



การตรวจหาแบคทีเรียกรดแลคติกในนมเปรี้ยวพร้อมดื่ม Detection of Lactic Acid Bacteria in Drinking Yoghurt

อรอุมา จันท์เสถียร¹ ลัดดาวัลย์ พะวร¹ สุธิดา พันแสน²

บทคัดย่อ

เชื้อในกลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติก (Lactic acid bacteria; LAB) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก (Gram-positive bacteria) บางสายพันธุ์รูปร่างเป็นท่อน (Rod) หรือ กลม (Coccus) ไม่ใช่ ออกซิเจนในการเจริญเติบโต (Anaerobic bacteria) ส่วนใหญ่จะหมักน้ำตาลแลคโตสในนมแล้วเปลี่ยนเป็นกรดแลคติก ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการหมักนมเปรี้ยวพร้อมดื่ม ซีส และผลิตภัณฑ์นมหมักอื่นๆ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อตรวจวิเคราะห์หา LAB ในนมเปรี้ยวพร้อมดื่ม โดยเก็บตัวอย่างเปรี้ยวพร้อมดื่ม จำนวน 30 ตัวอย่าง ทำการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Spread Plate แบบ Double-Layers บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งแบบจำเพาะ deMan, Rogosa and Sharpe (MRS) ป่มภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจนเป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นตรวจสอบสัณฐานวิทยาของเซลล์ (Cell Morphology) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ซึ่งย้อมด้วยสีย้อม Crystal Violet ผลการทดลองพบว่า LAB มีรูปร่างเซลล์แบบ Coccus จำนวน 19 ตัวอย่าง (หมายเลขตัวอย่างที่ 2, 3, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 19, 21, 23, 24, 25, 29 และ 30) ปริมาณเชื้ออยู่ระหว่าง 2×10^7 CFU/ml ถึง 2.5×10^{10} CFU/ml คิดเป็นร้อยละ 63.33 ซึ่งคาดว่าจะจะเป็นเชื้อ *Streptococcus thermophilus* และ LAB รูปร่างเซลล์แบบ Bacillus จำนวน 8 ตัวอย่าง (หมายเลขตัวอย่างที่ 1, 8, 14, 18, 20, 26, 27 และ 28) ปริมาณเชื้ออยู่ระหว่าง 1×10^7 CFU/ml ถึง 2.5×10^{10} CFU/ml คิดเป็นร้อยละ 26.67 ซึ่งคาดว่าจะจะเป็นเชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* และนมเปรี้ยวพร้อมดื่มที่พบ LAB รูปร่างเซลล์ทั้งแบบ Bacillus และ Coccus จำนวน 3 ตัวอย่าง (หมายเลขตัวอย่างที่ 4, 7 และ 22) ปริมาณเชื้ออยู่ระหว่าง 1.1×10^8 CFU/ml ถึง 2.5×10^9 CFU/ml คิดเป็นร้อยละ 10 ซึ่งคาดว่าจะจะเป็นเชื้อผสมระหว่าง *S. thermophilus* และ *L. bulgaricus* เชื้อ LAB ที่พบมากที่สุดคือตัวอย่างนมเปรี้ยวพร้อมดื่มหมายเลข 23, 25 และ 29 มีปริมาณเชื้อ 2.5×10^{10} CFU/ml ส่วน LAB ที่พบน้อยที่สุดคือตัวอย่างหมายเลข 15 และ 30 ซึ่งมีปริมาณเชื้อเพียง 2×10^7 CFU/ml นมเปรี้ยวพร้อมบริโภคที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐานตามพระราชบัญญัติอาหารและประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่องนมเปรี้ยว ต้องมี LAB ไม่น้อยกว่า 10^8 CFU/ml

¹ อาจารย์ คณะศึกษาศาสตร์ วิทยาลัยนครราชสีมา

² อาจารย์ คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ วิทยาลัยนครราชสีมา



งานวิจัยครั้งนี้พบเชื้อLAB ในนมเปรี้ยวพร้อมดื่มที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน จำนวน 28 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 93.33 ผู้วิจัยแนะนำให้ผู้บริโภคควรเลือกบริโภคนมเปรี้ยวพร้อมดื่มที่มี LAB ที่พบในปริมาณมากที่สุดและควรเลือกผลิตภัณฑ์ที่มี LAB ผสมกันทั้ง 2 สายพันธุ์

คำสำคัญ : แบคทีเรียกรดแลคติก, นมเปรี้ยวพร้อมดื่ม

Abstract

Lactic acid bacteria (LAB) is an anaerobic, Gram-positive bacteria, rod or coccus shapes. LAB converted lactose into lactic acid during fermentation and played important role in fermented dairy products such as drinking yoghurt, cheeses and etc. Research objective was to detection of LAB in drinking yoghurt. Thirty samples of drinking yoghurt were collected and cultured on specific deMan, Rogosa and Sharpe (MRS) agar using double-layers spread plate technique and incubated at 37 °C for 72 h under anaerobic condition. Bacterial cell morphology was detected under light microscopy after stained with crystal violet dye. Result, isolates isolated from drinking yoghurt were 19 cocci (sample number 2, 3, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 19, 21, 23, 24, 25, 29 and 30), 8 bacilli (sample number 1, 8, 14, 18, 20, 26, 27 and 28) and 3 mixed cocci and bacilli shape (sample number 4, 7 and 22). LAB was detected between 2×10^7 and 2.5×10^{10} CFU/ml (63.33%), 1×10^7 and 2.5×10^{10} CFU/ml (26.67%) and 1.1×10^8 and 2.5×10^9 CFU/ml (10%), respectively. It could be *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* and mixed between *S. thermophilus* and *L. bulgaricus*. Highest LAB detected in drinking yoghurt were sample number 23, 25 and 29 (2.5×10^{10} CFU/ml). The lowest of LAB were sample number 15 and 30 (2×10^7 CFU/ml). According to Thai FDA for food regulation, LAB in drinking yoghurt must presented more than 10^8 CFU/ml. In this research, 28 samples (93.33%) of drinking yoghurt were pass the criteria. For consumers advisory, they should drink the products with mixed LAB strains and highest of presented live bacteria.

Keywords : Lactic acid bacteria, Drinking Yoghurt

ความสำคัญและที่มาของปัญหาวิจัย

นมเปรี้ยวพร้อมดื่ม (drinking yoghurt) เป็นผลิตภัณฑ์นมหมักที่ได้รับความนิยมจากผู้บริโภคทั่วไป เนื่องจากมีคุณประโยชน์ต่อร่างกาย และหาซื้อรับประทานได้ง่าย เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำน้ำนมมาหมักด้วยจุลินทรีย์ จุลินทรีย์ที่นิยมใช้คือเชื้อในกลุ่มที่ผลิตกรดแลคติก (Lactic Acid Bacteria; LAB) ได้แก่ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* โดยเชื้อจะใช้น้ำตาลแลคโตสในนมเปลี่ยนเป็นกรดแลคติก ทำให้นมมีสภาพตกตะกอนเป็นเคิร์ด (Curd) และมีรสเปรี้ยว จึงเหมาะกับผู้ที่มีปัญหาการแพ้น้ำตาลแลคโตส (Lactose



Intolerance) ในนม เนื่องจากร่างกายไม่สามารถย่อยน้ำตาลแลคโตสได้ สาเหตุจากภาวะการขาดเอนไซม์แลคเตส โดยไม่ทำให้เกิดปัญหาท้องร่วงหรือเกิดก๊าซขึ้น ทั้งยังช่วยให้ลำไส้เคลื่อนตัวช้าลง ทำให้ดูดซึมธาตุอาหารต่างๆ ได้มากยิ่งขึ้น ช่วยลดความเสี่ยงจากการเกิดโรคมะเร็งในลำไส้ใหญ่และยังช่วยป้องกันโรคที่เกี่ยวข้องกับระบบทางเดินอาหารซึ่งเกิดจากการติดเชื้อได้ (จารุวรรณ ศิริพรรณพร, 2543) *Lactobacillus delbrueckii* subsp *bulgaricus* มีบทบาทสำคัญในการหมักนมเชื้อจะผลิตแอลกอฮอล์ (acetaldehydes) ซึ่งเป็นสารให้กลิ่นรสของนํ้านมหมัก และสร้างเอนไซม์โปรติเอส (protease) ซึ่งย่อยโปรตีน (protein) ในนํ้านมให้ได้กรดแอมิโน (amino acid) โดยเฉพาะฮิสทีดีน (histidine) ซึ่งเป็นกรดแอมิโนที่กระตุ้นการเจริญของ *Streptococcus thermophilus* (นันทรัตน์ ณ นครพนม, 2554) *S. thermophilus* ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากนม (fermented dairy product) ได้แก่ นมเปรี้ยว เช่น โยเกิร์ต เนยแข็ง โดยเปลี่ยนน้ำตาลแลคโตส (lactose) นํ้านมเป็นกรดแลคติก (lactic acid) และสร้างกรดฟอร์มิก (formic acid) ส่งเสริมการเจริญเติบโตของ *Lactobacillus* ซึ่งผลิตภัณฑ์เหล่านี้มีส่วนประกอบของนํ้านมที่ผ่านการทำลายจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค และมีการปรุงแต่ง สี กลิ่น รส หรือเติมวัตถุเจือปนอาหาร หรือส่วนประกอบอื่นที่ไม่ใช่ นมด้วย ซึ่งอาจทำให้อัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียแลคติกมีปริมาณลดลง (อุราภรณ์ เรืองวัชรินทร์ และคณะ, 2561)

ผู้วิจัยจึงมีความสนใจศึกษาการตรวจวิเคราะห์หาแบคทีเรียกรดแลคติกในนมเปรี้ยวพร้อมดื่ม ที่มีคุณค่าทางโภชนาการและราคาไม่สูงมากนัก รวมทั้งมีคุณค่าทางโภชนาการที่มีต่อร่างกายของผู้บริโภค เพื่อเป็นแนวทางในการเลือกบริโภคผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มต่อไป

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อตรวจวิเคราะห์หาแบคทีเรียกรดแลคติกในนมเปรี้ยวพร้อมดื่ม

วิธีดำเนินการวิจัย

การสุ่มตัวอย่าง (Sampling)

สุ่มตัวอย่างอย่างน้อย 2 หน่วยตัวอย่าง ปริมาตร 50 g ใส่ในภาชนะที่ปราศจากเชื้อ เขย่าตัวอย่างในแต่ละภาชนะบรรจุให้เข้ากันหรือปิเปตตัวอย่างจากแต่ละภาชนะปริมาณเท่าๆ กันใส่ในภาชนะปราศจากเชื้อไม่น้อยกว่า 100 g และเขย่าให้เข้ากัน (เป็นตัวอย่างเริ่มต้น)

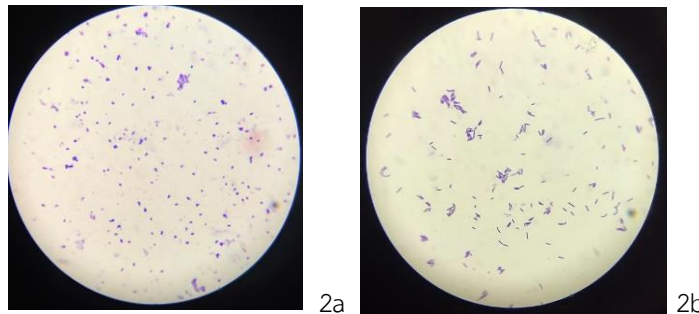
การเตรียมตัวอย่าง (Preparation of test sample)

ทำการชั่งนมเปรี้ยวพร้อมดื่ม 50 g ใส่ในสารละลายสำหรับเจือจาง 450 ml ทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน ได้ตัวอย่างเจือจาง 1:10 และทำการเจือจางจนได้ตัวอย่างที่เจือจางตามต้องการ

การตรวจนับปริมาณเชื้อ (enumeration)

เทคนิคการ Spread Plate

การตรวจนับปริมาณเชื้อ (enumeration) โดยวิธี Spread Plate โดยเท MRS Agar ลงในงานเพาะเชื้อปราศจากเชื้อ ตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง แล้วทำให้ผิวหน้าอุ่นแห้ง ปิเปตตัวอย่างที่ค่าความเจือจาง 10^{-6} และ 10^{-7} หรือ



ภาพที่ 2. ลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ (Cell Morphology) ของ LAB

ปริมาณแบคทีเรียกรดแลคติกในนมเปรี้ยวพร้อมดื่ม

ปริมาณเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในนมเปรี้ยวพร้อมดื่ม แบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม ดังนี้ รูปร่างเซลล์แบบ Cocci จำนวน 19 ตัวอย่าง เชื้ออยู่ระหว่าง 2×10^7 CFU/ml ถึง 2.5×10^{10} CFU/ml ในตัวอย่างที่ 2, 3, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 19, 21, 23, 24, 25, 29 และตัวอย่างที่ 30 คิดเป็นร้อยละ 63.33 รูปร่างเซลล์แบบ Bacilli จำนวน 8 ตัวอย่าง เชื้ออยู่ระหว่าง 1×10^7 CFU/ml ถึง 2.5×10^{10} CFU/ml ในตัวอย่างที่ 1, 8, 14, 18, 20, 26, 27 และตัวอย่างที่ 28 คิดเป็นร้อยละ 26.67 และรูปร่างเซลล์แบบ Bacilli และ Cocci ร่วมกัน จำนวน 3 ตัวอย่าง เชื้ออยู่ระหว่าง 1.1×10^8 CFU/ml ถึง 2.5×10^9 CFU/ml ในตัวอย่างที่ 4, 7 และตัวอย่างที่ 22 คิดเป็นร้อยละ 10

สรุปผลการวิจัย

การตรวจวิเคราะห์เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในนมเปรี้ยวพร้อมดื่ม ได้ทำการแยกเชื้อด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งแบบจำเพาะ de Man, Rogosa and Sharpe (MRS) agar ด้วยเทคนิค Spread Plate และเทคนิค Double-Layers ในการศึกษาลักษณะสัณฐานวิทยาของเซลล์ พบว่าเชื้อในกลุ่ม Lactic acid bacteria มีรูปร่างเซลล์แบบ Coccus จำนวน 19 ตัวอย่าง เชื้ออยู่ระหว่าง 2×10^7 CFU/ml ถึง 2.5×10^{10} CFU/ml ตัวอย่างที่ 2, 3, 5, 6, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 16, 17, 19, 21, 23, 24, 25, 29 และตัวอย่างที่ 30 คิดเป็นร้อยละ 63.33 ที่คาดว่าจะเป็เชื้อ *Streptococcus thermophilus* รูปร่างเซลล์แบบ Bacillus จำนวน 8 ตัวอย่าง เชื้ออยู่ระหว่าง 1×10^7 CFU/ml ถึง 2.5×10^{10} CFU/ml ตัวอย่างที่ 1, 8, 14, 18, 20, 26, 27 และตัวอย่างที่ 28 คิดเป็นร้อยละ 26.67 ที่คาดว่าจะเป็เชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* และรูปร่างเซลล์แบบ Bacillus และ Coccus จำนวน 3 ตัวอย่าง เชื้ออยู่ระหว่าง 1.1×10^8 CFU/ml ถึง 2.5×10^9 CFU/ml ตัวอย่างที่ 4, 7 และตัวอย่างที่ 22 คิดเป็นร้อยละ 10 ที่คาดว่าจะเป็เชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์ คือเชื้อ *Streptococcus thermophilus* และ เชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* และเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกพบมากที่สุด ตัวอย่างที่ 23, 25 และตัวอย่างที่ 29 ปริมาณ 2.5×10^{10} CFU/ml เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกพบน้อยที่สุด ตัวอย่างที่ 15 และตัวอย่างที่ 30 ปริมาณ 2×10^7 CFU/ml และพบตัวอย่างที่ผ่านเกณฑ์ตามพระราชบัญญัติอาหารและประกาศกระทรวงสาธารณสุข ว่าด้วยเรื่อง นมเปรี้ยว โดยกำหนดจุลินทรีย์ที่ใช้ใน



กระบวนการผลิตนมเปรี้ยวต้องไม่น้อยกว่า 10^8 CFU/ml งานวิจัยพบเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในนมเปรี้ยวพร้อมดื่มที่ผ่านเกณฑ์มาตรฐาน จำนวน 28 ตัวอย่าง คิดเป็นร้อยละ 93.33

การอภิปรายผล

งานวิจัยในครั้งนี้ผู้วิจัยแนะนำให้ผู้บริโภค บริโภคนมเปรี้ยวพร้อมดื่มที่มีแบคทีเรียกรดแลคติกที่พบมากที่สุด และผู้วิจัยแนะนำให้ผู้บริโภค บริโภคนมเปรี้ยวพร้อมดื่มที่มีแบคทีเรียกรดแลคติกทั้ง 2 สายพันธุ์ ซึ่งในนมเปรี้ยวพร้อมดื่มเป็นแหล่งโปรตีนและในนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจะมีโปรตีนมากกว่าในนมถึงร้อยละ 20 ที่เป็นโปรตีนที่สามารถย่อยง่าย ไม่ทำให้ท้องอืดเหมือนโปรตีนที่ได้จากนม ดังนั้นการรับประทานนมเปรี้ยวพร้อมดื่มเป็นประจำนั้นสามารถรักษาอาการท้องเสีย ท้องเดิน หรือโรคแผลในกระเพาะอาหารได้อย่างดี

ข้อเสนอแนะ

ข้อเสนอแนะในการนำผลวิจัยไปใช้

ใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการเลือกซื้อผลิตภัณฑ์นมหมักชนิดนมเปรี้ยวพร้อมดื่มสำหรับผู้บริโภคได้

ข้อเสนอแนะในการวิจัยครั้งต่อไป

เลือกตัวอย่างผลิตภัณฑ์นมหมักที่มีความหลากหลายมากขึ้นเพื่อแนะนำหรือเป็นทางเลือกสำหรับผู้บริโภคได้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ คณะวิทยาศาสตร์การแพทย์ วิทยาลัยนครราชสีมา ที่ให้ความอนุเคราะห์สารเคมี อาหารเลี้ยงเชื้อ และอุปกรณ์ห้องปฏิบัติการทางจุลชีววิทยา ในการทำวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

จากรุวรรณ ศิริพรรณพร. (2543). โยเกิร์ต อาหารเพื่อสุขภาพ. *อาหาร*, 4:292-296.

พระราชบัญญัติอาหารและประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 289 พ.ศ. 2548 ว่าด้วยเรื่อง นมเปรี้ยว

อรุมาภรณ์ เรื่องวัชรินทร์ กฤตภาส จินาภาคและ ศิริพร ทวีโรจนการ. (2561). การผลิตโยเกิร์ตพร้อมดื่มจากน้ำเงาะและ

การเหลือรอดของแบคทีเรียแลคติก, *RMUTP Research Journal*, Vol. 12, No. 2

Na Nakornpanom, N., Tongman, K. and Singsood, A. The chemical properties and survival of *Lactobacillus bulgaricus* of yogurt containing germinated mung bean starch. *The 14th Food Innovation Asia Conference*; 2012 June 14-15. Bangkok, Thailand; 2012.



**NMCCON
2021**

การประชุมวิชาการระดับชาติ วิทยาลัยนครราชสีมา

ครั้งที่ 8 ประจำปี พ.ศ.2564

“สู่ชีวิตวิถีใหม่ ด้วยงานวิจัยทางสุขภาพและการบริการ”

27 มีนาคม พ.ศ. 2564