

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

สุนิดา เมืองโคตร¹ และ บวรศักดิ์ ลีนานนท์¹
Sunida Muangkote¹ and Borwonsak Leenanon¹

Abstract

Soghurt is a soymilk fermented with yoghurt starter. For this research, soghurt was made with varying amounts of cow milk as 60, 70, 80, 90 and 100 % along with yoghurt starter as 3, 4, and 5 % and then incubated at 45 °C for 3 hr.. It was found that soghurt made from 60, 70, and 100% cow milk and 3% starter 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. Then, probiotics including *Bacillus licheniformis* TISTR No.004 and *Bacillus subtilis* TISTR No.001 with stationary growth phase were added in the soghurt and stored at 5 °C for 15 days. It was found that *Bacillus licheniformis* TISTR No.004 could survive significantly better than *Bacillus subtilis* TISTR No.001 ($p \leq 0.05$). Furthermore, *Bacillus licheniformis* TISTR No.004, *Lactobacillus acidophilus* and the combination of both were evaluated as probiotics and found that *Bacillus licheniformis* TISTR No.004 and *Lactobacillus 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. Thus, *Bacillus licheniformis* TISTR No.004 has a potential to be applied as soghurt probiotic commercially since the survival numbers are greater than the minimum therapeutic dose (≥ 5 log CFU/ml).

Keywords: Soghurt, Probiotic, and Survival

บทคัดย่อ

โซเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์ที่ทำนมถั่วเหลืองมาหมักด้วย เชื้อโยเกิร์ต โดยงานวิจัยนี้ได้ทดลองผลิตโซเกิร์ต ที่มีนมวัวร้อยละ 60, 70, 80, 90 และ 100 เชื้อโยเกิร์ตร้อยละ 3, 4 และ 5 ปมที่อุณหภูมิ 45 °ซ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง พบว่า โซเกิร์ตจากนมวัวร้อยละ 60, 70 และ 100 ร่วมกับปริมาณเชื้อโยเกิร์ตร้อยละ 3 จะให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) อยู่ในช่วง 4.44 -4.56 ค่าความเป็นกรดอยู่ในช่วง 0.49-0.58 เปอร์เซ็นต์ ส่วนลักษณะเคิร์ดที่ได้ พบว่า มีลักษณะเรียบเนียนสม่ำเสมอ และเปอร์เซ็นต์ Syneresis อยู่ในช่วง 14.53-41.05 ส่วนผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่ามีความชอบโดยรวมอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ จากนั้นเมื่อศึกษาการเสริมแบคทีเรียโปรไบโอติกส์ คือ *B. subtilis* TISTR No.001 และ *B. licheniformis* TISTR No.004 ที่มีการเจริญอยู่ในช่วง Stationary phase ในโซเกิร์ตและเก็บที่อุณหภูมิ 5 °ซ เป็นเวลา 15 วัน พบว่า เชื้อ *B. licheniformis* TISTR No.004 สามารถเหลือรอดในโซเกิร์ตได้มากกว่า *B. subtilis* TISTR No.001 ($p \leq 0.05$) จากนั้นได้ศึกษาการใช้ *B. licheniformis* TISTR No.004 ร่วมกับ *Lactobacillus acidophilus* เพื่อเป็นโปรไบโอติกส์ พบว่า การเหลือรอดของเชื้อโปรไบโอติกส์ทั้งสองชนิด คือ *B. licheniformis* TISTR No.004 และ *L. acidophilus* มีการเหลือรอดอยู่ในช่วง 5.86-7.10 log CFU/ml และ 9.13-9.55 log CFU/ml ตามลำดับ ด้วยเหตุนี้ *B. licheniformis* TISTR No.004 จึงมีศักยภาพในการที่จะนำไปประยุกต์ใช้เป็นโปรไบโอติกส์ในโซเกิร์ตเชิงการค้า เนื่องจากมีจำนวนการเหลือรอดสูงกว่าระดับต่ำสุดที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย (≥ 5 log CFU/ml)

คำสำคัญ : โซเกิร์ต, โปรไบโอติกส์, การเหลือรอด

¹ ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยี / ศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น

¹ Department of Food Technology, Faculty of Technology / Postharvest Technology Innovation Center, Khon Kaen University, Khon Kaen

คำนำ

Bacillus sp. จัดว่าเป็นแบคทีเรียโปรไบโอติกส์ชนิดหนึ่งที่ช่วยในการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียโปรไบโอติกส์ชนิดอื่น เช่น *Bifidobacterium* sp. และลดปริมาณของแบคทีเรียที่ก่อโรค (วารุณี, 2549) ส่วนไซโตเรียม หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำนมถั่วเหลืองมาผ่านกระบวนการหมักโดยจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตโยเกิร์ต จนเกิดเป็นเคิร์ดและมีรสเปรี้ยว

โดยงานวิจัยนี้ได้ศึกษากระบวนการผลิตไซโตเรียมพร้อมทั้งศึกษากากราฟการเจริญ (Growth curve) ของ *Bacillus* sp. เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการเป็นแบคทีเรียโปรไบโอติกส์ในไซโตเรียม และศึกษา *Bacillus* sp. สายพันธุ์ที่เหมาะสมร่วมกับแบคทีเรียแลคติกโปรไบโอติกส์ (Probiotic Lactics) เพื่อเป็นโปรไบโอติกส์ในไซโตเรียม

อุปกรณ์และวิธีการ

ขั้นตอนแรก เริ่มจากการผลิตไซโตเรียมโดยใช้นมวัวร้อยละ 60, 70, 80, 90 และ 100 และเชื้อโยเกิร์ตร้อยละ 3, 4 และ 5 บ่มที่อุณหภูมิ 45 °C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง, เปอร์เซ็นต์ความเป็นกรด ลักษณะของเคิร์ด เปอร์เซ็นต์การเกิด syneresis และประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยให้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 30 คน ขั้นตอนที่สอง ศึกษาการเจริญเติบโตของเชื้อ *Bacillus subtilis* TISTR No.001 และ *Bacillus licheniformis* TISTR No.004 เพื่อนำไปใช้ในการผลิตไซโตเรียม ขั้นตอนที่สาม คัดเลือกแบคทีเรียโปรไบโอติกส์ที่เหมาะสมจากสองชนิด คือ *B. subtilis* และ *B. licheniformis* ที่เติมในไซโตเรียม โดยการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง เปอร์เซ็นต์ความเป็นกรด และการเหลือรอดของเชื้อทั้งสองชนิด หลังจากเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5°C เป็นเวลา 15 วัน และขั้นตอนที่สี่ ศึกษา *Bacillus* sp. สายพันธุ์ที่เหมาะสมร่วมกับ *Lactobacillus acidophilus* เพื่อเป็นโปรไบโอติกส์ในไซโตเรียม โดยการวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง เปอร์เซ็นต์ความเป็นกรด เปอร์เซ็นต์การเกิด syneresis และจำนวนการเหลือรอดของเชื้อ *Bacillus* sp. และ *L. acidophilus* เมื่อเก็บรักษา ที่อุณหภูมิ 5°C เป็นเวลา 15 วัน

ผล

จากการนำไซโตเรียมมาประเมินคุณลักษณะบางประการ ได้แก่ ความเป็นกรด-ด่าง ความเป็นกรด ลักษณะของเคิร์ด ที่ได้ เปอร์เซ็นต์การเกิด syneresis และผลการทดสอบความชอบทางประสาทสัมผัส พบว่า ไซโตเรียมจากนมวัวร้อยละ 60, 70 และ 100 ร่วมกับปริมาณเชื้อโยเกิร์ตร้อยละ 3 จะให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง อยู่ในช่วง 4.44-4.56 ค่าความเป็นกรดอยู่ในช่วง 0.49-0.58 เปอร์เซ็นต์ ส่วนลักษณะของเคิร์ดที่ได้ พบว่ามีความเรียบเนียน สม่่าเสมอ และมีเปอร์เซ็นต์การเกิด Syneresis อยู่ในช่วง 14.53-41.05 ส่วนผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่ามีความชอบโดยรวมอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ และจากการศึกษากากราฟการเจริญของเชื้อ *B. subtilis* และ *B. licheniformis* พบว่าเชื้อทั้งสองชนิดจะมีการเจริญเติบโตอยู่ในช่วง Stationary phase เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 14 ชั่วโมง โดยมีจำนวนเชื้อประมาณ 7 ล็อกโคโลนีต่อมิลลิลิตร (log CFU/ml)

สำหรับการเสริมแบคทีเรียโปรไบโอติกส์ คือ *B. subtilis* และ *B. licheniformis* ในไซโตเรียม พบว่า ไซโตเรียมที่เติม *B. subtilis* และ *B.licheniformis* จะให้ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.46 และ 4.43 ($p>0.05$) และค่าความเป็นกรดเท่ากับ 0.73 และ 0.79 เปอร์เซ็นต์ ($p\leq 0.05$) ตามลำดับ ส่วนการเหลือรอดของ *B. subtilis* และ *B. licheniformis* ในไซโตเรียม เมื่อเก็บที่

อุณหภูมิ 5°C เป็นเวลา 15 วัน พบว่า *B. licheniformis* สามารถเหลือรอดในไซโตเรียมมากกว่า *B. subtilis* ($p\leq 0.05$) ดังภาพที่ 1

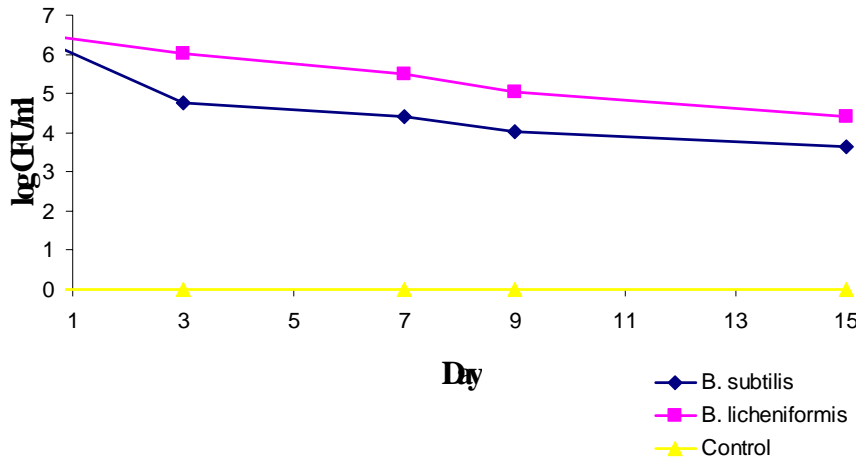


Figure 1 Changes in numbers of *B. subtilis* and *B. licheniformis* in soghurt during storage at 5°C for 15 days.

ส่วนการใช้ *B. licheniformis* ร่วมกับ *L. acidophilus* พบว่าไซเริร์ที่เติมเชื้อ *L. acidophilus* จะมีแนวโน้มในการลดลงของค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) มากกว่า *B. licheniformis* และมีแนวโน้มในการเพิ่มขึ้นของค่าความเป็นกรดสูงกว่า *B. licheniformis* ส่วนเปอร์เซ็นต์การเกิด Syneresis น้อยที่สุดเท่ากับ 8.77 สำหรับการเหลือรอดของเชื้อโปรไบโอติกส์ทั้งสอง ชนิด คือ *B. licheniformis* และ *L. acidophilus* พบว่ามีการเหลือรอดอยู่ในช่วง 5.86-7.10 log CFU/ml และ 9.13-9.55 log CFU/ml ตามลำดับ ดังภาพที่ 2

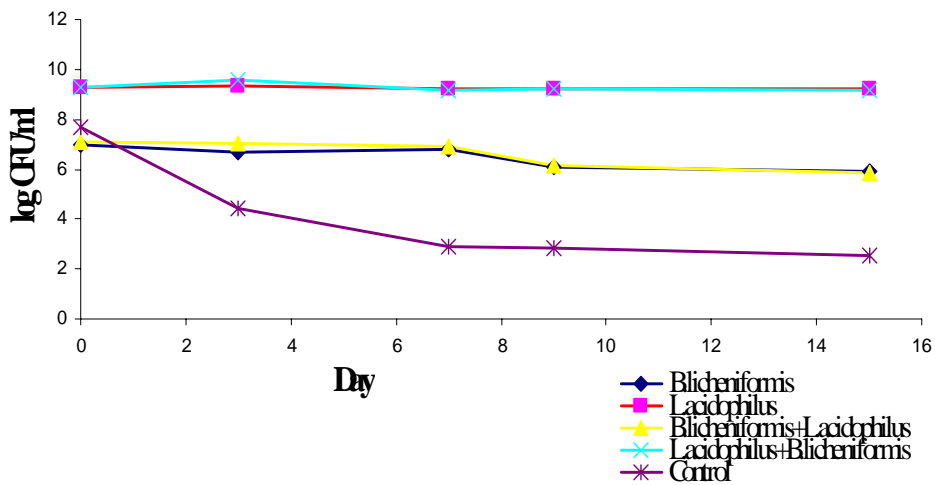


Figure 2 Changes in numbers of *B. licheniformis* and *L. acidophilus* in soghurt compared to control during storage at 5°C for 15 days.

วิจารณ์ผลการทดลอง

ในการพิจารณาคัดเลือกปริมาณนมวัว และเชื้อโยเกิร์ตสำเร็จรูปที่เหมาะสม เนื่องจากผู้ทดสอบชิมให้ค่าคะแนนความชอบโดยรวมอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ ซึ่งสอดคล้องกับวัตถุประสงค์ของงานวิจัย คือ ต้องการทดแทนนมวัวให้มากที่สุด และพิจารณาถึงต้นทุน ดังนั้นในการทดลองแรกจึงเลือกใช้ปริมาณนมวัวร้อยละ 60 และเชื้อโยเกิร์ตร้อยละ 3 และในการทดลองจะเลือกใช้โปรไบโอติกส์ ที่เจริญอยู่ในช่วง Stationary phase เนื่องจากช่วงนี้จุลินทรีย์จะมีความทนต่อสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมได้ดี ส่วนการเติม *B. subtilis* และ *B. licheniformis* ในไซเริร์ พบว่าไซเริร์ที่เติม *B. licheniformis* จะมีการเหลือรอดของเชื้อมากกว่าไซเริร์ที่เติม *B. subtilis* เนื่องจากเชื้อ *B. licheniformis* มีคุณสมบัติในการสร้างสารเมือกมากกว่าเชื้อ *B. subtilis* จึงทำให้มีความสามารถในการอยู่รอดในสภาวะที่ไม่เหมาะสมได้ดีกว่า สำหรับไซเริร์ที่มีการใช้ *B. licheniformis*

ร่วมกับ *L. acidophilus* พบว่า จะมีการเหลือรอดที่ไม่แตกต่างกัน เนื่องจากว่าแบคทีเรีย *L. acidophilus* และ *B. licheniformis* เป็นแบคทีเรียโปรไบโอติกส์ที่มีความสามารถในการทนต่อสภาวะที่ไม่เหมาะสมได้ดี

สรุป

สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไซเกิร์ตที่มีคุณภาพและยอมรับได้คือ นมวัวร้อยละ 60 และปริมาณเชื้อโยเกิร์ตสำเร็จรูป ร้อยละ 3 โดยไซเกิร์ตที่เติมเชื้อ *B. licheniformis* จะมีการเหลือรอดของเชื้อมากกว่าไซเกิร์ตที่เติมเชื้อ *B. subtilis* เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °ซ เป็นระยะเวลา 15 วัน ส่วนไซเกิร์ตที่มีการใช้ *B. licheniformis* ชนิดเดี่ยวและ *B. licheniformis* ร่วมกับ *L. acidophilus* จะมีการเหลือรอดที่ไม่แตกต่างกัน เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 5 °ซ เป็นระยะเวลา 15 วัน

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณศูนย์นวัตกรรมเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยว: หน่วยงานร่วมมหาวิทยาลัยขอนแก่น และศูนย์วิจัยเครื่องจักรกลเกษตรและวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ทุนสนับสนุนในการวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- Wei Q, Wolf-hall C, Chang KC. (2001). Natto characteristics as affected by steaming time, Bacillus strain, and fermentation time. *J food Sci.* 66: 167-173.
- Youn H, Choi H, Hur S, Hong J. (2001). Antimicrobial activities of viscous substance from Chonkukjang fermented with different *Bacillus* sp. *J Food Hyg Safety.* 16: 188-193.