โครงการ
การเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ชื่อโครงการ	ผลของแก่นตะวันที่มีต่อความอยู่รอดของโปรไบโอติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *Lactobacillus acidophilus* ในนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีไขมันกะทิ
ชื่อนิสิต	นางสาวพัชมณฑ์ ชัชวาลวุฒิกุล นางสาวชนิกานต์ ชูสิทธิ์ นางสาวธนิดา ภู่ประเสริฐ
ภาควิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
ปีการศึกษา	2562

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายงานการวิจัย

ภายใต้โครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

เรื่อง

ผลของแก่นตะวันที่มีต่อความอยู่รอดของโปรไบโอติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *Lactobacillus acidophilus* ในนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีไขมันกะทิ

(Effect of sunchoke on survival of probiotic bacterial specie *Lactobacillus acidophilus* in coconut acidophilus milk)

โดย

นางสาวพัชมณฑ์ ชัชวาลวุฒิกุล

นางสาวชนิกานต์ ชูสิทธิ์

นางสาวธนิดา ภู่ประเสริฐ

ประจำปีการศึกษา 2562

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลของแก่นตะวันที่มีต่อความอยู่รอดของโปรไบโอติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *Lactobacillus acidophilus* ในนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีไขมันกะทิ

โดย

นางสาวพัชมณฑ์ ชัชวาลวุฒิกุล

นางสาวชนิกานต์ ชูสิทธิ์

นางสาวธนิดา ภู่ประเสริฐ

อาจารย์ที่ปรึกษา

รองศาสตราจารย์ ดร.สุเมธ ตันตระเธียร

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประจำปีการศึกษา 2562

EFFECT OF SUNCHOKE ON SURVIVAL OF PROBIOTIC BACTERIAL SPECIE *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* IN COCONUT ACIDOPHILUS MILK

Phatchamon Chatchawanwutikul

Chanikarn Choosit

Thanida Phooprasert

Project Advisor

Assoc. Prof. 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 2019

หัวข้องานวิจัย ผลของแก่นตะวันที่มีต่อความอยู่รอดของโปรไบโอติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *Lactobacillus acidophilus* ในนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีไขมันกะทิ

โดย นางสาวพัชมณฑ์ ชัชวาลวุฒิกุล

นางสาวชนิกานต์ ชูสิทธิ์

นางสาวธนิดา ภู่ประเสริฐ

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.สุเมธ ตันตระเธียร

ปีการศึกษา 2562

ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อนุมัติให้รายงานฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์

ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

ประจำปีการศึกษา 2562

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.ขนิษฐา ธนานุวงศ์)

หัวหน้าภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.สุเมธ ตันตระเธียร)

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ

หัวข้องานวิจัย ผลของแก่นตะวันที่มีต่อความอยู่รอดของโปรไบโอติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *Lactobacillus acidophilus* ในนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีไขมันกะทิ

โดย นางสาวชนิกานต์ ชูสิทธิ์

นางสาวธนิดา ภู่ประเสริฐ

นางสาวพัชมณฑ์ ชัชวาลวุฒิกุล

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษา รองศาสตราจารย์ ดร.สุเมธ ตันตระเธียร

ปีการศึกษา 2562

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสูตรของนมที่มีไขมันกะทิและแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวันหรืออินนูลินต่อการเจริญเติบโต และการอยู่รอดของ *Lactobacillus acidophilus* ในระหว่างการหมักและเก็บนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีไขมันกะทิ การหาสูตรนมที่มีไขมันกะทิทำการแปรปริมาณกะทิในนมกะทิเป็น 17%, 18% และ 19% ซึ่งพบว่าหลังการหมักกับ starter ที่มาจาก commercial yoghurt ในนมที่มีปริมาณกะทิ 18% และ 19% มีปริมาณกรดที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) และมีปริมาณกรดมากกว่าสูตรโยเกิร์ตกะทิ 17% แต่สูตรโยเกิร์ตกะทิ 18% มีความสามารถในการอุ้มน้ำและการ syneresis ไม่แตกต่าง ($p>0.05$) กับสูตรโยเกิร์ตนมปราศจากไขมัน และมีความหนืดใกล้เคียงกับสูตรโยเกิร์ตนมปราศจากไขมัน ดังนั้นจึงเลือกใช้สูตรโยเกิร์ตกะทิที่มีกะทิ 18 % และน้ำตาลซูโครส 2% มาศึกษาต่อไป โดยเปลี่ยนจาก starter culture เป็นเชื้อ *L. acidophilus* และ พบว่าระหว่างการหมักในชั่วโมงที่ 2 ถึงชั่วโมงที่ 6 และชั่วโมงสุดท้ายของการหมัก การเพิ่มกะทิในนมช่วยให้ *L. acidophilus* เจริญได้ดีกว่าในนมที่ไม่มีไขมันกะทิอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) และเมื่อศึกษาการเจริญของ *L. acidophilus* ในนมที่มีไขมันกะทิที่แทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวันหรืออินนูลิน พบว่าสูตรที่แทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวันมีการเจริญของ *L. acidophilus* ไม่แตกต่างจากสูตรควบคุม (สูตรที่มีน้ำตาลซูโครส) อย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) และมีการเจริญมากกว่าสูตรที่แทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลิน ($p\leq0.05$) ระหว่างการเก็บรักษาที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน การอยู่รอดของ *L. acidophilus* ในนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีไขมันกะทิ พบว่าสูตรที่แทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลินมีการอยู่รอดของ *L. acidophilus* ไม่แตกต่างจากสูตรควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) และมีการอยู่รอดที่มากกว่าสูตรที่แทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวันอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$)

Project Title Effect of sunchoke on survival of probiotic bacterial specie *Lactobacillus acidophilus* in coconut acidophilus milk

Student Phatchamon Chatchawanwutikul

Chanikarn Choosit

Thanida Phooprasert

Study Program Bachelor of Science in Food Technology

Advisor Assoc. Prof. Sumate Tantratian, Ph.D.

Academic Year 2019

ABSTRACT

The objectives of this study were to find the formula of milk which contains coconut milk fat and to substitute sucrose with sunchoke or inulin on the growth and the survival of *Lactobacillus acidophilus* during fermentation and storage of coconut acidophilus milk. To find the formula of milk which contains coconut milk fat, the amount of coconut milk was varied to 17, 18, and 19%. It was demonstrated that after the fermentation with yogurt starter culture from commercial yogurt in the milk with 18 and 19% of coconut milk, there was no significant difference in acid contents ($p>0.05$) and were higher than 17% of coconut milk yogurt formula. But the 18% of coconut milk yogurt formula provided the physical characteristics, water holding capacity, and syneresis, which were no significant difference compared with the fat-free milk yogurt ($p>0.05$) and the viscosity was also similar to the fat-free milk yogurt. Therefore, the coconut milk yogurt which contains 18% of coconut milk and 2% of sucrose was selected to further study by changing the yogurt starter culture to *L. acidophilus*. It was found that in the 2^{nd} to 6^{th} and final hours of fermentation, the coconut milk was added in milk caused *L. acidophilus* grew better than in the milk without coconut milk ($p\leq0.05$). For the growth of *L. acidophilus* in the milk which contains coconut milk fat when substitute sucrose with sunchoke or inulin, it was found that the formula which substituted sucrose with sunchoke caused the growth of *L. acidophilus* was no significant difference ($p\leq0.05$) compared with the control formula (containing sucrose) and was also better than the formula which substituted sucrose with inulin ($p\leq0.05$). For the survival of *L. acidophilus* in coconut acidophilus milk during storage at 4ºC for 14 days, it was found that the formula which substituted sucrose with inulin caused the survival of *L. acidophilus* was no significant difference ($p\leq0.05$) compared with the control formula and was also better than the formula which substituted sucrose with sunchoke ($p\leq0.05$).

กิตติกรรมประกาศ

รายงานวิจัยเรื่องผลของแก่นตะวันที่มีต่อความอยู่รอดของโปรไบโอติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *Lactobacillus acidophilus* ในนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีไขมันกะทิจัดทำขึ้นโดยมีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาผลของแก่นตะวันและอินนูลินต่อการอยู่รอดของโปรไบโอติกสายพันธุ์ *Lactobacillus acidophilus* ในนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัส เพื่อเป็นแนวทางในการผลิตผลิตภัณฑ์ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายและเป็นการเพิ่มทางเลือกให้กับผู้บริโภคได้อีกทางด้วย

ขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ ดร. สุเมธ ตันตระเธียร สำหรับคำแนะนำ ความช่วยเหลือ และทุนสนับสนุนในการทำงานวิจัย

ขอขอบคุณ ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย สำหรับการสนับสนุนและช่วยเหลือในด้านวัสดุ อุปกรณ์ เครื่องมือและทุนสนับสนุนในการวิจัย

ผู้วิจัยหวังเป็นอย่างยิ่งว่ารายงานวิจัยฉบับนี้จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งสำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร และสามารถใช้เป็นแนวทางในการศึกษาต่อไป เพื่อให้เกิดการพัฒนาที่ดียิ่งขึ้น

คณะผู้วิจัย

สารบัญ

	หน้า
บทที่ 1 บทนำ (Introduction)	1
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
1.3 ขอบเขต/กรอบแนวคิดของการวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับจากการวิจัย	3
บทที่ 2 แนวคิดทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง (Literature review)	4
2.1 โยเกิร์ต	4
2.2 นมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัส	5
2.3 โปรไบโอติก	5
2.4 แบคทีเรียโปรไบโอติกสายพันธุ์ *Lactobacillus acidophilus*	6
2.5 ปัจจัยที่ทำให้จุลินทรีย์สามารถอยู่รอดได้ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต	7
2.6 ประโยชน์ของโปรไบโอติก	8
2.7 กะทิ	9
2.8 พรีไบโอติก	10
2.9 แก่นตะวัน	10
2.10 อินนูลิน	11
บทที่ 3 วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย (Materials and methods)	12
3.1 วัตถุดิบและส่วนผสม	12
3.2 เครื่องมือ	13
3.3 สารเคมี	14
3.4 วิธีดำเนินการวิจัย	15

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล (Results and discussion) 21

4.1 การหาสูตรโยเกิร์ตที่มีไขมันกะทิที่มีสมบัติทางเคมีและกายภาพใกล้เคียงกับโยเกิร์ตนมปราศจากไขมัน 21

4.2 การศึกษาความร้อนในการฆ่าเชื้อที่เหมาะสมในการทำนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีไขมันกะทิ 23

4.3 การศึกษาการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus acidophilus* เทียบกับการเจริญเติบโตของ starter culture ในนมปราศจากไขมัน 24

4.4 การศึกษาผลของกะทิต่อการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus acidophilus* ในนมที่มีไขมันกะทิ 25

4.5 การศึกษาผลของการแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลินหรือแก่นตะวันต่อการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus acidophilus* ในนมที่มีไขมันกะทิ 26

4.6 การศึกษาผลของการแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลินหรือแก่นตะวันต่อการอยู่รอดของ *Lactobacillus acidophilus* ในนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัส 30

บทที่ 5 สรุปและข้อเสนอแนะ (Conclusions and recommendations) 33

เอกสารอ้างอิง 34

ภาคผนวก ก. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข 40

ภาคผนวก ข. วิธีการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ด้านคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ 49

ภาคผนวก ค. ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ 59

ภาคผนวก ง. รูปภาพประกอบการวิจัย 68

ภาคผนวก จ. Project Proposal 72

ภาคผนวก ฉ. ประวัติผู้วิจัย 89

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แสดงส่วนประกอบสำคัญของโยเกิร์ตนม ตามมาตรฐาน CODEX STAN 243-2003	4
2	ปริมาณอินนูลินและฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosaccharides) ในพืชชนิดต่างๆ	11
3	ส่วนประกอบของแต่ละสูตรที่ใช้ในการหมักโยเกิร์ตที่มีไขมันกะทิและโยเกิร์ตปราศจากไขมัน	15
4	แสดงค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดทั้งหมด (TA) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของสูตรโยเกิร์ตที่มีไขมันกะทิในระดับต่างๆ เทียบกับโยเกิร์ตปราศจากไขมัน	21
5	ลักษณะทางกายภาพของสูตรโยเกิร์ตที่มีไขมันกะทิในระดับต่างๆ เทียบกับโยเกิร์ตปราศจากไขมัน	22
6	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่เหลือหลังพาสเจอร์ไรซ์เซชันของนมที่มีไขมันกะทิในสูตร 2	23
ค.1	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตทั้ง 3 สูตร ได้แก่ สูตรที่ 1 สูตรที่ 2 และสูตรที่ 3	59
ค.2	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความเป็นกรดทั้งหมด (TA) ของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตทั้ง 3 สูตร ได้แก่ สูตรที่ 1 สูตรที่ 2 และสูตรที่ 3	59
ค.3	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความหนืดของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตทั้ง 3 สูตร ได้แก่ สูตรที่ 1 สูตรที่ 2 และสูตรที่ 3	60
ค.4	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าการสูญเสียน้ำ (syneresis) ของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตทั้ง 3 สูตร ได้แก่ สูตรที่ 1 สูตรที่ 2 และสูตรที่ 3	60
ค.5	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าการอุ้มน้ำ (water holding capacity) ของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตทั้ง 3 สูตร ได้แก่ สูตรที่ 1 สูตรที่ 2 และสูตรที่ 3	61
ค.6	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนจุลินทรีย์ *Lactobacillus acidophilus* ในนมที่มีไขมันกะทิเปรียบเทียบกับนมปราศจากไขมันในชั่วโมงที่ 2	61
ค.7	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนจุลินทรีย์ *Lactobacillus acidophilus* ในนมที่มีไขมันกะทิเปรียบเทียบกับนมปราศจากไขมันในชั่วโมงที่ 6	62
ค.8	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนจุลินทรีย์ *Lactobacillus acidophilus* ในนมที่มีไขมันกะทิเปรียบเทียบกับนมปราศจากไขมันในชั่วโมงที่ 24	62
ค.9	ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในนมที่มีไขมันกะทิทั้ง 3 สูตร คือ นมที่มีไขมันกะทิ นมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลิน และนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวันในชั่วโมงที่ 6	63

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

ค.10 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในนมที่มีไขมันกะทิ ทั้ง 3 สูตร คือ นมที่มีไขมันกะทิ นมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลิน และนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวันในชั่วโมงที่ 24 63

ค.11 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรดทั้งหมด (TA) ในนมที่มีไขมันกะทิ ทั้ง 3 สูตร คือ นมที่มีไขมันกะทิ นมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลิน และนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวันในชั่วโมงที่ 22 64

ค.12 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรดทั้งหมด (TA) ในนมที่มีไขมันกะทิ ทั้ง 3 สูตร คือ นมที่มีไขมันกะทิ นมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลิน และนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวันในชั่วโมงที่ 24 64

ค.13 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในวันที่ 7 ของการเก็บรักษาแบบแช่เย็นของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสทั้ง 3 สูตร คือ นมที่มีไขมันกะทิ นมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลินและนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวัน 65

ค.14 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในวันที่ 14 ของการเก็บรักษาแบบแช่เย็นของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสทั้ง 3 สูตร คือ นมที่มีไขมันกะทิ นมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลินและนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวัน 65

ค.15 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรดทั้งหมด (TA)ในวันที่ 7 ของการเก็บรักษาแบบแช่เย็นของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสทั้ง 3 สูตร คือ นมที่มีไขมันกะทิ นมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลินและนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวัน 66

ค.16 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรดทั้งหมด (TA)ในวันที่ 14 ของการเก็บรักษาแบบแช่เย็นของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสทั้ง 3 สูตร คือ นมที่มีไขมันกะทิ นมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลินและนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวัน 66

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

ค.17 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนจุลินทรีย์ *Lactobacillus acidophilus* ในวันที่ 7 ของการเก็บรักษาแบบแช่เย็นของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสทั้ง 3 สูตร คือ นมที่มีไขมันกะทิ นมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลิน และนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวัน 67

ค.18 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนจุลินทรีย์ *Lactobacillus acidophilus* ในวันที่ 14 ของการเก็บรักษาแบบแช่เย็นของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสทั้ง 3 สูตร คือ นมที่มีไขมันกะทิ นมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลิน และนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวัน 67

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	บัญชีรายชื่อเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นจุลินทรีย์โปรไบโอติกสำหรับใช้ในอาหาร	6
2	ขั้นตอนการทำโยเกิร์ตที่มีไขมันกะทิ	16
3	ขั้นตอนการทำนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีไขมันกะทิ	18
4	ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และปริมาณกรดทั้งหมด (TA) ในนมปราศจากไขมันที่หมักด้วยเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* หรือ starter culture ในระหว่างการหมัก 24 ชั่วโมง	25
5	การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *Lactobacillus acidophilus* ในนมปราศจากไขมันและในนมที่มีไขมันกะทิในระหว่างการหมัก 24 ชั่วโมง	26
6	ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และปริมาณกรดทั้งหมด (TA) ในนมที่มีไขมันกะทิ นมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลินและ นมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวัน.นระหว่างการหมัก 24 ชั่วโมง	27
7	การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *Lactobacillus acidophilus* ในนมที่มีไขมันกะทิ นมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลินและนมที่มีไขมันกะทิ เมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวันในระหว่างการหมัก 24 ชั่วโมง	30
8	ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และปริมาณกรดทั้งหมด (TA) ในนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสสูตรนมที่มีไขมันกะทิ นมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลิน และนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวันในระหว่างการเก็บ 14 วัน ที่อุณหภูมิ 4 ^{o}C	31
9	การอยู่รอดของจุลินทรีย์ *Lactobacillus acidophilus* ในนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสสูตรนมที่มีไขมันกะทิ นมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลิน และนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวันในระหว่างการเก็บ 14 วัน ที่อุณหภูมิ 4 ºC	32
ง.1	กราฟมาตรฐานของ *Lactobacillus acidophilus*	68
ง.2	ขั้นตอนการไล่อากาศ (Exhausting) ด้วยการบรรจุแบบร้อน (Hot fill) ก่อน Sterilization	68
ง.3	จอแสดงขั้นตอน อุณหภูมิและเวลาของการ Sterilization ของเครื่องรีทอร์ท (Retort)	69
ง.4	นมที่มีไขมันกะทิสูตรน้ำตาลหลังการ Sterilization	69
ง.5	นมที่มีไขมันกะทิสูตรแทนที่น้ำตาลด้วยอินนูลินหลังการ Sterilization	70
ง.6	นมที่มีไขมันกะทิสูตรแทนที่น้ำตาลด้วยแก่นตะวันหลังการ Sterilization	70
ง.7	เครื่องโฮโมจิไนเซอร์ (homogenizer) รุ่น T25 digital ULTRA TURRAX	71

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ในปัจจุบันแนวโน้มของอาหารเพื่อสุขภาพได้เป็นที่ต้องการมากขึ้น ซึ่งหนึ่งในอาหารที่ผู้คนสนใจคือโยเกิร์ตโปรไบโอติก เนื่องจากจุลินทรีย์โปรไบโอติก (probiotic) สามารถผลิตกรดแลคติกที่ช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค (pathogen) ช่วยในเรื่องการดูดซึมคอเลสเตอรอลผ่านผนังลำไส้ ลดอาการท้องผูกได้ นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มการดูดซึมแคลเซียมในระบบย่อยอาหารได้ดี แต่โยเกิร์ตที่มีขายในท้องตลาดทำมาจากนม ซึ่งไขมันในนมมีคอเลสเตอรอลที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคไขมันอุดตันในเส้นเลือด นอกจากนี้การผลิตโยเกิร์ตโปรไบโอติกจะมีปัญหาที่สภาวะหลังการหมักโยเกิร์ต คือ ทำให้โปรไบโอติกมีอัตราการอยู่รอดลดลง เนื่องจากผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตมีค่า pH ประมาณ 4.4-4.5 หลังการหมัก ซึ่งเป็นอันตรายต่อการอยู่รอดของโปรไบโอติกในโยเกิร์ตที่เก็บไว้ที่ 5 องศาเซลเซียส (Vinderola et al., 2000)

ดังนั้น การเลือกใช้วัตถุดิบเพื่อช่วยให้โปรไบโอติกอยู่รอดได้ในผลิตภัณฑ์จึงเป็นสิ่งที่สำคัญและเนื่องจากกะทิเป็นวัตถุดิบที่หาได้ง่ายภายในประเทศ โดยไขมันในกะทิไม่มีคอเลสเตอรอลและเป็นกรดไขมันที่มีขนาดปานกลาง (medium chain fatty acid : MCFA) ซึ่งสามารถย่อยได้ง่ายและช่วยในการเจริญเติบโตของโปรไบโอติก (El-Kadi et al., 2017) กะทิจึงเป็นทางเลือกที่ดีที่จะนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต แต่เนื่องจากกะทิไม่มีโปรตีนมากพอที่จะสามารถทำให้เกิด curd ในโยเกิร์ตได้ จึงใช้นมปราศจากไขมันมาช่วยทำให้เกิด curd นอกจากนี้ยังพบว่าแก่นตะวันมี polyfructan และ oligofructan ซึ่งแสดงถึงการมีอินนูลิน (นาถธิดา วีระปรียากูร และคณะ, 2552) และจากการศึกษาพบว่าอินนูลินสามารถยกระดับการเจริญเติบโตของโปรไบโอติก (*Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium lactis, Bifidobacterium animalis*) และเพิ่มการอยู่รอดของเชื้อดังกล่าวได้ (Akin et al., 2007 ; Akalin and Erisir, 2008 ; Pandiyan et al., 2012)

จากที่ได้กล่าวมา เราจึงอยากพัฒนาผลิตภัณฑ์ใหม่ที่หมักโดยโปรไบโอติกสายพันธุ์ *Lactobacillus acidophilus* โดยไม่ใช้ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ที่ใช้ร่วมกันในผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่ ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีการทดแทนไขมันนมด้วยไขมันกะทิโดยเสริมแก่นตะวันและอินนูลิน โดยที่เราจะศึกษาผลของแก่นตะวันและอินนูลินต่อการอยู่รอดของโปรไบโอติกสายพันธุ์ *Lactobacillus acidophilus* ในนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีไขมันกะทิ

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อหาสูตรนมที่มีไขมันกะทิที่เหมาะแก่การเจริญเติบโตของ *Lactobacillus acidophilus*

1.2.2 เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ในนมที่มีไขมันกะทิเทียบกับนมปราศจากไขมันที่เวลา 0, 2, 6, 8, 18, 22 และ 24 ชั่วโมง

1.2.3 เพื่อศึกษาผลของการแทนที่น้ำตาลด้วยอินนูลินหรือแก่นตะวันที่มีต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ในนมที่มีไขมันกะทิที่เวลา 0, 2, 6, 8, 18, 22 และ 24 ชั่วโมง

1.2.4 เพื่อศึกษาผลของการแทนที่น้ำตาลด้วยอินนูลินหรือแก่นตะวันต่อการอยู่รอดของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ในนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีไขมันกะทิที่ 0, 7 และ 14 วัน

1.3 ขอบเขต/กรอบแนวคิดของการวิจัย

1.3.1 แปรสัดส่วนของกะทิกับนมปราศจากไขมันในสูตรของโยเกิร์ตนมที่มีไขมันกะทิ โดยพิจารณาจากสมบัติทางเคมีและกายภาพ

1.3.2 วัดปริมาณกรดทั้งหมด (TA) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของนมปราศจากไขมันที่หมักโดย yogurt starter culture ในระหว่างการหมักที่เวลา 0, 2, 4, 6, และ 8 ชั่วโมง และนมปราศจากไขมันที่หมักโดย *Lactobacillus acidophilus* ในระหว่างการหมักที่เวลา 0, 2, 4, 6, 8, 18 และ 24 ชั่วโมง

1.3.3 วัดปริมาณกรดทั้งหมด (TA) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของนมที่มีไขมันกะทิที่หมักโดย *Lactobacillus acidophilus* ในระหว่างการหมักที่เวลา 0, 2, 4, 6, 8, 18, 22 และ 24 ชั่วโมง

1.3.4 วัดจำนวนเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ของนมที่มีไขมันกะทิและนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลินหรือแก่นตะวันในระหว่างการหมักที่เวลา 0, 2, 6, 8, 18, 22 และ 24 ชั่วโมง

1.3.5 วัดจำนวนเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ของนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีไขมันกะทิและนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลินหรือแก่นตะวัน ในระหว่างการเก็บที่ 0, 7 และ 14 วัน

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ได้ทราบถึงอิทธิพลของไขมันกะทิต่อการเจริญเติบโตของโปรไปโอติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *Lactobacillus acidophilus*

1.4.2 ได้ทราบถึงอิทธิพลของแก่นตะวันและอินนูลินที่มีต่อความอยู่รอดของโปรไปโอติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *Lactobacillus acidophilus* ในนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีไขมันกะทิ

บทที่ 2
แนวคิดทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 โยเกิร์ต

โยเกิร์ต คือ ผลิตภัณฑ์ที่ผ่านกระบวนการหมักจากนม ซึ่งการที่จะเกิดผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตได้จะต้องอาศัยการตกตะกอนของโปรตีน casein ในนมจากการลดลงของ pH เนื่องจากกรดที่ถูกสร้างขึ้นโดยจุลินทรีย์กลุ่มที่ผลิตกรดแลกติก (Lactic Acid Bacteria : LAB) ได้แก่ *Streptococcus thermophilus* (thermophilic bacteria) และ *Lactobacillus bulgaricus* (facultative anaerobe) โปรตีน casein ที่รวมกันเป็น casein micelle เกิดการตกตะกอน (curd) ทำให้ได้โยเกิร์ตที่มีลักษณะข้นขึ้น เนื่องจากในสภาวะปกติโปรตีน casein เชื่อมกับสารเชิงซ้อนแคลเซียมฟอสเฟต ทำให้ไม่ตกตะกอน แต่เมื่อ pH ลดลง สารเชิงซ้อนแคลเซียมฟอสเฟต จะแยกออกมา ทำให้ casein ที่ถูกเชื่อมแยกออกจากกันจึงเกิดการตกตะกอนขึ้น นอกจากนี้สัดส่วนของปริมาณของแข็งที่มีอยู่ในนมเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อลักษณะทางกายภาพของโยเกิร์ต ซึ่งโดยทั่วไป ในนมมีปริมาณของแข็งทั้งหมดอยู่ประมาณ 11-13% (Elbagermi et al., 2014) ดังนั้นในการทำโยเกิร์ตต้องคำนึงถึงส่วนผสมที่ใส่ลงไปว่ามีของแข็งทั้งหมดเพียงพอต่อการเกิด curd ของโยเกิร์ต นอกจากนี้ต้องดูส่วนประกอบทางเคมีต่างๆ ว่าเป็นไปตามมาตรฐานที่กำหนด โดยส่วนประกอบของโยเกิร์ตนมตามมาตรฐาน CODEX แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 : แสดงส่วนประกอบสำคัญของโยเกิร์ตนม ตามมาตรฐาน CODEX STAN 243-2003

ส่วนประกอบ	ปริมาณ
โปรตีนนม (% w/w)	ไม่ต่ำกว่า 2.7%
ไขมันนม (% w/w)	ไม่เกิน 15%
ปริมาณกรดแลคติก (% w/w)	ไม่ต่ำกว่า 0.6%
จำนวนจุลินทรีย์รวม	ไม่ต่ำกว่า 10^7
จำนวนจุลินทรีย์บนฉลาก	ไม่ต่ำกว่า 10^6

(ที่มา: Joint FAO/WHO Food Standards Programme: Codex Alimentarius Commission, 2003)

ประเภทของโยเกิร์ต แบ่งออกได้เป็น set yoghurt และ stirred yoghurt โดย set yoghurt เป็นโยเกิร์ตที่เกิดกระบวนการหมักในบรรจุภัณฑ์ ไม่มีการกวนผสมหลังจากการหมัก โดยวิธีการผลิต คือเติมเชื้อในน้ำนมที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นบรรจุในบรรจุภัณฑ์แล้วนำไปบ่ม โยเกิร์ตที่ได้จะมีลักษณะจับตัวเป็นก้อน กึ่งแข็งกึ่งเหลวและผิวหน้าเรียบ ส่วน stirred yoghurt เป็นการหมักโยเกิร์ตในถังหมัก (fermenter) ก่อนจนนมตกตะกอน (curd) แล้วจึงเติมผลไม้เชื่อมหรือน้ำเชื่อม กลิ่นสี ทำให้ก้อนนมแตก และคนผสมให้เข้ากันก่อนที่จะเทในภาชนะขนาดเล็ก โยเกิร์ตที่ได้จะมีผิวหน้าไม่เรียบ และค่อนข้างเหลวไม่จับตัวเป็นก้อน

2.2 นมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัส

นมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัส (Acidophilus milk) คือ โปรไบโอติกพร้อมดื่ม ที่มาจากการหมักนมด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Lactobacillus acidophilus* ซึ่งมีการรายงานว่านมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสมีส่วนช่วยในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่ผลิตสารพิษในลำไส้ของมนุษย์ และยังช่วยรักษาระดับของจุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้ให้เป็นไปตามปกติ โดยการสร้างสารยับยั้งและการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย นอกจากนี้ยังช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลและส่งเสริมโภชนาการในการลดระดับของสารพิษที่มีอยู่ (Perez and Tan, 2006)

ซึ่งโดยปกติทั่วไปของการทำนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัส ต้องมีการให้ความร้อนน้ำนมที่อุณหภูมิ 95 °C นาน 1 ชั่วโมงหรืออุณหภูมิ 125 °C นาน 15 นาที ซึ่งการให้ความร้อนที่สูงเช่นนี้จะช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของ *L. acidophilus* เนื่องจากมีการปล่อยโปรตีนและสายเปปไทด์ออกมา โดยการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 95 °C นาน 1 ชั่วโมงจะทำทั้งหมด 2 รอบ คือ ให้ความร้อนรอบแรก เพื่อทำลาย vegetative cell ที่มีในน้ำนม หลังจากนั้นจะลดอุณหภูมิและรักษาระดับให้เหลืออยู่ที่ 37°C นาน 3-4 ชั่วโมง เพื่อให้สปอร์ที่เหลืออยู่หลังจากการให้ความร้อนครั้งแรกเจริญและงอกเป็น vegetative cell จากนั้นให้ความร้อนอีกครั้งเพื่อทำลาย vegetative cell ที่สปอร์สร้างขึ้น และทำการโฮโมจิไนซ์ (homogenization) จากนั้นลดอุณหภูมิลงให้เหลืออยู่ที่ 37 °C เพื่อเหมาะแก่การเจริญของเชื้อ *L. acidophilus* และใส่ *L. acidophilus* ลงไปประมาณ 2 – 5% และหลังจากกระบวนการหมักจะมีค่า pH อยู่ที่ 5.5 -6.0 หรือมีกรดแลคติกประมาณ 1% (Hati et al., 2019) นอกจากนี้ ในประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 353) พ.ศ. 2556 เรื่องนมเปรี้ยว ได้มีกำหนดว่าจุลินทรีย์ที่ใช้ในกรรมวิธีการหมักต้องคงเหลือในนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมัก 1 กรัม ไม่น้อยกว่า 10,000,000 โคโลนี

2.3 โปรไบโอติก

คำจำกัดความของโปรไบโอติกซึ่งเสนอโดย Fuller (1991) อธิบายคำว่า “โปรไบโอติก” ว่าเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตสามารถก่อประโยชน์ต่อร่างกายของสิ่งมีชีวิตที่มันอาศัยอยู่ โดยการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบ โดยโปรไบโอติกแต่ละชนิดมีความคล้ายกันมาก ไม่ว่าจะเป็นสภาวะการดำรงชีวิตและรูปร่าง (Holzapfel and Schillinger, 2002) และในประเทศไทยได้มีการนำโปรไบโอติกไปใช้ในอาหาร โดยโปรไบโอติกตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข พ.ศ. 2554 ของไทยมีทั้งหมด 23 ชนิด ดังภาพที่ 1

บัญชีรายชื่อเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติกสำหรับใช้ในอาหาร
แนบท้ายประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง การใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหาร

๑.	บาซิลลัส โคแอกกูแลน	*Bacillus coagulans*
๒.	บิฟิโดแบคทีเรียม อะโดเลสเซนทิส	*Bifidibacterium adolescentis*
๓.	บิฟิโดแบคทีเรียม อะนิมอลิส	*Bifidobacterium animalis*
๔.	บิฟิโดแบคทีเรียม บิฟิดัม	*Bifidobacterium bifidum*
๕.	บิฟิโดแบคทีเรียม เบรเว	*Bifidobacterium breve*
๖.	บิฟิโดแบคทีเรียม อินฟานทิส	*Bifidobacterium infantis*
๗.	บิฟิโดแบคทีเรียม แล็กทิส	*Bifidobacterium lactis*
๘.	บิฟิโดแบคทีเรียม ลองกัม	*Bifidobacterium longum*
๙.	บิฟิโดแบคทีเรียม ซูโดลองกัม	*Bifidobacterium pseudolongum*
๑๐.	เอ็นเทอโรค็อกคัส ดูแรน	*Enterococcus durans*
๑๑.	เอ็นเทอโรค็อกคัส เฟเซียม	*Enterococcus faecium*
๑๒.	แล็กโทบาซิลลัส แอซิโดฟิลัส	*Lactobacillus acidophilus*
๑๓.	แล็กโทบาซิลลัส คริสปาทัส	*Lactobacillus crispatus*
๑๔.	แล็กโทบาซิลลัส แก๊สเซอรี	*Lactobacillus gasseri*
๑๕.	แล็กโทบาซิลลัส จอห์นโซนอิ	*Lactobacillus johnsonii*
๑๖.	แล็กโทบาซิลลัส พาราคาเซอิ	*Lactobacillus paracasei*
๑๗.	แล็กโทบาซิลลัส รียูเทอรี	*Lactobacillus reuteri*
๑๘.	แล็กโทบาซิลลัส รามโนซัส	*Lactobacillus rhamnosus*
๑๙.	แล็กโทบาซิลลัส ซาลิวาเรียส	*Lactobacillus salivarius*
๒๐.	แล็กโทบาซิลลัส ซีอี	*Lactobacillus zeae*
๒๑.	โพรพิโอนิแบคทีเรียม อะราไบโนซัม	*Propionibacterium arabinosum*
๒๒.	สแตปฟิโลคอคคัส ไซน์ยูรี	*Staphylococcus sciuri*
๒๓.	แซ็กคาโรไมซีส เซรีวิซิอี สับสปีชีย์ บัวลาดิอิ	*Saccharomyces cerevisiae subsp. Boulardii*

ภาพที่ 1 : บัญชีรายชื่อเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นจุลินทรีย์โปรไบโอติกสำหรับใช้ในอาหาร
(ที่มา : ประกาศกระทรวงสาธารณสุข, 2554)

โดยประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 339) เรื่องการใช้จุลินทรีย์โปรไบโอติกในอาหาร ได้กำหนดปริมาณจุลินทรีย์โปรไบโอติกที่ยังมีชีวิตอยู่ คงเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์ไม่น้อยกว่า 10^6 CFU ต่ออาหาร 1 กรัม ตลอดอายุการเก็บรักษาของอาหาร

2.4 แบคทีเรียโปรไบโอติกสายพันธุ์ *Lactobacillus acidophilus*

Lactobacillus acidophilus อยู่ในกลุ่มของ lactic acid bacteria (LAB) จัดอยู่ใน family Lactobacillaceae โดยเป็นแบคทีเรียแกรมบวก เซลล์มีรูปร่างเป็นท่อนยาวขนาดประมาณ 0.6-0.9 × 1.5-6 ไมโครเมตร อาจอยู่เดี่ยวๆ เรียงตัวอยู่เป็นคู่ๆ หรือ อาจอยู่เป็นสายสั้นๆ เป็นแบคทีเรียที่ไม่สร้างสปอร์ และสามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนน้อยๆ เป็นแบคทีเรียที่มีกระบวนการหมักแบบ homofermentative ซึ่งจะหมักน้ำตาลกลูโคส (glucose) โดยทำการเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นไพรูเวตผ่าน glycolysis pathway อาศัย lactate dehydrogenase เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาให้ได้กรดแลคติกเท่ากับหรือมากกว่า 80% (วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล, 2536) และมีการศึกษาพบว่า *L. acidophilus* สามารถใช้คาร์โบไฮเดรตอื่นๆ ได้โดย *L. acidophilus* มีการสร้างกรดขึ้นจากการหมักฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosaccharides) และอินนูลิน (Liong and

Shah,2005) *L. acidophilus* มีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญ คือ 35-38 องศาเซลเซียส *L. acidophilus* มีส่วนช่วยในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen) บริเวณลำไส้ มีความสำคัญในการสังเคราะห์และดูดซึมวิตามินในลำไส้ นอกจากนี้ยังช่วยลดระดับคอเรสเตอรอลในเลือดอีกด้วย (วรรณดี แสงดี และคณะ, 2559) สำหรับการวิเคราะห์จำนวน *L. acidophilus* นั้น จะใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar (O' Conner-Show et al., 1994) และบ่มในสภาวะที่มีออกซิเจนน้อยๆ

2.5 ปัจจัยที่ทำให้จุลินทรีย์สามารถอยู่รอดได้ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต

จุลินทรีย์โปรไบโอติกแต่ละสายพันธุ์มีความสามารถในการทนต่อสภาวะที่ไม่เหมาะสมแตกต่างกัน ซึ่งตัวอย่างสภาวะที่ไม่เหมาะสม เช่น ในสภาวะกรด ซึ่งจุลินทรีย์บางชนิดอาจจะทนต่อสภาวะเป็นกรดได้ดีกว่าอีกชนิด เช่น *Bifidobacterium* spp. และ *Lactobacillus* spp. ที่อยู่ในกลุ่มแบคทีเรียแลคติก รูปร่างของเซลล์จะเปลี่ยนแปลงไปตามสิ่งแวดล้อมทำให้สามารถทนกรดได้ดี (Erkkilä and Petäjä, 2000) แต่จะมีแค่บางสายพันธุ์ที่ไม่ทนต่อสภาวะที่เป็นกรด และถ้าหากมีการเสริมโปรไบโอติกลงไปในอาหารที่มีความเป็นกรดสูง จะทำให้โปรไบโอติกที่เสริมลงไปตายง่ายระหว่างการเก็บรักษา เนื่องจากมีการเร่งขับโปรตอนออกจากเซลล์ทำให้การทำงานของเอนไซม์ต่างๆ ภายในเซลล์หยุดชะงักได้ (ปรมาภรณ์ เกิดทรัพย์, 2559) สำหรับปัจจัยเรื่องสภาวะที่มีแรงเฉือน จุลินทรีย์โปรไบโอติกสามารถทนต่อแรงเฉือนในระหว่างกระบวนการผลิตได้ เช่น ในระหว่างการผสมด้วยความเร็วสูงหรือการปั่นผสม อย่างไรก็ตามแรงเฉือนอาจส่งผลต่อการอยู่รอดของเชื้อโปรไบโอติกบางชนิดด้วยเช่นกัน ส่วนในด้านของแอกติวิตีของน้ำในอาหารที่ประมาณ 0.4 – 0.7 อาจจะต้องใช้วิธีการกักเก็บจุลินทรีย์ในอนุภาคไมโคร หรือการผสมโปรไบโอติกลงไปในส่วนที่เป็นไขมันเพื่อเพิ่มการอยู่รอดให้กับจุลินทรีย์โปรไบโอติก (Neha et al., 2012)

นอกจากนี้ยังมีสภาวะอื่นๆ อีกที่ส่งผลต่อการอยู่รอดของจุลินทรีย์โปรไบโอติก ได้แก่ ปริมาณของออกซิเจนในระบบ เนื่องจากจุลินทรีย์โปรไบโอติกแต่ละชนิดมีสภาวะที่เหมาะสมต่อการดำรงชีวิตที่แตกต่างกัน โดยโปรไบโอติกกลุ่ม Obligate anaerobe ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้เฉพาะในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนเท่านั้น และกลุ่ม Facultative anaerobe ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนแต่สามารถทนได้ในสภาวะที่มีออกซิเจน (ปรมาภรณ์ เกิดทรัพย์, 2559) ซึ่งออกซิเจนมีผลต่อการอยู่รอดของโปรไบโอติก 2 กลุ่มนี้ ดังนั้นอาจจะต้องมีการเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงในผลิตภัณฑ์ หรือใช้บรรจุภัณฑ์ที่กันออกซิเจน หรือปรับบรรยากาศภายในบรรจุภัณฑ์ เพื่อให้โปรไบโอติก 2 กลุ่มนี้มีการอยู่รอดได้ดีในผลิตภัณฑ์ และในบางผลิตภัณฑ์โปรไบโอติกบางกลุ่มเจริญเติบโตได้ยากอาจจำเป็นที่จะต้องเติมส่วนผสมเพื่อช่วยในการเจริญเติบโต เช่น carbon sources (growth factors) หรือเติมสารต้านอนุมูลอิสระ, เกลือแร่ และวิตามินลงไปเพิ่ม และมีการศึกษาอื่นพบว่า อินนูลินจากชิคอรี (พืชหัวชนิดหนึ่ง) ช่วยเพิ่ม

ประสิทธิภาพการเจริญและการอยู่รอดในระหว่างการเก็บรักษาจุลินทรีย์กลุ่มแลคโตบาซิลลัสได้ (Paseephol and Sherkat, 2009) นอกจากนี้ส่วนผสมที่มีไขมันสูงหรือความจุบัฟเฟอร์ (buffer capacity) สูงจะช่วยปกป้องเซลล์ของโปรไบโอติกทั้งในระหว่างที่อยู่ในบรรจุภัณฑ์และในระหว่างอยู่ในทางเดินอาหาร และนอกจากนี้ไม่ควรเติมสารกันเสียลงไป เพราะจะทำให้โปรไบโอติกมีอัตราการอยู่รอดลดลง (Neha et al., 2012) และยังมีปัจจัยด้านความเครียดจากสภาวะออกซิเดชัน (Abghari et al., 2010) ซึ่งเกิดจากการที่อนุมูลอิสระจะเข้าไปทำลายระบบต่างๆ ภายในเซลล์ หรือการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิพิดที่เป็นองค์ประกอบในเมมเบรนของเซลล์ได้เป็นสารเพอร์ออกไซด์ ทำให้เซลล์เมมเบรนเสียสภาพ ทำให้ไม่สามารถทำหน้าที่ได้ตามปกติ

2.6 ประโยชน์ของโปรไบโอติก (วิรัชนีย์ แก่นแสนดี และคณะ, 2558)

โปรไบโอติกสามารถกำจัดเชื้อก่อโรค(pathogen) ได้โดยการผลิตสารต้านจุลินทรีย์ เช่น กรดอินทรีย์ (organic acids) กรดไขมันอิสระ (free fatty acids) แอมโมเนีย (ammonia)ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogen peroxide) และแบคเทอริโอซิน (bacteriocins) ซึ่งสามารถยับยั้งได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบภายในลำไส้ อีกทั้งยังเข้าไปแย่งจับแบบแข่งขันในการยึดเกาะกับผนังลำไส้กับจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen) ซึ่งเป็นการป้องกันการติดเชื้อในลำไส้ของผู้บริโภคได้ นอกจากนี้โปรไปโอติกยังช่วยกระตุ้นและเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย โดยการกระตุ้นเม็ดเลือดขาวชนิดโมโนไซต์ (monocyte) ไปเป็นแมคโครฟาจ (macrophage) เพื่อกำจัดเชื้อโรคที่แปลกปลอมสู่ร่างกาย โปรไบโอติกยังช่วยสังเคราะห์และเสริมสร้างการดูดซึมของสารอาหาร โดยโปรไบโอติกสามารถสังเคราะห์วิตามินบางชนิดได้ เช่น กรดโฟลิค (วิตามินบี 9) ในผลิตภัณฑ์นม ,ไรโบฟลาวิน (วิตามินบี 2) และไนอะซิน (วิตามินบี 3) ในโยเกิร์ต, กรดแพนโทเธนิค (วิตามินบี 5) ไพริด็อกซิน (วิตามินบี 6) และไซยาโนโคบาลามิน (วิตามินบี 12) ในเนย บางสายพันธุ์สามารถหลั่งเอนไซม์ย่อยสลายสารอาหารให้อยู่ในรูปที่ง่ายต่อการย่อยและดูดซึมได้อีกด้วย นอกจากนี้โปรไบโอติกยังช่วยลดอาการแพ้น้ำตาลแลคโตสในนมได้โดยผลิตเอนไซม์บีตา-ดีกาแลคโตซิเดส (β-D-galactosides) ช่วยย่อยน้ำตาลแลคโตสได้ และโปรไบโอติกยังช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเส้นเลือดได้อีกด้วย โดยการผลิตเอนไซม์ย่อยเกลือน้ำดีไปเป็นเกลือน้ำดีอิสระ ซึ่งจะถูกดูดซึมได้น้อย ตกตะกอนได้ดี และถูกขับออกมาทางอุจจาระ จึงทำให้ปริมาณของเกลือน้ำดีที่จะถูกใช้ในตับและลำไส้ลดลง ดังนั้นร่างกายจึงต้องสังเคราะห์น้ำดีขึ้นมาใหม่โดยใช้คอเลสเตอรอลจากตับ จึงทำให้ปริมาณคอเลสเตอรอลภายในตับลดลง อีกทั้งปริมาณที่ถูกส่งออกมาตามกระแสเลือดก็ลดลงด้วยนั่นเอง ซึ่งปัจจัยที่ส่งผลต่อประโยชน์ของโพรไบโอติกที่ได้กล่าวมานั้นขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ที่ใช้ ปริมาณในการบริโภค (ปริมาณต่ำสุดในผลิตภัณฑ์ที่แนะนำเท่ากับ 6 log CFU/g) ระยะเวลาและความถี่ในการบริโภค และสภาพร่างกายของแต่ละบุคคล

2.7 กะทิ

กะทิเป็นอิมัลชันธรรมชาติชนิดน้ำมันในน้ำ กะทิเป็นผลิตภัณฑ์แปรรูปจากมะพร้าว เตรียมได้โดยการบด การบีบ การสกัด และกระบวนการอื่นๆ โดยใช้เอนโดสเปิร์ม (endosperm) ของมะพร้าวแก่ กะทิอุดมไปด้วยโปรตีน ไขมัน น้ำตาล วิตามิน เกลือแร่ โดยมีโปรตีนคิดเป็น 3.8% ประกอบด้วยโปรตีนหลักสองชนิด ได้แก่ โปรตีนโกลบูลิน (globulin) และโปรตีนอัลบูมิน (albumin) และมีไขมันคิดเป็น 35.2% (Xu et al., 2019) ในอิมัลชันของกะทิ โปรตีนจะเกาะอยู่บนผิวของน้ำมัน ทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์ (emulsifier) ซึ่งโปรตีนมีประจุจึงทำหน้าที่ป้องกันการรวมตัวกันของอนุภาคน้ำมัน โดยทำให้เกิดแรงผลักทางไฟฟ้าสถิต (Electrostatic Repulsion) และแรงผลักแบบสเตอริก (Steric Repulsion) ระหว่างอนุภาคน้ำมันในกะทิ (สุวิมล อริยประกาย, 2557)

ไขมันในกะทิมีทั้งไขมันสายสั้นและสายยาว แต่มีปริมาณไขมันสายสั้นมากกว่า ดังนั้นไขมันในกะทิจึงมีประโยชน์คือสามารถย่อยได้ง่าย นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยพบว่าปริมาณของ medium chain fatty acid (MCFA) ในกะทิ ที่พบเป็นหลักคือ lauric acid (C12:O) ทำให้จำนวนของ *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* และ *Bifidobacterium bifidum* เจริญเติบโตได้ดีกว่าในระหว่างการหมักและลดลงได้ช้ากว่าในระหว่างการเก็บเมื่อเทียบกับสูตรโยเกิร์ตนมปกติ (El-Kadi et al., 2017)

2.7.1 การโฮโมจีไนเซชัน (homoginization) กะทิ

กะทิที่ผ่านกระบวนการโฮโมจีไนเซชันจะทำให้ขนาดอนุภาคของน้ำมันลดลง ซึ่งอิมัลชันที่อนุภาคน้ำมันมีขนาดเล็กจะช่วยชะลออัตราการแยกชั้นครีม กะทิที่ผ่านเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ (homogenizer) แรงดันสูงที่ใช้แรงดันขั้นที่หนึ่ง 40 MPa และขั้นที่สอง 4 MPa จะมีขนาดอนุภาคน้ำมันลดลงจาก 10.9 ไมครอน เป็น 3.0 ไมครอน และหลังการโฮโมจีไนเซชันอนุภาคน้ำมันจะมีลักษณะเกาะกลุ่มกันมากขึ้น (สุวิมล อริยประกาย, 2557)

2.7.2 การให้ความร้อนกะทิ

การให้ความร้อนส่งผลต่อลักษณะทางกายภาพของกะทิ ลักษณะการไหลของอิมัลชันกะทิเปลี่ยนไปเมื่อให้ความร้อน โดยค่าความหนืดปรากฏแปรผกผันกับอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้น พบว่าสีของกะทิขึ้นอยู่กับอุณหภูมิและระยะเวลาให้ความร้อน การให้ความร้อนเป็นเวลาที่นานทำให้เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลระหว่างกรดอะมิโนและน้ำตาลรีดิวซ์ (Maillard reaction) ทำให้ค่าสี Hunter L/b (Lightness/Yellowness) มีค่าลดลง (สุวิมล อริยประกาย, 2557)

2.8 พรีไบโอติก

พรีไบโอติกเป็นกลุ่มของสารอาหารสามารถย่อยสลายได้ด้วยจุลินทรีย์ในลำไส้ กระตุ้นการทำงานและส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์โปรไบโอติก ตัวอย่างสารที่เป็นพรีไบโอติก เช่น Non-Carbohydrate Oligosaccharides, Galacto-oligosaccharide, Starch and Glucose-Derived Oligosaccharides และ Other Oligosaccharides ปัจจุบันพรีไบโอติกที่ได้รับความสนใจในการนำมาเป็นส่วนผสมเพื่อสุขภาพ (functional ingredient) ของอาหารเสริมเพื่อสุขภาพ เช่น อินนูลิน (inulin) และ ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosaccharide : FOS) ซึ่งจัดเป็นคาร์โบไฮเดรตกลุ่มฟรุกแทน (fructan) ที่มีดัชนีการสังเคราะห์พอลิเมอร์ของน้ำตาลฟรุกโทส (Degree of polymerization : DP) ตั้งแต่ 10 ขึ้นไปและอยู่ในช่วงระหว่าง 3 ไปจนถึง 7-10 หน่วย ตามลำดับ และจะมีหน่วยของน้ำตาลกลูโคสต่ออยู่ที่ปลายสาย จัดเป็นคาร์โบไฮเดรตชนิดที่ไม่สามารถย่อยได้โดยเอนไซม์ในกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กของมนุษย์ แต่สามารถย่อยได้โดยจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในลำไส้ใหญ่ เช่น *Lactobacillus* และ *Bifidobacterium* จึงช่วยเสริมสร้างภูมิต้านทานและยังสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรค (pathogen) บางชนิด จึงทำให้อินนูลิน (inulin) และ ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosaccharide) ถูกจัดจำแนกเป็นพรีไบโอติก โดยพืชที่มีการสะสมอินนูลิน (inulin) และ ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosaccharide) ในปริมาณสูงในประเทศไทย คือ แก่นตะวัน หรือ Jerusalem artichoke (จุฑามาศ ทรัพย์มาก, 2556)

2.9 แก่นตะวัน

แก่นตะวัน (Jerusalem Artichoke หรือ Sunchoke) เป็นพืชล้มลุกตระกูลเดียวกับทานตะวัน โดยในแก่นตะวันจะพบอินนูลินและฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosaccharides) อยู่ 16-20% และ10-15% ของน้ำหนักสด ตามลำดับ ดังตารางที่ 2 โดยที่จุลินทรีย์จะย่อย fructooligosaccharides ที่มีในแก่นตะวัน ได้เป็น fructose และใช้เป็นแหล่งพลังงานและเป็นแหล่งของคาร์บอน (Dimitrovski et al., 2016) มีการศึกษาเพิ่มขึ้นในการนำแก่นตะวันมาใช้เป็นพรีไบโอติก เช่น การศึกษาการเพิ่มขึ้นของปริมาณแบคทีเรียแลคติกเมื่อเติมปริมาณแก่นตะวัน ร้อยละ 0, 7, 14 และ 21โดยน้ำหนักของซอร์เบทมิกซ์ (ซอร์เบทเป็นผลิตภัณฑ์ในกลุ่มไอศกรีมมีส่วนผสมของน้ำ น้ำตาล และมีผลไม้เป็นองค์ประกอบอย่างน้อยร้อยละ 25 และไม่มีข้อกำหนดปริมาณไขมันนม ซึ่งแตกต่างจากเชอร์เบทที่กำหนดให้มีไขมันนมร้อยละ 1 – 2) ซึ่งมีขั้นตอนการเตรียม คือผสมน้ำเวย์พาสเจอร์ไรซ์ น้ำตาลทราย น้ำตาลกลูโคส ให้เข้ากัน จากนั้นนำไปพาสเจอร์ไรซ์ เมื่อส่วนผสมอุณหภูมิลดลงประมาณ 40 องศาเซลเซียสจึงเติมโยเกิร์ตรสธรรมชาติ (โยเกิร์ตทางการค้าระบุว่ามีเชื้อจุลินทรีย์คือ *Bifidobacterium lactic*, *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus*) ทำการผสมให้เข้ากันอีกครั้งแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 43-45 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณแก่นตะวันร้อยละ 21 ทำ

ให้ปริมาณ LAB สูงที่สุด และระยะเวลาบ่มซอร์เบทมิกซ์ที่เหมาะสมคือ 6 ชั่วโมง ทำให้มีปริมาณ LAB สูงที่สุดคือ $2.48x10^{11}$ CFU/mL (สุภณิดา พัฒธร และ พิมพรรณ เทียนพูล, 2559) และยังมีการศึกษาผลของแก่นตะวันต่อ *Lactobacillus plantarum* PCS26 ในเครื่องดื่มแก่นตะวัน พบว่า แบคทีเรียที่มีชีวิตในเครื่องดื่มแก่นตะวันยังคงมีจำนวนจุลินทรีย์เหลืออยู่ 10^6 CFU / mL แม้ว่าเก็บเป็นเวลานานถึง 20 วัน ที่อุณหภูมิ 4-7°C (Dimitrovski et al., 2016)

ตารางที่ 2 : อินนูลินและฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosaccharides) ในพืชชนิดต่าง ๆ

พืช	อินนูลิน (% น้ำหนักสด)	ฟรุคโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosaccharides) (% น้ำหนักสด)
หัวหอม	2-6	2-6
แก่นตะวัน	16-20	10-15
ชิคอรี	15-20	5-10
กระเทียมต้น	3-10	2-5
กระเทียม	9-16	3-6
อาร์ติโชค	3-10	< 1
กล้วย	0.3-0.7	0.3-0.7

(ที่มา : Thammarutwasik et al., 2009)

2.10 อินนูลิน

อินนูลิน (inulin) คือคาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) ประเภทพอลิแซคคาไรด์ (polysaccharide) ประเภทฟรุกแทน (พอลิเมอร์ของฟรุกโตส) ซึ่งโครงสร้างเกิดจากกลูโคสมาต่อกับฟรุกโทส ดังนั้นจุลินทรีย์โดยเฉพาะโปรไบโอติก สามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้ดี โดยมีการศึกษาการใช้อินนูลินในผลิตภัณฑ์ต่างๆ เพื่อเพิ่มการอยู่รอดของโปรไบโอติก เช่น มีการศึกษาว่าอินนูลินช่วยเพิ่มการอยู่รอดของ *Lactobacillus acidophilus* และ *Bifidobacterium lactis* ในไอศกรีมนมหมักเสริมโปรไบโอติกให้คงเหลืออยู่ได้ 6 log CFU/g ภายหลังจากการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18°C เป็นเวลา 90 วัน (Akın et al., 2007) และการศึกษาผลของอินนูลินต่อโปรไบโอติกที่อยู่ในนมหมักแบบพร่องมันเนย พบว่าอินนูลินกระตุ้นการอยู่รอดของ lactic acid bacteria และ *B. lactis* โดยเพิ่มขึ้นจาก 7.5–7.6 เป็น 9.1 log CFU /mL หลังจากการเก็บรักษา 1 วันหรือ 7 วัน ที่ 4 ° C (Oliveira et al., 2011) นอกจากนี้ อินนูลินสามารถเพิ่มปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวสายกลาง (medium chain fatty acid : MCFA) ในระหว่างการหมักและการเก็บโยเกิร์ต (Balthazar et al., 2016) ซึ่งได้มีงานวิจัยพบว่ากรดไขมันอิ่มตัวสายกลาง (medium-chain fatty acid : MCFA) นั้นมีส่วน

ช่วยเพิ่มจำนวนจุลินทรีย์โปรไบโอติก *Lactobacillus acidophilus Lactobacillus bulgaricus, Streptococcus thermophillus, and Bifidobacterial* ได้ (El-Kadi et al.,2017)

บทที่ 3

วัสดุอุปกรณ์และวิธีดำเนินการวิจัย (Materials and methods)

3.1 วัตถุดิบและส่วนผสม

3.1.1 กะทิ UHT ยี่ห้อกะทิชาวเกาะ (ไขมันทั้งหมด 24%, โปรตีน 2.3%, คาร์โบไฮเดรต 6%)

3.1.2 น้ำตาลทรายขาว ยี่ห้อลิน กลุ่มบริษัทน้ำตาลไทยรุ่งเรือง ประเทศไทย

3.1.3 น้ำดื่ม

3.1.4 อินนูลิน บริษัท Cosucra Groupe Warcoing S.A. ประเทศเบลเยียม

3.1.5 แก่นตะวันสด ไร่สะออนฟาร์ม จังหวัดนครราชสีมา ประเทศไทย

3.1.6 หัวเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ได้ความอนุเคราะห์จาก สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย จังหวัดปทุมธานี ประเทศไทย

3.1.7 นมพาสเจอร์ไรซ์สูตรไขมัน 0% ยี่ห้อเมจิ บริษัท ซีพี-เมจิ จำกัด ประเทศไทย

3.1.8 Commercial yogurt ยี่ห้อดัชชี่ บริษัท ดัชมิลล์ จำกัด ประเทศไทย

3.2 เครื่องมือ

3.2.1 เครื่อง Homogenizer ยี่ห้อ IKA รุ่น T25 digital ULTRA-TURRAX® ประเทศเยอรมัน

3.2.2 Water bath ยี่ห้อ Memmert, Germany รุ่น WNB Series ประเทศเยอรมัน

3.2.3 pH meter ยี่ห้อ Mettler-Toledo รุ่น S220-kit ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.2.4 ตู้อบร้อน (hot air oven) ยี่ห้อ Memmert, Germany รุ่น UN ประเทศเยอรมัน

3.2.5 Mojonnier type fat-extraction flasks ยี่ห้อ Funke Gerber ประเทศเยอรมัน

3.2.6 ถ้วยระเหย (evaporating dish)

3.2.7 เครื่องชั่ง (analytical balance) เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น ML-1602/01 ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.2.8 Viscometer ยี่ห้อ FUNGILAB รุ่น Alpha ประเทศสเปน

3.2.9 Centrifuge ยี่ห้อ HETTICH รุ่น UNIVERSAL 520R ประเทศเยอรมัน

3.2.10 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง ยี่ห้อ Hitachi รุ่น U-5100 ประเทศญี่ปุ่น

3.2.11 ตู้บ่ม (Incubator) ยี่ห้อ Memmert รุ่น NANA-105441 ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.3 สารเคมี

3.3.1 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ยี่ห้อ Loba Chemie PVT.LTD ประเทศอินเดีย

3.3.2 ฟีนอล์ทาลีน (phenolphthalein) ยี่ห้อ Merck ประเทศเยอรมัน

3.3.3 Ammonia solution ความเข้มข้นประมาณ 25% ยี่ห้อ QReC ประเทศนิวซีแลนด์

3.3.4 ปิโตรเลียมอีเทอร์ (petroleum ether) ยี่ห้อ QReC ประเทศนิวซีแลนด์

3.3.5 Diethyl ether (ชนิดไม่มีสาร peroxide) ยี่ห้อ QReC ประเทศนิวซีแลนด์

3.3.6 Ethanol (ความบริสุทธิ์ไม่น้อยกว่า 94% โดยปริมาตร) ยี่ห้อ QReC ประเทศนิวซีแลนด์

3.3.7 Kjeldahl catalyst tablets ยี่ห้อ Ajax Finechem ประเทศออสเตรเลีย

3.3.8 Conc.H_2SO_4 ยี่ห้อ QReC ประเทศนิวซีแลนด์

3.3.9 กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid) ยี่ห้อ Ajax Finechem ประเทศออสเตรเลีย

3.3.10 กรดโบรมิก (bromic acid) ยี่ห้อ Merck ประเทศเยอรมัน

3.3.11 โบรโมครีซอลกรีนอินดิเคเตอร์ (bromocresol green indicator) ยี่ห้อ QReC ประเทศนิวซีแลนด์

3.3.12 อาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ยี่ห้อ Himedia ประเทศอินเดีย

3.3.13 อาหารเลี้ยงเชื้อ NA ยี่ห้อ Himedia ประเทศอินเดีย

3.3.14 agar ยี่ห้อ Himedia ประเทศอินเดีย

3.3.15 โซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride) ยี่ห้อ Loba Chemie PVT.LTD ประเทศอินเดีย

3.4 วิธีดำเนินการวิจัย

3.4.1 การหาสูตรโยเกิร์ตที่มีไขมันกะทิที่มีสมบัติทางเคมีและทางกายภาพใกล้เคียงกับโยเกิร์ตนมปราศจากไขมัน

การหาสูตรโยเกิร์ตที่มีไขมันกะทิมา 1 สูตรที่มีลักษณะทางเคมีและทางกายภาพใกล้เคียงกับสูตรโยเกิร์ตนมปราศจากไขมัน (สูตรควบคุม) จะคัดเลือกจาก 3 สูตร (ทำการทดลองสูตรละ 3 ซ้ำ) ที่แปรปริมาณน้ำกะทิเป็น 17, 18 และ 19% ดังแสดงส่วนประกอบของแต่ละสูตรในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 : ส่วนประกอบของแต่ละสูตรที่ใช้ในการหมักโยเกิร์ตที่มีไขมันกะทิและโยเกิร์ตปราศจากไขมัน

ส่วนประกอบ	ปริมาณ (%)			
	สูตรโยเกิร์ตปราศจากไขมัน (สูตรควบคุม)	สูตร1	สูตร2	สูตร3
น้ำตาลซูโครส (w/v%)	-	2	2	2
นมปราศจากไขมัน (v/v%)	98	77	78	79
น้ำกะทิ (v/v%)	-	19	18	17
Yogurt starter culture (v/v%)	2	2	2	2

3.4.1.1 การเตรียมนมที่มีไขมันกะทิ

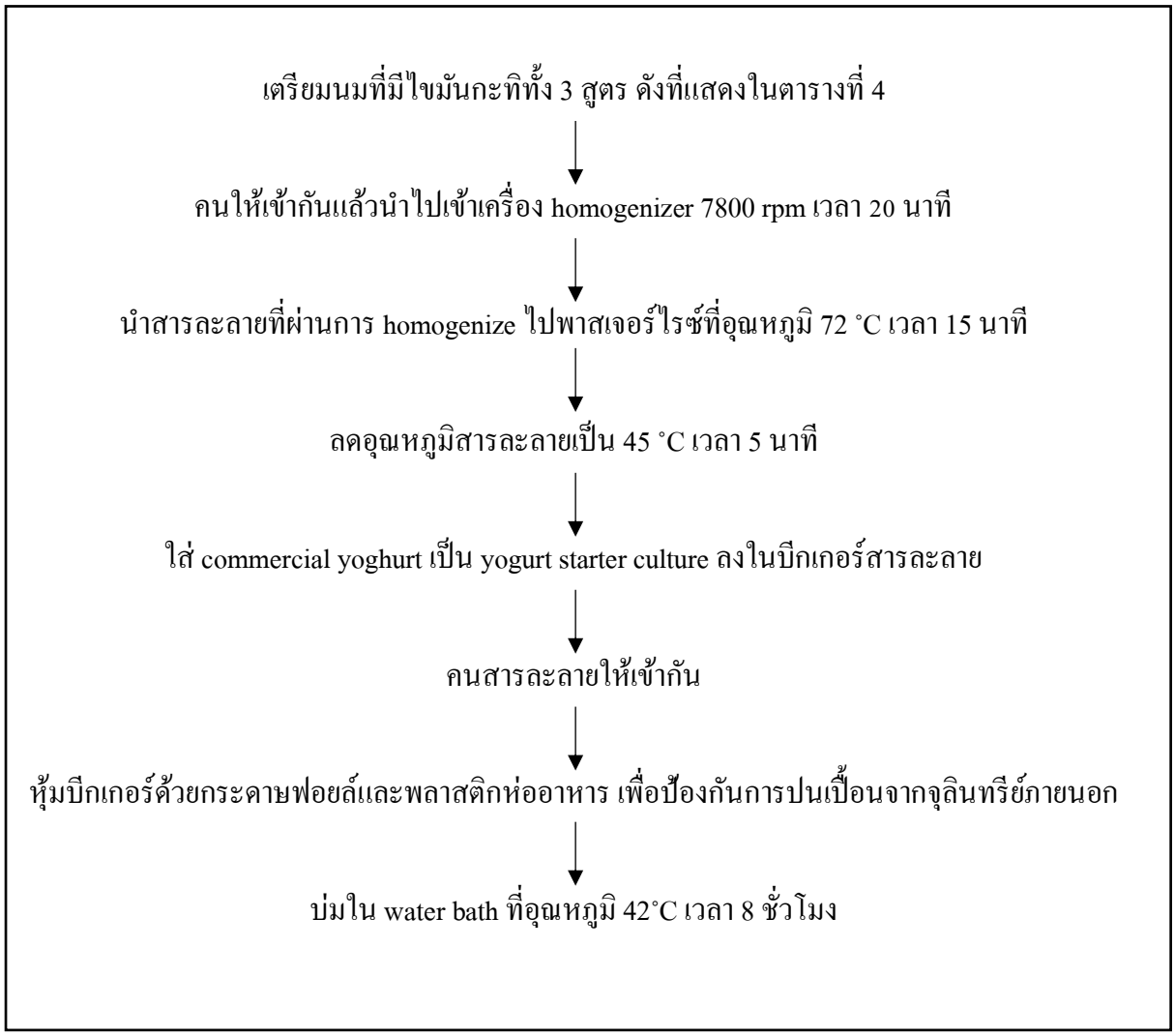
การนำนมปราศจากไขมันที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์แล้วทางการค้าผสมกับกะทิกล่อง UHT และน้ำตาลซูโครสตามตารางที่ 3 ในแต่ละสูตร

3.4.1.2 การเตรียม yogurt starter culture

นำ commercial yogurt 10 มิลลิลิตร มาหมักกับนมปราศจากไขมันที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ทางการค้าปริมาตร 250 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.4.1.3 การทำโยเกิร์ต

นำนมที่มีไขมันกะทิที่เตรียมจาก 3.4.1.1 ปริมาตร 392 มิลลิลิตรไปเข้าเครื่องโฮโมจีไนเซอร์ ที่ความเร็วรอบ 7800 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที และนำไปพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 72°C เป็นเวลา 15 นาที และลดอุณหภูมิลงเหลือ 45°C และเติม yogurt starter culture ที่เตรียมจาก 3.4.1.2 ปริมาตร 8 มิลลิลิตร หลังจากใส่ yogurt starter culture นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 42 °C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง ตามภาพที่ 2

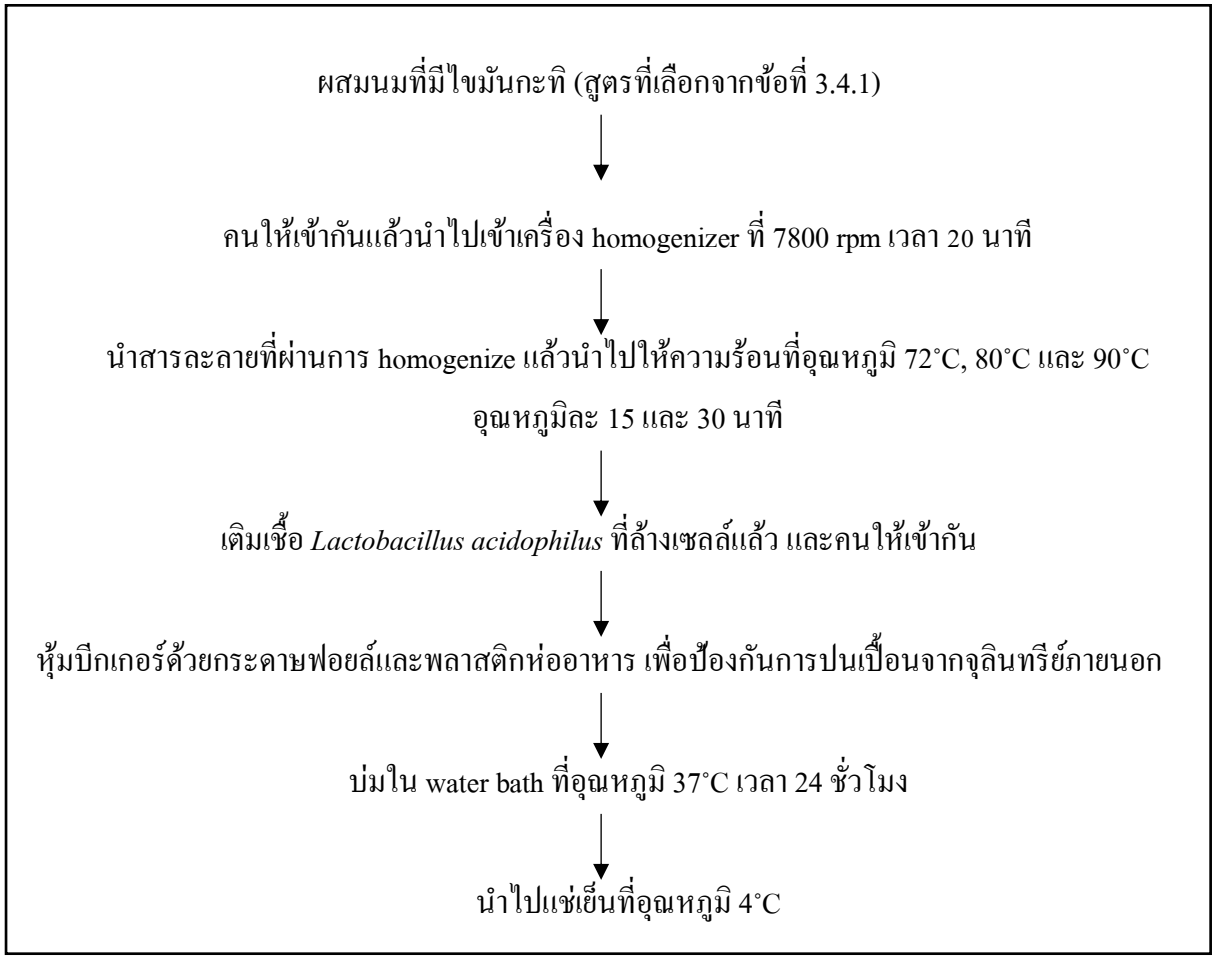


ภาพที่ 2 : ขั้นตอนการทำโยเกิร์ตที่มีไขมันกะทิ

จากนั้นนำโยเกิร์ตที่หมักแล้ว 8 ชั่วโมงในแต่ละสูตรมาวัดลักษณะทางเคมี ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) (A.O.A.C., 2005) และปริมาณกรดทั้งหมด (TA) (A.O.A.C., 1995) และวัดลักษณะทางกายภาพ ได้แก่ ค่าความหนืด (viscosity) โดยใช้เครื่องวัดความหนืด Brookfield viscometer , ความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity) และค่าการสูญเสียน้ำ (syneresis) ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Keogh and Kennedy (1998) และ Sodini et al. (2006) โดยในการคัดเลือกสูตรนั้นจะพิจารณาจากค่าปริมาณกรดเป็นหลัก โดยเลือกสูตรที่มีปริมาณกรดใกล้เคียงกับสูตรโยเกิร์ตปราศจากไขมัน (สูตรควบคุม) มากที่สุด หลังจากนั้นจะพิจารณาจากค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ ค่าการสูญเสียน้ำ และค่าความหนืดที่ใกล้เคียงกับสูตรโยเกิร์ตปราศจากไขมัน (สูตรควบคุม) มากที่สุด เมื่อได้สูตรโยเกิร์ตที่มีไขมันกะทิแล้ว จะนำสูตรที่ได้ไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยวัดปริมาณไขมัน, โปรตีน และของแข็งทั้งหมด ตามที่แสดงในภาคผนวก (ดัดแปลงมาจากวิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์อาหารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เล่ม 1)

3.4.2 การศึกษาความร้อนในการฆ่าเชื้อที่เหมาะสมในการทำนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีไขมันกะทิ

ขั้นนี้เป็นการศึกษาอุณหภูมิในการฆ่าเชื้อในการทำนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัส เพื่อให้แน่ใจว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการพาสเจอร์ไรซ์จะไม่ทำให้เกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์อื่นๆ ภายหลังจากการหมักด้วย *Lactobacillus acidophilus* เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ซึ่งสามารถทำได้โดยนำสูตรนมที่มีไขมันกะทิที่ได้จากตอนที่ 3.4.1 มาให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาต่างๆ คือ 72˚C 80˚C และ 90˚C เป็นเวลา 15 และ 30 นาทีในแต่ละอุณหภูมิ ได้เป็นนมพาสเจอร์ไรซ์ที่มีไขมันกะทิ หลังจากนั้นนำนมพาสเจอร์ไรซ์ที่มีไขมันกะทิมาทำการตรวจจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด นับจำนวนเซลล์ที่มี โดยการนำตัวอย่างนมพาสเจอร์ไรซ์ที่มีไขมันกะทิไปทำ dilution และเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ทำการนับจำนวนจุลินทรีย์ที่ขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA ที่มีจำนวนจุลินทรีย์ขึ้นระหว่าง 30 – 300 โคโลนี ตามที่แสดงในภาคผนวก (ดัดแปลงมาจากวิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์อาหารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เล่ม 1) และคัดเลือกอุณหภูมิและเวลาที่ทำให้มีจำนวนจุลินทรีย์ที่ตรวจพบในนมพาสเจอร์ไรซ์ที่มีไขมันกะทิมีจำนวนไม่เกิน 10,000 CFU/mL จากนั้นนำอุณหภูมิและเวลาดังกล่าวมาใช้ในการทำนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัส ซึ่งทำได้โดยนำนมที่มีไขมันกะทิที่ได้จากตอนที่ 3.4.1 มา 392 มิลลิลิตร ให้ความร้อนตามอุณหภูมิและเวลาที่เลือกมา และนำมาใส่ *L. acidophilus* 8 มิลลิลิตร และก่อนการนำ *L. acidophilus* มาใช้ต้องทำการ activate culture ก่อน ซึ่งทำได้จากการนำ *L. acidophilus* จากกลีเซอรอลมา 200 ไมโครลิตร มาใส่ใน MRS broth 9 มิลลิลิตร นำไปบ่มอุณหภูมิ 37˚C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำ *L. acidophilus* ใน MRS broth จากการบ่ม 24 ชั่วโมงมา 1 มิลลิลิตร เลี้ยงต่อใน MRS broth 9 มิลลิลิตรหลอดใหม่ที่อุณหภูมิ 37˚C เป็นเวลา 16 ชั่วโมง หลังจาก activate culture แล้ว จากนั้นนำหลอด MRS broth ที่มี cell suspension ไปล้างเซลล์โดยนำไป centrifuge 15,000 g เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 4ºC (Abedfar et al., 2020) จากนั้นนำ MRS broth ที่อยู่ด้านบนออก ให้เหลือแต่ตะกอนเซลล์ด้านล่าง และใส่ NaCl 0.85% 9 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน เพื่อทำการล้างเซลล์ ทำการล้างเซลล์แบบนี้อีก 2 รอบ หลังจากนั้น ปรับความเข้มข้นของ *L. acidophilus* ให้ได้ 2% (v/v) โดยใส่สารละลาย NaCl 0.85% ผสมกับ *L. acidophilus* จนมีปริมาตรสุดท้ายเป็น 8 มิลลิลิตร โดยจำนวนของเชื้อ *L. acidophilus* เริ่มต้นหาได้จากการสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับจำนวนจุลินทรีย์ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของเซลล์ใน NaCl 0.85% ที่ความยาวคลื่น 600 nm ซึ่งได้สมการดังนี้ $y = 12.099x$ หลังจากใส่ *L. acidophilus* ก็นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37˚C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตามภาพที่ 3



ภาพที่ 3 : ขั้นตอนการทำนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีไขมันกะทิ

หลังจากการบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีไขมันกะทิมาตรวจสอบการปนเปื้อนของจุลินทรีย์อื่นๆ ภายหลังจากการหมัก ซึ่งตรวจได้จากลักษณะทางกายภาพ คือ กลิ่นและลักษณะบนผิวหน้าของนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีไขมันกะทิ และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) (A.O.A.C, 2005) ว่าเป็นไปตามค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัส

3.4.3 การศึกษาการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus acidophilus* เทียบกับการเจริญของ starter culture ในนมปราศจากไขมัน

ทำได้โดยการนำนมปราศจากไขมันที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ทางการค้าปริมาตร 392 มิลลิลิตรมาใส่ *L.acidophilus* 8 มิลลิลิตร ซึ่งการเตรียม *L.acidophilus* ทำได้ตามข้อ 3.4.2 และหลังจากใส่ *L.acidophilus* แล้วก็นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยระหว่างการบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมงจะทำการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) (A.O.A.C, 2005) และปริมาณกรดทั้งหมด (TA) (A.O.A.C, 1995) ที่เวลา 0, 2, 4,

6, 8, 18, 22 และ 24 ชั่วโมง (3 ซ้ำของตัวอย่าง) และนำค่า pH และปริมาณกรดทั้งหมดไปเปรียบเทียบกับโยเกิร์ตนมปราศจากไขมัน (สูตรควบคุม) ซึ่งทำได้โดยนำนมปราศจากไขมันที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ทางการค้าปริมาตร 392 มิลลิลิตรมาใส่ yogurt starter culture ปริมาตร 8 มิลลิลิตร ซึ่งการเตรียม yogurt starter culture ทำได้ตามที่ระบุไว้ใน 3.4.1.2 หลังจากที่เติม yogurt starter culture แล้วก็นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 42°C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง (3 ซ้ำของตัวอย่าง) และทำการวัดค่า pH (A.O.A.C, 2005) และปริมาณกรดทั้งหมด (A.O.A.C, 1995) ที่เวลา 0, 2, 4, 6 และ 8 ชั่วโมง

3.4.4 การศึกษาผลของกะทิต่อการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus acidophilus* ในนมที่มีไขมันกะทิ

ขั้นตอนการทำคือเตรียมนมที่มีไขมันกะทิที่ได้จากตอนที่ 3.4.1 ที่ผ่านการให้ความร้อนที่ได้จากตอนที่ 3.4.2 และเตรียมนมปราศจากไขมันที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ทางการค้า (สูตรควบคุม) มาอย่างละ 392 มิลลิลิตร มาใส่ *L.acidophilus* 8 มิลลิลิตร ซึ่งการเตรียม *L.acidophilus* ทำได้ตามตอนที่ระบุไว้ในตอนที่ 3.4.2 หลังจากนั้นนำนมทั้งสองสูตรไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และทำการวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ *L.acidophilus* ของนมทั้งสองสูตรระหว่างการบ่มที่เวลา 0, 2, 6, 8, 18, 22 และ 24 ชั่วโมง และเปรียบเทียบจำนวนจุลินทรีย์ *L.acidophilus* ที่เวลาต่างๆ ของนมทั้งสองสูตร (ทำสูตรละ 3 ซ้ำ) และในการนับจำนวนจุลินทรีย์ที่มีของนมทั้งสองสูตร ทำได้โดยการนำตัวอย่างนมทั้งสองสูตรที่ใส่เชื้อแล้ว ไปทำ dilution และเพาะเลี้ยงบนอาหาร MRS agar ทำการนับจำนวนจุลินทรีย์ที่ขึ้นบนอาหาร MRS agar ที่มีจำนวนจุลินทรีย์ขึ้นระหว่าง 30 – 300 โคโลนี (ดัดแปลงมาจาก O' Conner-Show et al., 1994) ตามที่แสดงในภาคผนวก

3.4.5 การศึกษาผลของการแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลินหรือแก่นตะวันต่อการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus acidophilus* ในนมที่มีไขมันกะทิ

ขั้นตอนการทำคือเตรียมนมทั้งหมด 3 สูตร (ทำสูตรละ 3 ซ้ำ) คือ นมที่มีไขมันกะทิตามสูตรที่ได้จากตอนที่ 3.4.1 (สูตรควบคุม) และนมที่มีไขมันกะทิตามสูตรที่ได้จากตอนที่ 3.4.1 แต่แทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลินหรือแก่นตะวัน โดยอินนูลินที่ใช้เป็นอินนูลินผง และแก่นตะวันเตรียมจากแก่นตะวันสด ที่นำมาปอกเปลือกและล้างให้สะอาด จากนั้นนำมาสับเป็นชิ้นเล็กๆและนำไปปั่น หลังจากที่เตรียมอินนูลินและแก่นตะวันแล้วใส่ลงไปแทนที่น้ำตาลซูโครสในนมที่มีไขมันกะทิตามสูตรที่ได้จากตอนที่ 3.4.1 จากนั้นนำทั้ง 3 สูตรมาผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาที่ได้จากตอนที่ 3.4.2 โดยแต่ละสูตรมีปริมาตร 392 มิลลิลิตร หลังจากนั้นใส่ *L.acidophilus* 8 มิลลิลิตรลงไปทั้ง 3 สูตร ซึ่งการเตรียม *L.acidophilus* ทำได้ตามที่ระบุใน

ตอนที่ 3.4.2 หลังจากนั้นนำทั้ง 3 สูตรไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และทำการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) (A.O.A.C, 2005), ปริมาณกรดทั้งหมด (TA) (A.O.A.C., 1995) และวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ *L. acidophilus* โดยวัดจำนวนจุลินทรีย์ที่ขึ้นบนอาหาร MRS agar ดังที่ได้กล่าวมาในข้อ 3.4.4 (ดัดแปลงมาจาก O' Conner-Show et al., 1994) ในระหว่างการบ่ม 24 ชั่วโมง ที่เวลา 0, 2, 6, 8 , 18, 22 และ 24 ชั่วโมง ของทั้ง 3 สูตร

3.4.6 การศึกษาผลของการแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลินหรือแก่นตะวันต่อการอยู่รอดของ *Lactobacillus acidophilus* ในนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีไขมันกะทิ

ขั้นตอนการทำคือเตรียมนมทั้งหมด 3 สูตร (ทำสูตรละ 3 ซ้ำ) คือ นมที่มีไขมันกะทิตามสูตรที่ได้จากตอนที่ 3.4.1 (สูตรควบคุม) และนมที่มีไขมันกะทิตามสูตรที่ได้จากตอนที่ 3.4.1 แต่แทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลินหรือแก่นตะวัน โดยอินนูลินและแก่นตะวันเตรียมได้จากที่ได้กล่าวไปในตอนที่ 3.4.5 จากนั้นนำทั้ง 3 สูตรมาผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิและเวลาที่ได้จากตอนที่ 3.4.2 โดยแต่ละสูตรมีปริมาตร 392 มิลลิลิตร หลังจากนั้นใส่ *L.acidophilus* 8 มิลลิลิตรลงไปทั้ง 3 สูตร ซึ่งการเตรียม *L.acidophilus* ทำได้ตามที่ระบุในตอนที่ 3.4.2 หลังจากนั้นนำทั้ง 3 สูตรไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากการบ่ม 24 ชั่วโมงแล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 14 วัน และทำการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) (A.O.A.C, 2005), ปริมาณกรดทั้งหมด (TA) (A.O.A.C., 1995) และวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ *L. acidophilus* โดยวัดจำนวนจุลินทรีย์ที่ขึ้นบนอาหาร MRS agar ดังที่ได้กล่าวมาในข้อ 3.4.4 (ดัดแปลงมาจาก O' Conner-Show et al., 1994) ในระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิ 4°C ในวันที่ 0, 7 และ 14

3.4.7 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ทำการเก็บรวบรวมข้อมูลและบันทึกข้อมูลที่ได้จากการทดลองในแต่ละตอน การทดลองทั้งหมดทำซ้ำ 3 ครั้ง เก็บรวบรวมข้อมูลแล้วนำไปหาค่าเฉลี่ย ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลด้วย Analysis of variance : ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Fisher's Least-Significant Difference : LSD ประมวลผลจากโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูปด้วยโปรแกรม IBM SPSS Statistics เวอร์ชั่น 22 จากบริษัท SPSS: An IBM Company

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล (Results and Discussion)

4.1 การหาสูตรโยเกิร์ตที่มีไขมันกะทิที่มีสมบัติทางเคมีและทางกายภาพใกล้เคียงกับโยเกิร์ตนมปราศจากไขมัน

จากโยเกิร์ตที่มีปริมาณน้ำกะทิเป็น 17, 18 และ 19% เลือกสูตรโยเกิร์ตที่มีไขมันกะทิที่มีสมบัติทางเคมีและทางกายภาพที่ใกล้เคียงกับโยเกิร์ตนมปราศจากไขมันมากที่สุด โดยจะพิจารณาจากปริมาณกรดเป็นหลัก เนื่องจากกรดเป็น primary metabolite ซึ่งปริมาณของกรดแปรโดยตรงกับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยในระหว่างกระบวนการหมักเซลล์จะผลิตเอนไซม์บีตา-ดีกาแลคโตซิเดส (β-d-galactosidase) ในการย่อยน้ำตาลแลคโทส (lactose) ในนมให้ได้น้ำตาลดีกลูโคส (D-glucose) ผ่าน glycolysis pathway ได้เป็นไพรูเวต และจากนั้นจะได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายคือกรดแลคติก (Vinderola et al., 2000) และจากการทดลองพบว่าสูตรโยเกิร์ตที่มีน้ำกะทิ 18 %และ 19% มีปริมาณกรดที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) และมีปริมาณกรดรองลงมาจากสูตรโยเกิร์ตนมปราศจากไขมัน (สูตรควบคุม) โดยสูตรที่ 3 (โยเกิร์ตที่มีน้ำกะทิ 17%) มีปริมาณกรดที่น้อยที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 : แสดงค่าเฉลี่ยของปริมาณกรดทั้งหมด (TA) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของสูตรโยเกิร์ตที่มีไขมันกะทิในระดับต่างๆ เทียบกับโยเกิร์ตปราศจากไขมัน

สูตร	ปริมาณกรดทั้งหมด	pH
สูตรโยเกิร์ตนมปราศจากไขมัน	1.119 ± 0.010^{a}	4.16 ± 0.005^{b}
สูตร1	1.026 ± 0.016^{b}	4.25 ± 0.017^{a}
สูตร2	1.016 ± 0.165^{b}	4.15 ± 0.015^{b}
สูตร3	0.981 ± 0.009^{c}	4.16 ± 0.021^{b}

*สูตร1-โยเกิร์ตที่มีน้ำกะทิ 19%, สูตร2 – โยเกิร์ตที่มีน้ำกะทิ 18%, สูตร3 – โยเกิร์ตที่มีน้ำกะทิ 17%

ดังนั้น จึงนำสูตรโยเกิร์ตที่มีน้ำกะทิ 18% และ 19% มาพิจารณาลักษณะทางกายภาพ พบว่าสูตรโยเกิร์ตที่มีน้ำกะทิ 18% มีลักษณะทางกายภาพที่ใกล้เคียงกับสูตรนมปราศจากไขมัน โดยทั้งสองสูตรไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ดังตารางที่ 5 ในเรื่องของความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity), การสูญเสียน้ำ (syneresis) และค่าความหนืด (viscosity) ที่ใกล้เคียงกันมากกว่าอีก 2 สูตรที่เหลือ ดังนั้นจึงเลือกใช้สูตรที่ 2 มาใช้ในการทำนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัส และจากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในโยเกิร์ตที่มีน้ำกะทิ 18% พบว่ามีปริมาณไขมัน และโปรตีนเท่ากับ 1.59% ± 0.420 และ 3.01% ± 0.107 ตามลำดับ ซึ่งมีปริมาณที่เป็นไปตามมาตรฐาน CODEX ของโยเกิร์ตที่ระบุไว้ว่าต้องมีโปรตีนไม่ต่ำกว่า 2.7% (% w/w) และต้องมีไขมันไม่เกิน 15% (% w/w) (Codex, 2003) และมีปริมาณของแข็งทั้งหมดในสูตรโยเกิร์ตที่มีน้ำกะทิ 18% เท่ากับ 11.44% ± 0.172

ตารางที่ 5 : ลักษณะทางกายภาพของสูตรโยเกิร์ตที่มีไขมันกะทิในระดับต่างๆ เทียบกับโยเกิร์ตปราศจากไขมัน

สูตร	**สมบัติทางกายภาพ**		
	Viscosity	Syneresis	Water holding capacity
สูตรโยเกิร์ตนมปราศจากไขมัน	1907.8 ± 8.053^{b}	51.20 ± 1.525^{b}	48.80 ± 1.525^{a}
สูตร 1	1251.3 ± 1.217^{d}	54.50 ± 1.257^{a}	44.05 ± 1.257^{b}
สูตร 2	1886.2 ± 6.032^{c}	51.01 ± 2.432^{b}	48.99 ± 2.432^{a}
สูตร 3	2055.5 ± 7.300^{a}	50.79 ± 1.159^{b}	49.21 ± 1.159^{a}

*สูตร1-โยเกิร์ตที่มีน้ำกะทิ 19%, สูตร2 - โยเกิร์ตที่มีน้ำกะทิ18%, สูตร3 - โยเกิร์ตที่มีน้ำกะทิ17%

4.2 การศึกษาความร้อนในการฆ่าเชื้อที่เหมาะสมในการทำนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีไขมันกะทิ

เนื่องจากผู้วิจัยได้ทำการพาสเจอร์ไรซ์นมที่มีไขมันกะทิที่อุณหภูมิ 72 °C นาน 15 นาที ซึ่งเป็นอุณหภูมิและเวลาเดียวกับการพาสเจอร์ไรซ์โยเกิร์ตที่มีไขมันกะทิ แต่หลังการบ่มนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีไขมันกะทิเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นมเปรี้ยวที่ได้บูดมีกลิ่นเหม็นและเกิดจุดสีน้ำตาลขึ้น ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าในระหว่างกระบวนการโฮโมจิไนซ์ด้วย homogenizer เพื่อผสมส่วนผสมระหว่างนมกับกะทิให้เข้ากันและต้องใช้เวลาในขั้นนี้นานถึง 20 นาที อาจจะเกิดการปนเปื้อนของ biofilm จากเครื่องมือได้ และนอกจากนี้การทำนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสทำการหมักที่อุณหภูมิ 37°C ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เหมาะแก่การเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย ดังนั้น ในการทำนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสจึงอาจจะต้องมีการเพิ่มอุณหภูมิและเวลาในการพาสเจอร์ไรซ์ที่สูงกว่าที่อุณหภูมิ 72 °C เวลา 15 นาที เพื่อให้มีจุลินทรีย์ที่เหลือหลังจากการพาสเจอร์ไรซ์ไม่เกิน 10,000 CFU/g (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 352, 2556) ซึ่งได้ทำการศึกษาอุณหภูมิและเวลาในการพาสเจอร์ไรซ์ที่เหมาะสมดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 : จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่เหลือหลังพาสเจอร์ไรซ์เซชันของนมที่มีไขมันกะทิในสูตร 2

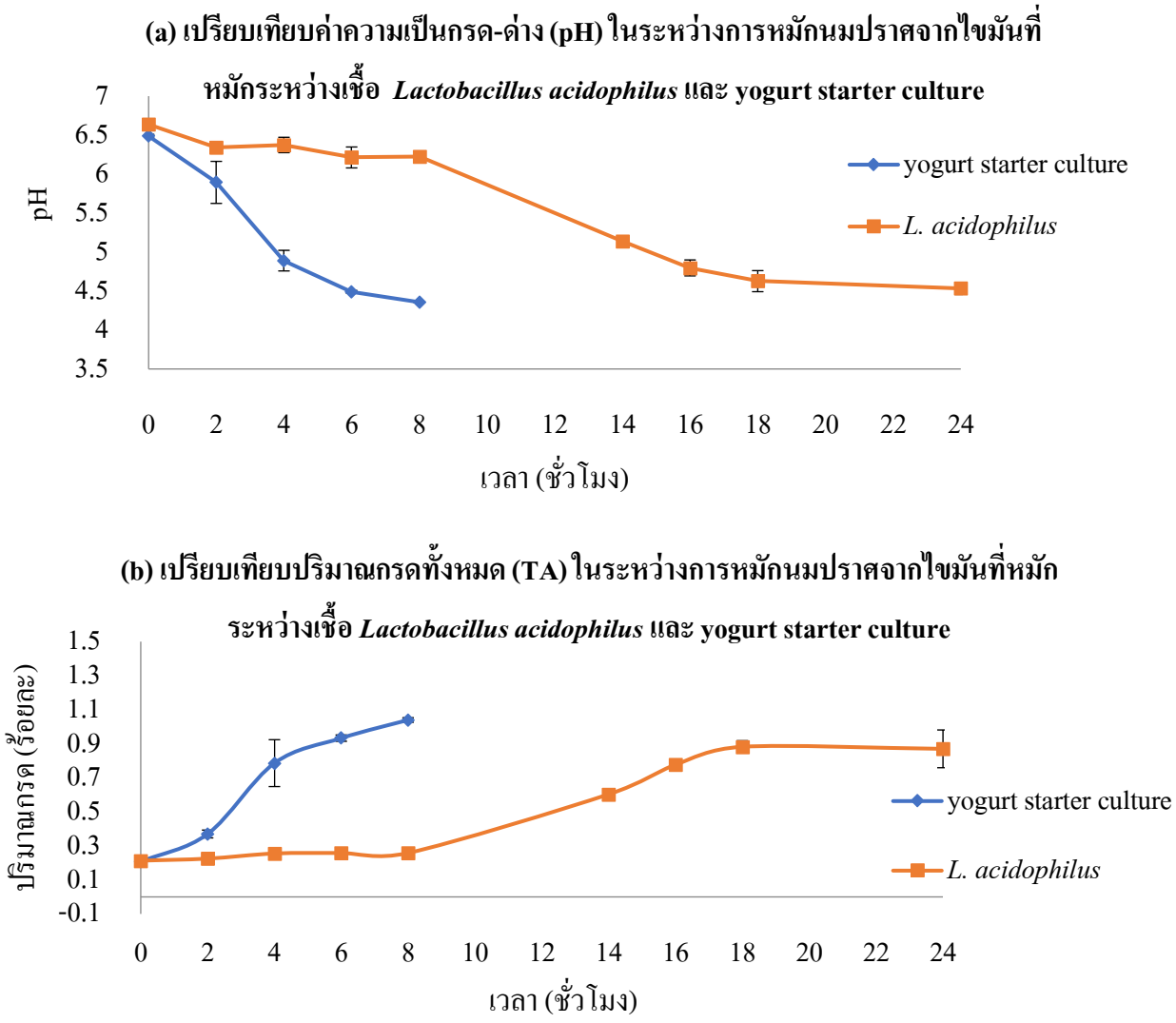
อุณหภูมิพาสเจอร์ไรซ์ (°C)	เวลา (นาที)	จำนวนเชื้อจุลินทรีย์ที่เหลือหลังการพาสเจอร์ไรซ์ (CFU/g)
72 (control)	15	>10,000
72	30	>10,000
80	15	>10,000
	30	>10,000
90	15	>10,000
	30	ไม่พบ
	60	ไม่พบ

จากตารางที่ 6 แสดงให้เห็นได้ว่าที่อุณหภูมิพาสเจอร์ไรซ์ 90°C เป็นเวลา 30 และ 60 นาที ของนมที่มีไขมันกะทิในสูตรที่ 2 (สูตรที่มีน้ำกะทิ 18%) ไม่พบจุลินทรีย์หลังการพาสเจอร์ไรซ์ ดังนั้นจึงเลือกใช้อุณหภูมิพาสเจอร์ไรซ์ที่ 90°C นาน 30 นาที เนื่องจากเป็นเวลาที่สั้นกว่า เพื่อไม่ให้เกิดการสูญเสียน้ำในระหว่างการพาสเจอร์ไรซ์มากเกินไปและรักษาคุณภาพทางกายภาพของนมเปรี้ยวไว้ แต่เมื่อนำนมที่มีไขมันกะทิไปพาสเจอร์ไรซ์ที่ 90°C เป็นเวลา 30 นาทีไปหมักด้วยเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าหลังจากการหมักมีการปนเปื้อนจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสีย สังเกตได้จากการพบจุดสีน้ำตาลอยู่บนผิวหน้าของนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสและมีกลิ่นผิดปกติ อาจเกิดจากอุณหภูมิพาสเจอร์ไรซ์ที่ 90°C

สามารถทำลาย vegetative cell ได้ แต่ไม่สามารถทำลาย spore ได้ ดังนั้นเมื่อเรานำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชม. ทำให้เกิดการงอกของ spore และเกิดการปนเปื้อนจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเสื่อมเสีย (spoilage) ได้ ดังนั้นในการให้ความร้อนนมที่มีไขมันกะทิอาจจะต้องทำการพาสเจอร์ไรซ์ 2 รอบ คือ หลังจากการพาสเจอร์ไรซ์รอบแรก นำไปตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 37°C เพื่อให้ spore งอกเป็น vegetative cell แล้วทำการพาสเจอร์ไรซ์ซ้ำอีกครั้ง เพื่อฆ่า vegetative cell แต่เนื่องจากต้องใช้เวลานานมากขึ้นในการพาสเจอร์ไรซ์ 2 รอบ ดังนั้นจึงเปลี่ยนมาใช้วิธี sterilization ที่อุณหภูมิ 118°C นาน 10 นาที และหลังจากการนำไปหมักด้วยเชื้อ *L. acidophilus* พบว่าไม่เกิดการเสื่อมเสียภายหลังการหมัก สังเกตได้จากไม่มีกลิ่นที่เหม็นรุนแรง มีกลิ่นที่หอมของกะทิ และมีค่า pH เท่ากับ 5.6 ซึ่งเป็นไปตามค่า pH ของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีค่าอยู่ระหว่าง 5.5-6.0 (Hati et al., 2019)

4.3 การศึกษาการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus acidophilus* เทียบกับการเจริญเติบโตของ yogurt starter culture ในนมปราศจากไขมัน

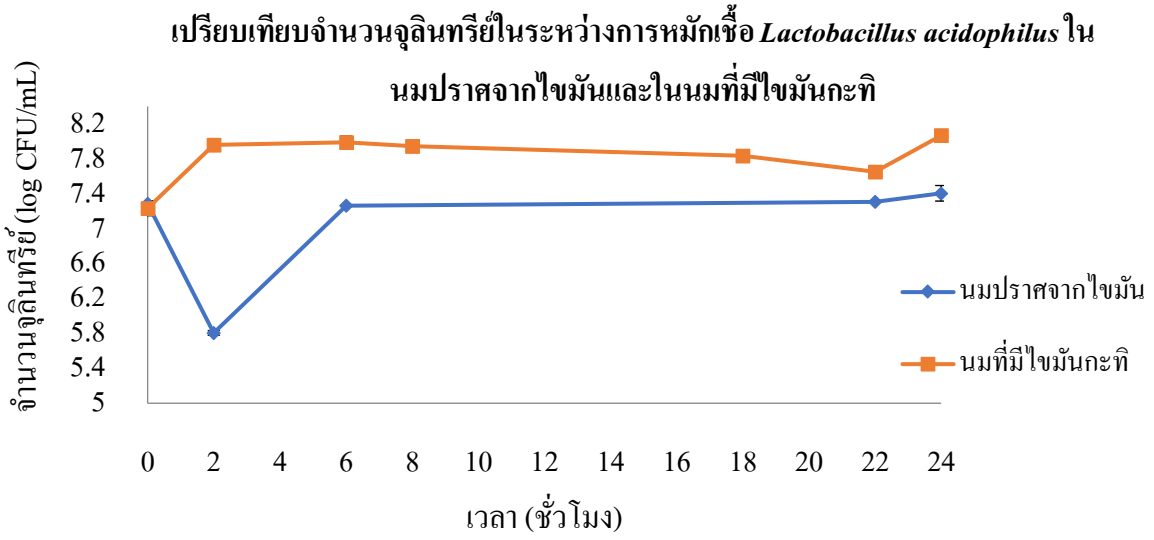
จากค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และ ปริมาณกรดทั้งหมด (TA) ของ *L. acidophilus* หรือ yogurt starter culture ในนมปราศจากไขมันพบว่าในระหว่างการหมักนมปราศจากไขมัน (commercial pasteurized milk) ด้วยเชื้อ *L. acidophillus* มีค่า pH ลดลงช้ากว่าการหมักนมปราศจากไขมันโดย yogurt starter culture และปริมาณกรดทั้งหมดก็เพิ่มขึ้นช้ากว่าด้วย ดังแสดงในภาพที่ 4 นอกจากนี้ยังพบว่าเวลาในการหมักของเชื้อจุลินทรีย์ 2 กลุ่มนี้ต่างกัน โดย *L. acidophilus* จะใช้เวลาในการหมักนานถึง 24 ชั่วโมง (Hati et al., 2019) ในขณะที่ yogurt starter culture ใช้เวลาในการหมักน้อยกว่า คือ ใช้เวลา 8 ชั่วโมง ซึ่งอาจเกิดจากการทำงานของจุลินทรีย์ใน yogurt starter culture ที่มีการทำงานที่ส่งเสริมกันจึงทำให้ใช้เวลาในการหมักสั้นกว่า และจากการที่ค่า pH ของนมที่มีไขมันกะทิที่หมักโดย *L. acidophilus* ลดลงอย่างช้าๆ ประกอบกับในขั้นตอนการทำนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสใช้อุณหภูมิในการหมัก 37°C ซึ่งเป็นช่วงอุณหภูมิที่เหมาะแก่การเจริญของจุลินทรีย์ในกลุ่ม mesophile โดยเฉพาะพวกจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสีย (spoilage) จึงเป็นเหตุผลว่าทำไมนมที่มีไขมันกะทิที่จะนำมาหมักด้วย *L. acidophilus* จึงไม่สามารถนำไปพาสเจอร์ไรซ์ได้ที่อุณหภูมิเดียวกันกับการทำนมที่มีไขมันกะทิที่หมักโดย yogurt starter culture (ข้อที่ 4.2) ได้ และพบว่าการที่ค่า pH ของนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสลดลงมาถึง 4.5 ที่เวลา 24 ชั่วโมง ทั้งๆ ที่ผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสควรมีค่าอยู่ระหว่าง 5.5-6.0 (Hati et al., 2019) เนื่องมาจากการทำนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสทำในสภาวะเดียวกันกับการทำโยเกิร์ตนมปราศจากไขมัน นั่นคือไม่ได้ทำการฆ่าเชื้อภาชนะที่ใส่ผลิตภัณฑ์ก่อนการใช้ จึงทำให้อาจมีจุลินทรีย์อื่นเข้ามาปนเปื้อน แต่ในขณะที่การทำโยเกิร์ตนมปราศจากไขมันไม่ปนเปื้อน เนื่องจากในระหว่างการหมักมีค่า pH ที่ลดลงอย่างรวดเร็ว ประกอบกับอุณหภูมิที่ใช้ในการหมักที่ 42°C ซึ่งจะเป็นการยับยั้งและกำจัดสภาวะที่เหมาะสมของจุลินทรีย์ที่จะทำให้เกิดการเน่าเสีย (spoilage) ได้



ภาพที่ 4 : ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) (a) และปริมาณกรดทั้งหมด (b) ในนมปราศจากไขมันที่หมักด้วยเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* หรือ yogurt starter culture ในระหว่างการหมัก 24 ชั่วโมง

4.4 การศึกษาผลของกะทิต่อการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus acidophilus* ในนมที่มีไขมันกะทิ

จากผลการศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ในนมที่มีไขมันกะทิ (น้ำกะทิ 18%) ดังแสดงในภาพที่ 5 ในช่วงระหว่างการหมักชั่วโมงที่ 0 ถึง 8 พบว่าจำนวนเชื้อ *L. acidophilus* มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจาก 7.24 ถึง 8.07 log CFU/mL ส่วนการเจริญเติบโตของเชื้อ *L. acidophilus* ในนมปราศจากไขมัน พบว่าในระหว่างชั่วโมงที่ 0 ถึง 2 จำนวนเชื้อ *L. acidophilus* ลดลงจาก 7.29 ถึง 5.81 log CFU/mL และในระหว่างชั่วโมงที่ 2 ถึง 6 จำนวนเชื้อ *L. acidophilus* เพิ่มขึ้นจาก 5.81 ถึง 7.26 log CFU/mL และหลังจากชั่วโมงที่ 6 จนถึงชั่วโมงที่ 24 จำนวนเชื้อ *L. acidophilus* มีแนวโน้มคงที่ และพบว่าในระหว่างการหมักชั่วโมงที่ 2 ถึง 6 และชั่วโมงที่ 24 จำนวนเชื้อ *L. acidophilus* ในนมที่มีไขมันกะทิมีจำนวนมากกว่าในนมปราศจากไขมัน ($p \leq 0.05$)



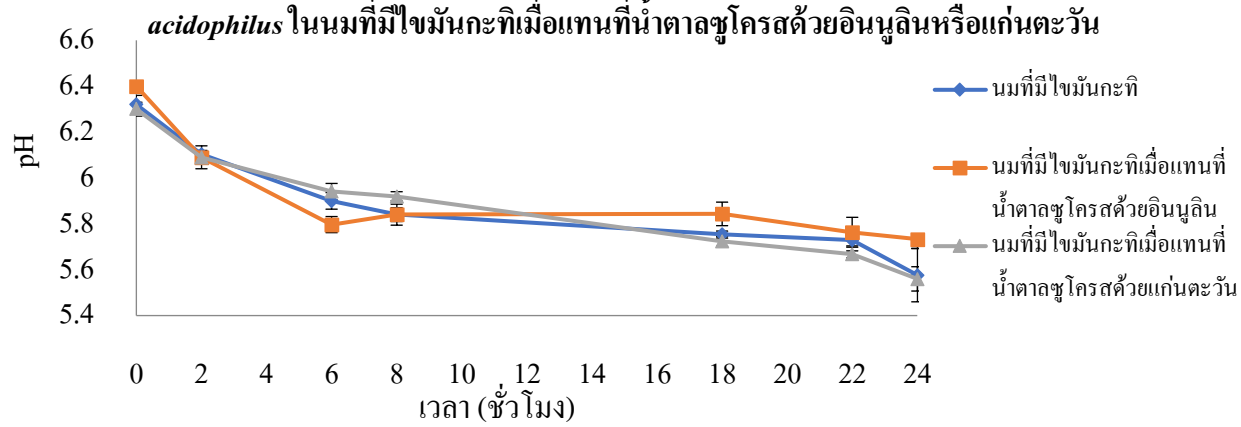
ภาพที่ 5 : การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *Lactobacillus acidophilus* ในนมปราศจากไขมันและในนมที่มีไขมันกะทิในระหว่างการหมัก 24 ชั่วโมง

จากผลการศึกษาขั้นต้นจะเห็นได้ว่ากะทิมีส่วนช่วยในการเจริญเติบโตของ *L. acidophilus* ในระหว่างการหมักนมที่มีไขมันกะทิ อาจเนื่องมาจากในกะทิมีปริมาณของ medium chain fatty acid (MCFA) ที่สูงกว่าในนม ซึ่ง MCFA ในกะทิที่พบเป็นหลัก คือ lauric acid (C12:O) ซึ่งจะทำให้จำนวนของ *L. acidophilus* สามารถเจริญได้ดีกว่านมที่ไม่มีกะทิซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ El-Kadi และคณะ (2017)

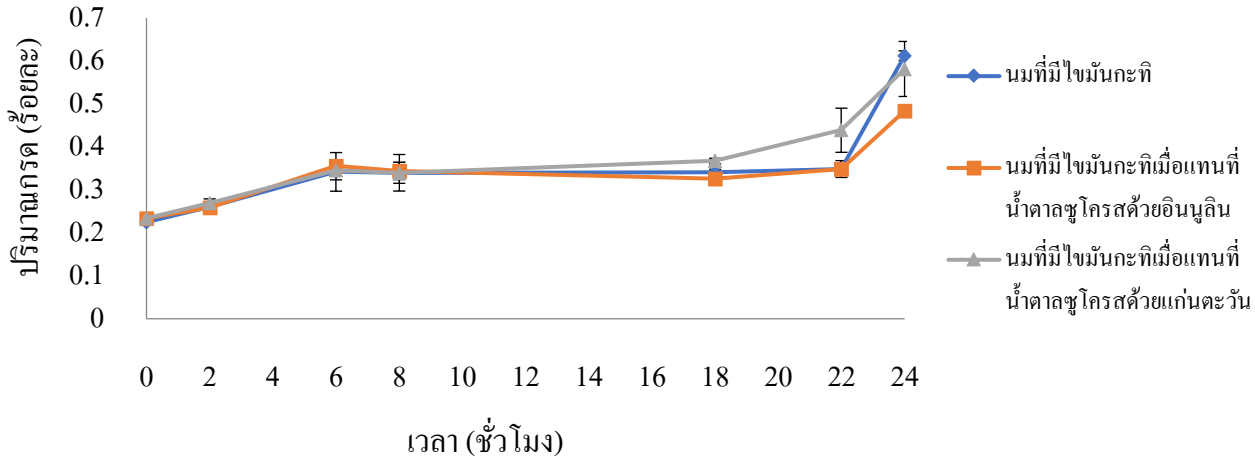
4.5 การศึกษาผลของการแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลินหรือแก่นตะวันต่อการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus acidophilus* ในนมที่มีไขมันกะทิ

จากการศึกษาผลของการแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลินหรือแก่นตะวันในนมที่มีไขมันกะทิ ต่อการเจริญเติบโตของ *L. acidophilus* ดังภาพที่ 6 พบว่าในระหว่างการหมักนมที่มีไขมันกะทิทั้ง 3 สูตร ค่า pH มีแนวโน้มลดลงเรื่อยๆ เมื่อเวลาของการหมักเพิ่มขึ้นและจะเห็นได้ว่าค่า pH ในชั่วโมงที่ 6 ของทั้ง 3 สูตร อยู่ระหว่าง 5.80 ถึง 5.94 ซึ่งมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทั้ง 3 สูตร ($p \leq 0.05$) และหลังจากชั่วโมงที่ 8 ค่า pH ของสูตรนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลินมีแนวโน้มที่เพิ่มขึ้น และหลังจากการหมักมีค่า pH มากกว่าสูตรนมที่มีไขมันกะทิและสูตรนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งมีค่าเป็น 5.55 และ 5.56 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณกรดที่มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น

(a) เปรียบเทียบค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในระหว่างการหมักเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ในนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลินหรือแก่นตะวัน



(b) เปรียบเทียบปริมาณกรดทั้งหมด (TA) ในระหว่างการหมักเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ในนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลินหรือแก่นตะวัน



ภาพที่ 6 : ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) (a) และปริมาณกรดทั้งหมด (TA) (b) ในนมที่มีไขมันกะทิ สูตรนมที่มีไขมันกะทิ (น้ำตาลซูโครส), นมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลิน และนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวันในระหว่างการหมัก 24 ชั่วโมง

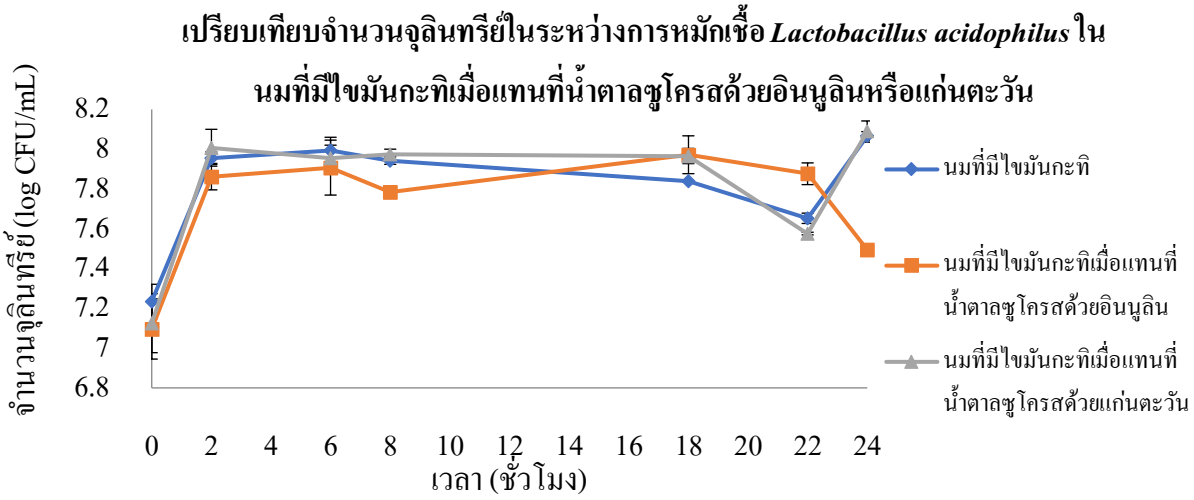
ในด้านปริมาณกรด พบว่าทั้ง 3 สูตร มีปริมาณกรดที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) ในระหว่างการหมักด้วยเชื้อ *L. acidophilus* ในชั่วโมงที่ 0 ถึงชั่วโมงที่ 8 ของการหมัก แต่ในชั่วโมงที่ 18 และ 22 ของการหมักพบว่าสูตรนมที่มีไขมันกะทิและสูตรนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลินมีปริมาณกรดน้อยกว่าสูตรนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวันอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) และในช่วงโมงที่ 24 ของการหมักพบว่าสูตรนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวันกับสูตรนมที่มีไขมันกะทิ มีปริมาณกรดที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) แต่ทั้งสองสูตรมี

ปริมาณกรดมากกว่าสูตรนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลิน และมีปริมาณกรดเพิ่มมากขึ้นจากชั่วโมงที่ 22

แนวโน้มของปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นและค่า pH ที่ลดลงเกิดจากจุลินทรีย์ *L. acidophilus* ผลิตกรดแลคติกออกมาในระหว่างการหมัก โดยจุลินทรีย์จะอาศัยเอนไซม์บีตา-ดีกาแลคโตซิเดส (β-D-galactosides) ในการย่อยน้ำตาลแลคโตสในนมให้ได้น้ำตาลดีกลูโคส (D-glucose) และบีตา-ดี-กาแลคโตส (β-D-galactose) โดยจุลินทรีย์กลุ่ม lactic acid bacteria นี้จะเปลี่ยนน้ำตาลดีกลูโคส (D-glucose) เป็นไพรูเวต (pyruvate) โดยผ่านกระบวนการ glycolysis จากนั้นจะได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นกรดแลคติก ส่วนคาร์โบไฮเดรทแต่ละชนิด ได้แก่ อินนูลินหรือคาร์โบไฮเดรทที่มาจากแก่นตะวัน (อินนูลิน 16-20% และฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ 10-15% ของน้ำหนักสด) เมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสจะมีปริมาณกรดแลคติกที่ผลิตออกมาโดยจุลินทรีย์ *L. acidophilus* ไม่แตกต่างจากสูตรนมที่มีไขมันกะทิ (น้ำตาลซูโครส) ใน 8 ชั่วโมงแรกของการหมัก ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในช่วงแรกของการหมักน้ำตาลของจุลินทรีย์ *L. acidophilus* เกิดการ hydrolysis ของน้ำตาลแลคโตสในนมที่มีไขมันกะทิของทั้ง 3 สูตร แต่หลังจากชั่วโมงที่ 18 ของการหมักนั้นเริ่มมีปริมาณกรดที่เพิ่มอย่างแตกต่างกันมากขึ้น โดยสูตรนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวันและสูตรนมที่มีไขมันกะทิมีปริมาณกรดที่มากกว่าสูตรนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลินอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในสูตรนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวันมีฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosaccharides) ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลฟรุกโตสต่อกันเพียง 2-4 หน่วย ทำให้จุลินทรีย์ *L. acidophilus* สามารถย่อยได้เป็นฟรุกโตสและใช้เป็นแหล่งพลังงานได้ (Dimitrovski et al., 2016) ส่วนสูตรนมที่มีไขมันกะทิที่มีน้ำตาลซูโครสซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่นั้นจุลินทรีย์ *L. acidophilus* สามารถใช้เป็นแหล่งพลังงานได้ จึงทำให้มีปริมาณกรดแลคติกที่เพิ่มขึ้น ในขณะที่สูตรนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลินจะมีอินนูลินซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลฟรุกโตสที่เชื่อมต่อกันเป็นสายยาวจำนวน 2-60 หน่วย (DP 2-60) ซึ่งหลังจากเกิดกระบวนการ hydrolysis ของน้ำตาลแลคโตสในนมโดยจุลินทรีย์ *L. acidophilus* แล้วจะเกิดการ hydrolysis ของฟรุกแทน (fructan) ที่มีดัชนีการสังเคราะห์พอลิเมอร์ (degree of polymerization : DP) ของน้ำตาลฟรุกโตสที่สูงขึ้น และเนื่องจากอินนูลินเป็นโมเลกุลที่มีสายยาวจึงทำให้จุลินทรีย์ *L. acidophilus* สามารถนำไปใช้ได้ยากกว่าจึงทำให้เจริญได้น้อยกว่า 2 สูตรแรกในชั่วโมงที่ 24 ของการหมัก (Iraporda et al., 2019)

ผลของการเจริญของจุลินทรีย์ *L. acidophilus* ในระหว่างการหมักนมที่มีไขมันกะทิ ได้แก่ สูตรนมที่มีไขมันกะทิ, สูตรนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลิน และสูตรนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวัน แสดงดังภาพที่ 7 มีจำนวนจุลินทรีย์ *L. acidophilus* ตั้งต้นในสูตรนมที่มีไขมันกะทิ, สูตรนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลิน และสูตรนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวันเท่ากับ 7.2 ± 0.086, 7.1 ± 0.151 และ 7.1 ± 0.148 log CFU/mL ตามลำดับ โดยจำนวนจุลินทรีย์ *L. acidophilus* ในทั้ง 3 สูตรเพิ่มขึ้นเป็น 7.8 ถึง 8.0 log CFU/mL ในชั่วโมงที่ 2 ของการหมัก ซึ่งการเพิ่มขึ้นของจำนวน *L. acidophilus* เนื่องมาจากจุลินทรีย์ชนิดนี้ได้รับพลังงานมาจากน้ำตาลดีกลูโคส (D-glucose) โดยไม่ใช้ออกซิเจนผ่านกระบวนการ glycolysis ทำให้เกิดการแบ่งเซลล์และเพิ่มจำนวนขึ้น (วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล, 2536) และทั้ง 3 สูตรมีจำนวนจุลินทรีย์ *L. acidophilus* คงที่จากชั่วโมงที่ 2 ไปจนถึงชั่วโมงที่ 22 ของการหมัก และไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) อาจเป็นได้ว่าจุลินทรีย์ *L. acidophilus* อาจไม่ได้ใช้น้ำตาลซูโครส อินนูลิน และอินนูลินและฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosaccharides) จากแก่นตะวันเป็นแหล่งพลังงานหลักในระหว่างการหมักนมที่มีไขมันกะทิในช่วงแรก เนื่องจากมีปริมาณของน้ำตาลแลคโตสที่มีอยู่เป็นจำนวนมาก จุลินทรีย์จึงนำน้ำตาลแลคโตสในระบบมาใช้ในการหมัก (Iraporda et al., 2019)

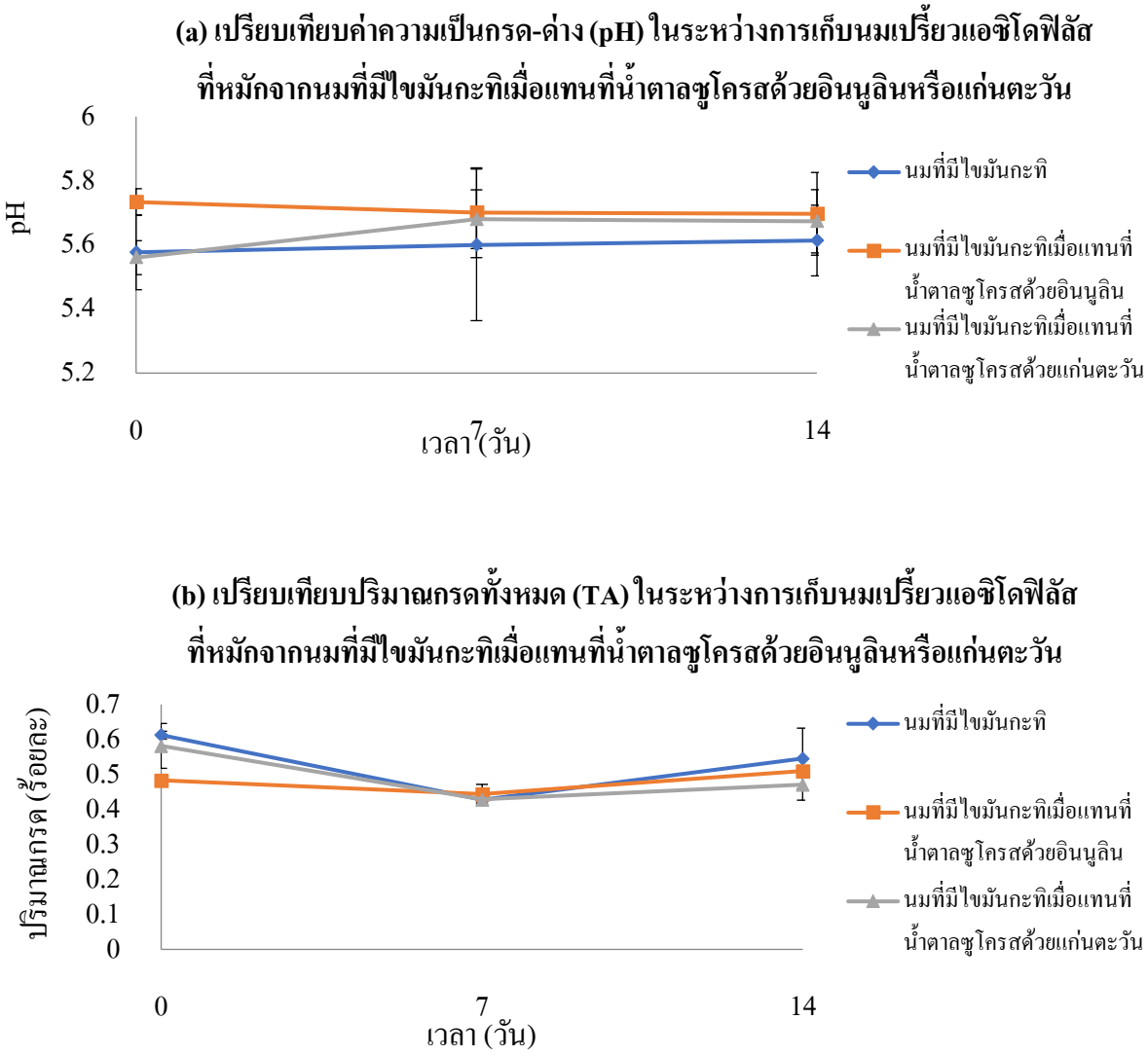
แต่ในช่วงโมงที่ 24 ของการหมักพบว่าสูตรนมที่มีไขมันกะทิและสูตรนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวัน มีจำนวนจุลินทรีย์ *L. acidophilus* เท่ากับ 8.1 ± 0.022 และ 8.1 ± 0.053 log CFU/mL ตามลำดับ ซึ่งมากกว่าในสูตรนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลินซึ่งมีค่าเป็น 7.5 ± 0.016 log CFU/mL อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ซึ่งกล่าวได้ว่าแก่นตะวันเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสนั้นมีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *L. acidophilus* เทียบเท่ากับสูตรนมที่มีไขมันกะทิ (น้ำตาลซูโครส) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ D. Özer และคณะ (2005) ที่กล่าวว่า อินนูลินไม่ได้มีส่วนช่วยในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์โปรไบโอติก *L. acidophilus*



ภาพที่ 7 : การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *Lactobacillus acidophilus* ในนมที่มีไขมันกะทิ สูตรนมที่มีไขมันกะทิ (น้ำตาลซูโครส), นมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลิน และนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวันในระหว่างการหมัก 24 ชั่วโมง

4.6 การศึกษาผลของการแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลินหรือแก่นตะวันต่อการอยู่รอดของ *Lactobacillus acidophilus* ในนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัส

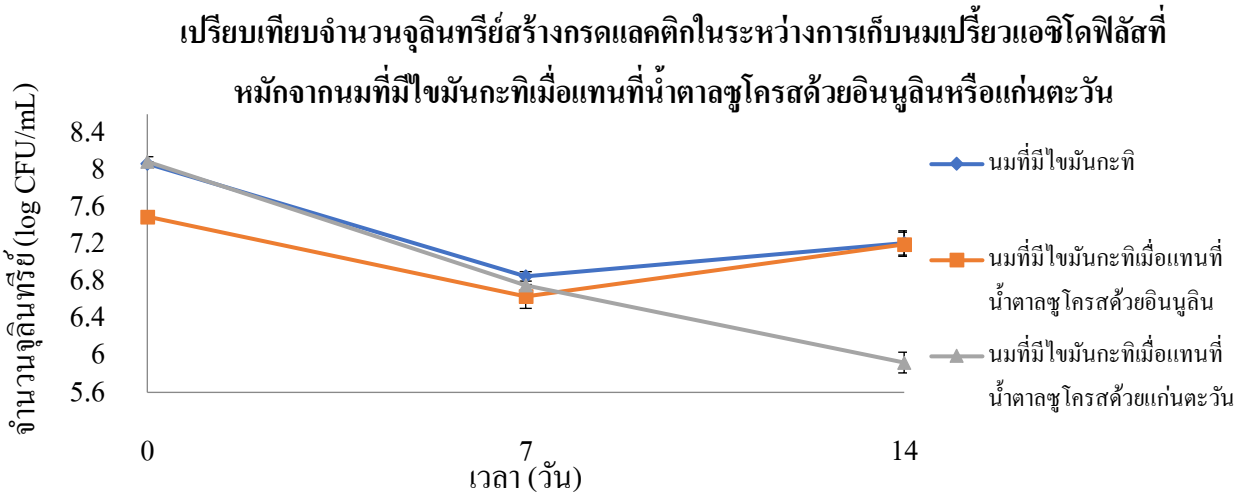
จากผลการวิเคราะห์ดังภาพที่ 8 พบว่าวันแรกของการเก็บรักษาของสูตรนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีกะทิและอินนูลินมีค่า pH เป็น 5.73 ซึ่งมากกว่าสูตรนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีกะทิและสูตรนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีกะทิและแก่นตะวันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และในวันที่ 7 และ14 ของการเก็บรักษาพบว่าทั้ง 3 สูตร มีค่า pH ที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) โดยสูตรนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีกะทิและสูตรนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีกะทิและแก่นตะวันมีค่า pH เพิ่มขึ้นจากวันแรกของการเก็บรักษาและสูตรนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีกะทิและอินนูลินมีค่า pH ลดลงจากวันแรกของการเก็บรักษา ส่วนปริมาณกรดในระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 14 วันนั้น พบว่าทั้ง 3 สูตรมีปริมาณกรดที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) และมีแนวโน้มค่อนข้างคงที่ เนื่องจากไม่มีการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *L. acidophilus* เพิ่มขึ้น



ภาพที่ 8 : ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) (a) และปริมาณกรดทั้งหมด (TA) (b)ในนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสสูตรนมที่มีไขมันกะทิ (น้ำตาลซูโครส), นมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลินและนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวันในระหว่างการเก็บ 14 วัน ที่อุณหภูมิ 4 °C

ในวันแรกของการเก็บรักษา จำนวนจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลคติกในนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีกะทิและอินนูลินมีจำนวน 7.5 ± 0.016 log CFU/mL ซึ่งน้อยกว่าจำนวนจุลินทรีย์ในนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีกะทิ (น้ำตาลซูโครส) และนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีกะทิและแก่นตะวันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และในระหว่างระยะเวลาการเก็บรักษานมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีไขมันกะทิทั้ง 3 สูตร พบว่าจำนวนจุลินทรีย์มีแนวโน้มลดลงจากวันแรกของการเก็บรักษา เนื่องจากเก็บรักษานมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีกะทิทั้ง 3 สูตรในอุณหภูมิ 4°C และในช่วงวันที่ 7 จุลินทรีย์อยู่ในช่วง death phase จึงทำให้มีจำนวนจุลินทรีย์ลดลง ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณกรดที่ลดลงเช่นกัน

ในวันที่14 ของการเก็บรักษา พบว่าสูตรนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีกะทิและอินนูลิน มีจำนวนจุลินทรีย์ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) กับสูตรนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีกะทิ และพบว่าสูตรนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีกะทิและแก่นตะวัน มีจำนวนจุลินทรีย์เป็น 5.9 ± 0.112 log CFU/mL ซึ่งน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) เมื่อเทียบกับสูตรนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีกะทิและสูตรนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีกะทิและอินนูลิน เนื่องมาจากภายในแก่นตะวันมีองค์ประกอบอาหารอื่นๆ นอกจากอินนูลิน เช่น ฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosacchrides) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Aryana และคณะ (2007) ที่พบว่าในวันสุดท้ายของการเก็บโยเกิร์ตโปรไบโอติกที่มีฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosacchrides) ผสมอยู่จะมีจำนวนของโปรไบโอติกหลงเหลืออยู่น้อยกว่าที่ผสมด้วยอินนูลินสายกลางและสายสั้น นอกจากนี้ในแก่นตะวันยังมีสารในกลุ่ม phenolic compound อยู่หลายชนิด เช่น Chlorogenic acid (11-20 mg /100g น้ำหนักสด), Gallic acid (7-33 mg/100g น้ำหนักสด) (Bach et al., 2015) ซึ่ง phenolic compound มีฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ lactic acid bacteria (Acton, 2012) โดยทำให้สมบัติการเป็นเยื่อเลือกผ่านของเยื่อหุ้มเซลล์เปลี่ยนแปลงไป หรือทำลายผนังเซลล์ของจุลินทรีย์ (Bouarab-Chibane et al., 2019) ดังนั้น จึงทำให้จำนวนจุลินทรีย์ลดลงได้ในระหว่างการเก็บและในสูตรนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีกะทิและอินนูลิน การที่มีจำนวนจุลินทรีย์ในวันที่ 14 มากกว่าในสูตรนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีกะทิและแก่นตะวัน เนื่องจากอินนูลินนอกจากจะเป็นพรีไบโอติกแล้วยังมีกลไกในการปกป้องเซลล์ของโปรไบโอติกที่ทำให้เซลล์นั้นสามารถอยู่รอดได้นานขึ้น (Desai et al., 2004) แต่กลไกที่อินนูลินช่วยเพิ่มการอยู่รอดของโปรไบโอติกระหว่างการเก็บในตู้เย็นนั้นยังไม่ชัดเจน (Paseephol and Sherkat, 2009)



ภาพที่ 9 : การอยู่รอดของจุลินทรีย์ *Lactobacillus acidophilus* ในนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสสูตรนมที่มีไขมันกะทิ (น้ำตาลซูโครส), นมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลิน และนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวันในระหว่างการเก็บ 14 วัน ที่อุณหภูมิ 4 ºC

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ (Conclusion)

จากการศึกษาหาสูตรโยเกิร์ตที่มีไขมันกะทิเพื่อนำมาศึกษาต่อในเรื่องการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus acidophilus* ในนมที่มีไขมันกะทิ โดยการแปรปริมาณน้ำกะทิเป็น 17, 18 และ 19% ตามลำดับ พบว่าโยเกิร์ตนมที่มีน้ำกะทิ 18% มีลักษณะทางเคมี ได้แก่ ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และปริมาณกรดทั้งหมด (TA) และลักษณะทางกายภาพ ได้แก่ ค่าความหนืด (viscosity), ค่าการสูญเสียน้ำ (syneresis) และค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity) ใกล้เคียงกับโยเกิร์ตนมปราศจากไขมัน ดังนั้นจึงนำสูตรนี้มาใช้ในการทำนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสพบว่า จำนวนจุลินทรีย์ *L. acidophilus* เพิ่มขึ้นมากกว่าในนมปราศจากไขมัน ซึ่งถือเป็นความสำเร็จในการพัฒนาผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีไขมันกะทิ และเป็นการแสดงให้เห็นว่าไขมันในกะทิมีส่วนช่วยในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *L. acidophilus* ในการศึกษาการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ *L. acidophilus* โดยเปรียบเทียบระหว่างสูตรนมที่มีไขมันกะทิ สูตรนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลิน และสูตรนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวัน พบว่าแก่นตะวันมีส่วนช่วยในการเจริญเติบโตของ *L. acidophilus* ในนมที่มีไขมันกะทิในระหว่างการหมักเป็นเวลา 24 ชั่วโมงมากกว่าการใช้อินนูลิน ส่วนอินนูลินพบว่ามีส่วนช่วยในการอยู่รอดของ *L. acidophilus* ในนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีไขมันกะทิในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4ºC เป็นเวลา 14 วันได้มากกว่าการใช้แก่นตะวัน นั่นคืออินนูลินมีส่วนช่วยให้ *L. acidophilus* อยู่รอดได้ดีกว่าการใช้แก่นตะวัน

นอกจากนี้ควรมีการศึกษาผลของการแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลินเทียบกับการแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวันที่มีต่อการอยู่รอดของเชื้อ *L. acidophilus* ในนมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสที่มีไขมันกะทิในระหว่างการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4ºC ที่ยาวนานขึ้น เช่นที่ 21 วัน

เอกสารอ้างอิง

Abedfar, A., Abbaszadeh, S., Hosseininezhad, M., and Taghdir, M. 2020. Physichemical and biological characterization of the EPS produced by *L. acidophilus* isolated from rice bran sourdough. Food Science and Technology 127: 1-9.

Abghari, A., Sheikh-Zeinoddin, M., and Soleimanian-Zad, S. 2010. Nonfermented ice cream as a carrier for *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus rhamnosus*. International Journal of Food Science & Technology 46(1): 84-92.

Acton, Q.A. 2012. Advances in Lactobacillaceae Research and Application. Georgia: ScholarlyEditions.

Akalin, A.S., and Erisir, D. 2008. Effects of inulin and oligofructose on the rheological characteristics and probiotic culture survival in low-fat probiotic ice cream. Journal of Food Science 73(4): 184-188.

Akın, M.B., Akın, M.S., and Kırmacı, Z. 2007. Effects of inulin and sugar levels on the viability of yogurt and probiotic bacteria and the physical and sensory characteristics in probiotic ice-cream. Food Chemistry 104: 93–99.

Aryana, K.J., Plauche, S., Rao, R.M., McGrew, P., and Shah, N.P. 2007. Fat-free plain yoghurt manufactured with inulins of various chain lengths and *Lactobacillus acidophilus*. Journal of Food Science 72: M79-M84.

AOAC. 1995. Official method of method of analysis. ed. Washington D.C.: Association of Official Analytical Chemists.

AOAC. 2005. Official method of method of analysis. ed. Gaithersburg: Association of Official Analytical Chemists.

Bach, V., Clausen, M.R., Edelenbos, M., 2015. Production of Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) and Impact on Inulin and Phenolic Compounds. In Preedy, V.R. (ed), Processing and Impact on Active Components in Food, 97-102. United States of America: Academic Press.

Balthazar, C.F., Conte Júnior C.A., Moraes, J., Costa, M.P., Raices, R.S.L., Franco, R.M., Cruz, A.G., and Silva, A.C.O. 2016. Physicochemical evaluation of sheep milk yogurts containing different levels of inulin. American Dairy Science Association 99(6): 4160-4168.

Bouarab-Chibane, L., Forquet, V., Lantéri, P., Clément, Y., Léonard-Akkari, L., Oulahal, N., Degraeve, P., and Bordes, C. 2019. Antibacterial Properties of Polyphenols: Characterization and QSAR (Quantitative Structure–Activity Relationship) Models. Frontiers in Microbiology (10): 1-23.

Desai, A.R., Powell, I.B. and Shah, N.P. 2004. Survival and activity of probiotic lactobacilli in skim milk containing prebiotics. Journal of Food Science 69: 57-60.

Dimitrovski, D., Velickova, E., Dimitrovska, M., Langerholc, T., and Winkelhause, E. 2016. Synbiotic functional drink from Jerusalem artichoke juice fermented by probiotic *Lactobacillus plantarum* PCS26. Journal Food Science Technology 53(1): 766–774.

El-Kadi, S.L., Ismail, M.M., Hamad, M.F., and Zidan, M.S. 2017. Chemical and Microbial Characterizations of Bio-Yoghurt Made Using ABT Culture, Cow Milk and Coconut Milk. Eukaryotic Cell 5(3): 109-124.

Erkkilä, S. and E. Petäjä. 2000. Screening of commercial meat starter cultures at low pH and in the presence of bile salts for potential probiotic use. Meat Science 55: 297-300.

Elbagermi, M.A., Alajtal, A.I., and Edwards, H.G.M. 2014. A Comparative Study on the Physicochemical Parameters and Trace Elements in Raw Milk Samples Collected from Misurata- Libya [Online]. Available from: file:///C:/Users/User/Downloads/Fullpaper2014.pdf [2020, May 4]

Fuller, R. 1991. Probiotics in human medicine. Gut 32: 439-442.

Hati, S., Das, S., and Mandal, S. 2019. Technological advancement of functional fermented dairy beverages. In Grumezescu, A.M., and Holban, A.M. (eds.), Engineering Tools in the Beverage Industry, pp. 101-136. England: Woodhead Publishing.

Holzapfel, W. H., and Schillinger, U. 2002. Introduction to pre- and probiotics. Food Research International 35(2-3): 109-116.

Iraporda, C., Rubel, I.A., Manrique, G.D., and Abraham, A.G. 2019. Influence of inulin rich carbohydrates from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers on probiotic properties of *Lactobacillus* strains. Food Science and Technology 101: 738-746.

Joint FAO/WHO Food Standards Programme: Codex Alimentarius Commission. 2003. Milk and Milk Products [Online]. Available from: http://www.fao.org/3/i2085e/i2085e00.pdf [2020, May 4]

Keogh, M.K. & O'Kennedy, B.T. 1998. Rheology of stirred yoghurt as affected by added milk fat, protein and hydrocollodis. Journal of Food Science 63(1): 108-112.

Liong, M.T., and Shah, N.P. 2005. Acid and Bile Tolerance and Cholesterol Removal Ability of Lactobacilli Strains. Journal Dairy Science 88: 55-66.

Loo, J.V., Coussement, P., Leenheer, L.D., Hoebregs, H., Smits, G. 1995. On the presence of inulin and oligofructose as natural ingredients in the western diet. Critical Reviews in Food Science and Nutrition 35(6): 525-552.

Neha, A., Kamaljit, S., Ajay, B., and Tarun, G. 2012. Probiotic: As Effective Treatment of Diseases. International Research Journal of Pharmacy 3(1): 96-101.

O' Conner-Show, R.E., Roberts, R., Ford, A.L., and Nottingham, S.M. 1994. Shelflife of minimally processed honeydew, kiwi fruit, papaya, pineapple and cantaloupe. Journal of Food Science 59: 1202-1215.

Özer, D., Akin, S., and Özer, B. 2005. Effect of Inulin and Lactulose on Survival of *Lactobacillus acidophilus* LA-5 and *Bifidobacterium bifidum* BB02 in Acidophilus-Bifidus Yoghurt. Food Science and Technology International 11(1): 19-24.

Oliveira, R.P.S., Perego, P., Oliveiraa, M.N., and Converti, A. 2011. Effect of inulin as prebiotic and symbiotic interactions between probiotics to improve fermented milk firmness. Journal of Food Engineering 107: 36-40.

Pandiyan, C., Annal, V.R., Kumaresan, G., Murugan, B., and Rajarajan, G. 2012. Effect of incorporation of inulin on the survivability of *Lactobacillus acidophilus* in synbiotic ice cream. International Food Research Journal 19(4): 1729-1732.

Paseephol, T., and Sherkat, F. 2009. Probiotic stability of yoghurts containing Jerusalem artichoke inulins during refrigerated storage. Journal of Functional Food I: 311-318.

Perez, R.H., and Tan, J.D. 2006. Production of acidophilus milk enriched with purees from colored sweet potato (Ipomoea batatas Linn.) varieties. Annals of Tropical Research 28(1): 70-85.

Sodini, I., Mattas, J. & Tong, P.S. 2006. Influence of pH and heat treatment of whey on the functional properties of whey protein concentrates in yoghurt. International Dairy Journal 16: 1464-1469.

Tamime, A.Y., and Robinson, R.K. 2007. Tamime and Robinson's Yoghurt. 3rd ed. England: Woodhead Publishing.

Thammarutwasik, P., Hongpattarakere, T., Chantachum, S., Kijroongrojana, K., Itharat, A., Reanmongkol, W., Tewtrakul, S., and Ooraikul, B. 2009. Prebiotics – A Review. Songklanakarin Journal Science Technology 31(4): 401-408

U.S. Department of Agriculture. 2019. Jerusalem-artichokes, raw [Online]. Available from: https://fdc.nal.usda.gov/fdc-app.html#/food-details/169236/nutrients [2020, May 4]

Vinderola, C.G., Bailo, N., and Reinheimer, J. 2000. Survival of probiotic microflora in Argentinian yogurt during refrigerated storage. Food Research International 33(2): 97-102.

Xu, L., Han, S., Juanjuan, G., Jinjin, T., Yi, L., Shaoxiao, Z., Yingtong, C., Song, M., and Baodong, Z. 2019. Rheological properties and structural features of coconut milk emulsions stabilized with maize kernels and starch. Food Hydrocolloids 96: 385–395.

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข. 2554. วิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์อาหารเล่มที่ 1. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: http://e-library.dmsc.moph.go.th/ebooks/files/วิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์อาหาร%20เล่มที่%201_2%20มี.ค.%2058.pdf [4 พฤษภาคม 2563]

กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 339) พ.ศ. 2554 เรื่องการใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหาร. คัดจากราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศและงานทั่วไป เล่มที่ 128, ตอนพิเศษ 86 ง (ลงวันที่ 3 สิงหาคม 2554).

กระทรวงสาธารณสุข. ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 352) พ.ศ. 2556 เรื่องผลิตภัณฑ์ของนม. คัดจากราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่มที่ 130, ตอนพิเศษ 87 ง (ลงวันที่ 24 กรกฎาคม 2556).

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

จุฑามาศ ทรัพย์มาก. (2556). การโคลนยีนเอนไซม์ฟรุกโตซิลทรานสเฟอเรสจากแก่นตะวันและการวิเคราะห์ กิจกรรมของเอนไซม์ลูกผสม. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยศิลปากร.

ณัฐธญาณ์ ศรีสุวอ. 2559. ผลของนมและอินนูลินที่มีต่อสมบัติทางเคมีกายภาพของพุดดิ้งข้าวเสริมโพรไบโอติก. วารสารวิจัยและพัฒนา มจธ. 39: 395-406

นัฐนันท์ ทวีรัตน์ธนนท์. 2559. โยเกิร์ต. วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ 9(1): 44-50.

นาถธิดา วีระปรียากูร, สุพร นุชดำรง และพัชราภรณ์ อนวัชมงคล. 2552. การศึกษาศักยภาพของแก่นตะวัน (Jerusalem artichoke) ในการพัฒนาเป็นอาหารสุขภาพ. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: https://rad.kku.ac.th/db_attachment/resproject_abstract/ 4158-7794-abstract_file.pdf [25 มกราคม 2563]

ปรมาภรณ์ เกิดทรัพย์. 2559. การปรับตัวในสภาวะกรดของจุลินทรีย์โพรไบโอติกส์สายพันธุ์ *Lactobacillus*. วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี) 16: 70-86.

วรรณดี แสงดี, สุรัตน์ วังพิกุล และปริยาภรณ์ อิศรานุวัฒน์. 2559. การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำนมข้าวโพดหมักซินไบโอติก. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ.

วิรัชนีย์ แก่นแสนดี, สมพร มูลมั่งมี, อรุณรัศมี แสงศิลา และปริยาภรณ์ อิศรานุวัฒน์. 2558. ประโยชน์ของจุลินทรีย์โปรไบโอติกต่อสุขภาพ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม 34(2): 196-201.

วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล. 2536. อาหารพื้นเมือง. ใน ผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากจุลินทรีย์. หน้า 37-52. สงขลา: ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

วัชราภรณ์ ทุมเมืองปัก. 2560. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโยเกิร์ตไขมันต่ำที่มี *Bifidobacterium longum* และพรีไบโอติก (GOS และ FOS). วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

สุภณิดา พัฒธร และพิมพรรณ เทียนพูล. 2559. ผลของแก่นตะวันต่อแบคทีเรียแลคติกในซอร์เบทโปรไบโอติก. วารสารวิจัยและพัฒนา วไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 11(2): 59-71.

สุวิมล อริยประกาย. 2557. อิมัลชันกะทิ. วารสารวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี 7(1): 89-95.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข
(ฉบับที่ ๓๕๒) พ.ศ.๒๕๕๖
เรื่อง ผลิตภัณฑ์ของนม

โดยที่เป็นการสมควรปรับปรุงประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง ผลิตภัณฑ์ของนม

อาศัยอำนาจตามความในมาตรา ๕ วรรคหนึ่ง และมาตรา ๖ (๓) (๔) (๕) (๖) (๗) (๙) และ (๑๐) แห่งพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ. ๒๕๒๒ อันเป็นกฎหมายที่มีบทบัญญัติบางประการ เกี่ยวกับการจำกัดสิทธิและเสรีภาพของบุคคล ซึ่งมาตรา ๒๙ ประกอบกับมาตรา ๓๓ มาตรา ๔๑ มาตรา ๔๓ และมาตรา ๔๕ ของรัฐธรรมนูญแห่งราชอาณาจักรไทย บัญญัติให้กระทำได้โดยอาศัย อำนาจตามบทบัญญัติแห่งกฎหมาย รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข ออกประกาศไว้ ดังต่อไปนี้

ข้อ ๑ ให้ยกเลิกประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ ๒๖๗) พ.ศ. ๒๕๔๕ เรื่อง ผลิตภัณฑ์ของนม ลงวันที่ ๑๙ ธันวาคม พ.ศ. ๒๕๔๕

ข้อ ๒ ให้ผลิตภัณฑ์ของนมเป็นอาหารที่กำหนดคุณภาพหรือมาตรฐาน

ข้อ ๓ ผลิตภัณฑ์ของนม หมายความว่า ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากน้ำนมโค นอกเหนือจากนมโค นมปรุงแต่ง นมเปรี้ยว นมดัดแปลงสำหรับทารกและนมดัดแปลงสูตรต่อเนื่องสำหรับทารกและเด็กเล็ก ไอศกรีม ครีม เนยใสหรือกี เนยแข็ง เนย น้ำมันเนยและผลิตภัณฑ์อื่น ซึ่งได้มีประกาศกระทรวงสาธารณสุข กำหนดไว้แล้วโดยเฉพาะ

ข้อ ๔ ผลิตภัณฑ์ของนมชนิดเหลว ต้องผ่านกรรมวิธีฆ่าเชื้ออย่างใดอย่างหนึ่ง ดังต่อไปนี้

(๑) พาสเจอร์ไรส์ หมายความว่า กรรมวิธีฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่อุณหภูมิไม่เกิน ๑๐๐ องศาเซลเซียส โดยใช้อุณหภูมิและเวลาอย่างใดอย่างหนึ่ง ดังต่อไปนี้

(๑.๑) อุณหภูมิไม่ต่ำกว่า ๖๓ องศาเซลเซียส และคงอยู่ที่อุณหภูมินี้ไม่น้อยกว่า ๓๐ นาที แล้วทำให้เย็นลงทันทีที่อุณหภูมิ ๕ องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า หรือ

(๑.๒) อุณหภูมิไม่ต่ำ กว่า ๗๒ องศาเซลเซียส และคงอยู่ที่อุณหภูมินี้ไม่น้อยกว่า ๑๕ วินาที แล้วทำให้เย็นลงทันทีที่อุณหภูมิ ๕ องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า

(๒) สเตอริไลส์ หมายความว่า กรรมวิธีฆ่าเชื้อผลิตภัณฑ์ของนมชนิดเหลวที่บรรจุในภาชนะที่ปิดสนิท ด้วยความร้อนที่อุณหภูมิไม่ต่ำกว่า ๑๐๐ องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาที่เหมาะสม ทั้งนี้ จะต้องผ่านกรรมวิธีทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วย

(๓) ยู เอช ที หมายความว่า กรรมวิธีฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่อุณหภูมิไม่ต่ำกว่า ๑๓๓ องศาเซลเซียส ไม่น้อยกว่า ๑ วินาที แล้วบรรจุในภาชนะและในสภาวะที่ปราศจากเชื้อ ทั้งนี้ จะต้องผ่านกรรมวิธีทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วย

(๔) กรรมวิธีอย่างอื่นที่มีมาตรฐานเทียบเท่ากรรมวิธีตาม (๑) (๒) หรือ (๓) โดยได้รับความเห็นชอบจากคณะกรรมการอาหาร

ข้อ ๕ ผลิตภัณฑ์ของนมชนิดเหลวที่ผ่านกรรมวิธีพาสเจอร์ไรส์ ต้องเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิไม่เกิน ๘ องศาเซลเซียส ตลอดระยะเวลาหลังบรรจุจนถึงผู้บริโภค และระยะเวลาการบริโภคต้องไม่เกิน ๑๐ วัน นับจากวันที่บรรจุในภาชนะบรรจุพร้อมจำหน่าย

กรณีที่จะแสดงระยะเวลาการบริโภคเกินกว่าที่กำหนดตามวรรคหนึ่ง ต้องมีมาตรการในการควบคุมคุณภาพหรือมาตรฐานผลิตภัณฑ์ ตลอดระยะเวลาตั้งแต่หลังการบรรจุถึงการจำหน่ายถึงผู้บริโภคเป็นไปตามหลักเกณฑ์ที่ได้รับความเห็นชอบจากคณะกรรมการอาหาร

ข้อ ๖ ผลิตภัณฑ์ของนมชนิดเหลวที่ผ่านกรรมวิธีฆ่าเชื้อตามข้อ ๔ (๒) หรือ (๓) ต้องเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิปกติในระยะเวลาไม่น้อยกว่า ๕ วัน นับแต่วันที่บรรจุในภาชนะก่อนออกจำหน่ายเพื่อตรวจสอบว่ายังคงมีคุณภาพหรือมาตรฐานตามที่กำหนดและไม่เปลี่ยนแปลงไปจากลักษณะเดิมที่ทำขึ้น

ข้อ ๗ ผลิตภัณฑ์ของนม ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐาน ดังต่อไปนี้

(๑) มีกลิ่น รส ตามลักษณะเฉพาะของผลิตภัณฑ์ของนมนั้น

(๒) มีเนื้อนมทั้งหมดไม่น้อยกว่าร้อยละ ๘ ของน้ำหนัก สำหรับผลิตภัณฑ์ของนมชนิดเหลวหรือไม่น้อยกว่าร้อยละ ๖๕ ของน้ำหนัก สำหรับผลิตภัณฑ์ของนมชนิดแห้ง

(๓) จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคให้เป็นไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง มาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค

(๔) ไม่มีสารที่อาจเป็นพิษ สารเป็นพิษจากจุลินทรีย์ และสารปนเปื้อนในปริมาณที่อาจเป็นอันตรายต่อสุขภาพ เช่น สารตกค้างจากยาฆ่าแมลง สารปฏิชีวนะ แอฟลาทอกซิน เป็นต้น

(๕) ตรวจพบแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์ของนมชนิดเหลวที่ผ่านกรรมวิธีพาสเจอร์ไรส์ ๑ มิลลิลิตรได้ไม่เกิน ๑๐,๐๐๐ ณ แหล่งผลิต และไม่เกิน ๕๐,๐๐๐ ตลอดระยะเวลาเมื่อออกจากแหล่งผลิตจนถึงวันหมดอายุการบริโภคที่ระบุบนฉลาก

(๖) ตรวจพบแบคทีเรียชนิดโคลิฟอร์มได้ไม่เกิน ๑๐๐ ในผลิตภัณฑ์ของนมชนิดเหลวที่ผ่านกรรมวิธีพาสเจอร์ไรส์ ๑ มิลลิลิตร ณ แหล่งผลิต

(๗) ตรวจไม่พบแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์ของนมชนิดเหลวที่ผ่านกรรมวิธีสเตอริไลส์และผลิตภัณฑ์ของนมชนิดเหลวที่ผ่านกรรมวิธี ยู เอช ที ๐.๑ มิลลิลิตร

(๘) ตรวจพบแบคทีเรียได้ไม่เกิน ๑๐๐,๐๐๐ ในผลิตภัณฑ์ของนมชนิดแห้ง ๑ กรัม

ข้อ ๘ การใช้ภาชนะบรรจุผลิตภัณฑ์ของนม ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง ภาชนะบรรจุ

ข้อ ๙ การผลิตผลิตภัณฑ์ของนมถ้าจำเป็นต้องใช้วัตถุเจือปนอาหาร ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง วัตถุเจือปนอาหาร

ข้อ ๑๐ ผู้ผลิตหรือผู้นำเข้าผลิตภัณฑ์ของนมเพื่อจำหน่าย ต้องปฏิบัติแล้วแต่กรณี ดังนี้

(๑) ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง วิธีการผลิต เครื่องมือเครื่องใช้ในการผลิตและการเก็บรักษาอาหาร สำหรับผลิตภัณฑ์ของนมที่มิใช่ผลิตภัณฑ์ของนมพาสเจอร์ไรส์ หรือ

(๒) ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง ผลิตภัณฑ์นมพร้อมบริโภคชนิดเหลวที่ผ่านกรรมวิธีฆ่าเชื้อด้วยความร้อนโดยวิธีพาสเจอร์ไรส์ สำหรับผลิตภัณฑ์ของนมพาสเจอร์ไรส์ หรือ

(๓) ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง วิธีการผลิต เครื่องมือเครื่องใช้ในการผลิตและการเก็บรักษาอาหารในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิทชนิดที่มีความเป็นกรดต่ำ และชนิดที่ปรับกรดสำหรับผลิตภัณฑ์ของนมในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิทชนิดที่มีความเป็นกรดต่ำ และชนิดที่ปรับกรด

ข้อ ๑๑ การแสดงฉลากของผลิตภัณฑ์ของนม ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง ฉลาก

ข้อ ๑๒ ให้ผู้ผลิตหรือนำเข้าผลิตภัณฑ์ของนมที่ได้รับใบสำคัญการขึ้นทะเบียนตำรับอาหารหรือใบสำคัญการใช้ฉลากอาหารตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ ๒๖๗) พ.ศ. ๒๕๔๕ เรื่องผลิตภัณฑ์ของนม ลงวันที่ ๑๙ ธันวาคม พ.ศ. ๒๕๔๕ ซึ่งออกให้ก่อนวันที่ประกาศนี้ใช้บังคับใช้เลขสารบบอาหารดังกล่าวต่อไปได้ โดยถือว่าได้จดทะเบียนอาหารตามประกาศฉบับนี้แล้ว

ข้อ ๑๓ ประกาศนี้มีผลบังคับใช้เมื่อพ้นกำหนดหนึ่งร้อยแปดสิบวันนับแต่วันถัดจากวันประกาศในราชกิจจานุเบกษา เป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ ๒๖ มิถุนายน พ.ศ. ๒๕๕๖

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข
(ฉบับที่ ๓๕๓) พ.ศ.๒๕๕๖
เรื่อง นมเปรี้ยว

โดยที่เป็นการสมควรปรับปรุงประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่องนมเปรี้ยว

อาศัยอำนาจตามความในมาตรา ๕ วรรคหนึ่ง และมาตรา ๖(๓)(๔)(๕)(๖)(๗) และ (๑๐) แห่งพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ.๒๕๒๒ อันเป็นกฎหมายที่มีบทบัญญัติบางประการเกี่ยวกับการจากัดสิทธิและเสรีภาพของบุคคล ซึ่งมาตรา ๒๙ ประกอบกับมาตรา ๓๓ มาตรา ๔๑ มาตรา ๔๓ และ มาตรา ๔๕ ของรัฐธรรมนูญแห่งราชอาณาจักรไทยบัญญัติให้กระทำได้โดยอาศัยอำนาจตามบทบัญญัติแห่งกฎหมายรัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข ออกประกาศไว้ดังต่อไปนี้

ข้อ ๑ ให้ยกเลิกประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ ๒๘๙) พ.ศ.๒๕๔๘ เรื่อง นมเปรี้ยว ลงวันที่ ๑๗ มกราคม พ.ศ.๒๕๔๘

ข้อ ๒ ให้นมเปรี้ยวเป็นอาหารที่กำหนดคุณภาพหรือมาตรฐาน

ข้อ ๓ นมเปรี้ยว (Fermented milk) หมายความว่า ผลิตภัณฑ์นมที่ได้จากน้ำนมจากสัตว์ที่นำมาบริโภคได้ หรือส่วนประกอบของน้ำนมที่ผ่านการทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคแล้ว หมักด้วยจุลินทรีย์ที่ไม่ทำให้เกิดโรคหรืออันตราย ทำให้ค่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้น และอาจปรุงแต่งกลิ่น รส สี หรือเติมวัตถุเจือปนอาหาร สารอาหาร หรือส่วนประกอบอื่นที่มิใช่นมด้วยก็ได้ ทั้งนี้ให้รวมถึงนมเปรี้ยวที่นำมาผ่านการฆ่าเชื้อ การแช่แข็งหรือการทำให้แห้งด้วย

ข้อ ๔ นมเปรี้ยวแบ่งตามชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักได้ ดังนี้

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

(๒) นมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัส (Acidophilus Milk) หมายถึง นมเปรี้ยวที่ได้จากการหมักด้วยแบคทีเรียแล็กโทบาซิลลัส แอซิโดฟิลัส (*Lactobacillus acidophilus*)

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

(๔) นมเปรี้ยวคูมิส (Kumys) หมายถึง นมเปรี้ยวที่ได้จากการหมักด้วยแบคทีเรียและ

ยีสต์ ได้แก่ แล็กโทบาซิลลัส เดลบรึคคิไอ ซับสปีชีส์ บัลแกริคัส (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) และไคลเวอโรไมซีส มาร์เซียนัส (*Kluyveromyces marxianus*)

(๕) นมเปรี้ยวที่ได้จากการหมักด้วยจุลินทรีย์ชนิดที่แตกต่างหรือนอกเหนือจากที่กำหนดไว้ใน (๑) ถึง (๔) เช่น แล็กโทบาซิลลัส คาเซอิ ซับสปีชีส์ ชิโรต้า (*Lactobacillus casei* subsp. *shirota*) บิฟิโดแบคทีเรียม (*Bifidobacterium*) นมเปรี้ยวตาม (๑)(๒)(๓) และ (๔) อาจใส่จุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักชนิดอื่นเพิ่มเติมจากที่กำหนดได้

ข้อ ๕ การเติมสารอาหารในนมเปรี้ยว ให้เป็นไปตามหลักเกณฑ์ที่สานักงานคณะกรรมการอาหารและยาประกาศกำหนด โดยความเห็นชอบของคณะกรรมการอาหาร

ข้อ ๖ นมเปรี้ยวที่จะนำไปผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมัก ต้องทำให้เป็นเนื้อเดียวกันและฆ่าเชื้อด้วยกรรมวิธีอย่างใดอย่างหนึ่ง ดังต่อไปนี้

(๑) พาสเจอร์ไรส์ หมายความว่า กรรมวิธีฆ่าเชื้อด้วยความร้อนโดยใช้อุณหภูมิที่เหมาะสม ซึ่งจะไม่ทาให้ผลิตภัณฑ์สูญเสียลักษณะที่ต้องการเมื่อผ่านกรรมวิธีฆ่าเชื้อดังกล่าว โดยใช้อุณหภูมิและเวลาอย่างใดอย่างหนึ่ง ดังต่อไปนี้

(๑.๑) อุณหภูมิไม่ต่ำกว่า ๖๓ องศาเซลเซียส และคงอยู่ที่อุณหภูมินี้ไม่น้อยกว่า ๓๐ นาที แล้วทำให้เย็นลงทันทีที่อุณหภูมิ ๕ องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า หรือ

(๑.๒) อุณหภูมิไม่ต่ำกว่า ๗๒ องศาเซลเซียส และคงอยู่ที่อุณหภูมินี้ไม่น้อยกว่า ๑๕ วินาที แล้วทำให้เย็นลงทันทีที่อุณหภูมิ ๕ องศาเซลเซียส หรือต่ำกว่า

(๒) ยูเอชที หมายความว่า กรรมวิธีฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่อุณหภูมิตั้งแต่ ๑๐๐ องศาเซลเซียสขึ้นไป และคงอยู่ที่อุณหภูมินี้ตามระยะเวลาที่เพียงพอจะทำลายจุลินทรีย์ที่สามารถเพิ่มจานวนเมื่อเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิปกติ แล้วบรรจุในภาชนะและในสภาวะที่ปราศจากเชื้อ

(๓) กรรมวิธีอย่างอื่นที่มีมาตรฐานเทียบเท่ากรรมวิธีตาม (๑) หรือ (๒) ตามที่ได้รับความเห็นชอบจากคณะกรรมการอาหาร

ข้อ ๗ นมเปรี้ยวที่มิได้ปรุงแต่งต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐาน ดังต่อไปนี้

(๑) มีกลิ่นรสตามลักษณะของนมเปรี้ยวนั้น

(๒) มีโปรตีนไม่น้อยกว่าร้อยละ ๒.๗ ของน้ำหนัก สำหรับนมเปรี้ยวตามข้อ ๔(๑)(๒)(๓) และ (๕)

(๓) มีมันเนยดังนี้

(๓.๑) น้อยกว่าร้อยละ ๑๕ ของน้าหนัก สาหรับนมเปรี้ยวตามข้อ ๔(๑) และ (๒)

(๓.๒)น้อยกว่าร้อยละ ๑๐ ของน้ำหนัก สำหรับนมเปรี้ยวตามข้อ ๔(๓)(๔) และ (๕)

(๔) มีค่าความเป็นกรด โดยคำนวณเป็นกรดแลกติก ดังนี้

(๔.๑) ไม่น้อยกว่าร้อยละ ๐.๖ ของน้ำหนัก สำหรับนมเปรี้ยวตามข้อ ๔(๑)(๒)

และ (๓)

(๔.๒) ไม่น้อยกว่าร้อยละ ๐.๓ ของน้ำหนัก สำหรับนมเปรี้ยวตามข้อ ๔(๔)

(๔.๓) ไม่น้อยกว่าร้อยละ ๐.๓ ของน้ำหนัก สำหรับนมเปรี้ยวตามข้อ ๔(๕)

(๕) มีจุลินทรีย์ที่ใช้ในกรรมวิธีการหมักคงเหลือในนมเปรี้ยวที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมัก ๑ กรัม แล้วแต่กรณี ดังนี้

(๕.๑) แบคทีเรียไม่น้อยกว่า ๑๐,๐๐๐,๐๐๐ โคโลนี

(๕.๒) ยีสต์ไม่น้อยกว่า ๑๐,๐๐๐ โคโลนี

(๖) ไม่ใช้วัตถุกันเสีย

(๗) จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคให้เป็นไปตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่องมาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค

(๘) ตรวจพบแบคทีเรียชนิดโคลิฟอร์มน้อยกว่า ๓ ต่อนมเปรี้ยว ๑ กรัม โดยวิธี เอ็ม พี เอ็น (Most Probable Number)

(๙) ตรวจพบเชื้อราได้ไม่เกิน ๑๐๐ โคโลนี สาหรับนมเปรี้ยวที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมัก ๑ กรัม

(๑๐) ตรวจพบยีสต์ไม่เกิน ๑๐๐ โคโลนี สำหรับนมเปรี้ยวที่ไม่ได้ใช้ยีสต์ในการหมัก และไม่ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมัก ๑ กรัม

(๑๑) ตรวจพบยีสต์และเชื้อราได้ไม่เกิน ๑๐ โคโลนี สำหรับนมเปรี้ยวที่ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมัก ๑ กรัม

ข้อ ๘ นมเปรี้ยวที่ปรุงแต่ง ต้องมีนมเป็นส่วนผสมในปริมาณไม่น้อยกว่าร้อยละ ๕๐ ของน้ำหนัก และมีคุณภาพหรือมาตรฐาน ดังนี้

(๑) กรณีไม่ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมัก ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐานตามข้อ ๗(๑)(๖)(๗)(๘)(๙) และ (๑๐) สำหรับคุณภาพหรือมาตรฐานตามข้อ ๗(๒)(๓)(๔) และ (๕) ให้เป็นไปตามสัดส่วนของนมที่ใช้เป็นส่วนผสม

(๒) กรณีที่ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมัก ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐานตามข้อ ๗(๑)(๖)(๗)(๘) และ (๑๑) สาหรับคุณภาพหรือมาตรฐานตามข้อ ๗(๒)(๓) และ (๔) ให้เป็นไปตามสัดส่วนของนมที่ใช้เป็นส่วนผสม

ข้อ ๙ นมเปรี้ยวแช่แข็งเมื่อกลับคืนสภาพเดิมแล้ว (thawing) ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐาน ดังนี้

(๑) กรณีที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมักและไม่ได้ปรุงแต่ง ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐานตามข้อ ๗(๑)(๒)(๓)(๔)(๖)(๗)(๘)(๙) และ (๑๐) และต้องมีจุลินทรีย์และยีสต์ที่ใช้ในการหมักเหลืออยู่และมีชีวิตด้วย

(๒) กรณีที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมักและปรุงแต่ง ต้องมีนมเป็นส่วนผสมในปริมาณ

ไม่น้อยกว่าร้อยละ ๕๐ ของน้ำหนัก และมีคุณภาพหรือมาตรฐานตามข้อ ๗(๑)(๖)(๗)(๘)(๙) และ (๑๐) และต้องมีจุลินทรีย์และยีสต์ที่ใช้ในการหมักเหลืออยู่และมีชีวิตด้วย สำหรับคุณภาพหรือมาตรฐานตามข้อ ๗(๒)(๓) และ (๔) ให้เป็นไปตามสัดส่วนของนมที่ใช้เป็นส่วนผสม

(๓) กรณีที่ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมักและไม่ได้ปรุงแต่ง ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐานตามข้อ ๗(๑)(๒)(๓)(๔)(๖)(๗)(๘) และ (๑๑)

(๔) กรณีที่ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมักและปรุงแต่ง ต้องมีนมเป็นส่วนผสมในปริมาณไม่น้อยกว่าร้อยละ ๕๐ ของน้ำหนัก และมีคุณภาพหรือมาตรฐานตามข้อ ๗(๑)(๖)(๗)(๘) และ (๑๑) สำหรับคุณภาพหรือมาตรฐานตามข้อ ๗(๒)(๓)และ (๔) ให้เป็นไปตามสัดส่วนของนมที่ใช้เป็นส่วนผสม

ข้อ ๑๐ นมเปรี้ยวชนิดแห้งเมื่ออยู่ในสภาพพร้อมบริโภคตามวิธีละลายเพื่อบริโภคที่ระบุไว้บนฉลาก ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐานดังนี้

(๑) กรณีไม่ปรุงแต่งต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐานตามข้อ ๗(๑)(๒)(๓)(๔)(๖)(๗)(๘) และ (๑๑)

(๒) กรณีปรุงแต่งต้องมีนมเป็นส่วนผสมในปริมาณไม่น้อยกว่าร้อยละ ๕๐ ของน้ำหนัก และมีคุณภาพหรือมาตรฐานตามข้อ ๗(๑)(๖)(๗)(๘) และ (๑๑) สำหรับคุณภาพหรือมาตรฐานตามข้อ ๗(๒)(๓)
และ (๔) ให้เป็นไปตามสัดส่วนของนมที่ใช้เป็นส่วนผสม

กรณีที่มีวัตถุประสงค์การใช้ต่างจากวรรคหนึ่ง อาจมีคุณภาพหรือมาตรฐานต่างจากวรรคหนึ่งได้ แต่ต้องเป็นไปตามที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาประกาศกำหนด โดยความเห็นชอบของคณะกรรมการอาหาร

ข้อ ๑๑ นมเปรี้ยวที่ไม่ได้ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมักและที่ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมักตาม ข้อ ๖(๑) ต้องเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิไม่เกิน ๘ องศาเซลเซียส ตลอดระยะเวลาหลังบรรจุจนถึงผู้บริโภค และระยะเวลาการบริโภคต้องไม่เกิน ๓๐ วัน นับจากวันที่บรรจุในภาชนะพร้อมจำหน่าย แต่ทั้งนี้ไม่รวมนมเปรี้ยวแช่แข็งหรือนมเปรี้ยวชนิดแห้ง

กรณีที่จะแสดงระยะเวลาการบริโภคเกินกว่าที่กำหนดตามวรรคหนึ่ง ต้องมีมาตรการในการควบคุมคุณภาพหรือมาตรฐานผลิตภัณฑ์ตลอดระยะเวลาตั้งแต่การผลิต การบรรจุ การจำหน่าย จนถึงผู้บริโภค เป็นไปตามที่สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยาเห็นชอบ

ข้อ ๑๒ นมเปรี้ยวที่ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมักตามข้อ ๖(๒) ต้องเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิปกติในระยะเวลาไม่น้อยกว่า ๕ วัน นับแต่วันที่บรรจุในภาชนะก่อนออกจำหน่าย เพื่อตรวจสอบว่ายังคงมีคุณภาพหรือมาตรฐานตามที่กำหนด และไม่เปลี่ยนแปลงไปจากลักษณะเดิมที่ทำขึ้น แต่ทั้งนี้ไม่รวมนมเปรี้ยวแช่แข็งหรือนมเปรี้ยวชนิดแห้ง

ข้อ ๑๓ การใช้วัตถุเจือปนอาหารนอกจากวัตถุกันเสีย ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ว่าด้วยเรื่อง วัตถุเจือปนอาหาร

กรณีตรวจพบวัตถุกันเสียที่ตกค้างมาจากวัตถุที่ใช้ปรุงแต่งกลิ่น รส สี หรือส่วนประกอบอื่นที่มิใช่นมที่เป็นส่วนผสมอยู่ด้วย ปริมาณที่ตรวจพบจะต้องไม่เกินปริมาณที่อนุญาตให้ใช้ในวัตถุดิบเหล่านั้น แล้วแต่กรณี

ข้อ ๑๔ ผู้ผลิตหรือผู้นำเข้านมเปรี้ยวเพื่อจำหน่าย ต้องปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง วิธีการผลิต เครื่องมือเครื่องใช้ในการผลิต และการเก็บรักษาอาหาร

ข้อ ๑๕ ผู้ผลิตหรือผู้นำเข้านมเปรี้ยวเพื่อจำหน่าย ต้องปฏิบัติ แล้วแต่กรณี ดังนี้

(๑) ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง วิธีการผลิต เครื่องมือเครื่องใช้ในการผลิต และการเก็บรักษาอาหาร สำหรับนมเปรี้ยวที่มิใช่นมเปรี้ยวพาสเจอร์ไรส์

(๒) ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่องผลิตภัณฑ์นมพร้อมบริโภคชนิดเหลวที่ผ่านกรรมวิธีฆ่าเชื้อด้วยความร้อนโดยวิธีพาสเจอร์ไรส์ สำหรับนมเปรี้ยวพาสเจอร์ไรส์

ข้อ ๑๖ การใช้ภาชนะบรรจุนมเปรี้ยว ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง ภาชนะบรรจุ

ข้อ ๑๗ การแสดงฉลากของนมเปรี้ยว ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่องฉลาก เว้นแต่การใช้ชื่ออาหารของนมเปรี้ยวและการแสดงข้อความสำหรับนมเปรี้ยวบางชนิดให้ปฏิบัติดังต่อไปนี้

(๑) ชื่ออาหารของนมเปรี้ยว

(๑.๑) นมเปรี้ยวตามข้อ ๔(๑) ให้ใช้ชื่ออาหารว่า “โยเกิร์ต” หรือ “นมเปรี้ยว โยเกิร์ต” สำหรับกรณีที่ประสงค์จะใช้ชื่ออาหารว่า “นมเปรี้ยว” ต้องกำกับชื่ออาหารด้วยข้อความว่า “ชนิดโยเกิร์ต”

(๑.๒) นมเปรี้ยวตามข้อ ๔(๒) ให้ใช้ชื่ออาหารว่า “นมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัส” สำหรับกรณีที่ประสงค์จะใช้ชื่ออาหารว่า “นมเปรี้ยว” ต้องกำกับชื่ออาหารด้วยข้อความว่า “ชนิดแอซิโดฟิลัส”

(๑.๓) นมเปรี้ยวตามข้อ ๔(๓) ให้ใช้ชื่ออาหารว่า “นมเปรี้ยวเคเฟอร์” สำหรับกรณีที่ประสงค์จะใช้ชื่ออาหารว่า “นมเปรี้ยว” ต้องกำกับชื่ออาหารด้วยข้อความว่า “ชนิดเคเฟอร์”

(๑.๔) นมเปรี้ยวตามข้อ ๔(๔) ให้ใช้ชื่ออาหารว่า “นมเปรี้ยวคูมิส” สำหรับกรณีที่ประสงค์จะใช้ชื่ออาหารว่า “นมเปรี้ยว” ต้องกำกับชื่ออาหารด้วยข้อความว่า “ชนิดคูมิส”

(๑.๕) “นมเปรี้ยว” สำหรับนมเปรี้ยวตามข้อ ๔(๕)

การใช้ชื่ออาหารของนมเปรี้ยวอาจใช้ชื่อทางการค้าได้ แต่ต้องมีข้อความตาม (๑.๑) (๑.๒) (๑.๓) (๑.๔) หรือ (๑.๕) แล้วแต่กรณี กำกับชื่ออาหารด้วย โดยจะแสดงอยู่ในบรรทัดเดียวกับชื่อทางการค้าก็ได้ และจะมีขนาดตัวอักษรต่างกับชื่อทางการค้าก็ได้ แต่ต้องสามารถอ่านได้ชัดเจน

(๒) นมเปรี้ยวเคเฟอร์และนมเปรี้ยวคูมิส ต้องแสดงข้อความดังต่อไปนี้ด้วย

(๒.๑) “มีเอทธิลแอลกอฮอล์ไม่เกิน ...%” (ความที่เว้นไว้ให้ระบุปริมาณแอลกอฮอล์เป็นร้อยละของน้ำหนัก) ด้วยตัวอักษรที่อ่านได้ชัดเจน บริเวณเดียวกับชื่ออาหารหรือเครื่องหมายการค้า

(๒.๒) “เด็กและสตรีมีครรภ์ ไม่ควรรับประทาน” ด้วยตัวอักษรที่อ่านได้ชัดเจน

(๓) นมเปรี้ยวที่ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมักตามข้อ ๖ ต้องแสดงข้อความ “พาสเจอร์ไรส์” หรือ “ยูเอชที” เป็นส่วนหนึ่งของชื่ออาหารหรือกากับชื่ออาหาร แล้วแต่กรณี

ข้อ ๑๘ ให้ผู้ผลิตหรือนำเข้านมเปรี้ยวที่ได้รับใบสำคัญการขึ้นทะเบียนตำรับอาหาร หรือใบสำคัญการใช้ฉลากอาหารตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ ๒๘๙) พ.ศ.๒๕๔๘ เรื่อง นมเปรี้ยว ลงวันที่ ๑๗ มกราคม พ.ศ.๒๕๔๘ ซึ่งออกให้ก่อนวันที่ประกาศนี้ใช้บังคับใช้เลขสารบบอาหารดังกล่าวต่อไปได้ โดยถือว่าได้จดทะเบียนอาหารตามประกาศฉบับนี้แล้ว

ข้อ ๑๙ ประกาศนี้มีผลบังคับใช้เมื่อพ้นกำหนดหนึ่งร้อยแปดสิบวันนับแต่วันถัดจากวันประกาศในราชกิจจานุเบกษา เป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ ๒๖ มิถุนายน พ.ศ.๒๕๕๖

ภาคผนวก ข

วิธีการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์ด้านคุณสมบัติทางกายภาพ ทางเคมี และทางจุลินทรีย์

1. การวัดค่า Syneresis และ Water-holding capacity (ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Keogh & Kennedy .,1998 และ Sodini et al., 2006)

เครื่องมืออุปกรณ์

1. เครื่องเหวี่ยงแยกสาร (Centrifuge)
2. หัวปั่น (Rotor) สำหรับ centrifuge tube ขนาด 50 ml
3. Centrifuge tube ขนาด 50 ml
4. อุปกรณ์เครื่องแก้ว

วิธีการวัดค่า

1. ชั่งตัวอย่างใส่ใน centrifuge tube 30 กรัม
2. นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ 1250 x g อุณหภูมิ 25ºC เป็นเวลา 10 นาที
3. ชั่งน้ำหนักส่วนของเหลวที่แยกชั้น (supernatant)
4. คำนวณค่า syneresis และ water-holding capacity

$$\% \text{ syneresis} = \frac{\text{น้ำหนักของ supernatant}}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง}} \times 100$$

$$\% \text{ water-holding capacity} = \frac{\text{น้ำหนักโยเกิร์ต} - \text{น้ำหนักของ supernatant}}{\text{น้ำหนักของตัวอย่าง}} \times 100$$

2. การวัดค่าความหนืด (Viscosity)

เครื่องมืออุปกรณ์

1. เครื่องมือวัดความหนืด (Brookfield viscometer) รุ่น ALPHA SERIES Rotational Viscometer

2. บีกเกอร์ (Beaker)

3. น้ำกลั่น

วิธีการวัดค่า

1. เตรียมตัวอย่าง

2. เปิดเครื่องและนำหัววัด L3 ประกอบเข้ากับเครื่องวัดความหนืด

3. ตั้งค่าโดยระบุหัววัดที่ใช้ และความเร็วรอบ (rpm)

4. หัววัดเริ่มหมุนทำการวัดความหนืด บันทึกค่าความหนืดที่ได้ถ้าค่า %Torque อยู่ในระดับที่น่าเชื่อถือ

3. การวิเคราะห์หาความเป็นกรด-ด่าง (pH) (A.O.A.C, 2005)

เครื่องมืออุปกรณ์

1. pH meter

2. บีกเกอร์ (Beaker)

3. น้ำกลั่น

วิธีวิเคราะห์

1. ทำการ calibrate เครื่อง pH meter กับสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน pH 4.01 และ 7.00

2. ใช้ electrode จุ่มลงในตัวอย่างโดยตรงและบันทึกค่า

4. การวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมด (Total Titratable acidity) (A.O.A.C, 1990)

เครื่องมืออุปกรณ์

1. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmayer flask)

2. บีกเกอร์ (Beaker)

3. ปิเปต (Pipette)

4. บิวเรต (Buret)

5. หลอดหยดสาร (Dropper)

สารเคมี

1. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.1 N

2. ฟีนอฟทาลีน อินดิเคเตอร์ (Phenolpthalein Indicator)

วิธีวิเคราะห์

1. ปิเปตตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่

2. เติมสารละลาย phenolphthalein 3-5 หยด โดยใช้เป็นอินดิเคเตอร์

3. นำไปไทเทรตด้วย 0.1 M NaOH จนถึงจุดยุติ (เป็นสีชมพู) และบันทึกปริมาตรที่ใช้

4. คำนวณหาปริมาณกรด โดย 1 มิลลิลิตร ของ 0.1 M NaOH ทำปฏิกิริยาสมมูลพอดีกับกรดแลคติก 0.009 g

5. การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน (มาจากวิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์อาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เล่ม 1)

เครื่องมืออุปกรณ์

1. เครื่องชั่งละเอียด (Analytical balance)

2. เครื่องย่อย (Digestion Apparatus)

3. เครื่องกลั่น (Distallation)

4. ขวดแก้ววิเคราะห์โปรตีน (Kjeldahl tube)

5. บิเรต (Titration buret)

6. ปิเปต (Pipette)

7. ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)

8. บีกเกอร์ (Beaker)

9. กระบอกตวง

10. น้ำกลั่น

สารเคมี

1. $CuSo_4 \cdot 5H_2O$

2. K_2SO_4 หรือ $NaSO_4$ หรือใช้ Kjeldahl catalyst tablets สำเร็จรูปแทนข้อ 1. และ 2.

3. conc. H_2SO_4

4. 0.1 N HCl

5. 4% H_3BO_3

6. Methyl red/ Bromocresol green indicator

วิธีวิเคราะห์

1. ปิเปตตัวอย่าง 3 มิลลิลิตรใส่ลงใน Kjeldahl tube และใช้น้ำกลั่น 3 mL ใส่ลงใน Kjeldahl tube เพื่อทำ blank นำไปชั่งน้ำหนัก บันทึกน้ำหนักตัวอย่างที่แน่นอน

2. เติม $CuSo_4 \cdot 5H_2O$ 0.5 g และ K_2SO_4 15 g (หรือเติม Kjeldahl catalyst tablets)

3. ค่อยๆเท conc.H_2SO_4 20 mL ลงใน Kjeldahl tube

4. นำไปย่อยบนเครื่องย่อย เวลาประมาณ 20-30 นาที จนได้สารละลายใสสีน้ำตาล

5. เมื่อย่อยเสร็จแล้วทิ้งไว้ให้เย็น และเจือจางด้วยน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร

6. นำสารละลายที่ย่อยได้ไปกลั่น โดยตั้งระบบการกลั่นและเวลาที่ใช้กลั่นประมาณ 20 นาที โดยมี 4% H_3BO_3 25 มิลลิลิตรที่หยด indicator 2-3 หยด ในขวดรูปชมพู่ 250 มิลลิลิตร รองรับสารที่กลั่นได้

7. นำสารละลายที่กลั่นได้มาไทเทรตกับ 0.1 N HCl จนถึงจุดยุติ (เป็นสีชมพู) และบันทึกปริมาตร

8. คำนวณหาเปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน

% ไนโตรเจน = $14.01 \times N \times (V_a - V_b) / (10 \times g\ sample)$

เมื่อ N คือ ความเข้มข้นของ HCl (N)

V_a คือ ปริมาตรของ HCl ที่ใช้ในการไทเทรตตัวอย่าง

V_b คือ ปริมาตรของ HCl ที่ใช้ในการไทเทรต blank

และ % โปรตีน = % ไนโตรเจน × conversion factor ของน้ำนม (conversion factor ของน้ำนม= 6.38)

6. การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน (ดัดแปลงมาจากวิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์อาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เล่ม 1)

เครื่องมืออุปกรณ์

1. เครื่องชั่ง (Analytical balance)

2. เครื่องกลั่นระเหยแบบหมุน (Rotatory evaporator)

3. ตู้อบร้อน (Hot air oven)

4. โถดูดความชื้น (Desiccator)

5. Mojonnier tube

6. ขวดก้นกลม (Round Bottom Flask)

7. บีกเกอร์ (Beaker)

8. กระบอกตวง

9. น้ำกลั่น

สารเคมี

1. Ammonia solution

2. Petroleum ether

3. Diethyl ether

4. Ethanol

วิธีวิเคราะห์ ใช้หลักการ Roese-Gottlieb

1. เตรียมขวดก้นกลมโดยอบในตู้อบร้อนที่อุณหภูมิ 102 ± 2°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เอาออกจากตู้อบทิ้งให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิห้องในโถดูดความชื้น (ประมาณ 1 ชั่งโมง) และนำไปชั่งน้ำหนัก (W_1) ที่แน่นอน (W)

2. ปิเปตตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ลงใน Mojonnier tube แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน (W)

3. เติม ammonia solution 2 มิลลิลิตรเขย่าให้เข้ากัน เติมน้ำกลั่น 6 มิลลิลิตรเขย่าให้เข้ากัน และเติม ethanol 10 มิลลิลิตรเขย่าให้เข้ากัน

4. จากนั้นเติม diethyl ether 25 มิลลิลิตร ปิดจุก เขย่าอย่างแรง 1 นาที จากนั้นเติม petroleum ether 25 มิลลิลิตร ปิดจุก เขย่าอย่างแรง 30 วินาที ตั้งทิ้งไว้ 20 นาทีให้แยกชั้น แล้วเทชั้น organic solvent ลงในขวดก้นกลม

5. จากนั้นเติม ethanol 5 มิลลิลิตรลงใน Mojonnier tube เขย่าให้เข้ากัน และสกัดไขมันออกจากตัวอย่างครั้งที่ 2 โดยการเติม diethyl ether 25 มิลลิลิตร ปิดจุก เขย่าอย่างแรง 1 นาที และเติม petroleum ether 15 มิลลิลิตร ปิดจุก เขย่าอย่างแรง 30 วินาที ตั้งทิ้งไว้ 20 นาทีให้แยกชั้น แล้วเทชั้น organic solvent ลงในขวดก้นกลมใบเดิม

6. ระเหย solvent ออกจากไขมันโดยใช้เครื่องกลั่นระเหยแบบหมุน (rotatory evaporator)

7. จากนั้นนำขวดก้นกลมที่มีไขมันไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 102 ± 2°C จนได้น้ำหนักคงที่ (ประมาณ 1 ชั่วโมง)

8. ตั้งทิ้งให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องในโถดูดความชื้น (ประมาณ 1 ชั่วโมง) ชั่งน้ำหนัก (W_2)

9. วิเคราะห์ blank โดยใช้น้ำ 10 มิลลิลิตร แทนตัวอย่าง น้ำหนักของสารที่เหลืออยู่ในถ้วยระเหย (W_b) ควรน้อยกว่า 0.001 กรัม

ปริมาณไขมัน (ร้อยละโดยน้ำหนัก) = $(W_2 - W_1 - W_b) \times 100/W$

เมื่อ W_1 = น้ำหนักของขวดก้นกลม (กรัม)

W_2= น้ำหนักของขวดก้นกลมที่มีไขมันอยู่ (กรัม)

W_b = น้ำหนักสารที่เหลืออยู่ ที่ได้จากการวิเคราะห์ blank (กรัม)

W = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

7. การวิเคราะห์หาปริมาณของของแข็งทั้งหมด (ดัดแปลงมาจากวิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์อาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เล่ม 1)

เครื่องมืออุปกรณ์

1. ถ้วยสำหรับวัดความชื้น
2. เครื่องชั่ง (Analytical balance)
3. ตู้อบร้อน (Hot air oven)
4. โถดูดความชื้น (Desiccator)
5. ขวดกำหนดปริมาตร (Volumetric flask)

วิธีวิเคราะห์

1. ปิเปตตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นในขวดกำหนดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร

2. เตรียมถ้วยอะลูมิเนียมโดยเขียนรหัสบนถ้วยอะลูมิเนียมที่แห้งและสะอาดนำไปอบพร้อมฝา โดยเปิดฝาขณะอบในตู้อบร้อนที่ 102± 2°C เป็นเวลา 1.5 ชั่วโมง

3. ปิดฝาถ้วยอะลูมิเนียมและเอาออกจากตู้อบร้อน เก็บในโถดูดความชื้นทันที ทิ้งไว้ให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 นาที) ชั่งน้ำหนัก (W_1)

4. ชั่งตัวอย่างประมาณ 1-5 กรัม ใส่ในถ้วยอะลูมิเนียมที่เตรียมไว้ บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน (W) แล้วนำไประเหยให้แห้งบนอ่างน้ำร้อน (water bath) อุณหภูมิประมาณ 50-60°C

5. อบถ้วยอะลูมิเนียมพร้อมตัวอย่างโดยเปิดฝาขณะอบในตู้อบร้อนที่อุณหภูมิ 102±2°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นปิดฝาถ้วยอบ เอาออกจากตู้อบร้อน เก็บในโถดูดความชื้นทันที ทิ้งไว้ให้เย็น (ประมาณ 30 นาที) แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก

6. อบซ้ำอีกครั้งละ 1 ชั่วโมง จนได้น้ำหนักคงที่ (W_2)

ปริมาณของแข็งทั้งหมด (ร้อยละของน้ำหนัก) = $(W_2-W_1) \times 100/W$

เมื่อ W_1 = น้ำหนักของถ้วยอะลูมิเนียมหลังอบ (กรัม)

W_2 = น้ำหนักของถ้วยอะลูมิเนียมและตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

W = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

8. การวิเคราะห์หาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (ดัดแปลงมาจากวิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์อาหาร กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ เล่ม 1)

เครื่องมืออุปกรณ์

1. จานเลี้ยงเชื้อพลาสติก (Plate)

2. ขวดแก้ว (Duran)

3. หลอดทดลอง (Test tube)

4. Micropipettes ขนาด 20-200 ไมโครลิตร และ 100-1000 ไมโครลิตร

5. Micropipette tip ขนาด 100 และ 1000 ไมโครลิตร

6. แท่งแก้วสำหรับเกลี่ย (Spreader)

7. แท่งแก้วคนสาร (Glass Rod)

8. บีกเกอร์ (Beaker)

9. น้ำกลั่น

วิธีวิเคราะห์

1. เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ NA Agar และเทใส่จานเลี้ยงเชื้อ

2. นำตัวอย่างมาเจือจางตัวอย่างด้วย 0.85% NaCl จนได้ 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6} และ 10^{-7}

3. ปิเปตตัวอย่างที่เจือจางจำนวน 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อที่เตรียมไว้ จากนั้นใช้แท่งแก้ว (spreader) เกลี่ย (spread) ให้กระจายทั่วทั้งจาน ตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง

4. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37ºC เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

5. นับโคโลนีในจานที่จำนวนโคโลนีอยู่ในช่วง 30-300 โคโลนี คำนวณหาจำนวนแบคทีเรีย

จำนวนแบคทีเรีย = จำนวนโคโลนี x dilution factor

9. **การวิเคราะห์หาจำนวนจุลินทรีย์ *Lactobacillus acidophilus* (ดัดแปลงมาจาก O' Conner-Show et al., 1994)**

เครื่องมืออุปกรณ์

1. จานเลี้ยงเชื้อพลาสติก (Plate)

2. ขวดแก้ว (Duran)

3. หลอดทดลอง (Test tube)

4. Micropipettes ขนาด 200 ไมโครลิตร และ 100-1000 ไมโครลิตร

5. Micropipette tip ขนาด 100 และ 1000ไมโครลิตร

6. แท่งแก้วสำหรับเกลี่ย (Spreader)

7. แท่งแก้วคนสาร (Glass Rod)

8. บีกเกอร์ (Beaker)

9. น้ำกลั่น

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมี

1. MRS broth

2. Agar

3. 0.85% Nacl

วิธีวิเคราะห์

1. เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS Agar และเทใส่จานเลี้ยงเชื้อ

2. นำตัวอย่างมาเจือจางตัวอย่างด้วย 0.85% NaCl จนได้ 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6} และ 10^{-7}

3. ปิเปตตัวอย่างที่เจือจางจำนวน 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในจานเพาะเชื้อที่เตรียมไว้ จากนั้นใช้แท่งแก้ว (spreader) เกลี่ย (spread) ให้กระจายทั่วทั้งจาน ตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง

4. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37ºC เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

5. นับโคโลนีในจานที่จำนวนโคโลนีอยู่ในช่วง 30-300 โคโลนี คำนวณหาจำนวนแบคทีเรีย

จำนวนแบคทีเรีย = จำนวนโคโลนี x dilution factor

ภาคผนวก ค

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ ค.1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตทั้ง 3 สูตร คือ สูตร1-โยเกิร์ตที่มีไขมันกะทิ 19%, สูตร2 - โยเกิร์ตที่มีไขมันกะทิ 18%, สูตร3 - โยเกิร์ตที่มีไขมันกะทิ 17% เทียบกับสูตรนมปราศจากไขมัน

SOV	df	SS	MS	F	Sig
Treatment	3	0.019	0.006	25.722	0.000*
Error	8	0.002	0.000		
Total	11	0.021			

*หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค.2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความเป็นกรดทั้งหมด (TA) ของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตทั้ง 3 สูตร คือ สูตร1-โยเกิร์ตที่มีไขมันกะทิ 19%, สูตร2 - โยเกิร์ตที่มีไขมันกะทิ 18%, สูตร3 - โยเกิร์ตที่มีไขมันกะทิ 17% เทียบกับสูตรนมปราศจากไขมัน

SOV	df	SS	MS	F	Sig
Treatment	3	0.063	0.021	27.383	0.000*
Error	8	0.006	0.001		
Total	11	0.069			

*หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค.3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความหนืดของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตทั้ง 3 สูตร คือ สูตร1-โยเกิร์ตที่มีไขมันกะทิ 19%, สูตร2 - โยเกิร์ตที่มีไขมันกะทิ 18%, สูตร3 - โยเกิร์ตที่มีไขมันกะทิ 17% เทียบกับสูตรนมปราศจากไขมัน

SOV	df	SS	MS	F	Sig
Treatment	3	1148855.703	382951.901	9819.070	0.000*
Error	8	312.007	39.001		
Total	11	1149167.709			

*หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค.4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าการสูญเสียน้ำ (syneresis) ของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตทั้ง 3 สูตร คือ สูตร1-โยเกิร์ตที่มีไขมันกะทิ 19%, สูตร2 - โยเกิร์ตที่มีไขมันกะทิ 18%, สูตร3 - โยเกิร์ตที่มีไขมันกะทิ 17% เทียบกับสูตรนมปราศจากไขมัน

SOV	df	SS	MS	F	Sig
Treatment	3	11.594	3.865	1.579	0.269ns
Error	8	19.585	2.448		
Total	11	31.179			

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค.5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าการอุ้มน้ำ (water holding capacity) ของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตทั้ง 3 สูตร คือ สูตร1-โยเกิร์ตที่มีไขมันกะทิ 19%, สูตร2 - โยเกิร์ตที่มีไขมันกะทิ 18%, สูตร 3 - โยเกิร์ตที่มีไขมันกะทิ 17% เทียบกับสูตรนมปราศจากไขมัน

SOV	df	SS	MS	F	Sig
Treatment	3	11.594	3.865	1.579	0.269ns
Error	8	19.585	2.448		
Total	11	31.179			

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค.6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนจุลินทรีย์ *Lactobacillus acidophilus* ในนมที่มีไขมันกะทิเปรียบเทียบกับนมปราศจากไขมันในชั่วโมงที่ 2

SOV	df	SS	MS	F	Sig
Treatment	1	1.207E+16	1.207E+16	570.089	0.000*
Error	4	8.467E+13	2.117E+13		
Total	5	1.215E+16			

*หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค.7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนจุลินทรีย์ *Lactobacillus acidophilus* ในนมที่มีไขมันกะทิเปรียบเทียบกับนมปราศจากไขมันในชั่วโมงที่ 6

SOV	df	SS	MS	F	Sig
Treatment	1	9.793E+15	9.793E+15	79.282	0.001*
Error	4	4.941E+14	1.235E+14		
Total	5	1.029E+16			

*หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค.8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนจุลินทรีย์ *Lactobacillus acidophilus* ในนมที่มีไขมันกะทิเปรียบเทียบกับนมปราศจากไขมันในชั่วโมงที่ 24

SOV	df	SS	MS	F	Sig
Treatment	1	1.239E+16	1.239E+16	410.285	0.000*
Error	4	1.207E+14	3.019E+13		
Total	5	1.251E+16			

*หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค.9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในนมที่มีไขมันกะทิทั้ง 3 สูตร คือ นมที่มีไขมันกะทิ นมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลิน และนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวันในชั่วโมงที่ 6

SOV	df	SS	MS	F	Sig
Treatment	2	0.033	0.016	12.843	0.007*
Error	6	0.008	0.001		
Total	8	0.040			

*หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค.10 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)ในนมที่มีไขมันกะทิทั้ง 3 สูตร คือ นมที่มีไขมันกะทิ นมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลิน และนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวันในชั่วโมงที่ 24

SOV	df	SS	MS	F	Sig
Treatment	2	0.055	0.027	4.530	0.063ns
Error	6	0.036	0.006		
Total	8	0.091			

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค.11 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรดทั้งหมด (TA) ในนมที่มีไขมันกะทิทั้ง 3 สูตร คือ นมที่มีไขมันกะทิ นมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลิน และนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวันในชั่วโมงที่ 22

SOV	df	SS	MS	F	Sig
Treatment	2	0.016	0.008	8.059	0.020*
Error	6	0.006	0.001		
Total	8	0.022			

* หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค.12 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรดทั้งหมด (TA) ในนมที่มีไขมันกะทิทั้ง 3 สูตร คือ นมที่มีไขมันกะทิ นมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลิน และนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวันในชั่วโมงที่ 24

SOV	df	SS	MS	F	Sig
Treatment	2	0.027	0.014	9.336	0.014*
Error	6	0.009	0.001		
Total	8	0.036			

*หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค.13 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในวันที่ 7 ของการเก็บรักษาแบบแช่เย็น ของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสทั้ง 3 สูตร คือ นมที่มีไขมันกะทิ นมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลิน และนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวัน

SOV	df	SS	MS	F	Sig
Treatment	2	0.128	0.064	8.046	0.020*
Error	6	0.048	0.008		
Total	8	0.176			

*หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค.14 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ในวันที่ 14 ของการเก็บรักษาแบบแช่เย็น ของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสทั้ง 3 สูตร คือ นมที่มีไขมันกะทิ นมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลิน และนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวัน

SOV	df	SS	MS	F	Sig
Treatment	2	0.006	0.003	0.338	0.726ns
Error	6	0.055	0.009		
Total	8	0.061			

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค.15 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรดทั้งหมด (TA) ในวันที่ 7 ของการเก็บรักษาแบบแช่เย็น ของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสทั้ง 3 สูตร คือ นมที่มีไขมันกะทิ นมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลิน และนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวัน

SOV	df	SS	MS	F	Sig
Treatment	2	0.000	0.00	0.708	0.530ns
Error	6	0.002	0.00		
Total	8	0.003			

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค.16 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของปริมาณกรดทั้งหมด (TA) ในวันที่ 14 ของการเก็บรักษาแบบแช่เย็น ของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสทั้ง 3 สูตร คือ นมที่มีไขมันกะทิ นมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลิน และนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวัน

SOV	df	SS	MS	F	Sig
Treatment	2	0.008	0.004	1.325	0.334ns
Error	6	0.019	0.003		
Total	8	0.028			

ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค.17 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนจุลินทรีย์ *Lactobacillus acidophilus* ในวันที่ 7 ของการเก็บรักษาแบบแช่เย็น ของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสทั้ง 3 สูตร คือ นมที่มีไขมันกะทิ นมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลิน และนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวัน

SOV	df	SS	MS	F	Sig
Treatment	2	1.094E+13	5.468E+12	3.364	0.105ns
Error	6	9.753E+12	1.626E+12		
Total	8	2.069E+13			

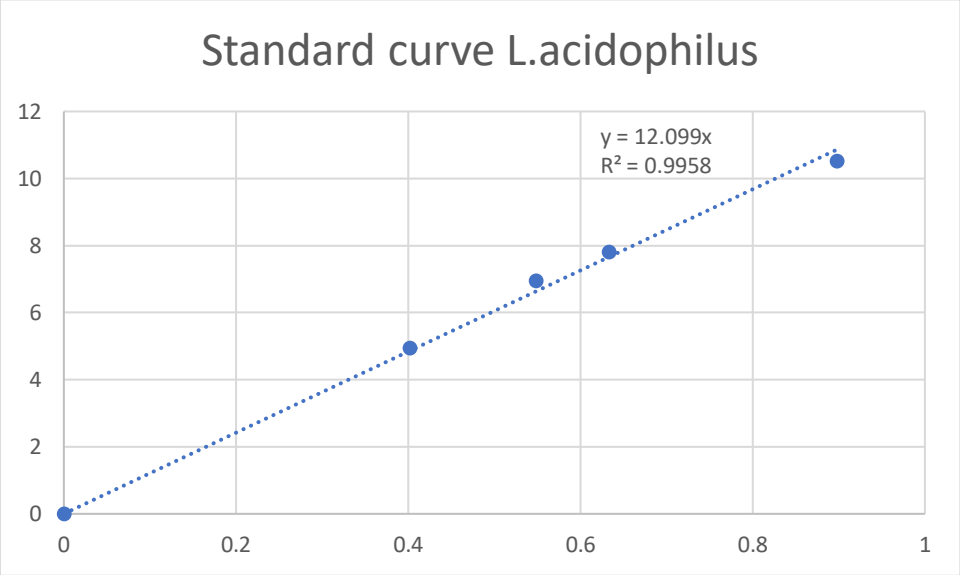
ns หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค.18 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของจำนวนจุลินทรีย์ *Lactobacillus acidophilus* ในวันที่ 14 ของการเก็บรักษาแบบแช่เย็น ของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวแอซิโดฟิลัสทั้ง 3 สูตร คือ นมที่มีไขมันกะทิ นมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลิน และนมที่มีไขมันกะทิเมื่อแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยแก่นตะวัน

SOV	df	SS	MS	F	Sig
Treatment	2	4.002E+14	2.001E+14	7.821	0.021*
Error	6	1.535E+14	2.558E+13		
Total	8	5.537E+14			

*หมายถึง มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ภาคผนวก ง



รูปภาพประกอบการวิจัย

รูปที่ ง.1 กราฟมาตรฐานของ *Lactobacillus acidophilus*

รูปที่ ง.2 ขั้นตอนการไล่อากาศ (Exhausting) ด้วยการบรรจุแบบร้อน (Hot fill) ก่อน Sterilization

รูปที่ ง.3 จอแสดงขั้นตอน อุณหภูมิและเวลาของการ Sterilization ของเครื่องรีทอร์ท (Retort)

รูปที่ ง.4 นมที่มีไขมันกะทิสูตรน้ำตาลหลังการ Sterilization

รูปที่ ง.5 นมที่มีไขมันกะทิสูตรแทนที่น้ำตาลด้วยอินนูลินหลังการ Sterilization

รูปที่ ง.6 นมที่มีไขมันกะทิสูตรแทนที่น้ำตาลด้วยแก่นตะวันหลังการ Sterilization

รูปที่ ง.7 เครื่องโฮโมจิไนเซอร์ (homogenizer) รุ่น T25 digital ULTRA TURRAX

ภาคผนวก จ

รายละเอียดโครงการการเรียนการสอนเพื่อเสริมประสบการณ์
ปีงบประมาณ 2562
ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ชื่อโครงการ ผลของผงแก่นตะวันที่มีต่อความคงตัวและความอยู่รอดของโปรไบโอติกแบคทีเรียสายพันธุ์ *Lactobacillus acidophilus* ในโยเกิร์ตกะทิ (Effect of sunchoke powder on stability and survival of probiotic bacterial specie *Lactobacillus acidophilus* in coconut milk yogurt)

ชื่อนิสิตเข้าร่วมโครงการ
1. นางสาวชนิกานต์ ชูสิทธิ์ 5932513123
2. นางสาวธนิดา ภู่ประเสริฐ 5932528623
3. นางสาวพัชมณฑ์ ชัชวาลวุฒิกุล 5932548123

อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการ รองศาสตราจารย์ ดร.สุเมธ ตันตระเธียร

มูลเหตุจูงใจ

ในปัจจุบันมีผู้คนสนใจโยเกิร์ตโปรไบโอติกกันมากขึ้น เนื่องจากโปรไบโอติกสามารถผลิตสารที่มีประโยชน์ต่อร่างกายได้ ซึ่งหนึ่งในสารเหล่านั้นก็คือ กรดแลคติก ที่ถูกสร้างขึ้นเพื่อช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ไม่จำเป็นและที่ก่อเกิดโรค อีกทั้งยังช่วยการดูดซึมคอเลสเตอรอลผ่านผนังลำไส้ ลดอาการท้องผูกได้ เนื่องจากโปรไบโอติกไปกระตุ้นการบีบตัวของลำไส้ นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มการดูดซึมแคลเซียมในระบบย่อยอาหารได้เป็นอย่างดี แต่โยเกิร์ตที่เรารับประทานกันมาจากการหมักนมสด ซึ่งไม่ค่อยพบการหมักโยเกิร์ตจากวัตถุดิบอื่น ซึ่งไขมันในนมมีโคเลสเตอรอลที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคไขมันอุดตันในเส้นเลือด เนื่องจากเรามีความสนใจในเรื่องของกะทิและพบว่าไขมันในกะทิไม่มีโคเลสเตอรอลและเป็น กรดไขมันที่มีขนาดปานกลาง (Medium chain fatty acids – MCFAs) ความพิเศษ คือ ย่อยง่าย เคลื่อนย้ายสะดวก สามารถผ่านลำคอไปยังกระเพาะเข้าสู่ลำไส้ แล้วเผาผลาญให้เป็นพลังงานในตับ ดังนั้นเราจึงได้คิดผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตจากกะทิขึ้นมา แต่เนื่องจากว่าในกะทิไม่มีโปรตีนมากพอที่จะทำให้เกิด curd เป็นผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตได้แบบนม และประกอบกับผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตโปรไบโอติก มีปัญหาที่สภาวะการหมักโยเกิร์ตมันทำให้โปรไบโอติกมีอัตราการอยู่รอดลดลง เนื่องจาก การอยู่รอดของโปรไบโอติกในผลิตภัณฑ์จะขึ้นอยู่กับแรงเชิงกล และความเครียดจากสภาวะออกซิเดชั่นและออสโมติก (Oxidative and Osmatic Stress) (Abghari et al., 2011) นอกจากนี้ค่า pH 4.5 หรือต่ำกว่านั้นเป็นอันตรายต่อความมีชีวิตของเซลล์ของสิ่งมีชีวิตโปรไบโอติกในโยเกิร์ตที่เก็บไว้ที่ 5ºC (Vinderola et al., 2000) และเนื่องจากผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตมัน

มีค่าประมาณ 4.4-4.5 ซึ่งสาเหตุให้โปรไบโอติกลดจำนวนลงในระหว่างการหมัก ดังนั้นด้วยเหตุนี้จึงคิดหาวิธีที่จะทำให้ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตโปรไบโอติกคงตัว ในขณะเดียวกันยังคงรักษาชีวิตของเซลล์ของสิ่งมีชีวิตโปรไบโอติกในโยเกิร์ตไว้ได้ให้ยังคงอยู่ จากการศึกษาพบว่า แก่นตะวันมีปริมาณของ polyfructan และ oligofructan ที่เทียบเป็นปริมาณfructose สมมูลที่ค่อนข้างสูง ซึ่งแสดงถึงการมีปริมาณ inulin (นาถธิดา วีระปรียากูร และคณะ, 2552)และมีการศึกษาพบว่าอินนูลินสามารถยกระดับการเจริญเติบโต ของโปรไบโอติก (*Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium lactis, Bifidobacterium animalis*) ซึ่ง ทำให้เพิ่มการรอดชีวิตของเชื้อดังกล่าวได้(Akin et al., 2007 ; Akalin and Erişir, 2008 ; Paniyan et al., 2012)และจากการที่แก่นตะวันมีพอลิเมอร์สายยาว polyfructan จึงอาจทำให้เกิดความคงตัวในผลิตภัณฑ์ ดังนั้นจึงทำให้เราได้ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตกะทิโปรไบโอติกเสริมแก่นตะวัน

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 โยเกิร์ต

(จารุวรรณ์ ศิริพรรณพร และคณะ, 2543) โยเกิร์ต คือผลิตภัณฑ์นมที่ผ่านกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่มที่สามารถย่อยน้ำตาลแลคโตสในนมให้เปลี่ยนเป็นกรดแลคติกที่สามารถปรับสภาพความเป็นกรดในกระเพาะอาหารให้เหมาะสมมีประโยชน์ต่อระบบทางเดินอาหารและการขับถ่าย ด้วยประโยชน์ดังกล่าวทำให้มีความต้องการของผู้บริโภคที่เพิ่มขึ้น ทำให้ต้องเพิ่มปริมาณการผลิต รวมทั้งเพิ่มการใช้วัตถุดิบจากน้ำนมดิบเป็นอย่างมาก แต่ด้วยการผลิตน้ำนมดิบของไทยยังมีอัตราการขยายตัวที่ต่ำ ไม่เพียงพอต่อความต้องการในการแปรรูป จำเป็นต้องมีการนำเข้าน้ำนมดิบจากต่างประเทศ ทำให้ต้นทุนในการผลิตโยเกิร์ตสูงขึ้น ด้วยเหตุนี้จึงได้มีความพยายามลดการนำเข้าดังกล่าว โดยการแสวงหาวัตถุดิบใหม่ในการผลิตโยเกิร์ต เช่นการนำน้ำนมถั่วเหลืองมาแทนน้ำนมโค หรือการทดแทนวัตถุดิบด้วยหางนมผง ซึ่ง (Helland et al, 2004) รายงานว่า โยเกิร์ตที่เสริมด้วยหางนมผงมีค่าการลดลงของค่า pH ช้ากว่าในโยเกิร์ตที่ไม่มีการเสริมหางนมผง เนื่องจากสัดส่วนการทดแทนที่มากขึ้น และประกอบกับหางนมผงเป็นโปรตีนที่มีคุณสมบัติเป็นบัฟเฟอร์ช่วยคุมการเปลี่ยนแปลงของค่า pH ให้เป็นไปอย่างช้าๆ ซึ่ง pH ที่ลดลงเกิดจากแบคทีเรียกลุ่มที่ผลิตกรดแลกติก (Lactic Acid Bacteria : LAB) โดยทั่วไป ได้แก่ *Streptococcus thermophilus* (thermophilic bacteria) และ *Lactobacillus bulgaricus* (facultative anaerobe) ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีรสเปรี้ยว (pH 4.6) และ pH ที่ลดลงนี้จะทำให้โปรตีนเสียสภาพ (denature) และจับตัวตกตะกอน (curd) ทำให้ได้โยเกิร์ตที่มีลักษณะข้น นอกจากนี้สัดส่วนของปริมาณของแข็งที่มีอยู่ในโยเกิร์ตเป็นปัจจัยต่อลักษณะทางกายภาพของโยเกิร์ต (นพพร สกุลยืนยงสุข, 2558) โดยในโยเกิร์ตมีสัดส่วนปริมาณของแข็งทั้งหมด (ไม่รวมไขมัน) ร้อยละ 8.25 มีโปรตีนไม่น้อยกว่าร้อยละ 3 และมีไขมันไม่น้อยกว่าร้อยละ 3.25 เกี่ยวเนื่องกับงานวิจัยหนึ่งที่ศึกษาเกี่ยวกับลักษณะทางกายภาพของโยเกิร์ต (Aryana and Mcgrew, 2007) โดยกล่าวว่าปริมาณอินนูลินจะช่วยทำให้โยเกิร์ตมีลักษณะที่หนืดขึ้น เนื่องจากอินนูลินช่วยเพิ่มปริมาณของแข็งทั้งหมดรวมถึงมีคุณสมบัติในการกักเก็บน้ำได้สูง (Roverfroid, 2001) นอกจากนี้โยเกิร์ตที่มีอินนูลินจะมีพลังงานจากคาร์โบไฮเดรตต่ำ และช่วยป้องกันโรคหัวใจและหลอดเลือด สอดคล้องกับอีกหนึ่งงานวิจัย (Balthazar et al, 2016) ที่ว่าอินนูลินสามารถเพิ่มปริมาณกรดไขมันอิ่มตัวสายกลาง (MCFAs) ในระหว่างการหมักและการเก็บโยเกิร์ต ซึ่งกรดไขมันอิ่มตัวสายกลางจะช่วยเพิ่มสัดส่วนปริมาณของ HDL:LDL ที่ช่วยป้องกันโรคไขมันอุดตันในเส้นเลือด ยกตัวอย่างกรดไขมันอิ่มตัวสายกลางได้แก่ กรดลอริก (Lauric acid, C12:0) ที่เป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ในกะทิ ซึ่งจะเห็นได้ว่าโยเกิร์ตนั้นสามารถแทนที่ผลิตภัณฑ์นมด้วยส่วนผสมอื่น หรือเสริมวัตถุดิบอื่นเพื่อเพิ่มลักษณะทางกายภาพและสมบัติด้านโภชนาการให้ดียิ่งขึ้นได้

2.2 น้ำกะทิ (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์,ม.ป.ป.)

Coconut milk (น้ำกะทิ) คือ ของเหลวที่ได้จากการใช้น้ำคั้นหรือสกัด (extraction) ส่วนเนื้อแก่ของมะพร้าว มีส่วนประกอบหลักคือ ไขมัน ซึ่งอยู่ในรูปของอิมัลชัน (emulsion) และของแข็งต่างๆ เช่น โปรตีน วิตามิน แร่ธาตุ เป็นของเหลวสีขาวขุ่นที่ได้จากการบีบคั้นเนื้อมะพร้าวขูด โดยการเติมหรือไม่เติมน้ำ ส่วนประกอบที่สำคัญของน้ำกะทิ คือ น้ำมัน น้ำ โปรตีน และน้ำตาล อยู่รวมกันเป็นอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ โดยมีโปรตีนทำหน้าที่เป็นสารอิมัลซิไฟเออร์ ความเข้มข้นของน้ำกะทิขึ้นอยู่กับปริมาณน้ำกะทิเมื่อตั้งทิ้งไว้จะแยกเป็นชั้นหัวกะทิและชั้นหางกะทิ โดยความหนาของชั้นหัวกะทิแสดงถึงความเข้มข้น ทั้งนี้เนื่องจากน้ำกะทิมีปริมาณน้ำมันมากเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณโปรตีน โปรตีนไม่เพียงพอที่จะดึงน้ำมันให้กระจายแขวนลอยอยู่ทั่วไป

- น้ำกะทิอุตสาหกรรม แบ่งได้เป็น 5 แบบคือ น้ำกะทิสด น้ำกะทิพาสเจอไรซ์ น้ำกะทิบรรจุกระป๋อง น้ำกะทิบรรจุกระป๋องยูเอชที และกะทิผง

1. น้ำกะทิสด ได้จากการคั้นน้ำกะทิด้วยเครื่อง แล้วเก็บรักษาด้วยความเย็นทันที ความเย็นสามารถรักษาน้ำกะทิจากการเน่าเสีย สามารถเก็บรักษาได้นาน 1-2 วัน แต่รสชาติจะเปลี่ยนไปเล็กน้อยจึงนิยมจำหน่ายวันต่อวันอุตสาหกรรมที่ใช้น้ำกะทิสดคือ อุตสาหกรรมทำไอศกรีม อุณหภูมิห้องเย็นในการเก็บรักษาต้องไม่ต่ำเกินไปจนเกิดผลึกน้ำแข็ง เพราะจะทำให้เนื้อสัมผัสของน้ำกะทิเปลี่ยนไป คือ มีตะกอนโปรตีนแยกตัวและให้ลักษณะเนื้อเป็นทราย การขนส่งจะต้องรักษาอุณหภูมิด้วยเช่นกันเนื่องจากมีความเสี่ยงจากการเน่าเสียมาก และเนื่องจากเป็นสินค้าสำหรับอุตสาหกรรมจึงบรรจุในถุงพลาสติกขนาดใหญ่ เช่น 10 กิโลกรัม บรรจุซ้อนในลังพลาสติกเพื่อความแข็งแรงระหว่างการเก็บรักษาและขนส่ง

2. น้ำกะทิพาสเจอไรซ์ เป็นน้ำกะทิสดที่นำมาให้ความร้อนเพื่อฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค แต่เชื้อที่เหลือยังสามารถเจริญได้จึงต้องเก็บในห้องเย็นเหมือนน้ำกะทิสด แต่ความเสี่ยงในการเน่าเสียน้อยกว่าจึงสามารถเก็บรักษาได้นาน 4-6 วัน การขนส่งและการวางจำหน่ายควรใช้อุณหภูมิต่ำ น้ำกะทิพาสเจอไรซ์นี้มีบรรจุถุงพลาสติกขนาดต่างๆ คือ 250 กรัม 500 กรัม และ 1,000 กรัม เพื่อใช้ในครอบครัว และบรรจุขนาด 10 กรัม เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมแกงบรรจุกระป๋อง

3. น้ำกะทิบรรจุกระป๋อง เป็นน้ำกะทิที่ผ่านกระบวนการบรรจุกระป๋อง ปิดฝา แล้วฆ่าเชื้ออย่างสมบูรณ์ในระดับอุตสาหกรรม (commercial sterilization) เพื่อทำลายเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิการเก็บรักษาตามปกติ ทำให้สามารถเก็บรักษาได้นานโดยไม่ต้องเก็บในที่เย็น ส่งไปจำหน่ายในต่างประเทศได้

4. น้ำกะทิกล่องยูเอชที เป็นน้ำกะทิผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อด้วยระบบความร้อนสูงระยะเวลาสั้น (140-145 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10-15 วินาที) แล้วบรรจุในกล่องที่ผ่านการฆ่าเชื้อมาแล้ว ระยะเวลาให้ความร้อนสั้นทำให้คงสภาพคล้ายน้ำกะทิสดมาก แต่อายุการเก็บรักษาจะสั้นกว่าแบบบรรจุกระป๋อง และกล่องกระดาษไม่แข็งแรงเท่ากระป๋อง จึงอาจมีการเน่าเสียเกิดขึ้นจากกล่องกระดาษชำรุดได้

5. กะทิผง เป็นน้ำกะทิที่นำมาทำให้แห้งเป็นผงละเอียด โดยใช้เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (spry dryer) น้ำกะทิโดยธรรมชาติมีน้ำมันเป็นส่วนประกอบอยู่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำนมโค จึงไม่สามารถทำให้แห้งได้เหมือนนมผง ดังนั้นต้องเติมสารเพิ่มปริมาณของแข็งคือ สารมอลโทเดกซ์ทริน (maltodextrin) เครื่องทำแห้งมีอุปกรณ์ฉีดน้ำกะทิให้เป็นละอองฝอยเข้ามาในห้องอบ และสัมผัสกับลมร้อนที่มีอุณหภูมิ 160-180 องศาเซลเซียส ทำให้น้ำระเหยออกจากละอองของเหลวอย่างรวดเร็วได้เป็นอนุภาคผงที่มีขนาดเล็ก กะทิผงมีความชื้นต่ำจึงเก็บรักษาได้นานไม่เน่าเสียแต่ต้องเก็บในภาชนะป้องกันความชื้น เช่น ในถุงอลูมิเนียมฟอยล์หรือกระป๋องที่มีฝาปิดสนิท เนื่องจากกะทิผงดูดความชื้นได้ดีทำให้เกาะตัวเป็นก้อน

2.3 โปรไบโอติก (สุรัตน์ วังพิกุล และคณะ, 2558)

โปรไบโอติกถูกนำมาใช้เป็นครั้งแรกในรายงานการวิจัยทางวิทยาศาสตร์ของ Lilly และ Stillwell ในปี พ.ศ. 2508 เพื่อกล่าวถึงสารที่จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งขับออกมา และช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นการทำงานที่ตรงข้ามกับการทำงานของยาปฏิชีวนะ (antibiotic) ที่จะทำลายจุลินทรีย์ เกือบทุกชนิด ในปี พ.ศ. 2517 Parker ได้ให้คำจำกัดความว่า โปรไบโอติก คือสิ่งมีชีวิตและสารเคมีที่มีผล ต่อสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ คำจำกัดความล่าสุด ซึ่งเสนอโดย Fuller ในปี พ.ศ. 2532 อธิบายคำว่าโปรไบโอติก คืออาหารเสริมซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิต สามารถก่อประโยชน์ต่อร่างกายของสิ่งมีชีวิตที่มันอาศัยอยู่ โดยการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบลำไส้ (Glenn and Marcel, 1995 ; ธารารัตน์ ศุภศิริ, 2542 ; วิเชียร ลีลาวัชรมาศ, 2541 ; Trachoo et al., 2006) ระหว่าง 2-3 ทศวรรษที่ผ่านมา ผู้บริโภคมีแนวโน้มหันมาใส่ใจสุขภาพมากยิ่งขึ้น โดยเน้นไปที่จุลินทรีย์ที่มีชีวิตอยู่ภายในลำไส้ ซึ่งเรียกว่า โปรไบโอติก (Wilhelm and Schillinger, 2001) ซึ่งโปรไบโอติกแต่ละชนิดมีความคล้ายกันมาก ไม่ว่าจะเป็นสภาวะการดำรงชีวิต และรูปร่าง แต่ได้มีการศึกษาการแยกเชื้อโปรไบโอติกที่นิยมใช้ในผลิตภัณฑ์นั่นคือ (Vinderola and Reinheimer, 2000) ศึกษาวิธีการแยกนับเชื้อโปรไบโอติกสองชนิด คือ *Bifidobacterium bifidum* และ *Lactobacillus acidophilus* ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตโดยดัดแปลงจากอาหาร MRS พบว่าใน T-MRS และ Bile-MRS agar มีแค่ *Lactobacillus acidophilus* เท่านั้นที่สามารถเจริญได้ ซึ่งเลี้ยงในภาวะ aerobic และในอาหาร LP-MRS agar มีแต่ *Bifidobacterium bifidum* ที่สามารถเจริญได้ โดยเลี้ยงในภาวะ anaerobic (GasPak)

ประโยชน์ของโปรไบโอติก (วิรัชนีย์ แก่นแสนดี และคณะ, 2558)

1.โปรไบโอติกสามารถผลิตสารที่เป็นพิษต่อจุลินทรีย์ก่อโรคหรือเป็นสารต้านจุลินทรีย์ ได้แก่ กรดอินทรีย์ กรดไขมันอิสระ (free fatty acids) แอมโมเนีย (ammonia) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และแบคทีริโอซิน ซึ่งสามารถยับยั้งได้ทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบภายในลำไส้

2.สามารถเพิ่มการตอบสนองได้ทั้งแบบเฉพาะเจาะจงและไม่เฉพาะเจาะจงทั้งที่ได้จากกระบวนการเมทาบอลิซึมองค์ประกอบของผนังเซลล์ (peptidoglycanes หรือ lipopolysaccharides) และดีเอ็นเอ โดยมีคุณสมบัติในการเพิ่มภูมิคุ้มกัน โดยการยับยั้งการเพิ่มจำนวนแบคทีเรีย

3.ในด้านการปรับปรุงสุขภาพของระบบทางเดินอาหาร กระตุ้นและเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย สังเคราะห์และเสริมสร้างการดูดซึมของสารอาหาร ช่วยลดอาการแพ้น้ำตาลแลคโตสจากนมและลดระดับคอเลสเตอรอลในเส้นเลือด

บัญชีรายชื่อเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติกสำหรับใช้ในอาหาร
แนบท้ายประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง การใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหาร

๑. บาซิลลัส โคแอกกูแลน	*Bacillus coagulans*
๒. บิฟิโดแบคทีเรียม อะโดเลสเซนทิส	*Bifidibacterium adolescentis*
๓. บิฟิโดแบคทีเรียม อะนิมอลิส	*Bifidobacterium animalis*
๔. บิฟิโดแบคทีเรียม บิฟิดัม	*Bifidobacterium bifidum*
๕. บิฟิโดแบคทีเรียม เบรเว	*Bifidobacterium breve*
๖. บิฟิโดแบคทีเรียม อินฟานทิส	*Bifidobacterium infantis*
๗. บิฟิโดแบคทีเรียม แล็กทิส	*Bifidobacterium lactis*
๘. บิฟิโดแบคทีเรียม ลองกัม	*Bifidobacterium longum*
๙. บิฟิโดแบคทีเรียม ซูโดลองกัม	*Bifidobacterium pseudolongum*
๑๐. เอ็นเทอโรค็อกคัส ดูแรน	*Enterococcus durans*
๑๑. เอ็นเทอโรค็อกคัส เฟเซียม	*Enterococcus faecium*
๑๒. แล็กโทบาซิลลัส แอซิโดฟิลัส	*Lactobacillus acidophilus*
๑๓. แล็กโทบาซิลลัส คริสปาทัส	*Lactobacillus crispatus*
๑๔. แล็กโทบาซิลลัส แก๊สเซอรี	*Lactobacillus gasseri*
๑๕. แล็กโทบาซิลลัส จอห์นโซนอิ	*Lactobacillus johnsonii*
๑๖. แล็กโทบาซิลลัส พาราคาเซอิ	*Lactobacillus paracasei*
๑๗. แล็กโทบาซิลลัส รียูเทอรี	*Lactobacillus reuteri*
๑๘. แล็กโทบาซิลลัส รามโนซัส	*Lactobacillus rhamnosus*
๑๙. แล็กโทบาซิลลัส ซาลิวาเรียส	*Lactobacillus salivarius*
๒๐. แล็กโทบาซิลลัส ซีอี	*Lactobacillus zeae*
๒๑. โพรพิโอนิแบคทีเรียม อะราไบโนซัม	*Propionibacterium arabinosum*
๒๒. สแตปฟิโลคอคคัส ไซน์ยูรี	*Staphylococcus sciuri*
๒๓. แซ็กคาโรไมซีส เซรีวิซิอี สับสปีชีย์ บัวลาดิอิ	*Saccharomyces cerevisiae subsp. Boulardii*

ภาพที่ 2 บัญชีรายชื่อเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติกสำหรับใช้ในอาหาร
(ที่มา : ประกาศกระทรวงสาธารณสุข, 2554)

2.4 หางนมผง

หางนมผง100%ที่ผลิตจากนมวัวสดซึ่งผ่านการนำไขมันออกไปแล้วบางส่วนแล้วจึงนำไปผ่านกระบวนการทำแห้งแบบพ่นฝอย (Spray Dry) ซึ่งเป็นการอบแห้งด้วยการนำวัตถุดิบไปผ่านลมร้อนที่ถูกพ่นหรือสเปรย์ผ่านวัตถุดิบภายในห้องที่ควบคุมอุณหภูมิจึงทำให้วัตถุดิบเกิดการระเหยน้ำได้อย่างรวดเร็วมากกว่าการอบแห้งแบบปกติซึ่งเป็นการใช้ตู้อบให้ความร้อนเพื่อทำให้น้ำที่อยู่ในตัววัตถุดิบเกิดการระเหยออกไปนมที่ผ่านกระบวนการแยกไขมันออกจนเหลือเพียงต่ำกว่าร้อยละ 0.1 แล้วนำไปทำให้แห้งเป็นผง นมชนิดนี้ให้โปรตีนแคลเซียมเป็นหลักแต่ไม่ให้ไขมัน นมที่ได้เป็นแบบไขมันต่ำเป็นวัตถุดิบที่จัดได้ว่ามีคุณภาพโปรตีนดีที่สุดมีการย่อยได้ 100 เปอร์เซ็นต์ (นิรนาม, 2552) (ชมพูนุช เผื่อนพิภพ และภาวิดา โต๊ะนาค, 2554)และการเติมหางนมผงในโยเกิร์ตนั้นมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มความเข้มข้นโดยมีการศึกษาถึงการนำหางนมผงและการใช้เวย์โปรตีนมาเป็นส่วนประกอบในการผลิตโยเกิร์ตนั้น พบว่า ทำให้เนื้อสัมผัสของโยเกิร์ตนั้นดีขึ้นและลดการแยกตัวของน้ำออกจากส่วนที่เป็นเคิร์ด (Syneresis) ซึ่งเป็นลักษณะที่ไม่ดีสำหรับโยเกิร์ต (นัฐนันท์ ทวีรัตน์ธนนท์, 2559)

Typical Composition for Skim Milk Powder

Lactose	49.5 - 52.0%
Protein	34.0-37.0%
Ash	8.2-8.6%
Moisture	3.0-4.0%
Fat	0.6-1.25%

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบของหางนมผง

(ที่มา : http://www.milkingredients.ca/index-eng.php?id=192)

2.5 แก่นตะวัน (สุภณิดา พัฒธร และคณะ, 2559)

แก่นตะวัน (Jerusalem artichoke) เป็นพืชหัวที่พบอินนูลินและฟรุคโตโอลิโกแซคคาร์ไรด์จำนวนมาก (Loo et al., 1995) สายพันธุ์ที่ปลูกในประเทศไทยมีปริมาณอินนูลินสูงสุดถึงร้อยละ 84.9 ต่อน้ำหนักแห้ง (ศิริพรและคณะ, 2555) อินนูลินและโอลิโกแซคคาร์ไรด์มีประสิทธิภาพในการเป็นสารพรีไบโอติกที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์กลุ่มบิฟิโดแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ (Colonic *Bifidobacterium*) นอกจากนี้อินนูลินยังให้พลังงานต่ำเพิ่มภูมิคุ้มกันลดความเสี่ยงในการเกิดโรคต่างๆเช่นโรคกระดูกพรุนหลอดเลือดหัวใจตีบตันภาวะไขมันในเลือดผิดปกติโรคอ้วนและโรคเบาหวานชนิดที่ 2 โรคมะเร็งในลำไส้ใหญ่และลดอาการท้องเสียท้องผูก (ศิริพรและคณะ, 2553)

Principle	Nutrient Value	Percentage of RDA
Energy	73 Kcal	3.7%
Carbohydrates	17.44 g	13%
Protein	2 g	4%
Total Fat	0.01 g	<1%
Cholesterol	0 mg	0%
Dietary Fiber	1.6 g	4%

ตารางที่ 2 ส่วนประกอบในหัวแก่นตะวันสด 100 กรัม

(ที่มา : USDA National Nutrient database)

USDA = U.S. Department of Agriculture

RDA (Recommended Dietary Allowance) = ปริมาณสารอาหารที่ควรได้รับในแต่ละวัน

ในปัจจุบันได้มีการนำแก่นตะวันไปใช้ประโยชน์ที่หลากหลายอย่างมากมาย เช่น (นพพร สกุลยืนยงสุข, 2558) ศึกษาปริมาณที่เหมาะสมของแป้งแก่นตะวันในการผลิตโยเกิร์ตไขมันต่ำชนิดคนและเพื่อศึกษาอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตไขมันต่ำเสริมแป้งแก่นตะวัน โดยแปรระดับแป้งแก่นตะวันที่ร้อยละ 0 , 1.8, 3.6 โดยน้ำหนัก พบว่าสูตรที่ใส่แป้งแก่นตะวัน ร้อยละ 3.6 โดยน้ำหนัก เป็นสูตรที่มีความหนืดใกล้เคียงกับโยเกิร์ตทางการค้า (สุภณิดา พัฒธร และพิมพรรณ เทียนพูล, 2559) ศึกษาผลของการเสริมแก่นตะวันผงในซอร์เบทโปรไบโอติกที่มีต่อปริมาณ LAB โดยพบว่าปริมาณแก่นตะวันมากสุดที่ใช้ทดลอง ภายหลังการบ่มมีปริมาณ LAB สูงที่สุด

แหล่งอาหาร	ส่วนที่รับประทานได้	ปริมาณของแข็ง (ร้อยละ)	ปริมาณอินนูลิน (ร้อยละของน้ำหนักสด)
หัวหอม	หัวกาบใบ	6-12	2-6
แก่นตะวัน	หัว	19-25	14-19
ชิคอรี	ราก	20-25	15-20
ต้นกระเทียม	หัวกาบใบ	15-20*	3-10
กระเทียม	หัวกาบใบ	40-45*	9-16
อาร์ติโชค	ใบ	14-16	3-10
กล้วย	ผล	24-26	0.3-0.7
ข้าวไรย์	ธัญชาติ	88-90	0.5-1*
ข้าวบาร์เล่ย์	ธัญชาติ	NA	0.5-1.5*

ตารางที่ 3 ปริมาณอินนูลินในแหล่งอาหารแต่ละชนิด

(ที่มา : Van Lo0 et al., 1995)

หมายเหตุ NA หมายถึง ไม่มีข้อมูล

* หมายถึง ค่าประมาณ

อินนูลิน (Inulin) เป็นสารคาร์โบไฮเดรตสะสมในพืชประเภทฟรุกแทน (พอลีเมอร์ของฟรุกโตส) จัดเป็นพรีไบโอติกให้พลังงานต่ำเพิ่มภูมิคุ้มกันลดความเสี่ยงในการเกิดโรคต่างๆเช่นโรคกระดูกพรุนหลอดเลือดหัวใจตีบตันภาวะไขมันในเลือดผิดปกติโรคอ้วนและโรคเบาหวานชนิดที่ 2 โรคมะเร็งในลำไส้ใหญ่และลดอาการท้องเสียท้องผูก (ศิริพรและคณะ, 2553)

บทที่ 3

ขั้นตอนและวิธีดำเนินการ

3.1 ตัวแปรที่ใช้ในการวิจัย

3.1.1 ตัวแปรต้น

3.1.1.1 ปริมาณของน้ำตาลซูโครสที่ถูกแทนที่ด้วยอินนูลินจากสูตรมาตรฐาน

3.1.1.2 ปริมาณของอินนูลินที่แทนที่น้ำตาลซูโครสจากสูตรมาตรฐาน

3.1.1.3 ปริมาณของผงแก่นตะวัน (เมื่อเทียบเปอร์เซ็นต์ของปริมาณอินนูลินในข้อ 3.1.1.1)

3.1.2 ตัวแปรตาม

3.1.2.1 ความเป็นกรด – ด่าง

3.1.2.2 ปริมาณกรดทั้งหมด

3.1.2.3 ปริมาณโปรตีน

3.1.2.4 ปริมาณไขมัน

3.1.2.5 ปริมาณของโปรไบติก

3.1.2.6 ความหนืดของโยเกิร์ต

3.1.2.7 คุณภาพทางประสาทสัมผัส ได้แก่ รส กลิ่น เนื้อสัมผัส

3.1.3 ตัวแปรควบคุม

3.1.3.1 ความเข้มข้นของน้ำกะทิ และการเก็บกะทิ

3.1.3.2 ยี่ห้อหางนมผง และความเข้มข้นของสารละลายหางนมผง

3.1.3.3 Commercial Yoghurt Culture

3.1.3.4 เชื้อโพรไบโอติก อุณหภูมิและเวลาในการบ่มหัวเชื้อโพรไบโอติก

3.1.3.5 ความดันของ Homoginizer

3.1.3.6 อุณหภูมิและเวลาในการพาสเจอร์ไรซ์เซชัน

3.1.3.7 อุณหภูมิและเวลาในการบ่มโยเกิร์ต

3.1.3.8 อุณหภูมิในการเก็บโยเกิร์ต

3.2 ขั้นตอนในการวิจัย

3.2.1 ค้นคว้าและรวบรวมข้อมูล ทฤษฎีต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับงานวิจัย

3.2.2 วางแผนในการวิจัย

ขั้นตอนการดำเนินงาน	พ.ศ. 2562										พ.ศ.2563			
	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.
ค้นคว้าและรวบรวมข้อมูลจากแหล่งต่างๆ	●													
วิเคราะห์ข้อมูลและวางแผนการทดลอง	●	●												
ดำเนินการทดลองและเก็บรวบรวมข้อมูลจากการทดลอง ดังนี้ 1. โยเกิร์ตกะทิสูตรมาตรฐาน 2. ผลของการแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลินต่อ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* 3. ผลของปริมาณผงแก่นตะวันของปริมาณอินนูลินจากสูตรที่ดีที่สุดในข้อ 3.2.4.2 ต่อ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* 4. ผลของปริมาณผงแก่นตะวันของปริมาณอินนูลินจากสูตรที่ดีที่สุดในข้อ 3.2.4.2 ต่อ *L. acidophilus*			●	●	● ● ●	 ● ●	●	●	●	●				
วิเคราะห์และสรุปผลการทดลอง จัดทำรายงานและนำเสนอผลวิจัย											●	●	●	●

3.2.3 เตรียมวัตถุดิบ อุปกรณ์ และสารเคมีที่ใช้ในการวิจัย

3.2.3.1 การเตรียมโยเกิร์ตกะทิสูตรมาตรฐาน

ส่วนประกอบ	ปริมาณ(%)
น้ำตาล	2.78
หางนมผง	5.53
น้ำกะทิ	8.89
น้ำ	80.8
เชื้อ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus*	2

3.2.3.2 การเตรียม starter ในการหมักโยเกิร์ต

3.2.3.3 การเตรียม *L. acidophilus* เพื่อเตรียมลงในโยเกิร์ตที่หมักแล้ว

3.2.3.4 ผลของการแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลินต่อการเจริญของโยเกิร์ต starter และแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลิน 0%, 33.3%, 66.7% และ 100% ทำการวิเคราะห์สมบัติทางเคมี

ในข้อ 3.2.5.1 ถึง 3.2.5.2 และสมบัติทางชีวภาพโดยการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา ด้วยอาหาร MRS หลังการหมักทุกๆ 2 ชั่วโมง เป็นเวลา 8 ชั่วโมง จากนั้นทำการเลือกการแทนที่น้ำตาลซูโครสด้วยอินนูลินที่ทำให้การเจริญของ *L. bulgaricus และ S. thermophilus* เจริญได้ดีที่สุด เพื่อนำไปหาปริมาณของแก่นตะวันที่เหมาะสมในข้อ 3.2.4.1

3.2.4 ผลของอินนูลินและผงแก่นตะวันต่อการเจริญของ starter และการอยู่รอดของ probiotic

3.2.4.1 ผลของการแทนที่อินนูลินด้วยผงแก่นตะวันต่อการเจริญของโยเกิร์ต starter และแทนที่อินนูลินด้วยผงแก่นตะวัน 0%, 33.3%, 66.7% และ 100% ทำการวิเคราะห์สมบัติทางเคมี

และสมบัติทางชีวภาพดังข้อ 3.2.3.4 จากนั้นคัดเลือกสภาวะที่มีการเจริญของ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* เจริญได้ดีที่สุด

3.2.4.2 ผลของผงแก่นตะวันต่อการอยู่รอดของ *L. acidophilus* จากสภาวะที่ถูกเลือกจากข้อ 3.2.4.1 โดยเติมเชื้อ *L. acidophilus* 1% โดยมวลต่อปริมาตรลงในโยเกิร์ตกะทิ 3 สภาวะ คือโยเกิร์ตกะทิตามสูตรมาตรฐาน โยเกิร์ตกะทิที่ใช้อินนูลินแทนที่น้ำตาลซูโครส และโยเกิร์ตกะทิที่เติมผงแก่นตะวัน ทำวิเคราะห์ตามข้อ 3.2.5 และ 3.2.6 และติดตามจำนวนของ *L. acidophilus* ในระหว่างการเก็บรักษาด้วยอาหาร T-MRS หลังจากเก็บโยเกิร์ตเป็นเวลา 0, 3, 6, 9 และ 12 วัน

3.2.5 วิเคราะห์สมบัติทางเคมี

หลังจากเก็บโยเกิร์ตเป็นเวลา 0, 3, 6, 9 และ 12 วัน

3.2.5.1 หาความเป็นกรด-ด่าง (pH) (AOAC, 2000)

3.2.5.2 หาปริมาณกรดทั้งหมด (Total titratable acidity) (AOAC, 2000)

3.2.5.3 หาปริมาณโปรตีน (AOAC, 2000)

3.2.5.4 หาปริมาณไขมัน (AOAC, 2000)

3.2.5.5 หาปริมาณของแข็งทั้งหมด (AOAC, 2000)

3.2.6 วิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ

วัดความหนืดของโยเกิร์ตกะทิ (Viscometer) ยี่ห้อ FUNGILAB Model: Alpha, Spain หลังจากเก็บโยเกิร์ตเป็นเวลา 0 ,3 ,6 ,9 และ 12 วัน

3.2.7 ประเมินผลทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตกะทิและเปรียบเทียบทั้ง 3 สภาวะ คือ โยเกิร์ตกะทิตามสูตรมาตรฐาน โยเกิร์ตกะทิที่ใช้อินนูลินแทนที่น้ำตาลซูโครส และโยเกิร์ตกะทิที่เติมผงแก่นตะวัน โดยความชอบด้าน สี กลิ่น และการยอมรับโดยทำการทดสอบแบบ 5 point hedonic scale รวมของผู้บริโภค โดยใช้ผู้ทดสอบ 50 คน

3.2.8 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ของสมบัติทางเคมี ทางกายภาพ ทางจุลชีววิทยา และประสาทสัมผัสโดยออกแบบการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) โดยทำการทดลองซ้ำ 3 ซ้ำและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วย Analysis of variance (ANOVA) และหาความแตกต่างโดยใช้ Duncan Multiple Range Test (DMRT)

3.2.9 สรุปผลการทดลอง จัดทำรายงาน และนำเสนองานวิจัย

3.3 งบประมาณ

3.3.1 หมวดวัตถุดิบ

วัตถุดิบ	ปริมาณที่ใช้	ราคา(บาท)
เนื้อมะพร้าว	10 kg	200
ผงแก่นตะวัน	500 g	750
น้ำตาล	1 kg	22
หางนมผง	1000 g	294
	รวม	1266

3.3.2 หมวดจุลินทรีย์

วัตถุดิบ	ปริมาณที่ใช้	ราคา(บาท)
หัวเชื้อ *Lactobacillus acidophilus*	1 หลอด	900
Lactobacillus bulgaricus และ *Streptococcus thermophilus* (commercial starter)โยเกิร์ตดัชชี่	675 mL	70
	รวม	970

3.3.3 หมวดอาหารเลี้ยงเชื้อ

วัตถุดิบ	ปริมาณที่ใช้	ราคา(บาท)
Proteose peptone	500 g	1316
Yeast extract	350 g	856
Dextrose	500 g	280
Trehalose	500 g	1600
Beef extract	500 g	1582
Ammonium citrate*	100 g	120
Sodium acetate*	100 g	70
Magnesium sulphate*	1000 g	21
Manganese sulphate*	500 g	800
Dipotassium phosphate*	500 g	546
Polysorbate 80*	100 g	37
Agar	500 g	846
	รวม	8074

3.3.4 หมวดค่าใช้จ่ายทั่วไป

วัตถุดิบ	ปริมาณที่ใช้	ราคา(บาท)
ค่าการเดินทางในการจัดหาวัตถุดิบและข้อมูล	-	200
ค่าสำเนาเอกสารจากรายงานและสิ่งพิมพ์อ้างอิง	-	150
ค่าวัสดุทำรายงานและเสนอรายงาน	-	100
	รวม	450

รวมยอดสุทธิ 10,760 บาท

เอกสารอ้างอิง

กระทรวงสาธารณสุข, 2554, ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง การใช้จุลินทรีย์โพรไบโอติกในอาหาร, ราชกิจจานุเบกษา เล่ม 128 ตอนพิเศษ 86ง, หน้า 21-25.

ชมพูนุช เผื่อนพิภพ และ ภาวิดา โต๊ะนาค. (2554). การใช้แป้งกล้วยเป็นสารให้ความคงตัวในไอศกรีมกะทิ. โครงการวิจัยการพัฒนาและเทคโนโลยีที่เหมาะสมในการผลิตอาหารจากกล้วย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร.

นพพร สกุลยืนยงสุข. (2558). การพัฒนาโยเกิร์ตไขมันต่ำเสริมแป้งแก่นตะวัน. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร

นัฐนันท์ ทวีรัตน์ธนนท์. (2559). โยเกิร์ต. วารสารวิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ. 9(1): 44-50.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์. (ม.ป.ป.) . Coconut milk / น้ำกะทิ. ค้นเมื่อ 12 เมษายน 2562, จาก http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/3066/coconut-milk

วิรัชนีย์ แก่นแสนดี, สมพร มูลมั่งมี, อรุณรัศมี แสงศิลา และ ปริยาภรณ์ อิศรานุวัฒน์. (2557). ประโยชน์ของจุลินทรีย์โพรไบโอติกต่อสุขภาพ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยมหาสารคาม. 34(2): 196-201.

สุนัดดา โยมญาติ. (2557). โยเกิร์ต. ค้นเมื่อ 8 เมษายน 2562, จาก http://biology.ipst.ac.th/?p=987.

สุภณิดา พัฒธร และ พิมพรรณ เทียนพูล. (2559). ผลของแก่นตะวันต่อแบคทีเรียแลคติกในซอร์เบทโปรไบโอติก. วารสารวิจัยและพัฒนาวไลยอลงกรณ์ในพระบรมราชูปถัมภ์สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 11(2): 59-71.

สุรัตน์ วังพิกุล, สมพร มูลมั่งมี, วิรัชนีย์ แก่นแสนดี, ปริยาภรณ์ อิศรานุวัฒน์. (2558). การพัฒนาและเพิ่มศักยภาพผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตน้ำนมข้าวโพดด้วยโปรไบโอติกแลคติกแอสิดแบคทีเรีย. สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ.

อุษามาส จริยวรานุกูล. (2552). ผลของสารให้ความหวานต่อคุณภาพของโยเกิร์ต. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยหอการค้าไทย. 29(4): 102-111.

Canadian dairy commission. (2017). Skim Milk Powder. Retrieved April 8, 2019 from http://www.milkingredients.ca/index-eng.php?id=192.

Routray, W., and Mishra, H.N. (2011). Scientific and Technical Aspects of Yogurt Aroma and Taste: A Review. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety 10(4): 208-220.

Vinderola, C.G., Bailo, N., and Reinheimer, J.A. (2000). Survival of probiotic microflora in Argentinian yoghurts during refrigerated storage. Food Research International 33(2): 97-102.

Vinderola, C.G., and Reinheimer, J.A., (1999). Culture media for the enumeration of *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus acidophilus* in the presence of yoghurt bacteria. International Dairy Journal 9: 497-505.

USDA National Nutrient Database for Standard Reference. (2018). Full Report (All Nutrients): 11226, Jerusalem-artichokes, raw. Retrieved April 9, 2019 from https://sites.google.com/site/reuxngdxkkaentawan/swn-prakxb-ni-kaen-ta

ภาคผนวก ฉ

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล นางสาวพัชมณฑ์ ชัชวาลวุฒิกุล

ตำแหน่ง หัวหน้าโครงการ

วุฒิการศึกษา วิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.)

ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร

คณะ วิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีที่สำเร็จการศึกษา 2562

ผลงานและรางวัลทางวิชาการ

โทรศัพท์ 0955511324

Email phatchamon.c@hotmail.com

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล นางสาวชนิกานต์ ชูสิทธิ์

ตำแหน่ง ผู้วิจัยร่วม

วุฒิการศึกษา วิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.)

ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร

คณะ วิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีที่สำเร็จการศึกษา 2562

โทรศัพท์ 0998864388

Email chanikarnchoosit@hotmail.com

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล นางสาวธนิดา ภู่ประเสริฐ

ตำแหน่ง ผู้วิจัยร่วม

วุฒิการศึกษา วิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ.)

ภาควิชา เทคโนโลยีทางอาหาร

คณะ วิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีที่สำเร็จการศึกษา 2562

โทรศัพท์ 0876334585

Email thanida4585@gmail.com