การเพิ่มปริมาณ conjugated linoleic acid (CLA) ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต โดยกระบวนการหมักด้วยแบคทีเรียกรดแล็กติก

นางสาวอัยรา พันอนุ

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

ปีการศึกษา 2549

INCREASING IN CONJUGATED LINOLEIC ACID (CLA) CONTENTS OF YOGHURT BY FERMENTATION WITH LACTIC ACID BACTERIA

Aiyara Pan-anu

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

For the Degree of Master of Science in Food Technology

Suranaree University of Technology

Academic Year 2006

การเพิ่มปริมาณ conjugated linoleic acid (CLA) ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต โดยกระบวนการหมักด้วยแบคทีเรียกรดแล็กติก

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

____

(รองศาสตราจารย์ ดร.กนกอร อินทราพิเชฐ)
ประธานกรรมการ

____

(อาจารย์ ดร.มาโนชญ์ สุธีรวัฒนานนท์)
กรรมการ (อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์)

____

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรีลักษณ์ รอดทอง)
กรรมการ

____

(รองศาสตราจารย์ ดร.วิศิษฐิพร สุขสมบัติ)
กรรมการ

____

(รองศาสตราจารย์ ดร.เสาวณีย์ รัตนพานี)
รองอธิการบดีฝ่ายวิชาการ

____

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุเวทย์ นิงสานนท์)
คณบดีสำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร

อัยรา พันอนุ : การเพิ่มปริมาณ conjugated linoleic acid (CLA) ในผลิตภัณฑ์ โยเกิร์ตโดยกระบวนการหมักด้วยแบคทีเรียกรดแล็กติก (INCREASING IN CONJUGATED LINOLEIC ACID (CLA) CONTENTS OF YOGHURT BY FERMENTATION WITH LACTIC ACID BACTERIA) อาจารย์ที่ปรึกษา : ดร.มาโนชญ์ สุธีรวัฒนานนท์, 93 หน้า.

จากการศึกษาผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตชนิด set yoghurt ที่ทดลองผลิตจากกระบวนการหมักด้วยแบคทีเรียกรดแล็กติกที่ผลิต CLA ได้สูง (*Lactobacillus acidophilus* TISTR1338 และ *Lactococcus lactis* TISTR1401) ร่วมกับจุลินทรีย์โยเกิร์ตทางการค้า ด้านปริมาณ CLA สมบัติทางเคมี และลักษณะทางกายภาพของโยเกิร์ต ลักษณะโครงสร้างภายในของ set yoghurt รวมถึงคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส พบว่า การผสมแบคทีเรียกรดแล็กติกสายพันธุ์ *Lb. acidophilus* TISTR1338 หรือ *Lc. lactis* TISTR1401 หรือทั้ง 2 สายพันธุ์ ที่สร้าง CLA ร่วมกับ กล้าเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ตทางการค้า YC380 (*Lb. delbreuckii* subsp. *bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus*) ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่มีปริมาณ CLA เพิ่มมากขึ้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยโยเกิร์ตที่ใช้กล้าเชื้อ YC-380 ร่วมกับ TISTR1338, YC380 ร่วมกับ TISTR1401 และ YC380 ร่วมกับแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ มีปริมาณ CLA เพิ่มมากขึ้นคิดเป็นร้อยละ 26, 23 และ 30 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุมซึ่งใช้เพียงกล้าเชื้อทางการค้าอย่างเดียว พบว่ามีการเพิ่มขึ้นของ CLA เพียงร้อยละ 14 เท่านั้น แบคทีเรียกรดแล็กติกที่สร้าง CLA นี้ ไม่ส่งผลให้เกิดความความแตกต่างของปริมาณโปรตีน ไขมัน และปริมาณของแข็งทั้งหมดในผลิตภัณฑ์ set yoghurt ที่ได้ แต่โยเกิร์ตที่มีแบคทีเรียผสม YC380 และ TISTR1401 ให้ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดแล็กติกสูงกว่าตัวอย่างควบคุม นอกจากนี้ยังพบว่าแบคทีเรียกรดแล็กติกที่สร้าง CLA ที่ผสมในกล้าเชื้อสำหรับกระบวนการหมักโยเกิร์ตนี้ ไม่ทำให้เกิดการแยกชั้นของ น้ำหางนม และไม่มีผลต่อความสามารถในการกักเก็บน้ำของโครงสร้างเจลโยเกิร์ตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นความสามารถในการกักเก็บน้ำของเจลในตัวอย่างที่มี YC380 และ TISTR1338 ที่พบว่ามีค่ามากที่สุด จากการศึกษาโครงสร้างภายในของ set yoghurt ที่ได้จากกระบวนการหมักด้วยกล้าเชื้อทางการค้าร่วมกับแบคทีเรียกรดแล็กติกที่สร้าง CLA ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าโครงสร้างภายในของโยเกิร์ตที่มี YC380 และ TISTR1401 มีลักษณะของโครงข่ายโปรตีนหยาบเรียงตัวกันไม่เป็นระเบียบ และมีลักษณะรูพรุนขนาดใหญ่ ในขณะที่โยเกิร์ตที่มี TISTR1338 มีลักษณะโครงสร้างภายในเป็นโครงข่ายร่างแหสามมิติเรียงตัวเป็นระเบียบ มีรูพรุนขนาดเล็กกระจายสม่ำเสมออยู่ภายในโครงสร้างเจล คล้ายลักษณะโครง

สร้างภายในของโยเกิร์ตตัวอย่างควบคุม และจากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส แสดงให้เห็นว่า โยเกิร์ตที่หมักด้วยกล้าเชื้อทางการค้า YC380 และที่มีการผสมแบคทีเรียกรดแล็กติกที่สร้าง CLA มีคะแนนการยอมรับด้านกลิ่น รวมถึงการยอมรับด้านกลิ่นรสไม่แตกต่างกัน และมีคะแนนการยอมรับโดยรวมน้อยกว่าโยเกิร์ตตัวอย่างควบคุมเล็กน้อย

สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร ลายมือชื่อนักศึกษา________________________

ปีการศึกษา 2549 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา___________________

AIYARA PAN-ANU : INCREASING IN CONJUGATED LINOLEIC ACID (CLA) CONTENTS OF YOGHURT BY FERMENTATION WITH LACTIC ACID BACTERIA. THESIS ADVISOR : MANOTE SUTHEERAWATTANANONDA, Ph.D. 93 PP.

YOGHURT/CONJUGATED LINOLEIC ACID/LACTIC ACID BACTERIA

The effects of addition of conjugated linoleic acid (CLA)-producing strains of lactic acid bacteria (*Lactobacillus acidophilus* TISTR1338 and *Lactococcus lactis* TISTR1401) to commercial yoghurt starter cultures on CLA contents, chemical and physical properties, microstructure and sensory properties of set yoghurt were studied. Supplementation of either CLA-producing strains *Lb. acidophilus* TISTR1338, *Lc. lactis* TISTR1401 or together to a commercial YC380 starter cultures (*Lb. delbreuckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*) significantly increased CLA contents in set yoghurts (P<0.05). Yoghurts, contained YC380-TISTR1338, YC380-TISTR1401 and YC380-TISTR1338-TISTR1401, increased in the CLA contents of 26%, 23% and 30%, respectively, as compared to 14% for the control which had only YC380. The addition of CLA-producing lactic acid bacteria to YC380 did not significantly (P<0.05) increase protein, fat and total solid contents of set yoghurt. Yoghurt, made with YC380-TISTR1401, had higher total acidity than the control. No difference was found in syneresis and water holding capacity between yoghurt either with or without CLA-producing bacteria, except the yoghurt containing YC380-TISTR1338, which had the highest water holding capacity (P<0.05). Under scanning electron microscope, yoghurt

gels that were made with YC380-TISTR1401 had a coarse structure and large globular aggregate in the network, resulting in large pores. Whereas, YC380-TISTR1338 had a fine structure and small globular aggregate in the network, creating small pores similar to the structure of the control. Descriptive sensory analysis indicated that yoghurts supplemented with CLA-producing bacteria to YC380, exhibited similar acceptability of aroma and flavor, but overall acceptability scores were slightly lower than the control.

School of Food Technology Student's Signature____________________

Academic Year 2006 Advisor's Signature___________________

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงด้วยดี ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์ ดร. มาโนชญ์ สุธีรวัฒนานนท์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ คำสั่งสอนมาโดยตลอด กราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุรีลักษณ์ รอดทอง ที่ให้คำแนะนำต่าง ๆ ในงานวิจัยนี้ กราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. กนกอร อินทราพิเชฐ และ รองศาสตราจารย์ ดร. วิศิษฐิพร สุขสมบัติ คณะกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ที่กรุณาให้คำแนะนำและตรวจแก้วิทยานิพนธ์ให้สมบูรณ์ยิ่งขึ้น กราบขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่ไม่ได้กล่าวชื่อมา ณ ที่นี้ ที่ให้ความรู้ในด้านวิชาการตลอดระยะเวลา 8 ปี ที่ศึกษาอยู่ในรั้ว มทส.

ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่อาคารศูนย์เครื่องมือ 1 และ 3 ทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือในด้านอุปกรณ์ เครื่องมือต่าง ๆ ในงานวิจัย ขอบคุณ เพื่อน พี่ และน้อง ๆ ทุกคน ที่ร่วมทุกข์ ร่วมสุข คอยช่วยเหลือและเป็นกำลังใจให้กันตลอดระยะเวลา 4 ปี จนมีวันนี้ในที่สุด

ขอขอบพระคุณ โครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา ที่ให้ความอนุเคราะห์หางนมผง และกล้าเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ตทางการค้า YC380 และมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีที่ให้ทุนสนับสนุนตลอดงานวิจัยนี้

สุดท้ายนี้ ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้กำเนิด ให้ความรักและการเลี้ยงดู ขอกราบขอบพระคุณ คุณยาย พี่ชาย ที่ให้ความรัก การเลี้ยงดูอย่างดีเสมอมา และให้การสนับสนุนทางการศึกษารวมถึงให้ทุนทรัพย์ในการศึกษาครั้งนี้ หลานสาว พี่สะใภ้ และญาติ ๆ ทุกคนที่เป็นกำลังใจให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จด้วยดี

อัยรา พันอนุ

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ (ภาษาไทย)....................ก
บทคัดย่อ (ภาษาอังกฤษ)....................ค
กิตติกรรมประกาศ....................จ
สารบัญ....................ฉ
สารบัญตาราง....................ซ
สารบัญภาพ....................ฌ
บทที่
1. บทนำ....................1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา....................1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย....................3
1.3 สมมุติฐานการวิจัย....................3
1.4 ข้อตกลงเบื้องต้น....................3
1.5 ขอบเขตของการวิจัย....................4
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ....................4
2. ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง....................5
2.1 ความรู้เรื่อง conjugated linoleic acid....................5
2.2 แบคทีเรียกรดแล็กติก....................12
2.3 ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต....................17
3. วัสดุและวิธีการ....................34
3.1 การเตรียมแบคทีเรียกรดแล็กติก....................34
3.2 การทดสอบความสามารถในการสร้าง CLA ของแบคทีเรียกรดแล็กติก....................35
3.3 การผลิตโยเกิร์ต....................39
3.4 การวางแผนการทดลอง....................41

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.5 การวิเคราะห์ปริมาณและชนิดของ CLA ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต....................................41
3.6 การทดสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์..42
4. ผลการทดลองและการวิจารณ์..47
4.1 ผลการทดสอบความสามารถในการสร้าง CLA ของแบคทีเรียกรดแล็กติก...............47
4.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณและชนิด CLA ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต....................................49
4.3 ผลการทดสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์..52
5. สรุปและข้อเสนอแนะ...67
5.1 บทสรุป..67
5.2 ข้อเสนอแนะ...68
รายการอ้างอิง..69
ภาคผนวก..77
ประวัติผู้เขียน..93

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 ปริมาณ conjugated linoleic acid ในอาหารชนิดต่าง ๆ..7
2.2 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมและผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต...24
2.3 ปริมาณกรดอะมิโนอิสระของน้ำนมและผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต...25
2.4 องค์ประกอบวิตามินและแร่ธาตุของน้ำนมและผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต.....................................26
2.5 คุณลักษณะที่สำคัญของคุณภาพทางประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต.............................28
4.1 ปริมาณ CLA ในอาหารเหลว MRS..45
4.2 ปริมาณ CLA ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตก่อนและหลังกระบวนการหมัก.................................47
4.3 ค่าเฉลี่ยองค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต
และส่วนผสมก่อนการหมัก...49
4.4 ค่าดัชนีการแยกส่วนของน้ำหางนมและ
ความสามารถในการเก็บกักน้ำของโยเกิร์ต... 53
4.5 ค่าวิเคราะห์คุณภาพด้านสีของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตและส่วนผสมก่อนการหมัก....................54
4.6 ค่าแรงตึงผิวและค่าความแน่นเนื้อเฉลี่ยของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต...55
4.7 ค่าเฉลี่ยคะแนนคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต....................................60
1ข คะแนนคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต YC-380.................................81
2ข คะแนนคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต TISTR1338.........................82
3ข คะแนนคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต TISTR1401.........................83
4ข คะแนนคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต TISTR1338/1401...............84

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

2.1 โครงสร้างทางเคมีของกรดไขมันลิโนเลอิก และ CLA-isome..6
2.2 การสังเคราะห์ c9,t11 CLA โดยกระบวนการทางชีวเคมี...10
3.1 โครมาโทแกรมของกรดไขมันมาตรฐาน (external standard)
สำหรับการคำนวณ ปริมาณกรดไขมัน..38
3.2 โครมาโทแกรมแสดงระยะเวลาการเคลื่อนที่ของสารมาตรฐาน CLA
ที่แยกด้วย SP2560 GC column และตรวจวัดด้วย FID- etector................................38
3.3 โครมาโทแกรมแสดง Retention time ของกรดไขมันในตัวอย่าง
ที่แยกด้วย SP2560 GC column และตรวจวัดด้วย FID- etector................................39
4.1 ปริมาณ CLA ทั้งหมด และไอโซเมอร์ c9,t11 CLA ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต...................51
4.2 ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ผลิตด้วยกล้าเชื้อผสมแบคทีเรียกรดแล็กติกที่สร้าง CLA.................53
4.3 ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดแล็กติกของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต..54
4.4 การศึกษาโครงสร้างภายในด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด
กำลังขยาย 3,000 เท่า..60
4.5 การศึกษาโครงสร้างภายในด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด
กำลังขยาย 10,000 เท่า..61
4.6 คะแนนเฉลี่ยการยอมรับผลิตภัณฑ์ของผู้ทดสอบชิมต่อคุณภาพด้านกลิ่น
กลิ่นรส และการยอมรับโดยรวมของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต...65
1ข คะแนนเฉลี่ยคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านลักษณะปรากฏ
ของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต..91
2ข คะแนนเฉลี่ยคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่น
ของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต..91
3ข คะแนนเฉลี่ยคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรส
ของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต..92
4ข คะแนนเฉลี่ยคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านความรู้สึกภายหลังการกลืน
ของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต..92

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

Conjugated linoleic acid (CLA) หรือ Conjugated octadecadienoic acid คือ กลุ่มของกรดไขมันที่มีลักษณะรูปร่าง และโครงสร้างเป็นไอโซเมอร์ของกรดไขมันลิโนเลนิก (C18:2 n-6) โดยพันธะคู่ 2 พันธะในโมเลกุลจะเรียงตัวกันสลับกับพันธะเดี่ยว (Bessa et al., 2000) มีการรายงานถึง CLA ครั้งแรกโดย Pariza et al. (1987) ในการสัมมนาเกี่ยวกับ CLA ซึ่งแยกได้จากเนื้อโคย่าง และจากปฏิกิริยาไอโซเมอร์ไรเซชั่นของกรดไขมันลิโนเลอิกด้วยสารละลายด่าง (base catalyzed isomerization) การศึกษาต่อมาพบว่าแหล่งของ CLA ส่วนใหญ่พบในน้ำนม ผลิตภัณฑ์จากน้ำนม และผลิตภัณฑ์เนื้อจากสัตว์เคี้ยวเอื้อง เช่น เนื้อวัวและเนื้อแกะ (Griinari et al., 2000; Ma et al., 1999; Lin et al., 1999a) คุณสมบัติด้านชีววิทยาของ CLA ซึ่งจะขึ้นอยู่กับโครงสร้างของแต่ละไอโซเมอร์ ข้อมูลจากการศึกษาทั้งในสัตว์ทดลองและการทดสอบกับเซลล์เพาะเลี้ยง (cell culture) พบว่า CLA มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเกิดเนื้องอกและเป็นสารต้านการเกิดมะเร็งในเซลล์หลายชนิด มีบทบาทในการลดไขมันในร่างกาย ส่งเสริมการสร้างกล้ามเนื้อ รักษาระดับน้ำตาลในเลือด และระดับของอินซูลินให้ปกติป้องกันการเกิดโรคเบาหวาน และมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ รวมทั้งมีผลต่อการส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย (www. Health-n-energy.com) ซึ่งโครงสร้างไอโซเมอร์ที่แสดงคุณสมบัติด้านชีวเคมีเหล่านี้ พบว่าส่วนใหญ่เป็นคุณสมบัติของ CLA รูป cis-9, trans-11 และ trans-10, cis-12 isomers โดยทั้งสองไอโซเมอร์โครงสร้างรูปแสดงคุณสมบัติยับยั้งการเกิดเนื้องอก trans-10,cis-12 isomer เป็นพิษโดยตรงต่อเซลล์มะเร็งตับ และต้านการเกิดมะเร็งในเซลล์หลายชนิด ส่วน cis-9,trans-11 CLA แสดงคุณสมบัติในการลดไขมันในร่างกาย ป้องกันโรคอ้วน (Evans, 2002)

อย่างไรก็ตามแม้ว่าในอาหารประเภทเนื้อสัตว์และน้ำนมจะเป็นแหล่งของ CLA แต่ก็มีปริมาณเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบต่อหน่วยบริโภค จึงได้มีการพยายามเพิ่มปริมาณ CLA ในอาหารเหล่านี้หลายแนวทางไม่ว่าจะเป็นการเลี้ยงสัตว์และโคนมด้วยหญ้าสด การเสริมอาหารที่มีกรดไขมันลิโนเลอิกปริมาณสูง และที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวโซ่ยาวชนิดโอเมก้าสาม (long chain n-3 polyunsaturated fatty acid) ปริมาณสูง (Murphy et al., 1995; Kelly et al., 1998) นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าแบคทีเรียที่ใช้ในผลิตภัณฑ์นมหมักหลายชนิดสามารถเปลี่ยนกรดไขมันไม่อิ่มตัวโซ่ยาวในไขมันนมเป็น CLA ได้ (Lin et al., 1999; Kim and Liu, 2002)

โยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์นมหมักจากจุลินทรีย์ที่ได้รับการยอมรับว่าเป็นอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ เนื่องจากอุดมไปด้วยโปรตีนที่มีคุณค่าทางโภชนาการ พลังงานจากไขมันนม ช่วยปรับความสมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร ทั้งยังช่วยป้องกันและลดอัตราเสี่ยงต่อโรคติดเชื้อในระบบทางเดินอาหาร โรคแพ้น้ำตาลนม และโรคกระดูกพรุนได้ (วิเชียร, 2541) โยเกิร์ตสามารถเตรียมได้จากน้ำนมไขมันเต็มหรือพร่องไขมัน น้ำนมเข้มข้นหรือน้ำนมคืนรูปจากนมผง หรือส่วนผสมของน้ำนมดังกล่าวผสมเข้าด้วยกัน ทั้งที่ผ่านและไม่ผ่านกระบวนการโฮโมจิไนซ์ แล้วให้ความร้อนฆ่าเชื้อ จึงทำการหมักด้วยกล้าเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ต จุลินทรีย์จะใช้น้ำตาลแล็กโตสในน้ำนมเป็นแหล่งพลังงาน และให้กรดแล็กติกออกมาทำให้โปรตีนนมตกตะกอนมีลักษณะเป็นลิ่มค่อนข้างนุ่ม มีสีขาวถึงขาวนวล มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว รสชาติค่อนข้างเปรี้ยว และมีจุลินทรีย์ที่มีชีวิตจำนวนมาก โดยทั่วไปจุลินทรีย์โยเกิร์ตประกอบด้วย *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ในสัดส่วนที่เท่ากัน แบคทีเรียเหล่านี้จะมีความสัมพันธ์แบบพึ่งพากัน (Walstra et al., 1999) การผลิตโยเกิร์ตในอุตสาหกรรมมี 3 ชนิดแบ่งตามระบบการผลิตและโครงสร้างทางกายภาพของมวลที่ตกตะกอน คือ set yoghurt, stirred yoghurt และ drinking yoghurt (Spreer, 1998) โดยที่ set yoghurt เป็นผลิตภัณฑ์ที่กิจกรรมการหมักเกิดขึ้นในภาชนะบรรจุสำหรับการจำหน่ายปลีก ลักษณะของมวลของแข็งที่ตกตะกอนหรือลิ่มตะกอนโปรตีน (coagulum) ที่ได้เป็นมวลเนื้อเดียวกันที่ต่อเนื่องและมีลักษณะเป็นของแข็งกึ่งเหลว โยเกิร์ตชนิด set yoghurt ที่มีคุณภาพดีต้องมีเนื้อโยเกิร์ตละเอียด เนียนเป็นเนื้อเดียวกันไม่เกิดการแยกชั้น ลิ่มตะกอนโปรตีนแข็งแรงไม่อ่อนตัวและเนื้อไม่หดตัว มีสีขาวหรือครีมเล็กน้อย รสชาติไม่เปรี้ยวมากเกินไป ไม่มีรสฝาด ขม หรือรสอื่นใดที่ไม่ต้องการ และมีกลิ่นรส (flavor) และกลิ่น (aroma) เฉพาะตัวของกรดแล็กติก สารประกอบอะซิตาลดีไฮด์ (acetaldehyde) อะซิโตน (acetone) อะซิโตอีน (acetoin) และ ไดอะซิติล (diacetyl)

จากการทดสอบความสามารถในการสร้าง CLA ของแบคทีเรียกรดแล็กติกในกลุ่ม lactococci, lactobacilli และ streptococci โดย Jaing et al. (1998), Lin et al. (1999), Pariza and Yang (1999, 2000), Ogawa et al. (2001), Ham et al. (2002), Kim and Liu (2002), Kishino et al. (2002b), Coakley et al. (2003) และ Alonso et al. (2003) พบว่า หลายสายพันธุ์ของแบคทีเรียกรดแล็กติกดังกล่าว สามารถเปลี่ยนโครงสร้างกรดไขมันไม่อิ่มตัวโซ่ยาว (C_{18}) ในอาหารที่เตรียมเฉพาะ และในน้ำนมไขมันเต็มหรืออาหารเหลวที่เตรียมจากหางนม (skim milk medium) ให้อยู่ในรูปไอโซเมอร์ CLA ได้ เมื่อมีปัจจัยการเจริญที่เหมาะสม นอกจากนี้โปรตีนนมที่มีหมู่อัลคีนอิสระในโครงสร้าง (alkyl radical formed) ยังสามารถป้องกันมิให้ CLA เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่น และเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไปอยู่ในรูปทรานส์ที่ไม่ก่อให้เกิดผลดีต่อสุขภาพได้ จึงมีความเป็น

ไปได้ในการใช้แบคทีเรียกรดแล็กติกที่สร้าง CLA เหล่านี้มาใช้ร่วมกับจุลินทรีย์โยเกิร์ตเพื่อการผลิตโยเกิร์ตชนิด set yoghurt อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีรายงานว่าการเจริญร่วมกับ จุลินทรีย์โยเกิร์ตระหว่าง กระบวนการหมักโยเกิร์ตมีการสร้าง CLA หรือไม่ และบทบาทต่อคุณภาพและลักษณะของโยเกิร์ต

ในการศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาการใช้แบคทีเรียกรดแล็กติก *Lb. aacidophilus* และ *Lc. lactis* ที่มีความสามารถสูงในการสร้าง CLA ร่วมกับแบคทีเรียกล้าเชื้อโยเกิร์ต (*S. thermophilus* และ *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) ในการผลิตโยเกิร์ตเพื่อเพิ่มปริมาณ CLA ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตชนิด set yoghurt จากน้ำนมไขมันเต็มร้อยละ 3.50 โดยน้ำหนัก ปริมาณของแข็งไม่รวมไขมันร้อยละ 12 โดยน้ำหนัก

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาความสามารถในการสร้าง CLA ของแบคทีเรียกรดแล็กติก *Lactobacillus acidophilus* TISTR1338 และ *Lactococcus lactis* TISTR1401 ขณะเจริญร่วมกับจุลินทรีย์โยเกิร์ต (*S. thermophilus* และ *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) ในระหว่างกระบวนการหมักเพื่อเพิ่มปริมาณ CLA ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต

1.2.2 เพื่อศึกษาชนิดและปริมาณ CLA ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต

1.2.3 เพื่อศึกษาคุณภาพ ลักษณะทางประสาทสัมผัส และโครงสร้างภายในของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ผลิตโดยใช้แบคทีเรียกรดแล็กติกที่สร้าง CLA ได้ ร่วมกับจุลินทรีย์โยเกิร์ตเปรียบเทียบกับ set yoghurt ที่ผลิตโดยใช้จุลินทรีย์โยเกิร์ตทางการค้า

1.3 สมมุติฐานของการวิจัย

แบคทีเรียกรดแล็กติกต่างสายพันธุ์กันสามารถสร้าง CLA ในผลิตภัณฑ์นมหมักได้แตกต่างกัน การผสมสายพันธุ์ที่เหมาะสมจะทำให้เกิดการส่งเสริมกัน (synergistic effect) เพื่อเพิ่มปริมาณ CLA ระหว่างกระบวนการหมักได้

1.4 ข้อตกลงเบื้องต้น

1.4.1 แบคทีเรียกรดแล็กติกที่ใช้ในการทดสอบความสามารถสูงในการผลิต CLA เพื่อคัดเลือกสายพันธุ์ที่ผลิต CLA ได้สูงที่สุดในกลุ่มทดสอบไปใช้ในการผลิตโยเกิร์ตร่วมกับกล้าเชื้อโยเกิร์ตทางการค้า ได้แก่ *Lactobacillus acidophilus* (TISTR450, TISTR1034 และ TISTR1338), *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (TISTR892), *Lactococcus lactis*

(TISTR1401) และ *Streptococcus thermophilus* (TISTR894)

1.4.2 ส่วนผสมน้ำนมซึ่งจะใช้เพื่อผลิตโยเกิร์ตชนิด set yoghurt คือ น้ำนมโคที่ปรับองค์ประกอบปริมาณไขมันนมร้อยละ 3.50 โดยน้ำหนัก ของแข็งไม่รวมไขมันร้อยละ 12 โดยน้ำหนัก

1.4.3 กล้าเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ตที่ใช้ในกระบวนการหมักเพื่อผลิตโยเกิร์ตชนิด set yoghurt คือกล้าเชื้อทางการค้า YC380 และแบคทีเรียกรดแล็กติกที่คัดเลือกได้จากข้อ 1.4.1

1.5 ขอบเขตของการวิจัย

วัตถุดิบที่ใช้ในการวิจัย คือ น้ำนมโคที่ปรับองค์ประกอบไขมันนมร้อยละ 3.50 โดยน้ำหนัก ของแข็งไม่รวมไขมันร้อยละ 12 โดยน้ำหนัก ซึ่งจะใช้เพื่อผลิตโยเกิร์ตชนิด set yoghurt และใช้จุลินทรีย์โยเกิร์ต (*Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) ร่วมกับแบคทีเรียกรดแล็กติก *Lactobacillus acidophilus* TISTR1338 และ *Lactococcus lactis* TISTR1401 ที่สามารถสร้าง CLA ได้สูงเป็นกล้าเชื้อ ทดสอบความสามารถในการสร้าง CLA ของกล้าเชื้อ วิเคราะห์สมบัติทางเคมี กายภาพ คุณภาพและโครงสร้างภายในของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ผลิตภัณฑ์สุดท้าย วิเคราะห์ชนิดและปริมาณของ CLA ก่อนและหลังกระบวนการหมัก เพื่อใช้เป็นเกณฑ์ในการตัดสินความสามารถในการสร้าง CLA ของแบคทีเรียกรดแล็กติก และใช้คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพของโยเกิร์ตที่ได้จากการหมักด้วยกล้าเชื้อทางการค้า เป็นมาตรฐานในการตัดสินคุณภาพของผลิตภัณฑ์

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.6.1 ได้ผลิตภัณฑ์ซึ่งเป็นแนวทางในการพัฒนาและเพิ่มปริมาณกรดไขมัน CLA ในผลิตภัณฑ์นมหมัก

1.6.2 ได้ข้อมูลที่แสดงผลกระทบของกระบวนการหมักน้ำนมด้วยจุลินทรีย์โยเกิร์ตผสมแบคทีเรียกรดแล็กติก *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactococcus lactis* ต่อปริมาณและชนิดของ CLA ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต และการเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมี กายภาพ และกลิ่นรสของโยเกิร์ต

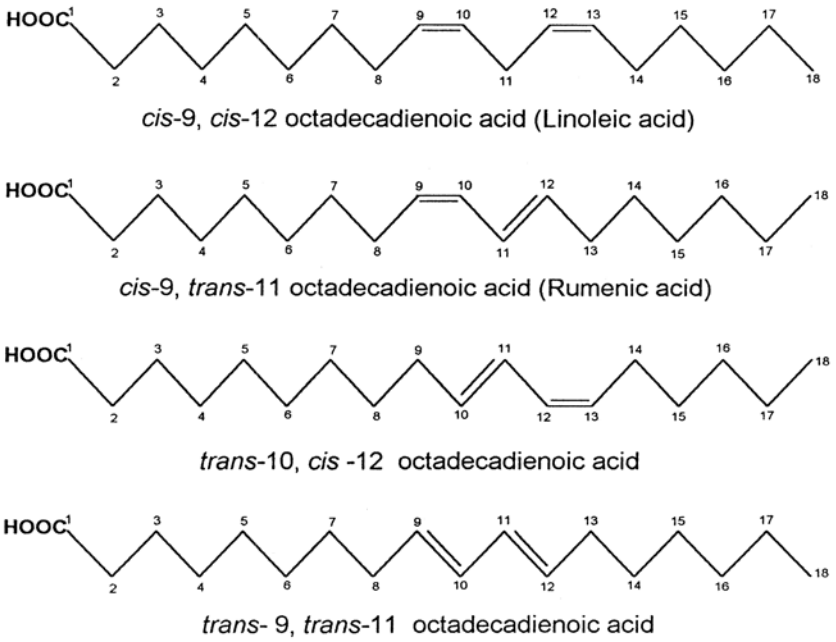
บทที่ 2
ปริทัศน์วรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ความรู้เรื่อง Conjugated linoleic acid

ไขมันเป็นสารอาหารหลักที่จำเป็นชนิดหนึ่งสำหรับมนุษย์ โดยธรรมชาติจะพบทั่วไปทั้งในพืชและสัตว์ ในอาหารไขมันมากกว่าร้อยละ 90 โดยน้ำหนัก อยู่ในรูปไตรกลีเซอร์ไรด์ (triglycerides) ส่วนที่เหลือเป็นฟอสโฟลิปิด (phospholipids) โคเลสเตอรอล (cholesterol) และวิตามิน (vitamin) โมเลกุลของไตรกลีเซอร์ไรด์เป็น (ester) ของกลีเซอรอล 1 ส่วน และกรดไขมัน (fatty acid) 3 ส่วน โดยกรดไขมันเป็นกรดคาร์บอกซิล (carboxylic acid) ที่มีหมู่ -COOH เพียงหมู่เดียว ต่ออยู่กับไฮโดรคาร์บอนสายยาว พันธะที่อยู่ระหว่างอะตอมของคาร์บอนมีทั้งพันธะเดี่ยว (single bond) และพันธะคู่ (double bond) กรดไขมันที่มีเพียงพันธะเดี่ยวเรียกกรดไขมันอิ่มตัว (saturated fatty acid) ส่วนกรดไขมันที่มีพันธะคู่รวมอยู่ด้วยเรียกกรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) โดยมีทั้งกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (mono-unsaturated fatty acid) ซึ่งมีพันธะคู่เพียง 1 คู่ และกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (poly-unsaturated fatty acids) ซึ่งมีพันธะคู่หลายคู่ และกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวเชิงซ้อนที่เป็นกรดไขมันจำเป็นต่อมนุษย์ (essential fatty acid) มี 3 ตัว คือ กรดไขมันลิโนเลอิก (linoleic acid, C18:2 n-6) กรดไขมันลิโนเลนิก (linolenic acid, C18:3 n-3) และ กรดไขมันอะราชิโดนิก (arachidonic acid, C20:4 n-6)

คอนจูเกตลิโนเลอิกแอซิด (Conjugated linoleic acid : CLA หรือ Conjugated octadecadienoic acid) คือ กลุ่มของกรดไขมันที่มีลักษณะรูปร่างและโครงสร้างเป็นไอโซเมอร์ (isomers) ของกรดไขมันลิโนเลอิก (linoleic acid, C18:2 n-6) ซึ่งเป็นหนึ่งในกรดไขมันจำเป็นต่อมนุษย์ (essential fatty acid) โดยปกติกรดไขมันที่มีพันธะคู่ตั้งแต่ 2 พันธะขึ้นไป พันธะคู่จะเป็นแบบนอนคอนจูเกต (nonconjugated double bond, -CH=CH-CH_2-CH-CH=CH-) โดยมีหมู่เมธิลีน (-CH_2-) คั่นกลาง และพันธะคู่ในโมเลกุลของกรดไขมันไม่อิ่มตัวจะอยู่ในคอนฟิกุเรชั่นแบบซิส (cis configuration) ในขณะที่พันธะคู่ 2 พันธะในโมเลกุลของ CLA จะเรียงตัวกันสลับกับพันธะเดี่ยว (Bessa et al., 2000) ดังแสดงในภาพที่ 2.1 โครงสร้างไอโซเมอร์ของ CLA นี้จะรวมทั้งรูปร่างที่มีลักษณะ cis - cis, cis - trans และ trans-trans และตำแหน่งของพันธะคู่ที่ 9 และ 11, 10 และ 12 หรือ 11 และ 13 ซึ่งตำแหน่งของพันธะคู่ในโครงสร้างไอโซเมอร์ของ CLA ที่พบในไขมันสัตว์เคี้ยวเอื้องส่วนใหญ่อยู่ที่ตำแหน่งช่วง 6,8-18:2 ถึง 12,4-18:2 ดังนั้นจำนวนไอโซเมอร์ของ CLA จึงมีประมาณ 20 โครงสร้าง โดยปกติโครงสร้างไอโซเมอร์ส่วนใหญ่ที่พบในเนื้อสัตว์เคี้ยวเอื้อง และผลิตภัณฑ์จากน้ำนมโคจะเป็น octadeca-c9,t11-dienoic acid หรือ cis-

9,trans-11 CLA (Peterson et al., 2002) ไอโซเมอร์นี้จึงมีชื่อเรียกอีกอย่างหนึ่ง คือ กรดไขมันรูเมนิก (rumenic acid) เนื่องจากเชื่อว่าเป็นโครงสร้างที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นในกระเพาะหมัก (rumen) ของสัตว์เคี้ยวเอื้อง ส่วนโครงสร้างไอโซเมอร์อื่น ๆ เช่น t7,c9; t8,c10; t10,c12; t11,c13; c11,t13; และ t12,c14 isomer พบปริมาณน้อย และมีรายงานการตรวจพบโครงสร้างไอโซเมอร์ ชนิด cic,cis และ trans,trans บ้างเล็กน้อยในผลิตภัณฑ์จากสัตว์เคี้ยวเอื้องและผลิตภัณฑ์จากน้ำนมเช่นกัน



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างทางเคมีของกรดไขมันลิโนเลอิก และ CLA-isomers
<u>แหล่งที่มา</u> : Bassa et al. (2000)

2.1.1 แหล่งที่พบ CLA

แหล่งของ CLA ซึ่งส่วนใหญ่พบในน้ำนมและผลิตภัณฑ์จากน้ำนม และผลิตภัณฑ์เนื้อจากสัตว์เคี้ยวเอื้อง เช่น เนื้อโคและเนื้อแกะ โดยในเนยแข็งมีปริมาณ CLA 3.6 ถึง 8.0 มิลลิกรัม/กรัมไขมัน และผลิตภัณฑ์น้ำนมมี CLA อยู่ในช่วง 3.4 ถึง 6.4 มิลลิกรัม/กรัมไขมัน ซึ่งปริมาณที่แตกต่างกันนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของสัตว์ กล้ามเนื้อ และภาวะโภชนาการของสัตว์ (Grinari et al., 2000; Lin et al., 1995)

ตารางที่ 2.1 ปริมาณ conjugated linoleic acid ในอาหารชนิดต่าง ๆ ก่อนการแปรรูป

Food	**Total CLA** (mg/ g fat)
Meat:	
Fresh ground beef	4.3
Beef round	2.9
Beef frank	3.3
Beef smoked sausage	3.8
Lamb	5.6
Pork	0.6
Poultry:	
Chicken	0.9
Fresh ground turkey	2.5
Seafood:	
Salmon	0.3
Lake trout	0.5
Shrimp	0.6
Dairy products:	
Homogenized milk	5.5
Butter	4.7
Sour cream	4.6
Plain yoghurt	4.8
Ice cream	3.6
Sharp cheddar cheese	3.6
Mozzarella cheese	4.9
Colby cheese	6.1
Cottage cheese	4.5
Reduced fat swiss	6.7
Am. Processed cheese	5.0
Vegetable Oils:	
Safflower	0.7
Sunflower	0.4
Canola	0.5
Corn	0.2

แหล่งที่มา: National Cattlemen’s Beef Association (1999)

ประมาณร้อยละ 80-90 โดยน้ำหนัก ของ CLA ทั้งหมดที่พบในน้ำนมและกล้ามเนื้อจะอยู่ในรูปของ cis-9, trans-11 isomer (Evans et al., 2002; National Cattlemen's Beef Association, 1999) ส่วนในเนื้อสัตว์ปีกและน้ำมันจากพืชมี CLA ปริมาณเพียงเล็กน้อย นอกจากนี้ Ma et al. (1999) รายงานว่า CLA ที่อยู่ในรูป cis-9, trans-11 isomer ที่พบในผลิตภัณฑ์เนื้อและผลิตภัณฑ์นมในประเทศแคนาดา มีปริมาณเฉลี่ยระหว่าง 1.20 ถึง 6.20 มิลลิกรัม/กรัมไขมัน หรือ 0.001 - 4.30 มิลลิกรัม/กรัมอาหาร ซึ่งเทียบเท่า 0.03 และ 81.00 มิลลิกรัม/หนึ่งหน่วยบริโภค ส่วนโครงสร้างไอโซเมอร์ของ CLA ที่ได้จากปฏิกิริยาไอโซเมอไรเซชั่นที่มีเบสเป็นสารเร่งปฏิกิริยา (base catalyzed isomerization) ของกรดไขมันลิโนเลอิกจะอยู่ในรูป trans-10,cis-12 และ cis-9,trans-11 isomer ในอัตราส่วนที่เท่ากัน (Yu et al., 2003)

2.1.3 ความสำคัญของ CLA

โครงสร้างไอโซเมอร์ของ CLA ที่แสดงคุณสมบัติด้านชีวเคมี เช่น คุณสมบัติในการยับยั้งการเกิดเนื้องอก เป็นสารต้านการเกิดเซลล์มะเร็ง การลดเนื้อเยื่อไขมันในร่างกายส่งเสริมการเกิดมวลกล้ามเนื้อ รักษาระดับน้ำตาลในเลือดและระดับของอินซูลินให้ปกติ ป้องกันการเกิดโรคเบาหวาน และมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ รวมทั้งมีผลต่อการส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย เป็นต้น (www. Health-n-energy.com) มีรายงานว่าส่วนใหญ่เป็นคุณสมบัติของ CLA โครงสร้างไอโซเมอร์ cis-9,trans-1 และ trans-10,cis-12 isomers โดยโครงสร้างรูป trans-10,cis-12 isomer แสดงคุณสมบัติยับยั้งการเกิดเนื้องอก และต่อต้านการเกิดมะเร็งในเซลล์หลายชนิด ส่วน cis-9,trans-11 CLA แสดงคุณสมบัติในการลดไขมันในร่างกายป้องกันโรคอ้วน และป้องกันการเกิดมะเร็งเต้านมได้ (Evans, 2002)

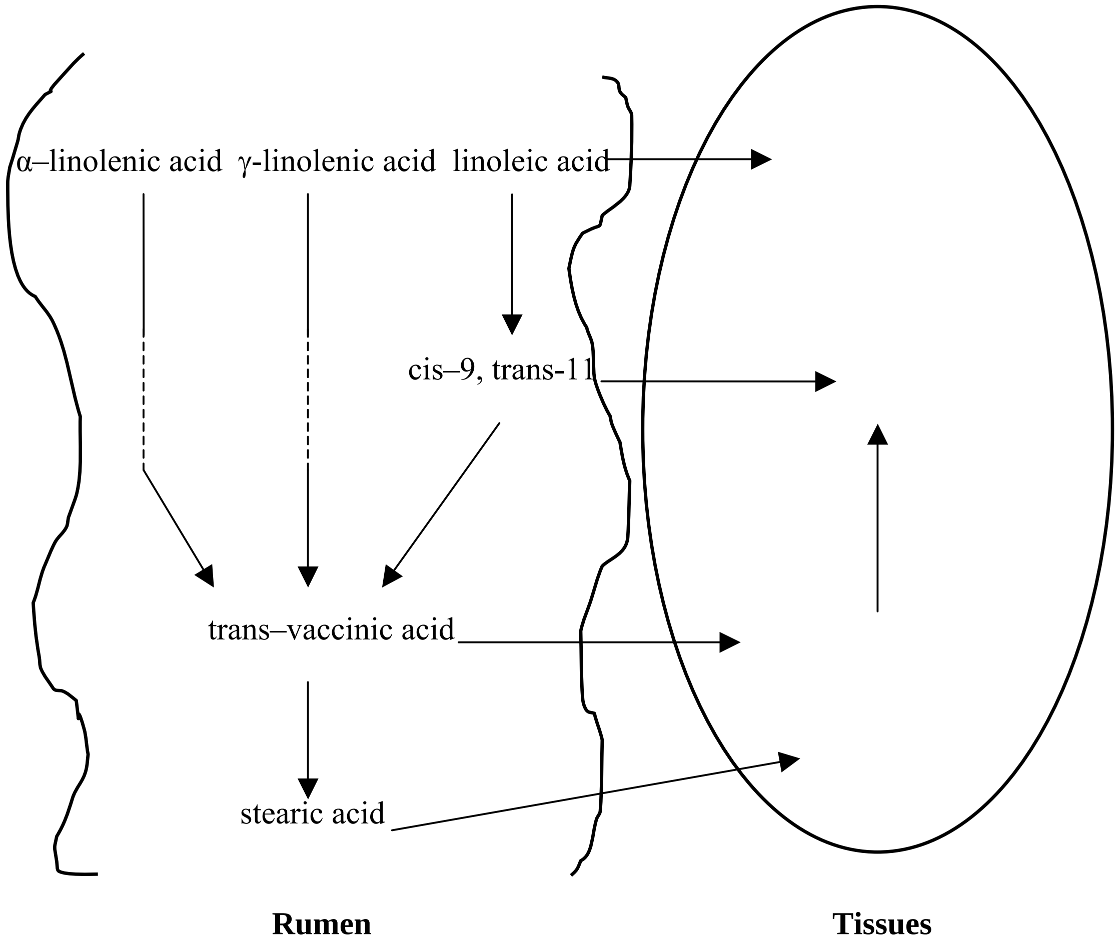
Ha et al. (1987) พบว่า CLA สามารถยับยั้งการเกิดเนื้องอกในหนูทดลองเนื่องจากการกระตุ้นด้วยสารก่อมะเร็ง 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) ในสภาวะที่มีการเร่งด้วยสาร 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate ได้ และในสภาวะจำลองเดียวกันนี้ เมื่อให้ CLA ในอาหารของหนูทดลองที่ระดับเข้มข้นร้อยละ 1.00 และ 1.50 โดยน้ำหนัก มีผล ทำให้ปริมาณเนื้องอกในหนูทดลองลดลง (Belury et al., 1996) และหนูที่ได้รับ CLA ก่อนการกระตุ้นด้วยสาร 2-amino-3-methylamidazo[4,5-f]quinoline หรือ IQ ซึ่งเชื่อว่าเป็นสารก่อให้เกิดการกลายพันธุ์ และสารก่อมะเร็งลำไส้ใหญ่ พบว่า หนูที่ได้รับ CLA ก่อนการให้สารก่อกลายพันธุ์ IQ จะมีผลทำให้ปริมาณ IQ-DNA ในหลายอวัยวะลดลง นอกจากนี้การเติม CLA ปริมาณร้อยละ 0.10-1.00 โดยน้ำหนัก ในอาหารของหนูทดลองสามารถยับยั้งการกลายพันธุ์ของดีเอ็นเอในเซลล์ลำไส้ใหญ่และต่อมสร้างน้ำนม (mammary gland) (Liew et al., 1995; Schmelz et al., 1994, quoted in Parodi, 1999) ในการศึกษาคุณสมบัติด้านการยับยั้งการเกิดมะเร็ง (anticarcinogenic

property) ของ CLA ในช่วงแรกเชื่อว่าโครงสร้างรูป cis-9,trans-11 CLA เท่านั้นที่สามารถยับยั้งการเกิดเนื้องอกและเซลล์มะเร็งในร่างกายได้ แต่การศึกษาต่อมาพบว่า trans-10,cis-12 CLA สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งบางชนิดได้ดี โดย Yamasaki et al. (2002) ศึกษาพบว่า trans-10, cis-12 CLA แสดงความเป็นพิษโดยตรงต่อเซลล์มะเร็งตับชนิด dRLh-48 ของหนูทดลอง แต่ในเซลล์ตับอักเสบปกติไอโซเมอร์นี้แสดงความเป็นพิษได้ น้อยกว่าในเซลล์มะเร็งตับชนิด dRLh-48 ในขณะที่ cis-9,trans-11 CLA ไม่เป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งตับแต่กลับส่งเสริมให้เกิดการเจริญของเซลล์ชนิดนี้ แต่ในสภาวะที่อยู่ร่วมกันทั้ง 2 ไอโซเมอร์ cis-9, trans-11 CLA เองไม่ขัดขวางการออกฤทธิ์ของ trans-10,cis- 2 CLA ต่อเซลล์มะเร็งตับชนิดนี้

ในส่วนของคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ พบว่าทั้ง cis-9,trans-11 และ trans-10,cis-12 isomers สามารถเกิดปฏิกิริยาโดยตรง และลดปริมาณของอนุมูลอิสระ DPPH ได้ โดยทั้ง 2 ไอโซเมอร์นี้มีกลไกและคุณสมบัติทางเทอร์โมไดนามิกส์ (thermodynamic) ที่แตกต่างกันในการทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระของ DPPH โดย trans-10, cis-12 CLA จะลดปริมาณ DPPH ในช่วงแรก ในขณะที่ cis-9, trans-11 จะเข้าจับกับอนุมูลอิสระ DPPH ในระยะการเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องระหว่างอนุมูลอิสระกับออกซิเจน (Yu et al., 2001; 2002) นอกจากนี้ Leung and Liu (2000) ได้ศึกษาคุณสมบัติในการยับยั้งอนุมูลอิสระ (antioxidant) ของ CLA ทั้ง 2 ไอโซเมอร์ ที่มีความบริสุทธิ์สูง (มากกว่าร้อยละ 98 โดยน้ำหนัก) พบว่า trans-10,cis-12 CLA แสดงคุณสมบัติในการต้านสารอนุมูลอิสระที่แรงกว่า cis-9,trans-11 CLA ทุกระดับความเข้มข้นของการศึกษา ส่วน cis-9,trans-11 CLA จะแสดงคุณสมบัติ pro-oxidant ที่แรงเมื่อมีระดับความเข้มข้นสูงขึ้น นอกจากนี้ยังมีรายงานว่า trans-10,cis-12 CLA สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ heparin-releasable lipoprotein lipase และปกป้อง leptin จาก 3T3-L1 adipocytes (Kant et al., 2001)

2.1.4 กลไกการเกิด CLA

โครงสร้างของ CLA isomers เกิดได้จาก 2 กลไกหลัก คือจากปฏิกิริยา free radical oxidation ของกรดไขมันลิโนเลอิก (linoleic acid) หรือกรดไขมันลิโนเลนิก (linolenic acid) และจากปฏิกิริยาไอโซเมอไรเซชั่น (isomerization) ผ่านวิถีไบโอไฮโดรจิเนชั่น (biohydrogenation pathway) ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้องที่กระเพาะหมัก (rumen) โดยกิจกรรมของจุลินทรีย์แกรมบวกชนิด *Butyrivibrio fibrisolvens, Ruminococcus albus* และ *Eubacterium* sp. (Harfoot and Hazlewood, 1988, quoted in Bessa et al., 2000) CLA ที่พบในธรรมชาติเกิดจากกระบวนการไอโซเมอร์ไรเซชั่น



ภาพที่ 2.2 การสังเคราะห์ c9,t11-CLA โดยกระบวนการทางชีวเคมี
<u>แหล่งที่มา</u> : Schmid et al. (2006)

หรือ/และกระบวนการไบโอไฮโดรจิเนชั่น (biohydrogenation) ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว โดยกิจกรรมของแบคทีเรียแกรมบวกในกระเพาะหมัก (rumen) ของสัตว์เคี้ยวเอื้อง และเกิดจากกระบวนการเติมพันธะคู่ (desaturation) ในโมเลกุลของกรดไขมันชนิดทรานส์ (trans-fatty acid) ในส่วนของเนื้อเยื่อไขมัน (adipose tissue) และภายในต่อมสร้างน้ำนม (mammary gland) (Griinari and Bauman, 1999) ซึ่งการสังเคราะห์ CLA โดยกระบวนการทางชีวภาพมีขั้นตอนการเกิดดังภาพที่ 2

กระบวนการไอโซเมอร์ไรเซชั่น หรือ/และกระบวนการไบโอไฮโดรจิเนชั่น ของกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวในเมทาบอลิซึมไขมันของจุลินทรีย์ที่อยู่ในกระเพาะรวมของสัตว์เคี้ยวเอื้อง ทำให้ได้ CLA เป็นผลิตภัณฑ์โดยตรง และอาจทำให้เกิดสารตั้งต้นสำคัญของการเกิด CLA ระหว่างวิถีของกระบวนการสังเคราะห์กรดไขมันสเตียริก (stearic acid) นั่นคือ CLA ที่อยู่ในรูปไอโซเมอร์

c9,t11 – 18:2 เกิดจากกระบวนการไอโซเมอร์ไรเซชั่นของกรดไขมันลิโนเลอิกเป็นหลัก นอกจากนี้ยังได้มาจากกระบวนการไฮโดรจิเนชั่นของกรดไขมัน trans-vaccinic acid (t11-18:1) (Schmid et al., 2006) เนื่องจากพบว่า ปริมาณ CLA ที่ได้โดยตรงจากการดูดซึมจากกระเพาะหมักและลำไส้เล็กมีปริมาณน้อยมาก จึงมีข้อสัณนิฐานว่าปริมาณ CLA ในน้ำนมและที่สะสมในเนื้อเยื่อไขมันน่าจะมาจากแหล่งอื่น นอกเหนือจากกิจกรรมของแบคทีเรียในระบบทางเดินอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้อง และ Griinari et al. (2000) และ Corl et al. (2001) พบว่า CLA ที่มีโครงสร้าง ไอโซเมอร์ชนิด c9,t11 – 18:2 ซึ่งเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่ในน้ำนมมาจากกระบวนการสังเคราะห์ภายใน (endogenous synthesis) จากกระบวนการเติมพันธะคู่ (desaturation) โดยเอนไซม์ Δ9-desaturase จะเปลี่ยนโครงสร้างกรดไขมัน trans-vaccinic acid ไปเป็น CLA ได้ ดังภาพที่ 2.2 ทำให้มีการสะสม CLA ในน้ำนมและในเนื้อเยื่อไขมันของสัตว์เคี้ยวเอื้องปริมาณสูง

2.1.5 วิธีการตรวจหากรดไขมัน CLA

ในการตรวจวิเคราะห์หากรดไขมัน CLA โดยทั่วไปจะใช้เทคนิคทางโครมาโทกราฟี (Chromatography) ซึ่งเป็นวิธีที่สามารถตรวจหา CLA ได้ทั้งคุณภาพวิเคราะห์และปริมาณวิเคราะห์ เทคนิคโครมาโทกราฟีที่นิยมใช้ได้แก่ HPLC, GC-FID และ GC-MS มีขั้นตอนวิธีการตรวจหากรดไขมัน CLA ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนหลัก คือ การสกัดไขมัน (Fatty acid extraction) การเตรียมกรดไขมันให้อยู่ในรูปเอสเทอร์ (Methylation) และการแยกวิเคราะห์ด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี (Chromatography analysis)

การสกัดไขมัน (Fatty acid extraction) เป็นขั้นตอนการสกัดแยกไขมันออกจากตัวอย่างด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น สารผสมคลอโรฟอร์มกับเมทานอล (chloroform : methanol ,2:1 v/v) หรืออาจใช้เฮกเซน (hexane) แทนได้

การเตรียมกรดไขมันให้อยู่ในรูปเอสเทอร์ (Methylation) เป็นขั้นตอนการเปลี่ยนกรดไขมันให้อยู่ในรูปที่สามารถวิเคราะห์ด้วยเทคนิคทางโครมาโทกราฟีได้ (fatty acid methyl ester form) โดยการทำปฏิกิริยากับสาร methylation reagents เช่น โบรอนไตรฟลูออไรด์ร้อยละ 14 โดยน้ำหนักในเมทานอล (14% BF_4-MeOH) หรือโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.5 นอร์มาลในเมทานอล (NaOH-MeOH) ตามด้วยการทำปฏิกิริยากับสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นร้อยละ 4.0 โดยปริมาตร ในเมทานอล (HCl-MeOH) จากนั้นจึงสกัดกรดไขมันที่อยู่ในรูป เอสเทอร์ออกมาจากส่วนผสมนั้นด้วยเฮกเซน

กรดไขมันที่ผ่านการเตรียมให้อยู่ในรูปเมทธิลเอสเทอร์ของกรดไขมันอิสระ (free fatty acid methyl esters :FAME) แล้วจะถูกฉีดเข้าไปในคอลัมน์ของเครื่องโครมาโทกราฟี ซึ่งคอลัมน์

ที่ใช้ในการแยกกรดไขมัน CLA นี้ต้องเป็นคอลัมน์เฉพาะ เช่น Ag+ HPLC column จึงจะสามารถแยกองค์ประกอบที่เป็นไอโซเมอร์ได้

ในการวิเคราะห์ทางคุณภาพวิเคราะห์สามารถทำได้โดยการเปรียบเทียบค่าระยะเวลาที่สารที่วิเคราะห์เคลื่อนที่ออกจากคอลัมน์และถูกตรวจวัดได้โดยเครื่องตรวจวัด (retention time) ของสารตัวอย่างกับสารมาตรฐาน CLA ส่วนปริมาณวิเคราะห์ได้จากการคำนวณพื้นที่ใต้กราฟของส่วนประกอบที่แยกได้เปรียบเทียบกับพื้นที่ใต้กราฟของสารมาตรฐานภายใน (internal standard) ซึ่งในกรณีการทำปริมาณวิเคราะห์ของกรดไขมัน CLA จะนิยมใช้ heptadecaenoic acid (C17:0) เป็นสารมาตรฐานภายใน เนื่องจากกราฟการแยกของกรดไขมันนี้ไม่ซ้อนทับกับกราฟการแยกของ CLA การเติมสารมาตรฐานภายในจะเติมในขั้นตอนการเปลี่ยนสารประกอบไขมันให้อยู่ในรูป เมทิลเอสเทอร์

2.2 แบคทีเรียกรดแล็กติก

2.2.1 อนุกรมวิธานของแบคทีเรียกรดแล็กติก

การนิยามและจัดจำแนกแบคทีเรียกรดแล็กติก (lactic acid bacteria : LAB) มีการเปลี่ยนแปลงอย่างต่อเนื่องโดยเฉพาะช่วง 10-20 ปีที่ผ่านมา ในอดีตแบคทีเรียกรดแล็กติก หมายถึง กลุ่มแบคทีเรียที่ทำให้น้ำนมเปรี้ยวจากการผลิตกรดซึ่งรวมถึงแบคทีเรียแกรมลบกลุ่ม โคลิฟอร์มด้วย (Stiles and Holzapfel, 1997) ปัจจุบันแม้ไม่มีนิยามที่ชัดเจนเป็นเอกฉันท์ แต่ลักษณะพื้นฐานที่ยอมรับทั่วไปของแบคทีเรียกลุ่มนี้ คือ เป็นกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกซึ่งไม่สร้างสปอร์ ขาดเอนไซม์คะตะเลส ขาดไซโตโครม ทนต่อสภาวะมีออกซิเจน (aerotolerant) ทนต่อสภาพความเป็นกรด ต้องการสารอาหารสูงในการเจริญเติบโต และผลิตกรดแล็กติกเป็นผลิตภัณฑ์หลักจากการหมักน้ำตาล อย่างไรก็ตามแบคทีเรียกลุ่มนี้บางชนิดสามารถผลิตเอนไซม์คะตะเลสเทียม (pseudocatalase) ซึ่งขาดกลุ่มพอร์ไฟริน (porphyrin group) และในสภาวะที่มีสารอาหารจำกัดกลุ่ม streptococci เช่น *Streptococcus bovis* มีการผลิตกรดแล็กติกเพียงเล็กน้อยเท่านั้น (Axelsson, 1998)

Orla-Jensen (1919) เป็นผู้เริ่มจัดอนุกรมวิธานแบคทีเรียกรดแล็กติกอย่างเป็นระบบโดยอาศัยลักษณะทางสัณฐานวิทยา ความสามารถในการหมักน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ชนิดของกระบวนการหมักน้ำตาลกลูโคส ความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิต่าง ๆ และชนิดไอโซเมอร์ของกรดแล็กติก โดยแบ่งเป็น 7 สกุล คือ *Betabacterium*, *Thermobacterium*, *Streptococcus*, *Betacoccus*, *Microbacterium* และ *Tetracoccus* ซึ่งต่อมาปี ค.ศ. 1937 Sherman ได้แยกกลุ่มที่เจริญเฉพาะสภาวะไร้ออกซิเจน (strictly anaerobes) และกลุ่ม pneumococci ออกจากสกุล *Streptococcus* และแบ่งส่วนที่เหลือเป็น 4 กลุ่ม คือ pyogens, viridans, lactis และ enterococci การจัดจำแนกโดยวิธีดังกล่าวนี้มีข้อจำกัด เช่น สภาวะการเจริญเติบโตสามารถมีผลต่อสัณฐานของเซลล์ดังที่

Lactobacillus xylosus และ *Lb. hordiniae* ถูกจัดจำแนกใหม่เป็น *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* และ *Lc. lactis* subsp. *Hordiniae* เมื่อใช้ข้อมูลทางพันธุกรรมประกอบ ความเปลี่ยนแปลงเมื่อใช้เทคนิคอื่น ๆ เช่น ดีเอ็นเอ : อาร์เอ็นเอไฮบริไดเซชั่น การหาลำดับเบสของ 16S และ 23S rRNA

Axelsson (2004) อ้างใน Axelsson and Von Wrigth (ed) จำแนกและจัดหมวดหมู่แบคทีเรียกรดแล็กติกเป็น 21 สกุล คือ *Lactobacillus* (*Lb.*), *Leuconostoc* (*Ln.*), *Pediococcus* (*P.*), *Streptococcus* (*S.*), *Aerococcus* (*A.*), *Alloiococcus*, *Canobacterium* (*C.*), *Dolosigranulum*, *Enterococcus* (*E.*), *Globicatella*, *Lactococcus* (*Lc.*), *Lactosphaera*, *Weissella* (*W.*), *Oenococcus* (*O.*), *Tetragenococcus* (*T.*), *Vagococcus* (*V.*), *Dolosicoccus*, *Eremococcus*, *Facklamia*, *Helcococcus*, และ *Ignavigranum* โดยสกุลที่มีความสำคัญกับการนำมาใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์นมหมัก ได้แก่

2.2.1.1 สกุล *Lactobacillus* เป็นแบคทีเรียกรดแล็กติกกลุ่มใหญ่สุด มีความหลากหลายของลักษณะทางฟีโนไทป์ สมบัติทางชีวเคมี และสรีรวิทยา เนื่องจากความแตกต่าง ของปริมาณ G + C (mol %) ภายในสกุลสูง คือ มีค่าระหว่าง 32-53 เปอร์เซ็นต์ (Axelsson, 1998) พบในแหล่งต่าง ๆ เช่น เยื่อเมือกของมนุษย์และสัตว์ พืช และน้ำทิ้ง เป็นต้น บางสปีชีส์เป็นสาเหตุของโรคติดเชื้อในมนุษย์ เซลล์มีรูปร่างเป็นท่อนหรือทรงรี (coccobacilli) ต้องการสารอาหารสูงในการเจริญ ประกอบด้วย 55 สปีชีส์ ซึ่งแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม (Stiles and Halzapfel, 1997) คือ

กลุ่ม Obligately homofermentative lactobacilli หมักน้ำตาลกลูโคส จากการย่อยสลายแล็กโตส (มากกว่าร้อยละ 85) เป็นกรดแล็กติกโดยวิถี Embden-meyerhof-Parnas (EMP) ผลิตเอนไซม์ 1,6 biphospgate-aldolase แต่ไม่ผลิตเอนไซม์ phosphoketolase จึงหมักน้ำตาลเพนโตสและกลูโคเนสไม่ได้ ประกอบด้วย 18 สปีชีส์

กลุ่ม Facultatively heterofermentative lactobacilli หมักน้ำตาลเฮกโซสเป็นกรดแล็กติกผ่านวิถี EMP มีการผลิตเอนไซม์ทั้งอัลโดเลส (aldolase) และฟอสโฟคีโตเลส (phosphoketolase) จึงหมักน้ำตาลเพนโตสได้ ประกอบด้วย 18 สปีชีส์

กลุ่ม Obligately heterofermentative lactobacilli หมักน้ำตาลเฮกโซสและเพนโตส ผ่านวิถี Phosphogluconate เป็น แล็กเตท เอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์ประกอบด้วย 19 สปีชีส์

2.2.1.2 สกุล *Lactococcus* เซลล์มีรูปร่างกลมหรือไข่ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5-1.0 ไมโครเมตร จัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยว เป็นคู่ หรือต่อกันเป็นสายโซ่ ผลิตกรดแล็กติกชนิด L(+) จากการหมักน้ำตาลกลูโคส มักถูกใช้เป็นกล้าเชื้อ (starter culture) ในผลิตภัณฑ์นม สามารถเจริญ

ได้ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส แต่ไม่เจริญที่ 45 องศาเซลเซียส พบในแหล่งต่าง ๆ เช่น ผักกาด ถั่ว หญ้า มันฝรั่ง และน้ำนมดิบ เป็นต้น ปัจจุบันประกอบด้วย 6 สปีชีส์ ได้แก่ *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lc. lactis* subsp. *cremoris*, *Lc. lactis* subsp. *horniae*, *Lc. garvieae*, *Lc. pantarum*, *Lc. rafinolactis* และ *Lc. piscium* มีปริมาณ G + C (mol %) ระหว่าง 34-43 เปอร์เซ็นต์ (Teuber, 1995)

2.2.1.3 สกุล *Streptococcus* เป็นแบคทีเรียกรดแล็กติกที่มีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.8-1.2 ไมโครเมตร จัดเรียงตัวเป็นสายโซ่หรือคู่ ผลิตกรดแล็กติกชนิด L(+) เป็นผลิตภัณฑ์หลักเท่านั้นจากการหมักกลูโคส (Homofermentative) ต้องการสารอาหารสูงในการเจริญเติบโตมีหลายสปีชีส์เป็นปรสิตในคนหรือสัตว์และบางสปีชีส์สามารถทำให้เกิดโรคได้ เจริญที่อุณหภูมิ 20-40 องศาเซลเซียส ปัจจุบันประกอบด้วย 39 สปีชีส์ มีปริมาณ G + C (mol %) ระหว่าง 34-46 เปอร์เซ็นต์ (Hardie and Whiley, 1995)

นอกจากแบคทีเรียกรดแล็กติกที่กล่าวถึงข้างต้นแล้ว ยังมีแบคทีเรียกรดแล็กติกสกุล *Bifidobacterium* ที่มีบทบาทสำคัญในการนำมาใช้ประโยชน์ในผลิตภัณฑ์นมหมัก

2.2.2 บทบาทของแบคทีเรียกรดแล็กติกต่อการผลิต conjugated linoleic acid

แบคทีเรียกรดแล็กติก มีบทบาทและความสำคัญเชิงบวกทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อมนุษย์ เนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่มีถิ่นอาศัยประจำในลำไส้เล็กของมนุษย์และสัตว์ ส่วนใหญ่ไม่มีประวัติการเป็นจุลินทรีย์ก่อโรค มีความสามารถในการหมักกรดแล็กติกได้ปริมาณสูงจากการใช้น้ำตาลกลูโคส ดังนั้นแบคทีเรียกรดแล็กติกจึงมีความสำคัญต่อการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร ในแง่ของการผลิตและการถนอมอาหาร รวมทั้งการนำมาใช้ประโยชน์ในแง่ของโพรไบโอติก ในมนุษย์และสัตว์ ปัจจุบันนอกจากมีการนำแบคทีเรียกรดแล็กติกมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมอย่างกว้างขวางแล้ว ยังได้รับความสนใจอย่างมากในการศึกษาเพื่อนำมาใช้สำหรับการผลิต CLA โดย Lin et al. (1999b) ศึกษาเพื่อตรวจสอบแบคทีเรียกรดแล็กติก รวมทั้งผลของการเติม กรดไขมันลิโนเลอิก ที่มีต่อเชื้อและระยะเวลาการบ่มที่แตกต่างกันต่อการสร้าง CLA ใน sterilized skim milk ในหลอดทดลอง พบว่าเมื่อเลี้ยง *Lactobacillus acidophilus* ในอาหาร skim milk medium ที่มีการเติมกรดไขมันลิโนเลอิก 1,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แสดงผลในการส่งเสริมการเกิด CLA มากที่สุด Ogawa et al. (2001) ทดลองใช้เซลล์แบคทีเรีย *Lactobacillus acidophilus* AKU1137 ในการเปลี่ยนกรดไขมันลิโนเลอิกเป็น CLA ภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจนต่ำ (microaerobic) พบว่า เซลล์แบคทีเรียที่ผ่านการเตรียมโดยการเลี้ยงในระบบอาหารที่มีการเติมกรดไขมันลิโนเลอิกก่อนการนำมาใช้ทดสอบสามารถผลิต CLA ได้ในระดับสูง แสดงว่าระบบเอนไซม์สำหรับการผลิต CLA ถูกกระตุ้นด้วยกรดไขมันดังกล่าว และ

Alonso et al. (2003) พบว่า แบคทีเรีย *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactobacillus casei* ที่แยกได้จากลำไส้ของมนุษย์ สามารถผลิต CLA ได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมกรดไขมันลิโนเลอิก โดยปริมาณที่ผลิตได้สูงสุด คือ 80.14-131.63 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งตรวจพบภายหลังการบ่ม 24 ชั่วโมง ในอาหารเหลวที่มีการเติมกรดไขมันลิโนเลอิกที่ระดับร้อยละ 0.02 โดยน้ำหนัก ในการผลิต CLA โดยใช้เซลล์ตรึงรูปของแบคทีเรีย *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* และ *Lactobacillus acidophilus* Lin et al. (2005) พบว่าการตรึงเซลล์ในโพลีอะคริลาไมด์ (polyacrylamide) ให้ผลผลิต CLA สูงสุด คือ 2,211 ไมโครกรัม/60 มิลลิลิตรของสารละลายตรึงรูป (immobilized mixture) และ 218 ไมโครกรัม/60 มิลลิลิตรของสารละลายตรึงรูป ตามลำดับ สำหรับแบคทีเรียแล็กติก *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* และ *Lactobacillus acidophilus* ตามลำดับ ในขณะที่การใช้เซลล์อิสระให้ผลผลิต CLA ที่ระดับ 9.73 ไมโครกรัม/60 มิลลิลิตรของสารละลายตรึงรูป และ 22.0 ไมโครกรัม/60 มิลลิลิตรของสารละลายตรึงรูป ตามลำดับ สำหรับกลไกการเกิดโครงสร้าง CLA เนื่องจากกิจกรรมของแบคทีเรียกรดแล็กติกเชื่อว่าเกิดจากการทำงานของเอนไซม์ linoeic acid isomerase โดยกระบวนการเปลี่ยนโครงสร้างกรดไขมันลิโนเลอิกไปเป็นโครงสร้างรูป CLA นี้จะเกิดขึ้นภายในเซลล์แบคทีเรีย แล้วปล่อย CLA ที่ได้ออกมานอกเซลล์ ทั้งนี้ Lin et al. (2002) ใช้เอนไซม์ที่สกัดแยกจากเซลล์ *Lactobacillus acidophilus* และ *Propionibacterium freudenrechii* subsp. *shermanii* ทำปฏิกิริยากับกรดไขมันลิโนเลอิก พบว่าตัวอย่างทดลองที่ใช้เอนไซม์จาก *Lactobacillus acidophilus* ที่ pH 5 ทำให้เกิดโครงสร้าง CLA มากกว่าเอนไซม์จากแบคทีเรียอีกชนิดหนึ่ง และโครงสร้างไอโซเมอร์ที่พบมาก คือ trans-10,cis-12 และ cis-11,trans-13 รวมทั้ง cis-9,trans-11 isomer ด้วย และ Kim and Liu (2002) ได้ศึกษาเพื่อบ่งชี้ปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อปริมาณ CLA ระหว่างกระบวนการหมักน้ำนมด้วย *Lactococcus lactis* IO-1 โดยทำการคัดเลือกแบคทีเรียกรดแล็กติก ที่สามารถผลิต CLA จากการใช้น้ำมันทานตะวันซึ่งมีกรดไขมันลิโนเลอิกเป็นส่วนประกอบร้อยละ 70 โดยน้ำหนัก เป็นสารตั้งต้น จากเชื้อที่ใช้ทดสอบ 14 ชนิดพบว่า *Lactococcus lactis* IO-1 แสดงความสามารถในการผลิต CLA สูงสุด โดยความเข้มข้นที่เหมาะสมของน้ำมันทานตะวันสำหรับการสร้าง CLA คือ 0.1 กรัม/น้ำนมไขมันเต็ม 1 ลิตร ซึ่งคิดเป็นร้อยละ 25 โดยน้ำหนักของไขมันนมทั้งหมด พบว่าการเกิดโครงสร้าง CLA ในผลิตภัณฑ์นมหมักมีหลายปัจจัยที่เกี่ยวข้อง ได้แก่ สายพันธุ์ของแบคทีเรีย โดยแบคทีเรียกรดแล็กติก *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactococcus lactis* บางสายพันธุ์ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่อนุญาตให้ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร (food-grade bacteria) สามารถเพิ่มปริมาณ CLA ในผลิตภัณฑ์นมได้ ช่วงอายุของเซลล์แบคทีเรียที่มีการสร้าง CLA ได้ดีคือช่วง growth phase ในน้ำนมที่แบคทีเรียเจริญมีความเข้มข้นของสารตั้งต้นหรือกรดไขมันลิโนเลอิกที่เหมาะสม และช่วงระยะเวลาการบ่มที่ค่าความเป็นกรดด่างมีสภาพเป็นกลาง นั่นคือ กระบวนการ

บ่มต้องมีระยะเวลาที่ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำนมเป็นกลางเพียงพอ ต่อการสร้าง CLA เนื่องจากสภาวะที่เป็นกรดมีผลยับยั้งการสร้าง CLA ของแบคทีเรียกรดแล็กติกได้

2.2.3 แบคทีเรียกรดแล็กติกในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต

กล้าเชื้อเป็นส่วนประกอบสำคัญในการผลิตโยเกิร์ต ลักษณะที่ดีของกล้าเชื้อโยเกิร์ต คือ ปลอดจากการปนเปื้อน เจริญได้ดีในส่วนผสมที่ใช้เตรียมโยเกิร์ต ต้านทานต่อการถูกทำลายโดยไวรัสของแบคทีเรีย (phages) และสารปฏิชีวนะ ให้กลิ่นรสที่ต้องการ และให้โยเกิร์ตที่มีโครงสร้างเจลและเนื้อสัมผัสดี ในการสร้างกลิ่น (flavor) และลักษณะของเนื้อสัมผัส (texture) ต้องใช้กล้าเชื้อผสมของแบคทีเรียกรดแล็กติก 2 สายพันธุ์ คือ *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* การเจริญร่วมกันของแบคทีเรียเหล่านี้จะมีความสัมพันธ์แบบพึ่งพาอาศัยกัน (symbiosis) โดยปกติจะให้แบคทีเรียทั้งสองเจริญร่วมกันภายใต้สภาวะควบคุมเพื่อให้ได้กล้าเชื้อที่สมดุล

S. thermophilus เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีรูปร่างเซลล์ทรงกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.7-0.9 ไมโครเมตร ซึ่งพบได้ทั่วไปในน้ำนมดิบหลายแห่งในโลก ในน้ำนมจะเจริญเติบโตเรียงต่อกันเป็นสายโซ่ยาวประมาณ 10-20 เซลล์ ให้ผลผลิตหลักจากการหมักน้ำตาลกลูโคสที่มีน้ำตาลแล็กโทสเป็นสารตั้งต้น คือ กรดแล็กติกชนิด L (+) สามารถย่อยสลายน้ำตาลกลูโคส ฟรุ๊กโตส และแมนโนสได้ ส่วนน้ำตาลกาแล็กโตส มอลโตส และซูโครส สามารถย่อยสลายได้บางสายพันธุ์เท่านั้น (Robinson and Tamin, 1999) ในขณะที่ *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวกเช่นกัน เมื่อเจริญในน้ำนมจะเรียงตัวต่อกันเป็นสายสั้นประมาณ 3-4 เซลล์ มีลักษณะเป็นท่อนสั้นขอบเซลล์หัวท้ายกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5-0.8 ไมโครเมตร ความยาว 2.0-9.0 ไมโครเมตร ให้กรดแล็กติกชนิด D (-) เป็นผลิตภัณฑ์หลักจากการหมักน้ำตาลแบบ homofermentative ในน้ำนมสามารถผลิตกรดแล็กติกได้มากถึงร้อยละ 1.7-2.1 โดยน้ำหนัก คุณสมบัติการทนต่อสภาพกรดนี้จะตรงกันข้ามกับ *S. thermophilus* ซึ่งปกติจะถูกยับยั้งที่กรดแล็กติกมีความเข้มข้นที่มากกว่าร้อยละ 1.0 โดยน้ำหนัก หรือช่วงค่าความเป็นกรดด่างที่ 4.30-4.50

ลักษณะการพึ่งพาอาศัยกันของแบคทีเรียในกล้าเชื้อโยเกิร์ตนี้ เริ่มแรกแบคทีเรีย *S. thermophilus* ที่มีอุณหภูมิการหมักเหมาะสม (สร้างกรดแล็กติกได้ดีที่สุด) ที่ 39 องศาเซลเซียส เจริญขึ้นอย่างเด่นชัด กระบวนการหมักช่วงแรกนี้จะเกิดการเปลี่ยนแปลงหลายอย่าง โดยแบคทีเรีย *S. thermophilus* จะผลิต diacetyl และสารประกอบคล้ายกันซึ่งมีผลต่อกลิ่นรสของครีมเนย (creamy/buttery) ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตสุดท้ายและยังช่วยกำจัดออกซิเจนซึ่งอาจก่อให้เกิดไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ออกจากน้ำนม การเจริญจะดำเนินต่อไปจนกระทั่งมีค่าความเป็นกรดด่างลดลงที่ 5.50 ซึ่งเป็นสภาวะและมีสารอาหารที่เหมาะสมสำหรับการ

เจริญของแบคทีเรีย *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ต่อไป โดย *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* มีอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญที่ 45 องศาเซลเซียส และยังให้กรดแล็กติกมาก เพียงพอ ที่จะสร้างสารให้กลิ่นรสเฉพาะของโยเกิร์ต (acetaldehyde) ในกรณีของโยเกิร์ตที่มีกลิ่นรสดีมากจะมีปริมาณ acetaldehyde ในช่วง 23-41 พีพีเอ็ม คิดเป็นสัดส่วนของสารประกอบที่ให้กลิ่น (volatile flavor compound) ถึงร้อยละ 90 โดยน้ำหนัก นอกจากนี้ *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ยังสามารถย่อยโปรตีนในน้ำนมและให้กรดอะมิโนวาลีน (valine) ไกลซีน (glycine) และฮีสทิดีน (histidine) ออกมาซึ่งเป็นสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของ *S. thermophilus* อีกต่อหนึ่ง (Tamine and Robinson, 1999) ในการสร้างสารให้กลิ่นรสของโยเกิร์ตโดยแบคทีเรียผสมนี้พบว่า *S. thermophilus* ซึ่งเจริญได้เร็วในช่วงแรกจะสร้างกรดฟอร์มิกออกมา จากนั้น *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* จะนำกรดนี้ไปใช้ในการสร้างสารที่ให้กลิ่นรสรวมทั้ง acetaldehyde ซึ่งให้กลิ่นรสเฉพาะของโยเกิร์ต (Walstra et al., 1999)

2.3 ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต

โยเกิร์ตเป็นผลิตภัณฑ์นมที่ผ่านกระบวนการหมัก ทำให้มีรสเปรี้ยวและมีลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว ซึ่งมีถิ่นกำเนิดจากบัลกาเรียและกลุ่มประเทศแถบคาบสมุทรบอลข่าน เป็นอาหารนมที่ถูกค้นพบโดยบังเอิญจากการที่ชาวทรานเชี่ยนนำน้ำนมใส่ไว้ในกระเพาะแกะ และนำไปไหนต่อไหนด้วย ผลของกิจกรรมแบคทีเรียและความร้อนที่ได้รับทำให้น้ำนมสดกลายเป็นโยเกิร์ต โดยชาวบัลกาเรียจะบริโภคโยเกิร์ตกันจนเป็นอาหารพื้นเมืองที่จำเป็นต้องมีบนโต๊ะอาหารแทบทุกมื้อ ซึ่งจัดได้ว่าเป็นอาหารสุขภาพ เพราะจากการรวบรวมและศึกษาสถิติจาก 36 ประเทศ ของศาสตราจารย์ ดร. แมชนิคอฟ แพทย์และนักชีววิทยาชาวรัสเซีย พบว่า ผู้ที่มีอายุเกิน 100 ปี ส่วนใหญ่อาศัยอยู่ในบัลกาเรียมากกว่าประเทศอื่น ซึ่งเชื่อว่าแบคทีเรียแล็กโตบาซิลลัสในผลิตภัณฑ์นมหมักเป็นปัจจัยที่ทำให้มนุษย์มีสุขภาพดี (Fuller, 1979)

2.3.1 ประโยชน์ของโยเกิร์ต

2.3.1.1 คุณค่าทางโภชนาการของโยเกิร์ต

ส่วนประกอบหลักของโยเกิร์ต คือ น้ำนมหรือผลิตภัณฑ์นม ดังนั้นโยเกิร์ตจึงมีคุณค่าทางโภชนาการสูง โปรตีนนม เช่น เคซีน แอลฟา-แล็กตาลบูมิน (α-lactalbumin) เบต้า-แล็กโตโกลบูลิน (β-lactoglobulin) เป็นต้น สารเหล่านี้เป็นแหล่งของโปรตีนที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เมื่อมองในแง่ของโภชนาการ การบริโภคน้ำนมหรือโยเกิร์ตในหมู่ผู้ที่ไม่บริโภคเนื้อสัตว์จะได้รับกรดอะมิโนที่จำเป็นซึ่งปกติจะไม่พบในโปรตีนจากพืชผัก การบริโภคนมหรือโยเกิร์ตจึงเป็นสิ่งสำคัญที่จะช่วยให้ได้รับสารอาหารครบถ้วนขึ้น การขาดวิตามินเอเป็นสาเหตุสำคัญ

ประการหนึ่งที่ทำให้เกิดโรคเกี่ยวกับตา การบริโภคนมหรือโยเกิร์ตจะช่วยแก้ปัญหาการขาดวิตามินเอได้ เพราะในน้ำนมและโยเกิร์ตเป็นแหล่งของวิตามินเอ นอกจากนี้ในโยเกิร์ตยังมีส่วนประกอบของแคลเซี่ยม และฟอสฟอรัสสูง สมบัติประการนี้จึงเหมาะสำหรับสตรีที่กำลังตั้งครรภ์ มารดาที่อยู่ระหว่างให้นมบุตร และเด็ก ๆ ควรบริโภคโยเกิร์ตเป็นประจำ (Fuller, 1979)

2.3.1.2 คุณสมบัติด้านการย่อย

การบริโภคผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตแล้วพบว่า ย่อยได้ง่ายกว่าการบริโภคน้ำนมหรือผลิตภัณฑ์นมที่ไม่ผ่านกระบวนการหมักทั้งในส่วนของโปรตีนและคาร์โบไฮเดรต เนื่องจากปัจจัยหลายอย่าง ในส่วนของโปรตีนการให้ความร้อนในขั้นตอนการเตรียมน้ำนม และกิจกรรมการเจริญของแบคทีเรียกรดแล็กติกในระหว่างกระบวนการหมักทำให้มีปริมาณเปบไทด์ และกรดอะมิโนอิสระมากขึ้น (Fuller, 1979) และในส่วนของคาร์โบไฮเดรตพบว่า ระหว่างกระบวนการหมักน้ำตาลแล็กโตสถูกเปลี่ยนเป็นกรดแล็กติก เนื่องจากกิจกรรมของแบคทีเรียกรดแล็กติกที่ใช้เป็นกล้าเชื้อ นอกจากนี้บางส่วนของน้ำตาลแล็กโตสถูกย่อยไปเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว คือ น้ำตาลกลูโคส และกาแล็กโตส (Fuller, 1979) ซึ่งสามารถดูดซึมเข้าสู่ร่างกายทางลำไส้เล็กได้

2.3.1.3 การนำมาใช้ในด้านโภชนบำบัด

แต่ก่อนนี้ชาวบัลกาเรีย ตุรกี และอามิเนียน เชื่อกันว่าการมีสุขภาพดีและอายุยืนเนื่องจากบริโภคโยเกิร์ตเป็นประจำ แต่พิจารณาถึงเหตุผลแล้วความเชื่อนี้มีความเป็นไปได้แต่ไม่ใช่การบริโภคโยเกิร์ตเพียงอย่างเดียวอาจรวมไปถึงการบริโภคอาหารหมักพื้นเมือง ซึ่งมีกลุ่มแบคทีเรียกรดแล็กติกเป็นกล้าเชื้ออยู่ด้วย แต่นั่นเป็นเพียงความเชื่อที่กล่าวอ้างกันมานาน ต่อมา Eli Metchnikoj (1908) เป็นผู้บุกเบิกการประเมินผลของโยเกิร์ตอย่างเป็นวิทยาศาสตร์ในด้านการนำมารักษาโรค โดยเขียนไว้ในหนังสือ “The prolongation of life” ว่าอาการไม่สบายต่าง ๆ ที่เกิดขึ้นสามารถบรรเทาได้ด้วยการบริโภคโยเกิร์ตเป็นประจำ การนำโยเกิร์ตมาใช้ในด้านโภชนบำบัดมีได้หลายกรณี เช่น

1) การปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ โดยกรดแล็กติกซึ่งเป็นกรดอินทรีย์ที่เกิดจากกิจกรรมของจุลินทรีย์โยเกิร์ตมีผลในการป้องกันการบุกรุก และทำลายแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคซึ่งอาจปนเปื้อนมากับผลิตภัณฑ์ เช่น *Escherichai coli* และ *Salmonella* subsp. จึงเหมาะสำหรับบุคคลทั่วไปที่รักสุขภาพ รวมถึงผู้มีความผิดปกติของระบบทางเดินอาหาร (Fuller, 1979)

2) ระบบทางเดินอาหารผิดปกติ โดยโยเกิร์ตมีผลป้องกันและรักษาโรคทั้งในมนุษย์และสัตว์ ส่วนใหญ่เป็นการป้องกันและรักษาโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหาร เช่น ท้องร่วง ท้องผูก และระบบทางเดินอาหารอักเสบของเด็กทารก เป็นต้น ทั้งนี้เนื่องจากโยเกิร์ตเป็นอาหารที่ย่อยง่าย และเป็นผลจากการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ (วิเชียร, 2542)

3) โรคแพ้น้ำตาลนม ผู้ที่ขาดแล็กเทสซึ่งเป็นเอนไซม์ย่อยน้ำตาลแล็กโตสมาแต่กำเนิดหรือผู้ที่ไม่ได้ดื่มนมเป็นเวลานานจนต่อมสร้างน้ำย่อยนี้ไม่ทำงาน เมื่อดื่มนมทำให้เสี่ยงต่ออาการแน่นท้อง (fluctulene) ท้องเสีย (diarrhea) แต่เมื่อบริโภคโยเกิร์ตแล้วอาการเสี่ยงต่าง ๆ จะไม่เกิดขึ้นเนื่องจาก หลังการบริโภคโยเกิร์ตแล้วจุลินทรีย์ในโยเกิร์ตยังคงทำหน้าที่ย่อยน้ำตาลแล็กโตสต่อไป เมื่อเข้าไปถึงส่วนของลำไส้เล็กปริมาณน้ำตาลแล็กโทสที่เหลืออยู่จึงมีน้อย และลักษณะลิ่มนมของโยเกิร์ตยังอยู่อย่างสมบูรณ์หลังการบริโภคแล้ว ทำให้การกระจายตัวของน้ำตาลแล็กโตสเข้าสู่ผนังลำไส้เป็นไปอย่างช้า ๆ ผลเสียหายที่จะเกิดจากการย่อยน้ำตาลแล็กโตสจึงเกิดขึ้นน้อย ถ้ามีก็ไม่รุนแรง (วิเชียร, 2542)

4) โรคกระดูกพรุน (Osteoporosis) เนื่องจากโยเกิร์ตเป็นอาหารที่อุดมด้วยคุณค่าทางโภชนาการสูง เป็นแหล่งที่ดีของแคลเซียม จึงช่วยชะลออัตราเสี่ยงต่อการเกิดโรคกระดูกพรุน และโรคกระดูกเสื่อมในสตรีวัยหมดประจำเดือนและผู้สูงอายุ โดยเฉพาะแคลเซียมที่อยู่ในโยเกิร์ตจะถูกดูดซึมไปใช้ได้ดีกว่าในรูปอื่น เนื่องจากการเพิ่มกรดแล็กติกเข้าไปแทนที่กรดในกระเพาะอาหารจึงช่วยให้ร่างกายดูดซึมแคลเซียมได้สูงขึ้น นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มความแข็งแรงให้กระดูกและฟันด้วย (Fuller, 1995 อ้างใน จารุวรรณ์, 2543)

5) การลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือด O’ Sullivan และคณะ (อ้างจาก วิเชียร, 2542) รายงานว่า แบคทีเรียกรดแล็กติกแล็กโตบาซิลัส (*Lactobacillus*) ซึ่งใช้ในการผลิตโยเกิร์ตสร้างสารเคมีชื่อไฮดรอกซี เมทิลกลูตาเรต (hydroxyl methylglutarate) มีคุณสมบัติยับยั้งการสังเคราะห์โคเลสเตอรอลในร่างกาย จึงทำให้ลดอัตราเสี่ยงจากการเป็นโรคหัวใจที่เกิดจากระดับโคเลสเตอรอลสูงได้

6) การต่อต้านมะเร็ง Ayebo et al. (1981) รายงานว่าสารในโยเกิร์ตที่ ทำหน้าที่ต่อต้านมะเร็งสามารถแยกได้จากส่วนที่เป็นของแข็งด้วยวิธี fractionation บน ion exchange resin ขณะที่ Reddy et al. (1983) กล่าวว่า สารซึ่งมีผลยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งระยะเริ่มต้นนี้เป็นสารประกอบอื่นที่ไม่ใช่กรดแล็กติก ซึ่งเกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการหมักหรือการเก็บรักษาโยเกิร์ต (วิเชียร, 2542)

2.3.2 ชนิดของโยเกิร์ต (types of yoghurt)

การแบ่งชนิดของโยเกิร์ตอาศัยหลักการต่อไปนี้

2.3.2.1 มาตรฐานกฎหมาย (legal standard)

มาตรฐานกฎหมายของโยเกิร์ต ขึ้นกับองค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์ เช่น ปริมาณไขมัน ปริมาณของแข็งไม่รวมไขมัน (solid not fat หรือ SNF) หรือปริมาณของแข็งทั้งหมด และตามมาตรฐานของ FAO/WHO กำหนดให้แบ่งชนิดของโยเกิร์ตตามปริมาณไขมัน ดัง

นี้ โยเกิร์ตไขมันเต็ม (full fat yoghurt) มีไขมันสูงกว่าร้อยละ 3.0 โดยน้ำหนัก โยเกิร์ตไขมันปานกลาง (medium fat yoghurt) มีปริมาณไขมันประมาณร้อยละ 0.5-3.0 โดยน้ำหนัก และโยเกิร์ตไขมันต่ำ (low fat yoghurt) ซึ่งกำหนดให้มีปริมาณไขมันต่ำกว่าร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนัก (Tamine and Robinson, 1999)

2.3.2.2 กรรมวิธีการผลิต (Methods of production)

การผลิตโยเกิร์ตในอุตสาหกรรมมี 3 ชนิดแบ่งตามระบบการผลิตและโครงสร้างทางกายภาพของมวลที่ตกตะกอน คือ set yoghurt, stirred yoghurt และ drinking yoghurt (Spreer, 1998) โดยที่ set yoghurt เป็นผลิตภัณฑ์ที่กิจกรรมการหมักเกิดขึ้นในภาชนะบรรจุสำหรับการจำหน่ายปลีก ลักษณะของมวลของแข็งที่ตกตะกอน (coagulum) ที่ได้เป็น มวลเนื้อเดียวกันที่ต่อเนื่องและมีลักษณะเป็นของแข็งกึ่งเหลว ส่วน stirred yoghurt เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้หลังจากกระบวนการหมักเกิดขึ้นในถังหมักเรียบร้อยแล้ว ลักษณะของตะกอนโปรตีนที่ได้จะแตกหรือแยกจากกันก่อนที่จะนำไปผ่านการให้ความเย็นหรือการบรรจุ ส่วน drinking yoghurt อาจจัดเป็น stirred yoghurt ชนิดหนึ่งที่มีการผสมน้ำหวานหรือน้ำผลไม้ลงไปและทำให้เป็น เนื้อเดียวกันก่อนการบรรจุ ทำให้มีปริมาณของแข็งเพียงร้อยละ 11 โดยน้ำหนัก หรือน้อยกว่า (Tamine and Robinson, 1999)

2.3.2.3 กลิ่นรส (Flavor)

การเติมกลิ่นรสเข้าไปในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต ทำให้เกิดลักษณะผลิตภัณฑ์ที่แตกต่างกัน คือ โยเกิร์ตธรรมชาติ (natural หรือ plain yoghurt) เป็นโยเกิร์ตแบบดั้งเดิมที่มีรสชาติเปรี้ยวแหลม โยเกิร์ตผลไม้ (fruit yoghurt) ได้จากการเติมผลไม้และสารให้ความหวานลงในโยเกิร์ตธรรมชาติ และ flavoured yoghurt ซึ่งได้จากการเติมกลิ่นรสและสีลงในโยเกิร์ตธรรมชาติแทนการเติมผลไม้ (Tamine and Robinson, 1999)

2.3.2.4 กระบวนการหลังการหมัก (Post – incubation process)

ภายหลังการหมักเสร็จสิ้นแล้ว โยเกิร์ตที่ได้อาจนำไปผ่านกระบวนการต่อเนื่องอีก เช่น การให้ความร้อน (pasteurized yoghurt) การแช่เยือกแข็ง (frozen yoghurt) การทำให้เข้มข้น (concentrated yoghurt) และการทำแห้ง (dried yoghurt) เป็นต้น (Tamine and Robinson, 1999)

2.3.3 กรรมวิธีการผลิตโยเกิร์ต

โยเกิร์ตสามารถเตรียมได้จากน้ำนมไขมันเต็มหรือพร่องไขมัน น้ำนมเข้มข้นหรือน้ำนมคืนรูปจากนมผง หรือส่วนผสมของน้ำนมดังกล่าวผสมเข้าด้วยกันทั้งนี้โดยผ่านกระบวนการโฮโมจิไนซ์หรือไม่ก็ตาม แล้วให้ความร้อนฆ่าเชื้อ จึงทำการหมักด้วยจุลินทรีย์โยเกิร์ต จุลินทรีย์จะ

ใช้น้ำตาลแล็กโตสในน้ำนมในกิจกรรมการหมัก และให้กรดแล็กติกออกมาทำให้โปรตีนนมตกตะกอนมีลักษณะเป็นลิ่มค่อนข้างนุ่ม โดยทั่วไปมีสีขาวถึงขาวนวล มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว รสชาติค่อนข้างเปรี้ยวและมีจุลินทรีย์ที่มีชีวิตค่อนข้างสูง กรรมวิธีการผลิตโยเกิร์ตไม่ว่าจะเป็น set yoghurt หรือ stirred yoghurt (Spreer, 1998.; Tamine and Robinson, 1999.; Robinson, 1999) สามารถสรุปขั้นตอนการผลิตได้ดังนี้

2.3.3.1 การเตรียมส่วนผสมเบื้องต้น (Preliminary ingredient preparation)

เนื่องจากองค์ประกอบของน้ำนมที่ได้จากสัตว์ชนิดต่าง ๆ แตกต่างกัน เมื่อนำมาผ่านกระบวนการหมักทำให้ได้โยเกิร์ตที่มีคุณภาพแตกต่างกัน เช่น เมื่อมีไขมันนมปริมาณสูงกว่าจะทำให้ได้โยเกิร์ตที่มีความเป็นครีมสูงตามไปด้วย ส่วนโปรตีนก็เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการตกตะกอนเป็นมวลของแข็งกึ่งเหลวคล้ายเจลซึ่งมีผลเกี่ยวกับความหนืดของผลิตภัณฑ์ ดังนั้นเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพตามมาตรฐานจึงจำเป็นต้องปรับองค์ประกอบของน้ำนมก่อนการหมัก การปรับปริมาณไขมันนมที่ใช้เตรียมโยเกิร์ตจะใช้หลักการของ Pearsons Square ซึ่งปกติในน้ำนมจะมีไขมันนมระหว่างร้อยละ 3.7-4.2 โดยน้ำหนัก แต่ในผลิตโยเกิร์ตจะมีการปรับองค์ประกอบไขมันให้อยู่ในช่วงตามมาตรฐานของผลิตภัณฑ์นั้น ๆ สำหรับโยเกิร์ตไขมันปานกลาง (medium-fat yoghurt) จะมีปริมาณไขมันเฉลี่ยที่ร้อยละ 1.5 โดยน้ำหนัก ส่วนโยเกิร์ตไขมันต่ำ (low-fat yoghurt) มีปริมาณไขมันเฉลี่ยที่ร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนัก

2.3.3.2 การทำให้เป็นเนื้อเดียวกัน

หลังการปรับองค์ประกอบของน้ำนมที่ใช้ในการเตรียมโยเกิร์ต เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพตามต้องการแล้ว การนำส่วนผสมดังกล่าวมาทำให้เป็นเนื้อเดียวกันจะมีผลต่อคุณภาพของน้ำนมในด้านความเป็นอิมัลชั่นที่เป็นเนื้อเดียวกัน ทั้งนี้กระบวนการทำให้เป็นเนื้อเดียวกันสามารถทำได้โดยการให้น้ำนมผ่านเครื่องโฮโมจิไนเซอร์ด้วยความเร็วสูงผ่านช่องเปิดเล็ก ๆ ภายใต้ความดันสูง การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นภายหลังการทำให้เป็นเนื้อเดียวกันมีผลทำให้เนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ที่ได้ภายหลังการหมักมีเนื้อเนียนมากขึ้น มีกลิ่นรสที่เป็นครีม และช่วยลดการเกิดครีมที่ผิวหน้า หรือการแยกชั้นของโปรตีนเวย์ (wheying off) การเลือกใช้เครื่อง โฮโมจิไนเซอร์แบบ 1 หรือ 2 stage จะขึ้นกับปริมาณไขมันในน้ำนมที่ปรับองค์ประกอบแล้ว โดยทั่วไปน้ำนมสำหรับผลิตโยเกิร์ตจะใช้เครื่องโฮโมจิไนเซอร์แบบ 1 stage ที่อุณหภูมิ 50-70 องศาเซลเซียส และเลือกใช้ความดันช่วง 1,500-2,500 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว (psi)

2.3.3.3 การให้ความร้อน

การให้ความร้อนเป็นขั้นตอนที่สำคัญอีกขั้นตอนหนึ่ง นอกจากเพิ่มความเข้มข้นของน้ำนมแล้วยังมีผลต่อส่วนผสมที่ใช้เตรียมโยเกิร์ตดังนี้

1) ทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคหรือจุลินทรีย์อื่นที่ไม่ต้องการ ตามปกติอุณหภูมิในการให้ความร้อนแก่ส่วนผสมสำหรับเตรียมโยเกิร์ตอาจเป็นได้ ตั้งแต่อุณหภูมิพาสเจอร์ไรเซชั่น (72 องศาเซลเซียส 15 วินาที) จนถึงอุณหภูมิยูเอชที (133 องศาเซลเซียส 1 วินาที) โดยทั่วไปในอุตสาหกรรมนมนิยมให้ความร้อนที่ 85 องศาเซลเซียส 30 วินาที สำหรับกระบวนการไม่ต่อเนื่องหรือทำเป็นแบบกะ (batch process) หรือ 90-95 องศาเซลเซียส 5-10 วินาที สำหรับกระบวนการต่อเนื่อง (continuous process)

2) กำจัดอากาศที่มีอยู่ในน้ำนม เพื่อทำให้สภาวะแวดล้อมเหมาะสมต่อการเจริญของกล้าเชื้อโยเกิร์ตมากยิ่งขึ้น เนื่องจากกิจกรรมของจุลินทรีย์โยเกิร์ตต้องการออกซิเจนปริมาณน้อย (microaerophilic)

3) เปลี่ยนแปลงคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำนม โดยทำให้โปรตีนเวย์ที่มีอยู่ในน้ำนมซึ่งได้แก่ แอลฟา-แล็กตาลบูมิน (α-lactalbumin) และ เบต้า-แล็กโตโกลบูลิน (β-lactoglobulin) เกิดการเสียสภาพธรรมชาติ (denature) และตกตะกอน นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดการรวมตัวกันของโมเลกุลเคซีนเกิดเป็นร่างแห (network) ในลักษณะสามมิติขึ้นมาโดยร่างแหนี้จะจับกับโปรตีนเวย์ช่วยทำให้โยเกิร์ตที่ได้มีความข้นหนืดมากขึ้น

4) มีความเหมาะสมสำหรับการเจริญของกล้าเชื้อโยเกิร์ตที่มีกิจกรรมการหมักที่อุณหภูมิค่อนข้างสูงช่วง 40-45 องศาเซลเซียส

5) ทำให้โปรตีนในน้ำนมถูกทำลาย (damage) เกิดเป็นสารย่อย ๆ ที่มีโมเลกุลเล็กลง ซึ่งอาจเป็นสารที่ช่วยเร่งกิจกรรมของกล้าเชื้อ

2.3.3.4 กระบวนการหมัก

ส่วนผสมน้ำนมสำหรับเตรียมโยเกิร์ตที่ผ่านการให้ความร้อน และทำให้เย็นลงที่อุณหภูมิที่เหมาะสมแล้วจะถูกส่งไปยังถังหมักเพื่อทำการหมักด้วยกล้าเชื้อต่อไป ปกติกล้าเชื้อสำหรับผลิตโยเกิร์ตประกอบด้วยแบคทีเรีย *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ในสัดส่วนที่เท่ากัน แบคทีเรียเหล่านี้จะมีความสัมพันธ์แบบพึ่งพากัน โดยทั่วไปมีการเติมกล้าเชื้อประมาณร้อยละ 0.5-2.0 โดยปริมาตร ภายหลังการเติมกล้าเชื้อแล้วจะทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37-44 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4-6 ชั่วโมง หรือที่ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ทั้งนี้ขั้นตอนของการหมักจะเกิดขึ้นได้ 2 ลักษณะ คือ ในกรณีที่ผลิต set yoghurt จะเกิดการหมักในภาชนะบรรจุสำหรับจำหน่ายปลีก (retail container) และในกรณีของ stirred yoghurt จะเกิดการหมักขึ้นในถังหมักใหญ่ จนกระทั่งกระบวนการหมักเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ จึงนำไปบรรจุเพื่อส่งจำหน่ายต่อไป อย่างไรก็ตามไม่ว่าลักษณะการผลิต โยเกิร์

ตจะเป็นลักษณะใดก็ตาม การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของการเกิดโยเกิร์ตเจลหรือลิ่มตะกอนโปรตีน (coagulum) จะมีลักษณะเหมือนกัน จะแตกต่างกันเพียงคุณสมบัติการไหล (rheological property) ของมวลของแข็งที่ตกตะกอน ซึ่งลักษณะเนื้อของโยเกิร์ตที่ได้จาก set yoghurt จะไม่ถูกรบกวน เจลที่ได้ จึงเป็นมวลของแข็งกึ่งเหลวตลอดทั้งภาชนะบรรจุ ในขณะที่ stirred yoghurt จะเป็นเจลที่มีลักษณะแตกจากกัน (breaking gel structure) เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักก่อนการทำให้เย็น

การเกิดเจลของโยเกิร์ตเป็นผลจากปฏิกิริยาทางชีววิทยาและกายภาพในน้ำนม (Tamine and Robinson, 1999) มีขั้นตอนตามลำดับดังนี้

1) กล้าเชื้อโยเกิร์ตใช้น้ำตาลแล็กโทสในน้ำนมเป็นแหล่งพลังงานในการเจริญเติบโต และเกิดกระบวนการหมักให้กรดแล็กติกและสารประกอบอื่น ๆ ออกมา

2) กรดแล็กติกที่ถูกผลิตขึ้นเรื่อย ๆ นี้ มีผลต่อสภาพความคงตัวของอนุภาคเคซีน (casein micelles) และทำให้สารประกอบเชิงซ้อนของโปรตีนหางนมหรือโปรตีนเวย์สูญเสียสภาพธรรมชาติด้วย

3) เกิดการรวมตัวของ casein micelles หรือกลุ่มของ micelles ย่อย ๆ เข้าด้วยกัน และเกิดการตกตะกอนบางส่วนออกมา ในขณะที่ค่าความเป็นกรดด่างใกล้จุด isoelectric คือ ค่าความเป็นกรดด่างที่ 4.60-4.70

4) เกิดปฏิกิริยาระหว่างแอลฟ-แล็กตาลบูมิน หรือ เบตา-แล็กโตโกลบูลิน ซึ่งเป็นโปรตีนเวย์กับเคซีน ทำให้เกิด casein micelles มีความคงตัวมากขึ้น ดังนั้นร่างแหของโยเกิร์ตเจลที่ประกอบด้วยโครงสร้างที่แน่นอนนี้ สามารถจับกับองค์ประกอบอื่น ๆ ที่มีอยู่ในส่วนผสมที่ใช้เตรียมโยเกิร์ต รวมทั้งยึดจับน้ำให้อยู่ในโครงสร้างดังกล่าวด้วย

2.3.3.5 การทำความเย็น

เนื่องจากการผลิตโยเกิร์ตเป็นกระบวนการทางชีวภาพ การทำให้เย็นจึงเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการควบคุมกิจกรรมของกล้าเชื้อและเอนไซม์ การให้ความเย็นแก่มวลของแข็งที่ตกตะกอนจะเริ่มตั้งแต่ผลิตภัณฑ์มีระดับความเป็นกรดตามต้องการที่ประมาณ 4.6 หรือความเข้มข้นของกรดแล็กติก ประมาณร้อยละ 0.9 โดยน้ำหนัก แต่ทั้งนี้ขึ้นกับปัจจัยต่าง ๆ ได้แก่ ชนิดของโยเกิร์ตที่ผลิต วิธีให้ความเย็น และประสิทธิภาพของการถ่ายเทความร้อนประกอบกันด้วย จุดประสงค์หลักของการทำให้มวลของแข็งที่ตกตะกอนเย็นลงจากอุณหภูมิบ่ม 30-45 องศาเซลเซียส ให้ต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส (ดีที่สุดประมาณ 5 องศาเซลเซียส) ทันทีเพื่อควบคุมระดับความเป็นกรดสุดท้ายในผลิตภัณฑ์ เนื่องจากที่อุณหภูมิดังกล่าวสามารถยับยั้งกิจกรรมของ กล้าเชื้อโยเกิร์ตได้

2.3.3.6 การเติมองค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสและสี

การเติมองค์ประกอบที่ให้กลิ่นรสและสี เพื่อเพิ่มความนิยมให้แก่ผู้บริโภค ขึ้นกับชนิดของโยเกิร์ตที่ต้องการ สารที่ใช้เติมเพื่อวัตถุประสงค์ดังกล่าวในอุตสาหกรรมผลิตโยเกิร์ต ได้แก่ ผลไม้ สารให้กลิ่น สี และส่วนประกอบอื่น ๆ เช่น น้ำผึ้ง ถั่วต่าง ๆ กาแฟ ช็อกโกแล็ต เป็นต้น

2.3.4 คุณภาพของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต

โยเกิร์ตชนิด set yoghurt ที่มีคุณภาพดีต้องมีเนื้อโยเกิร์ตละเอียด เนียนเป็นเนื้อเดียวกันไม่เกิดการแยกชั้น curd แข็งแรงไม่อ่อนตัวและเนื้อไม่หดตัว มีสีขาวหรือครีมเล็กน้อย รสชาติไม่เปรี้ยวมากเกินไป ไม่มีรสฝาด ขม หรือรสอื่นใดที่ไม่ต้องการ และมีกลิ่น flavor และ aroma เฉพาะตัวของกรดแล็กติก acetaldehyde, acetone, acetoin และ diacetyl

2.3.4.1 คุณภาพทางเคมี

ส่วนประกอบหลักของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต คือ น้ำนมหรือผลิตภัณฑ์นม ดังนั้นองค์ประกอบหลักทางเคมีของโยเกิร์ตซึ่งได้แก่ โปรตีนเคซีน โปรตีนเวย์ ไขมันนม วิตามิน และแร่ธาตุต่าง ๆ ในปริมาณใกล้เคียงกับที่มีในน้ำนมโดยบางองค์ประกอบอาจมีมากกว่า และบางองค์ประกอบอาจมีปริมาณลดลงภายหลังกระบวนการหมัก การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของโยเกิร์ตเกิดขึ้น 2 ระยะ คือ การเปลี่ยนแปลงในขั้นตอนการเตรียมน้ำนมสำหรับการผลิต และระยะของกระบวนการหมัก ตารางที่ 2.2 แสดงให้เห็นความแตกต่างของส่วนประกอบทางเคมีระหว่างน้ำนมกับผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต ซึ่งเห็นได้ชัดเจนว่า ปริมาณโปรตีน คาร์โบไฮเดรต แคลเซียม ฟอสฟอรัส และโพแทสเซียม ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตมีค่ามากกว่าในน้ำนมเนื่องจากส่วนประกอบที่เติมลงไปในขั้นตอนการปรับส่วนผสมของน้ำนมให้เหมาะสมต่อการผลิต และให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดี การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีที่เกิดจากกิจกรรมของแบคทีเรียระหว่างกระบวนการหมัก คือ การเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดอะมิโนอิสระในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต (ตารางที่ 2.3) และการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดแล็กติก และสารให้กลิ่นรสที่สำคัญในผลิตภัณฑ์ เช่น acetaldehyde, acetone, acetoin, diacetyl และ สารประกอบคาร์บอนิลอื่น ๆ เป็นต้น วิตามินหลายชนิดมีปริมาณเพิ่มขึ้นเนื่องจากกระบวนการหมัก ในขณะที่บางชนิดที่ไม่ทนความร้อนอาจเกิดการสูญเสียในขั้นตอนการให้ความร้อนส่วนผสมน้ำนมสำหรับการผลิต และบางชนิดเป็นวิตามินที่จำเป็นต่อการเจริญของแบคทีเรียกรดแล็กที่ใช้เป็นกล้าเชื้อ จะถูกใช้ไปในขั้นตอนของกระบวนการหมักทำให้มีปริมาณน้อยกว่าในน้ำนม ดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมและผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต

Constituent	Milk		Yoghurt		
	Whole	Skim	Full fat	Low fat	Low fat/fruit
Water (g)	87.8	91.1	81.9	84.9	77.0
Protein (g)	3.2	3.3	5.7	5.1	4.1
Fat (g)	3.9	0.1	3.0	0.8	0.7
Carbohydrate (g)	4.8	5.1	7.8	7.5	17.9
Calcium (mg)	115.0	120.0	200.0	190.0	150.0
Phosphorus (mg)	92.0	95.0	170.0	160.0	120.0
Sodium (mg)	55.0	55.0	80.0	83.0	64.0
Potassium (mg)	140.0	150.0	280.0	250.0	210.0
Zinc (mg)	0.4	0.4	0.7	0.6	0.5

แหล่งที่มา : Tamine and Robinson (1999)

ตารางที่ 2.3 ปริมาณกรดอะมิโนอิสระ (mg/100 ml) ของน้ำนมและผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต

	Cow's		Goat's	
Amino acid	Milk	Yoghurt	Milk	Yoghurt
Alanine	0.16 – 0.64	1.17 – 3.80	1.33	3.83
Arginine	0.16 – 0.96	0.70 – 1.39	0.40	0.67
Aspartic acid	0.23 – 0.52	0.70 – 1.20	0.22	1.37
Glycine	0.30 – 0.53	0.28 – 0.45	5.91	6.06
Glutamic acid	1.48 – 3.90	4.80 – 7.06	3.54	3.78
Histridine	0.11	0.80 – 1.70	0.45	1.28
Isoleucine	0.06 – 0.15	0.15 – 0.40	0.18	0.43
Leucine	0.06 – 0.26	0.70 – 1.82	0.21	1.25
Lysine	0.22 – 0.94	0.80 – 1.11	0.60	2.35
Methionine	0.05	0.08 – 0.20	0.10	0.35
Phenylalanine	0.05 – 0.13	0.17 – 0.61	0.11	0.35
Proline	0.12	5.40 – 7.05	0.65	4.35
Serine	0.08 – 1.35	1.50 – 2.90	3.05	3.51
Threonine	0.05 – 0.26	0.24 – 0.70	3.34	2.80
Tryptophan	Trace	0.2	Not reported	
Tyrosine	0.06 – 0.14	0.18 – 0.61	0.30	0.60
Valine	0.10 – 0.25	0.90 – 1.86	0.30	0.50
Total	3.29 – 10.31	18.77 – 33.06	20.60	33.48

แหล่งที่มา : Tamine and Robinson (1999)

ตารางที่ 2.4 องค์ประกอบทางเคมีของน้ำนมและผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต

Constituent	Milk		Yoghurt		
	Whole	Skimmed	Full fat	Low fat	Low fat/fruit
Retinal (μg)	52.0	1.0	28.0	8.0	10.0
Carotene (μg)	21.0	Trace	21.0	5.0	4.0
Thiamin (B_1) (μg)	30.0	40.0	60.0	50.0	50.0
Riboflavin (B_2) (μg)	170.0	170.0	270.0	250.0	210.0
Pyridoxine (B_6) (μg)	60.0	60.0	100.0	90.0	80.0
Cyanocobalamine (B_{12}) (μg)	0.4	0.4	0.2	0.2	0.2
Vitamin C (mg)	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
Vitamin D (μg)	0.3	Trace	0.04	0.01	0.01
Vitamin E (μg)	90.0	Trace	50.0	10.0	10.0
Folic acid (μg)	6.0	5.0	18.0	17.0	16.0
Nicotinic acid (μg)	100.0	100.0	200.0	100.0	100.0
Pantothenic acid (μg)	350.0	320.0	500.0	450.0	330.0
Biotin (μg)	1.9	1.9	2.6	2.9	2.3
Choline (μg)	12.1	4.8	-	0.6	-

แหล่งที่มา : Tamine and Robinson (1999)

2.3.4.2 คุณภาพทางกายภาพ

ลักษณะปรากฏ (Appearance) และลักษณะทางกายภาพ (Physical properties) เป็นดัชนีคุณภาพที่สำคัญของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต โยเกิร์ตที่มีคุณภาพดีควรมีเนื้อเจลค่อนข้างข้นหนืดและเนียนเรียบ โครงสร้างเจลไม่หดตัว และไม่เกิดการแยกชั้นระหว่างของเหลวกับเนื้อโยเกิร์ต (whey syneresis) สำหรับโยเกิร์ตชนิด set yoghurt ลักษณะตำหนิ 2 อย่าง ที่มักปรากฏ คือ เนื้อเจลโยเกิร์ตนิ่มมีความแน่นเนื้อต่ำ และเกิดการแยกชั้นของน้ำหางนมหรือน้ำเวย์ออกจากโครงสร้างเจลโยเกิร์ตจนทำให้มีของเหลวที่ผิวหน้าโยเกิร์ตปริมาณมาก ซึ่งปริมาณน้ำเวย์ที่ผิวหน้า set yoghurt นี้ถูกใช้ในการจัดระดับให้เป็นโยเกิร์ตคุณภาพต่ำได้ (Walstra et al., 1999) คุณภาพทางกายภาพมีความสำคัญโดยตรงต่อความชอบ และความนิยมของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ลักษณะปรากฏ ความเนียนละเอียดของเนื้อโยเกิร์ต รวมถึงการแยกชั้นของ น้ำหางนมล้วนมีผลต่อการตัดสินใจเลือกซื้อผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต การศึกษาเพื่อปรับปรุงและพัฒนาคุณภาพ

ทางกายภาพของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตจึงมีความสำคัญและได้รับความสนใจเรื่อยมา นอกจากการศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาของการให้ความร้อนแก่ส่วนผสมสำหรับผลิตโยเกิร์ต เพื่อให้ได้อุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมสำหรับการผลิตโยเกิร์ต (Tamine and Robinson, 1999) การเติมสารเพิ่มความหนืดและสารเพิ่มความคงตัว (stabilizer) เป็นอีกแนวทางหนึ่งในการปรับปรุงคุณภาพทางกายภาพโยเกิร์ต Fiszman, Lluch and Salvador (1999) ทดลองเติมเจลาตินลงในส่วนผสมน้ำนมสำหรับผลิตโยเกิร์ต ทำให้ได้โยเกิร์ตที่มีลักษณะเจลแข็งแรงปานกลาง ระดับการแยกชั้นของน้ำหางนมลดลง แต่เนื้อสัมผัสของโยเกิร์ตที่ได้นี้ค่อนข้างแข็งกว่าโยเกิร์ตที่ไม่เติม เจลาติน ต่อมา Puvanenthiran, Williams and Augustin (2002) ทำการศึกษาเพื่อหาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเคซีน และโปรตีนเวย์ที่ใช้ปรับปริมาณของแข็งไม่รวมไขมันในการผลิต set yoghurt ให้มีคุณภาพดี และ Shihata and Shah (2002) ปรับปรุงคุณภาพทางกายภาพและเนื้อสัมผัสของโยเกิร์ตโดยใช้แบคทีเรียที่สามารถผลิต exopolysaccharides เป็นกล้าเชื้อในกระบวนการหมักโยเกิร์ต ในขณะที่ Amatayakul, Halmos, Sherkat and Shah (2006) พบว่าการใช้แบคทีเรียที่สามารถผลิต exopolysaccharides เป็นกล้าเชื้อในกระบวนการหมัก ร่วมกับการปรับอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างเคซีนและโปรตีนเวย์ในส่วนผสมสำหรับผลิตโยเกิร์ต ทำให้ได้โยเกิร์ตทั้ง set yoghurt และ stirred yoghurt มีลักษณะทางกายภาพที่ดี

การประเมินลักษณะทางกายภาพของโยเกิร์ตชนิด set yoghurt เป็นการประเมินคุณภาพของโครงสร้างเจลซึ่งเป็นลิ่มตะกอนโปรตีนอ่อนนุ่ม กึ่งแข็งกึ่งเหลวโดยที่ลิ่มตะกอนโปรตีนยังมีลักษณะเป็นมวลเนื้อเดียวกันโครงสร้างเจลยังไม่แตกหรือแยกออกจากกัน วิธีการดั้งเดิมและยังเป็นที่นิยมใช้ในการประเมินลักษณะทางกายภาพของโยเกิร์ต คือ การตรวจวัดด้วย penetrometer (Hartman, 1976) โดยใช้หัววัด (probe) แบบ spindle และแบบ cone โดยกำหนดให้ความลึกของหัววัดที่แทงทะลุผ่านผิวหน้าลงไปในเนื้อโยเกิร์ตต้องมีระยะไม่เกินร้อยละ 33 ของความสูงทั้งหมดของตัวอย่างในภาชนะบรรจุ ขนาดของหัววัดที่ใช้ต้องมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางไม่เกินร้อยละ 50 ของเส้นผ่าศูนย์กลางภาชนะบรรจุ เพื่อลดผลกระทบของขอบถ้วยต่อค่าการวัด และปัจจุบันนิยมตรวจวัดด้วยลักษณะทางกายภาพทั้งค่าความแน่นเนื้อของเจลโยเกิร์ต และค่าแรงตึงที่ผิวหน้าโยเกิร์ตด้วยเครื่อง Texture Analyzer ที่ต่อกับหัววัดแบบต่าง ๆ

2.3.4.3 คุณภาพทางประสาทสัมผัส

คุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต หมายรวมถึง ลักษณะปรากฏ ความข้นหนืด (viscosity) ความแข็งแรงของโครงสร้างเจล (gel firmness) และกลิ่นรส

ตารางที่ 2.5 คุณลักษณะที่สำคัญของคุณภาพทางประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต

Attribute	Sensorial terms of yoghurt
Odour	Intensity, Sour, Fruity, Buttery, Yeasty, Creamy, Sweet and Other
Flavour	Intensity, Sour/acid, Fruity, Buttery, Rancid,Creamy, Salty, Bitter, Lemon, Sweet, Chemical and Other
Aftertaste	Intensity, Buttery, Sour/acid and Other
Texture	Firmness, Creaminess, Viscosity, Sliminess, Curdy,
Mouth-coating,	Chalky and Serum separation

แหล่งที่มา : Tamine and Robinson (1999)

ของผลิตภัณฑ์โดยทั่วไปเกิร์ตที่มีคุณภาพดี โปรตีนนมที่ตกตะกอนเกิดเป็นโครงสร้างคล้ายเจลต้องมีลักษณะเป็นลิ่มค่อนข้างนุ่ม (soft curd) คือ มีเนื้อสัมผัสกึ่งแข็งกึ่งเหลว โดยทั่วไปมีสีขาวถึงขาวนวล เจลไม่นิ่มและสามารถเก็บกักของเหลวและน้ำเวย์ไว้ในโครงสร้างได้ดี มีกลิ่นหอมเฉพาะตัว รสชาติ ค่อนข้างเปรี้ยวเนื่องจากมีกรดค่อนข้างสูง ไม่มีรสฝาด รสขม หรือรสชาติแปลกปลอมใด ๆ (Tamine and Robinson, 1998) ลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสแสดงในตารางที่ 2.5 ลักษณะปรากฏ ความข้นหนืด ความแข็งแรงของโครงสร้างเจล กลิ่นและกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต เป็นคุณลักษณะของคุณภาพหลักที่มีผลต่อการบริโภคและความชอบของผู้บริโภค ปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพเหล่านี้ประกอบด้วยส่วนประกอบที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิต กระบวนการเตรียมการผลิต สายพันธุ์ของแบคทีเรียกล้าเชื้อที่ใช้ในกระบวนการหมักรวมถึงการจัดการและจัดเก็บผลิตภัณฑ์ภายหลังกระบวนการหมัก Katsiari et al. (2002) ศึกษาคุณภาพของโยเกิร์ตที่ผลิตจากน้ำนมแกะที่ผ่านการแช่เยือกแข็ง และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 เดือน พบว่าคุณภาพทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ต ด้านลักษณะปรากฏและสี โครงสร้างเจลและเนื้อสัมผัส กลิ่นรส และการยอมรับโดยรวมของโยเกิร์ตที่ผลิตจากน้ำนมแกะแช่เยือกแข็ง ไม่แตกต่างทางสถิติกับโยเกิร์ตตัวอย่างควบคุมที่ผลิตจากน้ำนมสด ในขณะที่ Folkenberg et al. (2006) พบว่าคุณลักษณะด้านความแข็งแรงของเจล (gel firmness) และลักษณะเมือก (ropiness) ของโยเกิร์ตจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของ *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ที่ใช้เป็นกล้าเชื้อในกระบวนการหมัก และแบคทีเรียกล้าเชื้อที่สร้างสาร exopolysaccharides มีความสัมพันธ์โดยตรงต่อการเพิ่มขึ้นของคะแนนคุณภาพด้าน mouth

thickness, creaminess และ ropiness ของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต นอกจากนี้สารให้ความหวาน (sweetener) และสารเพิ่มความคงตัว (stabilizer) ที่เป็นส่วนผสมในวัตถุดิบเริ่มต้นสำหรับการผลิตโยเกิร์ต ล้วนมีผลต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยเช่นกัน Fernandez-Garcia et al. (1998) พบว่า สารให้ความหวานทำให้ลักษณะเนื้อสัมผัสของโยเกิร์ตดีขึ้น และคะแนนการยอมรับด้านกลิ่นรสของโยเกิร์ตเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเติมน้ำตาลซูโครส ในขณะที่การเติมน้ำตาลฟรุกโตสไม่มีผลต่อการยอมรับด้านกลิ่นรส แต่เมื่อเพิ่มปริมาณสาร ให้ความหวานมากขึ้น หรือยืดระยะเวลาการเก็บผลิตภัณฑ์เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ระดับของกลิ่น acetaldehyde ซึ่งเป็นกลิ่นรสเฉพาะของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตมีค่าลดลง นอกจากนี้ Kumar and Mishra (2004) พบว่า คะแนนคุณภาพของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตเพิ่มขึ้นเมื่อระดับการเติมสารเพิ่มความคงตัวมากขึ้นจนถึงระดับร้อยละ 0.4 โดยน้ำหนัก แต่เมื่อมีการเติมสารเพิ่มความคงตัวมากจนถึงระดับร้อยละ 0.6 โดยน้ำหนัก คะแนนคุณภาพกลับลดลง

2.3.4.4 โครงสร้างภายในของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต

ปัจจุบันมีการนำกล้องจุลทรรศน์มาใช้ในการศึกษาโครงสร้างภายในของผลิตภัณฑ์อาหารอย่างหลากหลาย เพื่อใช้อธิบายความสัมพันธ์ของโครงสร้างภายในที่มีผลต่อคุณสมบัติและ/หรือลักษณะภายนอก ไม่จำกัดเพียงเพื่อการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาเท่านั้น เนื่องจากอาหารมีองค์ประกอบและส่วนผสมจำนวนมาก รวมทั้งมีกระบวนการผลิตที่หลากหลายซึ่งส่งผลต่อลักษณะทางกายภาพ และลักษณะทางประสาทสัมผัส เช่น น้ำนม เมื่อผ่านกรรมวิธีการผลิตที่แตกต่างกันทำให้ได้ เนยแข็ง โยเกิร์ต ครีม หรือไอศครีม ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้นี้ล้วนมีโครงสร้างภายในที่แตกต่างกัน แม้แต่ชนิดเดียวกัน เช่น ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต เมื่อมีความแตกต่างในขั้นตอนการผลิตเกิดขึ้นทั้งในส่วนขององค์ประกอบของส่วนผสมน้ำนมสำหรับการผลิต อุณหภูมิและระยะเวลาการให้ความร้อนแก่น้ำนมที่ใช้เตรียมโยเกิร์ต สายพันธุ์ของแบคทีเรียที่ใช้เป็นกล้าเชื้อสำหรับกระบวนการหมัก รวมถึงเทคนิคต่าง ๆ ในทุกขั้นตอนการผลิต ล้วนมีผลต่อลักษณะโครงสร้างภายในของผลิตภัณฑ์ ซึ่งส่งผลเกี่ยวเนื่องต่อลักษณะทางกายภาพและคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต ด้วยเหตุนี้การศึกษาโครงสร้างภายในจึงทำให้เข้าใจถึงการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการผลิต และอิทธิพลของส่วนผสมที่มีต่ออาหาร (Hermansson et al.,
2000)

กล้องจุลทรรศน์เป็นสิ่งประดิษฐ์ทางวิทยาศาสตร์ เกิดจากความเพียรพยายามของนักวิทยาศาสตร์ที่ต้องการศึกษาค้นคว้าทางชีววิทยา และกายภาพที่ซับซ้อนในโครงสร้างระดับไมโครซึ่งไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า กล้องจุลทรรศน์ที่ใช้กันทั่วไปแบ่งตามแหล่งกำเนิดของสื่อกลางที่ช่วยให้เกิดการมองเห็นได้เป็น 2 ชนิด คือ กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง (light microscope : LM) และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (electron microscope : EM) (Aguilera

and Stanley, 1999) โดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนเป็นกล้องจุลทรรศน์ที่ใช้ลำอิเล็กตรอนเกี่ยวข้องกับการเกิดภาพ ประกอบด้วยระบบต่าง ๆ ได้แก่ ระบบสุญญากาศ ระบบกำเนิดไฟฟ้าศักดาสูง ระบบควบคุมอิเล็กทรอนิกส์ และระบบเลนส์สนามแม่เหล็กไฟฟ้า (วิรุฬห์ และ สุวิทย์, 2534) จึงทำให้กล้องมีขนาดใหญ่กว่ากล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงมาก และมีความยุ่งยากซับซ้อนกว่า แต่มีขีดความสามารถเหนือกว่ากล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงมาก นอกจากนี้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนยังได้รับการพัฒนาให้มีอุปกรณ์ประกอบ เพื่อช่วยในการวิเคราะห์ธาตุ พร้อมกับการศึกษาภาพไมโครกราฟ ในขณะที่กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงทำไม่ได้

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนมี 2 ประเภทหลัก คือ กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องผ่าน (Transmission electron microscope : TEM) ใช้ในการศึกษาโครงสร้างภายในและรายละเอียดขององค์ประกอบภายในตัวอย่าง และกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope : SEM) ซึ่งใช้ในการศึกษาโครงสร้างระดับ ไมโครบนพื้นผิวของชิ้นตัวอย่างสำหรับงานวิจัยทั้งทางด้านชีวภาพและกายภาพ โดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดนี้มีการออกแบบโครงสร้างของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนให้มีระบบเลนส์แบบลำอิเล็กตรอนสแกน การจัดระบบเลนส์สนามแม่เหล็กไฟฟ้าภายในคอลัมน์สุญญากาศ ชิ้นตัวอย่างจะอยู่ใต้เลนส์วัตถุ (objective lens) ลำแสงอิเล็กตรอนในคอลัมน์สุญญากาศขนาดเล็กมากจะถูกโฟกัสลงบนพื้นผิวของตัวอย่างด้วยระบบเลนส์ และถูกควบคุมให้เคลื่อนที่ตามบริเวณที่ต้องการศึกษาด้วยระบบสแกน และสร้างสัญญาณภาพขยายอิเล็กตรอนบนจอภาพ การบันทึกภาพ การบันทึกภาพจะบันทึกจากจอภาพแคโทดเรย์ และภาพที่ปรากฏจะมีลักษณะ 3 มิติ โดยระบบภาพของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดนี้ การสร้างภาพต้องมีการบีบลำแสงอิเล็กตรอนด้วยระบบเลนส์วัตถุให้มีขนาดเล็กมาก จนมีลักษณะเป็นโพรบอิเล็กตรอน (electron probe) โฟกัสลงบนชิ้นตัวอย่าง สัญญาณอิเล็กตรอนที่เกิดขึ้นจะเกิดเฉพาะจุดที่ปลายโพรบอิเล็กตรอนตกกระทบ มีชุด scanning coil เป็นชุดควบคุมการสแกน ทำหน้าที่บังคับให้โพรบอิเล็กตรอนเคลื่อนที่ในแนวนอนและแนวตั้งบนระนาบของตัวอย่างเป็นพื้นที่สี่เหลี่ยมผืนผ้า สัญญาณควบคุมการสแกนของโพรบอิเล็กตรอนในคอลัมน์สุญญากาศ และชุดกำเนิดภาพจะทำงานพร้อมกัน สัญญาณอิเล็กตรอนที่เกิดขณะโพรบอิเล็กตรอนเคลื่อนไปบนผิวตัวอย่าง จะถูกเปลี่ยนเป็นสัญญาณไฟฟ้าด้วยอุปกรณ์วัด ปรากฏเป็นสัญญาณภาพบนจอภาพจุดต่อจุดตามแนวสแกน

การศึกษาโครงสร้างภายในของเจลโยเกิร์ตด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดในช่วงแรกเป็นการศึกษา เพื่ออธิบายผลของความร้อนที่ให้แก่น้ำนมต่อลักษณะโครงสร้างภายในของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ได้จากน้ำนมที่มีการเตรียมแตกต่างกัน เนื่องจากน้ำนมที่ผ่านและไม่ผ่านการให้ความร้อนมีลักษณะบางประการของเคซีนไมเซลล์ (casein micells) แตก

ต่างกัน โดยพบว่าน้ำนมที่ผ่านการให้ความร้อนจะให้โครงสร้างเจลที่มีขนาดเคซีนไมเซลล์ใหญ่ขึ้น และโครงข่ายร่างแหโปรตีนต่อกันเป็นสายโซ่ ซึ่งคุณสมบัตินี้เกิดจากการกระจายตัวของโปรตีนอย่างสม่ำเสมอในเนื้อโยเกิร์ต และในส่วนของสารละลายจะถูกกักไว้ในโครงข่ายร่างแหของโปรตีนที่เกิดขึ้นนี้ ทำให้ลิ่มตะกอนโปรตีนที่เกิดขึ้นมีความแข็งแรง และเกิดการแยกชั้นของน้ำหางนมต่ำ ในทางกลับกัน เคซีนไมเซลล์ในน้ำนมที่ไม่ผ่านการให้ความร้อนโปรตีนที่ตกตะกอนจะกระจายตัวไม่สม่ำเสมอ และโครงข่ายที่ได้ไม่สามารถเก็บกักน้ำไว้ได้ ลิ่มตะกอนโปรตีนจึงนิ่มเละกว่ากรณีน้ำนมที่ผ่านการให้ความร้อนถึงร้อยละ 50 (Kalab and Harwalkar, 1973, 1974; Kalab et al., 1980, 1995; Kalab, 1979a, 1979b, 1992; Harwalkar and Kalab, 1980; Modler and Kalob, 1983; Modler et al., 1983 อ้างใน Tamine and Robinson, 1999) โดยทั่วไปโยเกิร์ตที่มีรูพรุนขนาดใหญ่ในโครงข่ายร่างแห มักมีแนวโน้มเกิดการแยกชั้นของน้ำหางนมได้ง่าย ปัจจุบันมีการใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดในการศึกษาโครงสร้างภายในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต เพื่ออธิบายความสัมพันธ์ระหว่างผลของการปรับเปลี่ยนปัจจัยดังกล่าว มีผลต่อโครงสร้างภายในของโยเกิร์ต และส่งผลต่อลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์อย่างไร โดย Barrantes, Tamine, Sword, Muir and Kalal (1996) ใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดศึกษาโครงสร้างภายใน เพื่อดูความสม่ำเสมอของโครงสร้างที่เป็นรูพรุน รวมถึงลักษณะการเกิดลิ่มของโครงข่ายโปรตีนของ set yoghurt ที่ผลิตจากหางนมผงคืนรูปและมีการเติมน้ำมันพืชทดแทนไขมันนม และ Trachoo and Mistry (1998) ใช้ภาพโครงสร้างภายในที่ได้จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดอธิบายสาเหตุความแตกต่างของลักษณะทางกายภาพในโยเกิร์ตปราศจากไขมันและโยเกิร์ตไขมันต่ำ ที่เตรียมจากน้ำนมที่มีปริมาณส่วนประกอบของแข็งไม่รวมไขมันแตกต่างกัน ซึ่งโยเกิร์ตไขมันต่ำที่มีการปรับเพิ่มปริมาณของแข็งไม่รวมไขมัน จะมีลักษณะเนื้อสัมผัสเนียนเรียบและนุ่ม ในขณะที่โครงสร้างภายในของโยเกิร์ตที่มีการเติมโปรตีนเวย์เข้มข้นชนิดผงจะมีลักษณะโครงสร้างภายในละเอียดที่มีรูพรุนจำนวนมาก และประกอบด้วยโครงข่ายร่างแหสามมิติที่มีลักษณะแน่น จึงส่งผลให้โยเกิร์ตมีลักษณะทางกายภาพดีขึ้น (Puvanenthiran, Williams, and Augustin, 2002) นอกจากนี้โยเกิร์ตที่เตรียมจากน้ำนมที่มีส่วนประกอบของแข็งไม่รวมไขมันแตกต่างกัน และการใช้แบคทีเรียกล้าเชื้อต่างสายพันธุ์กัน จากโครงสร้างภายในของโยเกิร์ตเจลที่ได้จากการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าลักษณะโครงข่ายร่างแหของโปรตีนที่ตกตะกอนเกิดการเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งจะส่งผลต่อความแข็งแรงของเจล และระดับการเกิดการแยกชั้นของน้ำหางนมในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต (Amatayakul, Sherkat and Shah, 2006)

2.3.5 บทบาทของจุลินทรีย์โยเกิร์ตต่อการสร้าง CLA

การศึกษาเกี่ยวกับ CLA ในช่วงแรกพบว่าจุลินทรีย์ที่ใช้สำหรับการผลิตโยเกิร์ตไม่สามารถสร้าง CLA ในผลิตภัณฑ์ได้ หรือได้เล็กน้อยเท่านั้น ดังปรากฏในงานของ Chin et al. (1992) ที่มีการผลิตเพียง 0.71 ไมโครกรัม/กรัมโยเกิร์ต หรือในรายงานของ Shantha et al. (1995) พบว่ามีปริมาณ CLA ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตไขมันต่ำเพียง 1.87 ไมโครกรัม/กรัมโยเกิร์ต และรายงานว่ากรดไขมันลิโนเลอิกที่เติมลงไปเปลี่ยนเป็น CLA ได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น ในขณะที่การศึกษาทดลองล่าสุดของ Lin (2003) โดยศึกษาการผลิต c9,t11-CLA ในโยเกิร์ตปราศจากไขมันชนิด set yoghurt ซึ่งมีการเติมกรดไขมันลิโนเลอิกเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนัก เติมสาร fructooligosaccharides ร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก และ *Lactobacillus acidophius* CCRC14079 และใช้กล้าเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ตที่ประกอบด้วย *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* สำหรับกระบวนการหมัก พบว่า การใช้ กล้าเชื้อผสมอย่างเดียวให้ปริมาณ CLA เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ 2.95 ไมโครกรัม/กรัมโยเกิร์ต สำหรับตัวอย่างที่มีการเติมกรดไขมันลิโนเลอิกอย่างเดียว และ 2.33 ไมโครกรัม/กรัมโยเกิร์ต สำหรับตัวอย่างที่มีการเติมทั้งกรดไขมันลิโนเลอิก และฟรุ๊กโตโอลิโกแซคคาไรด์ (fructooligosaccharides) เปรียบเทียบกับโยเกิร์ตตัวอย่างควบคุมซึ่งมี CLA เพียง 0.93 ไมโครกรัม/กรัมโยเกิร์ต และในโยเกิร์ตที่มีการเติมเฉพาะ fructooligosaccharides มีปริมาณ CLA เพียง 1.18 ไมโครกรัม/กรัมโยเกิร์ต แสดงว่าการเติม fructooligosaccharides มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของ CLA เล็กน้อย และในตัวอย่างที่มีการเติมกรดไขมันลิโนเลอิก พบว่าแบคทีเรียที่ใช้เป็นกล้าเชื้อโยเกิร์ตมีอิทธิพลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณ CLA อย่างมีนัยสำคัญ คือ 1.63 ไมโครกรัม/กรัมโยเกิร์ต เทียบกับโยเกิร์ตที่ไม่มีการเติมกรดไขมันลิโนเลอิกซึ่งมี CLA เพียง 1.10 ไมโครกรัม/กรัมโยเกิร์ต และผลิตภัณฑ์ที่ได้ไม่มีผลต่อการยอมรับที่ผู้บริโภคมีต่อผลิตภัณฑ์ และนอกจากนี้ Alonso et al. (2003) พบว่าสายพันธุ์ของ *Lactobacillus acidophilus* (L1 และ O16) สามารถผลิต CLA ในอาหารที่เตรียมจากน้ำนมปราศจากไขมัน ที่อุณหภูมิการบ่ม 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยแบคทีเรียนี้สามารถผลิต CLA ได้มากถึง 54 และ 117 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรน้ำนมเริ่มต้น สำหรับ *Lactobacillus acidophilus* L1 และ *Lactobacillus acidophilus* O16 ตามลำดับ

บทที่ 3
วัสดุอุปกรณ์และวิธีการ

3.1 การเตรียมแบคทีเรียสำหรับทดสอบ

แบคทีเรียกรดแล็กติก (ศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย) ที่ใช้ในการศึกษาได้แก่ *Streptococcus thermophilus* TISTR894, *Lactobacillus delbreuckii* subsp. *bulgaricus* TISTR895, *Lactobacillus acidophilus* TISTR450, *Lactobacillus acidophilus* TISTR1034, *Lactobacillus acidophilus* TISTR1338 และ *Lactococcus lactis* TISTR1401

กล้าเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ตทางการค้า YC380 (Chr. Hansen Culture Collection, ได้รับอนุเคราะห์จากโครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา, กรุงเทพฯ) เป็นกล้าเชื้อในสภาพแห้งที่พร้อมใช้โดยการละลายให้เซลล์แบคทีเรียกระจายในส่วนผสมสำหรับกระบวนการหมักได้ทันที

3.1.1 การเตรียมแบคทีเรียกรดแล็กติกจากหลอดเชื้อแห้งแข็ง

ทำการเลี้ยงเซลล์แบคทีเรียกรดแล็กติกจากหลอดเก็บเชื้อแบบแห้งให้เจริญในอาหาร MRS ตามรายละเอียดดังนี้

1) ใช้สำลีชุบแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 70 โดยปริมาตร พอหมาดเช็ดรอบ ๆ หลอดบรรจุ จุลินทรีย์ จากนั้นใช้ตะไบสำหรับเลื่อยแก้ว เลื่อยลงบนหลอดบริเวณกึ่งกลางสำลีให้เป็นรอยลึกลงไปในเนื้อแก้ว

2) ใช้ผ้ากลอสที่มีความหนาพอประมาณชุบแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 70 โดยปริมาตร พอหมาดหุ้มหลอด

3) เปิดหลอดจุลินทรีย์โดยทำการหักหลอดจุลินทรีย์บริเวณที่ใช้ตะไบเลื่อยไว้ ซึ่งจะใช้สองมือจับผ้ากลอสที่หุ้มหลอดจุลินทรีย์ไว้ แล้วใช้นิ้วหัวแม่มือกดบริเวณรอยตะไบจนกระทั่งหักออก

4) ดึงปลายหลอดบรรจุจุลินทรีย์และสำลีทิ้งในขวดน้ำยาฆ่าเชื้อ ใช้หลอดแก้วดูดสาร (pasture pipette) ดูดอาหารเหลว MRS ปริมาตรประมาณ 0.3-0.4 มิลลิลิตร ถ่ายลงในหลอดบรรจุจุลินทรีย์เพื่อละลายสารผสมเซลล์จุลินทรีย์ในหลอด

5) ใช้หลอดแก้วดูดสาร ดูดสารละลายผสมเซลล์จุลินทรีย์หยดลงบน MRS agar plate จำนวน 1 หยด ใช้ห่วงเหล็ก (loop) ที่ฆ่าเชื้อเขี่ยกระจายเชื้อ (streak plate) เพื่อให้ได้โคโลนีเดี่ยว ส่วนสารละลายผสมเซลล์จุลินทรีย์ที่เหลือถ่ายลงในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บ่มที่

อุณหภูมิ 30-37 องศาเซลเซียส ใน Anaerobic chamber เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อดูการเจริญเติบโตของแบคทีเรียกรดแล็กติก

6) เลือกโคโลนีที่เป็น Pure culture บันทึกลักษณะโคโลนีและขนาด จากนั้นเพิ่มจำนวนเชื้อโดย Simple streak บน MRS agar plate และบ่มเชื้อให้เจริญบน MRS agar ที่อุณหภูมิ 30-37 องศาเซลเซียส ใน Anaerobic chamber เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

3.1.2 การเตรียมเชื้อกลับคืนเข้า Stock culture

1) ใช้ห่วงเขี่ยเชื้อ เขี่ยโคโลนีเดี่ยวของเชื้อบริสุทธิ์ จำนวน 1 loopful ลงในหลอดอาหารเหลว MRS ปริมาตร 3 มิลลิลิตร

2) บ่มเชื้อให้เจริญในอาหารเหลว MRS ที่อุณหภูมิ 30-37 องศาเซลเซียส ใน Anaerobic chamber เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

3) นำส่วนของเซลล์แบคทีเรียที่เจริญในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร ผสมกับอาหารเหลวที่เตรียมจากหางนมผง (skim milk powder) ร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก ปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร ใน Microcentrifuge tube ขนาดบรรจุ 1.5 มิลลิลิตร

4) รีบเก็บเชื้อนั้นเข้าตู้แช่เย็นแข็งที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ทันที

3.2 การทดสอบความสามารถในการสร้าง conjugated linoleic acid ของแบคทีเรียกรดแล็กติก

ทดสอบความสามารถในการผลิต Conjugated linoleic acid (CLA) ในอาหารเหลว MRS ที่มีการเติมกรดไขมันลิโนเลอิกบริสุทธิ์ดังนี้

1) เตรียมอาหารเหลว MRS ปลอดเชื้อบรรจุในหลอดทดลองขนาด 20 มิลลิลิตร โดยบรรจุอาหารขวดละ 10 มิลลิลิตร

2) เตรียม Stock solution ของกรดไขมันลิโนเลอิกบริสุทธิ์ (Sigma, Sigma Chemical Co., U.S.A) โดยละลายในสารละลาย Tween 80 เข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก ให้ได้ความเข้มข้นที่เมื่อใช้ Stock solution นั้นเติมลงในอาหารเหลวปลอดเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วได้ความเข้มข้นสุดท้ายของกรดไขมันลิโนเลอิก 0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

3) เติมสารละลายกรดไขมันลิโนเลอิก (Stock solution) ลงในอาหารเหลว MRS ปลอดเชื้อปริมาตร 10 มิลลิลิตร ให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายของกรดไขมันลิโนเลอิกเป็น 0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

4) ใช้ห่วงเขี่ยเชื้อ เขี่ยเชื้อบริสุทธิ์ จำนวน 1 loopful ลงในอาหารเหลว MRS ที่มีกรดไขมันลิโนเลอิก 0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

5) บ่มเชื้อให้เจริญในอาหารเหลว MRS ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ใน Anaerobic chamber เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

6) ตรวจวิเคราะห์

6.1) วัดการเจริญของแบคทีเรียโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวช่วงคลื่น 600 นาโนเมตร (A_{600})

6.2) วัดค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ของอาหารที่ผ่านการเลี้ยงเชื้อด้วยเครื่องวัดความเป็นกรดด่าง (pH meter)

6.3) ตรวจวิเคราะห์ CLA เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ โดยการปั่นแยกเซลล์แบคทีเรียออกด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นำสารละลายส่วนใสของอาหารเลี้ยงเชื้อไปสกัดไขมัน และวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณ CLA ดังนี้

นำสารละลายส่วนใสที่ปั่นเหวี่ยงแยกเซลล์แบคทีเรียออกแล้วปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมกับตัวทำละลายอินทรีย์ผสมระหว่างเฮกเซน (hexane) กับเอทิลอะซิเตท (ethyl acetate) อัตราส่วน 9:1 โดยปริมาตร ปริมาตร 10 มิลลิลิตร (Ogawa et al., 2001) เขย่าอย่างแรงผสมให้เข้ากันและนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที ดูดสารละลายใสส่วนบนใส่ในหลอดทดลอง นำไปทำแห้งด้วยแก๊สไนโตรเจน

นำไขมันที่สกัดได้ไปเตรียมให้อยู่ในรูป fatty acid methyl esters (FAME) ด้วยวิธี Combined base – and acid catalyzed methylation method (Yu et al., 2003) เพื่อใช้สำหรับแยกวิเคราะห์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีแบบแก๊ส (Gas chromatography) และตรวจวัดด้วยเครื่อง Flame ionization detector (GC – FID) ใช้ heptadecanoic acid (C17:0) เป็นสารมาตรฐานภายใน และระบุ CLA โดยเปรียบเทียบกับ retention time ของ methylated CLA standard (Sigma Chemical Co. St. Louis, Mo., USA) ดังนี้ เติม heptadecanoic acid (Sigma Chemical Co. St. Louis, Mo., USA) เข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ลงในแต่ละหลอดทดลองที่บรรจุไขมันที่สกัดได้หลังการทดสอบความสามารถสร้าง CLA ของแบคทีเรียกรดแล็กติก เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ในเมทานอลเข้มข้น 0.50 นอร์มาล ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร พ่นด้วยแก๊สไนโตรเจนป้องกันการเกิดออกซิเดชั่น ปิดฝาให้สนิทและเขย่าให้สารผสมกัน ปล่อยให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 นาที แล้วเติมสารมาตรฐานภายใน และสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นร้อยละ 4 โดยปริมาตร ปริมาตร 3 มิลลิลิตร ลงในแต่ละหลอดการทดลอง พ่นด้วยแก๊สไนโตรเจน ปิดฝาให้สนิทและเขย่าให้สารผสมกัน ปล่อยให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที เพื่อเปลี่ยน fatty acid ไปเป็น free fatty acid methyl esters เติมเฮกเซนและน้ำ (1:1 v/v) ปริมาตร 2 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 2,000×g, อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็น

เวลา 5 นาที แยกสารละลายส่วนบน (fatty acid methyl esters in hexane) มากำจัดความชื้นที่เหลือด้วยผลึกโซเดียมซัลเฟต (anhydrous sodium sulfate)

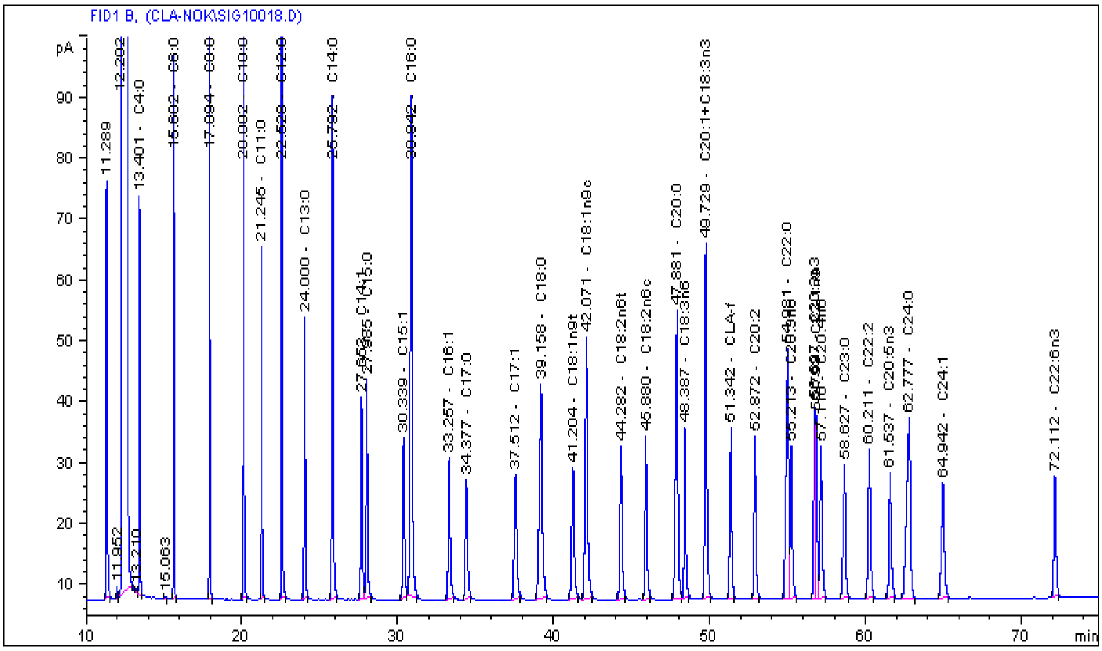
นำสารละลาย fatty acid methyl esters ในเฮกเซนที่เตรียมได้มาวิเคราะห์หาปริมาณ CLA ด้วย เครื่อง Gas chromatography-FID detector (HP6890 gas chromatograph; Hewlett-Packard Co, Rolling Avondale, PA, USA) โดยใช้คอลัมน์ SP2560 (SP2560 cyanopropyl polyslicoxane capillary column, 100m×0.22 mm, 0.2 μm film thickness; Supelco Inc., Bellefonte, PA, USA) ตามสภาวะดังนี้

<u>Carrier</u>: Helium, 18 cm/sec, 1.0 ml/min constant flow

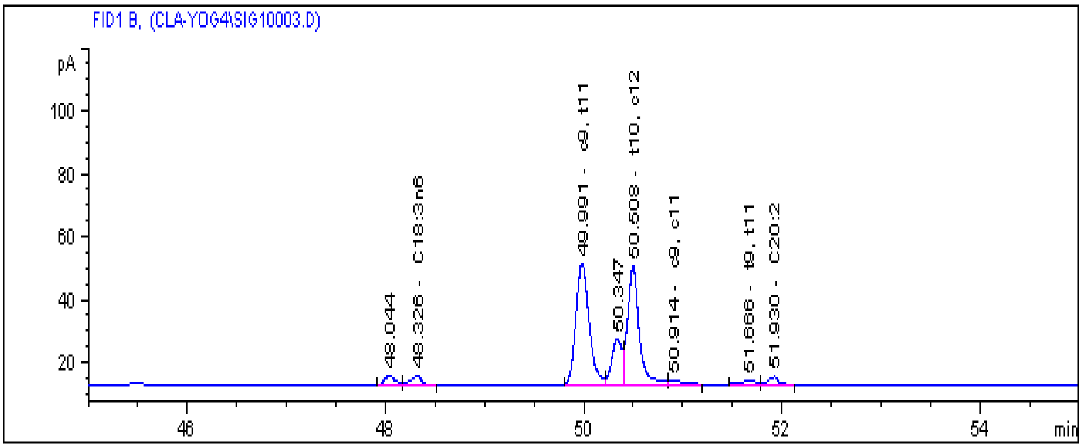
<u>Injection</u>: Split (10:1), 1μl liquid injection, inlet 240°C

<u>Oven</u>: 70°C (4.00 min), to 175°C (27 min) at 13.0°C/min, to 215°C (31 min) at 4.0°C/min

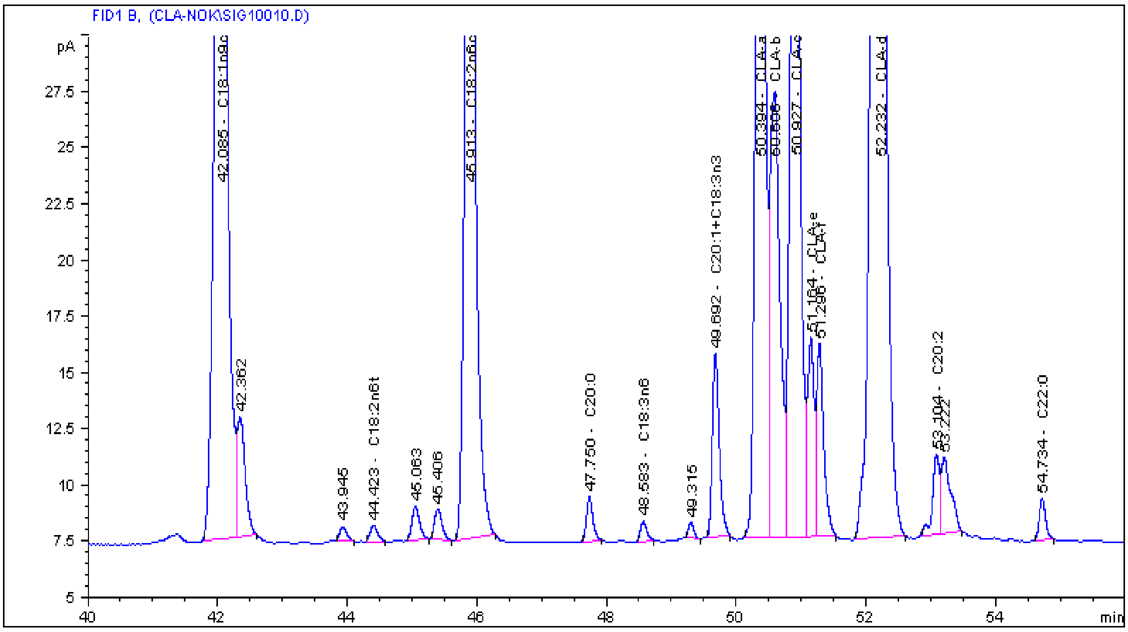
<u>Detector</u>: FID 260°C



ภาพที่ 3.1 โครมาโทแกรมของกรดไขมันมาตรฐานสำหรับการเทียบระยะเวลาการเคลื่อนที่ของสารในตัวอย่างวิเคราะห์



ภาพที่ 3.2 โครมาโทแกรมแสดงระยะเวลาการเคลื่อนที่ของสารมาตรฐาน CLA ที่แยกด้วย SP2560 GC column และตรวจวัดด้วย FID-detector



ภาพที่ 3.3 โครมาโทแกรมแสดงระยะเวลาการเคลื่อนที่ของกรดไขมันในตัวอย่างที่แยกด้วย SP2560 GC column และตรวจวัดด้วย FID-detector

3.3 การผลิตโยเกิร์ต

3.3.1 การเตรียมกล้าเชื้อสด

เตรียมกล้าเชื้อสำหรับใช้ในการผลิตโยเกิร์ต ด้วยวิธีการเลี้ยงแบคทีเรียกรดแล็กติกที่มีความสามารถสูงในการผลิต CLA ในอาหารเหลวซึ่งมีส่วนผสมเดียวกันกับส่วนผสมสำหรับผลิตโยเกิร์ต แยกเลี้ยงแบคทีเรียกรดแล็กติกให้เจริญที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จนกระทั่งมีอายุถึงช่วงสุดท้ายของ log phase สำหรับใช้ร่วมกับจุลินทรีย์โยเกิร์ต

3.3.2 การเตรียมน้ำนมเพื่อการผลิตโยเกิร์ต

เตรียมองค์ประกอบน้ำนมซึ่งจะใช้เพื่อผลิต set yoghurt (yoghurt mixed) โดยปรับส่วนประกอบน้ำนมให้มีปริมาณไขมันนมร้อยละ 3.50 โดยน้ำหนัก ด้วยครีม (cream) และมีปริมาณของแข็งไม่รวมไขมันร้อยละ 12 โดยน้ำหนัก ด้วยหางนมผง (skim milk powder) ผสมให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกันที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส โฮโมจิไนซ์ส่วนผสมที่ 10 MPa ให้ความร้อนที่ระดับอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที และลดอุณหภูมิลงที่ 37 องศาเซลเซียส แบ่งน้ำนมที่เตรียมได้เป็น 4 ส่วน สำหรับการผลิต set yoghurt จำนวน 4 ตัวอย่างทดลอง

3.3.3 การผสมกล้าเชื้อและกระบวนการหมัก

ใช้จุลินทรีย์โยเกิร์ตทางการค้า YC380 ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ผสมระหว่าง *S. thermophilus* และ *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ในอัตราส่วน 1:1 เป็นกล้าเชื้อเริ่มต้น (starter culture) โดยใช้กล้าเชื้อเริ่มต้นที่ประมาณ 10^7 โคโลนี/กรัมส่วนผสมเริ่มต้น สำหรับตัวอย่างควบคุม (ตัวอย่างที่ 1) และผสมแบคทีเรียกรดแล็กติกที่เตรียมไว้ในข้อ 3.3.1 กับกล้าเชื้อทางการค้าเพื่อทดสอบการส่งเสริมการสร้าง CLA ของกล้าเชื้อผสมในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตสำหรับตัวอย่างที่ 2 (YC380-TISTR1338) ตัวอย่างที่ 3 (YC380-TISTR1401) และตัวอย่างที่ 4 (YC380-TISTR1338/1401) ดังนี้

ตัวอย่างที่ 1: YC380 (*S. thermophilus* และ *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (1:1)) = 1×10^7cfu/ml of yoghurt mixed

ตัวอย่างที่ 2: YC380 = 1×10^7cfu/ml และ *Lb. acidophilus* TISTR1338 = 5×10^6cfu/ml

ตัวอย่างที่ 3: YC380 = 1×10^7cfu/ml และ *Lactococcus lactis* TISTR1401 = 5×10^6cfu/ml

ตัวอย่างที่ 4: YC-380 = 1×10^{7}cfu/ml, และ *Lb. acidophilus* TISTR1338 =

5×10^{6}cfu/ml และ *Lc. lactis* TISTR1401 = 5×10^{6}cfu/ml

เติมกล้าเชื้อ YC380, YC380-TISTR1338, YC380-TISTR1401 และ YC380-TISTR1338/1401 ลงในส่วนผสมน้ำนมที่เตรียมไว้ (yoghurt mixed) ซึ่งแบ่งเป็น 4 ส่วน สำหรับแต่ละกล้าเชื้อดังกล่าว กวนผสมกล้าเชื้อและน้ำนมให้เข้ากัน จากนั้นบรรจุลงถ้วยพลาสติกขนาด 100 มิลลิลิตร สำหรับการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณ CLA คุณภาพทางเคมี คุณสมบัติทางกายภาพ โครงสร้างภายใน และคุณภาพทางประสาทสัมผัส ส่วนตัวอย่างสำหรับการทดสอบลักษณะเนื้อสัมผัสบรรจุในถ้วยพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ปิดฝาให้สนิทแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จนกระทั่งมีค่าความเป็นกรดด่างสุดท้ายเป็น 4.50 หลังสิ้นสุดกระบวนบ่มเก็บตัวอย่างที่ได้ไว้ในตู้เย็นอุณหภูมิ 4-5 องศาเซลเซียส

3.4 การวางแผนการทดลอง

ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Block Design: CRBD) ในการวางแผนการทดลองเพื่อทดสอบความสามารถในการสร้าง CLA ของแบคทีเรียกรดแล็กติก *Lactobacillus acidophilus* และ *Lactococcus lactis* และการวางแผนการทดลองเพื่อผสมแบคทีเรียกรดแล็กติกสำหรับใช้ในการผลิตโยเกิร์ตร่วมกับ *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ในการผลิตผลิตนมดังกล่าว

ทำการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Variance) เปรียบเทียบความแตกต่างของชนิดและปริมาณ CLA คุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการผลิตโยเกิร์ตซึ่งใช้อุณหภูมิการหมักบ่ม และชนิดแบคทีเรียกรดแล็กติกที่แตกต่างกันโดยวิธี Duncan’s New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

3.5 การวิเคราะห์ปริมาณและชนิด CLA ก่อนและหลังกระบวนการหมัก

3.5.1 การสกัดไขมัน (lipid extraction)

สกัดไขมันจากตัวอย่างโยเกิร์ตตามวิธีที่ดัดแปลงโดย Choi et al. (2005) โดยผสมตัวอย่างโยเกิร์ตกับตัวทำละลายอินทรีย์ เฮกเซน (hexane) ไอโซโปรพานอล (isopropanol) และอะซีโตน (acetone) อัตราส่วน 1:3:1 โดยปริมาตร ผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 1,000×g เป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส แยกส่วนใสชั้นบน

(solvent layer) ออกมาบรรจุในหลอดทดลอง ทำให้แห้งด้วยแก๊สไนโตรเจนและปิดหลอดทดลองให้แน่น เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สำหรับกระบวนการเตรียมขั้นต่อไป

3.5.2 การเปลี่ยนกรดไขมันให้อยู่ในรูป fatty acid methylesters (methylation) (Yu et al., 2003)

เปลี่ยนกรดไขมันให้อยู่ในรูป fatty acid methylesters สำหรับการแยกวิเคราะห์ด้วยเครื่อง GC-FID ด้วยวิธี Combined base-and acid-catalyzed methylation method ตามวิธีการดังรายละเอียดที่ปรากฏในข้อ 3.2

3.5.3 การวิเคราะห์ปริมาณและคุณภาพของกรดไขมัน CLA

วิเคราะห์ปริมาณและคุณภาพของกรดไขมัน CLA ในน้ำนมที่เตรียมสำหรับผลิตโยเกิร์ตและในผลิตภัณฑ์หลังการหมักโดยใช้เครื่อง Gas chromatography – FID detector ใช้วิธีเติมสารมาตรฐานภายใน (internal standard addition) เพื่อวิเคราะห์ปริมาณ CLA และระบุชนิดของ CLA isomer โดยเปรียบเทียบกับ retention time ของ methylated CLA standard วิธีการวิเคราะห์และสภาวะการทำงานของเครื่องดังรายละเอียดที่ปรากฏในข้อ 3.2

3.6 การทดสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์

3.6.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

3.6.1.1 การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด (Titratable acidity, TA) ตามวิธีที่ระบุใน AOAC (AOAC, 2000)

3.6.1.2 การวิเคราะห์ปริมาณ Total solids และความชื้น (Moisture) ตามวิธีที่ระบุใน AOAC (AOAC, 2000)

3.6.1.3 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (Total nitrogen) ตามวิธีที่ระบุใน AOAC (AOAC, 2000)

3.6.1.4 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (Fat) ตามวิธีที่ระบุใน AOAC (AOAC, 2000)

3.6.2 การทดสอบคุณภาพทางกายภาพ (physical properties)

3.6.2.1 การทดสอบค่าความเป็นกรดด่าง (pH) โดยใช้เครื่อง pH meter (MP 220 pH Meter, Mettler-Toledo GmbH, CH-8603 Schwerzenbach, Switzerland) หลังจากการปรับเทียบกับสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน pH 4.01 และ 7.00 ตามลำดับ ตามวิธีของ Dave และ Shah (1998) ซึ่งวัดค่า pH ของตัวอย่างโยเกิร์ตที่อุณหภูมิ 17-20 องศาเซลเซียส

3.6.2.2 การหาดัชนีการแยกชั้นของน้ำหางนม (Syneresis) (Keogh and O' Kennedy, 1998)

1) ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของตัวอย่างประมาณ 30-40 กรัม ใส่ในหลอดปั่นเหวี่ยง

2) นำตัวอย่างที่ชั่งไว้ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 220×g เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

3) ใช้หลอดดูด ดูดของเหลวใสส่วนบน (clear supernatant) ออกจากตะกอนโยเกิร์ต และวัดปริมาตรของเหลวใสที่ได้ คำนวณค่า Syneresis จากสูตร

$$\text{Syneresis (\%v/w)} = \frac{\text{Volume of the clear supernatant}}{\text{Original weight of the sample}} \times 100$$

3.6.2.3 การหาค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity: WHC) (Parnell-Clunies et al., 1986)

1) ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของตัวอย่างประมาณ 2 กรัม ใส่ในหลอดปั่นเหวี่ยง

2) นำตัวอย่างที่ชั่งไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 13,000×g เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

3) เทของเหลวใสส่วนบนออก และชั่งน้ำหนักตะกอนโปรตีน (Pellet) ที่เหลือ คำนวณค่าความสามารถในการอุ้มน้ำจากสูตร

$$\text{WHC (\%w/w)} = \frac{\text{Pellet weight}}{\text{Original weight of the sample}} \times 100$$

3.6.2.4 การวัดสี

การเปรียบเทียบค่าสีของผลิตภัณฑ์โยกิร์ต โดยใช้หลักการสะท้อนแสงด้วยเครื่องวัดสี CR-300 MINOLTA (Minolta camera Co.,Ltd., Osaka, Japan) รายงานผลในหน่วยของสีตามระบบของฮันเตอร์ (Hunter Color System) เป็นค่า L a b แหล่งแสงที่ใช้เป็นแบบ Daylight (D65) ก่อนทำการวัดหุ้มหัววัดด้วย Film wrap (บริษัท เอ็ม เอ็ม พีแพ็คเกจจิ้งกรุ๊พ จำกัด กรุงเทพฯ) โดยไม่ให้เกิดรอยย่นที่แผ่นฟิล์ม และทำการปรับเทียบมาตรฐาน (Calibrate) หัววัดที่หุ้มด้วยฟิล์มกับแผ่นเทียบสีก่อนทำการวัดครั้งแรก ทำการวัดจำนวน 3 ถ้วยต่อโยเกิร์ตแต่ละตัวอย่าง

ระบบสีของฮันเตอร์ประกอบด้วยตัวแปรของสี 3 ตัว คือ L, a, b ซึ่งมีความหมายดังนี้

L คือ ความสว่างของสีซึ่งมีค่าจาก 0 คือสีดำ ถึง 100 คือสีขาว

a คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเขียวและสีแดง ที่อยู่ในตัวอย่าง โดยค่า a+ แสดงถึงความเป็นสีแดง ค่า a- แสดงความเป็นสีเขียว

b คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเหลืองและสีน้ำเงิน โดยค่า b+ แสดงความเป็นสีเหลือง และค่า b- แสดงถึงความเป็นสีน้ำเงิน

3.6.3 การทดสอบคุณสมบัติลักษณะเนื้อสัมผัส (textural properties)

ทดสอบคุณสมบัติทางลักษณะเนื้อสัมผัสทำโดยใช้เครื่อง TA-XT2 (Texture analyzer; Texture Technologies Crop., Scardals, NY) โดยการทดสอบแรงตึงที่ผิวหน้า (Curd tension) และความแน่นเนื้อ (Firmness) ตามวิธีการทดสอบของ Mohamed and Morris อ้างใน Hassan et al. (1996)

1) นำตัวอย่าง set yoghurt ซึ่งบรรจุในถ้วยพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ออกจากตู้เย็นควบคุมอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ที่ใช้เก็บตัวอย่าง

2) ทำการวัดค่า Curd tension และ Firmness ทันที ด้วยเครื่อง TA-XT2 โดยกำหนดการทำงานของเครื่องดังนี้

Mode	: Measure Force in Compression
Option	: Return to start
Pre-Test Speed	: -
Test Speed	: 1 mm / s
Penetration depth	: 35 mm
Distance	: 20 mm
Trigger Type	: 10 g
Accessory	: Flat-ended cylinder (type P/20)

พีคแรกของกราฟ คือ ค่าของ Curd tension ซึ่งแสดงถึงค่าแรกของแรงตกกระทบระหว่างการทะลุผ่านเนื้อเจลของ set yoghurt

ความแน่นเนื้อ (Firmness) หมายถึง ค่าแรงสูงสุดเฉลี่ย ที่เกิดขึ้นระหว่างการทะลุผ่านเนื้อเจลของ set yoghurt ด้วยระยะ 3.5 เซนติเมตร

3.6.4 การวิเคราะห์โครงสร้างภายใน (Microstructure)

ศึกษาโครงสร้างภายในของโยเกิร์ต (set yoghurt) ที่ผลผลิตสุดท้ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope) ประกอบด้วย 3 ขั้นตอนหลักดังนี้

3.6.4.1 การเตรียมตัวอย่างโยเกิร์ตสำหรับการศึกษาโครงสร้างภายในตามวิธีของ Puvenenthiran et al. (2002) โดย

1) ตัดตัวอย่าง set yoghurt ให้มีขนาดประมาณ 3 มม. × 3 มม. × 1 มม. แล้วแช่ในสารละลาย glutelraldehyde เข้มข้นร้อยละ 2.5 โดยปริมาตร เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เพื่อคงสภาพธรรมชาติเดิมของตัวอย่าง และล้างตัวอย่าง 3 ครั้ง ด้วยสารละลายฟอสเฟตบับเฟอร์เข้มข้น 0.1 นอร์มอล

2) นำตัวอย่างไปแช่ในสารละลาย osmium tretoxide เข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และล้างตัวอย่าง 3 ครั้ง ด้วยสารละลายบับเฟอร์ชนิดเดียวกันกับครั้งแรก

3) นำตัวอย่างไปผ่านกระบวนการดึงน้ำออกจากโครงสร้างโดยการแทนที่ด้วยสารละลายเอทานอลระดับความเข้มข้นต่าง ๆ คือ ความเข้มข้นร้อยละ 20 40 60 70 และ 90 โดยปริมาตร ความเข้มข้นละ 1 ครั้ง ครั้งละ 15 นาที และแทนที่ด้วยเอทานอลบริสุทธ์ จำนวน 2 ครั้ง ครั้งละ 30 นาที

4) นำไปทำแห้งด้วยเครื่อง Critical Point Dryer และนำตัวอย่างที่ผ่านการทำแห้งแล้วติดบนแท่นติดตัวอย่าง (aluminum stub) เก็บไว้ในตู้ควบคุมความชื้นรอการวิเคราะห์ขั้นต่อไป

3.6.4.2 การเคลือบพื้นผิวตัวอย่างด้วยไอออนทองคำ

1) นำแท่นติดตัวอย่างมาติดบน stub holder และใส่ stub holder ไว้ในเครื่องสำหรับการฉาบไอออนทองคำ

2) ฉาบไอออนทองคำด้วยเครื่อง Ion sputtering (Ion Sputtering Device JFC – 110E, JEOl, Japan) โดยตั้งเวลาในการเคลือบ 4 นาที และใช้กระแสไฟฟ้า 10 มิลลิแอมแปร์

3) เมื่อครบเวลาการเคลือบนำตัวอย่างออกจากเครื่องฉาบไอออนทองคำ เพื่อนำไปศึกษาโครงสร้างด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด

3.6.4.3 การศึกษาโครงสร้างภายในด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

1) วาง stub ตัวอย่างที่ผ่านการเคลือบไอออนทองคำใน specimen holder และใส่เข้าไปในห้องใส่ตัวอย่างภายในคอลัมน์ของกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด

2) ศึกษาโครงสร้างภายในของ set yoghurt ตัวอย่างละ 2 ชิ้น ที่กำลังขยายช่วง 500-12,000 เท่า โดยกำหนดค่าศักย์ไฟฟ้าที่ให้แก่แหล่งกำเนิดอิเล็กตรอนเป็น 10 กิโลโวลต์

3) บันทึกภาพขยายโครงสร้างภายในของตัวอย่างที่กำลังขยาย 1,500 3,000 และ 10,000 เท่า ชิ้นตัวอย่างละ 3 บริเวณ

4) เปรียบเทียบโครงสร้างภายในของ set yoghurt ที่ผลิตโดยใช้กล้าเชื้อผสมกับผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ผลิตโดยใช้กล้าเชื้อทางการค้า

3.6.5 การทดสอบคุณภาพด้านประสาทสัมผัส (Sensory test)

ทำการทดสอบเพื่อประเมินคุณภาพด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต ตามวิธีที่ดัดแปลงจาก Folkenberg et al. (2006) ดังนี้

ทำการฝึกและคัดเลือกผู้ประเมินคุณภาพ (Panelist Training and Screening) จำนวน 11 คน ซึ่งทั้งหมดเป็นผู้ที่มีประสบการณ์การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสมาก่อน และทำการฝึก 3 ครั้ง ในระหว่างการประชุมการฝึกผู้ประเมินเป็นการฝึกเพื่อหาคุณลักษณะ (attributes) กำหนดคุณลักษณะกลิ่น และกลิ่นรสต่าง ๆ ของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตพอสังเขป คือ ลักษณะปรากฏ (surface shine, gel firmness, whey syneresis, smoothness) กลิ่น (sour, milky, acetaldehyde, off-flavor) กลิ่นรส (sweet, sour, bitter, tart) ความรู้สึกรับรู้ภายหลังการกลืน (mouth coating, chalkiness, bitter, tart) จากนั้นฝึกให้ผู้ประเมินคุ้นเคย กับคุณลักษณะด้านกลิ่น กลิ่นรส และคุณลักษณะทางเนื้อสัมผัสที่ได้จากการฝึกครั้งที่ 1 และจาก Folkenberg et al. (2006) ซึ่งจะใช้โยเกิร์ตจำนวน 6 ตัวอย่าง เป็นตัวแทนที่ให้คุณลักษณะระดับสูง (extreme properties) ในการทดสอบผู้ประเมิน และบรรยายลักษณะที่แตกต่างกันระหว่างตัวอย่าง รวมถึงความหมาย และคำจำกัดความของคุณลักษณะให้ผู้ทดสอบเข้าใจตรงกัน ดังภาคผนวก ข

ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต โดยการให้คะแนนบนเส้นคะแนนที่มีความยาว 10 เซนติเมตร ซึ่งมีช่วงคะแนนเท่ากับ 0-10 (แผ่นคะแนนในภาคผนวก ข) ผู้ทำการประเมินจะได้รับตัวอย่างโยเกิร์ตซึ่งติดรหัสเป็นตัวเลข 3 หลัก คนละ 4 ตัวอย่าง แต่ละตัวอย่างบรรจุอยู่ในถ้วยพลาสติกปิดฝา ขนาด 100 มิลลิลิตร และควบคุมอุณหภูมิที่ประมาณ 13 องศาเซลเซียส ก่อนการเสิร์ฟ

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

4.1 ผลการทดสอบความสามารถในการสร้าง conjugated linoleic acid ของแบคทีเรียกรดแล็กติก

เมื่อทำการทดสอบความสามารถในการสร้าง conjugated linoleic acid ของแบคทีเรียกรดแล็กติกจำนวน 6 สายพันธุ์ ในอาหารเหลว MRS broth ที่เติมกรดไขมันลิโนเลอิกความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เป็นสารตั้งต้น และบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นแยกสกัดไขมันในอาหารเหลวที่เลี้ยงแบคทีเรียกรดแล็กติกนี้ และนำไปวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณ CLA พบว่า ปริมาณ CLA มีการเพิ่มขึ้นในปริมาณที่แตกต่างกันในแต่ละตัวอย่างทดลอง ดังตารางที่ 1 โดยแบคทีเรียกรดแล็กติกสายพันธุ์ที่สามารถสร้าง CLA และให้ปริมาณ CLA สูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) 2 อันดับแรก ในอาหารเหลว MRS broth ที่เติมกรดไขมันลิโนเลอิก คือ แบคทีเรียกรดแล็กติก *Streptococcus thermophilus* TISTR894 และ *Lactobacillus acidoplilus* TISTR1338 ให้ปริมาณ CLA ทั้งหมดเป็น 32.72 และ 23.33 ไมโครกรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ ส่วนแบคทีเรียกรดแล็กติกที่สามารถสร้าง CLA ได้น้อยที่สุด คือ *Lb. acidoplilus* TISTR1034 ให้ปริมาณ CLA ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพียง 7.89 ไมโครกรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 10 มิลลิลิตร ในขณะที่แบคทีเรียกรดแล็กติก *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* TISTR892 *Lb. acidoplilus* TISTR450 และ *Lactococcus lactis* TISTR1401 ให้ปริมาณ CLA ทั้งหมดในอาหารเลี้ยงเชื้อไม่แตกต่างกันทางสถิติ และมีปริมาณค่อนข้างสูง คือ 18.52 11.48 และ 19.05 ไมโครกรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ มีรายงานถึงความสามารถในการสร้าง CLA ของแบคทีเรียกรดแล็กติก โดย Jaing et al. (1998), Lin et al. (1999), Pariza and Yang (1999, 2000), Ogawa et al. (2001), Ham et al. (2002), Kim and Liu (2002), Kishino et al. (2002b), Coakley et al. (2003) และ Alonso et al. (2003) พบว่า หลายสายพันธุ์ของแบคทีเรียกรดแล็กติกในกลุ่ม lactococci, lactobacilli และ streptococci สามารถเปลี่ยนโครงสร้างกรดไขมันไม่อิ่มตัวโซ่ยาว (C_{18}) ในอาหารที่เตรียมเฉพาะ และในน้ำนมไขมันเต็มหรืออาหารเหลวที่เตรียมจากหางนม (skim milk medium) ให้อยู่ในรูปไอโซเมอร์ CLA ได้ เมื่อมีปัจจัยการเจริญที่เหมาะสม

ตารางที่ 4.1 ปริมาณ CLA ในอาหารเหลว MRS broth ที่ใช้ในการทดสอบการสร้าง CLA ของแบคทีเรียกรดแล็กติก

แบคทีเรียกรดแล็กติก	pH	จำนวนเชื้อ logCFU/ml	Concentration µg/10ml culture medium				
			c9,t11	t10,c12	c10,c1	t9,t11	TotalCLA
Lb. delbrueckii subsp. *bulgaricus* TISTR892	5.38	8.10	4.88	4.58	0.79	8.27	18.52 ± 3.39^{bc}
S. thermophilus TISTR894	4.63	9.21	10.45	4.30	5.52	12.46	32.72 ± 6.48^{a}
Lb. acidoplilus TISTR450	5.50	8.06	3.39	2.92	0.53	4.46	11.48 ± 0.37^{bc}
Lb. acidoplilus TISTR1034	5.85	7.84	2.24	0.00	2.13	3.52	7.89 ± 1.45^{c}
Lb. acidoplilus TISTR1338	4.22	9.05	4.25	2.39	10.10	6.59	23.33 ± 11.76^{ab}
Lc. lactis TISTR1401	4.39	9.47	3.89	3.48	5.98	5.69	19.05 ± 5.17^{bc}

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งแสดงถึงค่าวิเคราะห์ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$) วิเคราะห์โดยโปรแกรมสถิติ SAS

เมื่อพิจารณาค่าความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ และจำนวนแบคทีเรียภายหลังการบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า แบคทีเรียกรดแล็กติก TISTR1034 นี้มีการเจริญเติบโตน้อยที่สุด (7.84 Log CFU/ml) และอาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าความเป็นกรดด่างสูงสุด (5.85) ในขณะที่แบคทีเรียสายพันธุ์ที่ให้ CLA ปริมาณสูงมีจำนวนเซลล์สูงถึง 9.05-9.47 Log CFU/ml และอาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าความเป็นกรดด่างลดต่ำลงที่ระดับ 4.22-4.63 แสดงว่า แบคทีเรียกรดแล็กติก TISTR1034 มีความสามารถเจริญได้น้อยในสภาวะการทดลองนี้ ซึ่งอาจเกิดจากการเติมกรดไขมันลิโนเลอิกในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อเป็นสารตั้งต้นในการสร้าง CLA มีผลรบกวนการเจริญเติบโตและรบกวนกิจกรรมการหมักของแบคทีเรียนี้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Lin et al. (1999b) ซึ่งพบว่า เมื่อเลี้ยงแบคทีเรียกรดแล็กติกในอาหาร skim milk medium ที่มีการเติมกรดไขมันลิโนเลอิกระดับความเข้มข้นสูง แสดงผลในการยับยั้งกิจกรรมการเจริญของเซลล์ และ Kim and Liu (2002) พบว่ากิจกรรมการเจริญของแบคทีเรียกรดแล็กติกในอาหารเหลว MRS ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อมีการเติมน้ำมันเมล็ดทานตะวันในอาหารเหลว นอกจากนี้ยังมีรายงานว่ากรดไขมันโซ่ยาวในกลุ่มที่ประกอบด้วยคาร์บอน 16-18 อะตอม แสดงสมบัติในการยับยั้งกิจกรรมการเจริญของเซลล์แบคทีเรีย (Isaace and Lampe อ้างถึงใน Naidu, 2000)

จากผลการทดสอบการสร้าง CLA แม้ว่าแบคทีเรียกรดแล็กติก TISTR894 สามารถสร้าง CLA ในระบบอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทดสอบได้สูงสุด แต่เมื่อนำแบคทีเรียดังกล่าวมาใช้ในการผลิตโยเกิร์ตร่วมกับกล้าเชื้อทางการค้าในการทดลองเบื้องต้น พบว่าผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ได้จากกระบวนการหมักด้วยกล้าเชื้อที่มีแบคทีเรียกรดแล็กติก TISTR894 ร่วมด้วย มีลักษณะทางกายภาพ กลิ่นรส และลักษณะทางด้านประสาทสัมผัสไม่เป็นที่ยอมรับ คือ มีเนื้อเจลหยาบ ผิวหน้าโยเกิร์ตขรุขระ ขอบเจลหด มีการขับน้ำหางนมปริมาณมาก มีรสขม และมีกลิ่นผิดปกติ ดังนั้นจึงไม่เลือกใช้แบคทีเรียดังกล่าวในการศึกษาทดลองเพื่อเพิ่มปริมาณ CLA ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต

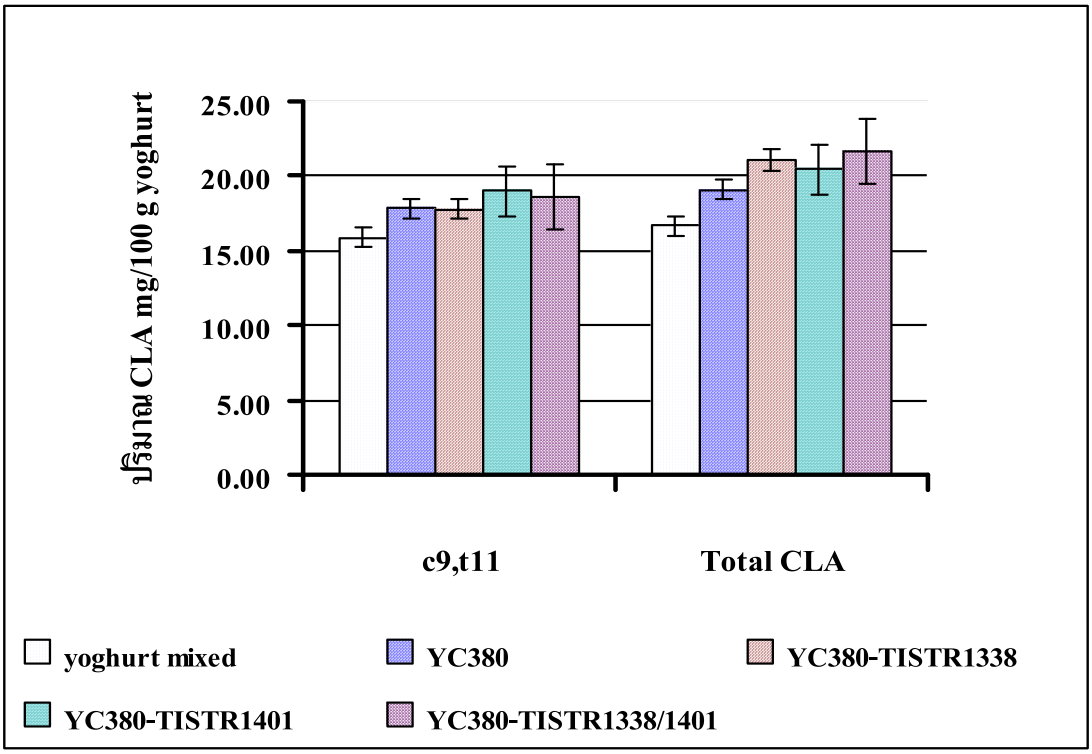
4.2 ผลการวิเคราะห์ปริมาณและชนิดของ conjugated linoleic acid ก่อนและหลังกระบวนการหมัก

เมื่อนำแบคทีเรียกรดแล็กติกที่สามารถสร้าง CLA จากการทดสอบใช้กรดไขมันลิโนเลอิกเป็นสารตั้งต้นได้ปริมาณสูง คือ แบคทีเรียกรดแล็กติก *Lb. acidoplilus* TISTR1338 และ *Lc. lactis* TISTR1401 มาใช้เป็นกล้าเชื้อในการผลิตโยเกิร์ตชนิด set yoghurt ร่วมกับกล้าเชื้อทางการค้า YC380 เนื่องจากมีรายงานว่า ช่วงอายุของเซลล์แบคทีเรียที่มีการสร้าง CLA ได้ดีคือช่วง growth phase (Kim and Liu, 2002) ดังนั้นจึงเตรียมแบคทีเรียกรดแล็กติกให้มีอายุช่วงท้ายของ log phase คือ 10 ถึง 12 ชั่วโมง สำหรับผสมกับกล้าเชื้อทางการค้าเพื่อการผลิตโยเกิร์ต

ตารางที่ 4.2 ค่าเฉลี่ยปริมาณ CLA และไอโซเมอร์ของ CLAในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต ก่อนและหลังกระบวนการหมัก

ตัวอย่างทดลอง	pH	ปริมาณ CLA (mg/100 g yoghurt)				
		c9,t11	t10,c12	c9,c11	t9,t11	Total CLA
Yoghurt mixed (yoghurt milk base)	6.67	15.85	0.58	0.00	0.27	16.69 ± 0.66^{b}
YC380	4.44	17.82	0.77	0.30	0.16	19.05 ± 0.66^{ab}
YC380-TISTR1338	4.44	17.77	0.60	1.04	1.65	21.05 ± 0.69^{a}
YC380-TISTR1401	4.37	19.00	0.58	0.36	0.52	20.46 ± 1.65^{a}
YC380-TISTR1338/1401	4.44	18.60	0.60	0.49	1.97	21.66 ± 2.12^{a}

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งแสดงถึงค่าวิเคราะห์ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$) วิเคราะห์โดยโปรแกรมสถิติ SAS



ภาพที่ 4.1 ปริมาณ CLA ทั้งหมด และไอโซเมอร์ c9,t11 CLA ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต (set yoghurt) ที่ผลิตด้วยกล้าเชื้อผสมแบคทีเรียกรดแล็กติกที่สร้าง CLA YC380-TISTR1338, YC380-TISTR1401 และ YC380-TISTR1338/1401 เปรียบเทียบกับโยเกิร์ตที่ผลิต ด้วยกล้าเชื้อทางการค้า YC380

เมื่อวิเคราะห์ปริมาณ CLA ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตเปรียบเทียบกับในส่วนผสมโยเกิร์ตเริ่มต้น พบว่า การผสมแบคทีเรียกรดแล็กติกร่วมกับกล้าเชื้อทางการค้า มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณ CLA ทั้งหมดในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.2 และภาพที่ 4.1 จากตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.1 ปริมาณ CLA ทั้งหมดในส่วนผสมโยเกิร์ตเริ่มต้นก่อนกระบวนการหมักมีค่า 16.69 มิลลิกรัมต่อตัวอย่าง 100 กรัม ภายหลังกระบวนการหมัก พบว่า ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ผลิตด้วยกล้าเชื้อที่มีการผสมแบคทีเรียกรดแล็กติกที่สร้าง CLA มีค่าเฉลี่ย CLA ทั้งหมดต่อตัวอย่าง 100 กรัมในปริมาณสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) คือ 21.05 20.46 และ 21.60 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง ซึ่งมีการเพิ่มขึ้นของปริมาณ CLA คิดเป็นร้อยละ 26 23 และ 30 สำหรับผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ผลิตด้วยกล้าเชื้อที่มีการผสมแบคทีเรียกรดแล็กติก TISTR1338 TISTR1401 และ TISTR1338 ร่วมกับ TISTR1401 ตามลำดับ ในขณะที่ตัวอย่างโยเกิร์ตที่ผลิตโดยใช้เฉพาะกล้าเชื้อทางการค้า มีปริมาณ CLA ทั้งหมดสูงกว่าปริมาณ CLA ทั้งหมดในส่วนผสมโยเกิร์ตเริ่มต้นเล็กน้อย ($P<0.05$) คือ 19.05 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง เมื่อ

พิจารณาค่าเฉลี่ยปริมาณ CLA แต่ละไอโซเมอร์ พบว่า c9,t11 CLA ซึ่งเป็นโครงสร้างที่มีบทบาทและความสำคัญต่อการยับยั้งการเกิดเนื้องอก ต้านการเกิดมะเร็งเต้านมและมะเร็งลำไส้ใหญ่ มีสัดส่วนปริมาณมากที่สุดในทุกตัวอย่างทดลอง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Lin et al. (2002) ที่ใช้เอนไซม์ที่แยกจาก *Lactobacillus acidophilus* และ *Propionibacterium freudenrechii* ssp. *shermanii* ทำปฏิกิริยากับกรดไขมันลิโนเลอิก และพบว่าโครงสร้างไอโซเมอร์ที่พบมาก คือ trans-10, cis-12 และ cis-11, trans-13 รวมทั้ง cis-9, trans-11 isomer ด้วย

4.3 ผลการทดสอบคุณภาพผลิตภัณฑ์

เมื่อนำผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ได้จากการผลิต โดยใช้กล้าเชื้อผสมระหว่างแบคทีเรียกรดแล็กติกที่สร้าง CLA และกล้าเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ตทางการค้ามาทดสอบคุณภาพ โดยการศึกษาองค์ประกอบทางเคมี คุณลักษณะทางกายภาพ คุณลักษณะเนื้อสัมผัส ลักษณะโครงสร้างภายใน และคุณภาพทางประสาทสัมผัส เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ผลิตด้วยกล้าเชื้อทางการค้า ได้ผลดังภาพที่ 4.2-4.6 และตารางที่ 4.2-4.7

4.3.1 องค์ประกอบทางเคมี

องค์ประกอบทางเคมีของส่วนผสมโยเกิร์ตเริ่มต้นและของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตแต่ละตัวอย่างทดลอง ที่ทำการศึกษาเปรียบเทียบ ได้แก่ ปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน ปริมาณของแข็งทั้งหมด ปริมาณความชื้น และปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดแล็กติก แสดงในตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.3 ซึ่งพบว่า ปริมาณโปรตีนของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตและในส่วนผสมโยเกิร์ตเริ่มต้นมีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) ยกเว้นโยเกิร์ต TISTR1338/1401 ที่พบว่ามีส่วนประกอบโปรตีนต่ำสุด คือ ร้อยละ 4.19 โดยน้ำหนัก ในขณะที่ตัวอย่างโยเกิร์ตอื่น ๆ มีปริมาณโปรตีนร้อยละ 4.21-4.23 โดยน้ำหนัก ดังตาราง 4.3 ส่วนปริมาณไขมันในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตทั้ง 4 ตัวอย่าง และในส่วนผสมโยเกิร์ตเริ่มต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) โดยในส่วนผสมโยเกิร์ตเริ่มต้นมีปริมาณไขมันร้อยละ 3.64 โดยน้ำหนัก และในตัวอย่างโยเกิร์ตทั้ง 4 ตัวอย่าง มีปริมาณไขมันร้อยละ 3.60 โดยน้ำหนัก (ตารางที่ 4.3) ในขณะที่ปริมาณส่วนประกอบที่เป็นของแข็งทั้งหมดในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตทั้ง 4 ตัวอย่าง และในส่วนผสมโยเกิร์ตเริ่มต้น ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) โดยองค์ประกอบแข็งทั้งหมดมีปริมาณร้อยละ 14.73-14.87 โดยน้ำหนัก ซึ่งมีค่าน้อยกว่าปริมาณองค์ประกอบของแข็งทั้งหมดในส่วนผสมโยเกิร์ตเริ่มต้น (ร้อยละ 15.49 โดยน้ำหนัก) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ก

ข

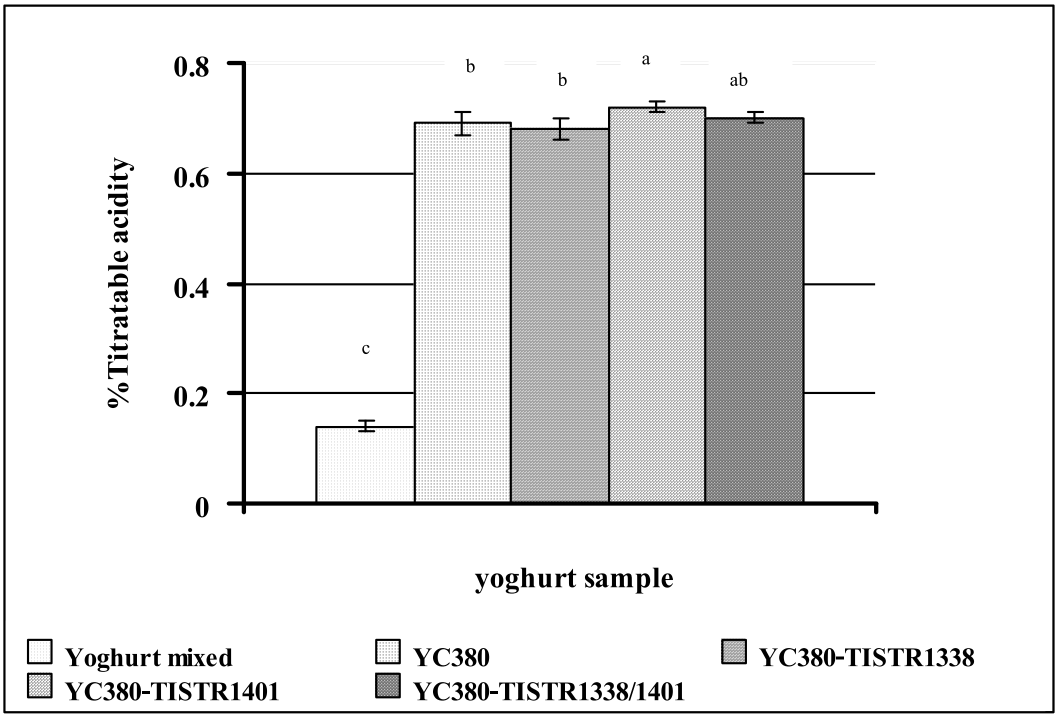
ค

ภาพที่ 4.2 ตัวอย่างผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต (set yoghurt) ที่ผลิตด้วยกล้าเชื้อผสมแบคทีเรียกรดแล็กติกที่สร้าง CLA (ภาพขวา) YC380-TISTR1338 (ก), YC380-TISTR1401 (ข) และ YC380-TISTR1338/1401 (ค) เปรียบเทียบกับโยเกิร์ตที่ผลิตด้วยกล้าเชื้อทางการค้า YC380 (ด้านซ้ายภาพ ก ข และ ค)

ตารางที่ 4.3 ค่าเฉลี่ยองค์ประกอบทางเคมีของ set yoghurt และส่วนผสมก่อนการหมัก

ตัวอย่างทดลอง	ส่วนประกอบทางเคมี (ร้อยละโดยน้ำหนัก)			
	โปรตีน	ไขมัน	ของแข็งทั้งหมด	ความชื้น
Yoghurt mixed	4.23 ± 0.01[a]	3.64 ± 0.02[a]	15.49 ± 0.02[a]	84.51 ± 0.02[b]
YC380	4.23 ± 0.02[a]	3.60 ± 0.02[a]	14.82 ± 0.15[b]	85.18 ± 0.15[a]
YC380-TISTR1338	4.21 ± 0.01[a]	3.60 ± 0.05[a]	14.76 ± 0.03[b]	85.24 ± 0.03[a]
YC380-TISTR1401	4.21 ± 0.02[a]	3.60 ± 0.03[a]	14.87 ± 0.00[b]	85.13 ± 0.00[a]
YC380-TISTR1338/1401	4.19 ± 0.01[ab]	3.60 ± 0.01[a]	14.73 ± 0.01[b]	85.27 ± 0.01[a]

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งแสดงถึงค่าวิเคราะห์ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$) วิเคราะห์โดยโปรแกรมสถิติ SAS



ภาพที่ 4.3 ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดแล็กติกของส่วนผสมสำหรับผลิตโยเกิร์ต (yoghurt mixed) และ set yoghurt ที่ผลิตด้วยกล้าเชื้อ YC380, YC380-TISTR1338, YC380-TISTR1401 และ YC380-TISTR1338/1401

ส่วนปริมาณความชื้นของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตทั้ง 4 ตัวอย่าง พบว่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05) โดยมีปริมาณร้อยละ 85.13-85.27 โดยน้ำหนัก ซึ่งมีค่ามากกว่าปริมาณความชื้นในส่วนผสมโยเกิร์ตเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดแล็กติกในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตทั้ง 4 ตัวอย่างทดลอง มีค่ามากกว่าปริมาณกรดทั้งหมดในส่วนผสมโยเกิร์ตเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ดังภาพที่ 4.3 โดยส่วนผสมโยเกิร์ตเริ่มต้นมีปริมาณกรดทั้งหมดในรูปของกรดแล็กติกร้อยละ 0.14 โดยน้ำหนัก ในขณะที่โยเกิร์ตทดลอง YC380 และ TISTR1338 มีปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดแล็กติกเท่ากันทางสถิติ คือ ร้อยละ 0.69 และ 0.68 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ โยเกิร์ต TISTR1401 มีปริมาณกรดทั้งหมดสูงที่สุด (P<0.05) คือ ร้อยละ 0.72 โดยน้ำหนัก ส่วนโยเกิร์ต TISTR1338/1401 มีปริมาณกรดทั้งหมดน้อยกว่าโยเกิร์ต TISTR1401 เล็กน้อยโดยมีปริมาณกรดทั้งหมดร้อยละ 0.70 โดยน้ำหนัก โดยปกติองค์ประกอบหลักทางเคมีของโยเกิร์ตซึ่งได้แก่ โปรตีนเคซีน โปรตีนเวย์ ไขมันนม วิตามิน และแร่ธาตุต่าง ๆ ในปริมาณใกล้เคียงกับที่มีในน้ำนมโดยบางองค์ประกอบอาจมีมากกว่าและบางองค์ประกอบอาจมีปริมาณลดลงภายหลังกระบวนการหมัก (Tamine and Robinson, 1999)

เมื่อพิจารณาส่วนประกอบของแข็งทั้งหมด (ตาราง 4.3) และปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดแล็กติก (ภาพที่ 4.3) พบว่า ส่วนประกอบทั้ง 2 มีความสัมพันธ์แบบผกผันกัน นั่นคือ ในส่วนผสมเริ่มต้นซึ่งมีปริมาณของแข็งทั้งหมดมากที่สุด จะมีค่าเฉลี่ยปริมาณกรดต่ำสุด ภายหลังกระบวนการหมักได้เป็นผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตแล้ว ปริมาณของแข็งทั้งหมดในผลิตภัณฑ์ลดลง ในขณะที่ปริมาณกรดทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เนื่องจากระหว่างกระบวนการหมักแบคทีเรียกล้าเชื้อโยเกิร์ตใช้น้ำตาลแล็กโทสในน้ำนมเป็นแหล่งพลังงานในการเจริญเติบโต และเกิดกระบวนการหมักให้กรดแล็กติกและสารประกอบอื่น ๆ สะสมอยู่ในผลิตภัณฑ์ (Tamine and Robinson, 1999) ทั้งนี้ปริมาณของแข็งทั้งหมด ได้แก่ น้ำตาลแล็กโตส โปรตีน ไขมัน และเกลือแร่ ในน้ำนมที่ใช้ในการผลิตโยเกิร์ต ซึ่งมีผลโดยตรงต่อคุณสมบัติทางกายภาพและกลิ่นรสของโยเกิร์ต โดยเฉพาะความหนืดของมวลของแข็งที่ตกตะกอน และกลิ่นครีมเนย โดยโยเกิร์ตที่มีคุณภาพดีได้จากน้ำนมที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 15-16 โดยน้ำหนัก หลังกระบวนการหมักจะทำให้ได้โยเกิร์ตที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 14-15 โดยน้ำหนัก เมื่อแบคทีเรียกล้าเชื้อโยเกิร์ตใช้น้ำตาลแล็กโตสในน้ำนมเป็นแหล่งพลังงานในการเจริญเติบโตระหว่างกระบวนการหมัก จึงทำให้ปริมาณของแข็งทั้งหมดลดลง และปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดแล็กติกเพิ่มขึ้นเนื่องจากกิจกรรมการหมักดังกล่าว

4.3.2 คุณลักษณะทางกายภาพ

เมื่อทำการทดสอบคุณลักษณะทางกายภาพของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต เพื่อประเมินค่าความเป็นกรดด่าง ดัชนีการแยกส่วนของน้ำหางนม และค่าความสามารถในการเก็บกักน้ำของเจลโยเกิร์ต แสดงผลในตารางที่ 4.4 ซึ่งพบว่า ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตมีค่าความเป็นกรดด่างไม่แตกต่างกัน คือ 4.44 ยกเว้นโยเกิร์ตทดลองที่ผลิตด้วยกล้าเชื้อที่ผสมแบคทีเรียกรดแล็กติก YC380-TISTR1401 มีค่าความเป็นกรดด่างต่ำกว่าตัวอย่างทดลองอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) คือ มีค่าความเป็นกรดด่างที่ 4.37 ในขณะที่ดัชนีการแยกส่วนของน้ำหางนม (% syneresis) ของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตทั้ง 4 ตัวอย่างทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) โดยมีค่าดัชนีการแยกส่วนของน้ำหางนมเป็นร้อยละ 2.66 3.54 2.59 และ 3.10 โดยน้ำหนัก สำหรับโยเกิร์ตตัวอย่างควบคุม (YC380) โยเกิร์ตที่มีแบคทีเรีย YC380-TISTR1338 YC380-TISTR1401 และ YC380-TISTR1338/1401 ตามลำดับ ดังตาราง 4.4

ตารางที่ 4.4 ค่าดัชนีการแยกส่วนของน้ำหางนมและความสามารถในการเก็บกักน้ำของโยเกิร์ต

ตัวอย่างทดลอง	pH	Syneresis (%v/w)	WHC (%w/w)
YC380	4.44 [a]	2.66 ± 0.65 [a]	42.03 ± 1.70 [b]
YC380-TISTR1338	4.44 [a]	3.54 ± 1.21 [a]	45.59 ± 0.90 [a]
YC380-TISTR1401	4.37 [b]	2.59 ± 0.65 [a]	42.60 ± 2.56 [b]
YC380-TISTR1338/1401	4.44 [a]	3.10 ± 0.52 [a]	41.46 ± 0.79 [b]

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งแสดงถึงค่าวิเคราะห์ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$) วิเคราะห์โดยโปรแกรมสถิติ SAS

ส่วนค่าความสามารถในการเก็บกักน้ำของผลิตภัณฑ์ set yoghurt มีช่วงค่าการวิเคราะห์อยู่ระหว่างร้อยละ 41.46-45.59 โดยน้ำหนัก โดยโยเกิร์ตตัวอย่างทดลอง TISTR1338 มีค่าความสามารถในการเก็บกักน้ำมากที่สุด ($P<0.05$) คือ ร้อยละ 45.59 โดยน้ำหนัก ในขณะที่ตัวอย่างอื่น ๆ มีค่าการวิเคราะห์ไม่แตกต่างกันทางสถิติ คือ มีค่าความสามารถในการเก็บกักน้ำร้อยละ 42.03 42.60 และ 41.46 โดยน้ำหนัก สำหรับตัวอย่างโยเกิร์ต YC380 YC380-TISTR1401 และ YC380-TISTR1338/1401 ตามลำดับ ดังตาราง 4.4 ทั้งนี้ลักษณะปรากฏ (Appearance) และลักษณะทางกายภาพ (Physical properties) เป็นดัชนีคุณภาพที่สำคัญของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต โยเกิร์ตที่มีคุณภาพดีควรมีเนื้อเจลค่อนข้างข้นหนืดและเนียนเรียบ โครงสร้างเจลไม่หดตัว และไม่เกิด

การแยกชั้นระหว่างของเหลวกับเนื้อโยเกิร์ต (whey syneresis) สำหรับโยเกิร์ตชนิด set yoghurt ลักษณะตำหนิ 2 อย่าง ที่มักปรากฏ คือ เนื้อเจลโยเกิร์ตนิ่มมีความแน่นเนื้อต่ำ และเกิดการแยกชั้นของน้ำหางนมหรือน้ำเวย์ออกจากโครงสร้างเจลโยเกิร์ตจนทำให้มีของเหลวที่ผิวหน้าโยเกิร์ต ปริมาณมาก ซึ่งปริมาณน้ำเวย์ที่ผิวหน้า set yoghurt นี้ถูกใช้ในการจัดระดับให้เป็นโยเกิร์ตคุณภาพต่ำได้ (Walstra et al., 1999) คุณภาพทางกายภาพมีความสำคัญโดยตรงต่อความชอบ และความนิยมของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ลักษณะปรากฏ ความเนียนละเอียดของเนื้อโยเกิร์ต รวมถึงการแยกชั้นของน้ำหางนม

คุณภาพด้านสีของโยเกิร์ตที่ผลิตโดยกระบวนการหมักด้วยกล้าเชื้อทางการค้า YC380 ร่วมกับแบคทีเรียกรดแล็กติกที่สร้าง CLA (YC380-TISTR1338 YC380-TISTR1401 และ YC380-TISTR1338/1401) ทำการตรวจวัดโดยใช้เครื่องวัดสี CR-300 MINOLTA และประเมินลักษณะสีตามระบบ Hunter Lab system พบว่า ค่าความสว่าง (L) ของตัวอย่างโยเกิร์ตค่อนข้างใกล้เคียงกัน (94.17-94.95) และมีค่ามากกว่าค่าความสว่างของส่วนผสมโยเกิร์ตเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยส่วนผสมโยเกิร์ตเริ่มต้นมีค่าความสว่างเป็น 93.33 ส่วนค่าความเป็นสีเขียวและสีแดง (a) ของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต โดยค่า พบว่า ตัวอย่าง YC380-TISTR1338/1401 มีค่าความเป็นสีเขียวน้อยที่สุด คือ -3.70 ในขณะที่ส่วนผสมโยเกิร์ตเริ่มต้นมีค่าความเป็นสีเขียวมากที่สุด คือ -3.93 ส่วนตัวอย่างโยเกิร์ต YC380 YC380-TISTR1338 และ YC380-TISTR1401 มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05) และมีค่าอยู่ระหว่างค่าความเป็นสีเขียวและสีแดงของตัวอย่าง YC380-TISTR1338/1401 และส่วนผสมโยเกิร์ตเริ่มต้น คือ -3.82 -3.78 และ -3.80 สำหรับตัวอย่างโยเกิร์ต YC380 YC380-TISTR1338 และ YC380-TISTR1401 ตามลำดับ ดังตาราง 4.5 ในขณะที่ค่าวิเคราะห์ที่บ่งบอกความเป็นสีเหลืองและสีน้ำเงิน (b) ของตัวอย่างโยเกิร์ตจากการตรวจวัดมีค่าค่อนข้างแตกต่างกันทางสถิติ โดยค่า b+ แสดงความเป็นสีเหลือง และค่า b- แสดงถึงความเป็นสีน้ำเงิน พบว่าตัวอย่าง TISTR1401 มีค่าความเป็นสีเหลืองมากที่สุด (P<0.05) คือ 10.27 ส่วนโยเกิร์ต YC380-TISTR1338 และ YC380-TISTR1338/1401 มีค่าเท่ากัน คือ 10.17 ซึ่งจะเห็นได้ว่ามีค่าความเป็นสีเหลืองมากกว่าตัวอย่าง YC380 (10.00) และน้อยกว่าตัวอย่าง YC380-TISTR1401 เล็กน้อย (P<0.05) ในขณะที่ส่วนผสมโยเกิร์ตเริ่มต้นมีค่าวิเคราะห์ที่บ่งบอกความเป็นสีเหลือง และสีน้ำเงินน้อยที่สุด (P< 0.05) คือ 9.58 ดังแสดงในตาราง 4.5

ตารางที่ 4.5 ค่าวิเคราะห์สีเฉลี่ยของ set yoghurt และส่วนผสมก่อนการหมัก

ตัวอย่างทดลอง	ค่าวิเคราะห์สีตามระบบสีของฮันเตอร์ (L a b)*		
	L	a	b
Yoghurt mixed	93.66 ± 0.14 [c]	-3.93 ± 0.03 [b]	9.58 ± 0.04 [c]
YC380	94.95 ± 0.07 [a]	-3.82 ± 0.10 [ab]	10.00 ± 0.10 [b]
YC380-TISTR1338	94.41 ± 0.29 [abc]	-3.78 ± 0.03 [ab]	10.17 ± 0.16 [ab]
YC380-TISTR1401	94.17 ± 0.74 [bc]	-3.80 ± 0.12 [ab]	10.27 ± 0.09 [a]
YC380-TISTR1338/1401	94.48 ± 0.10 [ab]	-3.70 ± 0.03 [a]	10.17 ± 0.04 [ab]

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งแสดงถึงค่าวิเคราะห์ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (P<0.05) วิเคราะห์โดยโปรแกรมสถิติ SAS

*L คือ ความสว่างของสีซึ่งมีค่าจาก 0 คือสีดำ ถึง 100 คือสีขาว

a คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเขียวและสีแดง โดยค่า a+ แสดงความเป็นสีแดง ค่า a- แสดงความเป็นสีเขียว

b คือ ค่าที่บ่งบอกความเป็นสีเหลืองและสีน้ำเงิน โดยค่า b+ แสดงความเป็นสีเหลือง ค่า b- แสดงความเป็นสีน้ำเงิน

4.3.3 คุณลักษณะเนื้อสัมผัส

คุณลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต แสดงในตารางที่ 4.6 พบว่า ค่าแรงกดสำหรับการทะลุผ่านผิวหน้าเจลโยเกิร์ต หรือค่าแรงตึงผิวของเจลโยเกิร์ต (curd tension) ของโยเกิร์ตทั้ง 4 ตัวอย่างทดลอง ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05) โดยมีค่าเฉลี่ยแรงตกกระทบเป็น 37.40 46.53 48.43 และ 43.60 กรัม สำหรับตัวอย่าง YC380 YC380-TISTR1338 YC380-TISTR1401 และ YC380-TISTR1338/1401 ตามลำดับ ดังตาราง 4.6

ส่วนค่าแรงกดสำหรับการแทงทะลุผ่านเนื้อเจลโยเกิร์ต หรือค่าความแน่นเนื้อของผลิตภัณฑ์ พบว่า โยเกิร์ต YC380-TISTR1338 และ YC380-TISTR1401 มีค่าวิเคราะห์เฉลี่ยไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05) คือ 61.63 และ 60.73 กรัม ตามลำดับ และมีค่ามากกว่าโยเกิร์ต YC380 และ YC380-TISTR1338/1401 ซึ่งมีค่าวิเคราะห์เฉลี่ยเป็น 56.70 และ 57.27 กรัม ตามลำดับ ดังตาราง 4.6

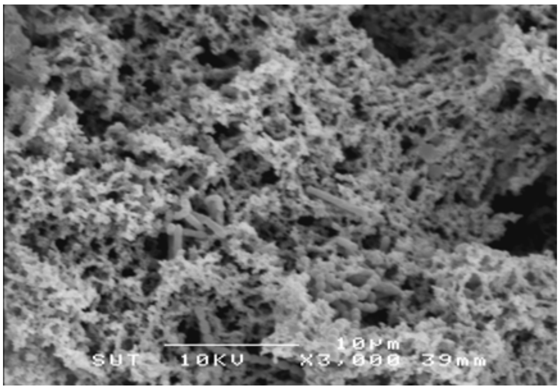
ตารางที่ 4.6 ค่าแรงตึงผิวและค่าความแน่นเนื้อเฉลี่ยของ set yoghurt

ตัวอย่างทดลอง	ค่าแรงกดของหัววัด P20 (g)	
	Curd tension	Firmness
YC380	37.40 ± 1.23[a]	56.70 ± 1.60[b]
YC380-TISTR1338	46.53 ± 2.21[a]	61.63± 1.27[a]
YC380-TISTR1401	48.43 ± 2.55[a]	60.73 ± 0.76[a]
YC380-TISTR1338/1401	43.60 ± 0.62[a]	57.27 ± 0.50[b]

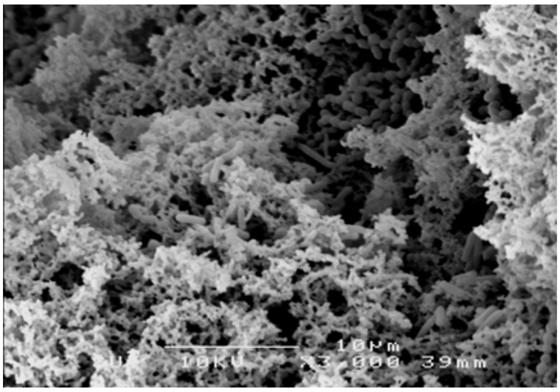
<u>หมายเหตุ</u>: ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งแสดงถึงค่าวิเคราะห์ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$) วิเคราะห์โดยโปรแกรมสถิติ SAS

4.3.4 ลักษณะโครงสร้างภายใน

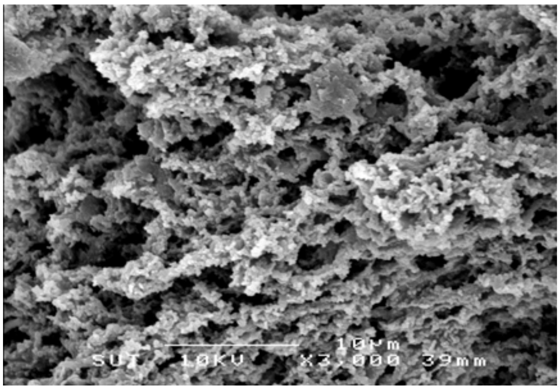
โครงสร้างภายในของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตชนิด set yoghurt ที่ผลิตโดยการหมักด้วยกล้าเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ตทางการค้า YC380 และที่ผลิตโดยการหมักด้วยกล้าเชื้อผสมระหว่างแบคทีเรียกรดแล็กติกที่สร้าง CLA (YC380-TISTR1338 YC380-TISTR1401 และ YC380-TISTR1338/1401) และกล้าเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ตทางการค้า ทำการศึกษาโครงสร้างภายในด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด และทำการบันทึกภาพลักษณะโครงสร้างภายในที่กำลังขยาย 3,000 และ 10,000 เท่า (ภาพที่ 4.4 และ 4.5 ตามลำดับ) จากภาพที่ 4.4 และ 4.5 พบว่าโครงสร้างภายในของ set yoghurt มีลักษณะเป็นโครงข่ายของโปรตีนเคซีนทั้งที่ประกอบด้วยเคซีนไมเซลล์ที่เรียงตัวกันเป็นลักษณะสายโซ่ (micellar chains) และรวมกันเป็นกลุ่มก้อน (micellar clusters) พบรูพรุนและช่องว่างคล้ายโพรงขนาดเล็กกระจายอยู่ทั่วไป และมีเซลล์แบคทีเรียทั้งลักษณะรูปท่อนต่อกันเป็นสายสั้น และรูปทรงกลมเรียงต่อกันเป็นสายสั้นและสายยาวกระจายอยู่ในโครงข่ายซึ่งพบเป็นจำนวนมากบริเวณภายในโพรงและรูพรุน ทั้งนี้พบว่าลักษณะโครงสร้างภายในของ set yoghurt ที่ผลิตด้วยแบคทีเรียกล้าเชื้อทางการค้า (ภาพที่ 4.4ก และ 4.5ก) และที่ผลิตด้วยแบคทีเรียผสมระหว่างกล้าเชื้อทางการค้ากับแบคทีเรียกรดแล็กติก YC380-TISTR1338 (ภาพที่ 4.4ข และ 4.5ข) ประกอบด้วยโครงข่ายร่างแหสามมิติที่เรียงตัวเป็นระเบียบ โครงข่ายโปรตีนเคซีนส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นโซ่เกาะกันแบบหลวม ๆ มีรูพรุนกระจายสม่ำเสมอ



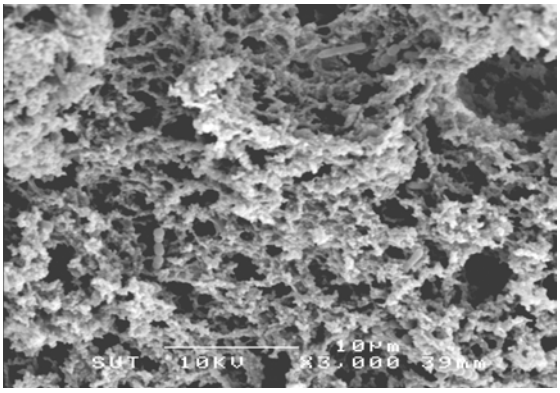
ก



ข



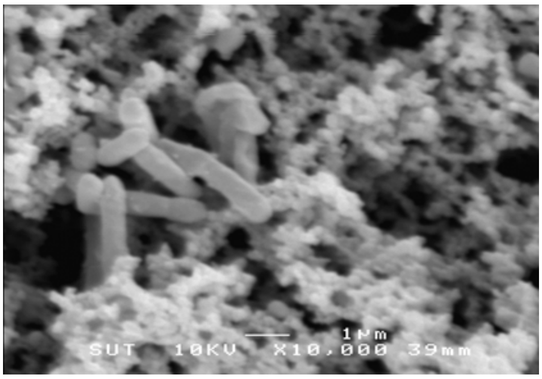
ค



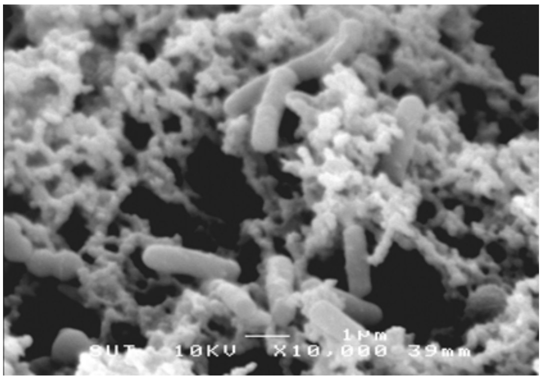
ง

ภาพที่ 4.4 การศึกษาโครงสร้างภายในด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (SEM): set yoghurt ที่ผลิตด้วยกล้าเชื้อ YC380 (ก), YC380-TISTR1338 (ข), YC380-TISTR1401 (ค) และ YC380-TISTR1338/1401 (ง) ที่กำลังขยาย 3,000 เท่า

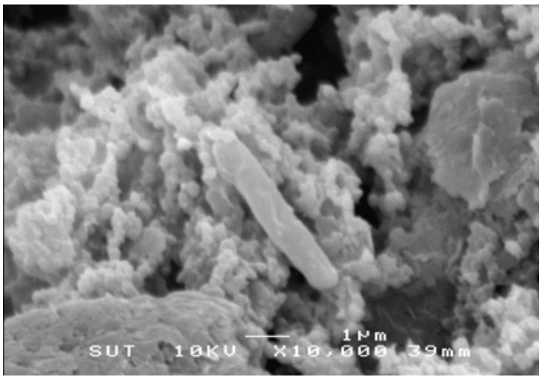
ในขณะที่โครงสร้างภายในของโยเกิร์ตที่ผลิตด้วยแบคทีเรียผสมระหว่างกล้าเชื้อทางการค้ากับแบคทีเรียกรดแล็กติก TISTR1401 มีลักษณะโครงข่ายโปรตีนเรียงตัวกันแน่น ร่างแหสามมิติของโปรตีนเคซีนส่วนใหญ่เกาะกันเป็นกลุ่มก้อน และพบลักษณะที่เรียงต่อกันเป็นสายโซ่น้อยมาก นอกจากนี้ยังไม่ค่อยพบช่องว่างลักษณะคล้ายโพรงและรูพรุน (รูป 4.4ค และ 4.5ค) ส่วน set yoghurt ที่ผลิตด้วยกล้าเชื้อผสมระหว่าง TISTR1338 และ TISTR1401 ร่วมกับกล้าเชื้อทางการค้า (YC380-TISTR1338/TISTR1401) (ภาพที่ 4.4ง และ 4.5ง) พบลักษณะรูพรุน และมีการเรียงตัวของร่างแหโปรตีนเคซีนที่มีลักษณะสายโซ่ โดยรวมพบมากกว่าในตัวอย่างโยเกิร์ตที่ผลิตด้วยแบคทีเรียผสมระหว่างกล้าเชื้อทางการค้ากับแบคทีเรียกรดแล็กติก YC380-TISTR1401 อย่างไรก็ตามโครงข่ายโปรตีนของตัวอย่างนี้ยังมีลักษณะค่อนข้างแน่นกว่าสองตัวอย่างแรกที่ผลิตด้วยกล้าเชื้อทางการค้า และตัวอย่างที่มีการผสมแบคทีเรีย YC380-TISTR1338



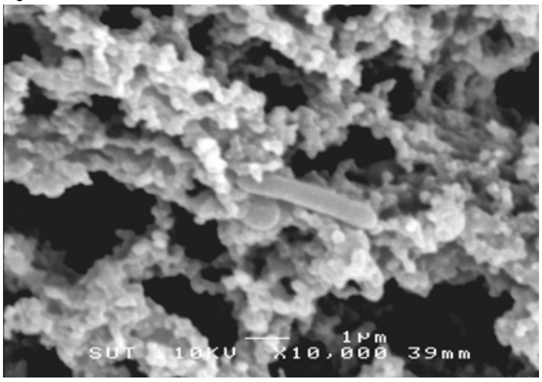
ก



ข



ค



ง

ภาพที่ 4.5 การศึกษาโครงสร้างภายในด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (SEM): set yoghurt ที่ผลิตด้วยกล้าเชื้อ YC380 (ก), YC380-TISTR1338 (ข), YC380-TISTR1401 (ค) และ YC380-TISTR1338/1401 (ง) ที่กำลังขยาย 10,000 เท่า

จะเห็นได้ว่าลักษณะโครงสร้างภายในของโยเกิร์ตเจลที่เตรียมจากวัตถุดิบและส่วนผสมเริ่มต้นเดียวกันแต่ใช้แบคทีเรียกล้าเชื้อต่างกัน ทำให้ได้โยเกิร์ตที่มีลักษณะโครงข่ายร่างแหสามมิติของโปรตีนแตกต่างกัน สอดคล้องกับ Amatayakul, Sherkat, and Shah (2006) ซึ่งรายงานว่า การใช้แบคทีเรียกล้าเชื้อต่างสายพันธุ์กัน ทำให้ลักษณะโครงข่ายร่างแหของโปรตีนที่ตกตะกอนเกิดการเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งจะส่งผลต่อความแข็งแรงของเจล และระดับการเกิดการแยกชั้นของน้ำหางนมในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต โดยทั่วไปโยเกิร์ตที่มีรูพรุนขนาดใหญ่ในโครงข่ายร่างแหมักมีแนวโน้มเกิดการแยกชั้นของน้ำหางนมได้ง่าย (Kalab and Harwalkar, 1973, 1974; Kalab et al., 1980, 1995; Kalab, 1979a, 1979b, 1992; Harwalkar and Kalab, 1980; Modler and Kalob, 1983; Modler et al.,

1983 อ้างใน Tamine and Robinson, 1999) ในขณะที่โยเกิร์ตที่มีลักษณะโครงสร้างภายในละเอียดที่มีรูพรุนจำนวนมาก และประกอบด้วยโครงข่ายร่างแหสามมิติที่มีลักษณะแน่น จะส่งผลให้โยเกิร์ตมีลักษณะทางกายภาพดีขึ้น (Puvanenthiran, Williams, and Augustin , 2002) ทั้งนี้ในกรณีการใช้แบคทีเรียกล้าเชื้อแตกต่างกัน ทำให้ได้โยเกิร์ตที่มีลักษณะโครงสร้างภายในแตกต่างกัน เนื่องจากผลผลิตหลักที่เกิดจากกิจกรรมการหมักของแบคทีเรีย โดยแบคทีเรียกลุ่ม homofermentative จะให้กรดแล็กติกเป็นผลผลิตหลักจากกระบวนการหมักน้ำตาลกลูโคส ในขณะที่กลุ่ม heterofermentative จะให้กรดแล็กติก เอทานอล และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งจะทำให้เกิดโพรงอากาศและรูพรุนในโครงสร้างผลิตภัณฑ์ เมื่อพิจารณาแบคทีเรียกรดแล็กติกที่ใช้เป็นกล้าเชื้อในการผลิตโยเกิร์ตนี้จะเห็นได้ว่า ทั้ง *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus Lb. acidoplilus* TISTR450 และ *Lc. lactis* TISTR1401 เป็นแบคทีเรียกลุ่ม homofermentative ในขณะที่ *S. thermophilus* แม้จะอยู่ในกลุ่ม homohermentative แต่สามารถสร้างแก็สคาร์บอนไดออกไซด์ได้จากการย่อยสลายยูเรียในน้ำนม (Robinson, 1999) ดังนั้นตัวอย่างโยเกิร์ตที่มีการเติมแบคทีเรีย TISTR1401 ซึ่งเจริญได้ดีในน้ำนม และผลิตกรดแล็กติกได้เร็วในระหว่างกระบวนการหมัก จึงมีโครงสร้างภายในที่มีรูพรุนน้อย และมีลักษณะโครงสร้างเรียงตัวไม่เป็นระเบียบคล้ายโปรตีนตกตะกอนเนื่องจากการเสียสภาพโครงสร้างเดิม

4.3.5 คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

คุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสทดสอบโดยใช้ผู้ทดสอบชิมที่ผ่านการฝึกหัด จำนวน 10 คน ชิมผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต ที่ได้จากกระบวนการหมักด้วยกล้าเชื้อผสมระหว่างแบคทีเรียกรดแล็กติกที่สร้าง CLA ร่วมกับกล้าเชื้อทางการค้า และประเมินคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ดังกล่าว ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.7 ภาพที่ 4.6 และภาพที่ 1-4 ในภาคผนวก ข

จากตาราง 4.7 พบว่า ค่าเฉลี่ยคะแนนคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านต่าง ๆ ของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตแต่ละตัวอย่างทดลองมีค่าค่อนข้างใกล้เคียงกัน แต่มีบางคุณลักษณะที่คะแนนประเมินเฉลี่ยในแต่ละตัวอย่างทดลองมีค่าต่างกันเล็กน้อยดังนี้ คุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านลักษณะปรากฏ (appearance) ที่ทำการทดสอบ ได้แก่ ลักษณะความมันวาวของผิวหน้าเจลโยเกิร์ต ความเนียนเรียบของเนื้อโยเกิร์ต ปริมาณการขับน้ำหางนม และความแข็งแรงหรือความแน่นเนื้อของเจลโยเกิร์ต พบว่า โยเกิร์ต YC380 ซึ่งเป็นโยเกิร์ตตัวอย่างเปรียบเทียบที่ผลิตด้วยกล้าเชื้อทางการค้า มีค่าเฉลี่ยของคะแนนคุณลักษณะความมันวาวของผิวหน้าเจลโยเกิร์ต ความแข็งแรงหรือความแน่นเนื้อของเจลโยเกิร์ต และความเนียนเรียบของเนื้อโยเกิร์ตมากกว่าค่าการทดสอบของโยเกิร์ตที่ผลิตจากแบคทีเรียกรดแล็กติกที่สร้าง CLA อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) คือ มีค่าเฉลี่ยเป็น 7.30 6.39 และ 7.69 ตามลำดับ สำหรับแต่ละคุณลักษณะดังกล่าว

ส่วนโยเกิร์ตทดลองที่ผลิตด้วยกล้าเชื้อ YC380-TISTR1338 YC380-TISTR1401 และ YC380-TISTR1338/1401 มีค่าเฉลี่ยคะแนนคุณภาพไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05) โดยพบว่า ตัวอย่างทดลอง YC380-TISTR1338 มีค่าเฉลี่ยคะแนนคุณภาพเป็น 5.14 4.38 และ 5.11 ตัวอย่างทดลอง YC380-TISTR1401 มีค่าเฉลี่ยคะแนนคุณภาพเป็น 4.56 3.69 และ 5.24 และตัวอย่างทดลอง YC380-TISTR1338/1401 มีค่าเฉลี่ยคะแนนคุณภาพเป็น 4.11 3.89 และ 3.76 ตามลำดับ สำหรับคุณลักษณะความมันวาวของผิวหน้าเจลโยเกิร์ต ความแข็งแรงหรือความแน่นเนื้อของเจลโยเกิร์ต และความเนียนเรียบของเนื้อโยเกิร์ต ส่วนลักษณะการขับน้ำหางนม หรือ whey syneresis ของเจลโยเกิร์ต พบว่า ตัวอย่างทดลอง YC380-TISTR1338/1401 มีค่าเฉลี่ยคะแนนลักษณะการขับน้ำหางนมสูงที่สุด (P<0.05) คือมีคะแนน 3.49 ส่วนตัวอย่างอื่น ๆ มีค่าเฉลี่ยคะแนนลักษณะการขับน้ำหางนมไม่แตกต่างกันทางสถิติ คือ 0.42 1.55 และ 3.21 สำหรับตัวอย่างทดลอง YC380 YC380-TISTR1338 และ YC380-TISTR1401 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.7)

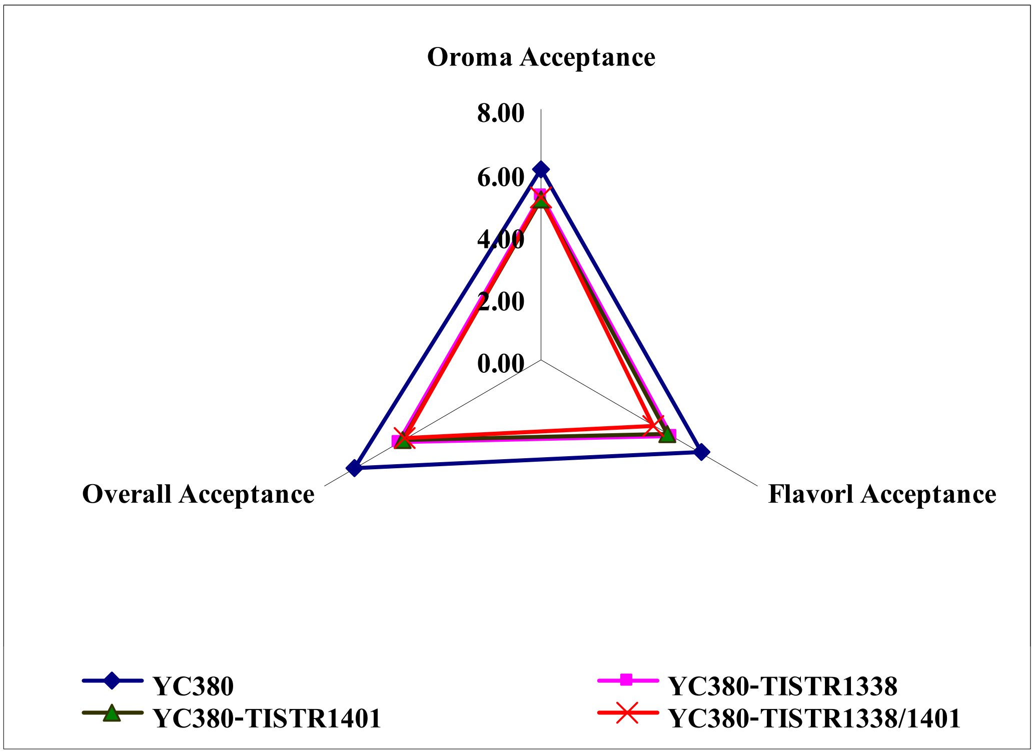
คุณลักษณะด้านกลิ่นที่รับรู้ได้จากการดม หรือ aroma ที่ทำการประเมิน ได้แก่ กลิ่นเปรี้ยวหรือกลิ่นกรด (sour) กลิ่นน้ำนมสด (milky) กลิ่นอะซิตาลดีไฮด์ (acetaldehyde) และกลิ่นแปลกปลอม หรือกลิ่นผิดปกติ (off flavor) พบว่า ค่าเฉลี่ยคะแนนคุณภาพด้านกลิ่นดังกล่าวไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P< 0.05) โดยมีค่าเฉลี่ยคะแนนคุณภาพอยู่ในช่วง 4.30-4.54 2.97-4.00 3.22-4.44 และ 0.14-1.33 สำหรับกลิ่นเปรี้ยว หรือกลิ่นกรด กลิ่นน้ำนมสด กลิ่นอะซิตาลดีไฮด์ (acetaldehyde) และกลิ่นแปลกปลอม หรือกลิ่นผิดปกติ ตามลำดับ ดังรายละเอียดในตารางที่ 4.7

คุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรส (flavor) ที่รับรู้ได้โดยการกลืนกินของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ทำการประเมิน ได้แก่ กลิ่นรสหวาน กลิ่นรสเปรี้ยว กลิ่นรสขม และกลิ่นรสฝาด (ตารางที่ 4.7) พบว่า ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตทั้ง 4 ตัวอย่างทดลอง มีค่าเฉลี่ยคะแนนคุณภาพด้านกลิ่นรสไม่แตกต่างกัน (P<0.05) โดยมีช่วงคะแนนคุณภาพดังนี้ คะแนนเฉลี่ยกลิ่นรสหวาน 0.73-0.90 กลิ่นรสเปรี้ยว 5.04-6.16 กลิ่นรสขม 0.58-1.11 และ กลิ่นรสฝาด 0.99-1.58

ตารางที่ 4.7 ค่าเฉลี่ยคะแนนคุณภาพทางประสาทสัมผัสของ set yoghurt

คุณภาพ	คะแนน QDA ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต			
	YC380	YC380-TISTR1338	YC380-TISTR1401	YC380-TISTR1338/1401
Surface shine	7.30 ± 1.64^{a}	5.14 ± 1.32^{b}	4.56 ± 2.25^{b}	4.11 ± 2.12^{b}
Gel firmness	6.39 ± 2.46^{a}	4.38 ± 1.82^{b}	3.69 ± 2.37^{b}	3.89 ± 2.43^{b}
Whey syneresis	0.42 ± 0.44^{b}	1.15 ± 0.74^{b}	3.21 ± 2.38^{b}	3.49 ± 1.75^{a}
Smoothness	7.69 ± 1.87^{a}	5.11 ± 2.55^{b}	5.24 ± 2.86^{b}	3.76 ± 3.01^{b}
Aroma-Sour	4.30 ± 2.23^{a}	4.54 ± 2.32^{a}	4.31 ± 2.39^{a}	4.32 ± 1.88^{a}
Aroma-milky	4.00 ± 2.24^{a}	3.78 ± 1.80^{a}	3.38 ± 2.15^{a}	2.97 ± 1.24^{a}
Aroma-acetaldehyde	4.15 ± 2.34^{a}	4.44 ± 2.76^{a}	3.22 ± 2.09^{a}	3.90 ± 1.99^{a}
Aroma-off flavor	0.14 ± 0.24^{a}	0.40 ± 0.54^{a}	1.13 ± 2.06^{a}	1.17 ± 2.49^{a}
Flavor-Sweet	0.83 ± 0.98^{a}	0.73 ± 0.79^{a}	0.73 ± 0.91^{a}	0.90 ± 1.33^{a}
Flavor-Sour	5.51 ± 1.39^{a}	5.04 ± 1.68^{a}	6.16 ± 1.70^{a}	5.14 ± 1.74^{a}
Flavor-Bitter	0.75 ± 0.98^{a}	0.58 ± 0.53^{a}	1.11 ± 1.51^{a}	0.74 ± 0.56^{a}
Flavor-Tart	1.57 ± 1.37^{a}	1.40 ± 1.93^{a}	0.99 ± 0.63^{a}	1.58 ± 1.53^{a}
Aftertaste-mouth coating	3.13 ± 2.71^{a}	3.82 ± 2.38^{a}	3.09 ± 2.26^{a}	3.15 ± 2.56^{a}
Aftertaste-Chalkiness	0.42 ± 0.75^{b}	2.12 ± 2.55^{a}	1.81 ± 2.52^{a}	2.33 ± 2.74^{a}
Aftertaste-Bitter	0.40 ± 0.65^{a}	0.84 ± 0.98^{a}	0.93 ± 1.23^{a}	0.49 ± 0.51^{a}
Aftertaste-Tart	0.97 ± 0.94^{a}	1.47 ± 2.03^{a}	1.29 ± 1.69^{a}	0.94 ± 0.97^{a}
Aroma Acceptance	6.07 ± 1.63^{a}	5.22 ± 1.85^{a}	5.12 ± 1.59^{a}	5.17 ± 1.54^{a}
Flavor Acceptance	5.91 ± 1.90^{a}	4.77 ± 1.86^{ab}	4.68 ± 2.25^{ab}	4.14 ± 1.24^{b}
Overall Acceptance	6.85 ± 1.79^{a}	5.23 ± 2.22^{b}	5.13 ± 2.19^{b}	5.01 ± 1.54^{b}

หมายเหตุ: ตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้งแสดงถึงค่าวิเคราะห์ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P<0.05$) วิเคราะห์โดยโปรแกรมสถิติ SAS



ภาพที่ 4.5 คะแนนเฉลี่ยการยอมรับผลิตภัณฑ์ของผู้ทดสอบชิมต่อคุณภาพด้านกลิ่นของผลิตภัณฑ์โย เกิร์ต

คุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านความรู้สึกที่รับรู้ได้ภายหลังการกลืนกิน (aftertaste) ของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ทำการประเมิน ได้แก่ ความเหนียวติดลิ้น (mouth coating thickness) ลักษณะคล้ายผงชอล์กติดลิ้น (chalkiness) ความขม (bitter) และความฝาด (tart) จากการประเมินพบว่า ค่าเฉลี่ยคุณภาพด้านความรู้สึกที่รับรู้ได้ภายหลังการกลืนกินในแต่ละคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตทั้ง 4 ตัวอย่าง ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) ดังตาราง 4.7 ยกเว้นลักษณะคล้ายผงชอล์กติดลิ้นของโยเกิร์ต YC380 มีคะแนนเฉลี่ยต่ำสุด ($P<0.05$) ในขณะที่โยเกิร์ต YC380-TISTR1338 YC380-TISTR1401 และ YC380-TISTR1338/1401 มีคะแนนเฉลี่ยคุณภาพดังกล่าว 2.12 1.81 และ 2.33 ตามลำดับ

คุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นรสที่รับรู้ได้จากการกลืนกิน (flavor) ของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ทำการประเมิน ได้แก่ กลิ่นรสหวาน กลิ่นรสเปรี้ยว กลิ่นรสขม และกลิ่นรสฝาด (ตารางที่ 4.7) พบว่า ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตทั้ง 4 ตัวอย่างทดลอง มีค่าเฉลี่ยคะแนนคุณภาพด้านกลิ่นรสไม่แตกต่างกัน ($P<0.05$) โดยมีช่วงคะแนนคุณภาพดังนี้ คะแนนเฉลี่ยกลิ่นรสหวาน 0.73-0.90 กลิ่นรสเปรี้ยว 5.04-6.16 กลิ่นรสขม 0.58-1.11 และ กลิ่นรสฝาด 0.99-1.58

คุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านความรู้สึกที่รับรู้ได้ภายหลังการกลืนกิน (aftertaste) ของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ทำการประเมิน ได้แก่ ความเหนียวติดลิ้น (mouth coating thickness) ลักษณะคล้ายผงชอล์กติดลิ้น (chalkiness) ความขม (bitter) และความฝาด (tart) จากการประเมินพบว่า ค่าเฉลี่ยคุณภาพด้านความรู้สึกที่รับรู้ได้ภายหลังการกลืนกินในแต่ละคุณลักษณะของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตทั้ง 4 ตัวอย่าง ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) ดังตาราง 4.7 ยกเว้นลักษณะคล้ายผงชอล์กติดลิ้นของโยเกิร์ต YC380 มีคะแนนเฉลี่ยต่ำสุด ($P<0.05$) ในขณะที่โยเกิร์ต YC380-TISTR1338 YC380-TISTR1401 และ YC380-TISTR1338/1401 มีคะแนนเฉลี่ยคุณภาพดังกล่าว 2.12 1.81 และ 2.33 ตามลำดับ

ค่าเฉลี่ยคะแนนการยอมรับผลิตภัณฑ์ของผู้ทดสอบชิมต่อคุณภาพด้านกลิ่นของผลิตภัณฑ์ โยเกิร์ต พบว่า โยเกิร์ตทั้ง 4 ตัวอย่างทดลอง มีค่าเฉลี่ยคะแนนการยอมรับด้านกลิ่นไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$) คือมีคะแนน 6.07 5.22 5.12 และ 5.17 สำหรับตัวอย่างโยเกิร์ต YC380 YC380-TISTR1338 YC380-TISTR1401 และ YC380-TISTR1338/1401 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.7) ส่วนค่าเฉลี่ยคะแนนการยอมรับที่ผู้ทดสอบชิมมีต่อคุณภาพด้านกลิ่นรส และค่าเฉลี่ยคะแนนการยอมรับโดยรวมที่ผู้ทดสอบชิมมีต่อผลิตภัณฑ์ในแต่ละตัวอย่างทดลองมีค่าใกล้เคียงกัน ยกเว้นโยเกิร์ต YC380 มีค่าเฉลี่ยคะแนนการยอมรับสูงกว่าตัวอย่างทดลองอื่น ๆ ทั้งค่าการยอมรับด้านกลิ่นรสและค่าการยอมรับโดยรวม คือ มีคะแนน 5.91 และ 6.85 ตามลำดับ ในขณะที่ตัวอย่างทดลอง YC380-TISTR1338 YC380-TISTR1401 และ YC380-TISTR1338/1401 มีคะแนนการยอมรับช่วง 4.14-4.77 และ 5.01-5.23 สำหรับคะแนนการยอมรับด้านกลิ่นรส และค่าการยอมรับโดยรวมที่ผู้ทดสอบชิมมีต่อผลิตภัณฑ์ ตามลำดับ (ตาราง 4.7)

บทที่ 5
บทสรุปและข้อเสนอแนะ

5.1 บทสรุป

จากการทดสอบความสามารถในการสร้าง conjugated linoleic acid (CLA) ของแบคทีเรียกรดแล็กติก ในอาหารเหลว MRS broth ที่เติมกรดไขมันลิโนเลอิกเป็นสารตั้งต้น พบว่าแบคทีเรียกรดแล็กติก TISTR894 และ TISTR1338 สามารถสร้าง CLA และให้ปริมาณ CLA สูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) 2 อันดับแรก โดยให้ปริมาณ CLA ทั้งหมดเป็น 32.72 และ 23.33 ไมโครกรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 10 มิลลิลิตร และพบว่าแบคทีเรียกรดแล็กติก TISTR1401 ให้ปริมาณ CLA ทั้งหมดในอาหารเลี้ยงเชื้อในปริมาณค่อนข้างสูงเช่นกัน

เมื่อนำแบคทีเรียกรดแล็กติกที่สามารถสร้าง CLA จากการทดสอบ คือ แบคทีเรียกรดแล็กติก *Lactobacillus acidophilus* TISTR 1338 และ *Lactococcus lactis* TISTR1401 มาใช้เป็นกล้าเชื้อในการผลิตโยเกิร์ตชนิด set yoghurt ร่วมกับกล้าเชื้อทางการค้า YC380 พบว่าการผสมแบคทีเรียกรดแล็กติกร่วมกับกล้าเชื้อทางการค้า มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณ CLA ทั้งหมดในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยภายหลังกระบวนการหมัก พบว่าผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ผลิตด้วยกล้าเชื้อที่มีการผสมแบคทีเรียกรดแล็กติกที่สร้าง CLA มีค่าเฉลี่ย CLA ทั้งหมดต่อตัวอย่าง 100 กรัมในปริมาณสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) คือ 21.05 20.46 และ 21.60 มิลลิกรัม ซึ่งมีการเพิ่มขึ้นของ CLA คิดเป็นร้อยละ 26 23 และ 30 สำหรับผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่มีการผสมแบคทีเรีย YC380-TISTR1338 YC380-TISTR1401 และ YC380-TISTR1338/TISTR1401 ตามลำดับ

เมื่อนำผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ได้จากการผลิต โดยใช้กล้าเชื้อผสมระหว่างแบคทีเรียกรดแล็กติกที่สร้าง CLA และกล้าเชื้อจุลินทรีย์โยเกิร์ตทางการค้ามาทดสอบคุณภาพ โดยการศึกษาองค์ประกอบทางเคมี คุณลักษณะทางกายภาพ คุณลักษณะเนื้อสัมผัส ลักษณะโครงสร้างภายใน และคุณภาพทางประสาทสัมผัส เปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ผลิตด้วยกล้าเชื้อทางการค้า พบว่าแบคทีเรียกรดแล็กติกที่สร้าง CLA นี้ ไม่ส่งผลให้เกิดความความแตกต่างของปริมาณโปรตีน ไขมัน และปริมาณของแข็งทั้งหมดในผลิตภัณฑ์ set yoghurt ที่ได้ แต่โยเกิร์ตที่มีแบคทีเรียผสม YC380 และ TISTR1401 ให้ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดแล็กติกสูงกว่าตัวอย่างควบคุม นอกจากนี้ยังพบว่า แบคทีเรียกรดแล็กติกที่สร้าง CLA ที่ผสมในกล้าเชื้อสำหรับกระบวนการหมักโยเกิร์ตนี้ ไม่ทำให้เกิดการแยกชั้นของน้ำหางนม และไม่มีผลต่อความสามารถในการกักเก็บน้ำของโครงสร้างเจลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ยกเว้นความสามารถในการกักเก็บน้ำของเจลโยเกิร์ตในตัวอย่างที่มี

การเติม YC380-TISTR1338 ที่พบว่ามีค่ามากที่สุด จากการศึกษาโครงสร้างภายในของ set yoghurt ที่ได้จากกระบวนการหมักด้วยกล้าเชื้อทางการค้าร่วมกับแบคทีเรียกรดแล็กติกที่สร้าง CLA ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่า โครงสร้างภายในของโยเกิร์ตที่มี YC380-TISTR1401 มีลักษณะของโครงข่ายโปรตีนที่เรียงตัวกันแน่นไม่เป็นระเบียบ และพบรูพรุนน้อยมาก ในขณะที่โยเกิร์ตที่มี TISTR1338 มีลักษณะโครงสร้างภายในเป็นโครงข่ายร่างแหสามมิติ เรียงตัวเป็นระเบียบ มีรูพรุนขนาดเล็กกระจายสม่ำเสมออยู่ภายในโครงสร้างเจล คล้ายลักษณะโครงสร้างภายในของโยเกิร์ตตัวอย่างควบคุม และจากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส แสดงให้เห็นว่า โยเกิร์ตที่หมักด้วยกล้าเชื้อทางการค้า YC380 และที่มีการผสมแบคทีเรียกรดแล็กติกที่สร้าง CLA มีคะแนนการยอมรับด้านกลิ่น รวมถึงการยอมรับด้านกลิ่นรสไม่แตกต่างกัน และมีคะแนนการยอมรับโดยรวมน้อยกว่าโยเกิร์ตตัวอย่างควบคุมเล็กน้อย

จะเห็นได้ว่าการนำแบคทีเรียกรดแล็กติกที่มีความสามารถสูงในการผลิต CLA (*Lb. acidophilus* TISTR1338 และ *Lc. lactis* TISTR1401) มาใช้ประโยชน์ในกระบวนการผลิตโยเกิร์ตให้ได้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณ CLA สูงขึ้น โดยอาศัยคุณสมบัติที่ดีและความสามารถสูงในการผลิต CLA ของแบคทีเรียกรดแล็กติกนี้ ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่มีปริมาณ CLA เพิ่มขึ้น และโยเกิร์ตที่ผลิตโดยกระบวนการหมักด้วยแบคทีเรียกรดแล็กติกนี้ยังมีคุณภาพดีทั้งด้านเคมี และทางกายภาพ ไม่แตกต่างจากโยเกิร์ตตัวอย่างควบคุมที่ผลิตด้วยจุลินทรีย์ทางการค้า รวมถึงมีคุณภาพทางประสาทสัมผัสใกล้เคียงกับโยเกิร์ตตัวอย่างควบคุม

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 เนื่องจากไขมันนมมีปริมาณกรดไขมันลิโนเลอิกซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสร้าง CLA การผลิตโยเกิร์ตให้มีปริมาณ CLA เพิ่มขึ้นนี้จึงควรมีการใช้น้ำมันที่อุดมด้วยกรดไขมันดังกล่าวทดแทนไขมันนมบางส่วนในการเตรียมส่วนผสมโยเกิร์ตเริ่มต้น

5.2.2 เนื่องจากสภาวะที่เป็นกรดมีผลยับยั้งการสร้าง CLA ของแบคทีเรียแลกติกได้ จึงควรยืดระยะเวลาเริ่มต้นของกระบวนการหมัก ให้มีระยะเวลาที่ค่าความเป็นกรดด่างของน้ำนมเป็นกลางเพียงพอต่อการสร้าง CLA

5.2.3 เพื่อปรับปรุงคุณลักษณะเนื้อสัมผัส และคุณภาพด้านประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตที่ได้ให้ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคเพิ่มมากขึ้น อาจมีการเติมสารเพิ่มความคงตัว สารให้ความหวาน หรือมีการเติมผลไม้ที่มีรสชาติหวานลงไปในผลิตภัณฑ์ที่ได้

รายการอ้างอิง

จารุวรรณ์ ศิริพรรณพร. (2543). โยเกิร์ต อาหารเพื่อสุขภาพ. **อาหาร.** 4: 292 – 296.

วิเชียร ลีลาวัชรมาศ. (2541). โปรไบโอติก: อาหารสุขภาพสำหรับมนุษย์และสัตว์. จาร์พา. 49: 31-35.

วิรุฬห์ มังคละวิรัช และ สุวิทย์ ปุณณชัยยะ. (2534). กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน. ศูนย์เครื่องมือวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 1:129-165.

Axelsson L. (1998). Lactic Acid Bacteria : classification and physiology. Pp. 1-72. In Saliminen ,S., and Wright, A. von (eds). **Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects.** (2nd ed.). Marcel Dekker, Inc. New York..

Axelsson L. (2004). Lactic Acid Bacteria : classification and physiology. Pp. 1-66. In Saliminen ,S., Wright, A. von, and Ouwehand,A (eds). **Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects.** (3rd ed.). Marcel Dekker, Inc. Newyork..

Alonso, L., Cuesta, E.P., and Gilliland, S.E. (2003). Production of free conjugated linoleic acid by *Lactobacillus acidophilus* and *Lactobacillus casei* of human intestinal origin. **J. Dairy Sci.** 86:1941-1946.

Amatayakul, T., Halmos, A.L., Sherkat, F., and Shah, N.P. (2006a). Physical characteristics of yoghurts made using exopolysaccharide-producing starter cultures and varying casein to whey protein ratios. **Inter. Dairy J.** 16:40-51.

Amatayakul, T., Sherkat, F., and Shah, N.P. (2006b). Physical characteristics of set yoghurt made with altered casein to whey protein ratios and EPS-producing starter cultures at 9 and 14% total solids. **Inter. Dairy J.** 20:311-324.

AOAC International. (2000). **Official Methods of Analysis of AOAC International.** 17th ed. AOAC International, Gaithersburg. MD, USA.

Ayebo, A.D., Shahani, K.M., and Dam, R. (1981). Antitumor component of yoghurt fractionation. **J. Dairy Sci.** 64: 2318-2324.

Belury, M. A., Nickel, K. P., Bird, C. E., and Wu, Y. (1996). Dietary conjugated linoleic acid modulation of phorbol ester skin tumor promotion. **Nutr. Cancer**. 26: 149-157.

Bessa, R. J. B., Silva, J. S., Ribeiro, J. M. R., and Portugal, A. V. (2000). Reticulo-rumen biohydrogenation and the enrichment edible products with linoleic acid conjugated isomers. **Levestock Prod. Sci.** 63: 201-211.

Chin, S. F., Liu, W., Storkson, J. M. Ha, Y. L., and Pariza, M. W. (1992). Dietary sources of conjugated linoleic acid isomers of linoleic acid, a newly recognized class of anticarcinogens. **J. Food Comp. Anal.** 5: 185-197.

Chin, S.F., Storkson, J. M., Liu, W., Albright, K. J., and Pariza, M. W. (1994). Conjugated linoleic acid (9,11- and 10,12-octadecadienoic acid) is produced in conventional but not germ free rats fed linoleic acid. **J. Nutr.** 124:694-701.

Choi, Y., Park, Y., Storkson, J. M., Pariza, M. W., and Ntambi, J. M. (2002). Inhibition of stearoyl-CoA desaturase activity by the cis-9,trans-11 isomer and ther trans-10,cis-12 isomer of conjugated linoleic acid in MDA-MB-231 and MCF-7 human breast cancer cells. **Biochem. Biophy. Res. Com.** 294:785-790.

Choi, N. J., Imm, J. Y., Oh, S., Kim, B. C., Hwang, H. J., and Kim, Y. J. (2005). Effect of pH and oxygen on conjugated linoleic acid (CLA) production by

mixed rumen bacteria from cows fed high concentrate and high forage diets. Animal Feed Sci. Tech. 123-124, Part 2: 643-653.

Coakley, M., Ross, R. P., Nordgren, M., Fitzgerald, G., Devery, R., and Stanton, C. (2003). Conjugated linoleic acid biosynthesis by human-derived *Bifidobacterium* species. **J. Appl. Microbiol.** 94: 138-145.

Corl, B. A., Baumgard, L. H., Dwyer, D. A., Griinari, J. M., Phillips, B. S., and Bauman, D. E. (2001). The role of Δ^9-desaturase in the production of cis-9,trans-11 CLA. **J. Nutr. Biochem.** 12:622-630.

Dave, R. I., and Shah, N. P. (1998). Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt. **J. Dairy Sci.** 81:2804-2816.

Ens, J. G., Ma, D. W. L., Cole, K. S., Field, C. J., and Clandinin, M. T. (2001). An assessment of c9,t11 linoleic acid intake in a small group of young Canadians. **Nutr. Res.** 21:955-960.

Evans, M., Brown, J., and McIntosh, M. (2002). Isomer-specific effects of conjugated linoleic acid (CLA) on adiposity and lipid metabolism: Reviews. **J. Nutr Biochem.** 13: 508-516.

Fernandez-Garcia, E., McGregor, J. U., and Traylor, S. (1998). The addition of oat fiber and nature alternative sweeteners in the manufacture of plain yogurt. **J. Dairy Sci.** 81:655-663.

Fiszman, S. M., Lluch, M. A., and Salvador, A. (1999). Effect of addition of gelatin on microstructure of acidic milk gels and yoghurt and on their rheological properties. **Inter. Dairy J.** 9: 895-901.

Folkenberg, D. M., Dejmek, P., Skriver, A., Guldager, H. S., and Ipsen, R. (2006). Sensory and rheological screening of exopolysaccharide producing strains of bacterial yoghurt cultures. **Inter. Dairy J.** 16:111-118.

Griinari, J., Cori, B., Lacy, S., Chouinard, P., Nuemela, K., and Bauman, D. (2000). Conjugated linoleic acid synthesized endogenously in lactating dairy cows by delta-9 desaturase. **J. Nutr.** 130: 2285-2291.

Ha, Y. L., Grimm, N. K., and Pariza, M. W. (1987). Anticarcinogens from fried ground beef: heat-alterderivatives of linoleic acid. **Carcinogenesis.** 8:1881-1887.

Ham, J. S., In, Y. M., Jeong, S. G., Kim, J. G., Lee, E. H., Kim, S. H., Yoon, S. K., and Lee, B. H. (2002). Screening of conjugated linoleic acid producing lactic acid bacteria from fecal samples of healthy babies. **Asian Australasian J. Animal Sci.** 15: 1031-1035.

Hassan, A. N., Frank, J. F., Schmidt, K. A., and Shalabi, S. I. (1996). Textural properties of yogurt made with encapsulated nonropy lactic cultures. **J. Dairy Sci.** 79:2098-2103.

Hassan, A. N., Ipsen, R., Janzen, T., and Qvist, K. B. (2003). Microstructure and rheology of yoghurt made with cultures differing only in their ability to produce exopolysaccharides. **J. Dairy Sci.** 86: 1632-1638.

Hermanson, A. M., Langton, M., and Loren, N. (2000). **New approaches to characterizing food microstructure [On-line].** Available: www.mrs.org/publications/bulletin.htm.

Holman, R. T., and Mahfouz, M. M. (1981). Cis and trans- octadecenoic acids as precursors of polyunsaturated acids. **Lipid Res.** 20:151-156.

Hubbard, N. E., Lim, D., and Erickson, K. L. (2003). Effect of separate conjugated linoleic acid isomers on murine mammary tumorigenesis. **Cancer Lett.** 190:13-19.

Hughes, P. E., Hunter, W. J., and Tove, S. B. (1982). Biohydrogenation of unsaturated fatty acids. Purification and properties of cis-9, trans-11 octadecadienoate reductase. **J. Biol. Chem.** 257: 3643-3649.

Isaacs, C. E., and Lampe, M. F. (2000). Natural Food Antimicrobial Systems : Lactolipids. Pp. 159-182. In Naidu, A. S. (ed). **Natural Food Antimicrobial Systems.** CRC Press, Washington, D.C.

Jiang, J., Bjorck, L., and Fonden, R. (1998). Production of conjugated linoleic acid by dairy starter cultures. **J. Appl Microbiol.** 85:85-102.

Jung, M., Yoon, S., and Jung, M. (2001). Effects of temperature and agitation rate on the formation of conjugated linoleic acid in soybean oil during hydrogenation. **J. Agric Food Chem.** 49: 3010-3016.

Katsiari, M. C., Voutsinas, L. P., and Kondyli, E. (2002). Manufacture of yoghurt from stroed frozen sheep's milk. **Food Chem.** 77:413-420.

Kelly, M., Kolver, E., Bauman, D., Van Amburgh, M., and Muller, L. (1998). Effects of intake of pasture on concentrations of conjugated linoleic acid in milk of lactating cows. **J. Dairy Sci.** 81: 1630-1636.

Kim, Y. J., and Liu, R. H. (2002). Increase of conjugated linoleic acid content in milk by fermentation with lactic acid bacteria. **J. Food Sci.** 67: 1731-1737.

Kishino, S., Ogawa, J., Omura, Y., Matsumura, K. And Shimizu, S. (2002). Conjugated linoleic acid production from linoleic acid by lactic acid bacteria. **J. Am. Oil Chem. Soc.** 79: 159-163.

Kumar, P., and Mishra, H. N. (2004). Mango soy fortified set yoghurt: effect of stabilizer addition on physicochemical, sensory and textural properties. **Food Chem.** 87:501-507.

Leung, Y. J., and Liu, R. H. (2000). trans-10,cis-12-Conjugated linoleic acid isomer exhibits stronger oxyradical scavenging capacity than cis-9,trans-11-conjugated linoleic acid isomer. **J. Agri. Food Chem.** 48: 5469-5475.

Lin, H., Boylston, T., Chang, M., Luedecke, L., and Shultz, T. (1995). Survey of the conjugated linoleic acid contents of dairy products. **J. Dairy Sci.** 78:2358-2365.

Lin, H., Boylston, T., Luedecke, L., and Shultz, T. (1998). Factors affecting the conjugated linoleic acid content of cheddar cheeses. **J. Agric Food Chem.** 46: 801-807.

Lin, H., Boylston, T., Luedecke, L., and Shultz, T. (1999a). Conjugated linoleic acid content of cheddar-type cheeses as affected by processing. **J. Food Sci.** 64: 874-878.

Lin, T. Y., Lin, C. W., and Lee, C. H. (1999b). Conjugated linoleic acid concentration as affected by lactic cultures and added linoleic acid. **Food Chem.** 67: 1-5.

Lin, T. Y., Lin, C. W., and Wang, Y. J. (2002). Linoleic acid isomerase activity in enzyme extracts frome *Lactobacillus acidophilus* and *Propionibacterium freudenrichii* subsp. *shermanii*. **J. Food Sci.** 67: 1502-1505.

Lin, T. Y., Hung, T.-H., and Cheng, T.-S.J. (2005). Conjugated linoleic acid production by immobilized cells of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Lactobacillus acidophilus*. **Food Chem.** 92:23-28.

Lin, T. Y. (2006). Conjugated linoleic acid production by cells and enzyme extract of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* with additions of different fatty acids. **Food Chem.** 94:437-441.

Ma, D. W. L., Wierzbicki, A. A., Field, C. J., and Clandinin, M. T. (1999). Conjugated linoleic acid in Canadian dairy and beef products. **J. Agric. Food Chem.** 47: 1956-1960.

Metchnikoff, E. (1908). **The prolongation of life.** (1977 reprint). Arno Press. New York

Murphy, J. J., Connolly, J. F., and McNeill, G. P. (1995). Effects on cow performance and milk fat composition of feeding full fat soyabeans and rapeseeds to dairy cows at pasture. **Levestock Prod. Sci.** 44: 13-25.

National Cattlemen's Beef Association .(1999). Conjugated linoleic acid and dietary beef-an update.

Ogawa, J., Matsumura, K., Kishino, S., Omura, Y., and Shimisu, S. (2001). Conjugated linoleic acid accumulation via 10-hydroxy-12-octadecaenoic acid during microaerobic transformation of linoleic acid by *Lactobacillus acidophilus*. **Appl. Environ. Microbiol.** 67:1246-1252.

Pariza, M. W, Ha, Y., and Grimm, N. (1987). Anticarcinogens from fried ground beef: heat altered derivatives of linoleic acid. **Carcinogenesis.** 8: 1881-1887.

Pariza, M. W., and Yang X.-Y. (1999). Method of producing conjugated linoleic acid. **US. Patent,** 5856149, 1-12.

Pariza, M. W., and Yang X.-Y. (2000). Method of producing conjugated fatty acid. **US. Patent,** 6060304, 1-12.

Parodi, P. W. (1999). Conjugated linoleic acid and other anticarcinogenic agents of bovine milk fat. **J. Dairy Sci.** 82:1339-1349.

Parnell-Clunies, E. M., Kakuda, Y., Mullen, K., Arnott, D. R., and deMan, J. M. (1986). Physical property of yoghurt: a comparison of vat versus continuous heating systems of milk. **J. Dairy Sci.** 69:2593-2603.

Peterson, D. G., Kelsey, J. A., and Bauman, D. E. (2002). Analysis of variation in cis-9,trans-11 conjugated linoleic acid (CLA) in milk fat dairy cows. **J. Dairy Sci.** 85:2164-2172.

Pollard, M. R., Guntone, F. D., Jame, A. T., and Morris, L. J. (1980). Desaturation of positional and geometric isomers of monoenoic fatty acids by microsomal preparations from rat liver. **Lipid.** 15: 306-314.

Puvanenthiran, A., Williams, R. P. V., and Augustin, M. A. (2002). Structure and visco-elastic properties of set yoghurt with altered casein to whey protein ratios. **Inter. Dairy J.** 12:383-391.

Reddy, G. V., Friend, B. A., Shahani, K. M., and Farmer, R. E. (1983). Antitumor activity of yoghurt components. **J. Food Protect.** 46: 8-110.

Robison, R. K. (1999). Fermented milk: Yoghurt. **Encyclopedia of Food Microbiology.** Academic Press. New York.

Schmid, A., Collomb, R., Sieber, R., and Bee, G. (2006). Conjugated linoleic acid in meat and meat products: A review. **Meat Sci**. 72: 29-41.

Shantha, N. C., Crum, A. D., and Decker, E. A. (1994). Evaluation of conjugated linoleic acid concentrations in cooked beef. **J. Agric. Food Chem.** 42:1757-1760.

Shantha, N. C., Ram, L. N., Leary, J. O., Hicks, C. L., and Decker, E. A. (1995). Conjugated linoleic acid concentrations in dairy products as affected by processing and storage. **J. Food Sci.** 60:695-697.

Spreer, E. (1998). **Milk and Dairy Product Technology.** Marcel Dekker Inc, New York.

Stiles, M. B., and Holzapfel, W. H. (1997). Lactic acid bacteria of food and there current taxonomy. Inter. J. Food Mocrobiol. 36: 1-29.

Tamine, A. Y., and Robinson, R. K. (1999). **Yoghurt Science and Technology**. 2nd ed. Woodhead Publishing Ltd, Cambridge.

Trachoo, N., and Mistry, V. V. (1998). Application of ultrafiltered sweet buttermilk and sweet buttermilk powder in the manufacture of nonfat and low fat yoghurts. **J. Dairy Sci.** 81:3163-3171.

www. Health-n-energy.com. (2001). **Current research on CLA or lipean (conjugated linoleic acid)** [On-line].

Yamasaki, M., Chujo, H., Koga, Y., Oishi A, Rikimaru T, Shimada, M., Sugimashi, K., Tachibana, H., and Yamada, K. (2002). Potent cytotoxic of the trans10, cis12 isomer of conjugated linoleic acid on rat hepatoma dRLh-84 cells. **Cancer Lett.** 188 :171-180.

Yu, L. (2001). Free radical scavenging properties of conjugated linoleic acids. **J. Agric. Food Chem.** 49: 3452-3456.

Yu, L., Adams, D., and Gabel, M. (2002). Conjugated linoleic acid isomers differ in their free radical scavenging properties. **J. Agric. Food Chem.** 50: 4135-4140.

Yu, L., Adams, D., and Watkins B. A. (2003). Compaison of commercial supplements containing conjugatrd linoleic acids. **J. Food Comp. Anal.** 16: 419-428.

Walstra, P., Geurts, T. J., Noomen, A., Jellema, J., and van Boekel M. A. J. S. (1999). **Dairy Technology**: principle of milk properties and processes. Marcel Dekker Inc, New York.

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต

1. การวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด (AOAC 2000)

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างโยเกิร์ตน้ำหนักแน่นอนประมาณ 10 กรัม
2. ผสมน้ำอุ่นอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ให้ได้ปริมาตรเป็น 105 มิลลิเมตร
3. เขย่าอย่างแรงให้ผสมเป็นเนื้อเดียวกัน และกรองตัวอย่างที่ผสมเป็นเนื้อเดียวกันกับน้ำผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1
4. ไทเทรตสารละลายส่วนใสปริมาตร 25 มิลลิลิตร (แทนตัวอย่าง 2.5 กรัม) กับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) มาตรฐานความเข้มข้น 0.1 นอร์มาล และใช้สารละลายฟีนอฟทาลีนเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนัก เป็นอินดิเคเตอร์ จนกระทั่งสีของสารละลายเปลี่ยนจากไม่มีสีเป็นสีชมพู
5. ทำ blank และปฏิบัติตามข้อ 4 โดยไม่เติมตัวอย่าง
6. คำนวณปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดแล็กติก โดย 1 มิลลิลิตร ของปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) มาตรฐานความเข้มข้น 0.1 นอร์มาล ที่ใช้เทียบเท่าปริมาณกรดแล็กติก 0.0090 กรัม จากสูตร

$$\text{Titratable acidity (\%w/w)} = \frac{(A - B)N \times 9}{W \times 2.5}$$

เมื่อ A คือ ปริมาตรด่างที่ใช้ไตเตรทกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B คือ ปริมาตรด่างที่ใช้ไตเตรทกับ blank (มิลลิลิตร)

N คือ ความเข้มข้นของด่าง (นอร์มาล)

W คือ น้ำหนักของตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ (กรัม)

2. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (AOAC 2000)

อุปกรณ์

1. เครื่องย่อยโปรตีน Kjeldatherm (Gerhardt)
2. เครื่องกลั่นไนโตรเจน Vapodest (Gerhardt)

วิธีการ

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างโยเกิร์ตให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 0.5-1.0 กรัม ใส่ลงในหลอดย่อยโปรตีน
2. ใส่สารผสมคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$) และโพแทสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) อัตราส่วน 1:10 ปริมาณ 5 กรัม เพื่อเร่งปฏิกิริยา
3. เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น (H_2SO_4) ปริมาตร 15-20 มิลลิลิตร และสารป้องกันการเกิดโฟม (anti - -foaming agent) 4-5 หยด
4. ย่อยตัวอย่างบนเตาเครื่องย่อยโปรตีนที่อุณหภูมิ 380 องศาเซลเซียส จนได้สารละลายใส ปล่อยให้เย็น
5. จัดอุปกรณ์กลั่น แล้วเปิดสวิทช์ไฟ และเปิดน้ำหล่อเย็นเครื่องควบแน่น
6. ใช้ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ซึ่งบรรจุสารละลายกรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 4 โดยปริมาตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร และเติมอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด เรียบร้อยแล้ว ไปรองรับของเหลวที่กลั่นได้โดยให้ส่วนปลายของอุปกรณ์ควบแน่นจุ่มลงในสารละลายกรดนี้
7. กำหนดให้เครื่องกลั่นเติมน้ำและกลั่นและสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 50 โดยน้ำหนัก และทำการกลั่นประมาณ 7 นาที ล้างปลายอุปกรณ์ควบแน่นด้วยน้ำกลั่นลงในขวดรองรับ
8. ไตเตรทสารละลายที่กลั่นได้กับกรดไฮโดรคลอริกที่มีความเข้มข้นแน่นอน 0.1 นอร์มาล จนกระทั่งสีของสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วง บันทึกปริมาณกรดที่ใช้
9. ทำ blank และปฏิบัติตามข้อ 1-8 โดยไม่เติมตัวอย่าง
10. คำนวณปริมาณโปรตีนจากสูตร

$$\text{Protein content (\%w/w)} = \frac{(\mathrm{A - B})N \times 1.4 \times F}{\mathrm{W}}$$

เมื่อ A คือ ปริมาตรกรดที่ใช้ไตเตรทกับตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

B คือ ปริมาตรกรดที่ใช้ไตเตรทกับ blank (มิลลิลิตร)

N คือ ความเข้มข้นของกรด (นอร์มาล)

F คือ ค่าคงที่สำหรับผลิตภัณฑ์นมคือ 6.38

W คือ น้ำหนักของตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์ (กรัม)

3. **การวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด** (AOAC 2000)

<u>วิธีการ</u>

1. อบภาชนะสำหรับหาความชื้นในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100 ± 1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในตู้ดูดความชื้น
2. อุ่นตัวอย่างให้มีอุณหภูมิที่ 38 ± 1 องศาเซลเซียส และผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน ชั่งตัวอย่างใส่ในภาชนะสำหรับหาความชื้นประมาณ 3 กรัม จดน้ำหนักทันที
3. นำตัวอย่างไปวางในอ่างไอน้ำร้อนเป็นเวลา 25 นาที
4. นำตัวอย่างออกจากอ่างไอน้ำร้อน ไปวางบนชั้นของตู้อบไฟฟ้าที่ตั้งอุณหภูมิไว้ที่ 100 ± 1 องศาเซลเซียส อบตัวอย่างเป็นเวลา 3 ชั่วโมง
5. นำตัวอย่างที่อบแล้วมาทำให้เย็นลงในตู้ดูดความชื้นประมาณ 30 นาที แล้วชั่งน้ำหนักที่แน่นอน
6. คำนวณปริมาณของแข็งทั้งหมดจากสูตร

$$\text{Total solid (\%w/w)} = \frac{\left(W_2 - W\right) - B}{W_1 - W} \times 100$$

เมื่อ W_1 คือ น้ำหนักรวม (กรัม) ของภาชนะบรรจุและตัวอย่างก่อนการอบ

W_2 คือ น้ำหนักรวม (กรัม) ของภาชนะบรรจุและตัวอย่างภายหลังการอบ

B คือ ผลต่างน้ำหนักเฉลี่ยของภาชนะบรรจุก่อนและหลังการอบ

4. การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน (AOAC 2000)

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างโยเกิร์ตให้ได้น้ำหนักแน่นอนประมาณ 18 กรัม ใส่ลงในขวดวิเคราะห์ (Babcock)
2. เติมกรดกำมะถันเข้มข้น (sulfuric acid : H_2SO_4) ปริมาตร 17.6 มิลลิลิตร ลงไปในหลอดวิเคราะห์
3. นำตัวอย่างไปปั่นเหวี่ยงที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที
4. เติมน้ำอุ่นอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ให้เกือบถึงคอขวด นำไปปั่นเหวี่ยงต่ออีก 2 นาที
5. เติมน้ำอุ่น ให้ระดับไขมันอยู่บนสเกลบอกค่าที่ก้านคอขวด ปั่นเหวี่ยงต่ออีก 1 นาที
6. นำขวดวิเคราะห์ตัวอย่างไปวางในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที
7. อ่านปริมาณไขมันที่วิเคราะห์ได้

ภาคผนวก ข

แบบประเมินคุณภาพและคะแนนคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต

วันที่...
ชื่อผู้ทดสอบชิม...
ตัวอย่าง...

Sensorial term for sensory properties of yoghurt

1. ลักษณะปรากฏ
   1.1 Whey separation / Whey off การแยกของน้ำเวย์ออกมาจากโครงสร้างโยเกิร์ตเจล
   1.2 Gel firmness ความคงรูปร่างเดิมของเจลภายหลังการตักเต็มช้อน
   1.3 Surface shine ความมันวาวของผิวหน้าโยเกิร์ต
   1.4 Smoothness ความเนียนเรียบของเนื้อโยเกิร์ต
2. กลิ่น (Aroma)
   2.1 กลิ่นกรด (acidity)
   2.2 กลิ่นนมสด (milky)
   2.3 กลิ่นโยเกิร์ต (acetaldehyde)
   2.4 กลิ่นแปลกปลอม (off – flavor)
3. รสชาติ (Flavor)
   3.1 รสชาติเปรี้ยว (Sour)
   3.2 รสชาติขม (Bitter)
   3.3 รสฝาด (Tart)
4. สิ่งตกค้างภายหลังการกลืน (After taste)
   4.1 ความเหนียวติดลิ้น เพดาน และปาก (Sticky mouth coating)
   4.2 ลักษณะแป้งหรือผงชอล์ก (chalky)
   4.3 รสชาติขม
   4.4 รสฝาด
5. Acceptance การยอมรับต่อผลิตภัณฑ์
   5.1 Aroma
   5.2 Flavor
   5.3 Overall

ชื่อตัวอย่าง Set Yoghurt **วันที่ทดสอบ...**

รหัสตัวอย่าง .... **ชื่อผู้ทดสอบชิม..**

Quantitative Descriptive Analysis (QDA)

กรุณาประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างโยเกิร์ต ชนิด set yoghurt โดยการให้คะแนนในเส้นของคุณลักษณะต่าง ๆ

1. Appearance

1.1 Surface shine

Dull ———————————————— Shiny

1.2 Whey off

Non ———————————————— Much

1.3 Gel firmness

Soggy ———————————————— Firm

1.4 Smoothness

Non ———————————————— Much

2 Aroma

2.1 Sour/ acidity

Non ———————————————— Much

2.2 Milky

Non ———————————————— Much

2.3 Acetaldehyde

Non ———————————————— Much

2.4 Off - flavor

Non ———————————————— Much

3 Flavor

3.1 Sweet

Non ———————————————— Much

3.2 Sour

Non ____ Much

3.3 Bitter

Non ____ Much

3.4 Tart

Non ____ Much

4 Aftertaste

4.1 Sticky mouth Coating

Non ____ Much

4.2 Chalkiness

Non ____ Much

4.3 Bitter

Non ____ Much

4.4 Tart

Non ____ Much

5 Acceptance

5.1 Aroma ____

Not accept Accept

5.2 Flavor ____

Not accept Accept

5.3 Overall ____

Not accept Accept

Comments: ....

....

....

ขอขอบคุณในความร่วมมือ

ตารางที่ 1ข คะแนนคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต YC380

คุณภาพ	คะแนน QDA โยเกิร์ต YC380										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
Surface shine	8.60	6.30	7.75	7.40	8.10	7.70	6.65	9.70	3.50	7.25	7.30
Gel firmness	8.70	5.45	5.30	5.90	7.65	7.30	6.75	9.65	6.55	0.60	6.39
Whey syneresis	0.40	0.00	0.55	0.00	0.10	0.10	0.50	0.20	1.30	1.00	0.42
Smoothness	8.20	9.80	3.65	7.90	8.00	8.90	6.30	10.00	6.50	7.60	7.69
Aroma-Sour	0.25	5.50	3.55	1.90	5.90	5.50	4.80	6.80	2.15	6.65	4.30
Aroma-milky	6.95	3.85	0.80	3.10	1.20	6.45	4.55	2.10	4.20	6.75	4.00
Aroma-acetaldehyde	3.20	5.00	0.70	3.90	5.50	0.20	6.05	7.30	3.45	6.20	4.15
Aroma-off flavor	0.00	0.00	0.00	0.30	0.25	0.10	0.00	0.00	0.00	0.75	0.14
Flavor-Sweet	0.40	0.00	1.45	1.40	0.55	3.20	0.80	0.20	0.00	0.25	0.83
Flavor-Sour	3.80	6.65	5.00	3.10	6.30	4.70	5.20	6.55	6.30	7.50	5.51
Flavor-Bitter	1.00	0.00	0.05	0.10	0.80	0.10	0.00	0.50	2.20	2.75	0.75
Flavor-Tart	1.10	0.20	3.10	1.75	1.80	0.00	0.00	4.20	2.20	1.35	1.57
Aftertaste-mouth coating	8.55	3.25	2.55	2.40	2.30	1.80	0.00	7.05	0.30	3.05	3.13
Aftertaste-Chalkiness	0.45	0.00	0.55	0.50	0.15	0.10	0.00	0.00	0.00	2.45	0.42
Aftertaste-Bitter	0.75	0.00	0.00	0.20	0.90	0.05	0.00	0.10	0.00	2.00	0.40
Aftertaste-Tart	0.80	0.10	2.25	1.60	1.45	0.00	0.00	2.40	0.00	1.05	0.97
Aroma Acceptance	4.25	6.00	6.80	7.90	6.85	7.90	5.60	4.50	3.30	7.60	6.07
Flavor Acceptance	4.80	5.55	1.80	7.50	6.30	7.95	6.15	8.10	4.40	6.50	5.91
Overall Acceptance	6.60	6.20	3.90	8.20	7.50	8.80	6.05	9.40	4.40	7.45	6.85

ตารางที่2ข คะแนนคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต YC380-TISTR1338

คุณภาพ	คะแนน QDA โยเกิร์ต YC380-TISTR1338										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
Surface shine	2.70	3.60	4.10	5.70	5.30	5.40	6.00	5.85	5.40	7.30	5.14
Gel firmness	8.60	5.40	3.00	3.20	2.20	5.10	5.20	3.50	4.15	3.40	4.38
Whey syneresis	1.05	0.45	0.90	0.15	0.70	1.20	0.80	2.55	1.70	2.00	1.15
Smoothness	1.35	6.60	2.90	5.45	1.70	5.15	4.90	9.50	6.10	7.40	5.11
Aroma-Sour	0.60	5.45	3.05	2.10	5.20	6.70	5.60	6.45	2.50	7.70	4.54
Aroma-milky	7.55	2.50	3.00	3.90	1.50	5.70	4.05	1.90	4.30	3.40	3.78
Aroma-acetaldehyde	8.10	0.55	1.40	3.30	4.65	2.00	6.95	6.40	3.20	7.85	4.44
Aroma-off flavor	0.00	0.00	1.40	1.00	0.35	0.10	0.00	0.10	0.00	1.05	0.40
Flavor-Sweet	0.15	0.00	1.15	1.55	0.90	2.40	0.40	0.55	0.00	0.15	0.73
Flavor-Sour	1.50	6.10	4.30	3.70	4.20	6.30	5.15	6.85	5.30	7.00	5.04
Flavor-Bitter	0.20	0.00	1.10	0.20	1.60	1.00	0.00	0.40	0.50	0.80	0.58
Flavor-Tart	0.50	0.15	3.15	1.35	0.90	0.15	0.15	6.25	0.40	1.00	1.40
Aftertaste-mouth coating	7.60	6.30	3.60	4.65	2.50	2.20	1.40	6.30	0.20	3.40	3.82
Aftertaste-Chalkiness	0.40	0.00	1.95	8.20	1.60	3.85	1.10	0.40	0.00	3.70	2.12
Aftertaste-Bitter	0.30	0.00	2.00	2.75	1.60	1.10	0.00	0.10	0.00	0.55	0.84
Aftertaste-Tart	0.80	0.10	6.00	2.70	1.00	0.10	0.10	3.70	0.00	0.20	1.47
Aroma Acceptance	8.50	6.00	3.10	4.50	3.70	4.40	5.45	4.00	4.30	8.25	5.22
Flavor Acceptance	6.90	5.00	1.40	5.00	2.45	3.60	6.25	4.20	6.20	6.70	4.77
Overall Acceptance	9.00	5.60	0.70	4.10	4.25	3.70	5.65	6.10	6.15	7.00	5.23

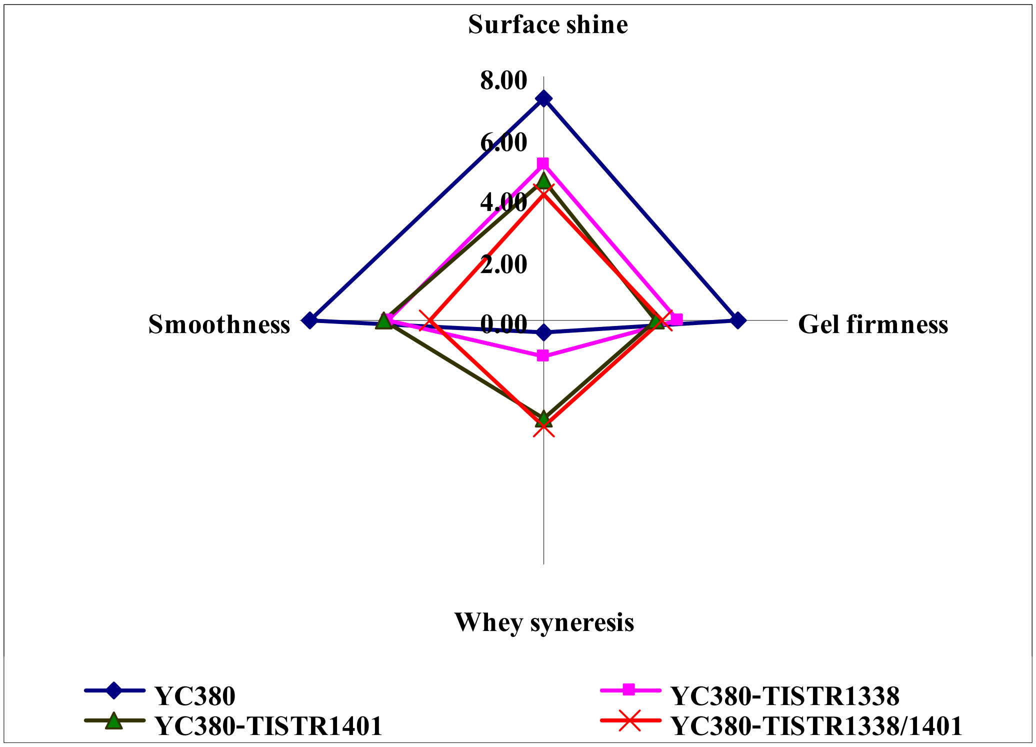
ตารางที่3ข คะแนนคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต YC380-TISTR1401

คุณภาพ	คะแนน QDA โยเกิร์ต YC380-TISTR1401										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
Surface shine	7.40	3.00	6.90	3.70	4.30	0.95	5.30	6.60	1.55	5.90	4.56
Gel firmness	7.95	5.25	2.20	1.50	1.10	2.90	6.40	5.30	1.55	2.70	3.69
Whey syneresis	1.70	0.20	7.00	5.00	0.90	1.45	3.30	1.70	4.45	6.35	3.21
Smoothness	6.95	5.55	5.85	0.50	0.55	7.00	5.20	9.75	4.50	6.50	5.24
Aroma-Sour	1.00	5.60	6.00	1.35	4.40	6.90	5.70	4.05	1.00	7.05	4.31
Aroma-milky	5.15	2.80	1.80	1.40	0.90	3.95	6.60	0.70	4.60	5.90	3.38
Aroma-acetaldehyde	1.50	0.45	4.25	2.35	3.65	1.30	7.10	3.55	2.20	5.80	3.22
Aroma-off flavor	0.50	0.00	0.65	6.40	0.60	0.10	0.00	0.00	0.00	3.00	1.13
Flavor-Sweet	0.25	0.00	1.50	2.40	0.35	2.10	0.10	0.20	0.00	0.40	0.73
Flavor-Sour	5.45	6.35	6.05	3.55	3.60	8.60	7.90	6.60	5.70	7.80	6.16
Flavor-Bitter	5.15	0.20	1.10	0.40	1.25	0.50	0.00	0.00	1.40	1.10	1.11
Flavor-Tart	0.60	0.60	1.10	2.00	1.80	0.10	0.20	1.15	1.40	0.90	0.99
Aftertaste-mouth coating	7.75	4.60	2.55	2.40	2.65	2.70	0.00	5.20	0.50	2.50	3.09
Aftertaste-Chalkiness	1.05	0.10	1.10	7.65	1.40	4.80	0.00	0.00	0.00	2.00	1.81
Aftertaste-Bitter	4.05	0.10	0.95	1.05	1.50	0.50	0.00	0.00	0.00	1.10	0.93
Aftertaste-Tart	1.00	0.30	4.70	4.00	1.50	0.10	0.00	0.60	0.00	0.70	1.29
Aroma Acceptance	5.20	5.20	5.60	2.70	2.65	5.80	6.90	5.30	4.25	7.60	5.12
Flavor Acceptance	5.10	5.20	1.80	1.40	2.65	3.80	5.65	7.80	5.65	7.75	4.68
Overall Acceptance	5.70	5.00	1.75	2.10	3.70	5.30	5.60	8.35	5.60	8.20	5.13

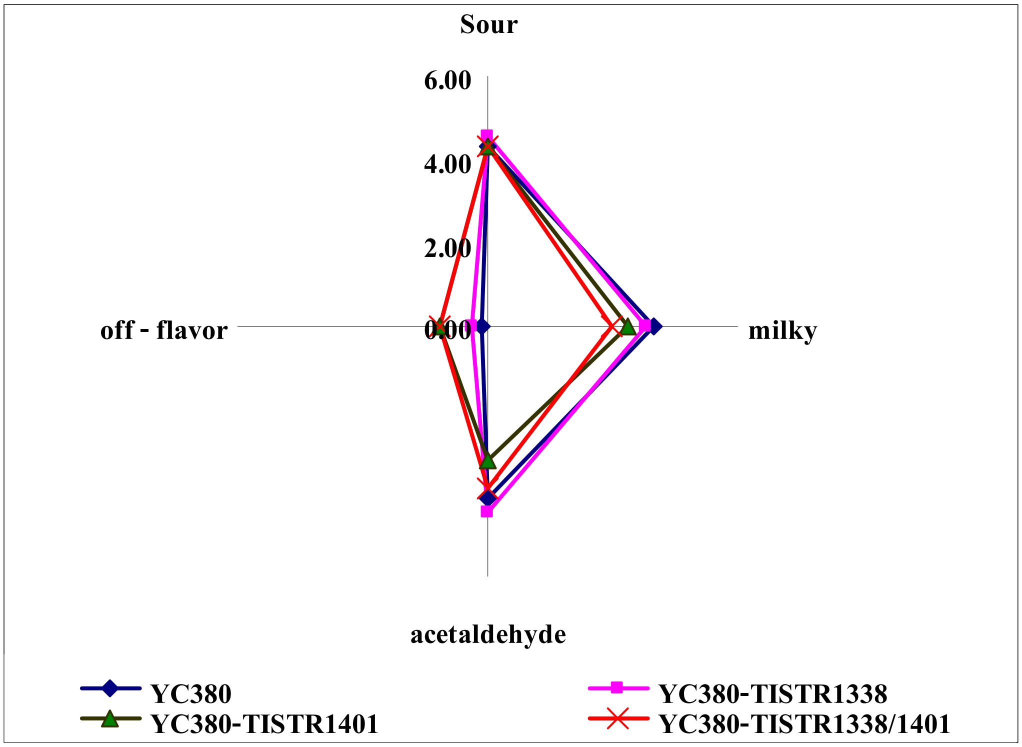
ตารางที่4ข คะแนนคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต

YC380-TISTR1338/1401

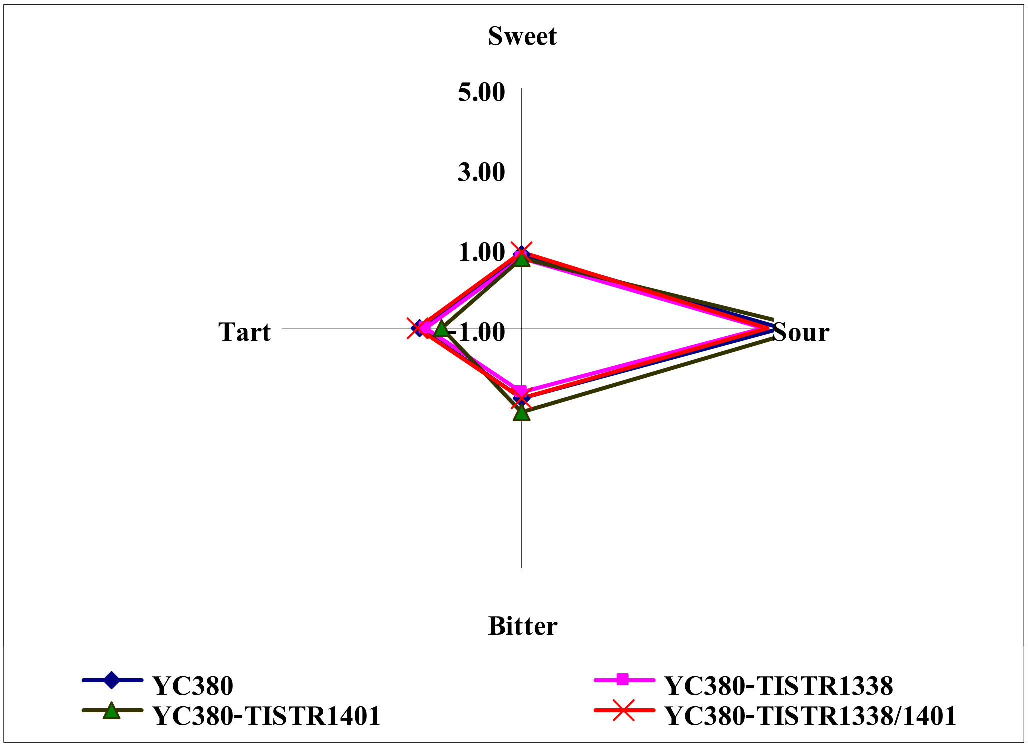
คุณภาพ	คะแนน QDA โยเกิร์ต YC380-TISTR1338/1401										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	เฉลี่ย
Surface shine	5.90	4.65	1.70	0.40	5.95	2.60	4.85	6.20	2.60	6.20	4.11
Gel firmness	9.25	5.50	4.70	0.50	3.55	3.90	4.80	1.80	2.60	2.30	3.89
Whey syneresis	1.40	3.30	4.80	6.10	1.20	4.90	1.55	3.65	5.25	2.75	3.49
Smoothness	0.55	5.90	0.80	0.55	1.70	6.45	4.25	9.40	2.60	5.35	3.76
Aroma-Sour	0.85	5.40	5.90	3.40	4.40	5.65	4.40	5.80	1.40	6.00	4.32
Aroma-milky	2.70	4.30	1.70	1.20	1.40	4.75	3.40	3.10	4.20	2.90	2.97
Aroma-acetaldehyde	5.55	1.65	4.25	2.10	4.40	0.55	6.10	5.30	2.90	6.15	3.90
Aroma-off flavor	0.00	0.00	0.60	7.90	0.40	0.05	0.00	0.15	0.00	2.55	1.17
Flavor-Sweet	0.15	0.00	0.60	1.80	0.90	4.35	0.70	0.15	0.00	0.30	0.90
Flavor-Sour	1.50	6.90	4.40	5.80	5.20	5.20	5.00	7.70	6.05	3.60	5.14
Flavor-Bitter	0.85	0.20	1.45	0.70	1.40	0.30	0.00	0.10	1.30	1.10	0.74
Flavor-Tart	0.70	1.20	3.15	2.20	1.30	0.00	0.00	5.00	1.30	0.90	1.58
Aftertaste-mouth coating	7.50	6.35	1.10	2.00	2.20	2.05	0.70	6.15	0.45	2.95	3.15
Aftertaste-Chalkiness	2.00	0.05	0.90	8.55	1.50	5.05	0.70	0.60	0.00	3.90	2.33
Aftertaste-Bitter	0.60	0.10	0.30	1.00	1.35	0.35	0.00	0.00	0.00	1.15	0.49
Aftertaste-Tart	0.50	0.30	2.30	2.15	1.10	0.00	0.00	2.30	0.00	0.70	0.94
Aroma Acceptance	5.00	6.60	7.05	2.45	5.30	5.30	5.75	5.80	2.50	5.90	5.17
Flavor Acceptance	4.60	5.20	4.75	1.45	2.80	5.40	4.90	4.20	3.35	4.75	4.14
Overall Acceptance	6.10	5.40	7.20	2.05	4.40	5.45	4.55	6.65	3.30	5.00	5.01



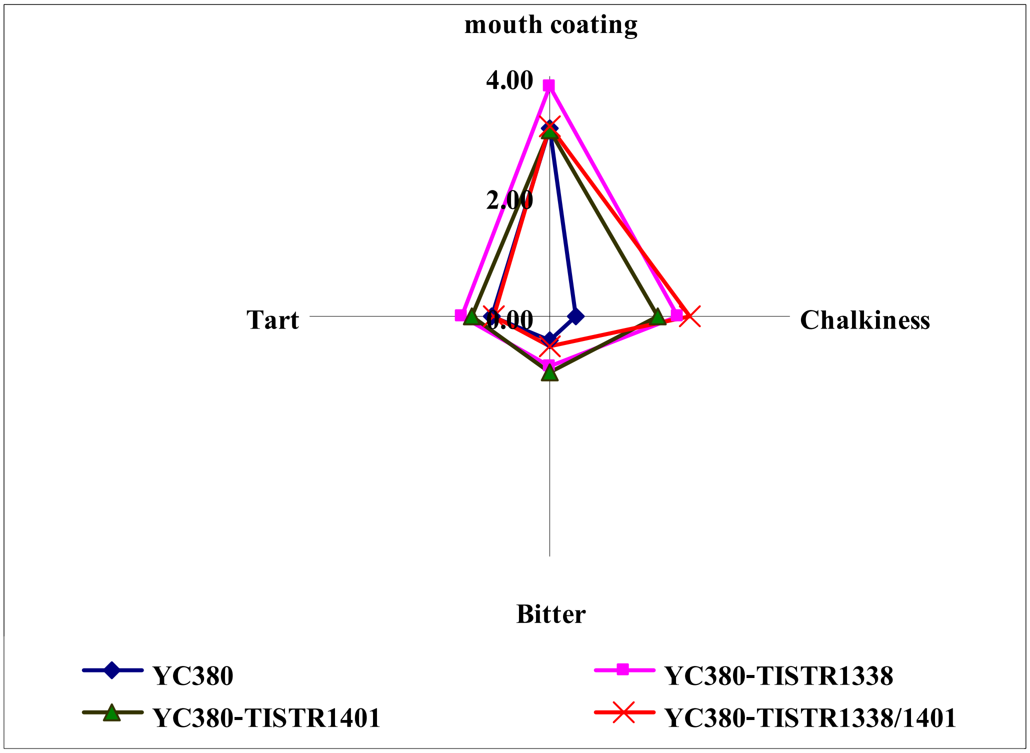
รูปที่1ข ค่าเฉลี่ยคะแนนคุณภาพด้านลักษณะปรากฏของโยเกิร์ตที่ผู้ทดสอบชิมมีต่อผลิตภัณฑ์



รูปที่ 2ข ค่าเฉลี่ยคะแนนคุณภาพด้านกลิ่นโยเกิร์ตที่ผู้ทดสอบชิมมีต่อผลิตภัณฑ์



รูปที่ 3ข ค่าเฉลี่ยคะแนนคุณภาพด้านกลิ่นรสโยเกิร์ตที่ผู้ทดสอบชิมมีต่อผลิตภัณฑ์



รูปที่ 4ข ค่าเฉลี่ยคะแนนคุณภาพด้านความรู้สึกภายหลังการกลืนที่ผู้ทดสอบชิมมีต่อผลิตภัณฑ์

ประวัติผู้เขียน

นางสาวอัยรา พันอนุ เกิดเมื่อวันที่ 23 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2520 ที่จังหวัดร้อยเอ็ด ศึกษาในระดับประถมศึกษาที่โรงเรียนบ้านยางเฌอ (วีรชนอุทิศ) จากนั้นศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนต้นที่โรงเรียนบ้านขี้เหล็กพิทยาคม จบการศึกษาในระดับมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนสตรีศึกษา ร้อยเอ็ด ในปี พ.ศ. 2538 และเข้ารับการศึกษาในระดับปริญญาตรีวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี และสำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ. 2542 จากนั้นเข้าทำงานที่โครงการส่วนพระองค์สวนจิตรลดา ในส่วนของการผลิตผลิตภัณฑ์นม ภายหลังได้เข้าศึกษาต่อในระดับปริญญาโท สาขาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารีในปี พ.ศ. 2545