บทที่ 2
เอกสารที่เกี่ยวข้อง

2.1 จุลินทรีย์ที่ใช้เป็นเชื้อโพรไบโอติคในโยเกิร์ต

โพรไบโอติก (Probiotic) ถูกนำมาใช้เป็นครั้งแรกในรายงานการวิจัยทางวิทยาศาสตร์ของ Metchnikoff (1908) ที่กล่าวถึง จุลินทรีย์ที่มีชีวิตในอาหารที่มีประโยชน์ต่อผู้บริโภค และสามารถอาศัยและเจริญเพิ่มปริมาณในลำไส้ ซึ่งจะผลิตกรดทำให้ความเป็นกรดด่างในลำไส้ลดลง ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อโรค และเพิ่มการเคลื่อนไหวของลำไส้เพื่อขับจุลินทรีย์ก่อโรคต่างๆ ออกมา Lilly and Stillwell (1965) ได้ให้คำจำกัดความว่า โพรไบโอติก คือสารที่จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งขับออกมา และช่วยกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นการทำงานที่ตรงข้ามกับการทำงานของยาปฏิชีวนะ (Antibiotic) ที่จะทำลายจุลินทรีย์เกือบทุกชนิด คำจำกัดความล่าสุดซึ่งเสนอโดย Fuller (1989) อธิบายคำว่า โพรไบโอติก คืออาหารเสริมซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตสามารถก่อประโยชน์ต่อร่างกายของสิ่งมีชีวิตที่มันอาศัยอยู่ โดยการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในร่างกาย

ประโยชน์ของโพรไบโอติกต่อร่างกาย

ธารารัตน์ (2542) ได้สรุปประโยชน์ของโพรไบโอติกที่มีต่อร่างกาย ดังนี้

1. กรดแลคติคที่แบคทีเรียโพรไบโอติกผลิตออกมา จะทำให้สภาวะภายในลำไส้มีความเป็นกรดมากพอที่จะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ก่อโรค
2. ทำให้ระบบขับถ่ายดีไม่เกิดการหมักหมมของของเสียในร่างกาย เป็นการลดอัตราเสี่ยงของการเกิดมะเร็งโดยเฉพาะอย่างยิ่งมะเร็งลำไส้ใหญ่และมะเร็งตับ
3. วิตามินบีที่ได้จากการสังเคราะห์ของ Bifidobacteria ทำให้เซลล์ในระบบภูมิต้านทานทำงานอย่างมีประสิทธิภาพและทำให้มีการผลิตเม็ดเลือดแดงดีขึ้น
4. Bifidobacteria สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งและกำจัดสารก่อมะเร็งบางชนิด เช่นการลดปริมาณสารไนโตรซามิน (Nitrosamine) ของ *Bifidobacterium breve*
5. แลคติคแอซิดแบคทีเรียช่วยลดระดับน้ำตาลและโคเลสเตอรอลในเลือด
6. *Bifidobacterium* spp. ช่วยบรรเทาอาการแพ้น้ำตาลแลคโตสอันเนื่องมาจากการที่ร่างกายไม่ผลิตเอนไซม์ β-galactosidase ที่ย่อยน้ำตาลแลคโตส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ปัจจุบัน ได้มีการใช้เชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติคเติมเข้าไปในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตเพื่อเพิ่มคุณประโยชน์ของโยเกิร์ต จุลินทรีย์โพรไบโอติคที่มีการนำมาใช้ในการผลิตโยเกิร์ต ได้แก่ *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus casei* และ *Lactobacillus acidophillus* (Gomes and Malcata, 1999) โดยในการผลิตโยเกิร์ตตามขั้นตอนปกตินั้นจะมีการเติมเชื้อ *Streptococcus thermophillus* และ *Lactobacillus delbrucckii bulgaricus* (Dave and Shah, 1997) เพื่อให้เกิดกระบวนการหมักที่ได้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นและรสที่ดี (วราวุฒิ และรุ่งนภา, 2532)

2.2 เชื้อ *Bifidobacterium* spp.

2.1.1 ลักษณะสัณฐานและคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *Bifidobacterium* spp.

เชื้อ *Bifidobacterium* spp. ถูกค้นพบครั้งแรก ในปี ค.ศ. 1899 โดย Frenchman Tissier ในอุจจาระของเด็กที่ดูดนมมารดา *Bifidobacterium* spp. เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (gram-positive) ย้อมสี Acid fast ไม่ติด เคลื่อนที่ด้วยตัวเองไม่ได้ (Non-motile) และไม่สร้างสปอร์ (Non-spore forming) ลักษณะเซลล์เป็นรูปแท่งมีหลายรูปแบบ เช่น แท่งสั้น แท่งปกติ เซลล์ผอม หรือมีปลายแหลม (Point end) และอาจมีรูปร่างเป็น Y-shaped, V-shaped, X-shaped หรือเป็นแท่งโค้งงอ ขึ้นกับส่วนประกอบของอาหารหรือ Media ที่ใช้เลี้ยง (Ballongue, 1998; Tamine, 2002) *Bifidobacterium* spp. จัดเป็นแบคทีเรียประเภทไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic bacteria) แต่บางสปีชีส์สามารถทนออกซิเจนได้ เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37-41 องศาเซลเซียส ไม่เจริญที่อุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส หรือสูงกว่า 46 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ที่เหมาะสมในการเจริญ คือ 6.5-7.0 ไม่เจริญที่ค่าความเป็นกรดด่าง 4.5-5.0 หรือ 8.0-8.5 (Tamine, 2002) สามารถหมักกลูโคสให้เป็นกรดอะซิติคและกรดแลคติคในอัตราส่วน 3 : 2 และไม่สามารถสังเคราะห์คาร์บอนไดออกไซด์ได้ (Arunachalam, 1999)

ปัจจุบันพบ *Bifidobacterium* spp. ถึง 30 สปีชีส์ จากแหล่งต่างๆ เช่น อุจจาระของมนุษย์ มูลสัตว์ มูลนก ในช่องคลอดของมนุษย์ ในช่องปาก และในแหล่งน้ำเสีย มีเพียง 9 สปีชีส์ ที่พบในมนุษย์ ได้แก่ *Bifidobacterium breve, Bifidobacterium bifidum, Bifidobacterium infantis, Bifidobacterium longum, Bifidobacterium adolescentis, Bifidobacterium angulatum, Bifidobacterium catenulatum, Bifidobacterium pseudocatenulatum* และ *Bifidobacterium dentium* โดยมีเพียง 5 สปีชีส์เท่านั้นที่นำมาใช้ในอุตสาหกรรมนมหมัก ได้แก่ *B. breve, B. bifidum, B. infantis, B. longum* และ *B. adolescentis* (Tamine, 2002)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

Bifidobacterium spp. สามารถใช้น้ำตาลแลคโตสในกระบวนการหมักและเจริญได้ดีในนม โดย *B. adolescentis, B. breve, B. infantis* และ *B. longum* สามารถใช้ประโยชน์จากคาร์โบไฮเดรตได้อย่างหลากหลาย *Bifidobacterium* spp. ในคนจะเริ่มเจริญหลังจากทารกได้รับน้ำนมจากมารดา เนื่องจากน้ำนมมารดาจะมี N-acetylglucosamine เป็นสารเร่งการเจริญเติบโต (Growth factor) และจะมีปริมาณมากสุดในวัยทารกนี้ หลังจากนั้นจะมีปริมาณลดลงเมื่อมีอายุเพิ่มขึ้น ความสามารถในการหมักคาร์โบไฮเดรตและแอลกอฮอล์ของเชื้อ Bifidobacteria แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การหมักคาร์โบไฮเดรตและแอลกอฮอล์ของเชื้อ *Bifidobacteria* spp.

species	D-Ribose	L-Arabinose	Lactose	Cellobiose	Melezitose	Raffinose
B. bifidum	-	-	+	-	-	-
B. longum	+	+	+	-	+	+
B. infantis	+	-	+	-	-	+
B. breve	+	-	+	d	d	+
B. adolescentis	+	+	+	+	+	+
	Sobitol	Gluconate	Xylose	Mannose	Fructose	Galactose
B. bifidum	-	-	-	-	+	+
B. longum	-	-	d	d	+	+
B. infantis	-	-	d	d	+	+
B. breve	d	-	-	+	+	+
B. adolescentis	d	+	+	d	+	+
	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

Bifidobacterum spp. ต้องการวิตามินในการเจริญ โดยเฉพาะวิตามินบีหนึ่ง (thiamine) วิตามินบีหก (pyridoxine) วิตามินบีเก้า (folic acid) และวิตามินบีสิบสอง (cyanocobalamin) โดยการสังเคราะห์วิตามินนั้นจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การสังเคราะห์วิตามินของ *Bifidobacteria* spp.

วิตามิน (μg/ml)	จุลินทรีย์				
	B. adolescentis	*B. bifidum*	*B. breve*	*B. infantis*	*B. longum*
Thiamine	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	I.c.	n.s.	I.c.	I.c.	I.c.
Biotin	I.c.	n.s.	I.c.	I.c.	I.c.
Biboflvin	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

I.c.= ความเข้มข้นต่ำ n.s.=ไม่สังเคราะห์

ที่มา : Arunachalam, 1999

2.1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ *Bifidobacterium* spp.

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้สำหรับ *Bifidobacterium* spp. สามารถแบ่งได้เป็น non-selective media และ selective media โดย non-selective media ใช้ในการนับจำนวนเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ในผลิตภัณฑ์นม เพื่อตรวจหาจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น และจุลินทรีย์ที่เหลือรอดระหว่างช่วงการเก็บผลิตภัณฑ์ non-selective media ที่นิยมใช้ ได้แก่ Reinforced Clostridial Agar และ De Man Rose Sharp (MRS) ซึ่งมีส่วนผสมของ cysteine และผงวุ้น ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีขายในท้องตลาด และใช้สำหรับห้องปฏิบัติการในระดับอุตสาหกรรมเพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพ (Roy, 2001) L-cysteine ที่เป็นส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อจะทำหน้าที่เป็นแหล่งของสารไนโตเจนให้กับเชื้อ *Bifidobacterium* spp. (Shah, 1997) และช่วยทำหน้าที่ในการลดค่ารีดอกซ์โพเทนเชียลในอาหารซึ่งจะช่วยเสริมให้เกิดสภาวะไร้อากาศให้เหมาะสมกับการเจริญของเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อ Modified MRS Agar (mMRS agar) มีส่วนผสมของ L-cysteine จำนวนร้อยละ 0.5 และ HCL เพื่อช่วยในการฟื้นฟูเซลล์ของเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ซึ่ง mMRS ได้ถูกนำมาใช้สำหรับนับเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ที่บริสุทธิ์ (Payne et al, 1999;

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

Roy, 2001) จากการทดลองนับเชื้อ *Bifidobacterium* spp. โดยใช้ mMRS agar โดยวิธี spread plate และ pour plate พบว่าการ Spread plate ทำให้เชื้อ *B. longum, B. adolescenctis* และ *B. bifidum* เจริญได้ร้อยละ 59, 92 และ 117 ตามลำดับ ส่วนในการเพาะเชื้อโดยวิธี pour plate จะสามารถเจริญได้ร้อยละ 45, 45 และ 107 ตามลำดับ (Roy, 2001)

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการแยกเชื้อ *Bifidobacterium* spp. จากเชื้อ lactic acid bacteria มีอยู่หลายชนิดด้วยกัน 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) อาหารเลี้ยงเชื้อ HHD agar (Homofermentative Heterofermentative Differential Medium) จัดเป็น selective media ที่ใช้แยกแบคทีเรีย 2 กลุ่ม คือ homofermentative และ heterofermentative ออกจากกัน เนื่องจากมีการผลิตน้ำตาลฟรุคโตสได้แตกต่างกันลักษณะโคโลนีที่เกิดขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ HHD agar จึงมีความแตกต่างกันโดยเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม homofermentative จะมีลักษณะโคโลนีเป็นสีฟ้า-เขียว ส่วนเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม heterofermentative เช่น *Bifidobacterium* spp. จะมีโคโลนีลักษณะสีขาว (IDF, 1997)

2.3 ประโยชน์ของเชื้อจุลินทรีย์ Bifidobacteria ต่อสุขภาพร่างกาย

จุลินทรีย์ Bifidobacteria เป็นจุลินทรีย์ที่พบมากในลำไส้ใหญ่ซึ่งมีรายงานว่ามีประโยชน์ต่อร่างกาย ดังนี้

1. ช่วยรักษาสมดุลของเชื้อจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร ยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรคที่อาจเป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อต่างๆ เช่น ควบคุมการเจริญของเชื้อ Coliforms, Enterococci และ Clostridia ในทารกที่ได้รับน้ำนมจากมารดา และเด็กที่มีปริมาณ Bifidobacteria สูงจะสามารถต้านทานต่อการติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารได้ดี (Huges and Hoover, 1991)

2. บรรเทาอาการแพ้น้ำตาลแลคโตส ซึ่งคนเชื้อชาติเอเชียและอาฟริกาส่วนใหญ่ไม่สามารถผลิตเอนไซม์ β-galactosidase ที่ย่อยน้ำตาลแลคโตสได้ การให้ผู้ทดสอบดื่มนมที่มีเชื้อ *Bifidobacterium* spp. พบว่าสามารถลดอาการแพ้น้ำตาลแลคโตสลงได้ (Salminen et al., 1998)

3. สามารถลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือด มีงานวิจัยให้หนูกิน Bifidobacteria แล้วพบว่าสามารถลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือดของหนูลงได้ (Huges and Hoover, 1991)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4. ส่งเสริมการย่อยโปรตีน โดย Bifidobacteria มีกิจกรรมฟอสโฟโปรตีนฟอสเฟส (Phosphoprotein phosphase activity) ซึ่งช่วยเพิ่มการดูดซึมโปรตีนโดยมีการย่อยเคซีนในนมได้ดีขึ้น (Arunachalam, 1999)

5. ช่วยสังเคราะห์วิตามินบี Bifidobacteria สามารถสังเคราะห์วิตามินได้หลายชนิด เช่น วิตามินบีหนึ่ง วิตามินบีสอง วิตามินบีหก และวิตามินเค ซึ่งวิตามินจะถูกดูดซึมอย่างช้าๆ เข้าสู่ร่างกาย (Arunachalam, 1999)

6. กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย (Saloff-Coste, 1997)

7. ต่อต้านการเกิดเนื้องอก (Anti-tumerigenic activity) และต่อต้านการเกิดมะเร็ง (Anti-carcinogienic activity) ซึ่ง Bifidobacteria มีทั้งกำจัดสารก่อมะเร็งทั้งทางตรงและทางอ้อม การกำจัดสารก่อมะเร็งทางตรง เช่น การลดปริมาณสารไนโตรซามิน (Nitrosamine) ของ *B. breve* ส่วนการกำจัดสารก่อมะเร็งทางอ้อม ได้แก่ การลดแหล่งของสารตั้งต้นการเกิดมะเร็ง (Procarcinogenic) หรือลดปริมาณเอนไซม์ที่สร้างสารก่อมะเร็ง หรือควบคุมการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่สังเคราะห์สารเหล่านี้ (Huges and Hoover, 1991)

8. มีคุณสมบัติเป็นสารปฏิชีวนะ (Antibiotic) โดยได้มีการศึกษาถึงการต่อต้านจุลินทรีย์ที่ก่อโรค พบว่าเชื้อ *Bifidobacterium* spp. มีผลในการต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรค เช่น *Escherichia Coli, Staphylococcus aureus, Shigella dysentoriae, Salmonella typhi, Proteus* spp.และ *Candida albicans* โดย Bifidobacteria สามารถผลิตกรดที่สามารถยังยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคได้ (Arunachalam, 1999) จากการศึกษาของ Hotta et al., (1987) พบว่าผลิตภัณฑ์นมที่มีเชื้อ *Bifidobacterium* spp. สามารถใช้รักษาการติดเชื้อในเด็กญี่ปุ่นได้

9. ผลิตภัณฑ์ที่มีการใช้เชื้อ *Bifidobacterium* spp. เช่น Bifidus milk จะมีประโยชน์ต่อร่างกายดีกว่าการใช้จุลินทรีย์ชนิดอื่นเนื่องจากเชื้อ *Bifidobacterium* spp. สามารถสร้าง L - (+) - lactic acid ซึ่งร่างกายใช้ในระบบเมตาบอลิซึมได้มากกว่ากรดแลคติคในรูป D - (-) - lactic acid ซึ่งเป็นกรดที่สร้างจากเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น และการที่ร่างกายมีการสะสมของ D - (-) - lactic acid มากเกินไปอาจทำให้ร่างกายเสียสมดุลได้ (Arunachalam, 1999)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2.4 การนำเชื้อจุลินทรีย์ *Bifidobacterium* spp. มาใช้ในผลิตภัณฑ์

Kamaly (1997) ได้ศึกษาการหมักน้ำนมถั่วเหลืองด้วยเชื้อจุลินทรีย์ Bifidobacteria โดยศึกษาการเจริญ และการสร้างกรดของ Bifidobacteria 2 สายพันธุ์ คือ *B. longum* และ *B. bifidum* ที่หมักในนมผงพร่องมันเนย (Skimmed milk) น้ำนมถั่วเหลือง และ อาหารเลี้ยงเชื้อ modified

MRS broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียว นาน 24 ชั่วโมง พบว่า อัตราการเจริญของเชื้อ Bifidobacteria เรียงลำดับจากมากไปน้อย ได้แก่ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ในนมผงพร่องมันเนย และในน้ำนมถั่วเหลือง ซึ่งเชื้อ *B. longum* และ *B. bifidum* สามารถลดระดับของค่าความเป็นกรดด่างในนมผงพร่องมันเนย เท่ากับ 1.18 และ 1.59 ตามลำดับ ในน้ำนมถั่วเหลืองเท่ากับ 1.01 และ 1.30 ตามลำดับ นอกจากนั้นยังได้ศึกษาเปรียบเทียบการเจริญของเชื้อ *B. longum* และ *B. bifidum* ในนมถั่วเหลืองที่เสริมด้วยกลุ่มของ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และอะมิโน กับนมถั่วเหลืองที่ไม่ได้เสริมอะไรเลย พบว่า กลุ่มที่เสริมด้วยโปรตีน คาร์โบไฮเดรต และอะมิโนทำให้เชื้อ *B. longum* และ *B. bifidum* สามารถเพิ่มจำนวนและสร้างกรดได้ดีกว่า

Chou and Hou (2000) ได้ศึกษาการเจริญของ Bifidobacteria จำนวน 2 สายพันธุ์ คือ *Bifidobacterium infantis* CCRC 14633 และ *Bifidobacterium longum* B6 ในนมถั่วเหลือง พบว่า นมถั่วเหลืองส่งเสริมการเจริญของ Bifidobacteria ทั้ง 2 สายพันธุ์ โดย *B. infantis* สามารถเจริญได้ดีกว่า *B. longum* เมื่อเสริมนมถั่วเหลืองด้วยกลุ่มของ bifitose (isomaltooligosaccharide) ได้แก่ กลูโคส แลคโตส หรือ กาแลคโตส การหมักไว้นาน 48 ชั่วโมง จะทำให้ *B. infantis* และ *B. longum* สามารถเจริญได้ดีมากขึ้น นอกจากนั้นหากเสริมด้วย yeast extract, peptone, tryptone และ casitone ในนมถั่วเหลืองจะทำให้สามารถเพิ่มจำนวนของ *B. infantis* ในนมถั่วเหลืองได้สูงสุด และใช้ระยะเวลาหมักสั้นลงคือ 24 ชั่วโมง การผลิตกรดของ *B. infantis* และ *B. longum* ในนมถั่วเหลืองที่ไม่ได้เสริมด้วย yeast extract ไม่มีผลกับการเจริญของทั้ง 2 สายพันธุ์ ซึ่งแตกต่างจากนมถั่วเหลืองที่เสริมด้วย yeast extract การผลิตกรดของ *B. infantis* มีผลต่อการเจริญของ *B. infantis* เมื่อเก็บโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองไว้ช่วงระยะเวลาหนึ่ง จำนวนของ *B. longum* ลดลงมากกว่า *B. infantis* และเมื่อเก็บโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส การเหลือรอดของจุลินทรีย์ทั้ง 2 สายพันธุ์มีมากกว่า เมื่อเปรียบเทียบกับเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส โดยพบว่าหลังจากเก็บโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองไว้ที่ อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสเป็นเวลานาน 10 วัน *B. infantis* และ *B. longum* จะลดจำนวนลง 0.44 และ 3.18 log CFU/ml ตามลำดับ

Wang et al., (2003) ได้ศึกษาปริมาณน้ำตาลและกรดในนมถั่วเหลืองที่หมักด้วยแบคทีเรียแลคติคอย่างเดียวและใช้แบคทีเรียแลคติคร่วมกับ Bifidobacteria โดยเชื้อที่ศึกษา คือ *Lactobacillus acidophillus* CCRC 14079, *Streptococcus thermophillus* CCRC 14085, *Bifidobacteria infantis* CCRC 14633 และ *Bifidobacteria longum* B6 โดยแบ่งกลุ่มการทดลอง ดังนี้ กลุ่มทดลองที่ 1 หมักนมถั่วเหลืองโดยใช้ *L. acidophillus* กลุ่มทดลองที่ 2 ใช้ *S. thermophillus* กลุ่มทดลองที่ 3 ใช้ *L. acidophillus* ร่วมกับ *B. infantis* กลุ่มทดลองที่ 4 ใช้ *L. acidophillus* ร่วมกับ *B. longum* กลุ่มทดลองที่ 5 ใช้ *S. thermophillus* ร่วมกับ *B. infantis* และกลุ่มทดลองที่ 6 ใช้ *S. thermophillus*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ใช้ร่วมกับ *B. longum* โดยใช้ระยะเวลาการบ่มนาน 32 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่าในโยเกิร์ตนมถั่วเหลืองที่หมักด้วยแบคทีเรียแลคติคร่วมกับ Bifidobacteria สามารถผลิตน้ำตาลซูโครส ฟรุกโตส กลูโคส กาแลคโตส และ กรดอะซิตริกได้ปริมาณสูงกว่า ขณะเดียวกันพบว่าสตาคีโอส และแรฟฟิโนส มีปริมาณลดลงมากกว่ากลุ่มทดลองที่ใช้แบคทีเรียแลคติคเพียงอย่างเดียว นอกจากนั้น Wang et al., (2002) ยังได้ศึกษาการเจริญและการเหลือรอดของแบคทีเรียแลคติคร่วมกับ Bifidobacteria ในนมถั่วเหลือง โดยศึกษาจุลินทรีย์ห้าสายพันธุ์ คือ *L. acidophilus*, *S. thermophillus* และ *L. bulgaricus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแลคติค และ *B. infantis* และ *B. longum* ซึ่งเป็น Bifidobacteria โดยศึกษาการเจริญของจุลินทรีย์แต่ละตัวที่ใช้ในการหมักนมถั่วเหลืองเปรียบเทียบกับการหมักด้วยแบคทีเรียแลคติคร่วมกับ Bifidobacteria โดยใช้ระยะเวลาหมักนาน 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นได้ศึกษาการเหลือรอดโดยเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสเปรียบเทียบกับการเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10 วัน ผลการศึกษาพบว่า การหมักนมถั่วเหลืองด้วยแบคทีเรีย แลคติคร่วมกับ Bifidobacteria สามารถส่งเสริมการเจริญของ Bifidobacteria โดยเมื่อหมักนม ถั่วเหลืองด้วย *B. infantis* ร่วมกับ *L. bulgaricus* นาน 48 ชั่วโมง มีการเจริญของเชื้อ *B. infantis* เพิ่มมากกว่าเมื่อหมักนมถั่วเหลืองด้วยเชื้อ *B. infantis* เพียงอย่างเดียว อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ขณะที่หมักนมถั่วเหลืองด้วย *B. infantis* ร่วมกับแลคติคแบคทีเรียตัวอื่น ได้แก่ *S. thermophilus* และ *L. acidophilus* เป็นระยะเวลานาน 8 ชั่วโมง มีการเจริญของเชื้อ *B. infantis* เพิ่มขึ้นมากกว่าการหมักนมถั่วเหลืองด้วย *B. infantis* เพียงอย่างเดียว แต่หากหมักต่อไปเป็นระยะเวลานาน 48 ชั่วโมง การเจริญของเชื้อ *B. infantis* เพิ่มขึ้นน้อยกว่าการหมักนมถั่วเหลืองด้วย *B. infantis* เพียงอย่างเดียว สำหรับการเจริญของ *B. longum* เมื่อหมักนมถั่วเหลืองร่วมกับแลคติคแบคทีเรีย นาน 24 ชั่วโมง พบว่าเชื้อ *B. longum* มีการเจริญมากกว่าการหมักด้วย เชื้อ *B. longum* เพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) แต่หากหมักต่อไประยะเวลานาน 48 ชั่วโมง พบว่าการเจริญของเชื้อ *B. longum* เพิ่มขึ้นน้อยกว่าการหมักนมถั่วเหลืองด้วย *B. longum* เพียงอย่างเดียว ผลการศึกษาการเหลือรอดโดยเก็บผลิตภัณฑ์ไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสเปรียบเทียบกับการเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10 วัน พบว่า การเก็บผลิตภัณฑ์ไว้ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส มีการเหลือรอดของเชื้อแบคทีเรียแลคติค และ Bifidobacteria มากกว่าการเก็บที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

อิศรา (2546) ได้พัฒนาโยเกิร์ตข้าวกล้องเติมเชื้อโพรไบโอติค โดยการหมักข้าวกล้องสุกด้วยเชื้อผสมระหว่าง *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* YC-380 ร่วมกับเชื้อโพรไบโอติค *B. longum* Bb-46 หมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่า มีปริมาณเชื้อ *B. longum* เจริญเท่ากับ 2.7×10^9 CFU/g และเชื้อผสมระหว่าง *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เจริญเท่ากับ 1.5 x 10^9 CFU/g การเก็บรักษาโยเกิร์ตข้าวกล้องที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน พบว่า ผลิตภัณฑ์มีการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี จุลินทรีย์และค่าการยอมรับทางประสาทสัมผัสเพียงเล็กน้อย และพบว่า มีปริมาณเชื้อ *B. longum* เหลืออยู่มากกว่า 1 x 10^7 CFU/g

ณัติพร (2548) ได้ศึกษาผลของน้ำผึ้งต่อการเหลือรอดของ *B. longum* ในไอศกรีมโยเกิร์ตข้าวกล้อง โดยได้ทำการศึกษาในน้ำผึ้งลำไยและน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน พบว่าความเข้มข้นของน้ำผึ้งลำไยและน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านร้อยละ 10 เหมาะสมต่อการนำไปผลิตไอศกรีมโยเกิร์ตข้าวกล้องที่สุด โดยมีปริมาณเชื้อ *B. longum* เจริญเท่ากับ 12.77 และ 11.63 log CFU/g ตามลำดับ ไอศกรีมโยเกิร์ตข้าวกล้องเติมเชื้อ *B. longum* สูตรที่ใช้น้ำผึ้งลำไยและน้ำผึ้งขี้ไก่ย่านร้อยละ 10 มีปริมาณเชื้อ *B. longum* เหลือรอดหลังจากเก็บ 1 วัน ที่ อุณหภูมิ -12 ±1 องศาเซลเซียสเท่ากับ 7.36 และ7.02 log CFU/g ตามลำดับ หลังจากเก็บ 90 วันเหลือรอดเท่ากับ 7.51 และ5.8 log CFU/g ตามลำดับ การเก็บนาน 90 วันไม่มีการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของไอศกรีมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่โคโลนีของเชื้อ *S. thermophilus* ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ HHD agar มีลักษณะเป็นมันเลื่อมนูนกว่าโคโลนีของเชื้อที่เจริญในโยเกิร์ต

Garro et al., (2004) ได้ศึกษาผลของอุณหภูมิต่อกิจกรรมทางชีวภาพของเชื้อจุลินทรีย์ *B. longum* และ *L. fermentum* ในนมถั่วเหลืองซึ่งใช้ระยะเวลาการบ่มนาน 24 ชั่วโมง โดยหมักนมถั่วเหลืองด้วยจุลินทรีย์ *B. longum* และหมักนมถั่วเหลืองด้วยจุลินทรีย์ *L. fermentum* เพียงชนิดเดียว เปรียบเทียบกับการหมักด้วยเชื้อผสมคือ *B. longum* ร่วมกับ *L. fermentum* โดยหมักที่อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 30, 37 และ42 องศาเซลเซียส ผลการศึกษาพบว่า การหมักนมถั่วเหลืองที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีอัตราการเจริญและเหลือรอดของเชื้อจุลินทรีย์สูงที่สุด ทั้งการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์เพียงเชื้อเดียวและการหมักด้วยเชื้อผสม

2.5 การเจริญของเชื้อ *S. thermophilus* และ *L. bulgaricus* ในโยเกิร์ต

เชื้อโยเกิร์ตโดยทั่วไปประกอบด้วย *S. thermophilus* และ *L. bulgaricus* ลักษณะของเชื้อ *S. thermophilus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวกรูปร่างกลมจัดเรียงตัวเป็นรูปโซ่ ส่วนเชื้อ *L. bulgaricus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก เซลล์มีลักษณะเป็นท่อน อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวหรือคู่ หรือเป็นสายสั้นๆ เจริญได้ที่อุณหภูมิ 20-40 องศาเซลเซียส (วราวุฒิ และรุ่งนภา, 2532)

การเจริญของเชื้อ *S. thermophilus* และ *L. bulgaricus* ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตเป็นแบบพึ่งพาอาศัยกัน *(symbiosis)* คือที่อุณหภูมิการหมัก 40 องศาเซลเซียส เชื้อ *S. thermophilus* จะเจริญได้ดี

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

และสร้าง diacetyl และสารประกอบคล้ายกันซึ่งจะทำให้โยเกิร์ตมีกลิ่นรสที่ดี นอกจากนี้ *S. thermophilus* ยังช่วยกำจัดออกซิเจนจากนม ซึ่งหากมีออกซิเจนเหลืออยู่อาจก่อให้เกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ การเจริญของเชื้อ *S. thermophilus* จะดำเนินต่อไปจนกระทั่งมีค่าความเป็นกรดด่างประมาณ 5.5 ซึ่งจะมีสารอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อ *L. bulgaricus* โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *L. bulgaricus* คือ 45 องศาเซลเซียส เมื่อเชื้อ *L. bulgaricus* เจริญและมีปริมาณกรดแลคติคมากพอจะสร้าง acetaldehyde ซึ่งให้กลิ่นรสเฉพาะของโยเกิร์ต โยเกิร์ตที่มีกลิ่นรสดีจะมีปริมาณ acetaldehyde ที่ประมาณ 23-41 พีพีเอ็ม แต่อย่างไรก็ตามเชื้อ *S. thermophilus* ก็สามารถสร้างสารให้กลิ่นรส พวก acetaldehyde ได้ด้วย แต่มีปริมาณน้อยกว่า acetaldehyde ที่สร้างจากเชื้อ *L. bulgaricus* (วราวุฒิ และรุ่งนภา, 2532)

เรณู (2523) ได้ศึกษาการพัฒนาผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตจากน้ำนมถั่วเหลืองโดยได้เปรียบเทียบทางด้านรสชาติ โดยแบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ใช้น้ำนมถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *L. bulgaricus* กลุ่มที่ 2 ใช้น้ำนมถั่วเหลืองหมักด้วย *S. thermophilus* ร่วมกับ *L. bulgaricus* กลุ่มที่ 3 ใช้น้ำนมถั่วเหลืองหมักด้วย *S. thermophilus* เพียงอย่างเดียว และกลุ่มที่ 4 ใช้น้ำนม ถั่วเหลืองที่ทำให้เป็นกรดโดยเติมกรดแลคติคลงไปโดยไม่เติมเชื้อจุลินทรีย์ ผลการศึกษาพบว่า การหมักนมถั่วเหลืองด้วยเชื้อ *L. bulgaricus* เพียงเชื้อเดียวทำให้ผลิตกรดได้เพียงพอ ให้รสชาติเป็นที่ยอมรับมากที่สุด และถ้าใช้เชื้อจุลินทรีย์ในการหมักคนละชนิดกัน คือ *S. thermophilus* หรือ *L. balgaricus* จะให้ผลที่แตกต่างกัน แสดงว่าคุณสมบัติทางด้านกิจกรรมชีวเคมี (Biochemical activities) ของจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดมีความแตกต่างกัน ความสามารถในการผลิตกรดแลคติคจึงไม่เท่ากัน

2.6 น้ำผึ้ง

น้ำผึ้ง เป็นผลิตผลจากน้ำหวานที่ผึ้งงานดูดมาจากเกสรดอกไม้และจากแหล่งน้ำหวานอื่นๆ เมื่อพบแหล่งอาหารผึ้งงานจะดูดน้ำหวานที่มีอยู่ตามโคนกลีบดอกไม้แล้วเก็บไว้ในกระเพาะน้ำหวานเมื่อผสมกับน้ำย่อยหรือเอนไซม์ในตัวผึ้ง แล้วแปรสภาพเป็นน้ำผึ้งแล้วนำมาเก็บรวมไว้ในรังผึ้ง โดยปกตินำผึ้งจะเป็นของเหลวใส มีลักษณะข้นหนืดและมีรสหวาน ถ้าเก็บน้ำผึ้งไว้ในที่เย็นจะทำให้น้ำตาลที่เป็นส่วนประกอบของน้ำผึ้งตกผลึกได้ การตกผลึกของน้ำผึ้งขึ้นอยู่กับอัตราส่วนของน้ำตาลต่อน้ำถ้าอัตราส่วนของน้ำตาลกลูโคสต่อน้ำ เป็น 2 : 1 หรือมากกว่าจะตกผลึกง่าย แต่ถ้าน้ำผึ้งมีอัตราส่วนของน้ำตาลกลูโคสต่อน้ำเป็น 1.7 : 1 หรือน้อยกว่า น้ำผึ้งจะเป็นของเหลวและไม่ตกผลึก (ลักขณา และนิธิยา, 2544)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2.6.1 ลักษณะของน้ำผึ้งที่ดี

น้ำผึ้งที่ดีต้องเป็นน้ำผึ้งที่มีกรรมวิธีการเก็บจากรังอย่างถูกต้อง มีกระบวนการเก็บรักษาที่สะอาด ปราศจากกากและสิ่งเจือปน ไม่มีตะกอน มีความใสหรือโปร่งแสง ไม่มีไขผึ้ง ไม่มีฟองหรือกลิ่นบูดเปรี้ยว สีของน้ำผึ้งจะมีระดับแตกต่างกันระหว่างสีเหลืองอ่อน น้ำตาลอ่อนถึงน้ำตาลไหม้ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของเกสรดอกไม้ที่ผึ้งไปดูดน้ำหวานมา เช่นน้ำผึ้งที่ได้จากดอกลำไยจะมีสีเข้มกว่าน้ำผึ้งที่ได้จากดอกลิ้นจี่ ดอกเงาะและดอกทุเรียน ซึ่งน้ำหวานที่ได้จากดอกไม้แต่ละชนิดจะมีสีกลิ่น และรสชาติที่แตกต่างกันไป รวมถึงองค์ประกอบและโครงสร้างของน้ำตาลก็จะแตกต่างกันด้วย (หลวงบุเรศรบำรุงการ, 2528) สีของน้ำผึ้งจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณแร่ธาตุในน้ำผึ้ง น้ำผึ้งที่มีสีอ่อนจะมีรสชาตินุ่มนวล และน้ำผึ้งที่มีสีเข้มจะให้รสหวานจัด (The National Honey Board, 1985)

2.6.2 องค์ประกอบและปริมาณสารอาหารในน้ำผึ้ง

น้ำผึ้งมีองค์ประกอบหลักเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว คือ ฟรุคโตสและกลูโคส รองลงมา คือ น้ำและ น้ำตาลซูโครส และสารอื่นๆดังแสดงในตารางที่ 3 ส่วนปริมาณสารอาหารในน้ำผึ้งแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 3 องค์ประกอบของน้ำผึ้ง

องค์ประกอบ	ปริมาณโดยเฉลี่ย (ร้อยละ)
น้ำตาลฟรุคโตส	38.5
น้ำตาลกลูโคส	31.0
น้ำ	17.1
น้ำตาลมอลโตส	7.2
น้ำตาลโมเลกุลสามและคาร์โบไฮเดรตอื่นๆ	4.2
น้ำตาลซูโครส	1.5
แร่ธาตุ วิตามิน และเอนไซม์	0.5

ที่มา : The National Honey Board, 2002

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4 ปริมาณสารอาหารในน้ำผึ้ง 1 ช้อนโต๊ะ (15 มิลลิลิตร หรือ 21 กรัม)

สารอาหาร	ปริมาณโดยเฉลี่ย
น้ำ	3.62 กรัม
พลังงาน	64 แคลอรี่
คาร์โบไฮเดรต (โดยรวม)	17.64 กรัม
-ฟลุคโตส	8.16 กรัม
-กลูโคส	6.57 กรัม
-มอลโตส	1.53 กรัม
-ซูโครส	0.32 กรัม
-อื่นๆ	0.88 กรัม
ใยอาหาร	0.04 กรัม
ไขมัน	0.00 กรัม
โปรตีน	0.06 กรัม
วิตามิน	
-ไรโบฟลาวิน	0.01 มิลลิกรัม
-ไนอาซิน	0.03 มิลลิกรัม
-กรดเพนทาโทเทนิก	0.01 มิลลิกรัม
-บี 6	0.01 มิลลิกรัม
-โฟเลต	0.42 ไมโครกรัม
-ซี	0.11 มิลลิกรัม
เกลือแร่	
-แคลเซียม	1.27 มิลลิกรัม
-ฟอสฟอรัส	0.85 มิลลิกรัม
-โซเดียม	0.85 มิลลิกรัม
-โพแทสเซียม	1.02 มิลลิกรัม
-เหล็ก	0.09 มิลลิกรัม

ที่มา : The National Honey Board, 2002

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4 (ต่อ) ปริมาณสารอาหารในน้ำผึ้ง 1 ช้อนโต๊ะ (15 มิลลิลิตร หรือ 21 กรัม)

สารอาหาร	ปริมาณโดยเฉลี่ย
-สังกะสี	0.05 มิลลิกรัม
-แมกนีเซียม	0.42 มิลลิกรัม
-ซิลิเนียม	0.17 มิลลิกรัม
-ทองแดง	0.01 มิลลิกรัม
-แมงกานิส	0.02 มิลลิกรัม

ที่มา : The National Honey Board, 2002

2.6.3 คุณสมบัติทางเคมีของน้ำผึ้ง

น้ำผึ้งแต่ละชนิดมีคุณสมบัติทางเคมีที่แตกต่างกันตามชนิดของดอกไม้ที่ให้น้ำหวาน ฤดูกาลที่ทำการเก็บน้ำผึ้ง และสภาพแวดล้อมที่เลี้ยงผึ้ง (Mizrahi, 1997) สมบัติทางเคมีของน้ำผึ้งดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 สมบัติทางเคมีของน้ำผึ้ง

สมบัติทางเคมี	ปริมาณ (ร้อยละ)
ความชื้น	15.7-26.7
เถ้า	0.04-0.93
ไนโตรเจน	0.05-0.38
น้ำตาลรีดิวซิง	85.0-94.9
กรดอิสระ	12.9-58.0
ค่าความเป็นกรดด่าง	3.6-5.6

ที่มา : ลักขณาและนิธิยา, 2544

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2.6.4 สมบัติทางกายภาพของน้ำผึ้ง

สมบัติด้านการไหล

น้ำผึ้งโดยส่วนใหญ่จะมีสมบัติการไหลแบบ Newtonian แต่ยังมีน้ำผึ้งบางชนิดที่มีสมบัติด้านการไหลแบบ Thixotropic เช่นน้ำผึ้ง Heather และน้ำผึ้ง Manuka จากประเทศนิวซีแลนด์โดยปริมาณโปรตีน และน้ำหนักโมเลกุลของคาร์โบไฮเดรต จะมีผลต่อสมบัติการไหล (The National Honey Board, 1985)

ความถ่วงจำเพาะ

น้ำผึ้งมีค่าความถ่วงจำเพาะขึ้นกับแหล่งที่มาของน้ำหวานที่ผึ้งนำมาผลิตเป็นน้ำผึ้ง และขึ้นกับปริมาณความชื้นดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ความถ่วงจำเพาะโดยเฉลี่ยของน้ำผึ้ง

ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)	ค่าความถ่วงจำเพาะที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส
15	1.4350
18	1.4171

ที่มา : The National Honey Board, 1985

ความหนืด

ความหนืดของน้ำผึ้งขึ้นกับปริมาณความชื้น อุณหภูมิ และแหล่งของดอกไม้ที่ให้น้ำหวาน โดยทั่วไปค่าความหนืดจะอยู่ในเกณฑ์ดังแสดงในตารางที่ 7-9

ตารางที่ 7 ค่าความหนืดของน้ำผึ้งที่มีปริมาณความชื้นต่างกัน วัดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)	ความหนืด (พอยส์)
15.5	138.0
17.1	69.0
18.2	48.1
19.1	34.9
20.2	20.4

ที่มา : The National Honey Board, 1985

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 8 ค่าความหนืดของน้ำผึ้งที่อุณหภูมิต่างๆ กัน ที่มีปริมาณความชื้นร้อยละ 16.1

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความหนืด (พอยส์)
13.7	600.0
29.0	68.4
39.4	21.4
48.1	10.7
71.1	2.6

ที่มา : The National Honey Board, 1985

ตารางที่ 9 ค่าความหนืดของน้ำผึ้งจากดอกไม้ต่างชนิดกัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสปริมาณความชื้นร้อยละ 16.1

ชนิดของดอกไม้	ความหนืด (พอยส์)
เสจ (sage)	115.0
สวิท โคลเวอร์ (sweet clover)	87.5
ไวท์ โคลเวอร์ (white clover)	94.0

ที่มา : The National Honey Board, 1985

2.6.5 ประโยชน์ของน้ำผึ้ง

น้ำผึ้งได้ถูกนำไปใช้ในอาหารมากมาย ซึ่งนอกจากจะให้คุณค่าทางโภชนาการแล้วยังมีคุณสมบัติทางยาแก่ผู้บริโภคด้วย ในระดับครัวเรือนน้ำผึ้งได้ถูกนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในการทำอาหารอย่างแพร่หลาย ในโรงงานอุตสาหกรรม น้ำผึ้งได้ถูกนำมาใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์ขนมอบต่างๆ ผลิตภัณฑ์อาหารเช้า ลูกกวาด มามาเลด แยม ขนมปัง เครื่องดื่ม ผลิตภัณฑ์นม ไอศกรีม และรวมถึงอุตสาหกรรมการนำไปใช้ในการถนอมอาหาร (Food and Rural Revitalization, 2004) ดังแสดงในตารางที่ 10

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 10 การใช้น้ำผึ้งในผลิตภัณฑ์

ผลิตภัณฑ์	การประยุกต์ใช้
1. อาหาร	ใช้เป็นอาหารโดยไม่ต้องผ่านการแปรรูป
2. ส่วนผสมของอาหาร	
2.1 ผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ	เป็นสารเพิ่มความหวานเนื่องจากเป็นสารให้ความหวานที่ได้จากธรรมชาติ
2.2 ผลิตภัณฑ์ขนมอบ	ใช้น้ำผึ้งเป็นส่วนประกอบจะให้ลักษณะของเนื้อสัมผัส สีและกลิ่นรสที่ดี และช่วยรักษาความชื้นให้กับผลิตภัณฑ์ขนมอบทำให้แห้งช้า
2.3 ผลิตภัณฑ์ลูกกวาดและขนมหวาน	ใช้ในกระบวนการผลิตคาราเมล ทำให้ได้คาราเมลที่มีลักษณะนุ่มที่ผิวนอกและทำให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน
2.4 ผลิตภัณฑ์ธัญพืช	ช่วยเพิ่มกลิ่นรสและลักษณะที่ดี
3. เครื่องสำอางและยา	เป็นส่วนผสมของเครื่องสำอางและเป็นส่วนประกอบของยา
4. อุตสาหกรรมผลิตยาสูบ	รักษาความชื้นและกลิ่นหอมของผลิตภัณฑ์

ที่มา : Food and Rural Revitalization, 2004

2.6.6 คุณสมบัติของน้ำผึ้งที่มีผลกับเชื้อจุลินทรีย์

องค์ประกอบที่สำคัญของน้ำผึ้งได้แก่ น้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส ซูโครส มอลโตส เดกซ์ตริน แร่ธาตุต่างๆและโปรตีน นอกจากนั้นจะมีเกสรดอกไม้และเอนไซม์ ซึ่งช่วยเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสเป็นกลูโคสและฟรุคโตส (ลักขณาและนิธิยา, 2544) ในน้ำผึ้งยังประกอบด้วย คาร์โบไฮเดรตที่สามารถหมักได้ประเภท Oligosaccharides ซึ่งมีคุณสมบัติเป็น Prebiotic ที่ส่งเสริมการเจริญ การเหลือรอดและการผลิตกรดของจุลินทรีย์ Bifidobacteria ในนม ซึ่ง Prebiotic คือ ส่วนประกอบของอาหารที่ไม่ย่อยและดูดซึมในระบบทางเดินอาหารตอนบน และสามารถเพิ่มปริมาณแบคทีเรียชนิดเฉพาะเจาะจงที่มีอยู่ตามปกติในลำไส้ใหญ่ เช่น Bifidobacteria และ Lactobacilli ซึ่งส่งผลดีต่อสุขภาพ (Yanoski, 2000) อย่างไรก็ตาม มีการศึกษาพบว่าน้ำผึ้งบางชนิดมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้ น้ำผึ้งที่ได้จากแหล่งที่มาแตกต่างกันมีผลต่อการต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ต่างกัน และการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำผึ้งขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ด้วยเช่นกัน (ชลดา, 2547)

การศึกษาอิทธิพลของน้ำผึ้งและซูโครสต่อจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลคติคในการทดลองในหลอดทดลองและในหนูทดลอง โดย Shamala et al., (2000) พบว่า การให้น้ำผึ้งเปรียบเทียบกับซูโครสในหนูทดลอง พบว่า ในลำไส้ของหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำผึ้งจะมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลคติคเพิ่มมากกว่ากลุ่มที่ได้รับซูโครสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ผลการศึกษานี้สนับสนุนว่าการบริโภคน้ำผึ้งส่งผลให้เชื้อจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลคติคมีปริมาณสูงขึ้น

2.6.7 ผลของน้ำผึ้งต่อการเจริญของเชื้อ *Bifidobacterium* spp.

Ustunol (2000) ได้ศึกษาพบว่าน้ำผึ้งมีปัจจัยที่ส่งเสริมการเจริญของเชื้อ Bifidobacteria คือ น้ำผึ้งมีสารที่มีคุณสมบัติเป็น Prebiotic ซึ่งเป็นอาหารที่ร่างกายไม่สามารถย่อยได้ และช่วยปรับปรุงสมดุลของเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ Prebiotic โดยทั่วไปได้แก่กลุ่มของ Oligosaccharides เช่น Fructooligosaccharides (FOS) และ Inulin ในน้ำผึ้งประกอบด้วย Oligosaccharides ผลการศึกษาผลของน้ำผึ้งเกรดเอที่ความเข้มข้น ร้อยละ 1, 3 และ 5 เปรียบเทียบกับสารให้ความหวานอื่น ได้แก่ ซูโครส ฟรุกโตส และกลูโคส ที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 12 ในนมผงปราศจากไขมัน (non fat dry milk) โดยใช้จุลินทรีย์ *Bifidobacterium* Bf-1, Bf-6 และ จุลินทรีย์ *B. longum* พบว่าผลของน้ำผึ้งต่อการเจริญของ Bifidobacteria ขึ้นกับสายพันธุ์ ของ Bifidobacteria และความเข้มข้นของน้ำผึ้ง ทั้ง *Bifidobacterium* Bf-1 และ Bf-6 สามารถเจริญได้ดีในน้ำผึ้งที่มีเข้มข้นร้อยละ 3 และร้อยละ 5 ในนมผงปราศจากไขมันมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับสารให้ความหวานอื่น และในน้ำผึ้งความเข้มข้นร้อยละ 5 มีประสิทธิภาพส่งเสริมการเจริญของ Bf-1 ดีที่สุด สำหรับ *B. longum* สามารถเจริญได้ดีในน้ำผึ้งเมื่อเปรียบเทียบกับสารให้ความหวานอื่น ส่วนการเหลือรอดของจุลินทรีย์ *B. longum* ในน้ำผึ้งความเข้มข้นร้อยละ 5 ที่เก็บไว้เป็นเวลานาน 28 วัน พบว่า มีการเหลือรอดสูงกว่าในซูโครสและฟรุกโตส แต่ต่ำกว่า กลูโคส

จากการศึกษาที่ผ่านมาสรุปได้ว่าน้ำผึ้งสามารถส่งเสริมการเจริญ การผลิตกรดและการเหลือรอดของ Bifidobacteria บางสายพันธุ์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมนมหมักผลของการส่งเสริมการเจริญและการผลิตกรดของ Bifidobacteria ขึ้นกับจำนวนของคาร์โบไฮเดรตในน้ำผึ้ง ผลของน้ำผึ้งต่อการส่งเสริมการเจริญ และการผลิตกรดในลำไส้ของ *Bifidobacterium* spp. เหมือนกับผลของการใช้ Oligosaccharides ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด เช่น FOS, GOS และ Inolin

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2.7 ถั่วเหลือง

2.7.1 ลักษณะทางวิทยาศาสตร์และแหล่งปลูก

ถั่วเหลืองมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Glysine max.* (L.) Merr. มีแหล่งกำเนิดในแถบเอเชียตอนใต้ ต่อมาแพร่กระจายไปยังทวีปต่างๆ เช่น ยุโรปและอเมริกา ในปัจจุบันสหรัฐอเมริกาเป็นผู้ผลิตถั่วเหลืองรายใหญ่ที่สุดในโลก โดยมีผลผลิตกว่าร้อยละ 60 ของตลาดโลกและเป็นผลผลิตทางการเกษตรอันดับต้นๆ รองจากข้าวโพดและข้าวสาลี สำหรับในประเทศไทยมีการปลูกถั่วเหลืองในภาคเหนือ ได้แก่ จังหวัดเชียงใหม่ ลำปาง และแพร่ ภาคกลางตอนเหนือ ได้แก่ จังหวัดเลยและนครราชสีมา (คมสันและวารี, 2542)

2.7.2 คุณค่าทางโภชนาการของถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองเป็นพืชที่ให้โปรตีนสูงและไขมันที่ร่างกายต้องการ และเมื่อเปรียบเทียบราคาของโปรตีนที่ได้จากถั่วเหลืองกับโปรตีนที่ได้จากสัตว์แล้ว จะเห็นว่าถั่วเหลืองมีราคาถูกกว่าหลายเท่า ในถั่วเหลืองมีสารประกอบที่เรียกว่า Isoflavones ซึ่งมีบทบาทในการป้องกันโรคเรื้อรังบางชนิดได้ เช่น โรคกระดูกพรุน โรคมะเร็ง โรคหัวใจ และกลุ่มอาการของสตรีวัยทองหรือวัยหมดประจำเดือน (Anderson et al., 1999) เป็นต้น

องค์ประกอบทางเคมีของถั่วเหลืองมีความแตกต่างกันเล็กน้อยขึ้นกับแหล่งเพาะปลูก โดยมีความชื้นอยู่ในช่วง ร้อยละ 6-10 ไขมันร้อยละ 19-22 และโปรตีนร้อยละ 37-45 พบว่าถั่วเหลืองพันธุ์พื้นเมืองมีปริมาณโปรตีนมากกว่าถั่วเหลือง สายพันธุ์ผสม ร้อยละ 49.5 แต่มีไขมันต่ำกว่า ร้อยละ 5.4 (วิเชียร, 2534)

โปรตีนจากถั่วเหลืองเป็นโปรตีนที่มีกรดอะมิโน และกำมะถันเป็นองค์ประกอบ ได้แก่ lysine ซึ่งมีปริมาณมาก แต่มี methionine และ cystein ปริมาณน้อย โปรตีนในถั่วเหลืองมีปริมาณเป็น 2 เท่าของปริมาณโปรตีนที่ได้จากเนื้อสัตว์ มีปริมาณเป็น 3-4 เท่าของโปรตีนที่ได้จากไข่ หรือแป้งสาลี และมีปริมาณเป็น 5-6 เท่าของขนมปัง (วิเชียร, 2534) จึงกล่าวได้ว่าโปรตีนจากถั่วเหลืองเป็นโปรตีนที่มีราคาถูกที่สุด แต่ความสมบูรณ์ของถั่วเหลืองจะด้อยกว่าน้ำนมวัว และงา แต่เมื่อเสริมกรดอะมิโน methionine จะทำให้โปรตีนของถั่วเหลืองมีความสมบูรณ์มากขึ้น (สมชาย, 2532)

คาร์โบไฮเดรตจากถั่วเหลือง มีอยู่ร้อยละ 25 ซึ่งประกอบด้วย ซูโครส กาแลคโตส และแป้ง เป็นต้น แต่มีปริมาณแป้งน้อยมาก จึงเป็นอาหารที่เหมาะสำหรับผู้ที่เป็นโรคเบาหวาน ถั่วเหลืองมีวิตามินต่าง ๆ ได้แก่ วิตามินที่ละลายได้ในไขมัน คือ วิตามินเอ ดี อี เค และวิตามินที่ละลายได้ใน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

น้ำ คือ วิตามินบี โดยเฉพาะวิตามินบีหก มีปริมาณมาก ส่วนแร่ธาตุในถั่วเหลืองมีหลายชนิด ได้แก่ โปแตสเซียม แคลเซียม ฟอสฟอรัสและแมกนีเซียม เป็นต้น (วิเชียร, 2534)

ไขมันในถั่วเหลืองประกอบด้วย กรดไขมัน เช่น oleic, linoleic และ linolenic ซึ่งเป็นกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย นอกจากนี้ถั่วเหลืองยังมีเอนไซม์ lipoxydase ซึ่งเป็นตัวทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมันในถั่วเหลืองที่เป็นสาเหตุทำให้เกิดกลิ่น แต่เอนไซม์นี้สามารถถูกทำลายได้ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส (วิเชียร, 2534)

2.7.3 การล้างและแช่ถั่วเหลืองในน้ำ

ถั่วเหลืองที่นำมาใช้ผลิตอาหารต้องผ่านขั้นตอนการทำความสะอาดเป็นอย่างดี เพื่อขจัดสิ่งแปลกปลอมต่างๆ ออกให้มากที่สุด การล้างถั่วเหลืองควรทำอย่างน้อย 3 ครั้ง ก่อนที่จะนำไปแช่เพื่อขจัด สิ่งสกปรกและสิ่งแปลกปลอมออกให้มากที่สุด การแช่ถั่วเหลืองในน้ำนอกจากเพื่อทำความสะอาดแล้ว ยังช่วยให้ถั่วเหลืองบดได้ง่ายขึ้นในขั้นตอนการเตรียมน้ำนมถั่วเหลือง

ปริมาณน้ำที่ใช้แช่ควรใช้ประมาณ 3 เท่าของน้ำหนักถั่ว ใช้เวลาแช่นาน 8-10 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิที่ใช้ในการแช่ เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นเวลาที่ใช้ในการแช่จะสั้นลง การแช่ในน้ำอุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส จะมีอัตราการดูดซึมน้ำมากที่สุด หากใช้อุณหภูมิสูงกว่านี้จะทำให้โปรตีนบางส่วนเสียสภาพเดิม ส่งผลทำให้ปริมาณผลผลิตลดลงมาก โดยทั่วไปหลังแช่ ถั่วเหลืองจะมีน้ำหนักเพิ่มขึ้น 2.2 เท่าของน้ำหนักก่อนแช่ (Shurtleff and Aoyaki, 1984)

2.7.4 การกำจัดสิ่งแปลกปลอมออกจากถั่วเหลือง

กลิ่นเหม็นเขียวของถั่วเหลือง เกิดในขั้นตอนการผลิตโดยเฉพาะการแช่ถั่วเหลือง โดยเอนไซม์ lipoxydase ที่มีอยู่ในเมล็ดถั่วเหลืองจะเป็นตัวเร่งให้เกิดออกซิเดชั่นในกรดไขมันไม่อิ่มตัว เกิดสารระเหยมากกว่า 80 ชนิดที่ให้กลิ่นที่ไม่ดี ที่สำคัญ คือ เฮกซิล ไวนิล คีโตน ที่ให้กลิ่นแรงมาก และสารประกอบอื่นๆ เช่น คีโตน อัลดีไฮด์ และอัลกอฮอล์ ในการลดสิ่งแปลกปลอมสามารถทำได้หลายวิธีโดย Shurtleff and Aoyaki (1984) ได้ศึกษาไว้ ดังนี้

1. การบดด้วยน้ำร้อน ต้องควบคุมอุณหภูมิของน้ำที่ใช้บดไม่ให้ต่ำกว่า 80 องศาเซลเซียส เพื่อยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ lipoxydase

2. การให้ความร้อนเบื้องต้น โดยการแช่ถั่วเหลืองแห้งในน้ำเดือดเป็นเวลา 20 นาที สามารถยับยั้งการทำงานของ เอนไซม์ lipoxydase ได้

3. การแช่ถั่วเหลืองในสารละลายด่าง เช่น แช่ถั่วเหลืองในโซเดียมไบคาร์บอเนต (Na HCO3) ร้อยละ 0.5 ช่วยให้น้ำนมถั่วเหลืองมีรสดีขึ้นและลดกลิ่นเห็นเขียวลงได้

4. การใช้ถั่วเหลืองกระเทาะเปลือกออกก่อนจะได้น้ำนมถั่วเหลืองที่ไม่มีรสขมมีสีขาวน่ารับประทาน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

5. การต้มถั่วเหลืองในภาชนะเปิดเป็นเวลานาน 30 นาที สามารถลดกลิ่นเหม็นเขียวลงได้

2.7.5 การหมักถั่วเหลืองโดยแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติค

ในปี ค.ศ. 1947 Gehrke และ Weiser ได้ค้นพบว่าน้ำนมถั่วเหลืองเป็นอาหารที่ดีของแบคทีเรียแลคติค แต่ให้ปริมาณกรดน้อยกว่าการใช้นมวัว เชื้อจะย่อยสลาย Oligosacharide ในน้ำนมถั่วเหลืองเปลี่ยนเป็นกรดแลคติคโดยใช้เวลาในการหมักนานกว่า 10 ชั่วโมงเพื่อลดระดับความเป็นกรดด่างของน้ำนมถั่วเหลืองลงจาก 6.5 เป็น 4.7 และ 4.3 สำหรับเชื้อ *S. thermophilus* และ *L. bulgaricus* ตามลำดับ (เรณู, 2523) อย่างไรก็ตาม การเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของนมถั่วเหลืองและเพิ่มคุณประโยชน์ของแบคทีเรียโพรไบโอติคสามารถทำได้ โดยการหมักนมถั่วเหลืองด้วยแบคทีเรียแลคติคร่วมกับ Bifiobacteria ซึ่ง Wang et al., (2003) ได้ศึกษาพบว่า การหมักนมถั่วเหลืองด้วยแบคทีเรียแลคติคร่วมกับ Bifiobacteria จะมีปริมาณของกรดอะซิตริก น้ำตาลฟรุกโตส กลูโคส และกาแลคโตสมากกว่าการหมักนมถั่วเหลืองด้วยแบคทีเรียแลคติคเพียงอย่างเดียว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved