

การประยุกต์ใช้ *Bacillus* sp. เป็นโปรไบโอติกส์ในโยเกิร์ต

ศุนิดา เมืองโคตร*

บทคัดย่อ

โยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์ที่นำนมแล้วเหลืองมาผ่านกระบวนการหมัก โดยจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโยเกิร์ต คือ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* จนเกิดเป็นเคิร์ดและมิลสเปรี้ยว โดยในงานวิจัยนี้ได้ทดลองผลิตโยเกิร์ต และศึกษาปริมาณเปอร์เซ็นต์ของนมวัว ตลอดจนปริมาณเชื้อโยเกิร์ตสำเร็จรูปเริ่มต้นที่เหมาะสม คือ นมวัว 60, 70, 80, 90 และ 100 เปอร์เซ็นต์ เชื้อโยเกิร์ต 3, 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ บ่มที่อุณหภูมิ 45 °ซ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต มาศึกษาคุณลักษณะบางประการ ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) ความเป็นกรด และผลการทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต พบว่า ตัวอย่างผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่มีปริมาณนมวัว 100 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อโยเกิร์ต 3 เปอร์เซ็นต์ จะมีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 4.68 ซึ่งสูงกว่าตัวอย่างอื่นๆ ($p \leq 0.05$) ขณะที่ตัวอย่างผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่มีปริมาณนมวัว 100 เปอร์เซ็นต์ และเชื้อโยเกิร์ต 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ จะมีความเป็นกรด คือ 0.65 และ 0.67 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนผลการทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่มีเปอร์เซ็นต์ของนมวัว และปริมาณเชื้อโยเกิร์ตเริ่มต้นแตกต่างกันนั้น พบว่าผู้ทดสอบชิมมีความชอบที่ไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) โดยมีความชอบโดยรวมอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ จากนั้นเมื่อทำการคัดเลือกนมวัว 60, 70 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับปริมาณเชื้อโยเกิร์ต 3 เปอร์เซ็นต์ ในการผลิตโยเกิร์ต แล้วประเมินค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ความเป็นกรด ลักษณะการเกิดเคิร์ด และเปอร์เซ็นต์ Syneresis รวมถึงผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่า ตัวอย่างผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ผลิตจากนมวัว 60, 70 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับปริมาณเชื้อโยเกิร์ต 3 เปอร์เซ็นต์ จะให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) อยู่ในช่วง 4.44-4.56 ค่าความเป็นกรดอยู่ในช่วง 0.49-0.58 เปอร์เซ็นต์ ส่วนลักษณะเคิร์ดที่ได้ พบว่า ไม่มี ความแตกต่างกัน โดยเคิร์ดมีความเรียบเนียน ไม่มีผิวขรุขระ และเปอร์เซ็นต์ Syneresis อยู่ในช่วง 14.53-41.05 เปอร์เซ็นต์ ส่วนผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่ามีความชอบโดยรวมอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ จากนั้นได้ศึกษากราฟการเจริญเติบโตของแบคทีเรียโปรไบโอติกส์ คือ *Bacillus subtilis* TISTR No.001 และ *Bacillus licheniformis* TISTR No.004 พบว่าเชื้อทั้งสองสายพันธุ์ จะมีการเจริญเติบโตอยู่ในช่วง Stationary phase เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 14 ชั่วโมง โดยมีจำนวนเชื้อประมาณ 7 ล็อกโคโลนีต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้เมื่อศึกษาการเสริมแบคทีเรียโปรไบโอติกส์ คือ *B. subtilis* TISTR No.001 และ *B. licheniformis* TISTR No.004 ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต พบว่า ตัวอย่างผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่เติม *B. subtilis* TISTR No.001 และ *B. licheniformis* TISTR No.004 จะให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 4.46 และ 4.43 ตามลำดับ ($p > 0.05$) และค่าความเป็นกรดเท่ากับ 0.73 และ 0.79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ($p \leq 0.05$) ส่วนการเหลือรอดของ *B. subtilis* TISTR No.001 และ *B. licheniformis* TISTR No.004 ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 5 °ซ เป็นเวลา 15 วัน พบว่าเชื้อ *B. licheniformis* TISTR No.004 สามารถเหลือรอดในตัวอย่างผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตได้มากกว่า *B. subtilis* TISTR No.001 ($p \leq 0.05$) จากนั้นได้ศึกษาการใช้ *B. licheniformis* TISTR No.004 ร่วมกับ *Lactobacillus acidophilus* พบว่า ตัวอย่างผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่เติมเชื้อ *L. acidophilus* จะมีแนวโน้มในการลดลงของค่า

* วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เทคโนโลยีการอาหาร) คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 110 หน้า.

ความเป็นกรด-ด่าง (pH) มากกว่า *B. licheniformis* TISTR No.004 และมีแนวโน้มในการเพิ่มขึ้นของค่าความเป็นกรดสูงกว่า *B. licheniformis* TISTR No.004 ส่วนเปอร์เซ็นต์ Syneresis พบว่า ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไซเกอร์ต์ที่เติมเชื้อ *B. licheniformis* TISTR No.004 จะมีค่าเปอร์เซ็นต์ Syneresis น้อยที่สุดเท่ากับ 8.77 สำหรับการเหลือรอดของเชื้อโปรไบโอติกส์ทั้งสองชนิด คือ *B. licheniformis* TISTR No.004 และ *L.acidophilus* พบว่ามีการเหลือรอดอยู่ในช่วง 5.86-7.10 ล็อกโคโลนีต่อมิลลิลิตร และ 9.13-9.55 ล็อกโคโลนีต่อมิลลิลิตรตามลำดับ และผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่าผู้ทดสอบมีความชอบโดยรวมในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไซเกอร์ต์ที่เติมเชื้อ *B. licheniformis* TISTR No.004 สูงกว่า ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไซเกอร์ต์ที่เติมเชื้อ *L.acidophilus* และกลุ่มควบคุม ($p \leq 0.05$) ส่วนผลการศึกษายับยั้ง *Staphylococcus aureus* ในตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไซเกอร์ต์ที่เติมเชื้อ *B. licheniformis* TISTR No.004 และ *L.acidophilus* ทั้งที่อยู่ในรูปเชื้อชนิดเดี่ยวและผสม พบว่า ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไซเกอร์ต์ที่เติมเชื้อ *B. licheniformis* TISTR No.004 จะมีแนวโน้มในการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และ เพิ่มขึ้นของเปอร์เซ็นต์ความเป็นกรดน้อยที่สุด และสามารถยับยั้ง *S. aureus* ได้ดีที่สุด และเมื่อศึกษาคุณลักษณะคุณภาพของตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไซเกอร์ต์ที่เติม *B. licheniformis* TISTR No.004 พบว่า ตัวอย่างผลิตภัณฑ์ไซเกอร์ต์ที่เติม *B. licheniformis* TISTR No.004 มีค่า L คือ ความสว่าง เท่ากับ 83.83 a คือ สีเขียว เท่ากับ -0.39 และ b คือ สีเหลือง เท่ากับ 9.33 ความหนืด 12,785 cps ความเป็นกรด-ด่าง 4.54 ความเป็นกรด 0.59 เปอร์เซ็นต์ และไม่พบการเกิด Syneresis นอกจากนี้ยังพบว่าองค์ประกอบทางเคมี จะประกอบด้วย โปรตีน 2.59 เปอร์เซ็นต์ มันเนย 3.32 เปอร์เซ็นต์ แลคโตส 5.56 เปอร์เซ็นต์ ไขมันทั้งหมดที่เป็นของแข็ง 12.18 เปอร์เซ็นต์ และไขมันไม่รวมมันเนย 8.85 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการวิเคราะห์จำนวนการเหลือรอดของ *B. licheniformis* TISTR NO.004 พบว่า มีการเหลือรอดเท่ากับ 7.01 ล็อกโคโลนีต่อมิลลิลิตรซึ่งจากการศึกษาจะเห็นได้ว่า *B. licheniformis* TISTR No.004 มีศักยภาพในการใช้เป็นโปรไบโอติกส์ในไซเกอร์ต์ เนื่องจากมีระดับการเหลือรอดสูงกว่าระดับต่ำสุด ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย (≥ 5 ล็อกโคโลนีต่อมิลลิลิตร)

Application of *Bacillus* sp. as Probiotic in So-ghurt

Sunida Muangkote*

Abstract

Soghurt is a soymilk fermented with yoghurt starter including *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* to form curd with typical flavor. For this research, soghurt was made and the suitable amounts of cow milk as 60, 70, 80, 90 and 100 % along with yoghurt starter as 3, 4, and 5 % were determined by following pH and % titratable acidity during incubation at 45 °C for 3 hrs and soghurt made was also sensory evaluated. It was found that soghurt made from 100% cow milk and 3% starter gave out the highest pH as 4.68 ($p \leq 0.05$) whereas the ones made from 100% cow milk with 4 and 5% starter gave out the acidities as 0.65 and 0.67% respectively. For sensory evaluation, soghurts made from varying amounts of cow milk and starter were not significantly different in likings ($p > 0.05$), particularly the overall likings were in acceptable range. Next, cow milk at 60, 70, and 100% with 3% starter were chosen to produce soghurt and also pH, % titratable acidity, curd formation, % syneresis along with sensory evaluation were determined. It was found that all products contributed the pHs and titratable acidities in the range of 4.44-4.56 and 0.49-0.58% respectively with smooth uniform curd and % syneresis in the range of 14.53-41.05 %. Also, the product overall likings were in acceptable ranges. After that, the growth curves of *Bacillus subtilis* TISTR No.001 and *Bacillus licheniformis* TISTR No.004 as probiotic bacteria were followed and constructed and found that they would grow in stationary phase after 14 hrs incubation at 37 °C with a number of approximately 7 Log CFU/ml. Then, those probiotics were added in the soghurt and found that *B. subtilis* TISTR No.001 and *B. licheniformis* TISTR No.004 gave out the pHs as 4.46 and 4.43 respectively ($p > 0.05$) with % titratable acidities 0.73 and 0.79 respectively ($p \leq 0.05$). In addition, for probiotic survival, it was found that after keeping soghurt at 5 °C for 15 days *B. licheniformis* TISTR No.004 could survive significantly better than *B. subtilis* TISTR No.001 ($p \leq 0.05$). Then, *B. licheniformis* TISTR No.004, *Lactobacillus acidophilus* and the combination of both were evaluated as probiotics and found that pH and acidity of soghurt with *L. acidophilus* tended to decrease and increase respectively more than the ones of *B. licheniformis* TISTR No.004. For % syneresis, soghurt with *B. licheniformis* TISTR No.004 had the least one as 8.77. Obviously, *B. licheniformis* TISTR No.004 and *L. acidophilus* could survive in soghurt in the range of 5.86 - 7.10 log CFU/ml and 9.13-9.55 log CFU/ml respectively. Also, sensory evaluation was determined and found that soghurt with *B. licheniformis* TISTR No.004 had the overall liking significantly higher than those with *L. acidophilus* and the control ($p \leq 0.05$). Moreover, the inhibition of *Staphylococcus aureus* by soghurt with *B. licheniformis* TISTR No.004 and *L. acidophilus* both single and combination was investigated and found that soghurt with *B. licheniformis* TISTR No.004 tended to decrease in pH and increase in acidity the least when compared to the

* Master of Science (Food Technology), Faculty of Technology, Khon Kaen University. 110 pages.

others and could inhibit *S. aureus* the best. Additionally, quality characteristics of yoghurt with *B. licheniformis* TISTR No.004 were determined and found that there were $L=83.83$, $a=-0.39$, $b=9.33$ in color, 12,785 cps in viscosity, $pH=4.54$, 0.59% titratable acidity, and 0% in syneresis. Then, the chemical compositions of yoghurt with *B. licheniformis* TISTR No.004 were analyzed and found that there were 2.59% protein, 3.32% fat, 5.50% lactose, 12.18% total solid and 8.85% solid not fat (SNF) Finally, the survival of *B. licheniformis* TISTR No.004 in yoghurt was determined and found that the survival numbers were 7.01 log CFU/ml Thus, *B. licheniformis* TISTR No.004 has a potential to be applied as yoghurt probiotic commercially since the survival numbers are greater than the minimum therapeutic dose ($\geq 5 \log$ (CFU/ml)).