บทที่ 2
เอกสารที่เกี่ยวข้อง

2.1 เชื้อ *Bifidobacterium* spp.

2.1.1 ลักษณะสัณฐานและคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *Bifidobacterium* spp.

Bifidobacterium spp.พบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1899 โดย Frenchman Tissier ในอุจจาระของเด็ก *Bifidobacterium* spp.เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (gram-positive) ย้อมสี Acid fast ไม่ติด เคลื่อนที่ด้วยตัวเองไม่ได้ (non-motile) และไม่สร้างสปอร์ (non-spore forming) โดยทั่วไปจะพบว่าลักษณะเซลล์มีรูปร่างเป็น Y-shaped หรือ " bifid form " จัดเป็นแบคทีเรียประเภทไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic bacteria) แต่บางสปีชีส์สามารถทนออกซิเจนได้ เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 37-41 องศาเซลเซียส ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ที่เหมาะสมในการเจริญคือ 6.5-7.0 ไม่เจริญที่ค่าความเป็นกรดด่าง 4.5-5.0 หรือ 8.0-8.5 (Tamine, 2002) สามารถหมักน้ำตาลกลูโคสให้เป็นกรดซิติคและกรดแลคติคในสัดส่วน 3:2 และไม่สังเคราะห์คาร์บอนไดออกไซด์ (Arunachamlam, 1999)

ในปัจจุบัน *Bifidobacterium* spp. พบถึง 30 สปีชีส์ จากแหล่งต่างๆ เช่น อุจจาระของคน อุจจาระสัตว์ ช่องคลอดของคน และสิ่งปฏิกูล เป็นต้น (Tamine, 2002) *Bifidobacterium* spp. ที่แยกได้จากมนุษย์มี 9 สปีชีส์ ได้แก่ *B. breve, B. bifidum, B. infantis, B. longum, B. adolescentis, B. angulatum, B. catenulatum, B. pseudocatenulatum, and B. dentium* (Ballongue, 1998) ซึ่งในจำนวนนี้มีเพียง 5 สปีชีส์ที่นำมาใช้ในอุตสาหกรรมนมหมัก ได้แก่ *B. adolescentis, B. breve, B. bifidum, B. infantis, and B. longum.* (Tamine, 2002) *Bifidobacterium* spp. ในคนจะเริ่มเจริญหลังจากทารกได้รับน้ำนมจากแม่ เนื่องจากน้ำนมแม่จะมี N-acetylglucosamine ซึ่งเป็น growth factor ของ *Bifidobacterium* spp. และจะมีปริมาณมากที่สุดในวัยทารกและมีปริมาณลดลงเมื่อมีอายุมากขึ้น

Bifidobacterium spp. สามารถใช้น้ำตาลแลคโตสในกระบวนการหมักและเจริญได้ดีในนม โดย *B. breve, B. adolescentis, B. infantis* และ *B. longum* สามารถใช้คาร์โบไฮเดรตได้หลายชนิด ส่วน *B. bifidum* สามารถใช้ฟรุคโตส กาแลคโตส และแลคโตส (Gomes and Malcata, 1999)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ความสามารถในการหมักคาร์โบไฮเดรตและแอลกอฮอล์ของเชื้อ *Bifidobacterium* spp. แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 การหมักคาร์โบไฮเดรตและแอลกอฮอล์ของเชื้อ *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) การหมักคาร์โบไฮเดรตและแอลกอฮอล์ของเชื้อ *Bifidobacterium* spp.

species	Sobitol	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) การหมักคาร์โบไฮเดรตและแอลกอฮอล์ของเชื้อ *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

Bifidobacterium spp. ต้องการวิตามินในการเจริญโดยเฉพาะวิตามิน B1 (thiamin) วิตามิน B6 (pyridoxine) วิตามิน B9 (folic acid) และวิตามิน B12 (cyanocobalamin) โดยการสังเคราะห์วิตามินนั้นจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ ดังแสดงในตารางที่ 2

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 2 การสังเคราะห์วิตามินของ *Bifidobacterium* spp.

วิตามิน	จุลินทรีย์				
(μg/ml)	*B. adolescentis*	*B. bifidum*	*B. breve*	*B. infantis*	*B. longum*
Thiamin	0.02	0.23	0.09	0.2	0 . 0 9
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.
Riboflavin	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

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

ที่มา : Arunachalam, 1999

2.1.2 สารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของเชื้อ *Bifidobacterium* spp.

- แหล่งไนโตรเจน

Bifidobacterium spp. สามารถใช้เกลือแอมโมเนียมเป็นแหล่งไนโตรเจนได้ การเลี้ยง *Bifidobacterium* spp. ในหลอดทดลองที่เติมสารอินทรีย์ชนิดต่างๆ ที่เป็นแหล่งของไนโตรเจน พบว่า *Bifidobacterium* spp. สามารถสังเคราะห์กรดอะมิโนได้ในปริมาณมากหลายชนิด เช่น *B. bifidum* สามารถผลิต alanine valine และ aspartic acid ได้ (Arunachalam, 1999)

- สารที่ช่วยในการเจริญ แร่ธาตุ และวิตามิน

Bifidobacterium spp. แต่ละชนิดต้องการสารอาหารในการเจริญที่แตกต่างกัน โดย *Bifidobacterium* spp. ส่วนมากจะไม่สามารถเจริญในอาหารที่ผลิตจากสารสังเคราะห์เพียงอย่างเดียวได้ จำเป็นต้องมีส่วนผสมของสารชีวโมเลกุลที่ได้มาจากธรรมชาติ เช่น bovine casein digestate, lactoserum of bovine milk, procine gastric muric หรือ yeast extract มีเพียง *B. adolescentis* และ*B. longum* เท่านั้นที่สามารถเจริญในอาหารที่ไม่ต้องมีสารอาหารชีวโมเลกุลที่ได้มาจากธรรมชาติที่ช่วยในการเจริญ สารอาหารที่เชื้อ *Bifidobacterium* spp. ต้องการในการเจริญรู้จักกันในชื่อของ bifidigenic factors หรือ prebiotic (Modler and others, 1990)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

Prebiotic คือ สารที่เป็นอาหารของเชื้อ probiotics ในลำไส้ใหญ่ ซึ่งเป็นสารอาหารที่ไม่ถูกย่อยสลายได้ง่าย ในลำไส้เล็ก ซึ่งเกิดการหมักในลำไส้ใหญ่ได้ ตัวอย่างเช่น เส้นใยอาหาร แป้งบางชนิดที่ไม่ถูกย่อยได้ง่าย และน้ำตาลชนิด oligosaccharides ซึ่งจัดเป็น คาร์โบไฮเดรตที่มีโมเลกุลสั้น น้ำตาลกลุ่มนี้พบในผักและผลไม้ และสามารถผลิตได้จากการย่อยคาร์โบไฮเดรต เช่น แป้ง หรือ dietary fiber (Glenn, 2004)

Bifidobacterium spp. ที่แยกมาจากมนุษย์จะต้องการวิตามิน B1, B6, B9 และ B12 ในการเจริญ *Bifidobacterium* spp. บางชนิดต้องการแร่ธาตุในการเจริญ เช่น *B. bifidum* ต้องการแมกนีเซียม แมงกานีส และเหล็ก (Ballongue, 1998)

2.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ *Bifidobacterium* spp.

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้สำหรับ *Bifidobacterium* spp. สามารถแบ่งได้เป็น non-selective media และ selective media โดย non-selective media ที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในการนับจำนวนเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ในผลิตภัณฑ์นม เพื่อตรวจหาจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เริ่มต้น และจุลินทรีย์ที่เหลือรอดระหว่างช่วงการเก็บผลิตภัณฑ์ ได้แก่ Reinforced Clostridial Agar และ De Man Rose Sharp (MRS) ซึ่งมีส่วนผสมของ cysteine และผงวุ้น ซึ่งเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีขายในท้องตลาด และใช้สำหรับห้องปฏิบัติการในระดับอุตสาหกรรมเพื่อใช้ในการควบคุมคุณภาพ (Roy, 2001)

L-cysteine ที่เป็นส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อจะทำหน้าที่เป็นแหล่งของสารไนโตรเจนให้กับเชื้อ *Bifidobacterium* spp. (Shah, 1997) และช่วยทำหน้าที่ในการลดรีดอกซ์โพเทนเชียลในอาหารซึ่งช่วยส่งเสริมให้เกิดสภาวะไร้อากาศให้เหมาะสมกับการเจริญของเชื้อ *Bifidobacterium* spp. Modified MRS agar (mMRS agar) มีส่วนผสมของ L-cysteine จำนวนร้อยละ 0.5 และมีส่วนผสมของ HCl เพื่อช่วยในการฟื้นฟูเซลล์ของเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ซึ่ง mMRS ได้ถูกนำมาใช้สำหรับการนับเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ที่บริสุทธิ์ (Payne and others, 1999; Roy, 2001) จากการทดลองนับเชื้อ *Bifidobacterium* spp. โดยใช้ mMRS agar โดยวิธี spread plate และ pour plate พบว่า เชื้อ *B. longum*, *B. adolescentis* และ *B. bifidum* สามารถเจริญได้ร้อยละ 59, 92 และ 117 ตามลำดับในการเพาะเชื้อโดยวิธี spread plate และสามารถเจริญได้ร้อยละ 45, 45 และ 107 ตามลำดับในการเพาะเชื้อโดยวิธี pour plate (Roy, 2001)

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการแยกเชื้อ *Bifidobacterium* spp. จากเชื้อ lactica acid bacteria มีอยู่หลายชนิดด้วยกัน เช่น Arroyo, Martin and Cotton Agar (AMC) และModified Rogosa's agar (RMS) เป็นต้น โดยอาหาร selective media เหล่านี้จะสนับสนุนการเจริญของเชื้อ *Bifidobacterium* spp. และยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ตัวอื่น (Payne and others, 1999)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

Homofermentative Heterofermentative Differential Medium (HHD agar) จัดเป็น selective media ชนิดหนึ่งซึ่งใช้แยกแบคทีเรีย Homofermentative และ Heterofermentative ออกจากกันโดย แบคทีเรียทั้งสองกลุ่มนี้มีการผลิตกรดที่แตกต่างกันโดยการใช้น้ำตาลฟรุคโตสโดยแบคทีเรียในกลุ่ม homofermentative จะมีลักษณะโคโลนีเป็นสีฟ้า-เขียว ส่วนจุลินทรีย์ในกลุ่ม heterofermentative จะให้ลักษณะโคโลนีที่มีสีขาว ซึ่งอาหาร HHD agar สามารถใช้แยกเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียจำพวก heterofermentative ออกจากเชื้อแบคทีเรียพวก homofermentative โดยดูจากลักษณะของสีโคโลนีที่แตกต่างกัน (IDF, 1997)

2.1.4 นิเวศวิทยาของเชื้อ *Bifidobacterim* spp.

Bifidobacterium spp. เป็นหนึ่งในกลุ่มจุลินทรีย์ที่สำคัญในลำไส้ใหญ่ของมนุษย์ *Bifidobacterium* spp. จะเป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่พบมากในลำไส้ใหญ่ในทารกที่อายุ 5 วัน โดยที่ปริมาณของ *Bifidobacterium* spp. ในอุจจาระทารกมีสูงถึง 10^{9}-10^{11} CFU/g (Kanbe, 1992) *Bifidobacterium* spp. พบมากในอุจจาระของทารกที่ดื่มนมมารดาในปริมาณมากกว่าในทารกที่ไม่ได้ดื่มนมจากมารดาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่ปริมาณเชื้อ *Bifidobacterium* spp. จะลดลงตามช่วงอายุ อัตราส่วนของเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ในลำไส้จะแตกต่างกันตามช่วงอายุของมนุษย์และชนิดของเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ในทารกที่ดื่มนมมารดาจะพบว่ามีเชื้อ *B. infantis, B. breve*, และ*B. longum* biovar. b ส่วนผู้ใหญ่และคนชราจะไม่พบเชื้อ *B. infantis* และ *B. breve* ในอุจจาระของทารกซึ่งดื่มนมแม่ที่อายุยังไม่ถึง 1 ขวบ จะพบว่ามีเชื้อ *B. infantis* อยู่ในปริมาณมาก ส่วนอุจจาระของเด็กและผู้ใหญ่ที่ดื่มนมมารดาในวัยทารกจะพบว่ามีเชื้อ *B. longum* biovar. a และ *B. adolescentis* ในปริมาณที่มาก ซึ่งเชื้อ *B. adolescentis* เป็นเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ที่มีปริมาณมากผู้ใหญ่ และ *B. adolescentis* type b จะมีปริมาณสูงขึ้นเมื่ออายุมากขึ้น (Ballongue, 1998) ชนิดของเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ที่พบในลำไส้ของมนุษย์ในแต่ละช่วงอายุ แสดงในตารางที่ 3

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 3 ชนิดของเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ในลำไส้ใหญ่ของมนุษย์ในแต่ละช่วงอายุ

ช่วงอายุ	เชื้อที่พบมาก	เชื้อที่พบน้อย
ทารกที่ดื่มนมมารดา	*B. longum* *B. infantis* *B. breve*	
ทารกที่ดื่มนมขวด	*B. adolescentis*	*B. bifidum biovar. b*
เด็ก	*B. infantis* *B. breve* *B. bifidum biovar. b* *B. longum*	
ผู้ใหญ่	*B. adolescentis biovar. a and b* *B. longum*	*B. bifidum biovar. a*
คนชรา	*B. adolescentis biovar. b* *B. longum*	

ที่มา : Ballongue (1998)

2.1.5 คุณประโยชน์ของ *Bifidobacterium* spp.

ผลิตภัณฑ์ที่มีการใช้เชื้อ *Bifidobacterium* spp. เช่น bifidus milk จะมีประโยชน์ต่อร่างกายดีกว่าการใช้เชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น เช่น *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus* เป็นต้น ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อ *Bifidobacterium* spp. สามารถสร้าง L- (+) - lactic acid ซึ่งร่างกายใช้ในระบบการเมตาบอลิซึมได้มากกว่ากรดแลคติคในรูป D - (-) - lactic acid ซึ่งเป็นกรดที่สร้างจากเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่น และการที่ร่างกายมีการสะสมของ D - (-) - lactic acid มากเกินไปอาจทำให้ระบบร่างกายขาดสมดุลได้

จากการศึกษาของ Tojo (1987) พบว่าผลิตภัณฑ์นมที่มีเชื้อ *Bifidobacterium* spp. สามารถใช้ในการรักษาการติดเชื้อในเด็กญี่ปุ่นได้ และ Hotta (1987) ยังพบว่าการเสริมอาหารทารกด้วยเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ช่วยรักษาสภาวะในลำไส้ให้เป็นปกติได้ (พิณทิพย์และสุดสาย, 2535)

Bifidobacterium spp. ช่วยให้ทารกสามารถต่อต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรค เช่น ช่วยลดจำนวนจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคท้องร่วง (Katz, 2001) อีกทั้งสามารถสังเคราะห์วิตามินบีได้หลายชนิด เช่น B1, B2, B6 รวมทั้งวิตามินเค ซึ่ง วิตามินจะถูกดูดซึมอย่างช้าๆ เข้าสู่ร่างกาย (Kantha, 1999) *Bifidobacterium* spp. ยังช่วยบรรเทาอาการแพ้น้ำตาลแลคโตสอันเนื่องมาจากการที่ร่างกายไม่ผลิตเอนไซม์ที่ย่อยน้ำตาลแลคโตส (β-galactosidase) ซึ่งส่วนใหญ่พบในคนเชื้อชาติเอเชียและอาฟริกา (Salminen, 1998) มีรายงานว่าการบริโภคนมที่หมักที่ผสมเชื้อ *B. longum*

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

จำนวน 5×10^{8} CFU/ml สามารถช่วยในการย่อยน้ำตาลแลคโตสได้ โดยวัดจากปริมาณไฮโดรเจนในลมหายใจออกที่มีปริมาณลดลงและยังช่วยลดอาการแพ้น้ำตาลแลคโตสได้โดยดูจากอาการท้องอืดที่ลดลง (Tianan and others, 1996)

Bifidobacterium spp. สามารถกำจัดสารก่อมะเร็งได้ทางตรง เช่น *B. breve* สามารถลดสารไนโตรซามีน (Nitrosamine) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งลงได้ นอกจากนี้ยังสามารถลดการเกิดมะเร็งได้ทางอ้อม เช่น การลดแหล่งของ procarcinogens หรือเอนไซม์ที่สร้างสารก่อมะเร็ง โดยการลดการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่สังเคราะห์สารเหล่านี้ (Huges and Hoover, 1991)

2.1.6 การใช้เชื้อ *Bifidobacterium* spp. ในอุตสาหกรรมอาหาร

ผลิตภัณฑ์นมที่ผลิตด้วยเชื้อ *Bifidobacterium* spp. เข้าสู่ตลาดตั้งแต่ปี 1971 และผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ผลิตด้วยเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ได้ถูกนำเข้าสู่ตลาดยุโรปและญี่ปุ่นมานานหลายทศวรรษ โดยมีการบริโภคมีเพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ (Mitsuoka, 2000) ตัวอย่างของผลิตภัณฑ์นมหมักที่ได้จากเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ได้แก่

Bifidus milk

Bifidus milk คือ นมวัวที่นำมาเติมเชื้อ *B. bifidum* หรือ *B. longum* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 (w/v) บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จนผลิตภัณฑ์มี pH 4.5 ซึ่งจะได้ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่มีกลิ่นเปรี้ยวและรสชาติที่จำเพาะ ปริมาณเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ในผลิตภัณฑ์ที่ผลิตเสร็จใหม่จะมีเท่ากับ 10^{8}-10^{9} CFU/ml และระหว่างช่วงการเก็บที่ปริมาณเชื้อจะลดลง 2 log cycles (Ballongue, 1998)

Acidophilus bifidus yoghurt

Acidophilus bifidus yoghurt มีลักษณะคล้ายกับ bifidus yoghurt โดยที่นมพาสเจอร์ไรซ์จะถูกนำมาเติมเชื้อโยเกิร์ตและ *L. acidophilus*, *B. bifidum* หรือ *B. longum* แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 40-42 องศาเซลเซียส โดยในผลิตภัณฑ์สุดท้ายจะมีปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* เท่ากับ 1-3 x 10^{7} CFU/ml และมี *B. bifidum* 1-3 x 10^{7} CFU/ml (Ballongue, 1998)

Bifidobacterium spp. ได้ถูกนำไปใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์นมหมักหลายชนิด เช่น ครีมเปรี้ยว เนยเหลว โยเกิร์ต และไอศกรีมโยเกิร์ต โดยในการผลิตโยเกิร์ตแต่เดิมจะใช้เชื้อ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* แต่ต่อมาได้มีการใช้เชื้อ *Bifidobacterium* spp. ในการทำโยเกิร์ตโดยรู้จักกันในชื่อของ bio-yoghurt (Roy, 2001) การผลิต bio-yoghurt อาจใช้ *Bifidobacterium* spp.เพียงชนิดเดียว

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

หรืออาจใช้ *Bifidobacterium* spp. ร่วมกับเชื้อ lactic acid ชนิดอื่น (Roy, 2001) แต่การใช้เชื้อ *Bifidobacterium* spp. เพียงชนิดเดียวอาจทำให้ระยะเวลาในการหมักนานขึ้น รวมถึงคุณลักษณะผลิตภัณฑ์ที่ได้อาจไม่เป็นที่ยอมรับเนื่องจากเชื้อ *Bifidobacterium* spp. จะมีการสร้าง acetic acid ดังนั้นโดยทั่วไปมักจะทำการผลิตโยเกิร์ตโดยใช้ทั้งเชื้อโยเกิร์ตดั้งเดิมและเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ร่วมกัน โดยที่เชื้อ *Bifidobacterium* spp.ที่นิยมใช้ในการทำผลิตภัณฑ์นมหมัก คือ *B. bifidum* และ *B. longum* (Shah, 1997)

ผลิตภัณฑ์ที่รายงานว่าจะมีประโยชน์ต่อผู้บริโภคควรต้องมีปริมาณเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ในผลิตภัณฑ์อย่างน้อยประมาณ 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร โดยปริมาณที่แนะนำให้บริโภคคือ 10^8-10^9 เซลล์ต่อวัน (Gardiner and others, 2002)

2.1.7 การเจริญและเหลือรอดของ *Bifidobacterium* spp. ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต

มีการศึกษาถึงการนำเชื้อ *Bifidobacterium* spp. มาใช้ในการหมักนมถั่วเหลืองโดยทำการศึกษาเกี่ยวกับอัตราการเจริญและการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรดด่างของ *Bifidobacterium* spp. สองสายพันธุ์ คือ *B. longum* และ *B. bifidum* ที่เจริญในนมผงขาดมันเนย นมถั่วเหลือง และอาหารเลี้ยงเชื้อ modified MRS broth จากหลอดทดลอง ซึ่งพบว่าอัตราการเจริญของเชื้อ *B. longum* และ *B. bifidum* นั้นสามารถเจริญได้ดีกว่า ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ในนมผงขาดมันเนยและในนมถั่วเหลืองตามลำดับ (Kamaly, 1997)

อิศรา (2546) ได้พัฒนาโยเกิร์ตข้าวกล้องเติมเชื้อโพรไบโอติค โดยการหมักข้าวกล้องสุกด้วยเชื้อผสมระหว่าง *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* YC-380 ร่วมกับเชื้อโพรไบโอติค *B. longum* Bb-46 ซึ่งมีสูตรและสภาวะการผลิตที่เหมาะสมคือ น้ำข้าวกล้องสุก นมผงขาดมันเนย น้ำตาลซูโครส และคาราจีแนน ร้อยละ 11.6, 8.24, 6.13 และ 0.063 ตามลำดับ โดยใช้เชื้อผสมระหว่าง *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* YC-380 ร้อยละ 0.81 และใช้เชื้อ *B. longum* Bb-46 ร้อยละ 1.62 และหมักที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่าผลิตภัณฑ์มีปริมาณกรดแลคติคทั้งหมดที่ไตเตรตได้เท่ากับ 1.09 และมีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 4.27 มีปริมาณเชื้อเริ่มต้นทั้งหมด 2.9×10^9 CFU/g ซึ่งประกอบด้วย *B. longum* 2.7×10^9 CFU/g และเชื้อผสมระหว่าง *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* 1.5×10^9 CFU/g เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตข้าวกล้องที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 วัน ผลิตภัณฑ์มีการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางกายภาพ เคมี จุลินทรีย์ และค่าการยอมรับทางประสาทสัมผัสเพียงเล็กน้อย เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์นาน 30 วัน พบว่ายังมีปริมาณเชื้อ *B. longum* เหลืออยู่มากกว่า 1×10^7 CFU/g

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การศึกษาการเหลือรอดของเชื้อโพรไบโอติคในผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโยเกิร์ต โดยใช้เชื้อ *L. acidophilus* และ *B. bifidum* พบว่าผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโยเกิร์ตมีเชื้อ *L. acidophilus* เริ่มต้นเท่ากับ 8.2 log CFU/ml และเชื้อ *B. bifidum* เท่ากับ 8.4 log CFU/ml เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ -29 องศาเซลเซียสนาน 17 สัปดาห์ พบว่ามีปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* เหลือรอดเท่ากับ 6.6 log CFU/ml และเชื้อ *B. bifidum* เท่ากับ 7 log CFU/ml (Hekmat and McMahon, 1992)

2.1.8 ผลของน้ำผึ้งต่อการเจริญและการเหลือรอดของเชื้อ *Bifidobacterium* ssp.

ผลิตภัณฑ์อาหารโพรไบโอติคที่มีการใช้เชื้อ *Bifidobacterium* spp. ควรมีปริมาณเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ในผลิตภัณฑ์ในปริมาณที่สูง การเติมสารที่เป็น prebiotics ลงในผลิตภัณฑ์อาจเป็นวิธีหนึ่งซึ่งทำให้ปริมาณเชื้อโพรไบโอติคมีปริมาณที่สูงขึ้น prebiotics ที่รู้จักกันโดยทั่วไปได้แก่ oligosaccharides เช่น fructooligosacharides และ inulin ทั้งนี้น้ำผึ้งมีองค์ประกอบเป็น oligosaccharides และมีวิตามินบี ซึ่งเป็นวิตามินที่เชื้อ *Bifidobacterium* spp. ใช้ในการเจริญเติบโต ดังนั้นจึงอาจเป็นไปได้ว่าน้ำผึ้งจะช่วยส่งเสริมการเหลือรอดของเชื้อ *Bifidobacterium* spp.

จากการศึกษาผลของน้ำผึ้งต่อการเจริญของเชื้อ *Bifidobacterium* spp.โดยใช้เชื้อ *Bifidobacterium* Bf-1 และ *Bifidobacterrium* Bf-6 เลี้ยงในนมผงขาดมันเนยโดยมีการเติมสารให้ความหวาน 4 ชนิด ได้แก่ น้ำผึ้ง น้ำตาลซูโครส น้ำตาลฟรุคโตส และน้ำตาลกลูโคส ในความเข้มข้น 3 ระดับ คือร้อยละ 1, 3 และ 5 พบว่าผลของน้ำผึ้งต่อเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเชื้อและความเข้มข้นของน้ำผึ้ง โดยที่น้ำผึ้งส่งผลให้เชื้อ Bf-1 และ Bf-6 เจริญได้ดีขึ้นในนมผงขาดมันเนย และพบว่าเชื้อ *Bifidobacterium* spp. ในสูตรที่มีน้ำผึ้งร้อยละ 3 และ 5 เจริญได้ดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสูตรที่ใช้สารให้ความหวานชนิดอื่น และเชื้อ Bf-1 เจริญได้ดีที่สุดในนมผงขาดมันเนยสูตรที่มีน้ำผึ้งร้อยละ 5 ทั้งนี้พบว่าเชื้อ Bf-6 ในสูตรที่มีน้ำผึ้งอยู่จะมีการสร้างกรดอะซิติคและแลคติคเกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ ส่วนเชื้อ Bf-1 ไม่พบว่ามีการสร้างกรดอะซิติค (Ustunol, 2000)

จากการศึกษาผลของน้ำผึ้งต่อการเจริญของเชื้อ *Bifidobacterium* spp. โดย Ustunol (2000) พบว่าน้ำผึ้งมีผลต่อการเจริญของเชื้อ *Bifidobacterium* spp. แตกต่างกันขึ้นกับสายพันธุ์ของเชื้อและความเข้มข้นของน้ำผึ้งในอาหาร จากการศึกษาโดยการนับจำนวนของเชื้อ *B. longum* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีน้ำผึ้งเปรียบเทียบกับการเลี้ยงในอาหารที่ใช้สารให้ความหวานอื่นซึ่งเก็บโดยการแช่เย็นมากกว่า 28 วัน พบว่าปริมาณเชื้อที่เลี้ยงในอาหารที่ผสมน้ำผึ้งเหลือรอดมากกว่าการเลี้ยงในอาหารที่ผสมซูโครส โดยมีจำนวนเหลือรอดใกล้เคียงกับการเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาลฟรุคโตส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เมื่อเปรียบเทียบกับการศึกษาอิทธิพลของน้ำผึ้งและซูโครสต่อจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลคติคในการทดลองในหลอดทดลองและในหนูทดลอง โดย Shamala และ คณะ (2000) พบว่าภายใต้สภาวะหลอดทดลองปริมาณของเชื้อ *L. acidophilus* และ *L. plantarum* เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) การให้น้ำผึ้งเปรียบเทียบกับซูโครสในหนูทดลอง พบว่าในลำไส้ของหนูกลุ่มที่ได้รับน้ำผึ้งจะมีปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลคติคเพิ่มมากกว่ากลุ่มที่ได้รับซูโครสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ผลการศึกษานี้สนับสนุนว่าการบริโภคน้ำผึ้งส่งผลให้เชื้อจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลคติคมีปริมาณสูงขึ้น

จากการศึกษาผลของน้ำผึ้งที่ได้จากแหล่งต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ที่นำมาเลี้ยงในหลอดทดลอง โดยใช้เชื้อ *Bifidobacterium* spp. 5 ชนิด ได้แก่ *B. longum, B. berve, B. adolescentis, B. bifidum,* และ *B. infantis* ร่วมกับเชื้อจุลินทรีย์ในลำไส้ชนิดอื่น ได้แก่ *Bacteriodes thetaiotaomicron, Clostridium perfringens, Eubacterium aerofaciens,* และ *Enterococcus faecalis* โดยนำมาเลี้ยงในอาหาร MRS medium หรือ thioglycollate medium supplemented (ร้อยละ 5 w/v) และเติมน้ำผึ้ง 3 ชนิด ได้แก่ น้ำผึ้งจาก wood alfalfa หรือ sage ในสัดส่วนที่แตกต่างกัน จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมงโดยเก็บตัวอย่างเพื่อดูอัตราการเจริญทุกๆ 12 ชั่วโมง ทำการวิเคราะห์ กรดแลคติค และกรดอะซิติค ซึ่งผลิตโดยเชื้อ *Bifidobacterium* spp. โดยใช้เครื่อง High-pressure liquid chromatography พบว่าน้ำผึ้งช่วยส่งเสริมการเจริญของเชื้อ *Bifidobacterium* spp. และสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ *C. perfringens* และ*E. aerofaciens* อย่างไรก็ตามพบว่าน้ำผึ้งเป็นแหล่งที่พบสปอร์ของ *C. butulinum* ได้ด้วย เด็กทารกที่อายุยังไม่ครบ 1 ปีควรหลีกเลี่ยงการบริโภคน้ำผึ้งเนื่องจากร่างกายยังไม่สามารถป้องกันการเจริญของเชื้อ *C. butulinum* ได้ (Shin and Ustunol, 2005)

2.1.9 เชื้อ *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus delbrucckii bulgalicus*

เชื้อโยเกิร์ตทั่วไปประกอบด้วย *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus delbrucckii bulgalicus* ลักษณะของเชื้อ *S. thermophilus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก รูปร่างกลม จัดเรียงตัวเป็นรูปโซ่ ส่วนเชื้อ *L. bulgalicus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวกเซลล์มีลักษณะเป็นท่อน อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวหรือคู่ หรือเป็นสายสั้นๆ เจริญได้ที่อุณหภูมิ 20-40 องศาเซลเซียส (วราวุฒิ และ รุ่งนภา, 2532)

การเจริญของเชื้อ *S. thermophilus* และ *L. bulgalicus* ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตเป็นแบบพึ่งพาอาศัยกัน คือที่อุณหภูมิการหมัก 40 องศาเซลเซียส เชื้อ *S. thermophilus* จะเจริญได้ดีและสร้าง diacetyl และสารประกอบคล้ายกันซึ่งจะทำให้โยเกิร์ตมีกลิ่นรสที่ดี นอกจากนี้ *S. thermophilus* ยังช่วยกำจัดออกซิเจนจากนม ซึ่งหากมีออกซิเจนเหลืออยู่อาจก่อให้เกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การเจริญของเชื้อ *S. thermophilus* จะดำเนินต่อไปจนกระทั่งผลิตภัณฑ์มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างประมาณ 5.5 ซึ่งขณะนั้นจะมีสารอาหารและสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *L. bulgalicus* โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *L. bulgalicus* คือ 45 องศาเซลเซียส เมื่อเชื้อเจริญและมีปริมาณกรดแลคติคมากพอจะสร้าง acetaldehyde ซึ่งให้กลิ่นรสเฉพาะของโยเกิร์ตได้ โยเกิร์ตที่ดีจะมีปริมาณ acetaldehyde ที่ประมาณ 23-41 พีพีเอ็ม นอกจากนี้ *L. bulgalicus* ยังสร้างกรดอะมิโนบางตัวที่ เชื้อ *S. thermophilus* สามารถนำไปใช้ในการเจริญได้ (วราวุฒิ และ รุ่งนภา, 2532) ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตและนมเปรี้ยวของประเทศต่างๆจะใช้เชื้อจุลินทรีย์ในการผลิตแตกต่างกันดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 ผลิตภัณฑ์นมหมักในประเทศต่างๆ

ผลิตภัณฑ์	ประเทศ	เชื้อจุลินทรีย์
โยเกิร์ต	สหรัฐอเมริกา	*Streptococcus thermophilus* *Lactobacillus bulgalicus*
เนยเหลว	สหรัฐอเมริกา	*Streptococcus thermophilus* *Streptococcus lactis* *Leuconostoc citrovorum*
นมอะซิโดฟิลัส	สหรัฐอเมริกา	*Lactobacillus acidophilus*
ไบโอโยเกิร์ต	ยุโรป	*Streptococcus lactis* *Lactobacillus acidophilus*
นมบูการิกัส	ยุโรป	*Lactobacillus bulgalicus*
คาฮิ	อินเดีย	*Streptococcus lactis*
เลเบน	อียิปซ์	*Streptococci* *Lactobacilli* Yeasts

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4 (ต่อ) ผลิตภัณฑ์นมหมักในประเทศต่างๆ

ผลิตภัณฑ์	ประเทศ	เชื้อจุลินทรีย์
คีเฟอร์	รัสเซีย	*Streptococci* *Lactobacillus caucasicus* *Leuconostoc spp* Yeasts
คูมิสส์	รัสเซีย	*Lactobacillus acidophilus* *Lactobacillus bulgalicus* *Saccharomyces lactis*

ที่มา : Vernam and Sutheerland, 1994

2.2 น้ำผึ้ง

น้ำผึ้ง เป็นน้ำหวานที่ผึ้งงานดูดจากเกสรดอกไม้ชนิดต่างๆ แล้วนำมาเก็บรวบรวมไว้ในรังผึ้ง โดยน้ำผึ้งจะเป็นของเหลวใส มีลักษณะข้นหนืดและมีรสหวาน สีของน้ำผึ้งจะแตกต่างกันขึ้นกับแหล่งของน้ำหวานที่ผึ้งดูดมา (ลักขณาและนิธิยา, 2544) ถ้าเก็บน้ำผึ้งไว้ที่อุณหภูมิต่ำจะทำให้น้ำตาลที่เป็นส่วนประกอบของน้ำผึ้งเกิดการตกผลึก การตกผลึกของน้ำผึ้งขึ้นอยู่กับอัตราส่วนของน้ำตาลต่อน้ำ ถ้าอัตราส่วนของน้ำตาลกลูโคสต่อน้ำเป็น 2:1 หรือมากกว่าจะทำให้เกิดการตกผลึกได้ง่าย แต่ถ้าน้ำผึ้งมีอัตราส่วนของน้ำตาลกลูโคสต่อน้ำเป็น 1.7:1 หรือน้อยกว่า น้ำผึ้งจะเป็นของเหลวและไม่ตกผลึก (ลักขณาและนิธิยา, 2544)

2.2.1 ลักษณะของน้ำผึ้งที่ดี

น้ำผึ้งที่ดีต้องมีลักษณะข้นหนืด มีความโปร่งแสงหรือโปร่งใส สะอาด ไม่มีตะกอน หรือสิ่งแปลกปลอมเจือปน ไม่มีไขผึ้ง ไม่มีฟอง ไม่มีกลิ่นบูดเปรี้ยว มีกลิ่นหอมเฉพาะของเกสรดอกไม้ที่ผึ้งไปดูดมาเพื่อสร้างน้ำหวาน ในการเก็บน้ำผึ้งจากรวงควรผ่านกรรมวิธีที่ถูกต้อง มีกระบวนการเก็บที่สะอาด สีของน้ำผึ้งจะมีระดับแตกต่างกันระหว่างสีเหลืองอ่อนใส น้ำตาลอ่อนถึงน้ำตาลไหม้ ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของเกสรดอกไม้ที่ผึ้งไปดูดน้ำหวานมา (หลวงบุเรศบำรุงการ, 2528) โดยที่สีของน้ำผึ้งจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณแร่ธาตุในน้ำผึ้ง (The National Honey Board, 1985) เช่น น้ำผึ้งลำไยซึ่งได้จากดอกลำไยจะมีสีเข้มกว่าน้ำผึ้งขี้ไก่ย่าน ดอกลิ้นจี่ ดอกเงาะ และดอกทุเรียน ซึ่งน้ำหวานที่ได้จากดอกไม้แต่ละชนิดจะมีสี กลิ่น และรสชาติแตกต่างกันออกไป รวมถึงองค์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ประกอบและโครงสร้างของน้ำตาลก็แตกต่างกันด้วย (ลักขณาและนิธิยา, 2544) ทั้งนี้น้ำผึ้งที่ได้จากเกสรของดอกไม้ต่างชนิดกันจะมีสมบัติทางเคมีแตกต่างกัน

2.2.2 องค์ประกอบและปริมาณสารอาหารในน้ำผึ้ง

องค์ประกอบหลักของน้ำผึ้งคือ น้ำตาลฟรุคโตสและกลูโคส รองลงมาคือน้ำ และสารอื่นๆดังแสดงในตารางที่ 5 ส่วนปริมาณสารอาหารในน้ำผึ้งแสดงดังตารางที่ 6

ตารางที่ 5 แสดงองค์ประกอบโดยประมาณของน้ำผึ้ง

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 6 ปริมาณสารอาหารในน้ำผึ้ง 1 ช้อนโต๊ะ (15 มิลลิลิตร หรือ 21 กรัม)

สารอาหาร	ปริมาณโดยเฉลี่ย
น้ำ	3.62 กรัม
พลังงาน	64 แคลอรี่
คาร์โบไฮเดรต(โดยรวม)	17.64 กรัม
-ฟรุคโตส	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 มิลลิกรม
- 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
-สังกะสี	0.05 มิลลิกรัม
-แมกนีเซียม	0.42 มิลลิกรัม
-ซิลิเนียม	0.17 มิลลิกรัม
-ทองแดง	0.01 มิลลิกรัม
-แมงกานีส	0.02 มิลลิกรัม

ที่มา : The National Honey Board, 2002

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2.2.3 คุณสมบัติทางเคมีของน้ำผึ้ง

น้ำผึ้งแต่ละชนิดมีคุณสมบัติทางเคมีแตกต่างกันตามชนิดของดอกไม้ที่ให้น้ำหวาน ฤดูกาลที่ทำการเก็บน้ำผึ้ง และสภาพแวดล้อมของบริเวณที่เลี้ยงผึ้ง (Mizarahi, 1997) สมบัติทางเคมีของน้ำผึ้งแสดงดังตารางที่ 7 น้ำผึ้งได้ถูกแบ่งเป็นเกรดที่แตกต่างกันโดยใช้ปริมาณความชื้นเป็นเกณฑ์ โดยที่น้ำผึ้งที่มีความชื้นน้อยกว่าร้อยละ 21 แสดงว่าเป็นน้ำผึ้งเกรดเอ แต่ถ้าปริมาณความชื้นของน้ำผึ้งยิ่งมากคุณภาพของน้ำผึ้งยิ่งลดลง ดังนั้นความเชื่อที่ว่าน้ำผึ้งที่ดีที่สุดคือน้ำผึ้งเดือน 5 อาจเนื่องมาจากในเดือน 5 นั้นเป็นหน้าแล้งซึ่งฝนยังไม่ตก และเป็นช่วงที่ดอกไม้หลายชนิดกำลังบาน น้ำผึ้งที่ได้จึงเป็นน้ำผึ้งเกรดดีเนื่องมาจากความชื้นน้อย (หลวงบุเรศรบำรุงการ, 2528) การจัดเกรดของน้ำผึ้งตามปริมาณของแข็งและความชื้นแสดงดังตารางที่ 8

ตารางที่ 7 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

ตารางที่ 8 การจัดเกรดของน้ำผึ้งตามปริมาณของแข็งและความชื้น

เกรดของน้ำผึ้ง	ปริมาณของแข็งต่ำสุด (ร้อยละ)	ปริมาณความชื้นสูงสุด (ร้อยละ)
เกรด A	81.4	18.6
เกรด B	81.4	18.6
เกรด C	80.0	20.0

ที่มา :The National Honey Board, 2002

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2.2.4 เอนไซม์ในน้ำผึ้ง

ในน้ำผึ้งมีเอนไซม์เป็นองค์ประกอบอยู่หลายชนิด เอนไซม์สำคัญที่สุดที่พบในน้ำผึ้ง คือ อินเวอร์เทส (invertase) มีหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลซูโครสในน้ำหวานเป็นน้ำตาลอินเวิร์ต ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส และฟรุคโตส ในน้ำผึ้งยังมีเอนไซม์ที่สำคัญอีกชนิดหนึ่งคือ ไดแอสเทส (diastese) หรือ อะไมเลส (amylase) ซึ่งทำหน้าที่ย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล และเอนไซม์คะตะเลส (catalase) ซึ่งเปลี่ยนเปอร์ออกไซด์ให้เป็นน้ำและออกซิเจน พบว่าในน้ำผึ้งมีเอนไซม์อีกชนิดหนึ่งคือ กลูโคสออกซิเดส (glucose oxidase) ทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นกลูโคโนแลคโตน กรดกลูโคนิก และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ซึ่งเชื่อว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ทำหน้าที่ยับยั้งการเจริญและทำลายเชื้อโรคได้ (The National Honey Board, 1985)

2.2.5 สมบัติทางกายภาพของน้ำผึ้ง

2.2.5.1 ความถ่วงจำเพาะ

ค่าความถ่วงจำเพาะของน้ำผึ้งขึ้นกับแหล่งที่มาของน้ำหวานที่ผึ้งนำมาผลิตเป็นน้ำผึ้ง ค่าความถ่วงจำเพาะของน้ำผึ้ง เช่น น้ำผึ้งที่มีความชื้นร้อยละ 15 และ 18 จะมีค่าความถ่วงจำเพาะที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสที่ 1.435 และ 1.417 ตามลำดับ (National Honey Board, 1985)

2.2.5.2 ค่าความหนืด

ความหนืดของน้ำผึ้งขึ้นกับ ปริมาณความชื้น อุณหภูมิ และแหล่งของดอกไม้ที่ให้น้ำหวาน โดยทั่วไปค่าความหนืดจะอยู่ในเกณฑ์ดังแสดงในตารางที่ 9-11

ตารางที่ 9 ค่าความหนืดของน้ำผึ้งที่มีปริมาณความชื้นต่างกัน วัดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซสเซียส

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, 2002

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 10 ความหนืดของน้ำผึ้งที่อุณหภูมิต่างๆกันที่มีปริมาณความชื้นร้อยละ 16.1

ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)	ความหนืด (พอยส์)
15.5	138
17.1	69
18.2	48.1
19.1	34.9
20.2	20.4

ที่มา : The National Honey Board, 2002

ตารางที่ 11 ความหนืดของน้ำผึ้งจากดอกไม้ต่างชนิดกัน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ปริมาณความชื้นร้อยละ 16.1

ชนิดดอกไม้	ความหนืด (พอยส์)
เสจ (sage)	115.0
สวีท โคลเวอร์ (sweet clover)	87.5
ไวท์ โคลเวอร์ (white clover)	94.0

ที่มา : The National Honey Board, 2002

2.2.6 ประโยชน์ของน้ำผึ้ง

น้ำผึ้งได้ถูกนำไปใช้ในอาหารมากมายหลายชนิดซึ่งนอกจากจะให้คุณค่าทางโภชนาการแล้วยังมีคุณสมบัติทางยาให้กับผู้บริโภคได้ด้วย ในระดับครัวเรือนน้ำผึ้งได้ถูกนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในการทำอาหารอย่างแพร่หลาย ในโรงงานอุตสาหกรรมน้ำผึ้งได้ถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตผลิตภัณฑ์ขนมอบต่างๆ ผลิตภัณฑ์อาหารเช้า ลูกกวาด มามาเลด แยม ขนมปัง เครื่องดื่ม ผลิตภัณฑ์นม ไอศกรีม และรวมถึงการนำไปใช้ในด้านการถนอมอาหาร (Food and Rural Revitalization, 2004) ดังแสดงในตารางที่ 12

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 12 การใช้น้ำผึ้งในผลิตภัณฑ์

ผลิตภัณฑ์	การประยุกต์ใช้
1. อาหาร	ใช้เป็นอาหารโดยไม่ต้องผ่านการแปรรูป
2. ส่วนผสมของอาหาร A ผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ	เป็นสารเพิ่มความหวาน เนื่องจากเป็นสารให้ความหวานที่ได้จากธรรมชาติ
B ผลิตภัณฑ์ขนมอบ	ใช้น้ำผึ้งเป็นส่วนประกอบจะให้ลักษณะของเนื้อสัมผัส สี และกลิ่นรสที่ดี และช่วยรักษาความชื้นให้กับผลิตภัณฑ์ขนมอบทำให้แห้งช้า
C ผลิตภัณฑ์ลูกกวาดและขนมหวาน D ผลิตภัณฑ์ธัญพืช	ใช้ในกระบวนการผลิตคาราเมล ทำให้ได้คาราเมลที่มีลักษณะนุ่มที่ผิวนอกและทำให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกัน ช่วยเพิ่มกลิ่นรสและลักษณะที่ดี
3. เครื่องสำอางและยา	เป็นส่วนผสมของเครื่องสำอาง และเป็นส่วนประกอบของยา
4. ใช้ในอุตสาหกรรมผลิตยาสูบ	รักษาความชื้นและกลิ่นหอมของผลิตภัณฑ์

ที่มา : Food and Rural Revitalization, 2004

2.2.7 สมบัติการต้านจุลินทรีย์ของน้ำผึ้ง

มีการศึกษาพบว่าน้ำผึ้งบางชนิดมีคุณสมบัติในการต้านเชื้อจุลินทรีย์ได้ น้ำผึ้งที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ดีนั้นมักเป็นน้ำผึ้งจากแหล่งที่มีภูมิประทศใกล้เคียงกัน และยังพบว่าน้ำผึ้งที่ได้จากน้ำหวานของดอกไม้บางชนิดเท่านั้นที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้สูง (Bogdanov, 1997) น้ำผึ้งที่ได้จากแหล่งที่มาแตกต่างกันมีผลต่อการต้านเชื้อจุลิทรีย์ได้แตกต่างกัน และการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์โดยน้ำผึ้งขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ด้วยเช่นกัน (ชลดา, 2547)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2.2.7.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการต้านเชื้อจุลินทรีย์ของน้ำผึ้ง

- ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เป็นสารที่ผลิตโดยเอนไซม์กลูโคสออกซิเดสในน้ำผึ้ง โดยเอนไซม์ชนิดนี้หลั่งออกมาจากต่อม hypopharyngeal ของผึ้ง ทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นกลูโคโนแลคโตน และกรดกลูโคนิก ซึ่งถูกสร้างขึ้นเพื่อป้องกันการเสียของน้ำผึ้งในช่วงการสะสมน้ำผึ้ง น้ำผึ้งที่มีความเข้มข้นมากจะพบว่ามีปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์น้อย เนื่องจากสารดังกล่าวสลายตัวได้ง่าย และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีคุณสมบัติสามารถยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ (Molan, 1992)

- ไฟโตเคมิคอล เป็นสารที่มีคุณสมบัติต้านจุลินทรีย์ที่พบอยู่ในน้ำผึ้ง สารฟีนอลิคที่พบในน้ำผึ้งได้แก่ pinocembrin, chrysin, pinobanskin, acacetin, quercetin และ kaemferol เป็นต้น โดยพบว่า pinocembrin สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ดีที่สุด (Bogdanov, 1997)

- แรงดันออสโมติก น้ำผึ้งเป็นของเหลวที่อิ่มตัวด้วยน้ำตาลโดยมีองค์ประกอบของน้ำตาลสูงถึงร้อยละ 84 ซึ่งมีน้ำตาลกลูโคสและฟรุคโตสเป็นองค์ประกอบหลัก และมีน้ำเพียงร้อยละ 15-21 โดยน้ำหนัก เป็นผลทำให้มีปริมาณน้ำอิสระต่ำ โดยเฉลี่ยมีค่าน้ำอิสระประมาณ 0.56-0.62 ทำให้จุลินทรีย์โดยทั่วไปไม่สามารถเจริญในน้ำผึ้งที่มีน้ำต่ำกว่าร้อยละ 17.1 ได้ มีเพียงออสโมฟิลลิกยีสต์เท่านั้น ที่สามารถเจริญในน้ำผึ้งที่มีความชื้นค่อนข้างสูงได้ (Molan, 1992)

- ความเป็นกรด เนื่องจากน้ำผึ้งมีกรดต่างๆเป็นองค์ประกอบหลายชนิดทำให้น้ำผึ้งมีค่าความเป็นกรดด่างที่ต่ำคือ เท่ากับ 3.2-4.5 ซึ่งส่งผลให้สามารถต้านจุลินทรีย์ได้หลายชนิด จุลินทรีย์ที่พบในบาดแผลส่วนใหญ่จะเจริญได้ที่ค่าความเป็นด่าง 7.2-7.4 ดังนั้นน้ำผึ้งที่ไม่ได้เจือจางจึงสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้ได้ (Russell et al., 1988)

2.3 ผลิตภัณฑ์ไอศกรีมโยเกิร์ต

โยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์นมหมักจากเชื้อจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่ได้รับความสนใจและเป็นที่ต้องการของผู้บริโภค (Tamine and Robison, 1985) โดยที่ Nakazawa and Hosono (1992) ได้แบ่งประเภทของผลิตภัณฑ์นมหมักเป็นกลุ่มย่อยได้ดังนี้

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

- ชนิดเซ็ต (set type) เช่น โยเกิร์ตชนิดเซ็ต (set yoghurt)
- ชนิดกวน (stirred type) เช่นโยเกิร์ตชนิดกวน และชนิดสวิสสไตล์
- ชนิดเหลวหรือดื่มได้ (liquid/drinking type) เช่น นมเปรี้ยวพร้อมดื่ม
- ชนิดแช่แข็ง (frozen type) เช่น ไอศกรีมโยเกิร์ต
- ชนิดแห้ง ชนิดเข้มข้น และกึ่งสำเร็จรูป (dried/instant type) เช่น labneh leben และ kishk

ไอศกรีมโยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการดัดแปลงนำเอาโยเกิร์ตมาทำการแช่แข็งเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่แปลกใหม่ซึ่งปัจจุบันได้รับความนิยมเพิ่มมากขึ้นโดยเฉพาะในผู้หญิงจะนิยมรับประทานมากกว่าผู้ชาย เนื่องจากมีปริมาณไขมันที่ต่ำกว่าไอศกรีมนมทั่วไป อีกทั้งยังมีรสชาติออกเปรี้ยวอมเฝื่อนและมีกลิ่นหอมของโยเกิร์ต (สมจิต, 2536) องค์ประกอบหลักของไอศกรีมโยเกิร์ตในแถบตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศสหรัฐอเมริกาแสดงดังตารางที่ 13

ตารางที่ 13 องค์ประกอบหลักของไอศกรีมโยเกิร์ต

องค์ประกอบ	ปริมาณโดยเฉลี่ย (ร้อยละ)	ช่วงที่พบ (ร้อยละ)
ไขมัน	1.4	0.8-2.5
โปรตีน	4.0	1.7-4.5
คาร์โบไฮเดรต	27.8	17.5-34.0
ของแข็งทั้งหมด	30.9	23.6-38.9
เถ้า	0.9	0.7-1.2

ที่มา : สมจิต, 2536

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved