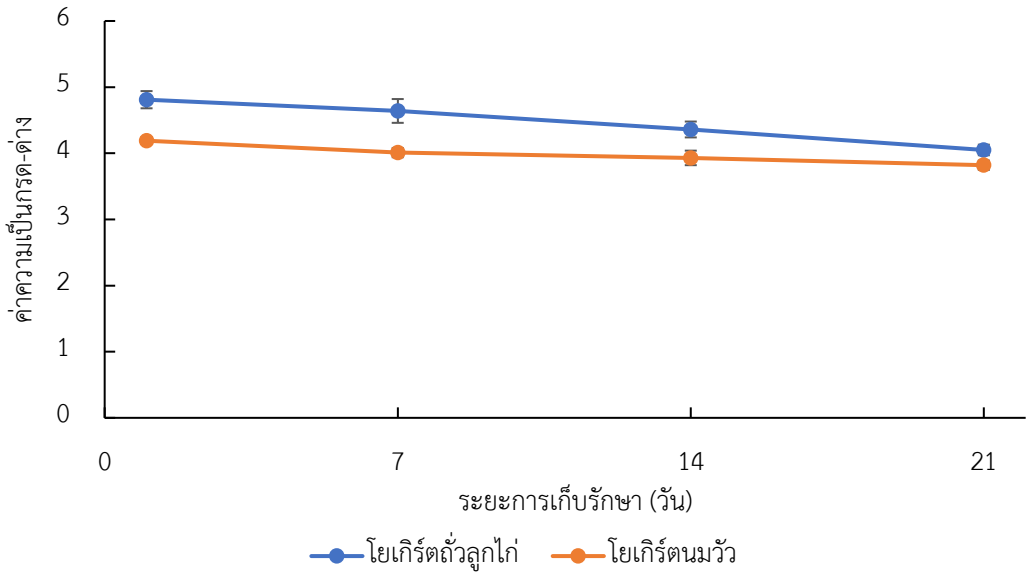
แบคทีเรียในระหว่างกระบวนการหมักมีความสามารถในการย่อยน้ำตาลกลูโคสผ่าน glycolysis pathway ได้ไพรูเวต และจากนั้นจะได้ผลิตภัณฑ์สุดท้าย คือ กรดแลคติก และโยเกิร์ตที่มีโพรไบโอติกแบคทีเรียจะมีค่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเติมส่วนผสมที่เป็นพืชตระกูลถั่ว เช่น แป้งถั่วลูกไก่ และโปรตีนถั่วลันเตา (Zara และคณะ, 2012) และจากการใส่น้ำตาลทรายลงในโยเกิร์ตในการทดลอง ซึ่งน้ำตาลจะเป็นแหล่งคาร์บอนของแลคติกแอสิดแบคทีเรียสำหรับการเกิดกิจกรรมการสร้างกรดแลคติก (ธัญรัตน์ ประชามอญ และคณะ, 2551)

ตารางที่ 8 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัว ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน

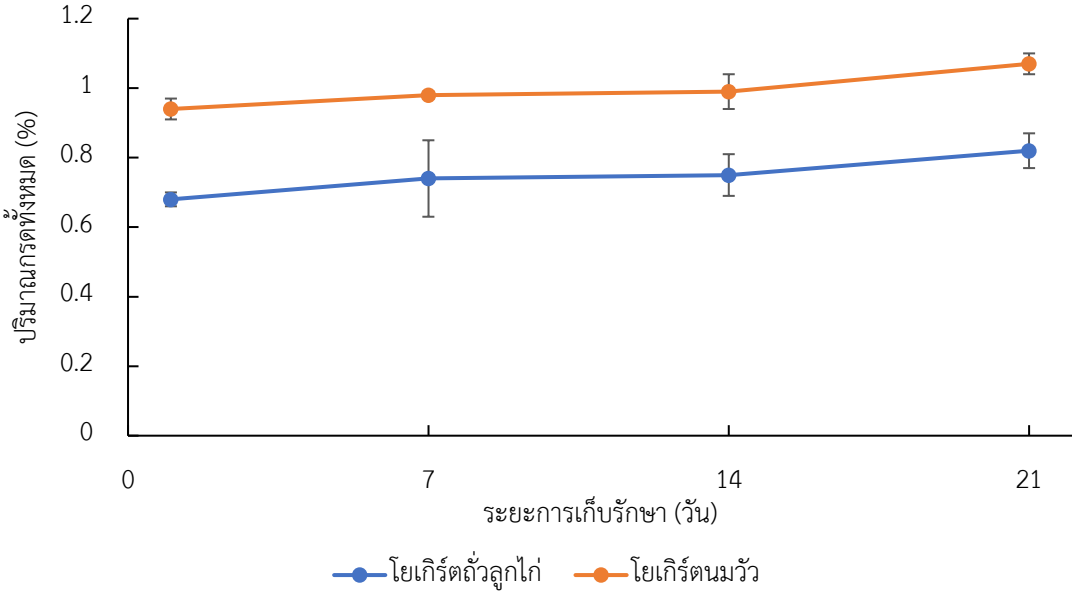
ตัวอย่าง	เวลาการเก็บรักษา (วัน)	pH	ปริมาณกรดทั้งหมด (%)
โยเกิร์ตถั่วลูกไก่	1	4.81^{a} ± 0.13	0.68^{d} ± 0.02
ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v	7	4.64^{a} ± 0.05	0.74^{cd} ± 0.03
	14	4.36^{b} ± 0.18	0.75^{cd} ± 0.11
	21	4.05^{cd} ± 0.07	0.82^{c} ± 0.01
โยเกิร์ตนมวัว	1	4.19^{bc} ± 0.12	0.94^{b} ± 0.06
	7	4.01^{cde} ± 0.11	0.98^{ab} ± 0.05
	14	3.93^{de} ± 0.08	0.99^{ab} ± 0.05
	21	3.82^{e} ± 0.07	1.07^{a} ± 0.03

*ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

a, b, ... คือตัวอักษรที่ต่างกันในคอลัมน์เดียวกันมีค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)



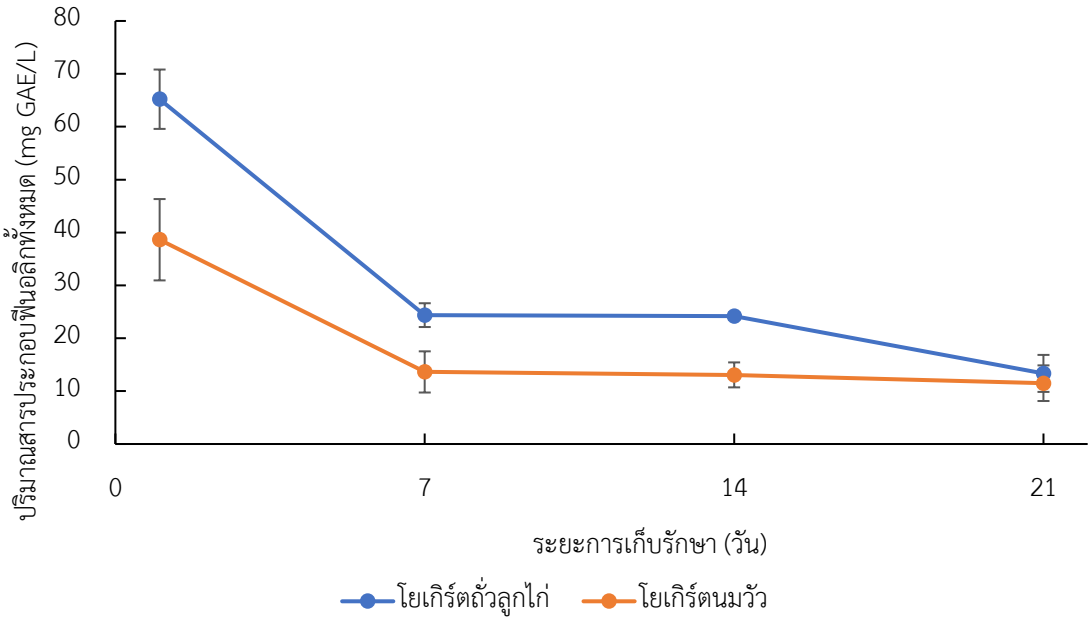
รูปที่ 9 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัว ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน



รูปที่ 10 ปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัว ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน

4.4 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v เปรียบเทียบกับโยเกิร์ตนมวัวในระหว่างการเก็บรักษา

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่พืชสร้างขึ้น มีความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือต้านอนุมูลอิสระ ต้านการตายของเซลล์ ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดลิโนเลอิกและ low-density lipoprotein (LDL) ป้องกันเนื้อเยื่อและ DNA จากการถูกทำลายด้วยอนุมูลอิสระในร่างกาย และมีประโยชน์ต่อสุขภาพด้านอื่น ๆ (ลือชัย บุตคุป, 2554) จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกพบว่าโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 65.2, 24.37, 24.19 และ 13.35 mg GAE/L ในวันที่ 1, 7, 14 และ 21 ตามลำดับ ในขณะที่โยเกิร์ตนมวัวมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 38.63, 13.63, 13.07 และ 11.5 mg GAE/L ในวันที่ 1, 7, 14 และ 21 ตามลำดับ ซึ่งโยเกิร์ตถั่วลูกไก่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ใน 14 วันแรกของการเก็บ เช่นเดียวกันกับผลการวิจัยโดย Hussein และคณะ (2020) ซึ่งปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในโยเกิร์ตที่สูงนี้เป็นผลเนื่องมาจากในถั่วลูกไก่มีสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิด ซึ่งสาระสำคัญที่พบในถั่วลูกไก่จัดอยู่ในกลุ่มไอโซฟลาโวน ได้แก่ biochanin A [5, 7-dihydroxy-4'-methoxyisoflavone] และ formononetin [7-hydroxy-4'-methoxyisoflavone] (Jukanti และคณะ, 2012) นอกจากนี้กระบวนการหมักยังช่วยเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในถั่วลูกไก่ (Fernandez-Orozco และคณะ, 2008) และเพิ่มการปลดปล่อยฟลาโวนอยด์ที่มีอยู่มากในถั่วลูกไก่ ในขณะที่สารประกอบฟีนอลิกในโยเกิร์ตนมวัวมาจากสารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในนมวัว เช่น เจนิสทีน อีควอล และเดดซีน (Kuhnen และคณะ, 2014) โดยแนวโน้มการลดลงของสารประกอบฟีนอลิกในทั้ง 2 ตัวอย่างแสดงดังรูปที่ 11 ซึ่งเป็นปรากฏการณ์เดียวกันกับงานวิจัยของ Hussein และคณะ (2020) ที่อธิบายว่าการลดลงของสารประกอบฟีนอลิกเกิดจากสารประกอบฟีนอลิกที่มีฟลาโวนอยด์เป็นหลักเกิดการสลายตัวอันเป็นผลมาจากการสัมผัสกับออกซิเจน

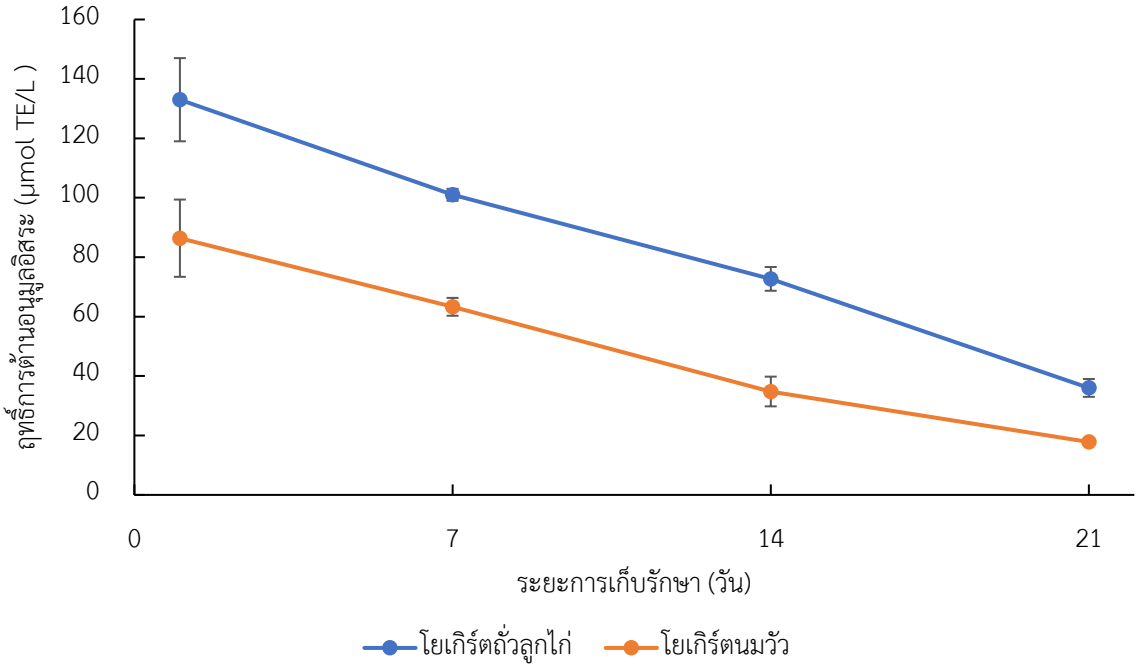


รูปที่ 11 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัว ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน

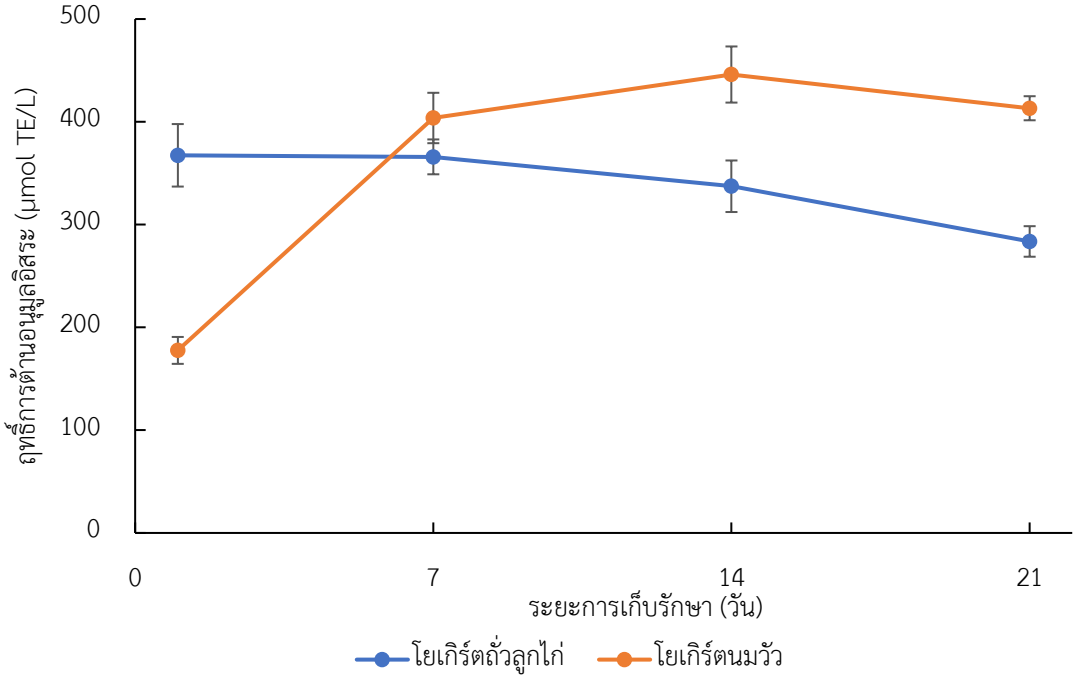
*GAE คือ gallic acid equivalent

การทดลองนี้วิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity และวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP) โดยการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH เป็นการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยให้อนุมูลอิสระ DPPH ที่มีสีม่วงเข้าทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์แล้วทำให้สีม่วงของสารละลายจางลง (บุหรัน พันธุสวรรค์, 2556) ในขณะที่การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP เป็นการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์ ferric (Fe^{3+}) ให้อยู่ในรูป ferrous (Fe^{2+}) จากการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของตัวอย่างโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัวในระหว่างการเก็บรักษา พบว่าโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH อยู่ในช่วง 36-133 µmol trolox equivalent (TE)/L ในขณะที่โยเกิร์ตนมวัวมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH อยู่ในช่วง 17.8-86.4 µmol TE/L ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ที่สูงกว่าในทุกระยะการเก็บเช่นเดียวกัน เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่มากในถั่วลูกไก่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันสูง (ลือชัย บุตคุป, 2554) และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระยังเป็นผลมาจากแคโรทีนอยด์ วิตามินซีและวิตามินอี ซาโปนิน สเตอรอล และเพปไทด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ (เพปไทด์ CPe-III ที่มาจาก albumin hydrolysate) ซึ่งมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูง (Xue และคณะ, 2015) ในขณะที่ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในโยเกิร์ตนมวัวมาจากกรดอะมิโนที่มี

ซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ (เช่น ซิสเตอีน) ฟอสเฟต วิตามินเอและอี แคโรทีนอยด์ สังกะสี ซีลีเนียม ระบบเอนไซม์ ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทสคะตะเลส กลูตาไธโอนเพอร์ออกซิเดส โอลิโกแซ็คคาไรด์ของนม และเพปไทด์ที่ถูกผลิตขึ้นระหว่างกระบวนการหมักเป็นหลัก (Khan และคณะ, 2019) โดยทั้ง 2 ตัวอย่างมีแนวโน้มของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ที่ลดลง เมื่อระยะการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น และจากการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของโยเกิร์ตทั้ง 2 ตัวอย่าง ด้วยวิธี FRAP พบว่าโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระอยู่ในช่วง 283.6-367.4 μmol TE/L โดยมีแนวโน้มลดลง ในขณะที่โยเกิร์ตนมวัวมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP อยู่ในช่วง 177.6-446.0 μmol TE/L โดยในวันแรกโยเกิร์ตนมวัวมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP น้อยกว่าโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v จากนั้นจึงเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แล้วลดลงหลังจากวันที่ 14 ซึ่งมากกว่าโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v ในช่วง 14 วันสุดท้ายของการเก็บอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยวันแรกหลังจากการผลิตโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP สูงกว่าโยเกิร์ตนมวัว ซึ่งเป็นผลมาจากปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สูงในถั่วลูกไก่ สารต้านอนุมูลอิสระต่าง ๆ และความสามารถในการรีดิวซ์ของเพปไทด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพของถั่วลูกไก่ และการเพิ่มขึ้นของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในโยเกิร์ตนมวัวเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP เกิดขึ้นเนื่องจากเพปไทด์ที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพของนมวัวที่ถูกผลิตขึ้นในกระบวนการหมักซึ่งมีความสามารถในการรีดิวซ์ ferric (Fe^{3+}) ให้อยู่ในรูป ferrous (Fe^{2+}) จากการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระทั้ง 2 วิธี พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v มีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้น เนื่องจากการสลายตัวของสารต้านอนุมูลอิสระ (Hussein และคณะ, 2020)



รูปที่ 12 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัว ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน

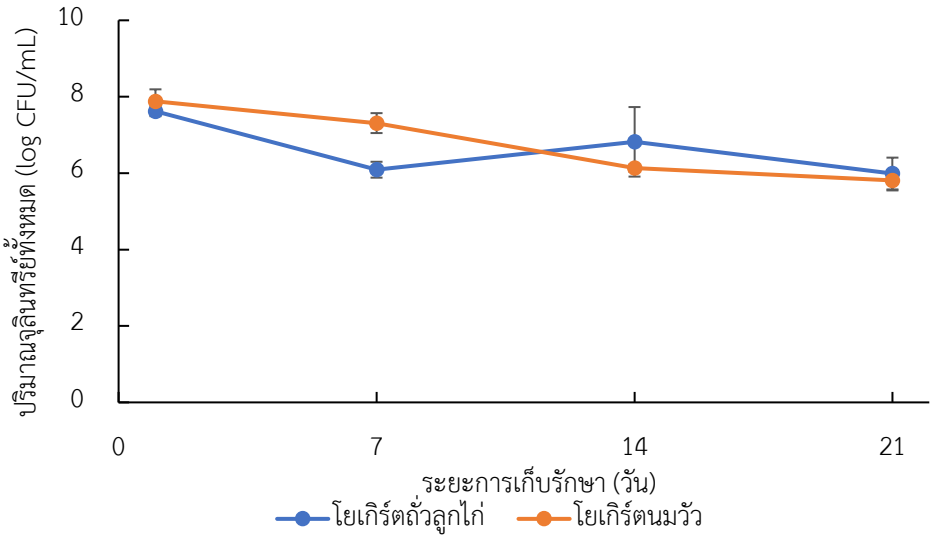


รูปที่ 13 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัว ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน

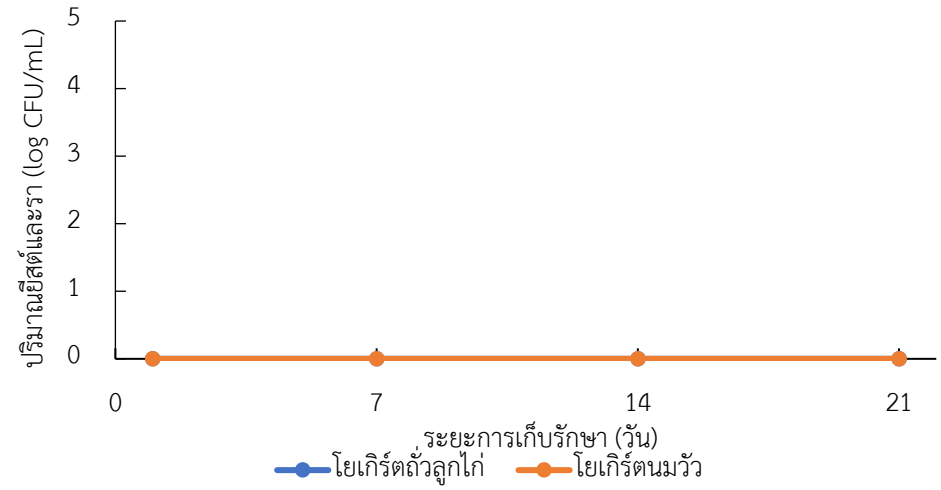
*TE คือ trolox equivalent

4.5 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางจุลชีววิทยาในโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v เปรียบเทียบกับโยเกิร์ตนมวัวในระหว่างการเก็บรักษา

การวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ในโยเกิร์ตสามารถบ่งชี้ถึงมาตรฐานสุขอนามัยของกระบวนการผลิตและบ่งบอกถึงอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ได้ ซึ่งจากการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในตัวอย่างโยเกิร์ตนมวัว พบว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดมีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ตลอดระยะการเก็บรักษาดังแสดงในรูปที่ 14 ในขณะที่ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v มีปริมาณลดลงในช่วง 7 วันแรก จากนั้นเพิ่มขึ้นในวันที่ 14 และลดลงอีกครั้งในวันที่ 21 ซึ่งในวันที่ 1 ของการเก็บรักษาในตัวอย่างโยเกิร์ตนมวัวมีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 7.88 log CFU/mL และในตัวอย่างโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v มีปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดเท่ากับ 7.62 log CFU/mL โดยปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์คือ น้ำตาลที่เป็นแหล่งคาร์บอนของจุลินทรีย์ ทั้งนี้ปริมาณน้ำตาลที่แตกต่างกันโยเกิร์ตทั้งสองชนิดส่งผลอย่างมากต่อการเจริญของจุลินทรีย์ในระหว่างการเก็บ (Kaiser, 2019) ในขณะที่ไม่พบยีสต์และราตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 21 วัน (รูปที่ 15) นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณโคลิฟอร์มมีค่าน้อยกว่า 1 MPN/100 mL และไม่พบ *E. coli* ในทุกตัวอย่างตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา 21 วัน (ตารางที่ 9) จากประกาศกระทรวงสาธารณะสุข (ฉบับที่ 353) เรื่อง นมเปรี้ยว ที่กำหนดให้นมเปรี้ยวที่ไม่ได้ปรุงแต่งต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐาน ดังนี้ ตรวจพบแบคทีเรียชนิดโคลิฟอร์มน้อยกว่า 3 MPN ต่อนมเปรี้ยว 1 g ตรวจพบเชื้อราได้ไม่เกิน 100 โคโลนี สำหรับนมเปรี้ยวที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมัก 1 g และตรวจพบยีสต์ไม่เกิน 100 โคโลนี สำหรับนมเปรี้ยวที่ไม่ได้ใช้ยีสต์ในการหมัก และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมัก 1 g จึงสามารถประมาณอายุการเก็บรักษาของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v ว่ามีอายุการเก็บไม่น้อยกว่า 21 วัน ที่อุณหภูมิ 4 ºC



รูปที่ 14 ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัว ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน



รูปที่ 15 ปริมาณยีสต์และราของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัว ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน

ตารางที่ 9 ปริมาณโคลิฟอร์มและ *E. coli* ของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัว ในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน

	ระยะการเก็บรักษา (วัน)			
	1	7	14	21
โยเกิร์ตถั่วลูกไก่				
Coliform (MPN/100 mL)	<1	<1	<1	<1
E. coli	-	-	-	-
โยเกิร์ตนมวัว				
Coliform (MPN/100 mL)	<1	<1	<1	<1
E. coli	-	-	-	-

หมายเหตุ: เครื่องหมาย – แสดงถึงไม่พบ *E. coli* ใน 100 mL

บทที่ 5
สรุปผลและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาหาสูตรโยเกิร์ตที่มีการแปรปริมาณโปรตีนถั่วเหลืองเท่ากับ 5%, 6% และ 7% w/v พบว่าโยเกิร์ตที่มีการเติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v มีค่าปริมาณกรดทั้งหมดเป็นไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 353 พ.ศ. 2556 และมีค่าความหนืดใกล้เคียงกับโยเกิร์ตในท้องตลาด ดังนั้นจึงเลือกสูตรโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v ไปศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพด้านต่าง ๆ ในระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 ℃ เป็นเวลา 21 วัน โดยวิเคราะห์สมบัติต่างๆ ทุก 7 วัน จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพพบว่าค่าสี L* a* และ b* มีค่าลดลงตลอดการเก็บรักษา เช่นเดียวกับความหนืดและค่าความเป็นกรด-ด่างของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่มีการเติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัวที่มีค่าลดลงเล็กน้อยตลอดการเก็บรักษา และพบว่าปริมาณกรดทั้งหมดของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v และโยเกิร์ตนมวัวมีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่มีการเติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v มีปริมาณสูงกว่าในโยเกิร์ตนมวัวในระยะการเก็บ 14 วันแรกอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v มีค่าที่สูงกว่าในโยเกิร์ตนมวัว ในขณะที่โยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ที่สูงกว่าโยเกิร์ตนมวัวในวันแรกหลังจากการผลิต โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v มีแนวโน้มลดลงตลอดระยะการเก็บรักษา และพบว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในโยเกิร์ตนมวัวมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ตลอดอายุการเก็บรักษา ในขณะที่ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดในโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ที่เติมโปรตีนถั่วเหลือง 6% w/v มีปริมาณลดลงตั้งแต่วันที่ 1 จนถึงวันที่ 7 ของการเก็บรักษาและเพิ่มขึ้นในวันที่ 14 จากนั้นลดลงอีกครั้งในวันที่ 21 ของการเก็บรักษา ในขณะที่ไม่พบยีสต์และราในทุกตัวอย่าง นอกจากนี้พบว่าปริมาณโคลิฟอร์มมีค่าน้อยกว่า 1 MPN/mL และไม่พบ *E. coli* ในทุก ๆ ตัวอย่างตลอดการเก็บที่อุณหภูมิ 4 ºC เป็นเวลา 21 วัน

ข้อเสนอแนะของงานวิจัยนี้คือ ควรมีการปรับปรุงรสชาติโดยเติมผลไม้หรือใช้สารแต่งกลิ่นรสเพื่อให้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค และเพิ่มการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส รวมถึงการศึกษาลักษะเนื้อสัมผัสของโยเกิร์ต

เอกสารอ้างอิง

ภาษาไทย

Amki Green. **กระบวนการผลิตโยเกิร์ต** [ออนไลน์]. 2562. แหล่งที่มา: https://www.trueplookpanya.com/knowledge/content/69146/-blo-scibio-sci- [9 กันยายน 2563]

Kitchenpedia. **โยเกิร์ต นมบูดที่มีประโยชน์** [ออนไลน์]. 2561. แหล่งที่มา: https://themomentum.co/yogurt-kitchenpedia/ [11 กุมภาพันธ์ 2564]

Nectec. **การพาสเจอไรซ์** [ออนไลน์]. (ม.ป.ป). แหล่งที่มา: https://www.nectec.or.th/schoolnet/library/snet4/cell/past.html [13 กันยายน 2563]

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. **วิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์อาหารเล่มที่ 1**. [ออนไลน์]. 2554. แหล่งที่มา: http://e-library.dmsc.moph.go.th/ebooks/files/วิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์อาหาร%20เล่มที่%201_2%20มี.ค.%2058.pdf [1 กุมภาพันธ์ 2564]

กระทรวงสาธารณสุข. **ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 353) พ.ศ. 2556 เรื่องนมเปรี้ยว.** คัดจากราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่มที่ 130, ตอนพิเศษ 87 ง (ลงวันที่ 24 กรกฎาคม 2556).

กองสุขาภิบาล กระทรวงสาธารณสุข. **คู่มือวิชาการอนามัยอาหาร.** กรุงเทพ: โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก, 2537.

ธัญรัตน์ ประชามอญ, มัลลิกา บุญมี และกรกช ฮามสุโพธิ์. การผลิตกรดแลกติกโดยใช้น้ำอ้อยเป็นสารตั้งต้น. **วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น**. 8 (2561): 1-8.

นิธิยา รัตนาปนนท์. **เคมีอาหาร**. กรุงเทพมหานคร: โอ. เอส.พริ้นติ้ง เฮ้าส์, 2551.

บุหรัน พันธุ์สวรรค์. อนุมูลอิสระ สารต่านอนุมูลอิสระ และการวิเคราะหฤทธิ์ต่านอนุมูลอิสระ. **วารสารวิทยาศาสตรและเทคโนโลยี** 3 (2556): 275-286.

ปรางวลัย พูลทวี. **กรีก โยเกิร์ตมีดีที่ตรงไหน** [ออนไลน์]. 2561. แหล่งที่มา: https://themomentum.co/kitchenpedia-greek-yogurt/ [30 พฤษภาคม 2564]

ปิยนุสร์ น้อยด้วง และปัทมา คล้ายจันทร์. การผลิตโยเกิร์ตกล้วยหอม. **วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม** 1 (มิถุนายน 2547): 24-30.

พรรณจิรา วงศ์สวัสดิ์. **โยเกิร์ต** [ออนไลน์]. 2555. แหล่งที่มา: https://digital.lib.kmutt.ac.th/magazine/issue7/articles/article3.html [9 กันยายน 2563]

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. **carotenoid / แคโรทีนอยด์** [ออนไลน์]. 2561. แหล่งที่มา: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1228/carotenoid-แคโรทีนอยด์ [1 กันยายน 2563]

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. **High Temperature Short Time (HTST)** [ออนไลน์]. 2562. แหล่งที่มา: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1580/high-temperatu

re-short-time [13 กันยายน 2563]

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. **Isoflavone / ไอโซฟลาโวน** [ออนไลน์]. 2561. แหล่งที่มา: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/3741/isoflavone-ไอโซฟลาโวน [1 กันยายน 2563]

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. **Lactic acid bacteria / แบคทีเรียผลิตกรดแล็กทิก** [ออนไลน์]. (ม.ป.ป). แหล่งที่มา: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0782/lactic-acid-bacteria-แบคทีเรียผลิตกรดแลกติก [13 กันยายน 2563]

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. **Pasteurization / การพาสเจอไรซ์** [ออนไลน์]. 2562. แหล่งที่มา: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0428/pasteurization [13 กันยายน 2563]

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. **Probiotic/ โปรไบโอติก** [ออนไลน์]. (ม.ป.ป). แหล่งที่มา: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0780/probiotic [14 กันยายน 2563]

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. **Standardization / การปรับมาตรฐาน** [ออนไลน์]. (ม.ป.ป). แหล่งที่มา: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0500/standardization [11 กุมภาพันธ์ 2564]

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. **การตรวจสอบคุณภาพน้ำนมดิบ** [ออนไลน์]. (ม.ป.ป). แหล่งที่มา: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/3179/การตรวจสอบคุณภาพน้ำนมดิบ [11 กุมภาพันธ์ 2564]

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. **โปรตีนถั่วเหลือง** [ออนไลน์]. 2553. แหล่งที่มา: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2036/soy-protein [9 กุมภาพันธ์ 2564]

ลือชัย บุตคุป. สารประกอบฟีโนลิกและฤทธิ์ทางชีวภาพ. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม** 31 (2554): 443-455.

ศิริบุญ พูลสวัสดิ์. **โยเกิร์ต : อาหารดีมีคุณค่า** [ออนไลน์]. 2552. แหล่งที่มา: https://healthythai.online/categories/healthful/news/1298 [11 กุมภาพันธ์ 2564]

สลิลา มหันต์เชิดชูวงศ์. **G101 โยเกิร์ตศึกษา** [ออนไลน์]. 2561. แหล่งที่มา: https://www.greenery.org/articles/g101-yogurt/ [11 กุมภาพันธ์ 2564]

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ. **น้ำนมโคดิบ Raw cow milk** [ออนไลน์]. 2553. แหล่งที่มา: https://www.acfs.go.th/standard/download/raw_cow_milk.pdf [13 กันยายน 2563]

สุนัดดา โยมญาติ. **โยเกิร์ต (Yogurt)** [ออนไลน์]. 2557. แหล่งที่มา: http://biology.ipst.ac.th/?p=987 [10 กันยายน 2563]

สุปราณี แจ้งบำรุง และคนอื่นๆ. **ปริมาณสารอ้างอิงที่ควรได้รับประจำวันสำหรับคนไทย**. กรุงเทพมหานคร: องค์การรับส่งสินค้าและพัสดุ (รสพ), 2546.

สุภาภรณ์ วงศ์พิพันธ์. **การพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพจากโยเกิร์ตถั่วเหลืองสำหรับผู้หญิงวัยทอง.** วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร.

สุรัตน์ วังพิกุล, วิรัชนีย์ แก่นแสนดี, สมพร มูลมั่งมี และปริยาภรณ์ อิศรานุวัฒน์. **การพัฒนาและเพิ่มศักยภาพผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตน้ำนมข้าวโพดด้วยโปรไบโอติกแลคติกแอสิดแบคทีเรีย Development and increasing potential of corn milk based yogurt by probiotic lactic acid bacteria**. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ. 2558.

อาคม กาญจนประโชติ และคนอื่น ๆ. **การศึกษาเพื่อพัฒนาเทคโนโลยีการผลิตถั่วลูกไก่ (มัน มัน ; ชิคพี) ในพื้นที่สูง Study for technologies development of chickpea (Cicer arietinum L.) production on the highlands** (รายงานผลการวิจัย). (2547).

อำพรรณ ชัยกุลเสรีวัฒน์. โปรไบโอติกและพรีไบโอติกมีประโยชน์ต่อร่างกายคุณอย่างไร. **วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม** 2 (2548).

อำพรรณ ชัยกุลเสรีวัฒน์. การผลิตนมเปรี้ยวพร้อมดื่มที่เสริมด้วยฟักข้าว. **วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม** 7 (2554): 23-30.

อรอนงค์ นัยวิกุล. **เคมีทางธัญญาหาร.** กรุงเทพมหานคร: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, 2538.

ภาษาอังกฤษ

Atli, A. **Soybeans 101: Nutrition Facts and Health Effects** [Online]. 2019. Available from: https://www.healthline.com/nutrition/foods/soybeans [2020, Oct 10]

Becca, D. **The 10 Types of Yogurt You Need to Know About** [Online]. 2016. Available from: https://www.eatthis.com/yogurt/ [2020, Sep 10]

Benitez, E.I., Genovese, D.B., and Lozano, J.E. Effect of typical sugars on the viscosity and colloidal stability of apple juice. **Food Hydrocolloids** 23 (2009): 519-525.

Blodgett, R. **BAM Appendix 2: Most Probable Number from Serial Dilutions** [Online]. 2020. Available from: https://www.fda.gov/food/laboratory-methods-food/bam-appendix-2-most-probable-number-serial-dilutions [2021, April 25]

Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E., and Berset, C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology** 28 (1995): 25-30.

Cruz, A., Cavalcanti, R., Guerreiro, L., Sant'Ana, A., Nogueira, L., Oliveira, C., and Bolini, H. Developing a prebiotic yogurt: Rheological, physico-chemical and microbiological aspects and adequacy of survival analysis methodology. **Journal of Food Engineering**, 114 (2013): 323–330.

Cynthia, B., Deevi, K.C., Pooran, G., Davala, M.S., and Jeff D. **Short-Duration Chickpea Technology: Enabling Legumes Revolution in Andhra Pradesh, India** [Online]. 2015. Available from: https://www.researchgate.net/publication/281281025_Short-Duration_Chickpea_Technology_Enabling_Legumes_Revolution_in_Andhra_Pradesh_India [2020, Sep 23]

Debon, J., Prudêncio, E.S., and Petrus, J.C.C. Rheological and physicochemical characterization of prebiotic microfiltered fermented milk. **Journal of Food Engineering**, 99 (2010): 128–135.

Fernandez-Orozco, R., Frias, J., Zielinski, H., Muñoz, R., Piskula, M.K., Kozlowska, H., and Vidal-Valverde, C. Evaluation of bioprocesses to improve the antioxidant properties of chickpeas. **LWT - Food Science and Technology** 42 (May 2009): 885-892.

Garcı a-Perez, F.J., Lario, Y., Fernandez-Lopez, J., Sayas, E., Perez-Alvarez, J.A. and Sendra, E. Effect of orange fiber addition on yogurt color during fermentation and cold storage. **Color research and application** 30 (2005): 457-463.

Guénard-Lampron, V., St-Gelais, D., Villeneuve, S., and Turgeon, S.L. Individual and sequential effects of stirring, smoothing, and cooling on the rheological properties of nonfat yogurts stirred with a technical scale unit. **Journal of Dairy Science** 102 (2019): 190-201.

Heuzé, V., Tran, G., Boudon, A., Bastianelli, D., and Lebas, F. **Chickpea (*Cicer arietinum*)** [Online]. 2015. Available from: https://www.feedipedia.org/node/319 [2020, Sep 12]

Hussein, H., Awad, S., El-Sayed, I., and Ibrahim, A. Impact of chickpea as prebiotic, antioxidant and thickener agent of stirred bio-yoghurt. **Annals of Agricultural Sciences** 65 (2020): 49-58.

Jane, H., Victoria, D., and Barbara, D. **Carotenoids** [Online]. 2016. Available from: https://lpi.oregonstate.edu/mic/dietary-factors/phytochemicals/carotenoids [2020, Sep 1]

Jukanti, A.K., Gaur, P.M., Gowda, C.L.L., and Chibba, R.N. Nutritional quality and health benefits of chickpea (*Cicer arietinum* L.): a review. **British Journal of Nutrition** 108 (2012): S11–S26.

Kaiser G. **Factors that Influence Bacterial Growth**. [Online]. 2021. Available from: https://bio.libretexts.org/Bookshelves/Microbiology/Book%3A_Microbiology_(Kaiser)/Unit_7%3A_Microbial_Genetics_and_Microbial_Metabolism/17%3A_Bacterial_Growth_and_Energy_Production/17.2%3A_Factors_that_Influence_Bacterial_Growth. [2021, May 1]

Khan, I.T., Nadeem, M., Imran, M., Ullah, R., Ajmal, M., and Jaspal, M.H. Antioxidant properties of Milk and dairy products: a comprehensive review of the current knowledge. **Lipids in Health and Disease** 18 (2019).

Kuhnen, S, Moacyr, J.R., Mayer, J.K., Navarro, B.B., Trevisan, R., Honorato, L.A., Maraschin, M., and Pinheiro Machado Filho, L.C. Phenolic Content And Ferric Reducing-Antioxidant Power Of Cow's Milk Produced In Different Pasture-Based Production Systems In

Southern Brazil. **Journal of the science of food and agriculture** 94 (2014): 3110-3117.

Mohar, S., **Chickpea: Crop Wild Relatives for Enhancing Genetic Gains**. London: Academic Press, 2020.

Montemurro, M., Pontonio, E., Coda, R., and Rizzello, C.G. Plant-Based Alternatives to Yogurt: State-of-the-Art and Perspectives of New biotechnological Challenges. **Foods** 10 (2021): 316.

Naser, M.S., Mohammad, C., Ali-Asghar, S., Ali, M.A., and Abolfazl, A.G. Nutritional evaluation of *kabuli* and *desi* type chickpeas (*cicer arietinum* L.) for ruminants using in vitro gas production technique. **African Journal of Biotechnology** 7 (August 2008): 2946-2951.

Purushothaman, R., Upadhyaya, H.D., Gaur, P.M., Gowda, C.L.L., and Krishnamurthy, L. Kabuli and desi chickpeas differ in their requirement for reproductive duration. **Field Crops Research** 163 (2014): 24–31.

Senthil, R., and Arulkanna, P. Benefits of probiotics: A review. **International Journal of Current Research** 8 (2010): 079-081.

Shori, A.B. Nutritional and therapeutical values of chickpea water extract enriched yogurt made from cow and camel milk. **American Journal of Drug Discovery and Development** 2 (2013): 47-59.

Van der Maesen, L.J.G. **Origin, history and taxonomy of chickpea**. Wallingford: Commonwealth Agricultural Bureaux International, 1988.

Waterhouse, A.L. Determination of total phenolic compounds. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry** (2002) Units I: I1.1.1-I1.1.8.

Xue, Z., Wen, H., Zhai, L., Yu, Y., Li, Y., Yu, W., Cheng, A., Wang, C., and Kou, X. Antioxidant activity and anti-proliferative effect of a bioactive peptide from chickpea (*Cicer arietinum* L.). **Food Research International** 77 (2015): 75-81.

ภาคผนวก ก
วิธีวิเคราะห์ทางกายภาพ

ก.1 ค่าสีของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่

วัดค่าสีของโยเกิร์ตด้วยเครื่อง chroma meter (Minolta, Model CR-300 series, Japan) ระบบ CIE LAB แล้วบันทึกค่า L*, a*, b* และปรับมาตรฐานเครื่องทุกครั้งก่อนทำการวัดทุกครั้ง

โดย	ค่า L*			แสดงถึง	ค่าความสว่าง
	ค่า a*			แสดงถึง	ค่าสีแดงและสีเขียว
	ค่า b*			แสดงถึง	ค่าสีเหลืองและสีน้ำเงิน
	ค่า a*	เป็น	+	แสดงถึง	สีแดง
	ค่า a*	เป็น	-	แสดงถึง	สีเขียว
	ค่า b*	เป็น	+	แสดงถึง	สีเหลือง
	ค่า b*	เป็น	-	แสดงถึง	สีน้ำเงิน

ก.2 อัตราการไหลของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่

วัดอัตราการไหลโดยใช้เครื่อง Bostwick consistometer (CSC Scientific, USA) โดยใส่ตัวอย่างลงในช่องบรรจุจนเต็ม จากนั้นปล่อยให้ไหลเป็นเวลา 30 s และบันทึกระยะทางที่ไหล รายงานผลในหน่วย mm/s

ก.3 ความเป็นกรด-ด่างของโยเกิร์ตถั่วลูกไก่

วัดค่าความเป็นกรด-ด่างโดยใช้เครื่อง pH meter (Inobab, Germany) โดยก่อนการวัดทุกครั้งต้องทำการปรับมาตรฐานเครื่อง โดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 4, 7 และ 10 แล้วบันทึกผล

ก.4 ความเป็นกรดจากการไทเทรต (titratable acidity, TA)

ชั่งตัวอย่างโยเกิร์ต 2 g เจือจางด้วยน้ำกลั่น 30 mL หยดฟีนอล์ฟทาลีนอินดิเคเตอร์ 3-5 หยด ไทเทรตกับสารละลายมาตรฐาน 0.1 N โซเดียมไฮดรอกไซด์

$$\%\ \text{titratable acidity} = \frac{\text{ปริมาตร } NaOH \text{ ที่ใช้ } x\ Normality \text{ ของ } NaOH\ x\ mol\ equivalent \text{ ของกรดแลคติก } x\ 100}{\text{ปริมาณตัวอย่างโยเกิร์ตที่ใช้ } x\ 1000}$$

mol equivalent ของกรดแลคติก = 90.08 g/mol

ภาคผนวก ข
วิธีวิเคราะห์ทางเคมี

ข.1 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity

วิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity ตามวิธีของ Brand-williams และคณะ (1995)

สารเคมี

6-hydroxyl- 2, 5, 7, 8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (trolox) (fluka, Denmark)

2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (fluka, USA)

methanol 99.9% (A. R. grade, Fisher Scientific, UK)

วิธีการเตรียมสารละลาย

สารละลายมาตรฐาน trolox

ชั่ง trolox 25 mg ผสมกับสารละลายเมทานอล แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 10 mL จะได้สารละลาย trolox ที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 10,000 µM

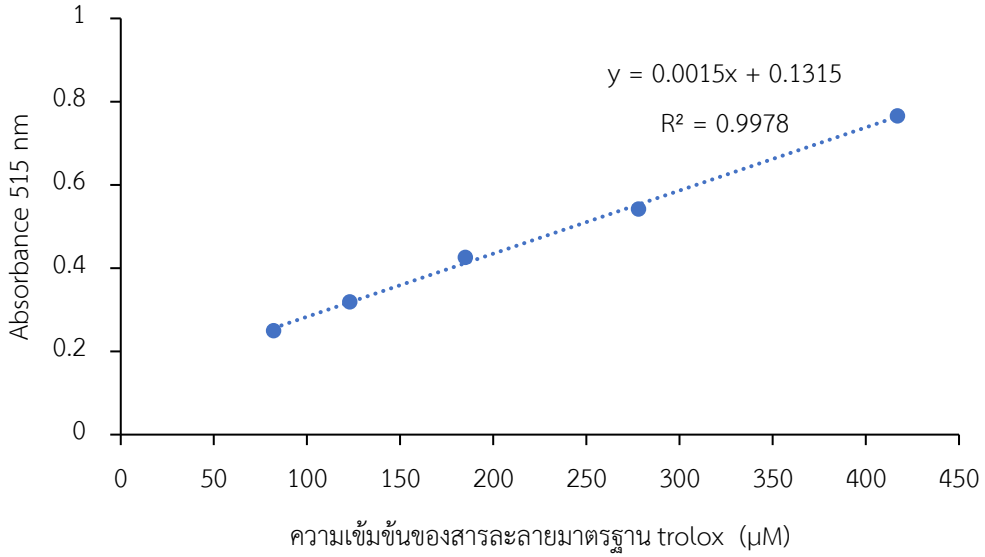
สารละลาย DPPH

- เตรียมสารละลาย DPPH stock solution โดยละลาย DPPH 0.0024 g ในเมทานอล 50 mL ปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยเมทานอล จะได้สารละลาย DPPH เข้มข้น 0.6 mM
- เตรียม daily working solution โดยปิเปตสารละลาย DPPH stock solution 10 mL ลงในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 50 mL ปรับปริมาตรด้วยสารละลายเมทานอล จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm ($A_{initial}$) ปรับค่าการดูดกลืนแสงให้มีค่า 1.1 ด้วยสารละลายเมทานอลหรือสารละลาย DPPH stock solution

การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity

1. ปั่นเหวี่ยงโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ แล้วใช้ส่วนใสสำหรับการวิเคราะห์
2. ปิเปตส่วนใสที่ได้จากโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ 250 µL ผสมกับสารละลาย DPPH ปริมาตร 4.75 mL ในหลอดทดลอง
3. ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 min

4. วัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 515 nm โดยใช้สารละลายเมทานอลเป็น blank
5. หักลบค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ($A_{initial}$) ด้วยค่าการดูดกลืนแสงที่ได้จากตัวอย่าง (A_{final}) ได้เป็นผลต่างของค่าการดูดกลืนแสง ($A_{different}$)
6. นำผลต่างของค่าการดูดกลืนแสง ($A_{different}$) ที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน trolox และรายงานฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างในหน่วย μmol trolox equivalent/L



รูปที่ 16 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity

ข.2 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP)

วิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP) ดัดแปลงจากวิธีของ Benzie และ Strain (1996)

สารเคมี

6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid (trolox) (Sigma Aldrich, USA)

sodium acetate trihydrate (Ajax Finechem, Australia)

tripyridyltriazine (TPTZ) (Merck, Germany)

ferric chloride (POCH S.A., Poland)

glacial acetic acid (A.R. grade, J.T. Baker Neutrasorb, USA)

0.1 M hydrochloric acid (A.R. grade, Ajax Finechem, Australia)

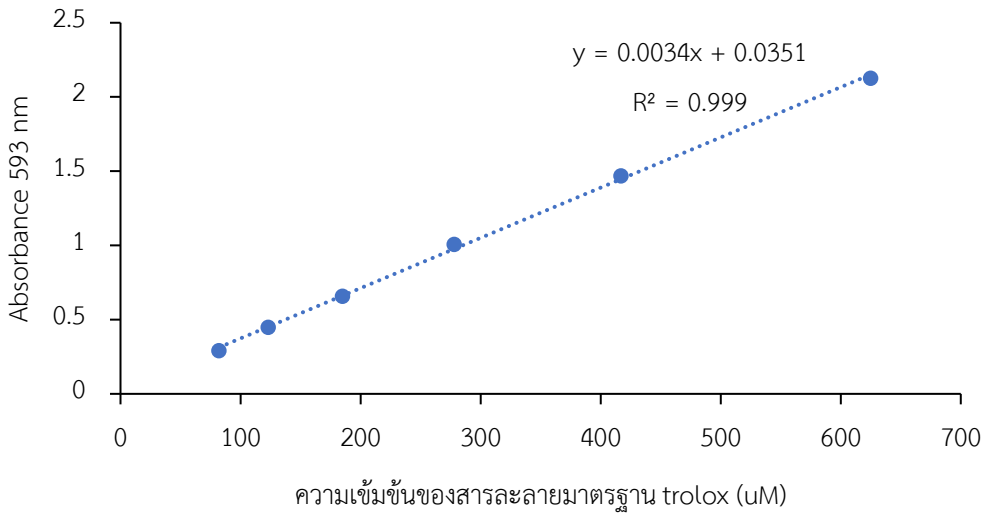
methanol (CH: OH) (Fisher Scientific, UK)

วิธีการเตรียมสารละลาย FRAP

1. เตรียมสารละลาย acetate buffer โดยผสม sodium acetate trihydrate 0.3 g และ glacial acetic acid ปริมาตร 1.6 mL แล้วปรับให้มีปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 mL
2. เตรียมสารละลาย ferric chloride โดยละลาย ferric chloride 270 mg ในน้ำกลั่น ปริมาตร 50 mL ในขวดปรับปริมาตรขนาด 50 mL
3. เตรียมสารละลาย TPTZ โดยเติม TPTZ ปริมาณ 31.2 mg ลงใน 0.04 M hydrochloric acid ในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 mL
4. เตรียมสารละลาย FRAP โดยผสม acetate buffer 25 mL ferric chloride 2.5 mL และ TPTZ 2.5 mL ตามลำดับ

วิธีวิเคราะห์

1. ให้ความร้อนสารละลาย FRAP ในอ่างให้ความร้อนที่ควบคุมอุณหภูมที่ 37 °C ซึ่งสารละลายจะมีสีน้ำตาลอมแดง
2. ปิเปตตัวอย่างมา 50 mL (ในการสร้างกราฟมาตรฐานจะใช้ trolox แทนตัวอย่าง) ผสมกับสารละลาย FRAP 950 µL ในหลอดทดลอง ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 4 min
3. วัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ความยาวคลื่น 593 nm โดยใช้น้ำกลั่นเป็น blank
4. นำคำการดูดกลืนแสงที่ได้จากตัวอย่าง (A_{final}) มาหักลบกับคำการดูดกลืนแสงของสารละลาย FRAP ($A_{initial}$) ได้ผลต่างของค่าการดูดกลืนแสง ($A_{differance}$)
5. นำผลต่างของค่าการดูดกลืนแสง ($A_{different}$) ที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน trolox และรายงานฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างในหน่วย µmol trolox equivalent/L



รูปที่ 17 กราฟมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP)

ข.3 สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetry ดัดแปลงตามวิธีของ Waterhouse (2005)

สารเคมี

gallic acid (Fluka, Spain)

sodium carbonate (A. R. grade, Ajex Finechem, Australia)

Folin-Ciocalteu reagent (Carlo Erba, France)

ethanol 95% (A. R. grade, QRëC, New Zealand)

วิธีการสร้างกราฟมาตรฐาน

วิธีเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตอิ่มตัว

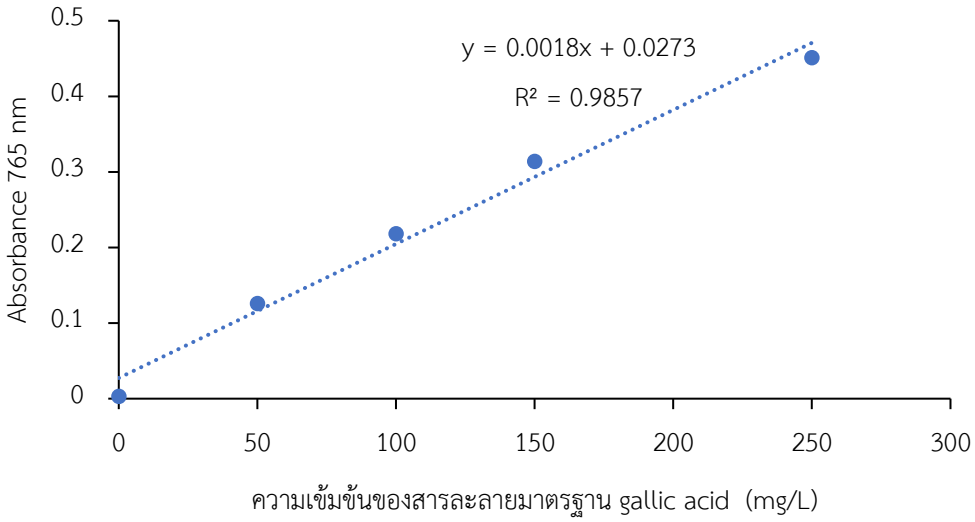
ละลายโซเดียมคาร์บอเนต 200 g ในน้ำกลั่น 800 mL ให้ความร้อนจนเดือดแล้วทิ้งให้เย็น จากนั้นเติมโซเดียมคาร์บอเนตลงไปเล็กน้อย ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 hr จากนั้นกรองสารละลายที่ได้ผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 และปรับปริมาตรให้เป็น 1 L ด้วยน้ำกลั่น

วิธีเตรียมสารละลายมาตรฐาน gallic acid และการสร้างกราฟมาตรฐาน

1. ละลาย gallic acid 0.500 g ในเอทานอล 10 mL แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 mL ด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลายของ gallic acid ที่มีความเข้มข้น 5 g/L
2. ปิเปตสารสารละลาย gallic acid ที่เตรียมไว้ลงในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 50 mLในปริมาตรต่าง ๆ ดังนี้ 0, 0.5, 1.0, 1.5, 2.5, และ 5.0 mL จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลาย gallic acid ที่มีความเข้มข้น 0, 50, 100, 150, 250 และ 500 mg/L ตามลำดับ
3. ปิเปตสารละลายมาตรฐานที่ความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 100 µL ใส่ในขวดกำหนดปริมาตร 10 mL เติมน้ำกลั่น 7 mL และ Folin-Ciocalteu reagent 500 µL ทิ้งไว้ 1-8 min
4. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตอิ่มตัวปริมาตร 1.5 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น แล้วตั้งทิ้งไว้ 2 hr ในที่มืด
5. วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 765 nm แล้วสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน gallic acid กับค่าการดูดกลืนแสง

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetry

1. ปั่นเหวี่ยงโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ แล้วนำใช้ส่วนใสสำหรับการไปวิเคราะห์
2. ปิเปตส่วนใสที่ได้จากโยเกิร์ตถั่วลูกไก่ 100 µL ลงในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 10 mL
3. เติมน้ำกลั่น 7 mL และ Folin-Ciocalteu reagent 500 µL ทิ้งไว้ 1-8 min
4. เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตอิ่มตัวปริมาตร 1.5 mL ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น แล้วตั้งทิ้งไว้ 2 hr ในที่มืด
5. วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 765 nm จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานแล้วรายงานค่าในหน่วย mg gallic acid equivalent/L โยเกิร์ตถั่วลูกไก่



รูปที่ 18 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน gallic acid

ภาคผนวก ค
วิธีวิเคราะห์ทางชีวภาพ

ค.1 ปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ที่มีชีวิตทั้งหมดโดยใช้เทคนิค pour plate ตามวิธีของ AOAC 990.12 (2012)

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

อาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar (PCA) (Sigma Adrich, USA)

0.85% w/v NaCl water (Fisher Chemical, Belgium)

วิธีวิเคราะห์

1. เตรียมน้ำเกลือ NaCl 0.85% w/v เพื่อใช้ในการทำเจือจาง (serial dilution) โดยการปิเปตตัวอย่างโยเกิร์ตปริมาตร 1 mL ลงในน้ำเกลือที่เตรียมไว้ปริมาตร 9 mL ทำการเจือจางที่ 10^{-4} เท่า ถึง 10^{-6} เท่า ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ เพื่อให้สามารถนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารได้
2. ปิเปตตัวอย่างโยเกิร์ตที่ระดับความเจือจาง 10^{-4} เท่า ถึง 10^{-6} อย่างละ 1 mL ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (sterile petri dish) จำนวน 2 จาน
3. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ plate count agar ที่มีอุณภูมิประมาณ 45 °C ลงบนจานอาหารที่เตรียมไว้ ผสมให้เข้ากันโดยการหมุนจานอาหารเป็นวงกลมช้า ๆ ให้อาหารเลี้ยงเชื้อและโยเกิร์ตถั่วลูกไก่เข้ากัน ทิ้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว แล้วบ่มที่อุณภูมิ 35 °C เป็นเวลา 48 hr โดยคว่ำจานอาหารเลี้ยงเชื้อขณะบ่ม
4. นับจำนวณโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์บนอาหารในแต่ละระดับความเจือจาง (25-250 โคโลนี) บันทึกผล แล้วคำนวณจำนวณปริมาณจุลินทรีย์และรายงานผลในหน่วย log colony forming unit/milliliter (log CFU/mL)

ค.2 ปริมาณยีสต์และราทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณยีสต์และราทั้งหมดโดยใช้เทคนิค spread plate ตามวิธีของ AOAC 997.02 (2009)

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

อาหารเลี้ยงเชื้อ potato dextrose agar (PDA) (Sigma Aldrich, USA)

10% w/v tartaric acid (Ajax Finechem, New Zealand)

0.85% w/v NaCl water (Fisher Chemical, Belgium)

วิธีวิเคราะห์

1. เตรียมน้ำเกลือ NaCl 0.85% w/v เพื่อใช้ในการทำเจือจาง (serial dilution) โดยการปิเปตตัวอย่างโยเกิร์ตปริมาตร 1 mL ลงในน้ำเกลือที่เตรียมไว้ปริมาตร 9 mL ทำการเจือจางที่ 10^{-4} เท่า ถึง 10^{-6} เท่า ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ เพื่อให้สามารถนับจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารได้
2. ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ด้วย 10% tartaric acid (ที่ผ่านการเชื้อ) จนมีค่าความเป็นกรด-ด่างประมาณ 4.4-4.6 โดยทำภายหลังจากการฆ่าเชื้ออาหารเลี้ยงเชื้อ
3. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่ได้จากข้อ 2 ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อ (sterile petri dish) ทิ้งไว้จนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว
4. ปิเปตตัวอย่างโยเกิร์ตที่ระดับความเจือจาง 10^{-4} เท่า ถึง 10^{-6} อย่างละ 0.1 mL ลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้จำนวน 2 จาน เกลี่ยตัวอย่างบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่แข็งแล้วด้วย sterile spreader ให้ทั่ว แล้วปล่อยไว้ให้แห้ง แล้วนำไปบ่มที่อุณภูมิ 25-27 °C โดยหงายจานอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นเวลา 24-48 hr
5. นับจำนวณโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์บนอาหารในแต่ละระดับความเจือจาง (25-250 โคโลนี) บันทึกผลแล้วคำนวณจำนวณปริมาณจุลินทรีย์และรายงานผลในหน่วย log colony forming unit/milliliter (log CFU/mL)

ค.3 ปริมาณโคลิฟอร์มและปริมาณ *E. coli*

วิเคราะห์ปริมาณโคลิฟอร์มและปริมาณ *E. coli* ดัดแปลงมาจากวิธีของ BAM (2001)

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

brilliant green lactose bile (BGLB) broth (Himedia, India)

lauryl tryptose broth (Himedia, India)

EC broth (Himedia, India)

Levine's eosin-methylene blue (L-EMB) agar (Himedia, India)

tryptone (tryptophane) broth (Himedia, India)

MR-VP broth (Himedia, India)

Koser's citrate broth (Himedia, India)

Kovacs' reagent (Himedia, India)

Voges-Proskauer (VP) reagents (Hardy Diagnostics, USA)

Gram stain reagents (Medic, Philippines)

วิธีวิเคราะห์

1. การตรวจสอบขั้นประมาณการ (presumptive test)

1.1 เจือจางตัวอย่างโยเกิร์ตให้มีระดับความเจือจาง 10^{-1}, 10^{-2} และ 10^{-3}

1.2 ปิเปตตัวอย่างโยเกิร์ตที่เจือจางจากข้อที่ 1.1 ลงใน lauryl tryptose broth ที่มีหลอดดักแก๊ส (Durham tube) ความเจือจางละ 3 หลอด

1.3 บ่มที่อุณหภูมิ 35 °C ตรวจผลที่ 48 hr

1.4 คัดเลือกหลอดที่เกิดแก๊ส บันทึกผลแล้วนำไปอ่านค่าจากตาราง MPN/100 mL โดยค่าที่ได้เป็นค่า presumptive coliforms

2. การตรวจสอบขั้นยืนยัน (confirmed test)

2.1 ถ่ายเชื้อหลอดที่เกิดแก๊สจาก 10, 1 และ 0.1 mL ในขั้นตอนตรวจสอบขั้นประมาณการลงใน BGLB ที่ระดับความเจือจางละ 3 หลอด

2.2 บ่มที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 48 hr

2.3 คัดเลือกหลอดที่เกิดกรดและแก๊ส บันทึกผลแล้วนำไปอ่านค่าจากตาราง MPN/100 mL โดยค่าที่ได้เป็นค่า coliforms และรายงานผลในหน่วย MPN/100 mL (ตารางที่ 10)

3. การตรวจสอบขั้นสมบูรณ์ (completed test)

3.1 ถ่ายเชื้อจากหลอดที่เกิดแก๊สโดยนำมา streak ลงบนผิวหน้า EMB agar

3.2 บ่มที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 24-48 hr

3.3 คัดเลือก typical colony โดยลักษณะโคโลนีของ coliform บน EMB agar มี 2 แบบคือ ลักษณะโคโลนีสีเข้ม ตรงกลางมีสีม่วงหรือเกือบดำ และลักษณะโคโลนีทึบแสง เยิ้มเป็นเมือกสีชมพู

3.4 streak เชื้อลงใน NA slant และบ่มที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 24 hr

3.5 ย้อมสีแบบแกรมโดยจะติดสีแกรมลบ

3.6 นำเชื้อจาก NA slant มาทดสอบคุณลักษณะทางชีวเคมีด้วย IMViC test ดังนี้ indole production, citrate test และ MR-VP test

<u>indole production</u>

1. ถ่ายเชื้อลงใน tryptone broth และบ่มที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 24 hr
2. หยด Kovac's reagent 5-6 หยด
3. บันทึกผลโดยสังเกตสีวงแหวนที่เปลี่ยนไป (สีเหลืองคือไม่พบเชื้อ และสีแดงคือพบเชื้อ)

<u>citrate test</u>

1. ถ่ายเชื้อลงใน Koser's citrate broth และบ่มที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 4 วัน
2. บันทึกผลโดยสังเกตความขุ่น (อาหารใสคือไม่พบเชื้อ และอาหารขุ่นคือพบเชื้อ)

MR-VP test

1. ถ่ายเชื้อลงใน MR-VP broth และบ่มที่อุณหภูมิ 35 ℃ เป็นเวลา 48 hr
2. ปิเปต MR-VP broth ที่มีเชื้อมา 1 mL ใส่หลอดเปล่า
3. หยด α-naphthol 0.6 mL และ 40% KOH 0.2 mL เขย่าให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ไม่เกิน 2 hr
4. บันทึกผลโดยสังเกตสีที่เกิดขึ้น (สีเหลืองคือไม่พบเชื้อ และสีแดงคือพบเชื้อ)
5. บ่ม MR-VP ส่วนที่เหลือ ที่อุณหภูมิ 35 ℃ ต่อไปอีก 48 hr
6. หยด methyl red 5 หยด และเขย่า
7. บันทึกผลโดยสังเกตสีที่เกิดขึ้น (สีเหลืองคือไม่พบเชื้อ และสีแดงคือพบเชื้อ)

ตารางที่ 10 3 tubes each at 0.1, 0.01, and 0.001 g inocula, the MPNs per gram and 95 percent confidence intervals.

Pos. Tubes			MPN/g	Conf. lim.		Pos. tubes			MPN/g	Conf. lim.	
0.10	0.01	0.001		Low	High	0.10	0.01	0.001		Low	High
0	0	0	<>	–	9.5	2	2	0	21	4.5	42
0	0	1	3.0	0.15	9.6	2	2	1	28	8.7	94
0	1	0	3.0	0.15	11	2	2	2	35	8.7	94
0	1	1	6.1	1.2	18	2	3	0	29	8.7	94
0	2	0	6.2	1.2	18	2	3	1	36	8.7	94
0	3	0	9.4	3.6	38	3	0	0	23	4.6	94
1	0	0	3.6	0.17	18	3	0	1	38	8.7	110
1	0	1	7.2	1.3	18	3	0	2	64	17	180
1	0	2	11	3.6	38	3	1	0	43	9	180
1	1	0	7.4	1.3	20	3	1	1	75	17	200
1	1	1	11	3.6	38	3	1	2	120	37	420
1	2	0	11	3.6	42	3	1	3	160	40	420
1	2	1	15	4.5	42	3	2	0	93	18	420
1	3	0	16	4.5	42	3	2	1	150	37	420
2	0	0	9.2	1.4	38	3	2	2	210	40	430
2	0	1	14	3.6	42	3	2	3	290	90	1,000
2	0	2	20	4.5	42	3	3	0	240	42	1,000
2	1	0	15	3.7	42	3	3	1	460	90	2,000
2	1	1	20	4.5	42	3	3	2	1100	180	4,100
2	1	2	27	8.7	94	3	3	3	>1100	420	–

ที่มา: Robert, 2020

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาวภัทร์ธีนันท์ สุวิสุทธิเกษม
ตำแหน่ง	หัวหน้าโครงการ
วุฒิการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.)
ภาควิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีที่สำเร็จการศึกษา	2563
โทรศัพท์	086-885-6859
Email	patteenan.suvi@gmail.com

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาวจิรวรรณ ผ่องจำปา
ตำแหน่ง	ผู้ร่วมวิจัย
วุฒิการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.)
ภาควิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีที่สำเร็จการศึกษา	2563
โทรศัพท์	098-481-3996
Email	PChirawan1998@gmail.com

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาวสิรีมาส อาจหาญ
ตำแหน่ง	ผู้ร่วมวิจัย
วุฒิการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.)
ภาควิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
คณะ	วิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัย	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีที่สำเร็จการศึกษา	2563
โทรศัพท์	083-009-0923
Email	A.sireemas@gmail.com