บทที่ 2
เอกสารที่เกี่ยวข้อง

2.1 ลักษณะสัณฐาน และคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *Bifidobacterium* spp.

Bifidobacterium spp. ถูกพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1899 โดย Frenchman Tissier โดยพบในอุจจาระของเด็กทารก *Bifidobacterium* spp. เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (gram-positive) ที่อาศัยในลำไส้ใหญ่ของมนุษย์ (Simon and Gorbach, 1984) ย้อมสี acid fast ไม่ติด เคลื่อนที่ด้วยตัวเองไม่ได้ (non-motile) และไม่สร้างสปอร์ (non-spore forming) ลักษณะเซลล์เป็นรูปแท่งที่มีหลายรูปแบบ เช่น แท่งสั้น แท่งปกติ เซลล์ผอม หรือมีปลายเรียวแหลม (pointed end) จัดเป็นแบคทีเรียประเภทที่ไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic bacteria) ไม่เจริญในสภาพที่มีออกซิเจน เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37 – 41 องศาเซลเซียส อุณหภูมิต่ำสุดที่ทนได้คือ 25 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิสูงสุดที่ทนได้คือ 45 องศาเซลเซียส pH ที่เหมาะสมในการเจริญคือ 6.5 – 7.0 ไม่เจริญที่ pH 4.5 – 5.0 หรือ 8.0 – 8.5 (Tamine, 2002) สามารถหมักน้ำตาลกลูโคสให้เป็นกรดแอซิติค และกรดแลคติค ในอัตราส่วน 3 : 2 และไม่สังเคราะห์คาร์บอนไดออกไซด์ (Arunachalam, 1999)

ปัจจุบันพบ *Bifidobacterium* spp. ถึง 30 สปีชีส์ จากแหล่งต่างๆ เช่น อุจจาระคน อุจจาระสัตว์ ช่องคลอดของคน และสิ่งปฏิกูล เป็นต้น (Tamine, 2002) โดย *Bifidobacterium* spp. ที่แยกได้จากมนุษย์มี 9 สปีชีส์ ได้แก่ *B. breve, B. bifidum, B. infantis, B. longum, B. adolescentis, B. angulatum, B. catenulatum, B. pseudocatenutalum* และ *B. dentium* (Ballongue, 1998) ซึ่งในจำนวนนี้ มีเพียง 5 สปีชีส์ ที่นำมาใช้ในอุตสาหกรรมนมหมัก ได้แก่ *B. breve, B. bifidum, B. infantis, B.longum* และ *B. adolescentis* (Tamine, 2002) การใช้ *Bifidobacterium* spp. ในผลิตภัณฑ์นมจะมีข้อได้เปรียบมากกว่าการใช้จุลินทรีย์อื่น เนื่องจาก *Bifidobacterium* spp. สามารถสร้าง L - (+) - lactic acid ได้มากกว่า L - (-) - lactic acid ซึ่งร่างกายสามารถใช้ L - (+) - lactic acid ในระบบ metabolism ได้มากกว่า ปกติกรดแลคติคในรูปของ L - (+) - lactic acid จะเป็นกรดที่สร้างจากเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น เช่น *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus* เป็นต้น หากร่างกายมีการสะสม L - (-) - lactic acid มากเกินไป อาจทำให้ร่างกายขาดสมดุลย์ได้ (Arunachalam, 1999)

Bifidobacterium spp. สามารถใช้น้ำตาลแลคโตสในกระบวนการหมัก และเจริญได้ดีในนม โดย *B. breve, B. longum, B. adolescentis* และ *B. infantis* สามารถใช้คาร์โบไฮเดรตได้หลายชนิด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ส่วน *B. bifidum* สามารถใช้ฟรุคโตส กาแลคโตส และแลคโตสได้ (Gomes and Malcata, 1999) ความสามารถในการหมักคาร์โบไฮเดรต และแอลกอฮอล์ของ *Bifidobacterium* spp. แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การหมักคาร์โบไฮเดรต และแอลกอฮอล์ของเชื้อ *Bifidobacterium* spp.

species	D-Ribose	L-Arabinose	Lactose	Cellobiose	Melezitose	Raffinose
B. bifidum	-	-	+	-	-	-
B. longum	+	+	+	-	+	+
B. infantis	+	-	+	-	-	+
B. breve	+	-	+	d	D	+
B. adolescentis	+	+	+	+	+	+

ตารางที่ 1 (ต่อ) การหมักคาร์โบไฮเดรต และแอลกอฮอล์ของเชื้อ *Bifidobacterium* spp.

species	Sobital	Gluconate	Xylose	Mannose	Fructose	Galactose
B. bifidum	-	-	-	-	+	+
B. longum	-	-	d	d	+	+
B. infantis	-	-	d	d	+	+
B. breve	d	-	-	+	+	+
B. adolescentis	d	+	+	d	+	+

ตารางที่ 1 (ต่อ) การหมักคาร์โบไฮเดรต และแอลกอฮอล์ของเชื้อ *Bifidobacterium* spp.

species	Sucrose	Maltose	Melibiose	Inulin
B. bifidum	d	-	d	-
B. longum	+	+	+	-
B. infantis	+	+	+	d
B. breve	+	+	+	d
B. adolescentis	+	+	+	d

สัญลักษณ์ + หมายถึง สายพันธุ์มากกว่าร้อยละ 90 เกิดปฏิกิริยาการหมัก

\- หมายถึง สายพันธุ์มากกว่าร้อยละ 90 ไม่เกิดปฏิกิริยาการหมัก

d หมายถึง สายพันธุ์มากกว่าร้อยละ 15-89 เกิดปฏิกิริยาการหมัก

ที่มา : Scardovi, 1986

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Bifidobacterium spp. ต้องการวิตามินในการเจริญ โดยเฉพาะวิตามิน B1 (thiamin) วิตามิน B6 (pyridoxine) วิตามิน B9 (folic acid) และวิตามิน B12 (cyanocobalamin) โดยการสังเคราะห์วิตามินนั้นจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 การสังเคราะห์วิตามินของ *Bifidobacterium* spp.

วิตามิน (μg/ml.)	จุลินทรีย์				
	B. adolescentis	*B. bifidum*	*B. breve*	*B. infantis*	*B. longum*
Thiamin	0.02	0.23	0.09	0.2	0.09
Folic acid	0.01	0.058	0.008	0.040	0.02
Pyridoxine	0.043	0.046	0.2	0.059	0.42
Nicotine	0.17	1.04	0.39	1.23	0.61
Cyanocobalamin	0.35	0.65	0.49	0.39	0.46
Ascorbic acid	l.c.	n.s.	l.c.	l.c.	l.c.
Biotin	l.c.	n.s.	l.c.	l.c.	l.c.
Riboflavin	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

l.c. หมายถึง ความเข้มข้นต่ำ n.s. หมายถึง ไม่สังเคราะห์

ที่มา : Arunachalam, 1999

2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ *Bifidobacterium* spp.

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้สำหรับ *Bifidobacterium* spp. สามารถแบ่งได้เป็น non-selective media และ selective media โดย non- selective media ที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในการนับจำนวนเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ในผลิตภัณฑ์นมเพื่อตรวจหาจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น และจุลินทรีย์ที่เหลือรอดระหว่างการเก็บผลิตภัณฑ์ ได้แก่ Reinforced Clostridial Agar และ De Man Rose Sharp (MRS) แล้วมีการเติม cysteine และผงวุ้น ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีขายในเชิงพาณิชย์ และใช้สำหรับงานควบคุมคุณภาพในห้องปฏิบัติการระดับอุตสาหกรรม L-cysteine ที่เป็นส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ จะเป็นแหล่งของสารไนโตรเจนให้กับเชื้อ *Bifidobacterium* spp. อีกทั้งยังช่วยทำหน้าที่ลดรีดอกซ์โพเทนเชียลในอาหารซึ่งช่วยส่งเสริมให้เกิดสภาวะไร้อากาศ ให้เหมาะสมกับการเจริญของเชื้อ *Bifidobacterium* spp. Modified MRS agar (mMRS agar) มีส่วนผสมของ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

L-cysteine ในปริมาณร้อยละ 0.5 และยังมีส่วนผสมของ HCl เพื่อช่วยในการฟื้นฟูเซลล์ของเชื้อ *Bifidobacterium* spp. โดย mMRS agar ได้ถูกนำมาใช้สำหรับการนับปริมาณเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ที่บริสุทธิ์ (Roy, 2001)

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการแยกเชื้อ *Bifidobacterium* spp. จากเชื้อ lactic acid bacteria มีอยู่หลายชนิด เช่น Arroyo Martin and Cotton Agar (AMC) และ Modified Rogosa' s agar (RMS) เป็นต้น โดยอาหาร selective media เหล่านี้จะสนับสนุนการเจริญของเชื้อ *Bifidobacterium* spp. และยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ตัวอื่น (Payne et al., 1999) ส่วนอาหาร Homofermentative Heterofermentative Differential Medium (HHD) จัดเป็น selective media อีกชนิดหนึ่งที่ใช้แยกแบคทีเรีย homofermentative และ heterofermentative ออกจากกัน โดยแบคทีเรียทั้ง 2 กลุ่มนี้มีการผลิตกรดจากการใช้น้ำตาลฟรุคโตสที่แตกต่างกัน ซึ่งแบคทีเรียในกลุ่ม homofermentative จะมีลักษณะโคโลนีเป็นสีฟ้าเขียว ในขณะที่แบคทีเรียในกลุ่ม heterofermentative จะมีลักษณะโคโลนีสีขาว อาหาร HHD agar สามารถใช้แยกเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียจำพวก heterofermentative ออกจากเชื้อแบคทีเรียจำพวก homofermentative โดยสังเกตจากลักษณะของสีโคโลนีที่แตกต่างกัน (IDF, 1997)

2.3 คุณประโยชน์ของเชื้อ *Bifidobacterium* spp.

เชื้อ *Bifidobacterium* spp. ช่วยรักษาสมดุลย์ของเชื้อจุลินทรีย์ที่อาศัยอยู่ในระบบทางเดินอาหาร เช่น ควบคุมการเจริญของเชื้อ Coliforms, Enterococci และ Clostridia ในทารกที่ได้รับน้ำนมจากแม่ ซึ่งเป็นเด็กที่มีปริมาณ *Bifidobacterium* สูงจะสามารถต้านทานการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารได้ดี (Huges and Hoover, 1991) โดย Tojyo et al. (1987) พบว่าผลิตภัณฑ์นมที่มีเชื้อ *Bifidobacterium* spp. สามารถใช้ในการรักษาการติดเชื้อในเด็กชาวญี่ปุ่นได้ นอกจากนี้ Hotta et al. (1987) ยังพบว่า การเสริมอาหารของทารกด้วยเชื้อ *Bifidobacterium* spp. จะช่วยรักษาสภาวะในลำไส้ให้เป็นปกติได้ จากการศึกษากิจกรรมในการต่อต้านพวกจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค พบว่าเชื้อ *Bifidobacterium* spp. มีผลต่อการต่อต้านเชื้อโรค เช่น *Eschericia coli, Staphylococcus aureus, Shigella dysenteriae, Salmonella typhi, Proteus spp.* และ *Candida albicans* (Ferrai et al., 1980)

เชื้อ *Bifidobacterium* spp. สามารถบรรเทาอาการแพ้น้ำตาลแลคโตสอันเนื่องมาจากร่างกายไม่สามารถผลิตเอนไซม์ ß-galactosidase ที่ย่อยน้ำตาลแลคโตส ซึ่งส่วนใหญ่เป็นคนในเชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชาติเอเชีย และแอฟริกา การให้ผู้ทดสอบดื่มนมที่มีเชื้อ *Bifidobacterium* spp. พบว่า สามารถลดอาการแพ้น้ำตาลแลคโตสลงได้ (Salminen et al., 1998) มีรายงานว่าการบริโภคนมที่หมัก และผสมเชื้อ *B. longum* ในปริมาณ $5x10^8$ CFU/ml สามารถช่วยในการย่อยน้ำตาลแลคโตสได้ และช่วยลดอาการแพ้น้ำตาลแลคโตสได้โดยดูจากอาการท้องอืดที่ลดลง (Tianan et al., 1996)

การช่วยปรับปรุงการดูดซึมโปรตีน โดยเชื้อ *Bifidobacterium* spp. มีกิจกรรมในส่วนของฟอสโฟโปรตีนฟอสเฟต (phosphoprotein phosphate activity) ที่ช่วยเพิ่มการดูดซึมโปรตีนที่เกิดจากการย่อยเคซีนในนม (Arunachalam, 1999) นอกจากนี้ยังพบว่า เชื้อ *Bifidobacterium* spp. สามารถสังเคราะห์วิตามินได้หลายชนิด เช่น B1, B2, B6 และวิตามิน K ซึ่งวิตามินเหล่านี้จะถูกดูดซึมช้าๆ เข้าสู่ร่างกาย (Kantha and Arunachalam, 1999)

เชื้อ *Bifidobacterium* spp. มีฤทธิ์ในการต่อต้านการเกิดเนื้องอก (Anti-tumerigenic activity) และการเกิดสารก่อมะเร็ง (Anti-carcinogenic activity) โดยสามารถกำจัดสารก่อมะเร็งทั้งทางตรง เช่น การลดปริมาณไนโตรซามีน (nitrosamine) ของ *B. breve* และทางอ้อม เช่น การลดแหล่งของสารตั้งต้นการเกิดมะเร็ง (procarcinogenic) หรือลดปริมาณเอนไซม์ที่สร้างสารก่อมะเร็ง และควบคุมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่สังเคราะห์สารเหล่านี้ (Huges and Hoover, 1991)

ทั้งนี้ผลิตภัณฑ์ที่รายงานว่า จะสามารถก่อประโยชน์ต่างๆ ดังกล่าวข้างต้นต่อผู้บริโภคได้ ควรต้องมีปริมาณเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ในผลิตภัณฑ์อย่างน้อยประมาณ 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ซึ่งปริมาณที่แนะนำให้บริโภคต่อวัน คือ $10^8 - 10^9$ เซลล์ต่อมิลลิลิตรใน 1 วัน (Gardiner et al., 2002)

2.4 การใช้เชื้อ *Bifidobacterium* spp. ในอุตสาหกรรมอาหาร

Bifidobacterium spp. ได้ถูกนำไปใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์นมมากกว่า 70 ชนิด เช่น ครีมเปรี้ยว เนยเหลว โยเกิร์ต และไอศกรีมโยเกิร์ต เป็นต้น โดยผลิตภัณฑ์นมที่ผลิตด้วยเชื้อ *Bifidobacterium* spp. เริ่มเข้าสู่ตลาดตั้งแต่ปี 1971 และผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต ที่มีการเติมเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ได้ถูกนำเข้าตลาดญี่ปุ่นมานานหลายทศวรรษ โดยมีการบริโภคเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ (Mitsuoka, 2000) Reuter (1990) พบว่า ในประเทศเยอรมัณนีมีการใช้ *B. longum* ในผลิตภัณฑ์นมหมักอย่างกว้างขวาง โดยมีการ *B. longum* ร่วมกับ *Streptococcus thermophilus* เนื่องจากการใช้เชื้อดังกล่าวร่วมกัน จะส่งผลให้อัตราการเหลือรอดของเชื้อ *B. longum* หลังกระบวนการหมักมีอัตราที่สูงขึ้น และมีการผลิตกรดในผลิตภัณฑ์ได้ดี ซึ่งการผลิตโยเกิร์ตแต่เดิมจะใช้เชื้อ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* แต่ต่อมาได้มีการใช้เชื้อ *Bifidobacterium* spp. ในการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ทำโยเกิร์ต โดยจะรู้จักกันในชื่อ bio-yoghurt การผลิต bio-yoghurt อาจใช้ *Bifidobacterium* spp. เพียงชนิดเดียว หรืออาจใช้ *Bifidobacterium* spp. ร่วมกับเชื้อ lactic acid ชนิดอื่น (Roy, 2001) ซึ่งการใช้เชื้อ *Bifidobacterium* spp. ชนิดเดียวอาจทำให้ระยะเวลาในการหมักนานขึ้น รวมถึงคุณลักษณะผลิตภัณฑ์ที่ได้อาจไม่เป็นที่ยอมรับ เนื่องจากเชื้อ*Bifidobacterium* spp. มีการสร้างกรดแอซีติค ดังนั้นโดยทั่วไปมักจะทำการผลิตผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต โดยใช้เชื้อดั้งเดิม และเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ร่วมกัน ซึ่งเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ที่นิยมใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์นมหมัก คือ *B. bifidum* และ *B. longum* (Shah, 1997)

Bifidus yoghurt คือ นมวัวที่มีการเติมเชื้อ *B. longum* หรือ *B. bifidum* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จนผลิตภัณฑ์มีค่าpH เป็น 4.5 ซึ่งจะได้ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่มีกลิ่นเปรี้ยว และรสชาติที่จำเพาะ ปริมาณเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ในผลิตภัณฑ์ที่ผลิตเสร็จใหม่จะมีเท่ากับ 10^8-10^9 CFU/ml. (Ballongue, 1998)

นอกจากนั้นยังมีผลิตภัณฑ์ Acidophilus bifidus yoghurt ซึ่งจะมีลักษณะคล้ายกับ Bifidus yoghurt โดยนำนมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์แล้ว มาเติมเชื้อ *B. longum* หรือ *B. bifidum* ร่วมกับเชื้อโยเกิร์ต และ *L. acidophilus* โดยผลิตภัณฑ์สุดท้ายจะมีปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* และ *Bifidobacterium* spp. เท่ากับ 1-3 x 10^7 CFU/ml. (Ballongue, 1998)

2.5 การเจริญ และการเหลือรอดของเชื้อโพรไบโอติค และ *Bifidobacterium* spp.

Bifidobacterium spp. บางสายพันธุ์จะสามารถมีชีวิตอยู่ได้ในระบบย่อยอาหารเมื่อผ่านระบบย่อยอาหารแล้ว ซึ่งการย่อยอาหารเริ่มจากอาหารเข้าจนออกจากกระเพาะอาหารนั้น ใช้เวลาประมาณ 90 นาที (Berrada et al., 1991) ซึ่งจะมีค่า pH ต่ำประมาณ 1.5 (Lankaputhra and Shah, 1995) หรือ 2.0 (Hill, 1990) จากนั้นจะใช้เวลาในการย่อยต่อไปอีกที่ลำไส้ มีรายงานว่า ความเข้มข้นของน้ำดีจะอยู่ในช่วงร้อยละ 1.5 – 2.0 น้ำหนักต่อปริมาตร ในการย่อยชั่วโมงแรก (Daveport, 1977) และระดับความเข้มข้นจะลดลงเรื่อยๆจนถึงประมาณร้อยละ 0.3 น้ำหนักต่อปริมาตร (Sjovall, 1959) *Bifidobacterium* spp.จะก่อประโยชน์ให้แก่ร่างกายมนุษย์ได้หากหลงเหลือ ในอุจจาระ ประมาณ 10^9- 10^{10} เซลล์/กรัม (Tannock, 1995)

จากการศึกษาพบว่า *B. longum* สามารถทนสภาวะกรดที่เลียนแบบน้ำย่อยจากกระเพาะอาหาร (pH 2.0) และสารละลายน้ำดี (ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 2.0) ได้ดีกว่า *B. infantis* อีกทั้งการตรึงเชื้อโดยวิธี Microencapsulated จะทำให้เชื้อ *Bifidobacterium* สามารถทนต่อสภาวะดังกล่าว ได้ดีกว่าเชื้อในสภาพที่เป็นเซลล์อิสระ (free cells) (Lian et al., 2003) มีรายงานว่า เชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

infantis ATCC 1567 ที่ถูกตรึงกับ beads ที่ทำมาจาก gellan gum และ xanthan gum จะมีชีวิตเหลือรอดภายใต้สภาวะกรดที่เลียนแบบสภาวะน้ำย่อยในกระเพาะอาหาร ที่ pH 2.5, 2.0 และ 1.5 ได้มากกว่าเซลล์อิสระ โดยที่ pH 2.5 พบปริมาณเซลล์อิสระมีชีวิตเหลือรอดลดลงจาก 1.23×10^9 CFU/ ml เหลือในระดับที่ตรวจพบไม่ได้ (<10 CFU/ ml) ในเวลา 30 นาที ในขณะที่เซลล์ที่ถูกตรึงไว้จะลดปริมาณลงเพียง 0.67 log cycle ในเวลา 30 นาทีเท่ากัน และเมื่อทดสอบในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ พบว่า แบคทีเรียที่ถูกตรึงกับเม็ด beads จะสามารถมีชีวิตเหลือรอดได้มากกว่าเซลล์อิสระ หลังจากเก็บผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตดังกล่าวในสภาวะเย็น เป็นเวลา 5 สัปดาห์ (Wenrong and Mansel, 2000)

เมื่อทำการตรึงเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติคโดยใช้ calcium alginate พบว่า หากมีการใช้สตาร์ช (starch) เพื่อทำหน้าที่เป็น prebiotic เป็นส่วนประกอบในการตรึงเชื้อด้วย จะสามารถเพิ่มความสามารถในการมีชีวิตอยู่ของแบคทีเรียได้มากกว่าการใช้เพียง calcium alginate เท่านั้น และหากผสมกลีเซอรอลลงใน calcium alginate จะสามารถเพิ่มการเหลือรอดของแบคทีเรียเมื่อนำไปแช่แข็งที่ –20 องศาเซลเซียส จากการศึกษาพบว่า เชื้อ *Lactobacillus acidophilus* และ *Bifidobacterium spp.* ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ทำการตรึงเชื้อ จะลดปริมาณหลังจากเก็บผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตไว้ 8 สัปดาห์ ประมาณ 0.5 log cycle ในขณะที่ *Lactobacillus acidophilus* และ *Bifidobacterium spp.* ที่เป็นเซลล์อิสระในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต จะลดปริมาณลงมากกว่า คือลดลง 1 log cycle (Sultana et al., 2000)

Rao et al. (1989) พบว่า *Bifidobacterium pseudolongum* ที่ตรึงเชื้อด้วย calcium acetate phthalate (CAP) จะสามารถมีชีวิตเหลือรอดได้มากกว่า *B. pseudolongum* ที่ไม่ตรึงเชื้อ ภายใต้สภาวะกรดที่เลียนแบบน้ำย่อย โดย *Bifidobacterium* ในผลิตภัณฑ์นมแช่แข็ง ที่ตรึงไว้กับ beads ซึ่งทำจาก alginate จะสามารถมีชีวิตเหลือรอดได้ในปริมาณมากกว่า beads ที่ทำจาก K-carrageenan (Kebary et al., 1998)

จากการศึกษาการเหลือรอดของเชื้อ *B. longum* ทั้งที่เป็นเซลล์อิสระ และที่ผ่านการตรึงเชื้อในน้ำนม หลังจากเก็บน้ำนมไว้ในสภาวะเย็นในเวลา 12 วันแรกพบว่า เชื้อ *B. longum* ที่ผ่านการ ตรึงเชื้อ จะสามารถมีชีวิตเหลือรอด ได้มากกว่าที่เป็นเซลล์อิสระ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.001$) (Hansen et al., 2001) ส่วน Lee and Heo (2000) พบว่า *B. longum* ที่ถูกตรึงเชื้อใน calcium alginate จะสามารถมีชีวิตเหลือรอดในสภาวะเลียนแบบน้ำย่อยที่ pH 1.5 ได้ดีกว่าที่เป็นเซลล์อิสระ

Kamaly (1997) ได้ศึกษาถึงการนำเชื้อ *Bifidobacterium* spp. มาใช้ในการหมักนมถั่วเหลือง โดยศึกษาถึงอัตราการเจริญของ *Bifidobacterium* spp. 2 สายพันธุ์ คือ *B. longum* และ *B. bifidum* ที่เจริญในนมผงขาดมันเนย นมถั่วเหลือง และอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS broth ซึ่งพบว่า เชื้อ *B. longum*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

และ *B. bifidum* มีอัตราการเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อ มากกว่านมผงขาดมันเนย และนมถั่วเหลือง ตามลำดับ

จากการพัฒนาโยเกิร์ตข้าวกล้องเติมเชื้อโพรไบโอติคของอิศรา (อิศรา, 2546) โดยการหมักข้าวกล้องสุกด้วยเชื้อผสมระหว่าง *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* YC-380 ร่วมกับเชื้อโพรไบโอติค คือ เชื้อ *B. longum* Bb-46 มีสูตร และสภาวะที่เหมาะสมคือ น้ำข้าวกล้องสุก นมผงขาดมันเนย น้ำตาล ซูโครส และคาราจีแนน ร้อยละ 11.6, 8.24, 6.13 และ 0.063 ตามลำดับ โดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* YC-380 ร้อยละ 0.81 และเชื้อ *B. longum* Bb-46 ร้อยละ 1.62 หมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง พบว่า ผลิตภัณฑ์ที่ได้ มีกรดแลคติคที่ไตเตรทได้ เท่ากับร้อยละ 1.09 และมีค่า pH เท่ากับ 4.27 มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นทั้งหมด 2.9×10^9 CFU/g ซึ่งประกอบด้วย *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* 1.5×10^9 CFU/g และ *B. longum* 2.7×10^9 CFU/g เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตข้าวกล้องเติมเชื้อโพรไบโอติคดังกล่าวที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 15 วัน และ 30 วัน พบว่าผลิตภัณฑ์มีการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ และค่าการยอมรับทางประสาทสัมผัสเพียงเล็กน้อย และผลิตภัณฑ์ที่เก็บนาน 30 วันยังมีเชื้อ *B. longum* หลงเหลืออยู่มากกว่า 1.0×10^7 CFU/g

Hekmat and McMahon (1992) ได้ศึกษาการเหลือรอดของเชื้อโพรไบโอติคในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโยเกิร์ต โดยใช้เชื้อ *L. acidophilus* และ *B. bifidum* พบว่าผลิตภัณฑ์มีเชื้อ *L. acidophilus* เริ่มต้นเท่ากับ 8.2 log CFU/ml และเชื้อ *B. bifidum* เท่ากับ 8.4 log CFU/ml เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ -29 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 17 สัปดาห์ พบว่า ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* มีปริมาณเหลือรอดเท่ากับ 6.6 log CFU/ml และเชื้อ *B. bifidum* มีปริมาณเหลือรอดเท่ากับ 7.0 log CFU/ml

จากการศึกษาปริมาณการเหลือรอดของเชื้อ *B. longum* ในไอศกรีมโยเกิร์ตข้าวกล้องเติมเชื้อ *B. longum* สูตรที่ใช้น้ำผึ้งลำไย และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านเป็นส่วนผสมร้อยละ 10 พบว่า เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ที่ -12 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 1 วัน มีปริมาณเชื้อ *B. longum* เท่ากับ 7.36 log CFU/g และ 7.02 log CFU/g ตามลำดับ หลังจากเก็บผลิตภัณฑ์ไว้เป็นระยะเวลา 90 วัน พบว่าปริมาณเชื้อ *B. longum* ที่เหลือรอดในไอศกรีมโยเกิร์ตข้าวกล้องเติมเชื้อ *B. longum* สูตรที่ใช้น้ำผึ้งลำไย เท่ากับ 7.51 log CFU/g และปริมาณเชื้อ *B. longum* ที่เหลือรอดในไอศกรีมโยเกิร์ตข้าวกล้องเติมเชื้อ *B. longum* สูตรที่ใช้น้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน เท่ากับ 5.80 log CFU/g (ณัติพร, 2548)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.6 เชื้อโยเกิร์ต

2.6.1 ลักษณะสัณฐาน และคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *Lactobacillus delbrucckii bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus*

เชื้อโยเกิร์ตโดยทั่วไปประกอบด้วยเชื้อ *S. thermophilus* และ *L. delbrucckii bulgaricus* เชื้อ *S. thermophilus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม จัดเรียงตัวเป็นรูปโซ่ ส่วนเชื้อ *L. bulgaricus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวกเช่นกัน เซลล์มีลักษณะเป็นท่อน อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว หรือคู่ หรือเป็นสายสั้นๆ เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 20-40 องศาเซลเซียส (วราวุฒิ และรุ่งนภา, 2532)

การเจริญของเชื้อ *S. thermophilus* และ *L. bulgaricus* ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตเป็นแบบพึ่งพาอาศัยกัน คือ ที่อุณหภูมิการหมัก 40 องศาเซลเซียส เชื้อ *S. thermophilus* จะเจริญได้ดี และสร้าง diacetyl และสารประกอบคล้ายกัน ซึ่งทำให้ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตมีกลิ่นรสที่ดี อีกทั้ง *S. thermophilus* ยังช่วยกำจัดออกซิเจนจากนม ซึ่งหากมีออกซิเจนเหลืออยู่ในผลิตภัณฑ์มาก อาจก่อให้เกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ การเจริญของเชื้อ *S. thermophilus* จะดำเนินต่อไปจนกระทั่งผลิตภัณฑ์มี pH ประมาณ 5.5 ซึ่งขณะนั้นจะมีสารอาหาร และสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *L. bulgaricus* โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *L. bulgaricus* คือ 45 องศาเซลเซียส เมื่อเชื้อเจริญ และมีกรดแลคติคมากพอที่จะสร้าง acetyldehyde ซึ่งให้กลิ่นรสเฉพาะของโยเกิร์ต โดยโยเกิร์ตที่มีกลิ่นรสดีจะมี acetyldehyde ในปริมาณ 23-41 พีพีเอ็ม นอกจากนั้นเชื้อ *L. bulgaricus* ยังสร้างกรดอะมิโนบางตัวที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ *S. thermophilus* การสร้างสารที่ให้กลิ่น และรสในโยเกิร์ต โดยใช้เชื้อผสมทั้งสอง พบว่าเชื้อ *S. thermophilus* จะสร้างกรดฟอร์มิค ซึ่งเชื้อ *L. bulgaricus* สามารถนำกรดที่ได้ไปใช้ในการสร้างสารที่ให้กลิ่น และรส เช่น acetyldehyde ดังจะเห็นว่าเชื้อ *L. bulgaricus* เป็นตัวการสำคัญในสร้างสารที่ให้กลิ่นรสในโยเกิร์ต แต่อย่างไรก็ตามเชื้อ *S. thermophilus* สามารถสร้างสารให้กลิ่น และรสพวก acetyldehyde ได้เช่นกัน แต่จะสร้างได้ในปริมาณน้อยกว่า ที่สร้างจาก *L. bulgaricus* (วราวุฒิ และรุ่งนภา, 2532)

2.6.2 บทบาทของเชื้อโยเกิร์ตต่อผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต

เชื้อ *S. thermophilus* และ *L. bulgaricus* มีบทบาทต่อผลิตภัณฑ์ ดังนี้

2.6.2.1 ผลิตกรดแลคติค

การหมักน้ำตาลแลคโตสในนมที่สภาวะไม่มีออกซิเจนของแลคติคแบคทีเรีย จะทำให้เกิดกรดแลคติค ส่งผลให้เคซีนไมเซลเปลี่ยนสภาพจากสารแขวนลอยในรูป calcium-caseinate-phosphate-complex แตกตัวเป็น casein complex calciumlactate และ calcium phosphate ซึ่งสามารถละลายเป็นส่วนประกอบของน้ำนม เมื่อปริมาณกรดแลคติคสูงขึ้นตามระยะเวลาในการบ่ม

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เคซีนไมเซลจะค่อยๆสูญเสียแคลเซียม เมื่อระดับ pH ลดลงถึง 4.6-4.7 เคซีนจะเสียสมดุลย์ และเกิดการตกตะกอน มีลักษณะกึ่งแข็งที่เรียกว่า เคิร์ด (curd) นอกจากนี้กรดแลคติคยังมีผลให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะเฉพาะตัวของผลิตภัณฑ์ (วราวุฒิ และรุ่งนภา, 2532)

2.6.2.2 ย่อยสลายโปรตีน และกรดไขมัน

การย่อยสลายโปรตีน และกรดไขมันให้เป็นสารโมเลกุลที่เล็กลง ที่สามารถนำไปใช้ในการเจริญของเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ได้ (Dave and Shah, 1996) และยังมีส่วนสร้างรสชาติและความหอมของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต โดยมีการแตกตัวได้สารต่างๆ ได้แก่ กรดอะมิโนซีรีน โปรลีน วาลีน ลิวซีน ไอโซลิวซีน ไทโรซีน กรดกลูตามิค และกรดไขมันที่ระเหยได้ เช่น กรดแอซีติค โพรพิโอนิค บิวทีริค คาพริลิค เป็นต้น การย่อยสลายโปรตีนมีผลในการเพิ่มความแน่นเนื้อ ความคงตัว และความหนืดของโยเกิร์ต (Varnam and Sutherland, 1994)

2.6.2.3 ผลิตสารประกอบที่ให้กลิ่นรส

สารประกอบหอมระเหยจากการเมแทบอไลซ์ซิเตรต หรือกรดอะมิโนทรีโอนิน ที่ให้กลิ่น และรสโยเกิร์ต ได้แก่ ไดอะเซติล อะเซโตอิน และอะเซตัลดีไฮด์ (Tamime and Robinson, 1985)

2.6.2.4 ผลิตสารยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่น

สารที่เชื้อโยเกิร์ตสร้าง เช่น กรดแลคติค แบคเทอริโอซิน และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จะมีผลยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น และช่วยป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อโรค หรือป้องกันการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต ทำให้การหมักเกิดขึ้นได้ดี และสามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตได้นานขึ้น (Ferrai et al., 1980)

2.6.2.4 ผลิตสารที่ให้เนื้อสัมผัส

ลักษณะทางกายภาพ และเนื้อสัมผัสเป็นตัวบ่งชี้คุณภาพที่สำคัญอย่างหนึ่งของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต การผลิตโพลีแซคคาไรด์แล้วขับออกนอกเซลล์ (Expolysaccharide : EPS) หรือไกลโคโปรตีน ซึ่งมีลักษณะเหมือนแคปซูลของแลคติคแบคทีเรีย จะช่วยเพิ่มความหนืด การอุ้มน้ำ หรือลดการเกิดน้ำเวย์ (syneresis) ของโยเกิร์ต จึงสามารถทดแทนการใช้สารให้ความคงตัวในการผลิต นอกจากนี้แลคติคแบคทีเรียที่ผลิตโพลีแซคคาไรด์มีความต้านทานต่อ phage ได้ดีกว่าสายพันธุ์ที่ไม่มีแคปซูลห่อหุ้ม (Hassan et al., 1996) โพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตโดยแลคติคแบคทีเรีย ได้แก่ กลูแคน (glucan) เด็กซ์แตรน (dextran) deacylated lipoteichoic acid สายพันธุ์ของเชื้อจุลินทรีย์แลคติคแบคทีเรียที่แตกต่างกัน มีความสามารถสร้าง ESP หรือไม่สร้าง ESP ส่งผลให้ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตมีโครงสร้างที่แตกต่างกัน ในการสร้าง ESP ของเชื้อจุลินทรีย์ดังกล่าวขึ้นกับองค์ประกอบแหล่งอาหารของเชื้อจุลินทรีย์ เช่น แหล่งคาร์บอน ไนโตรเจน และน้ำตาล เป็นต้น อีกทั้งยังขึ้นกับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สภาวะแวดล้อมของการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ เช่น ค่า pH และอุณหภูมิ เป็นต้น และมีรายงานปริมาณความเข้มข้นของ ESP ที่สร้างโดย *S. thermophilus* สูงถึง 3,000 มิลลิกรัมต่อลิตร และเชื้อ *L. bulgaricus* 2,100 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งปริมาณ ESP ที่เกิดจากจุลินทรีย์แลคติคแบคทีเรียจะส่งผลให้ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตมีลักษณะเนื้อสัมผัสที่ดี และมีความข้นหนืดที่เพิ่มขึ้น

2.7 ผลิตภัณฑ์นมหมัก

ผลิตภัณฑ์นมหมัก เป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการ และมีประโยชน์ต่อสุขภาพ จึงมีการให้ความสนใจที่จะเติมเชื้อโพรไบโอติค เช่น *Lactobacillus acido*philus และ *Bifidobacteria* ในอาหารเหล่านี้มากขึ้น (Kneifel et al., 1993) ตั้งแต่ปีค.ศ.1972 ทั่วโลกมีการบริโภคผลิตภัณฑ์นมที่เติมเชื้อโพรไบโอติคเพิ่มมากขึ้น (Sullivan et al., 2001) หลังจากผลิตภัณฑ์นมหมักถูกย่อยในระบบย่อยอาหารแล้ว เชื้อโพรไบโอติคในอาหารต้องสามารถทนต่อสภาวะกรด และน้ำดีจากระบบย่อยอาหารได้ และมีชีวิตเหลือรอดในปริมาณที่มากพอในลำไส้ใหญ่ จึงจะสามารถก่อประโยชน์ให้กับผู้ที่บริโภคอาหารเหล่านั้นได้ (Kailasapathy et al., 1997) โดยปริมาณเชื้อโพรไบโอติค ในอาหารประเภทนมหมัก ควรมีอยู่ประมาณ 10^5-10^6 CFU/ml (Samona and Robinson, 1994) โดยการเติมเชื้อดังกล่าวในอาหาร ควรต้องคำนึงถึง ความปลอดภัย และคุณสมบัติด้านประสาทสัมผัสด้วย (Saarela et al., 2000)

โยเกิร์ต หรือผลิตภัณฑ์ที่คล้ายโยเกิร์ต เป็นผลิตภัณฑ์ที่นิยมเติมเชื้อโพรไบโอติคลงไป โดยเฉพาะเชื้อ *Bifidobacterium* และ *Lactobacillus* (Sanders, 1998) เชื้อจุลินทรีย์ *Bifidobacterium* และ *Lactobacillus* สามารถย่อยน้ำตาลแลคโตสในนมให้เป็นกรดแลคติคที่มีประโยชน์ในการช่วยย่อยอาหาร ขับถ่าย ลดกรดในกระเพาะอาหาร ช่วยบำรุงผิวพรรณ และลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือด (Kalantzopoulos, 1997) จากประโยชน์ดังกล่าวรวมถึงการได้รับการส่งเสริม และสนับสนุนการบริโภคนม และผลิตภัณฑ์นมจากรัฐบาล อีกทั้งการประชาสัมพันธ์ของภาคเอกชนให้ทราบคุณค่าทางอาหาร คุณสมบัติทางยา และประโยชน์ต่อสุขภาพ จึงเป็นผลให้โยเกิร์ตได้รับความสนใจ และเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคเพิ่มขึ้น (วรภัทร, 2547)

ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต มีอยู่ 3 ประเภท (พาลาภ, 2539) คือ

1. นมเปรี้ยวพร้อมดื่ม (drinking yoghurt หรือ liquid yoghurt) มีลักษณะเป็นน้ำ หรือเป็นของเหลวที่มีลักษณะคล้ายนมโดยทั่วไป นมเปรี้ยวพร้อมดื่มที่มีจำหน่ายในท้องตลาด เช่น ยาคูลย์ และโยโมสท์ เป็นต้น นมเปรี้ยวพร้อมดื่มอาจได้จาก การนำโยเกิร์ตแบบธรรมดามาผสมให้เข้ากันกับน้ำผลไม้ในอัตราส่วน 1:1 แล้วผ่านการโฮโมจิไนซ์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. โยเกิร์ตครีม (cream yoghurt) มีลักษณะเป็นครีมข้น ส่วนใหญ่บรรจุในถ้วย โยเกิร์ตครีมที่มีจำหน่ายในท้องตลาด เช่น ดัชมิลล์ เป็นต้น

3. ไอศกรีมโยเกิร์ต (frozen yoghurt) มีรูปแบบเป็นไอศกรีม โดยจะมีการผลิตเป็น 2 ลักษณะคือ มีลักษณะเป็นไอศกรีมเหลว (soft serve) และเป็นไอศกรีมแข็ง (hard serve) ซึ่งไอศกรีมโยเกิร์ตแข็งมีลักษณะเหมือนกับไอศกรีมทั่วไป ไอศกรีมโยเกิร์ตที่มีจำหน่ายในท้องตลาด เช่น TCBY และ yoken fruit เป็นต้น ไอศกรีมโยเกิร์ตเป็นไอศกรีมที่ทำจากนม ผ่านขั้นตอนการลดปริมาณน้ำตาลในนมด้วยการเติมเชื้อจุลินทรีย์ ดังนั้นไอศกรีมโยเกิร์ตจึงจัดเป็นไอศกรีมนมที่มีแคลอรี่ต่ำ และมีคุณค่าทางโภชนาการต่างๆเช่นเดียวกับโยเกิร์ตทั่วไป

รัชนีกร (2528) ได้ทำศึกษาเรื่องการทำเครื่องดื่มโยเกิร์ต โดยได้ทำการผลิตเครื่องดื่มโยเกิร์ต (drinking yoghurt) โดยนำโยเกิร์ตมาปั่นด้วยเครื่องปั่น นาน 10 วินาที แล้วผสมกับน้ำผลไม้ที่มีระดับความหวาน 25-40 องศาบริกซ์ หรือใช้น้ำเชื่อมที่มีระดับความหวาน 35-40 องศาบริกซ์ ในอัตราส่วน 1:1 จากนั้นนำไปปั่นนาน 20 วินาที แล้วทำการทดสอบทางประสาทสัมผัส (sensory evalution) และทางเคมี พบว่าเครื่องดื่มโยเกิร์ตที่ผสมด้วยน้ำเชื่อมที่ระดับความหวาน 35 และ 40 องศาบริกซ์ได้รับคะแนนทางประสาทสัมผัสอยู่ในระดับที่ดี

2.8 น้ำผึ้ง

น้ำผึ้ง เป็นน้ำหวานที่ผึ้งงานดูดจากเกสรดอกไม้ชนิดต่างๆ แล้วนำมาเก็บรวบรวมไว้ในรังผึ้ง โดยน้ำผึ้งจะเป็นของเหลวใส มีลักษณะข้นหนืด มีรสหวาน สีของน้ำผึ้งจะแตกต่างกันขึ้นกับแหล่งของน้ำหวานที่ผึ้งดูดมา (ลักขณา และนิธิยา, 2544) น้ำผึ้งที่ดีต้องมีลักษณะข้นหนืด มีความโปร่งแสง หรือโปร่งใส สะอาด ไม่มีตะกอน หรือสิ่งแปลกปลอมเจือปน ไม่มีไขผึ้ง ไม่มีฟอง ไม่มีกลิ่นบูดเปรี้ยว มีกลิ่นหอมเฉพาะของเกสรดอกไม้ที่ผึ้งไปดูดมาเก็บไว้ในรัง มีกระบวนการเก็บที่สะอาด สีของน้ำผึ้งจะมีระดับแตกต่างกันระหว่างสีเหลืองอ่อนใส น้ำตาลอ่อนถึงน้ำตาลไหม้ขึ้นกับแหล่งของน้ำหวานที่ผึ้งดูดมา (บุเรศร, 2534)

ภาณุวรรณ (2545) ได้ศึกษา การผลิตโยเกิร์ตผลิตภัณฑ์ใหม่โดยใช้น้ำผึ้ง และนมผึ้ง ซึ่งพบว่า น้ำผึ้งที่ความเข้มข้นร้อยละ 15 มีผลให้เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้หมักในโยเกิร์ต *L. bulgaricus* TSI451 เจริญได้ดีที่สุด และที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 มีผลให้ *S. thermophilus* TSRIS894 เจริญได้ดีที่สุดในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS หากใช้ความเข้มข้นมาก หรือน้อยกว่านี้ จะมีผลทำให้การเจริญของเชื้อลดลง และเมื่อทำเป็นผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต โดยใช้น้ำผึ้งที่ความเข้มข้นร้อยละ 0-25 พบว่าลักษณะเนื้อสัมผัสที่ได้ไม่ดี ความเปรี้ยวลดลงมาก เมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่ใส่น้ำผึ้ง เนื่องจากน้ำผึ้งมีผล

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ยับยั้งเชื้อที่ใช้หมักโยเกิร์ตได้ จึงสามารถผลิตกรดแลคติค และสารอื่นๆ ได้ลดน้อยลง เมื่อใช้น้ำผึ้งดอกลำไยเป็นส่วนผสมในโยเกิร์ตที่ความเข้มข้นร้อยละ15 พบว่า เป็นระดับความเข้มข้นที่เชื้อเจริญได้ดีที่สุด ซึ่งพบว่า ชุดควบคุมที่ไม่ใส่น้ำผึ้งจะมีปริมาณกรดมากกว่าโยเกิร์ตที่ผสมน้ำผึ้ง 2.3 เท่า

สุมาลัย (2545) ศึกษาการเจริญของ Lactic acid bacteria และ *Bifidobacteria* ที่เจริญในน้ำนมปราศจากไขมันผสมน้ำผึ้ง พบว่า น้ำผึ้งที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5 ไม่ได้มีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ Lactic acid bacteria และ *Bifidobacteria*

จากการศึกษาผลของน้ำผึ้งต่อการเหลือรอดของเชื้อ *B. longum* ในไอศกรีมโยเกิร์ตข้าวกล้อง (ณัติพร, 2548) พบว่า ความเข้มข้นของน้ำผึ้งลำไย และน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านร้อยละ 10 เหมาะสมต่อการนำไปผลิตเป็นไอศกรีมโยเกิร์ตข้าวกล้องที่สุด โดยมีปริมาณเชื้อ *B. longum* เจริญเท่ากับ 12.77 และ 11.63 logCFU/g ตามลำดับ

2.9 ข้าวกล้อง

ข้าวกล้อง เป็นข้าวที่ผ่านขบวนการเทาะเปลือก (แกลบ) ออกเท่านั้น ไม่ได้ผ่านขบวนการขัดสีซึ่งยังมีจมูกข้าว (Embryo) และเยื่อหุ้มเมล็ดข้าว (รำ) อยู่ ทำให้ข้าวกล้องมีคุณค่าทางโภชนาการสูง สำหรับข้าวขาว เป็นข้าวที่ผ่านการขัดสี ทำให้คุณค่าทางโภชนาการต่ำเมื่อเทียบกับข้าวกล้อง สีของข้าวกล้องจะแสดงออกที่เยื่อหุ้มผล โดยจะมีสีต่างๆ กัน ตั้งแต่ ขาวแดง น้ำตาลเข้ม น้ำตาลเทา และม่วงเกือบดำ (ทวีทอง, 2541)

2.9.1 คุณค่าทางโภชนาการของข้าวกล้อง

เมล็ดข้าวกล้องนั้น มีองค์ประกอบคุณค่าทางด้านอาหาร และโภชนาการอยู่มากมาย เช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เส้นใย และเถ้า ส่วนวิตามินที่พบในข้าวกล้องได้แก่ วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 และวิตามินบี 5 แร่ธาตุต่างๆ เช่น แมกซีเนียม สังกะสี โคบอลท์ ทองแดง ซิลิเนียม ไอโอดีน กรดแพนโธธินิค และกรดโฟลิค (อรอนงค์, 2538)

คาร์โบไฮเดรต

คาร์โบไฮเดรตที่พบในข้าวกล้องแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม คือ แป้ง เฮมิเซลลูโลส เซลลูโลส และน้ำตาลอิสระ โดยที่แป้งมีปริมาณสูงสุดประมาณร้อยละ 77-87 เฮมิเซลลูโลสพบมากในรำละเอียด รำข้าวขาว และจมูกข้าว พบเล็กน้อยในข้าวขาว ข้าวกล้องมีเฮมิเซลลูโลส ร้อยละ 1.43-2.08 ข้าวขาวมีร้อยละ 0.61-1.09 รำละเอียดมีร้อยละ 8.59-10.90 และรำข้าวขาวมีร้อยละ 3.15-6.01 นอกจากนี้ยังพบแพนโตแซนในจมูกข้าวร้อยละ 4.80-7.40 เซลลูโลสส่วนใหญ่อยู่ในชั้นรำ ปริมาณ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ที่พบในชั้นรำละเอียดร้อยละ 62 จมูกข้าวร้อยละ 4 รำข้าวร้อยละ 7 และข้าวขาวร้อยละ 27 ส่วนน้ำตาลอิสระพบมากในจมูกข้าว และเนื้อแป้ง ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส ราฟิโนส กลูโคส มอลโทส และฟรุคโทสเล็กน้อย ข้าวกล้องมีน้ำตาลอิสระร้อยละ 0.83-1.36 และข้าวขาวมีร้อยละ 0.09-0.13

โปรตีน

โปรตีนส่วนของข้าวกล้องจะมีอยู่หนาแน่นบริเวณขอบนอกของเมล็ด และจะค่อยๆ เบาบางลงเมื่อลึกเข้าไปในกึ่งกลางเมล็ด โปรตีนในเมล็ดข้าวสามารถแยกตามคุณสมบัติการละลายออกเป็น 4 ชนิด คือ อัลบูมิน (albumins) มีคุณสมบัติละลายในน้ำ โกลบูลิน (globulins) ละลายในน้ำเกลือ โพรลามีน (prolamins) ละลายในแอลกอฮอล์ และกลูเตลิน (glutenlins) ละลายในกรดหรือด่างเจือจาง ในเมล็ดข้าวกล้องมีปริมาณกลูเตลินในอัตราส่วนที่สูงกว่าโปรตีนชนิดอื่น และในส่วนของกลูเตลินนี้ ประกอบด้วยไนโตรเจนอยู่ร้อยละ 16.8 ข้าวกล้องแม้จะมีโปรตีนน้อยกว่าธัญชาติอื่น แต่โปรตีนที่มีอยู่ก็มีคุณค่าทางชีวภาพ (biological value) และมีค่า net protein utilization สูงกว่าโปรตีนของธัญชาติอื่น รวมทั้งมีปริมาณไลซินสูงกว่าธัญชาติอื่นอีกด้วยนอกจากนั้นยังสามารถย่อยโปรตีนได้สมบรูณ์ การที่โปรตีนของข้าวย่อยได้ดี อาจเนื่องจากข้าวมีแทนนินต่ำ

ไขมัน

ไขมันของข้าวกล้องมีประมาณร้อยละ 1.6-2.8 และในส่วนของไขมันนี้ประมาณร้อยละ 80 อยู่ในรำ ไขมันจากทุกส่วนของเมล็ดจะมีองค์ประกอบคล้ายคลึงกัน ไม่ว่าจะสกัดจากข้าวเหนียวหรือข้าวเจ้า กรดไขมันส่วนใหญ่เป็นกรดโอเลอิก (oleic) ลิโนเลอิก (linoleic) และพาลมิติก (palmitic) ไขมันของข้าวมีสาร antioxidant อยู่คือ โอรีซานอล (oryzanol) และประเภทวิตามินอีโทโคฟีรอล (tocopherol) สารนี้จะช่วยระงับปฏิกิริยาการเติมออกซิเจน ทำให้น้ำมันที่สกัดได้คงอยู่หรืออยู่ได้นานโดยไม่หืน นอกจากนี้ทั้งโอรีซานอลและโทโคฟีรอล ยังช่วยเร่งการเจริญเติบโต การไหลเวียนของโลหิต และการหลั่งของฮอร์โมนของร่างกาย

วิตามิน

วิตามินอาหารที่จำเป็นในการบำรุงสมอง และระบบประสาทคือ น้ำตาลในเลือด หรือกลูโคส ซึ่งจะได้จากอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต และตัวสำคัญที่จะช่วยทำให้อาหารพวกคาร์โบไฮเดรต กลายเป็นกลูโคสคือ วิตามินบีต่างๆ คือ บี 1 บี 12 และวิตามินบีรวม (B complex) ในเมล็ดข้าวเกือบจะไม่มี หรือขาดวิตามินต่างๆ เช่น วิตามินซี วิตามินดี และวิตามินบี 12 เช่นเดียวกับธัญชาติอื่นๆ สำหรับวิตามินบี 1 หรือไทอะมีน และวิตามินบี 2 หรือไรโบฟลาวิน นับว่ามีน้อย แต่มีวิตามินบี 5 หรือ ไนอะซินมากพอสมควร วิตามินเหล่านี้มีความหนาแน่นตามบริเวณผิวของเมล็ด ดังนั้นการขัดสีข้าวเป็นข้าวสาร ซึ่งเหลือแต่เนื้อเมล็ดจึงทำให้สูญเสียวิตามินไป

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

เกลือแร่

เกลือแร่ของข้าวมีปริมาณไม่คงที่ แตกต่างกันไปตามลักษณะของดินที่ใช้ปลูก และวิธีวิเคราะห์เกลือแร่ เกลือแร่ร้อยละ 51 อยู่ในรำละเอียด ร้อยละ 10 อยู่ในรำข้าวขาว และร้อยละ 28 อยู่ในข้าวขาว แร่ธาตุที่พบมี ฟอสฟอรัส โปแตสเซียม แคลเซียม คลอรีน ซิลิคอน โซเดียม และเหล็ก แร่ธาตุที่พบมากที่สุด คือ แมกนีเซียม และซิลิคอน

สารอาหารในข้าวกล้องมีประโยชน์ต่อร่างกายดังนี้ (กองโภชนาการ, 2535)

- วิตามินบี 1 ในข้าวกล้องมีมากกว่าข้าวขาวประมาณ 4 เท่า ถ้ารับประทานข้าวกล้องเป็นประจำจะสามารถป้องกันโรคเหน็บชา (Beri-Beri) ได้
- วิตามินบี 2 ป้องกันโรคปากนกกระจอก (Angular Stomatitis)
- วิตามินบีรวม จะป้องกัน และบรรเทาอาการอ่อนเพลีย และขาไม่มีแรง อาการปวดแสบ และเสียวในขา ปวดน่อง ปวดกล้ามเนื้อ โรคผิวหนังบางชนิด โรคปลายประสาทอักเสบ โรคเกี่ยวกับระบบทางเดินประสาทบางชนิด ยังช่วยบำรุงสมอง และเจริญอาหาร
- ธาตุเหล็ก ช่วยป้องกันโรคโลหิตจาง
- ฟอสฟอรัส ช่วยในการเจริญเติบโตของกระดูก และฟัน
- ทองแดง ช่วยในการสร้างเม็ดโลหิต และฮีโมโกลบิน
- เกลือแร่ และวิตามิน ต่างๆ ช่วยในการทำงานของอวัยวะต่างๆ ของร่างกาย และเสริมสร้างร่างกายให้สมบรูณ์
- ไขมัน ให้พลังงาน และความอบอุ่นแก่ร่างกาย
- กากอาหาร ป้องกันโรคท้องผูก และมะเร็งลำไส้ใหญ่
- โปรตีน ช่วยเสริมสร้าง และซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอ
- คาร์โบไฮเดรต ให้ความอบอุ่นแก่ร่างกาย

และเมื่อเปรียบเทียบสารอาหารของข้าวกล้อง และข้าวขาว พบว่า ข้าวกล้องมีคุณค่าทางอาหารมากกว่าข้าวขาว ดังแสดงในตารางที่ 3

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบคุณค่าทางอาหารของข้าวกล้อง และข้าวขาว

สารอาหาร	ข้าวกล้อง (100 กรัม)	ข้าวขาว (100 กรัม)
โปรตีน (กรัม)	7.6	6.4
คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	75.1	79.4
ไขมัน (กรัม)	2	0.8
ใยอาหาร (กรัม)	2.1	0.7
วิตามิน		
บี 2 (มิลลิกรัม)	0.34	0.07
บี 3 (มิลลิกรัม)	0.05	0.03
ไนอะซีน (มิลลิกรัม)	0.62	0.62
กรดเพนโธเธนิค (มิลลิกรัม)	1.5	0.22
กรดโฟลิค (มิลลิกรัม)	20	0.36
เกลือแร่		
เหล็ก (มิลลิกรัม)	1.6	0.8
แคลเซียม (มิลลิกรัม)	32	24
แมกนีเซียม (มิลลิกรัม)	52	14
แมงกานีส (มิลลิกรัม)	1.5	0.9
สังกะสี (ไมโครกรัม)	1.9	1.5
โคบอลท์ (ไมโครกรัม)	4.2	0.9
ทองแดง (ไมโครกรัม)	360	230
ซิลิเนียม (ไมโครกรัม)	38.8	31.8
ไอโอดีน (ไมโครกรัม)	2.2	2

ที่มา : กองโภชนาการ, 2535

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

อิศรา (2546) ได้พัฒนาโยเกิร์ตข้าวกล้องเติมเชื้อ *B. longum* ซึ่งใช้ข้าวกล้อง เป็นส่วนผสมในโยเกิร์ต เนื่องจากข้าวกล้องมีคุณค่าทางโภชนาการ และมีเส้นใยอาหารอยู่ในปริมาณสูง อีกทั้งยังเป็นการเพิ่มมูลค่าของข้าว การใช้ข้าวกล้องมาแปรรูปเป็นน้ำนมเทียมแทนนมวัวในการผลิตโยเกิร์ต พบว่าเชื้อ *B. longum* สามารถเจริญ และเหลือรอดในโยเกิร์ตข้าวกล้องในปริมาณมากกว่า 10^7 CFU/g. เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์ไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน และคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี และค่าการยอมรับทางประสาทสัมผัส มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved