บทที่ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. <u>คัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียผลิตกรดแลคติค เพื่อนำมาใช้เป็นหัวเชื้อในการผลิตโยเกิร์ต</u>

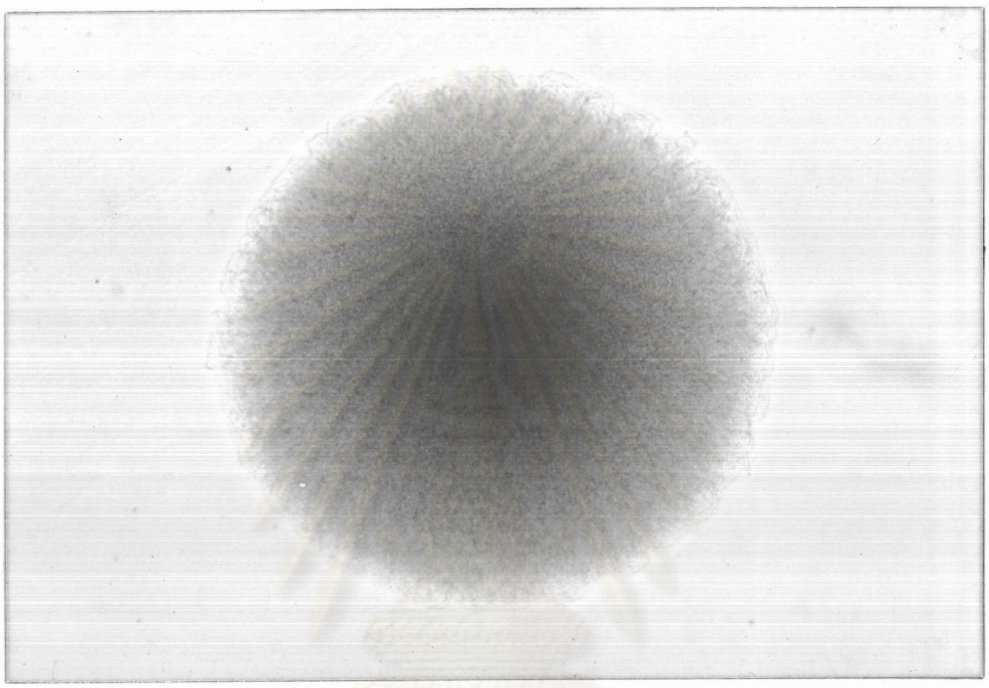
1.1 คัดแยกแบคทีเรียผลิตกรดแลคติคจากโยเกิร์ตในทางการค้า ในการเพาะสายพันธุ์แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติคจากโยเกิร์ตในทางการค้า ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 ชนิด ที่จำเพาะต่อเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลคติค คือ Lactic Agar และ M17 Medium พบว่าจากตัวอย่างโยเกิร์ตทั้ง 4 ตรา มีการเจริญของเชื้อที่มีลักษณะแตกต่างกัน แบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม บนอาหารทั้ง 2 ชนิด หลังจากบ่มเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ดังแสดงในตารางที่ 6 และลักษณะโคโลนีของเชื้อทั้ง 2 กลุ่ม บน Lactic Agar มีลักษณะเดียวกับบน M17 Medium

<u>ตารางที่ 6</u> ลักษณะของแบคทีเรียที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ M17 Medium ที่ 37°C 48 ชั่วโมง

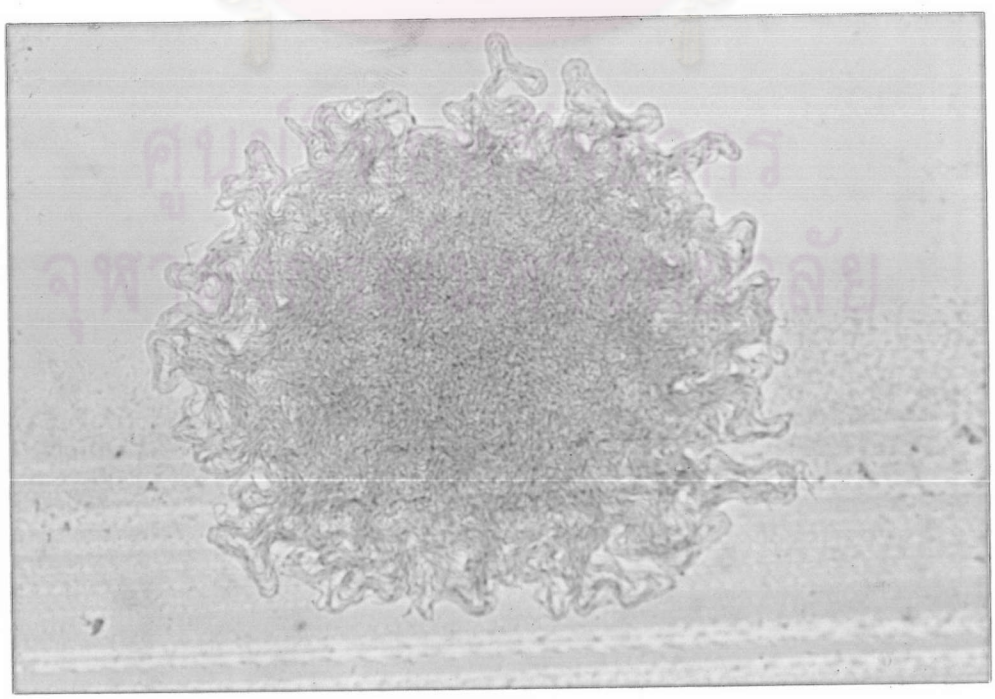
การตรวจสอบ	เชื้อกลุ่มที่ 1	เชื้อกลุ่มที่ 2
ลักษณะโคโลนี	โคโลนีมีสีขาวใส ขอบโคโลนีไม่เรียบ ไม่สม่ำเสมอเป็นรอยหยัก	โคโลนีเป็นจุดเล็ก ๆ สีขาวขุ่นกว่า ขอบค่อนข้างเรียบ
ขนาดโคโลนี	ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1 มิลลิเมตร	ขนาดเล็กกว่า กลุ่มที่ 1
รูปร่างเซลล์	รูปแท่ง (Rod)	รูปกลม (Cocci)

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เมื่อใช้กล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 100 เท่า ส่องดูโคโลนีทั้ง 2 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 จะเห็นลักษณะของโคโลนีเหมือนเส้นใยคล้ายกระจุกด้ายพันกันอย่างหนาแน่น แต่โปร่งแสง ดังรูปที่ 3 ในกลุ่มที่ 2 เมื่อส่องดูจะเห็นลักษณะโคโลนีเป็นกลุ่มหนาแน่นมีสีเข้มกว่า ออกสีน้ำตาลไหม้ ไม่เป็นเส้นใยเหมือนกลุ่มที่ 1 ดังรูปที่ 4



รูปที่ 3 ตัวอย่างลักษณะโคโลนีของเชื้อรูปแท่ง A_1 กำลังขยาย 100 เท่า



รูปที่ 4 ตัวอย่างลักษณะโคโลนีของเชื้อรูปกลม A_2 กำลังขยาย 100 เท่า

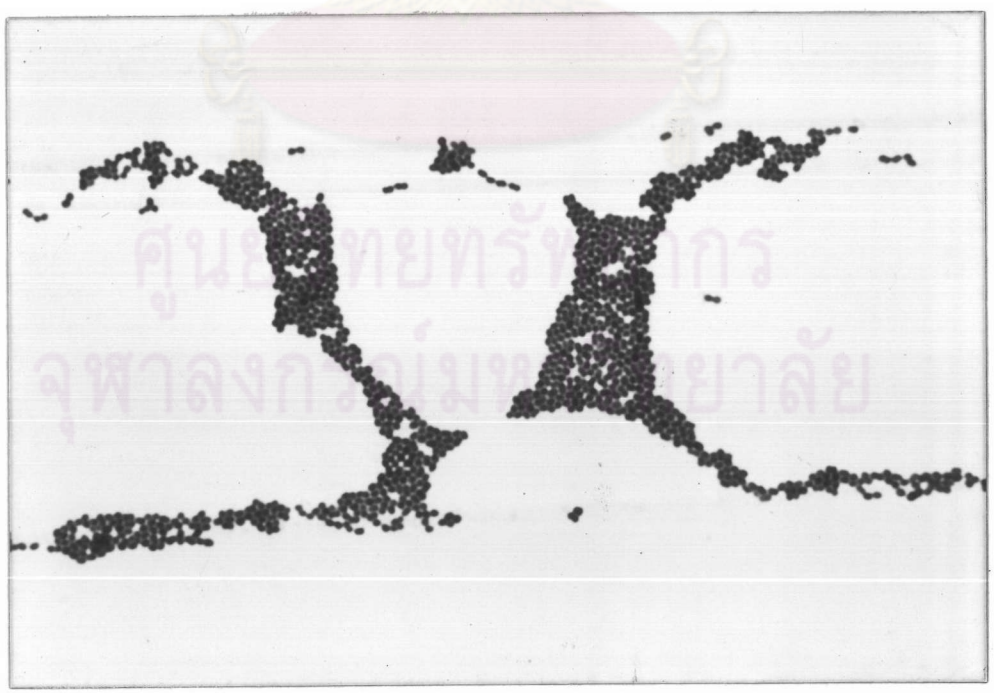
เมื่อนำสายพันธุ์แบคทีเรียที่เพาะได้ทั้ง 2 กลุ่ม มาคัดแยกด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 2 ชนิดข้างต้น เพื่อให้ได้เชื้อเดี่ยว (Single Culture) ได้ทำการทดสอบและจำแนกชนิดพบว่า เมื่อทำการแยกเชื้อเดี่ยวของเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 กลุ่ม เชื้อเดี่ยวส่วนใหญ่ที่เจริญได้ดีบนอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 2 ชนิด จะเป็นเชื้อแบคทีเรียรูปกลม ในขณะที่จะพบการเจริญของเชื้อเดี่ยวรูปแท่งเฉพาะในอาหารทดสอบ M17 Medium ส่วนอาหารทดสอบ Lactic Agar พบว่าไม่สามารถแยกเชื้อเดี่ยวของเชื้อแบคทีเรียรูปแท่งได้ นอกจากนี้ยังพบอีกว่าเมื่อนำเชื้อเดี่ยวของเชื้อแบคทีเรียรูปแท่ง มาเลี้ยงบนอาหาร Lactic Agar เชื้อสามารถเจริญได้แต่ใช้เวลาในการเจริญนานกว่า 48 ชั่วโมง และขนาดของโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียรูปแท่งที่เจริญบนอาหารทดสอบ Lactic Agar มีขนาดเล็กกว่าที่เจริญบนอาหารทดสอบ M17 Medium

ผลการคัดแยกสายพันธุ์แบคทีเรียผลิตกรด จากโยเกิร์ตในทางการค้า 4 ตรา ได้แก่ A B C และ D พบว่าสามารถแยกได้เชื้อเดี่ยวของแบคทีเรียรูปแท่ง และรูปกลมเฉพาะตรา A B และ C เท่านั้น ไม่สามารถเลี้ยงและแยกเชื้อแบคทีเรียกลุ่มที่ 1 ของตรา D ได้ ทั้งนี้อาจเป็นเพราะเชื้อแบคทีเรียรูปแท่งของตรา D อาจต้องการสารอาหารในการเจริญเติบโตจำเพาะซึ่งไม่มีในอาหารสังเคราะห์ที่นำมาทดสอบ เชื้อเดี่ยวของแบคทีเรียทั้ง 2 กลุ่มที่แยกได้นำมาทดสอบความสามารถในการสร้างกรด โดยนำเชื้อมาทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมบรอมครีซอลเพอร์เพิลเป็นอินดิเคเตอร์ (บรอมครีซอลเพอร์เพิลมีช่วงการเปลี่ยนสีที่ pH 5.2 -6.8) เลือกเชื้อที่เจริญและเปลี่ยนสีอินดิเคเตอร์จากสีม่วงเป็นสีเหลืองได้ เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างกรดเมื่อเจริญจะใช้ น้ำตาลแลคโตส กลูโคส และซูโครสในอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนเป็นกรดอินทรีย์เช่น กรดแลคติค กรดอะซิตริก กรดอินทรีย์ ที่เกิดขึ้นจะทำให้อินดิเคเตอร์เปลี่ยนสีจากสีม่วงเป็นสีเหลือง เมื่อตรวจสอบลักษณะการเจริญพบว่าเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้ทั้งหมดมีความสามารถในการผลิตกรด สำหรับงานวิจัยนี้เน้นถึงความเป็นไปได้ ที่จะทำการแยกเชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแลคติคที่อยู่ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตในทางการค้ามาเพาะเลี้ยงต่อ เพื่อนำมาใช้เป็นหัวเชื้อในการผลิตโยเกิร์ตทดแทนการสั่งซื้อหัวเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการผลิตโยเกิร์ตจากต่างประเทศ จึงคัดเลือกคู่ของเชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแลคติคที่แยกได้เฉพาะสายพันธุ์ A_1 A_2 B_1 B_2 C_1 และ C_2 มาศึกษาถึงความสามารถในการนำเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้มาใช้ประโยชน์ต่อไป โดยให้ตัวเลขท้าย 1 หมายถึงเชื้อแบคทีเรียรูปแท่ง และ 2 หมายถึงเชื้อแบคทีเรียรูปกลม

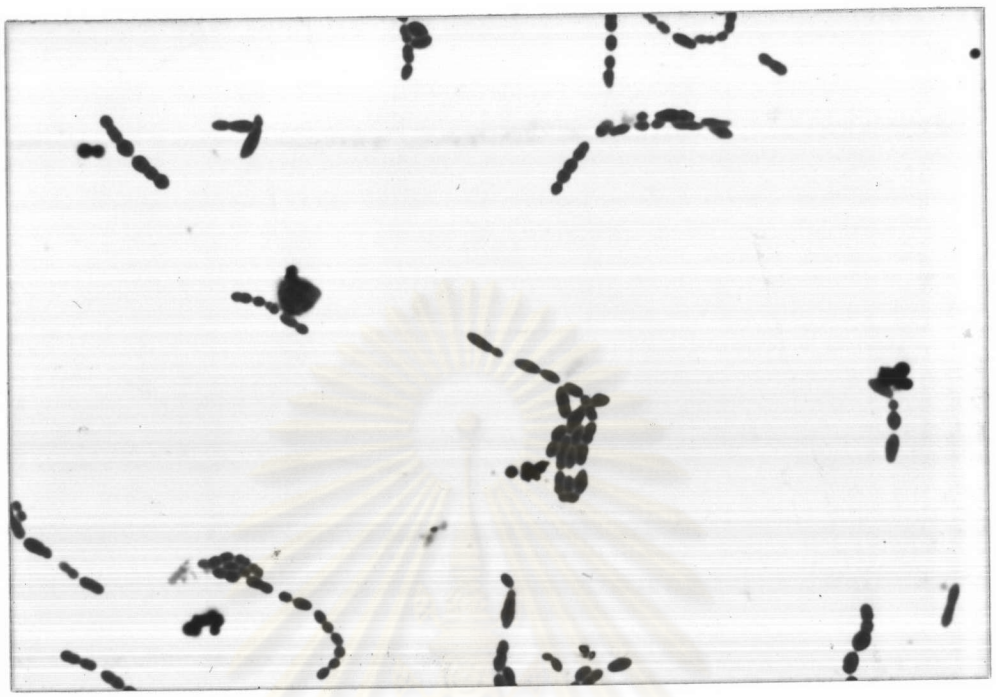
1.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และชีวเคมี การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา และชีวเคมีเบื้องต้น ของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากตัวอย่างในทางการค้าตามข้อ 1.1 พบว่าเชื้อแบคทีเรียรูปแท่ง สายพันธุ์ A_1 B_1 และ C_1 เมื่อนำมาเลี้ยงในอาหารเหลว Lactic Broth แล้วย้อมสีแกรมและตรวจดูลักษณะรูปร่างด้วยกล้องจุลทรรศน์ พบว่าเซลล์ยาวต่อกันเป็นสายอยู่รวมกันเป็นกระจุก ติดสีแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ การติดสีย้อมไม่ดีนัก ดังรูปที่ 5 ส่วนเชื้อแบคทีเรียรูปกลม สายพันธุ์ A_2 B_2 และ C_2 เมื่อเจริญบนอาหารแข็งจะมีรูปสัณฐานแตกต่างจากที่เจริญในอาหารเหลว คือเชื้อแบคทีเรียรูปกลมที่เจริญในอาหารเหลวจะมีลักษณะรูปสัณฐานเป็นรูปกลมต่อกันเป็นสาย รูปร่างเซลล์สมมาตร ติดสีแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ ดังรูปที่ 6 ลักษณะรูปร่างของเซลล์มีลักษณะไม่แตกต่างไปจากรูปร่างเชื้อตอนอยู่ในโยเกิร์ตทางการค้า เพียงแต่การจัดเรียงตัวของเซลล์รูปกลมในอาหารเหลวจะอยู่กันเป็นคู่ๆ ไม่ค่อยพบลักษณะการต่อเป็นสายยาวเหมือนขณะอยู่ในโยเกิร์ตในทางการค้า นอกจากนี้เชื้อแบคทีเรียรูปกลมที่เจริญบนอาหารแข็งทั้ง Lactic Agar และ M17 Medium จะมีลักษณะรูปสัณฐานที่ผิดปกติ เซลล์ส่วนใหญ่เสียรูปร่างมาก เซลล์บางเซลล์รูปร่างคล้ายรูปร่างของเชื้อยีสต์ แต่ขนาดไม่ใหญ่เท่า บางเซลล์รูปร่างรี และยาวกว่าปกติ ดังรูปที่ 7 แต่เมื่อนำเซลล์รูปกลมที่ผิดปกติ มาเลี้ยงในอาหารเหลวอีกครั้งรูปร่างที่ผิดปกติของเซลล์จะกลับคืนลักษณะเดิม

การทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์คะตะเลส ด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ พบว่าเชื้อรูปแท่ง A_1 B_1 C_1 และรูปกลม A_2 B_2 C_2 ให้ผลลบ (Negative Test) จึงเป็นการยืนยันว่าเชื้อรูปแท่ง ติดสีแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ เป็นเชื้อในสายพันธุ์ของ Lactobacillus sp. และ เชื้อรูปกลม ติดสีแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ เป็นเชื้อในสายพันธุ์ของ Streptococcus sp. ตาม Bergey's Manual of Systematic Microbiology(1974) ซึ่งสอดคล้องกับ Noppawan (1994)

รูปที่ 5 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรีย A_1 กำลังขยาย 1000 เท่า ที่เจริญในอาหารเหลว Lactic Broth บ่มที่ 37 °C นาน 24 ชั่วโมง



รูปที่ 6 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรีย A_2 กำลังขยาย 1000 เท่า ที่เจริญในอาหารเหลว Lactic Broth บ่มที่ 37 °C นาน 24 ชั่วโมง

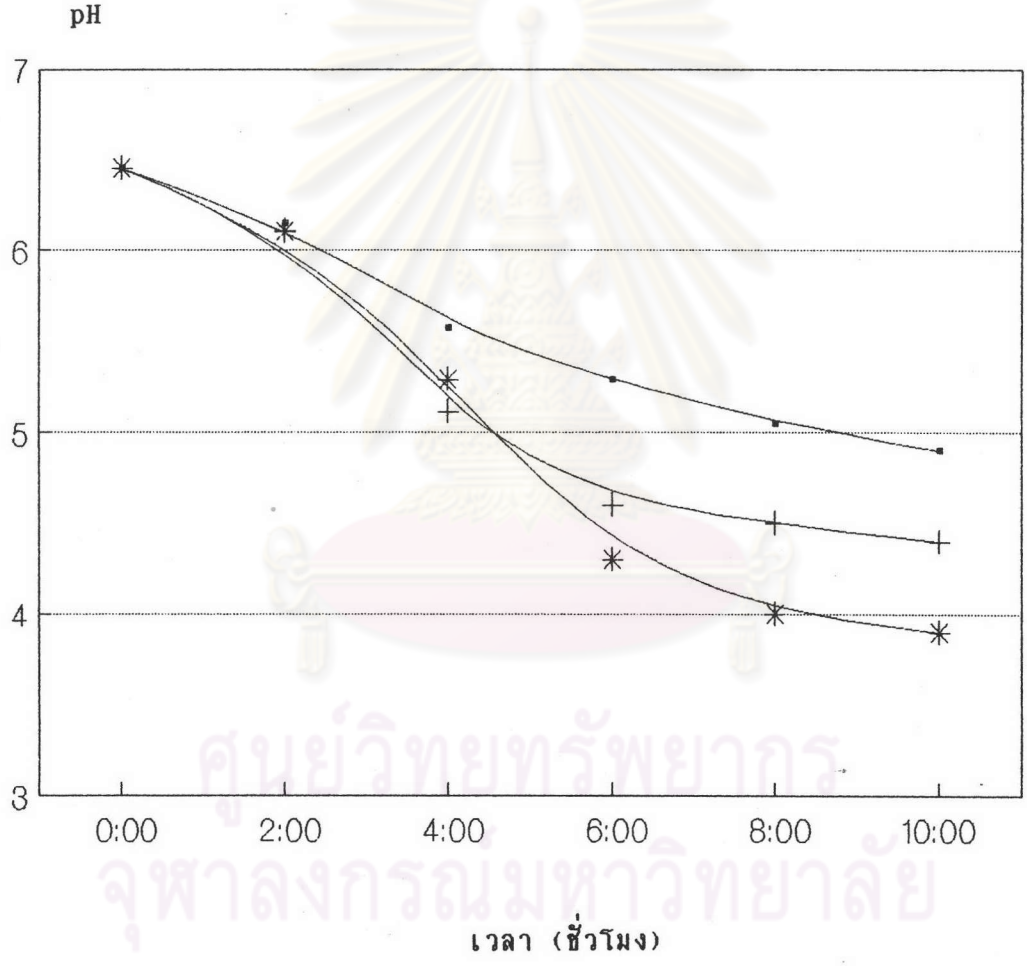


รูปที่ 7 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรีย A_2 กำลังขยาย 1000 เท่า ที่เจริญในอาหารแข็ง Lactic Agar บ่มที่ 37 °C นาน 48 ชั่วโมง

1.3 แบคทีเรียที่คัดแยกได้สายพันธุ์ A_1 A_2 B_1 B_2 C_1 และ C_2 เมื่อนำมาเลี้ยงบนอาหารเหลว Lactic Broth และเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C นาน 1 เดือน เพื่อดูผลการรอดชีวิต ปรากฏว่าแบคทีเรียที่คัดแยกได้ทุกสายพันธุ์สามารถนำมาขยายพันธุ์ต่อไปได้ จึงนำสายพันธุ์แบคทีเรียทั้งหมดมาใช้เป็นหัวเชื้อโยเกิร์ตเพื่อใช้ในการศึกษาต่อไป

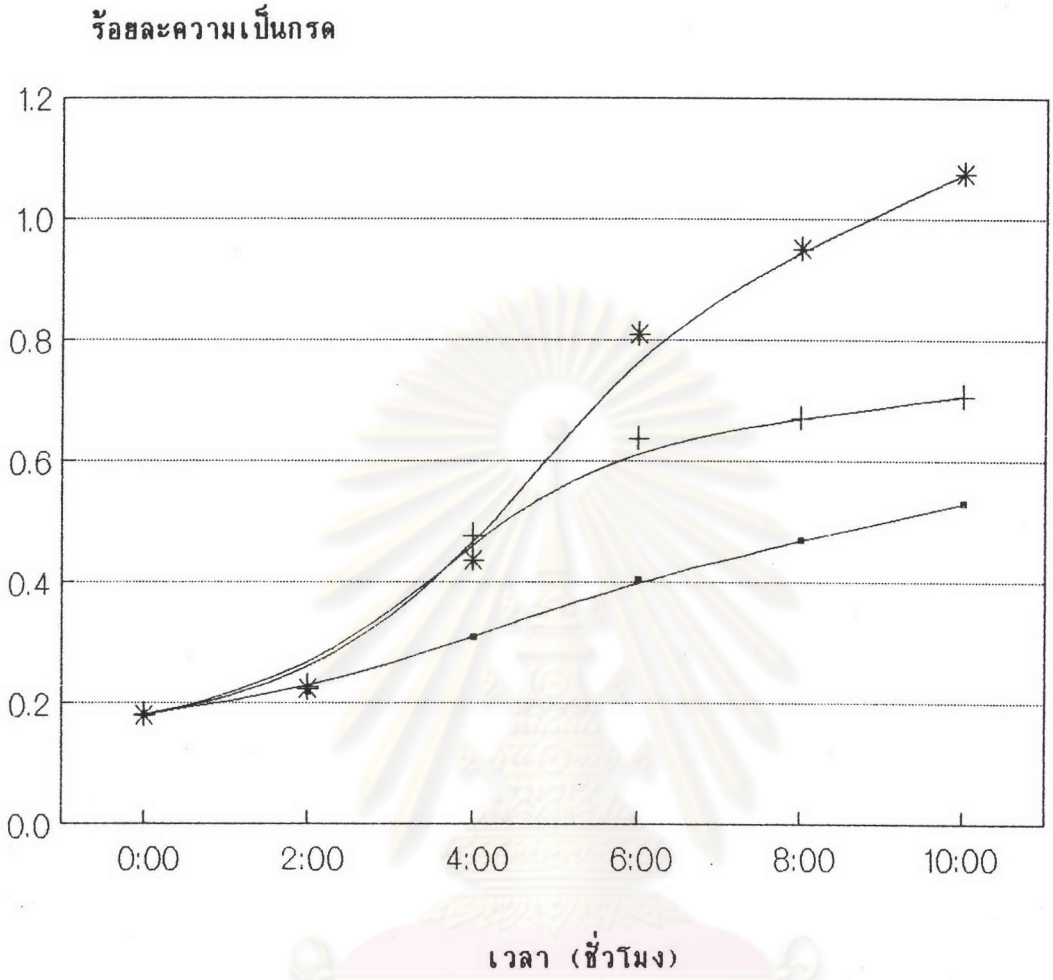
1.4 คัดเลือกหัวเชื้อเดี่ยว และหัวเชื้อผสมของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติค ที่เตรียมได้จากข้อ 1.3 เปรียบเทียบกับเชื้อ Wild Type จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงค่า pH และร้อยละของกรดแลคติค ตลอดระยะเวลาการหมัก 10 ชั่วโมง ผลการเปลี่ยนแปลงดังแสดงในรูปที่ 8 ถึง 17 จากการวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของอัตราเร็วการผลิตกรดแลคติคในชั่วโมงการหมักที่ 10 พบว่าแบคทีเรียที่แยกได้ มีความสามารถในการผลิตกรดแลคติคเร็วกว่า Wild Type ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และยังพบว่าหัวเชื้อผสมมีความสามารถในการผลิตกรดเร็วกว่าหัวเชื้อเดี่ยว เป็นผลมาจากการเจริญที่มีความสัมพันธ์แบบ Symbiosis (Tamime and Deeth, 1980; Vedamuthu ,1991b) ในขณะที่หัวเชื้อเดี่ยว C_2 และ Wild Type จะมีความสามารถในการผลิตกรดแลคติคเท่ากับหัวเชื้อผสมในแต่ละประเภท เนื่องจากจะเห็น

ได้ว่าเชื้อเดี่ยว C_1 และ L. Bulgaricus มีความสามารถใน การผลิตกรดได้ต่ำกว่า A_1 และ B_1 ดังนั้นจึงไม่เห็นความสัมพันธ์แบบ Symbiosis อย่างเด่นชัดในหัวเชื้อผสมของ C_1 กับ C_2 และ Wild Type สำหรับหัวเชื้อที่มีความสามารถในการผลิตกรดแลคติคได้เร็วสุด ได้แก่ หัวเชื้อผสมของ A_1 กับ A_2 และ B_1 กับ B_2 ดังตารางที่ 7 แต่หัวเชื้อผสมของ A_1 กับ A_1 มีแนวโน้มในการผลิตกรดแลคติคเร็วกว่าหัวเชื้อผสมของ B_1 กับ B_2 จึงเลือกหัวเชื้อผสมของ A_1 กับ A_2 และ B_1 กับ B_2 สำหรับการศึกษาในขั้นต่อไป

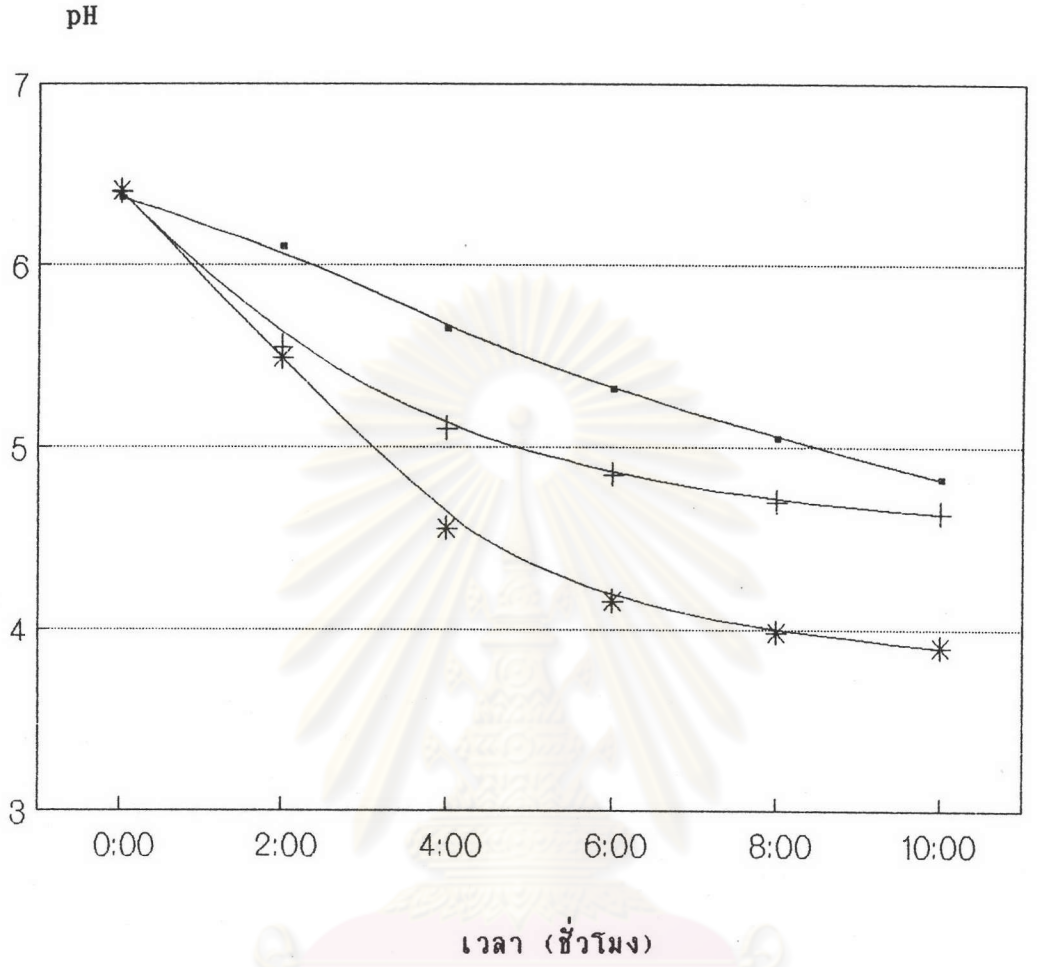


ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง pH กับ ระยะเวลาการบ่มโยเกิร์ต ที่ผลิตจากหัวเชื้อเดี่ยว A_1 (.),หัวเชื้อเดี่ยว A_2 (+) และหัวเชื้อผสมระหว่าง A_1 กับ A_2 ในอัตราส่วน 1:1 (*) ใช้หัวเชื้อร้อยละ 3 (จาก Lactic Broth) บ่มที่อุณหภูมิ 45 °C นาน 10 ชั่วโมง

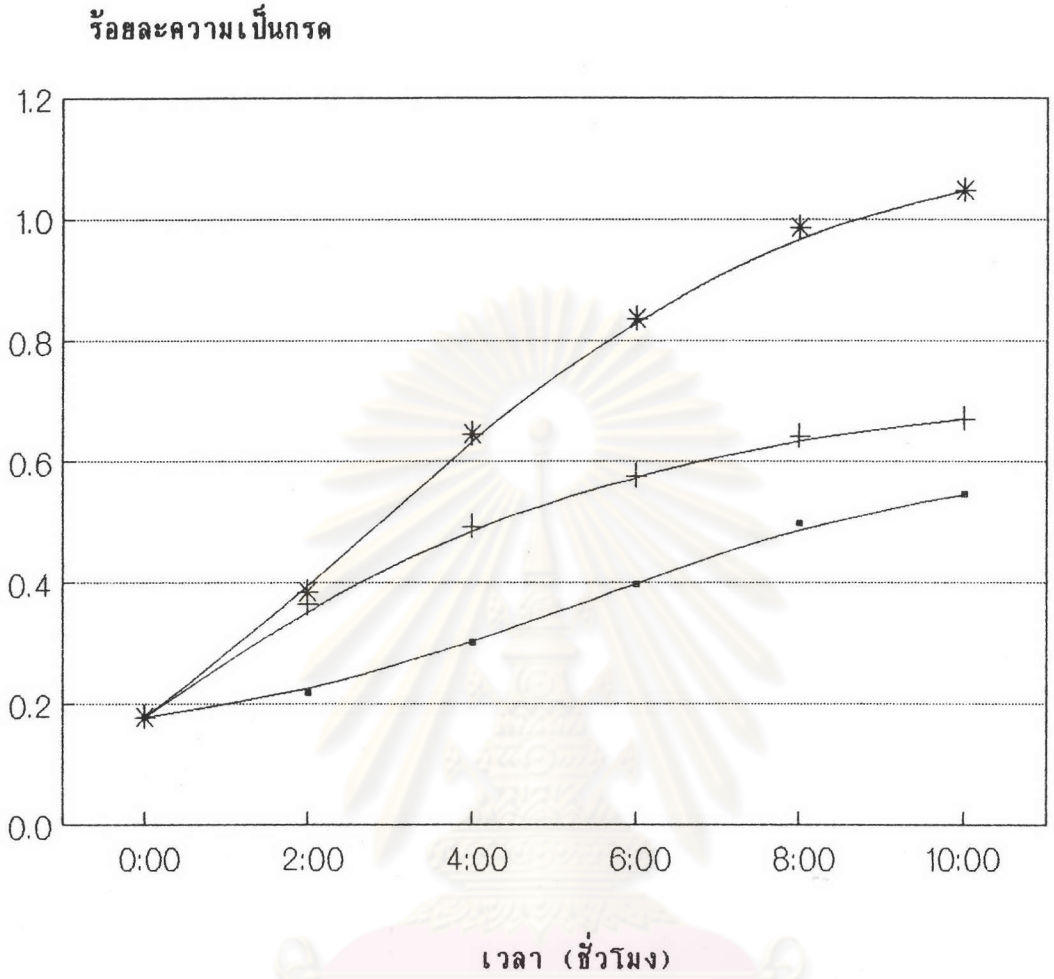


รูปที่ 9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ร้อยละความเป็นกรด กับ ระยะเวลาการบ่มโยเกิร์ตที่ผลิตจากหัวเชื้อเดี่ยว A_1 (.), หัวเชื้อเดี่ยว A_2 (+) และหัวเชื้อผสมระหว่าง A_1 กับ A_2 ในอัตราส่วน 1:1 (*) ใช้หัวเชื้อร้อยละ 3 (จาก Lactic Broth) บ่มที่อุณหภูมิ 45 °C นาน 10 ชั่วโมง

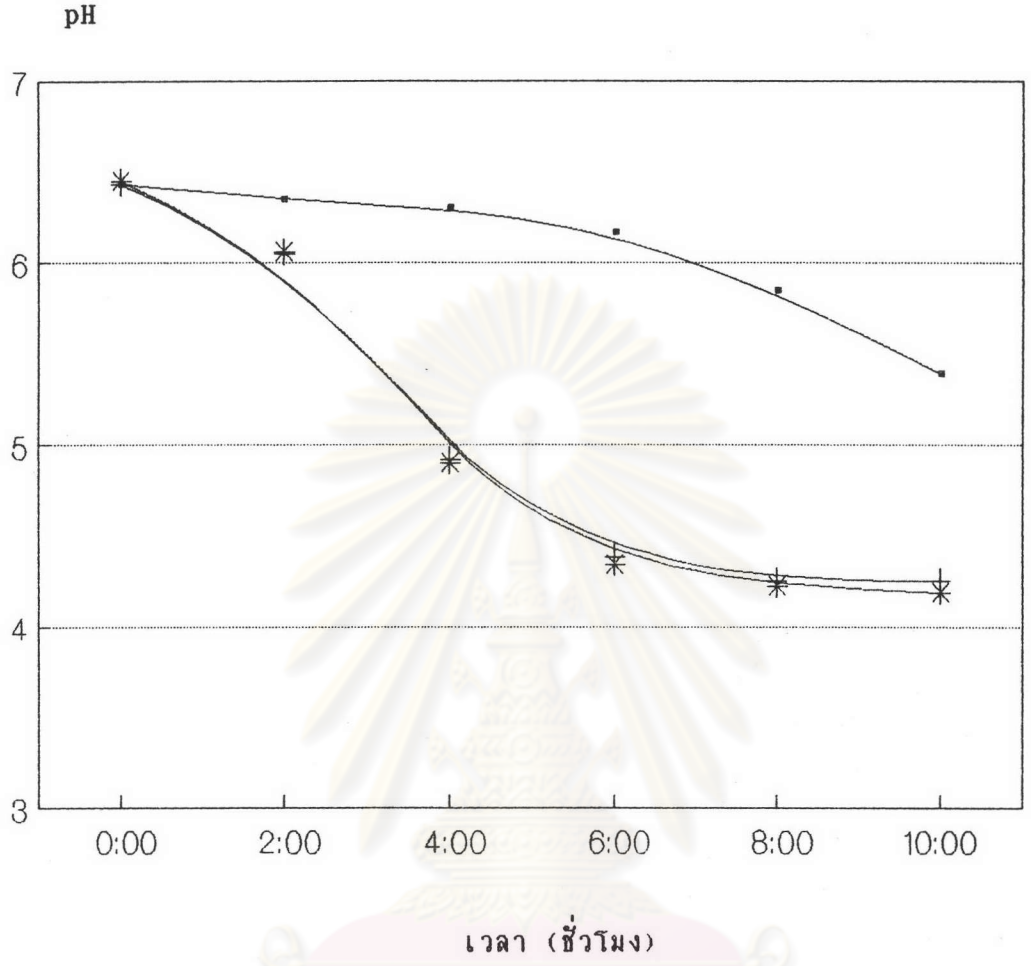


รูปที่ 10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง pH กับ ระยะเวลาการบ่มโยเกิร์ต ที่ผลิตจากหัวเชื้อเดี่ยว B_1 (.),หัวเชื้อเดี่ยว B_2 (+) และหัวเชื้อผสมระหว่าง B_1 กับ B_2 ในอัตราส่วน 1:1 (*) ใช้หัวเชื้อร้อยละ 3 (จาก Lactic Broth) บ่มที่อุณหภูมิ 45 °C นาน 10 ชั่วโมง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

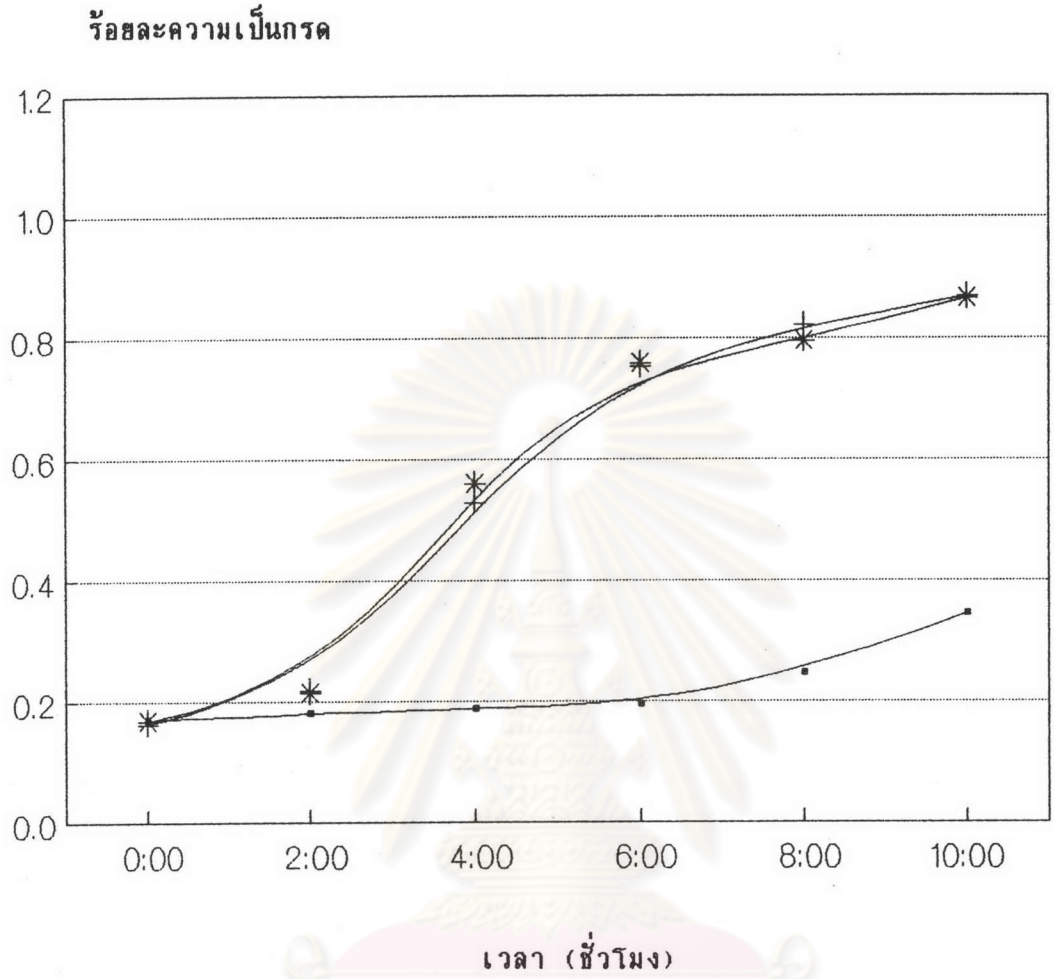


รูปที่ 11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ร้อยละความเป็นกรด กับ ระยะเวลาการบ่มโยเกิร์ตที่ผลิตจากหัวเชื้อเดี่ยว B_1 (.), หัวเชื้อเดี่ยว B_2 (+) และหัวเชื้อผสมระหว่าง B_1 กับ B_2 ในอัตราส่วน 1:1 (*) ใช้หัวเชื้อร้อยละ 3 (จาก Lactic Broth) บ่มที่อุณหภูมิ 45 °C นาน 10 ชั่วโมง

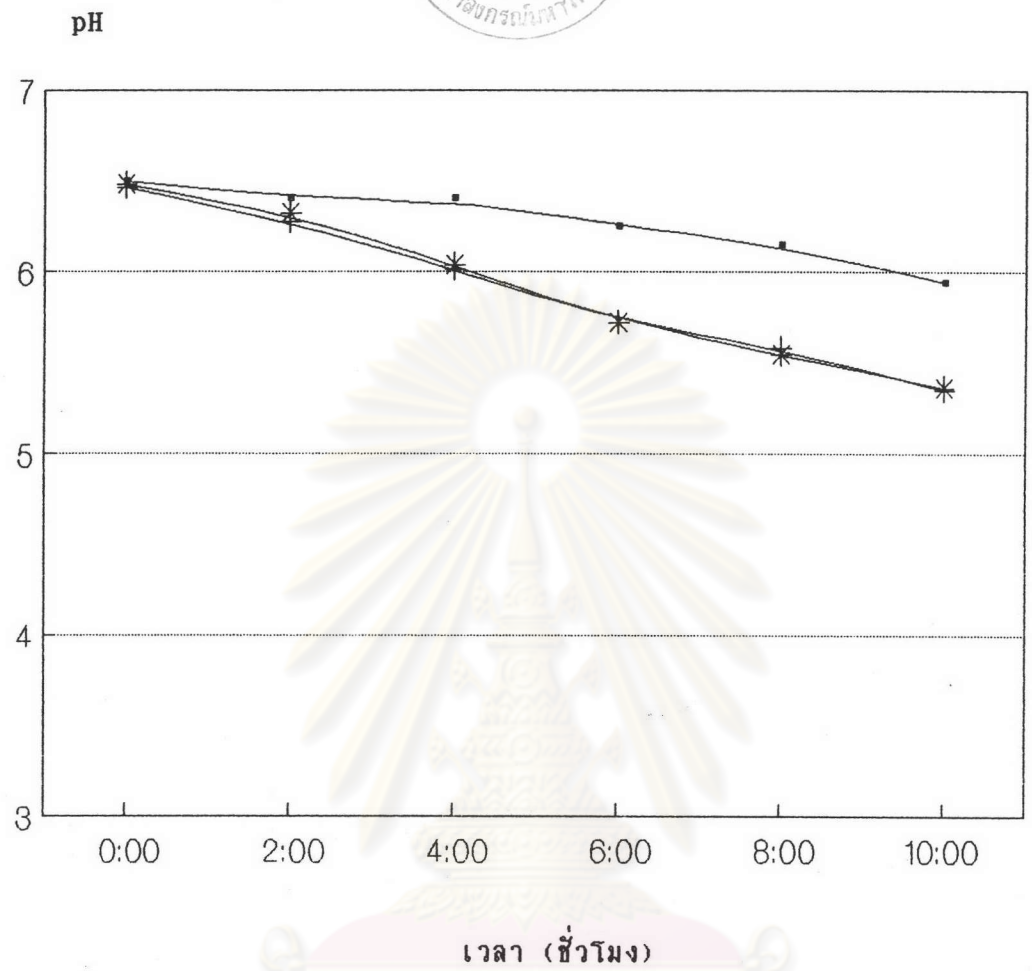


รูปที่ 12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง pH กับ ระยะเวลาการบ่มโยเกิร์ต ที่ผลิตจากหัวเชื้อเดี่ยว C_1 (.),หัวเชื้อเดี่ยว C_2 (+) และหัวเชื้อผสมระหว่าง C_1 กับ C_2 ในอัตราส่วน 1:1 (*) ใช้หัวเชื้อร้อยละ 3 (จาก Lactic Broth) บ่มที่อุณหภูมิ 45 °C นาน 10 ชั่วโมง

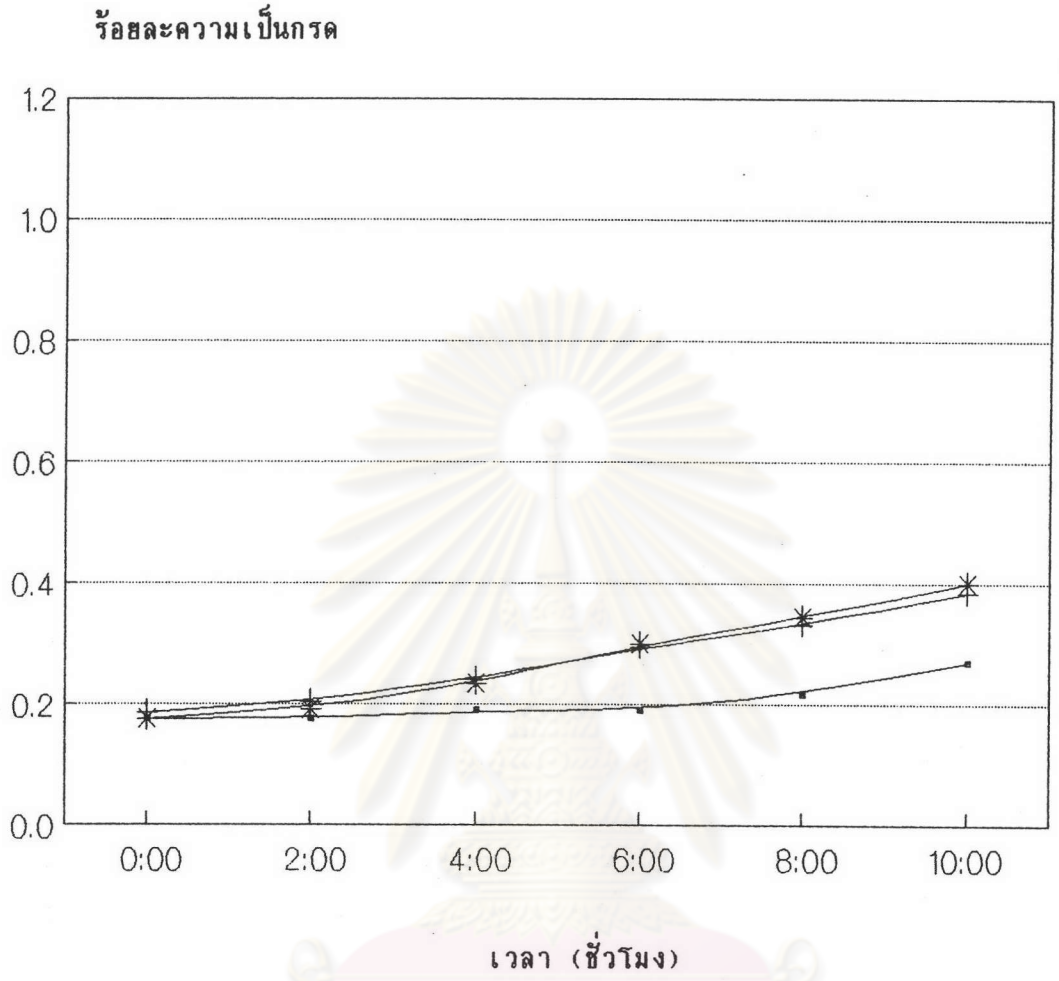
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ร้อยละความเป็นกรด กับ ระยะเวลาการบ่มโยเกิร์ตที่ผลิตจากหัวเชื้อเดี่ยว C_1 (.), หัวเชื้อเดี่ยว C_2 (+) และหัวเชื้อผสมระหว่าง C_1 กับ C_2 ในอัตราส่วน 1:1 (*) ใช้หัวเชื้อร้อยละ 3 (จาก Lactic Broth) บ่มที่อุณหภูมิ 45 °C นาน 10 ชั่วโมง



รูปที่ 14 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง pH กับ ระยะเวลาการบ่มโยเกิร์ต ที่ผลิตจากหัวเชื้อเดี่ยว L. bulgaricus (.), หัวเชื้อเดี่ยว S. thermophilus (+) และหัวเชื้อผสมระหว่าง L. bulgaricus กับ S. thermophilus ในอัตราส่วน 1:1 (*) ใช้หัวเชื้อร้อยละ 3 (จาก Lactic Broth) บ่มที่อุณหภูมิ 45 °C นาน 10 ชั่วโมง

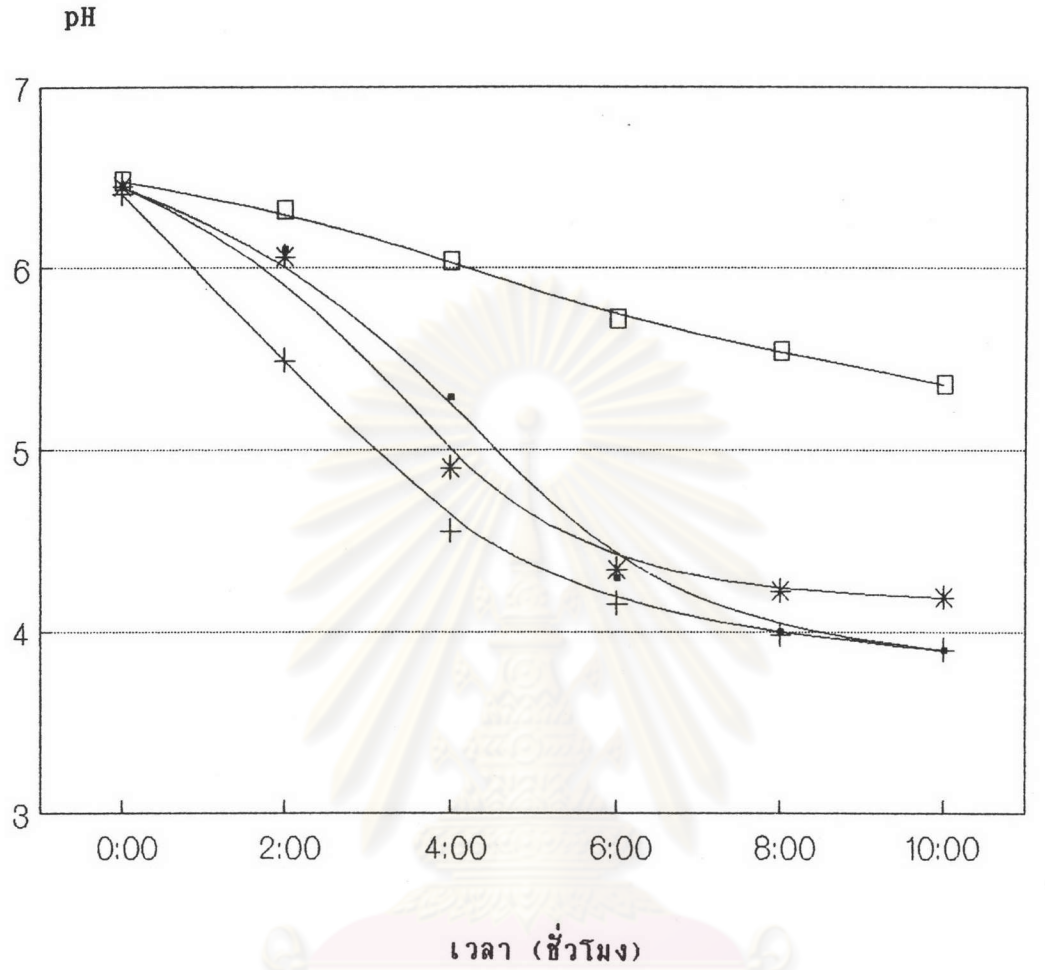


รูปที่ 15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ร้อยละความเป็นกรด กับ ระยะเวลาการบ่มโยเกิร์ตที่ผลิตจากหัวเชื้อเดี่ยว L. bulgaricus (.), หัวเชื้อเดี่ยว S. thermophilus (+) และหัวเชื้อผสมระหว่าง L. bulgaricus กับ S. thermophilus ในอัตราส่วน 1:1 (*) ใช้หัวเชื้อร้อยละ 3 (จาก Lactic Broth) บ่มที่อุณหภูมิ 45 °C นาน 10 ชั่วโมง

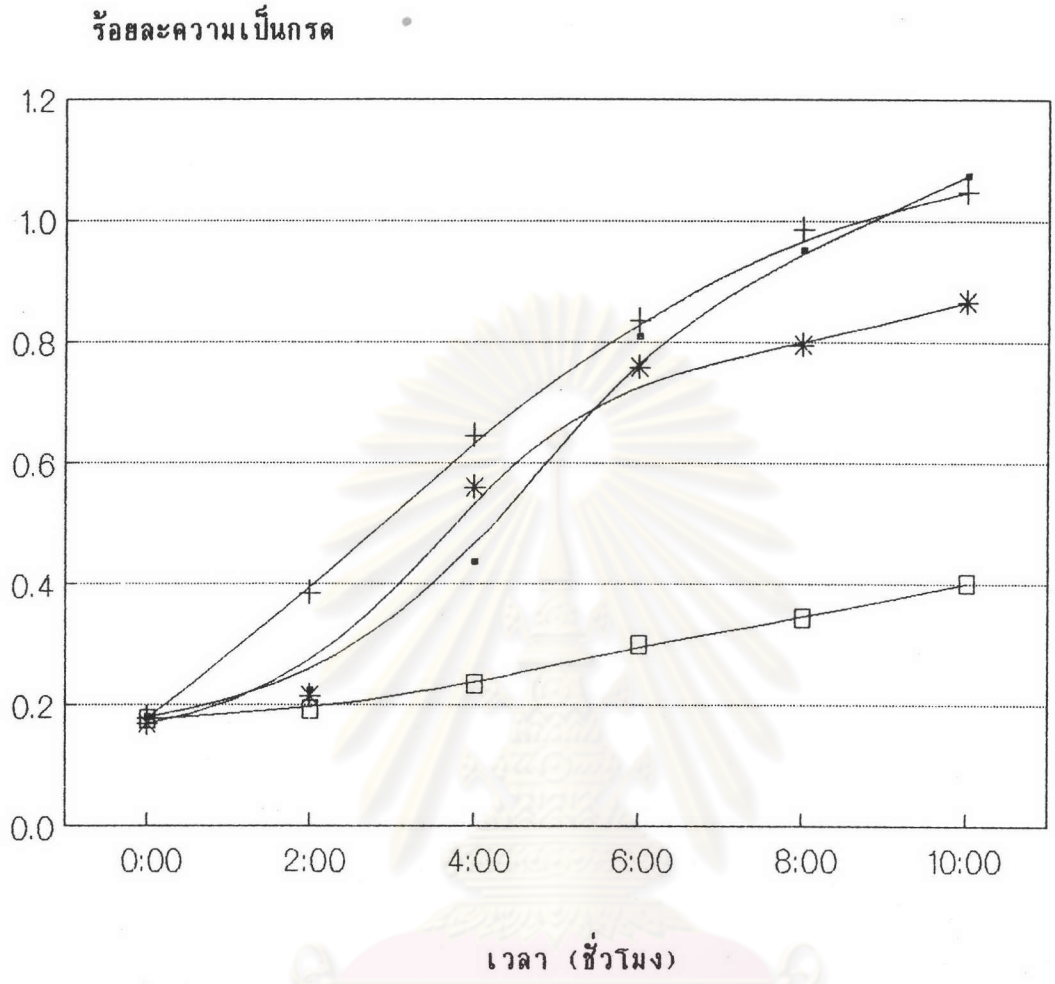
ตารางที่ 7 การเปรียบเทียบร้อยละของกรดของโยเกิร์ต ที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้ A_1 A_2 B_1 B_2 C_1 C_2 และ Wild Type บ่มที่อุณหภูมิ 45 °C เป็นเวลา 10 ชั่วโมง

โยเกิร์ตที่ผลิตจาก	ร้อยละของกรด
A_1	0.5290 ± 0.0173^{def}
A_2	0.7070 ± 0.0424^{cd}
แบคทีเรียผสม A_1 กับ A_2	1.0735 ± 0.0872^{a}
B_1	0.5450 ± 0.1131^{de}
B_2	0.6690 ± 0.2771^{d}
แบคทีเรียผสม B_1 กับ B_2	1.0470 ± 0.0520^{ab}
C_1	0.3465 ± 0.0387^{fg}
C_2	0.8675 ± 0.0283^{bc}
แบคทีเรียผสม C_1 กับ C_2	0.8655 ± 0.0316^{bc}
L. bulgaricus TISTR 451	0.2700 ± 0.0748^{g}
S. thermophilus TISTR 458	0.3850 ± 0.0510^{efg}
Mix*	0.3995 ± 0.0600^{efg}

- ตัวอักษรกำกับที่ต่างกันแสดงค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)
- Mix* = *L. bulgaricus* : *S. thermophilus* เป็น 1 : 1



รูปที่ 16 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง pH กับ ระยะเวลาการบ่มโยเกิร์ต ที่ผลิตจากหัวเชื้อผสมของ A_1 กับ A_2 (.),B_1 กับ B_2 (+), C_1 กับ C_2 (*) และ Wild Type (o) ในอัตราส่วน 1.1 ใช้หัวเชื้อร้อยละ 3 (จาก Lactic Broth) บ่มที่อุณหภูมิ 45 °C นาน 10 ชั่วโมง



รูปที่ 17 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ร้อยละความเป็นกรด กับ ระยะเวลาการบ่มโยเกิร์ตที่ผลิตจากหัวเชื้อผสมของ A_1 กับ A_2 (.), B_1 กับ B_2 (+), C_1 กับ C_2 (*) และ Wild Type (o) ในอัตราส่วน 1:1 ใช้หัวเชื้อร้อยละ 3 (จาก Lactic Broth) บ่มที่อุณหภูมิ 45 °C นาน 10 ชั่วโมง

1.5 การประเมินผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสทางด้านกลิ่นรส ความเปรี้ยว และการยอมรับรวมของโยเกิร์ตที่ผลิตจากหัวเชื้อผสม A_1 กับ A_2 และ B_1 กับ B_2 เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (ใช้โยเกิร์ตในทางการค้าชนิดธรรมดา ตรา ดัชมิลล์) กำหนดให้คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสในแต่ละด้านของตัวอย่างควบคุมเป็นคะแนนสูงสุดเท่ากัน 5 คะแนน ใช้ Trained Panelist จำนวน 6 คน ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 8 จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Randomized Completely Block Design และเปรียบเทียบด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test พบว่าโยเกิร์ตที่ผลิตจากหัวเชื้อผสมทั้ง 2 ไม่มีความแตกต่างกันทางด้านกลิ่นรส ความเปรี้ยว การยอมรับรวม ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และมีคะแนนการทดสอบด้านความเปรี้ยวอยู่ในระดับเดียวกับตัวอย่างควบคุม แต่โยเกิร์ตที่ผลิตจากหัวเชื้อผสม A_1 กับ A_2 มีแนวโน้มของคะแนนการทดสอบทางด้านกลิ่นรส การยอมรับรวมที่ดีกว่า และมีระดับคะแนนเฉลี่ยในด้านกลิ่น-รส และการยอมรับรวม 3.5 คะแนนขึ้นไปซึ่งอยู่ในระดับการประเมินพอใช้ถึงดี จึงเลือกใช้หัวเชื้อผสม A_1 กับ A_2 มาใช้ในการศึกษาต่อไป

ตารางที่ 8 การประเมินผลการทดสอบทางด้านกลิ่นรส ความเปรี้ยว การยอมรับรวมของโยเกิร์ตที่ผลิตจากแบคทีเรียผสมของ A_1 กับ A_2 และ B_1 กับ B_2

โยเกิร์ตที่ผลิตจากเชื้อผสม	การประเมินผลทางด้าน		
	กลิ่น-รส^{ns}	ความเปรี้ยว^{ns}	การยอมรับรวม^{ns}
A_1 กับ A_2	3.50±0.70	5.00	3.58±0.64
B_1 กับ B_2	3.08±0.84	5.00	3.00±0.80

- ตัวอักษร ns แสดงค่าที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)
- ระดับคะแนน 1 คือ ต่ำสุด ต้องปรับปรุง
- ระดับคะแนน 5 คือ สูงสุด ดีมากเท่ากับตัวอย่างควบคุม (ใช้โยเกิร์ตในทางการค้าชนิดธรรมดา ตรา ดัชมิลล์)

1.6 การวิเคราะห์คุณภาพทางด้าน กายภาพ เคมี และแบคทีเรียของโยเกิร์ตที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียที่ผ่านการคัดเลือก เมื่อสิ้นสุดการหมักจะเกิดการตกตะกอนก้อนลิ่ม เป็นก้อนเนื้อเดียวกัน และเกิดการแยกของชั้นน้ำออกมา (Whey Off) เป็นลักษณะของโยเกิร์ตชนิด Set Yoghurt หลังจากนั้นนำโยเกิร์ตมาตีผสมให้ก้อนลิ่มแตกออกเกิดการรวมตัวของก้อนลิ่มและชั้นน้ำจนเป็นเนื้อเดียวกันได้ Fluid Yoghurt หรือโยเกิร์ตพร้อมดื่ม ทำการวิเคราะห์พบว่าคุณภาพทางด้านกายภาพ เคมี และ แบคทีเรียของโยเกิร์ตเป็นดังนี้

ปริมาณของแข็งทั้งหมด (ร้อยละ)	=	13.225 $\pm$ 0.035
ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)	=	3.975 $\pm$ 0.035
ปริมาณกรด (ร้อยละ)	=	1.013 $\pm$ 0.003
ความหนืด (อุณหภูมิ 20 °C)	=	57 $\pm$ 2.83 CPS.
จำนวนแบคทีเรียผลิตกรดแลคติค	=	2.15 $\pm$ 0.07 X 10^8 Cell/Ml.
	=	8.33 $\pm$ 0.014 Log Cfu/Ml.

โยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ผลิตได้ มีค่าร้อยละของแข็งทั้งหมดอยู่ในมาตรฐานของ Food and Drug Administration (1993) ของประเทศสหรัฐอเมริกา ซึ่งกำหนดให้ร้อยละของ ของแข็งทั้งหมดในโยเกิร์ตมีค่าไม่น้อยกว่า 11.50 (ไขมันนมไม่ต่ำกว่าร้อยละ 3.25 และของแข็งไม่รวมไขมันไม่ต่ำกว่าร้อยละ 8.25) ทั้งนี้ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่มีอยู่ในโยเกิร์ต จะขึ้นกับชนิดของโยเกิร์ต Kosikowski (1982) รายงานว่าโยเกิร์ตประเภทพร้อมดื่มมีปริมาณของแข็งทั้งหมดอยู่ระหว่างร้อยละ 12-15 สำหรับค่าความเป็นกรดและปริมาณกรดของโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ผลิตได้มีค่าใกล้เคียงกับค่าที่ Morley (1978) ได้ศึกษาไว้ว่ามีค่า pH เท่ากับ 4.3 และปริมาณกรดอยู่ในช่วง 0.85 ถึง 0.9 เมื่อพิจารณาจำนวนแบคทีเรียผลิตกรดแลคติคที่มีอยู่ในโยเกิร์ตที่เตรียมได้มีจำนวนสอดคล้องกับที่ กีรสุดา สมบูรณ์บูรณะ (2537) ได้รายงานไว้ว่าอยู่ในช่วง 7.43 ถึง 8.06 Log Cfu/Ml. ลักษณะปรากฏของโยเกิร์ตที่ผลิตได้เป็นของเหลวสีขาวคล้ายนมสด มีรสเปรี้ยวมากเนื่องจากมีความเป็นกรดสูงถึงร้อยละ 1.013 โดยปริมาตรซึ่งตามปกติผู้บริโภคชอบโยเกิร์ตพร้อมดื่มที่มีความเป็นกรดร้อยละ 0.65 โดยปริมาตร (สัมภาษณ์ อรอนุช นาคบุตร, 11 มิถุนายน 2537) ดังนั้นถ้าหยุดการหมักโยเกิร์ตให้เร็วขึ้นก็จะได้โยเกิร์ตที่มีความเป็นกรดลดลงเหลือตามต้องการได้ นอกจากนี้โยเกิร์ตพร้อมดื่มที่ผลิตได้ไม่มีการเติมน้ำตาลซูโครส

ลงไปเพื่อเพิ่มความหวานซึ่งมีผลช่วยลดรสเปรี้ยวลงได้ด้วย ส่วนลักษณะเนื้อสัมผัสเมื่อเปรียบเทียบกับโยเกิร์ตทางการค้าแล้วจะเหลวกว่า ให้ Body น้อยกว่า เนื่องจากไม่ได้ใช้สารให้ความคงตัวเหมือนกับการผลิตทางการค้า

2. การชักนำแบคทีเรียที่ผลิตกรดให้มีอัตราเร็วในการสร้างกรดสูงขึ้น

ตามปกติการเตรียมโยเกิร์ตโดยใช้หัวเชื้อจากผลิตภัณฑ์ทางการค้า พบว่าในการผลิตโยเกิร์ตเพื่อให้ได้โยเกิร์ตที่มีร้อยละของกรดประมาณ 1 จะใช้ระยะเวลาในการหมักประมาณ 4-5 ชั่วโมง ดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 การเปลี่ยนแปลง pH และร้อยละของกรดในระหว่างบ่มเวลา 0-5 ชั่วโมง ของโยเกิร์ตที่ใช้หัวเชื้อจากผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตทางการค้าตรา A ร้อยละ 3 โดยปริมาตร

เวลา(ชม.)	pH	ร้อยละของกรด
0	6.40±0.00	0.18±0.00
0.5	6.20±0.00	0.22±0.00
1.0	5.93±0.04	0.28±0.01
1.5	5.48±0.11	0.47±0.01
2.0	4.85±0.07	0.61±0.01
2.5	4.55±0.07	0.72±0.03
3.0	4.32±0.04	0.81±0.03
3.5	4.18±0.04	0.88±0.01
4.0	4.08±0.04	0.94±0.00
4.5	4.03±0.04	0.98±0.00
5.0	4.00±0.00	1.00±0.00

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เมื่อผลิตโยเกิร์ตโดยใช้หัวเชื้อจากแบคทีเรียที่แยกได้จากผลิตภัณฑ์การค้า ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสังเคราะห์ Lactic Broth เป็นเวลานาน พบว่าอัตราเร็วในการสร้างกรดในผลิตภัณฑ์จะลดลง ระยะเวลาที่ใช้ในการสร้างกรดในผลิตภัณฑ์ให้ได้ความเป็นกรดประมาณร้อยละ 1 ต้องใช้ระยะเวลามากขึ้นถึง 10 ชั่วโมง ดังแสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 การเปลี่ยนแปลง pH และร้อยละของกรดในระหว่างบ่มระยะเวลา 0-10 ชั่วโมง ของโยเกิร์ตที่เตรียมจากหัวเชื้อที่คัดแยกจากผลิตภัณฑ์ทางการค้าตรา A ร้อยละ 3 ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว Lactic Broth หลังการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C นาน 1 เดือน

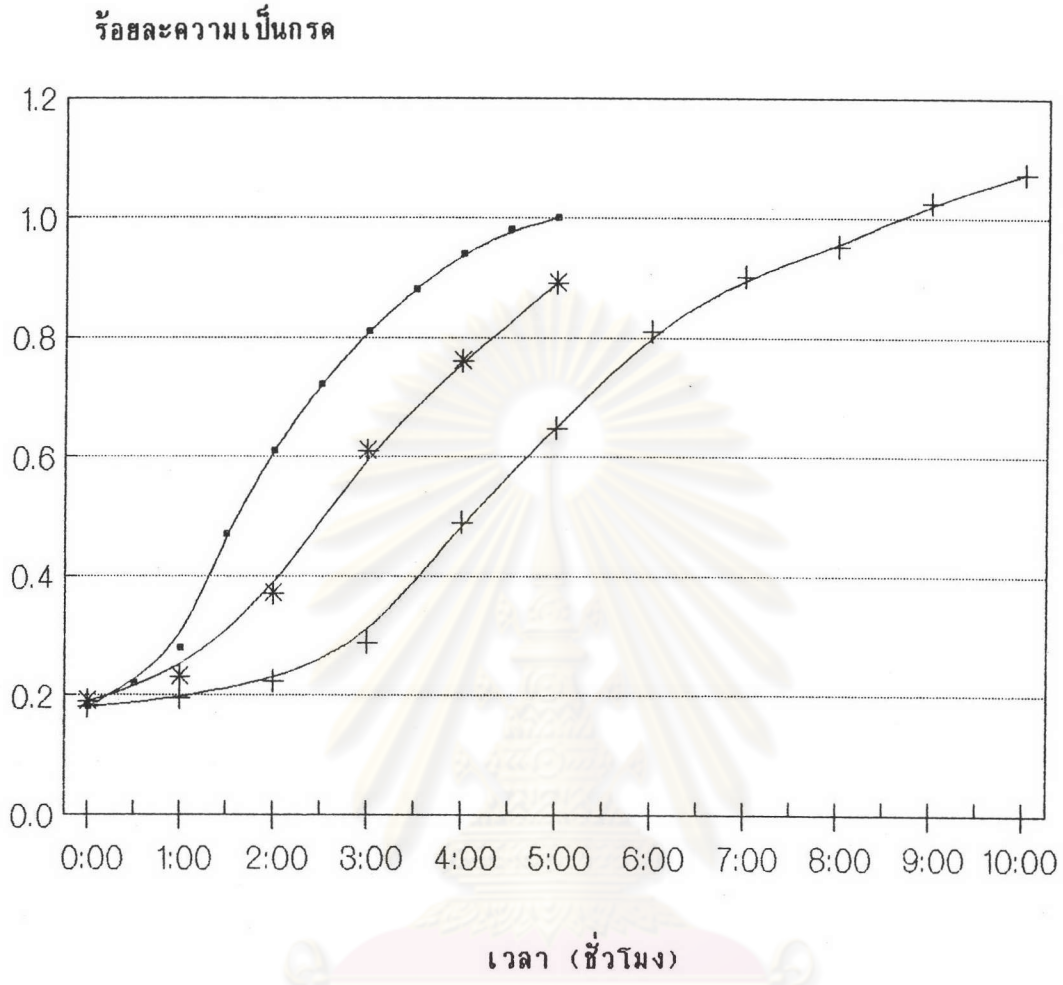
เวลา(ชม.)	pH	ร้อยละของกรด
0	6.45±0.00	0.180±0.002
1.0	6.36±0.01	0.194±0.018
2.0	6.11±0.08	0.224±0.000
3.0	5.83±0.07	0.288±0.024
4.0	5.29±0.20	0.436±0.066
5.0	4.62±0.23	0.647±0.060
6.0	4.30±0.22	0.810±0.117
7.0	4.10±0.08	0.902±0.078
8.0	4.00±0.07	0.951±0.086
9.0	3.94±0.11	1.026±0.093
10.0	3.90±0.07	1.074±0.087

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ทั้งนี้อาจสันนิษฐานได้ว่า เชื้อแบคทีเรียผลิตกรดทางการค้าเมื่อผ่านการคัดแยกและเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์เป็นเวลานาน อาจทำให้ความสามารถในการสร้างกรด และแอกติวิตีของเชื้อลดลงเนื่องจากองค์ประกอบของอาหารไม่เหมาะสมขาดสารอาหารที่จำเป็นต่อแบคทีเรียที่มีอยู่ในน้ำนมดังนั้นจึงได้ทำการทดลองนำหัวเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้มาเลี้ยงในอาหารนมซึ่งเตรียมจากนมสดที่ผ่านการฆ่าเชื้อ แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 24 ชั่วโมง ก่อนนำมาใช้ในการหมักโยเกิร์ต พบว่าความเร็วในการสร้างกรดของแบคทีเรียที่คัดแยกจากผลิตภัณฑ์ทางการค้าที่ผ่านการเลี้ยงในอาหารนมก่อน มีความเร็วในการสร้างกรดสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังตารางที่ 11 ถึง 12 และรูปที่ 18 ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ อาภัสรา กอบกัยกิจ (2537) จึงใช้หัวเชื้อผสม A_1 กับ A_2 ที่ผ่านการชักนำเป็นหัวเชื้อในการผลิตโยเกิร์ตต่อไป

ตารางที่ 11 การเปลี่ยนแปลง pH และร้อยละของกรดในระหว่างบ่มระยะเวลา 0-5 ชั่วโมง ของโยเกิร์ตที่เตรียมจากหัวเชื้อผสม A_1 และ A_2 ที่คัดแยกจากโยเกิร์ตในทางการค้าตรา A ที่ผ่านการชักนำในอาหารนม 1 ครั้ง

เวลา (ชม.)	pH	ร้อยละของกรด
0	6.28±0.04	0.19±0.01
1	5.95±0.00	0.23±0.00
2	5.43±0.11	0.37±0.00
3	4.65±0.14	0.61±0.03
4	4.25±0.14	0.76±0.04
5	4.05±0.14	0.89±0.04



รูปที่ 18 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ร้อยละความเป็นกรด กับ ระยะเวลาการผลิตของโยเกิร์ตที่ผลิตจากหัวเชื้อจากโยเกิร์ตในทางการค้าตรา A (.), หัวเชื้อจากแบคทีเรียที่คัดแยกจากโยเกิร์ตในทางการค้าตรา A (+) และหัวเชื้อจากแบคทีเรียที่คัดแยกจากโยเกิร์ตในทางการค้าตรา A ที่ผ่านการเลี้ยงในอาหารนมที่อุณหภูมิ 37 °C นาน 24 ชั่วโมงก่อนนำมาเป็นหัวเชื้อ (*)

ตารางที่ 12 การเปรียบเทียบร้อยละของกรดแลคติคที่เกิดขึ้นในชั่วโมงที่ 5 ของโยเกิร์ตที่ผลิตจากหัวเชื้อ 3 ประเภท คือ 1. หัวเชื้อที่ใช้โยเกิร์ตในทางการค้าตรา A

2. หัวเชื้อที่คัดแยกจากโยเกิร์ตในการค้าตรา A หลังการเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C นาน 1 เดือน

3. หัวเชื้อที่คัดแยกจากโยเกิร์ตในทางการค้าตรา A ที่ผ่านการเลี้ยงในอาหารนมก่อน 1 ครั้ง

ชนิดของหัวเชื้อ	ร้อยละของกรด
ประเภทที่ 1	1.00 ± 0.00^{a}
ประเภทที่ 2	0.65 ± 0.06^{b}
ประเภทที่ 3	0.89 ± 0.04^{a}

- ตัวอักษรกำกับที่ต่างกันแสดงค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. การศึกษาคุณภาพของโยเกิร์ตที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีทำแห้งแบบพ่นฝอย และแบบเยือกแข็ง

3.1 การทำแห้งแบบพ่นฝอย จากการทำแห้งด้วยวิธีทำแห้งแบบพ่นฝอยพบว่าที่อุณหภูมิลมออกต่ำกว่า 60 °C อุณหภูมิลมเข้าและอุณหภูมิภายในระบบทำแห้งต่ำกว่า 100 °C เป็นอุณหภูมิที่ต่ำกว่าอุณหภูมิน้ำเดือดทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้ไม่แห้งซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Kim และ Bhowmik (1990) ที่รายงานว่าอุณหภูมิลมออกต่ำกว่า 60 °C ได้โยเกิร์ตที่ไม่แห้งและที่อุณหภูมิลมออกสูงกว่า 90 °C โยเกิร์ตผงที่ได้ไม่เป็นที่ยอมรับเนื่องจากการเกิดสีน้ำตาล จึงกำหนดการทดลองโดยแปรอุณหภูมิของลมออก 4 ระดับ คือ 60 70 80 และ 90 °C โดยให้แรงดันที่หัวพ่นฝอย อัตราการป้อนตัวอย่างอุณหภูมิตัวอย่างคงที่ดังแสดงในตารางที่ 13

ตารางที่ 13 ภาวะการทำแห้งโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (NIRO ATOMIZER)

อุณหภูมิลมออก (°C)	อุณหภูมิลมเข้า (°C)	แรงดันที่หัวพ่นฝอย ($Kg./Cm^3$)	อัตราการป้อน (Ml./Min)	อุณหภูมิตัวอย่าง (°C)
60	102	3	10	34
70	115	3	10	34
80	130-134	3	10	35
90	160-165	3	10	35

จากภาวะการทำแห้งพบว่าอุณหภูมิลมออกที่สูงขึ้น จะแปรผันตรงกับอุณหภูมิลมเข้าที่ปรับสูงขึ้น เนื่องจากพลังงานความร้อนของระบบเพิ่มขึ้น พลังงานความร้อนบางส่วนจะใช้ในการระเหยน้ำในโยเกิร์ตให้กลายเป็นไอน้ำออกมากับลมออก เป็นผลให้ในช่วงต้นของการทำแห้งอนุภาคของโยเกิร์ตได้รับความร้อนจากอุณหภูมิลมเข้าที่สูง แต่อุณหภูมิของโยเกิร์ตสูงขึ้นไม่มากจนกว่าน้ำในอนุภาคโยเกิร์ตถูกกำจัดออก พลังงานความร้อนที่สูญเสียไปกับการระเหยน้ำทำให้อุณหภูมิลมในระบบไม่สูงขึ้น

สำหรับโยเกิร์ตที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีพ่นฝอย พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้เป็นผงมีสีขาวครีม คล้ายนมผงแต่ไม่ละเอียดเท่ากับนมผง เมื่อวัดค่าสีของโยเกิร์ตผงที่ได้จากการทำแห้งด้วยเครื่อง Lovibond® ปรากฏว่าค่าสีที่ทำการวัดเปรียบเทียบกับสีโยเกิร์ตก่อนทำแห้ง มีการเปลี่ยนแปลงเฉพาะ สีแดง สีเหลือง และค่าความสว่างเท่านั้น ส่วนค่าสีน้ำเงินไม่มีการเปลี่ยนแปลงทั้งนี้ค่าสีที่วัดได้เป็นตัวแสดงให้เห็นถึงการเกิดสีน้ำตาลขึ้นในโยเกิร์ตผง เป็นผลเนื่องจากความร้อนที่โยเกิร์ตผงได้รับทำให้เกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล (Non Enzymatic Browning)ของน้ำตาลและโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในโยเกิร์ต (King, 1970) ค่าสีของโยเกิร์ตผงที่ได้หลังผ่านการทำแห้งโดยแปรอุณหภูมิลมออกทั้ง 4 ระดับ มีค่าสีแดงอยู่ในช่วง 0.35 ถึง 0.60 สีเหลืองอยู่ในช่วง 0.65 ถึง 1.05 ดังแสดงในตารางที่ 14 จะเห็นว่าไม่มีความแตกต่างในค่าสีที่วัดได้ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อสังเกตุโยเกิร์ตผงที่ผ่านการทำแห้งที่อุณหภูมิลมออกต่างกันทั้ง 4 ระดับ พบว่าสีของโยเกิร์ตผงทั้ง 4 มีสีขาวออกครีมไม่แตกต่างกัน มีสีน้ำตาลเพิ่มขึ้นน้อยมาก สีใกล้เคียงกับสีของโยเกิร์ตก่อนทำแห้งแสดงว่าอุณหภูมิลมออกที่เปลี่ยนแปลงในช่วง 60 - 90 °C ไม่มีผลต่อการเกิดสีน้ำตาลในโยเกิร์ตผง เป็นไปได้ว่าปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลในช่วงนี้ให้ผลความแตกต่างไม่ชัดเจนพอที่เครื่องวัดจะแสดงความแตกต่างที่เกิดขึ้น ส่วนปริมาณความชื้นที่วัดได้ในโยเกิร์ตผง จะมีความสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิลมออกที่ใช้ในระหว่างการทำแห้ง โดยปริมาณความชื้นในโยเกิร์ตผง จะมีความสัมพันธ์ในลักษณะผกผันกับอุณหภูมิลมออกคือเมื่ออุณหภูมิลมออกสูงขึ้นปริมาณความชื้นในโยเกิร์ตจะลดลง และผลของอุณหภูมิลมออกต่อปริมาณความชื้นพบว่าที่อุณหภูมิลมออก 60 และ 70 °C ได้โยเกิร์ตผงที่มีปริมาณความชื้นไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แต่แตกต่างจากปริมาณความชื้นที่วิเคราะห์ได้ที่อุณหภูมิลมออก 80 และ 90 °C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และโยเกิร์ตผงที่ทำแห้งที่อุณหภูมิลมออก 90 °C มีความชื้นต่ำสุดเท่ากับร้อยละ 3.78 ดังตารางที่ 14 การที่ปริมาณความชื้นในโยเกิร์ตผงลดลงเมื่ออุณหภูมิลมออกสูงขึ้น เนื่องจากเมื่ออุณหภูมิลมออกสูงขึ้นปริมาณความร้อนที่โมเลกุลของน้ำในโยเกิร์ตได้รับมากขึ้น จึงเกิดการเปลี่ยนสถานะจากของเหลวกลายเป็นไอน้ำมากขึ้น ดังนั้นโมเลกุลของน้ำจึงเหลืออยู่ในโยเกิร์ตผงที่ได้จากการทำแห้งน้อยลง กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิลมออกกับความชื้นที่เหลืออยู่ในโยเกิร์ตผงแสดงดังรูปที่ 19

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 14 คุณภาพด้านกายภาพ ของโยเกิร์ตผงที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย ที่อุณหภูมิลมออกต่าง ๆ

อุณหภูมิลมออก (°C)	สี[ns]				ร้อยละความชื้น
	แดง	เหลือง	น้ำเงิน	ความสว่าง	
60	0.60±0.00	1.05±0.07	0.0	48.50±3.54	8.37±0.56[a]
70	0.40±0.00	0.75±0.07	0.0	50.75±1.77	7.69±0.12[a]
80	0.35±0.21	0.65±0.21	0.0	48.00±0.02	4.49±0.18[b]
90	0.40±0.00	0.80±0.00	0.0	44.25±3.89	3.78±0.03[b]

- ตัวอักษรกำกับที่ต่างกันแสดงค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)
- ตัวอักษร ns แสดงค่าที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

อุณหภูมิลมออกนอกจากมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงด้านกายภาพแล้ว ยังพบว่าอุณหภูมิลมออก ซึ่งเป็นตัวกำหนดถึงอุณหภูมิสุดท้ายของอนุภาคโยเกิร์ตผงที่อยู่ในเครื่องทำแห้ง จะมีผลต่อการรอดชีวิตของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติคที่มีอยู่ในโยเกิร์ตผง ในลักษณะที่มีความสัมพันธ์แบบผกผันอีกด้วย ดังแสดงในตารางที่ 15 ซึ่งสอดคล้องกับ (Kim and Bhowmik,1990) เนื่องจากเมื่ออุณหภูมิลมออกสูงขึ้นเป็นผลให้แบคทีเรียผลิตกรดแลคติคที่มีอยู่ในโยเกิร์ตผงได้รับความร้อนสูงขึ้น ความร้อนที่แบคทีเรียผลิตกรดได้รับจะมีผลในการทำลายแบคทีเรีย ดังนั้นถ้าเพิ่มอุณหภูมิลมออกระหว่างการทำแห้งสูงขึ้นจะทำให้แบคทีเรียถูกทำลายมากขึ้นด้วย จากผลการทดลองพบว่าเมื่อเพิ่มอุณหภูมิลมออกจาก 60 °C ไปถึง 90 °C อัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียผลิตกรดมีแนวโน้มลดลง แต่ไม่มีความแตกต่างของอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติคที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งต่างจากรายงานของ Kim และ Bhowmik (1990) ที่แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มอุณหภูมิลมออกระหว่าง 60 ถึง 90 °C โดยให้อุณหภูมิลมเข้า แรงดันที่หัวพ่นฝอย อัตราการผ่านของลมร้อนและอุณหภูมิตัวอย่างคงที่ ที่ 160 °C, 98 kPa, 0.28 m^3/Min. และ 30 °C ตามลำดับ สำหรับ

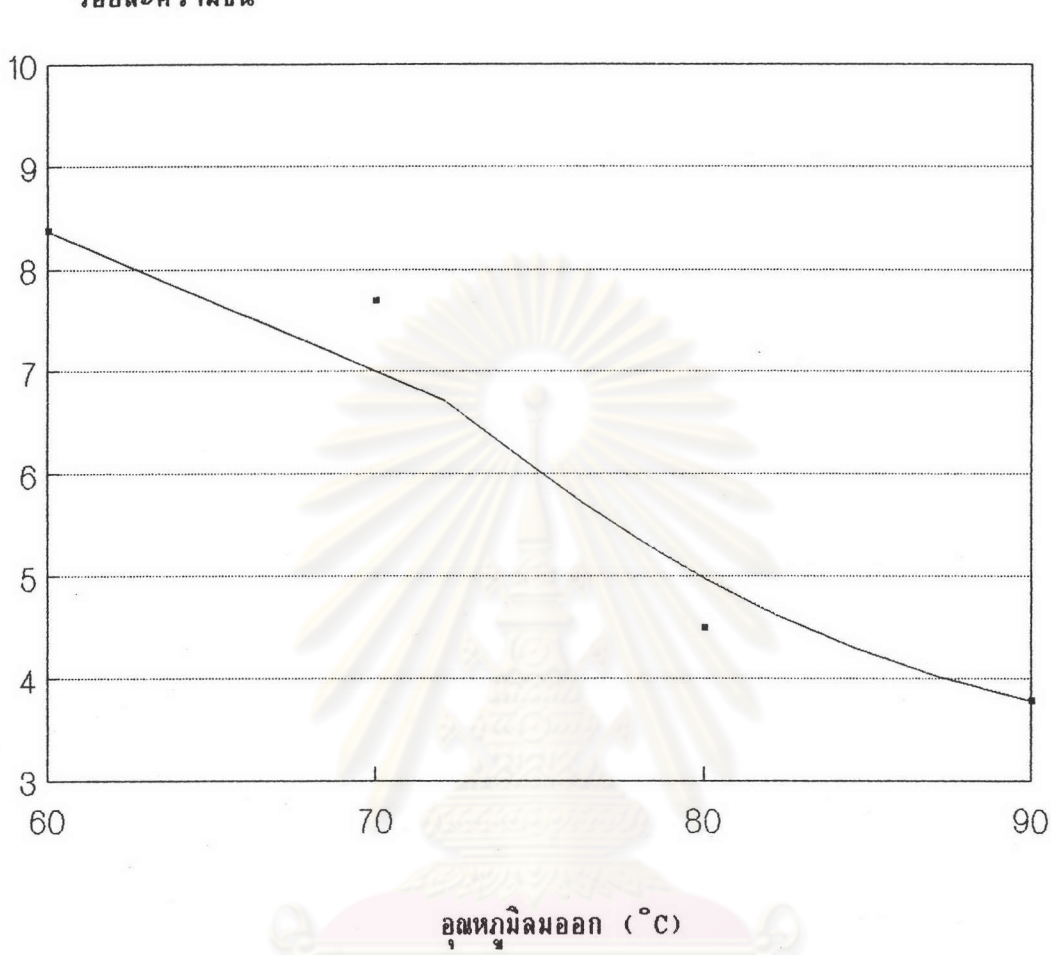
สาเหตุที่เกิดความแตกต่าง เนื่องจากในขั้นตอนการทำแห้งไม่สามารถควบคุมระดับของอุณหภูมิลมออกให้คงที่ตลอดระยะเวลาการทดลองได้ เพราะแหล่งให้ความร้อนของระบบให้ความร้อนไม่คงที่ และโยเกิร์ตผงที่ผ่านการทำแห้งส่วนใหญ่ตกค้างอยู่ในเครื่องทำแห้ง จึงได้รับความร้อนตลอดเวลา

โยเกิร์ตที่ผ่านการผลิตจากเชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือกและผ่านการชักนำ จะมีแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดรอดชีวิตเป็นจำนวนมาก จำนวนแบคทีเรียที่รอดชีวิตเป็นปัจจัยสำคัญต่อคุณภาพของโยเกิร์ต นอกจากนี้จำนวนแบคทีเรียที่รอดชีวิตภายหลังการทำแห้งยังเป็นดัชนี สำหรับบ่งถึงความเสียหายทางด้านจุลินทรีย์ของโยเกิร์ต ที่เกิดจากความร้อนในระหว่างการทำแห้ง เพื่อที่จะหาภาวะการผลิตที่เหมาะสมได้ การเพิ่มหรือลดการรอดชีวิตของแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลคติคในระหว่างการทำแห้งแบบพ่นฝอย นอกจากขึ้นกับอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการทำแห้งแล้ว ยังขึ้นกับความสามารถต้านทานความร้อนของแบคทีเรียเองอีกด้วย (Kim and Bhowmik,1990)

ตารางที่ 15 การลดลงของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติค โดยใช้การทำแห้งแบบพ่นฝอยที่ภาวะการทำแห้งต่าง ๆ

อุณหภูมิลมออก (°C)	ปริมาณแบคทีเรียเริ่มต้น, N_o (Colony/Ml. Sample)	ปริมาณแบคทีเรียที่เหลืออยู่, N (Colony/Ml. Sample)	อัตราการรอดชีวิต Log N/N_o ns
60	$3.52\pm0.12 \times 10^8$	$7.77\pm0.12 \times 10^4$	-3.60 ± 0.07
	$2.01\pm0.14 \times 10^8$	$5.62\pm0.01 \times 10^4$	
70	$8.95\pm2.30 \times 10^7$	$1.70\pm0.02 \times 10^4$	-3.73 ± 0.01
	$1.00\pm0.14 \times 10^8$	$1.86\pm0.01 \times 10^4$	
80	$4.10\pm0.99 \times 10^8$	$5.74\pm0.00 \times 10^4$	-3.82 ± 0.04
	$3.61\pm0.58 \times 10^8$	$5.77\pm0.01 \times 10^4$	
90	$3.32\pm0.07 \times 10^8$	$5.07\pm0.14 \times 10^4$	-3.89 ± 0.10
	$3.15\pm0.04 \times 10^8$	$3.47\pm0.02 \times 10^4$	

- ตัวอักษร ns แสดงค่าที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)



รูปที่ 19 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิออกกับความชื้นที่เหลืออยู่ในโยเกิร์ตผงภายหลังการทำแห้งแบบพ่นฝอย

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สำหรับการประเมินผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้าน สี กลิ่นรส ความเปรี้ยว ลักษณะปรากฏ เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวม ของโยเกิร์ตผงคืนรูปที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยใช้ Trained Panelist จำนวน 6 คน โดยให้คะแนนการทดสอบแบบ Hedonic Scale การคืนรูปของโยเกิร์ตผงเตรียมโดยผสมโยเกิร์ตผง 13 G. (น้ำหนักแห้ง) ลงในน้ำ 87 G. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นผสมความเร็วรอบสูง นาน 10 วินาที จะได้โยเกิร์ตผงคืนรูปสำหรับการทดสอบเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (โยเกิร์ตพร้อมดื่มก่อนการทำแห้ง) กำหนดให้คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสในแต่ละด้านของตัวอย่างควบคุมเป็นคะแนนสูงสุดเท่ากัน 5 คะแนน ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 16 จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติและเปรียบเทียบข้อมูลพบว่า Trained Panelist ทั้ง 6 คนไม่สามารถแยกความแตกต่างทางด้านประสาทสัมผัสต่าง ๆ ของโยเกิร์ตผงคืนรูปที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีทำแห้งแบบพ่นฝอยทั้ง 4 ระดับ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้าน สี มีความสอดคล้องกับผลการวัดค่าสีของโยเกิร์ตผงด้วยเครื่อง Lovibond® ที่ให้ผลไม่แตกต่างกันในทุกตัวอย่าง ค่าสีที่วัดได้จากโยเกิร์ตผงมีค่าสีเหลือง และสีแดงที่ต่ำ จึงตอบสนองการประเมินผงทางประสาทสัมผัสด้านสีที่มีคะแนนเฉลี่ยในทุกตัวอย่างมากกว่า 4.5 คะแนนขึ้นไป ซึ่งอยู่ในระดับการประเมินดีถึงดีมาก และเมื่อเปรียบเทียบคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้าน กลิ่น-รส การยอมรับรวม ของโยเกิร์ตผงคืนรูปกับโยเกิร์ตก่อนการทำแห้ง (ตารางที่ 8) พบว่าคะแนนในแต่ละด้านของโยเกิร์ตเมื่อผ่านการทำแห้งแล้วลดลง ทั้งนี้อาจเกิดจากการสูญเสียสารให้กลิ่นรสของโยเกิร์ต และเกิดออกซิเดชั่นของไขมันในระหว่างกระบวนการทำแห้ง (Minnie, 1987) ดังจะเห็นได้จากโยเกิร์ตผงคืนรูปผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย เมื่อชิมแล้วปรากฏว่า กลิ่นรสซึ่งแสดงลักษณะเฉพาะของโยเกิร์ตลดลงอย่างมาก มีเพียงรสเปรี้ยวที่ยังคงอยู่เท่านั้น และเกิดกลิ่นเหม็นหืนขึ้นเล็กน้อยคล้ายกลิ่นนมผงเก่าเก็บ ส่วนลักษณะเนื้อสัมผัสยังคงใกล้เคียงกับก่อนทำแห้ง จึงทำให้การยอมรับรวมน้อยลง

ตารางที่ 16 การประเมินผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านต่างๆ ของโยเกิร์ตผงคืนรูปที่ผ่านการทำแห้งแบบพ่นฝอย โดยใช้ Trained Panalist จำนวน 6 คน

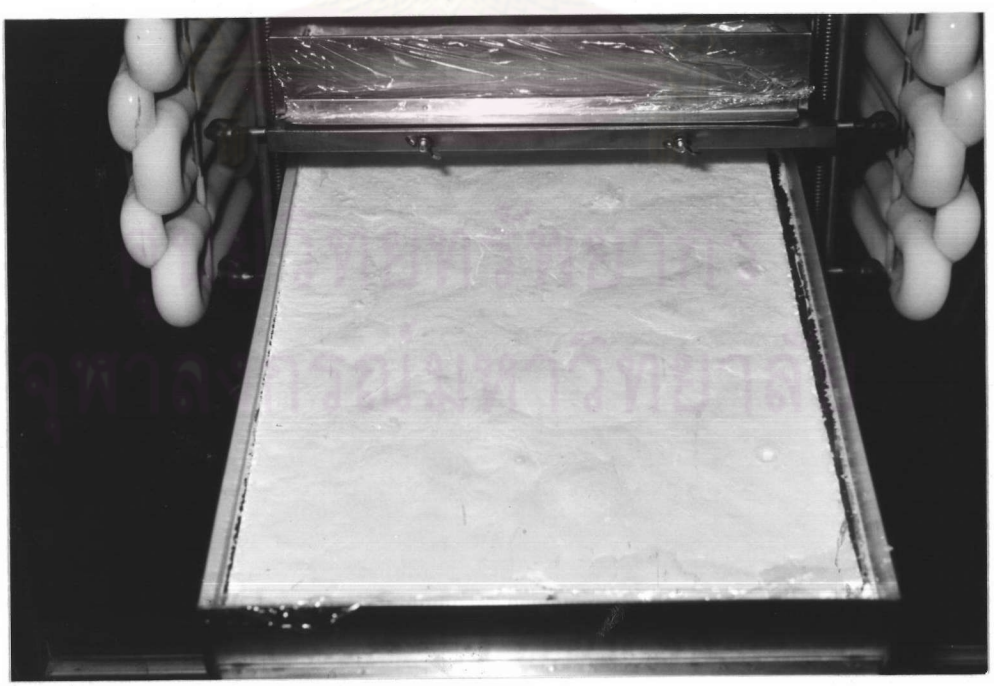
การประเมินผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส	อุณหภูมิลมออกที่ใช้ในการทำแห้ง			
	60°C	70°C	80°C	90°C
สี[ns]	4.58±0.66	4.67±0.48	4.67±0.48	4.50±0.84
กลิ่นรส[ns]	1.42±0.80	2.75±0.88	1.05±0.12	1.40±0.49
ความเปรี้ยว[ns]	4.00±1.10	4.17±0.98	4.00±1.26	3.67±1.51
ลักษณะปรากฏ[ns]	4.00±1.27	4.50±0.55	4.00±1.10	3.67±1.21
เนื้อสัมผัส[ns]	4.33±1.03	4.00±0.55	3.17±1.60	3.33±1.51
การยอมรับรวม[ns]	1.53±0.52	2.62±1.06	2.00±1.10	1.88±0.45

- ตัวอักษร ns แสดงค่าที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)
- ระดับคะแนน 1 คือ ต่ำสุด ต้องปรับปรุง
- ระดับคะแนน 5 คือ สูงสุด ดีมากเท่ากับตัวอย่างควบคุม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.2 การทำแห้งแบบเยือกแข็ง การทดลองในขั้นนี้จะศึกษาผลของการทำแห้งในลักษณะเดียวกับข้อ 3.1 โดยจะศึกษาผลของการทำแห้งแบบเยือกแข็งที่มีต่อคุณภาพด้านกายภาพจุลินทรีย์และการทดสอบทางประสาทสัมผัสโยเกิร์ตที่ได้หลังจากการทำแห้งด้วยวิธีนี้ยังคงมีปริมาตรใกล้เคียงกับก่อนการทำแห้ง แต่มีลักษณะเป็นรูพรุนไม่เป็นผงเหมือนเช่นการทำแห้งแบบพ่นฝอย ดังรูปที่ 20 จึงต้องนำมาบดต่อให้กลายเป็นผง วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของสี และความชื้นของโยเกิร์ตผงที่ได้อยู่ในช่วงร้อยละ 3.8 ถึง 9.86 และภาวะการทำแห้งที่ได้โยเกิร์ตผงที่มีความชื้นต่ำสุดเมื่อใช้อุณหภูมิในการทำแห้งเท่ากับ 35 °C รายละเอียดแสดงในตารางที่ 17 สำหรับการวัดค่าสีวัดได้เฉพาะ สีแดง สีเหลือง และความสว่าง ไม่สามารถวัดค่าสีน้ำเงินได้เช่นเดียวกับการทดลองในข้อ 3.1 ซึ่งให้คำตอบในลักษณะเดียวกัน ผลการวิเคราะห์ค่าสีพบว่าไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เนื่องจากการทำแห้งด้วยวิธีนี้ใช้อุณหภูมิในการทำแห้งต่ำ ดังนั้นจึงไม่เกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากการไหม้ของน้ำตาลแลคโตส (Nickerson, 1974) และปฏิกิริยา Browning Reaction ค่าสีที่วัดได้เป็นค่าสีที่น่าจะเกิดจากสีที่มีอยู่ในน้ำนมวัตถุดิบ ซึ่งจะเห็นได้ว่าสีของโยเกิร์ตผงเหมือนกับสีนมดิบ สำหรับปริมาณความชื้นในโยเกิร์ตผงที่เหลือหลังการทำแห้งแบบเยือกแข็งนาน 30 ชั่วโมง จากการวิเคราะห์พบว่าโยเกิร์ตผงที่ผ่านการทำแห้งที่ภาวะอุณหภูมิแช่แข็งที่ -5 °C, อุณหภูมิทำแห้งที่ 25 °C และภาวะอุณหภูมิแช่แข็งที่ -20 °C, อุณหภูมิทำแห้งที่ 25 °C ไม่มีความแตกต่างของปริมาณความชื้นที่เหลืออยู่ อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แต่ปริมาณความชื้นที่วิเคราะห์ได้สูงกว่าโยเกิร์ตที่ทำแห้งที่ภาวะอุณหภูมิแช่แข็งที่ -5 °C, อุณหภูมิทำแห้งที่ 35 °C และภาวะอุณหภูมิแช่แข็งที่ -20 °C,อุณหภูมิทำแห้งที่ 35 °C อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เนื่องจากผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการทำแห้งต่างกันคือ เมื่อใช้อุณหภูมิในการทำแห้งสูงขึ้นปริมาณความชื้นที่เหลืออยู่ในโยเกิร์ตผงก็ลดลง และยังพบว่าการใช้อุณหภูมิแช่แข็งที่ต่างกันไม่มีผลต่อปริมาณความชื้นที่เหลืออยู่ในโยเกิร์ตผง

สำหรับผลการวัดอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรด แสดงดังตารางที่ 18 จากการวิเคราะห์พบว่า โยเกิร์ตผงที่ทำแห้งที่ภาวะอุณหภูมิแช่แข็งที่ -5 °C, อุณหภูมิทำแห้งที่ 25 °C และอุณหภูมิแช่แข็งที่ -20 °C, อุณหภูมิทำแห้งที่ 25 °C มีอัตราการรอดชีวิตสูงกว่าโยเกิร์ตผงที่ทำแห้งที่ภาวะอุณหภูมิแช่แข็งที่ -5 °C, อุณหภูมิทำแห้งที่ 35 °C และอุณหภูมิแช่แข็งที่ -20 °C,อุณหภูมิทำแห้งที่ 35 °C อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และโยเกิร์ตผงที่ทำแห้งที่ภาวะอุณหภูมิแช่แข็งที่ -20 °C, อุณหภูมิทำแห้งที่ 35 °C มีอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดสูงที่สุดเท่ากับ -1.55 ซึ่งสูงกว่าการทำแห้งโยเกิร์ตผงที่ภาวะอุณหภูมิแช่แข็ง -5 °C ที่อุณหภูมิทำแห้งเดียวกัน แสดงให้เห็นว่าอัตราการรอดชีวิตของเชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแลคติคจะลดลง เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการทำแห้ง และผลร่วมที่เกิดจากการใช้อุณหภูมิในการแช่แข็งที่สูงกว่า จะมีอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียในโยเกิร์ตผงลดลง ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับ Nei (1973) ซึ่งรายงานว่าการรอดชีวิตของเซลล์แบคทีเรียจะลดลงเมื่อใช้อุณหภูมิในการทำแห้งสูงขึ้น และยังแนะนำว่าการดึงเอา Free Water ออกจะไม่ทำอันตรายต่อเซลล์ แต่ถ้าความชื้นเข้าใกล้ศูนย์จุลินทรีย์ที่มีชีวิตจะลดลงตามการกำจัดน้ำส่วนที่ไม่ใช่ Free Water



รูปที่ 20 โยเกิร์ตภายหลังการทำแห้งแบบเยือกแข็ง

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 17 คุณภาพด้านกายภาพของโยเกิร์ตผง ที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีการทำแห้งแบบเยือกแข็งที่ภาวะการทำแห้งต่าง ๆ และใช้เวลาในการทำแห้ง 30 ชั่วโมง

ภาวะการทำแห้ง		สี[ns]				ร้อยละความชื้น
อุณหภูมิในการแช่แข็ง (°C)	อุณหภูมิในการทำแห้ง (°C)	แดง	เหลือง	น้ำเงิน	ร้อยละความสว่าง	
-5	25	.40±.10	.60±.10	0.0	53.67±2.47	9.84±0.23[a]
-5	35	.53±.15	.67±.12	0.0	56.83±4.07	4.44±0.11[b]
-20	25	.40±.10	.57±.06	0.0	48.00±4.82	9.86±0.84[a]
-20	35	.47±.06	.63±.06	0.0	51.67±1.53	3.83±0.14[b]

- ตัวอักษรกำกับที่ต่างกันแสดงค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)
- ตัวอักษร ns แสดงค่าที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 18 การลดลงของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติค โดยใช้การทำแห้งแบบเยือกแข็งที่ภาวะการทำแห้งต่าง ๆ และใช้เวลาในการทำแห้ง 30 ชั่วโมง

ภาวะการทำแห้ง		ปริมาณแบคทีเรียในโยเกิร์ต (โคโลนี/มิลลิลิตร)		อัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรีย
อุณหภูมิในการแช่แข็ง (°C)	อุณหภูมิในการทำแห้ง (°C)	ก่อนทำแห้ง	หลังทำแห้ง	Log N/N_o
-5	25	$2.34\pm0.08\times10^{8}$	$4.48\pm0.64\times10^{6}$	-1.74 ± 0.04^{a}
		$1.65\pm0.07\times10^{8}$	$3.24\pm0.02\times10^{6}$	
		$2.15\pm0.07\times10^{8}$	$3.53\pm0.04\times10^{6}$	
-5	35	$1.04\pm0.01\times10^{8}$	$2.18\pm1.02\times10^{5}$	-2.67 ± 0.08^{c}
		$1.00\pm0.01\times10^{8}$	$1.79\pm0.38\times10^{5}$	
		$1.88\pm0.06\times10^{8}$	$5.01\pm0.64\times10^{5}$	
-20	25	$6.70\pm0.42\times10^{7}$	$2.32\pm0.01\times10^{6}$	-1.55 ± 0.08^{a}
		$3.22\pm0.26\times10^{8}$	$7.80\pm0.55\times10^{6}$	
		$2.68\pm0.17\times10^{8}$	$7.34\pm0.83\times10^{6}$	
-20	35	$1.52\pm0.05\times10^{8}$	$1.85\pm0.09\times10^{6}$	-1.97 ± 0.07^{b}
		$1.36\pm0.16\times10^{8}$	$1.20\pm0.06\times10^{6}$	
		$1.14\pm0.10\times10^{8}$	$1.28\pm0.06\times10^{6}$	

- ตัวอักษรกำกับที่ต่างกันแสดงค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สำหรับการประเมินผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้าน สี กลิ่นรส ความเปรี้ยว ลักษณะปรากฏ เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวม ของโยเกิร์ตผงคืนรูปที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็งโดยใช้ Trained Panelist จำนวน 6 คน โดยให้คะแนนการทดสอบแบบ hedonic scale การคืนรูปของโยเกิร์ตผงเตรียมโดยผสมโยเกิร์ตผง 13 G. (น้ำหนักแห้ง) ลงในน้ำ 87 G. ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องปั่นผสมความเร็วรอบสูง นาน 10 วินาที จะได้โยเกิร์ตผงคืนรูปสำหรับการทดสอบเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม (โยเกิร์ตพร้อมดื่มก่อนการทำแห้ง) กำหนดให้คะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสในแต่ละด้านของตัวอย่างควบคุมเป็นคะแนนสูงสุดเท่ากัน 5 คะแนน ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 19 จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติและเปรียบเทียบข้อมูลพบว่า Trained Panelist ทั้ง 6 คน ไม่สามารถแยกความแตกต่างทางด้านประสาทสัมผัสต่าง ๆ ของโยเกิร์ตผงคืนรูปที่ผ่านการทำแห้งด้วยวิธีทำแห้งแบบเยือกแข็งทั้ง 4 ระดับ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้าน สี มีความสอดคล้องกับผลการวัดค่าสีของโยเกิร์ตผงด้วยเครื่อง Lovibond® ที่ให้ผลไม่แตกต่างกันในทุกตัวอย่าง เนื่องจากการทำแห้งแบบเยือกแข็งนี้เป็นกระบวนการที่ใช้อุณหภูมิต่ำ จึงไม่เกิดปฏิกิริยาการเสื่อมเสียหรือเกิดขึ้นน้อย (Minnie, 1987) และสูญเสียสารให้กลิ่นรสเพียงเล็กน้อยเท่านั้น สำหรับคะแนนการทดสอบด้าน สี ความเปรี้ยว ลักษณะปรากฏ และเนื้อสัมผัสของโยเกิร์ตผงคืนรูปที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็งพบว่าระดับคะแนนเฉลี่ยทุกตัวอย่างมากกว่า 4.3 คะแนนขึ้นไป ซึ่งอยู่ในระดับการประเมินดีถึงดีมาก ส่วนคะแนนด้านกลิ่น-รส และการยอมรับรวม พบว่าคะแนนเฉลี่ยในทุกตัวอย่างอยู่ประมาณ 3-4 คะแนน ซึ่งอยู่ในระดับการประเมินพอใช้ถึงดีและโยเกิร์ตผงคืนรูปที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็งที่ภาวะอุณหภูมิทำแห้ง 25 °C มีแนวโน้มของคะแนนการยอมรับรวมดีกว่าการทำแห้งที่ภาวะอุณหภูมิทำแห้ง 35 °C

จากการทำโยเกิร์ตผงด้วยกระบวนการทำแห้งทั้ง 2 วิธี พบว่าภาวะการทำแห้งที่ดีที่สุดในแต่ละวิธีคือ การทำแห้งแบบเยือกแข็งที่ภาวะแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 °C, อุณหภูมิในการทำแห้ง 25 °C และการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิลมออก 60 °C เนื่องจากภาวะดังกล่าวในแต่ละวิธีใช้อุณหภูมิในการทำแห้งต่ำ จึงมีอัตราการรอดชีวิตของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติคสูงกว่าภาวะการทดลองต่าง ๆ ในแต่ละวิธี ในขณะที่ผลการศึกษาคุณภาพด้าน สี และการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านต่าง ๆ ไม่มีความแตกต่างกัน ส่วนปริมาณความชื้นที่มีอยู่ในโยเกิร์ตผงสูงนั้นสามารถแก้ไขได้โดยการระเหยน้ำในโยเกิร์ตออกบางส่วนก่อนการทำแห้ง โดยใช้การทำแห้งแบบสุญญากาศ (Rotary Vacuum Dryer) เมื่อนำค่าอัตราการรอดชีวิต ผลการทดสอบทางประสาท

สัมผัสในด้าน กลิ่น-รส และการยอมรับรวม มาพิจารณาจะเห็นได้ว่าการทำแห้งแบบเยือกแข็งที่ภาวะแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 °C, อุณหภูมิในการทำแห้ง 25 °C มีค่าเท่ากับ -1.55, 3.25 และ 3.83 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงกว่าการทำแห้งแบบพ่นฝอยที่อุณหภูมิลมออก 60 °C ที่มีค่าเท่ากับ -3.60, 1.42 และ 1.53 ตามลำดับ ดังนั้นกระบวนการที่เหมาะสมที่ควรนำมาใช้ในการทำแห้งโยเกิร์ตจึงเลือก การทำแห้งแบบเยือกแข็งที่ภาวะแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 °C, อุณหภูมิในการทำแห้ง 25 °C

ตารางที่ 19 การประเมินผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านต่าง ๆ ของโยเกิร์ตผงคืนรูปที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง โดยใช้ Trained Panalist จำนวน 6 คน

การประเมินผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส	อุณหภูมิในการแช่แข็ง (°C)			
	-5		-20	
	อุณหภูมิในการทำแห้ง (°C)		อุณหภูมิในการทำแห้ง (°C)	
	25	35	25	35
สี[ns]	4.67±0.52	4.83±0.41	4.50±0.55	4.83±0.41
กลิ่น-รส[ns]	3.83±0.41	2.98±0.87	3.25±0.88	3.17±1.32
ความเปรี้ยว[ns]	4.50±0.84	4.67±0.82	4.83±0.41	4.50±0.84
ลักษณะปรากฏ[ns]	4.67±0.52	4.83±0.17	4.33±0.67	5.00±0.00
เนื้อสัมผัส[ns]	4.30±0.55	4.42±0.66	4.33±0.82	4.42±0.49
การยอมรับรวม[ns]	3.83±0.41	3.17±0.68	3.83±0.26	3.50±0.84

- ตัวอักษร ns แสดงค่าที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)
- ระดับคะแนน 1 คือ ต่ำสุด ต้องปรับปรุง
- ระดับคะแนน 5 คือ สูงสุด ดีมากเท่ากับตัวอย่างควบคุม

4. ติดตามการเปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บของโยเกิร์ตผงที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง

เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตผงที่ผ่านกระบวนการทำแห้งแบบเยือกแข็งที่อุณหภูมิ -20 °C, อุณหภูมิในการทำแห้ง 25 °C ไว้ที่อุณหภูมิห้อง (30-32 °C) เป็นเวลา 10 สัปดาห์ และอุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 4 สัปดาห์ และติดตามการเปลี่ยนแปลงด้าน สี ของโยเกิร์ตผงที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็งในระหว่างการเก็บโดยใช้เครื่อง Lovibond ® ซึ่งรายงานค่าสีที่วัดได้เป็นค่าแม่สี 3 สี คือ สีแดง สีเหลือง สีน้ำเงิน และ ร้อยละความสว่าง ค่าที่วัดได้แสดงดังตารางที่ 20 พบว่าไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงของค่าสีแดง สีเหลือง สีน้ำเงิน และร้อยละความสว่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตลอดการติดตามนาน 10 สัปดาห์ ทั้งในการเก็บที่อุณหภูมิห้องและภาวะเร่ง อาจเป็นได้ว่าการเก็บโยเกิร์ตผงในถุงลามิเนตในสภาพสุญญากาศช่วยป้องกันโยเกิร์ตผงจากอุลตร้าไวโอเลตที่จะไปกระตุ้นปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล และการเปลี่ยนน้ำตาลแลคโตสเป็นกรดแลคติคยังเป็นการลดปริมาณน้ำตาลในโยเกิร์ตผงลด ซึ่งเป็นเหตุให้การเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากน้ำตาลและกรดอะมิโนน้อยลง (Nickerson, 1974) และอุณหภูมิในการเก็บทั้งอุณหภูมิห้อง และภาวะเร่งเป็นอุณหภูมิที่ไม่สูงพอที่จะไปเร่งปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจาก Caramelization อีกด้วย (Minnie, 1987) สีของโยเกิร์ตผงภายหลังการเก็บนาน 10 สัปดาห์ จึงยังคงไม่เปลี่ยนแปลง ส่วนทางด้านปริมาณความชื้นที่มีอยู่ในโยเกิร์ตผงดังแสดงในตารางที่ 20 พบว่าปริมาณความชื้นเริ่มต้นเป็นร้อยละ 8.26 การเก็บในถุงลามิเนตเมื่อเวลาเพิ่มขึ้น ปริมาณความชื้นจะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จนถึงสัปดาห์ที่ 4 จากนั้นการเปลี่ยนแปลงของความชื้นจะเริ่มคงที่ตั้งแต่สัปดาห์ที่ 4 จนถึงสัปดาห์ที่ 10 ซึ่งมีความชื้นเฉลี่ยเมื่อเก็บที่อุณหภูมิห้องเท่ากับร้อยละ 9.28 และภายใต้ภาวะเร่งเป็นเวลานาน 4 สัปดาห์ ปริมาณความชื้นจะเพิ่มขึ้นเมื่อเวลานานขึ้นและปริมาณความชื้นสุดท้ายมีค่าเท่ากับร้อยละ 9.30 จากการทดลองจะเห็นได้ว่าร้อยละปริมาณความชื้นเริ่มต้นสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในสัปดาห์ที่ 1 ในภาวะการเก็บทั้ง 2 อาจเนื่องจากตัวอย่างโยเกิร์ตผงในสัปดาห์ที่ 0 ทำการวิเคราะห์หาความชื้นภายหลังจากนำโยเกิร์ตผงออกจากเครื่องทำแห้งทันที แต่โยเกิร์ตผงที่วิเคราะห์หาปริมาณความชื้นในระหว่างเวลาต่าง ๆ ทำการเก็บในถุงลามิเนต ซึ่งถุงลามิเนตที่ใช้ในการเก็บนั้นอาจมีความชื้นเกาะอยู่ที่ผนังภาชนะบรรจุด้านในเอง และยังอาจเกิดจากโยเกิร์ตผงดูดความชื้นในขั้นตอนการรอการบรรจุนานประมาณ 20-30 นาที เนื่องจากโยเกิร์ตผงดูดความชื้นเร็วมาก จึงทำโยเกิร์ตผงที่บรรจุในถุงลามิเนตดูดความชื้นดังกล่าวในภาย

หลัง เมื่อเปรียบเทียบเฉพาะโยเกิร์ตผงที่เก็บตั้งแต่สัปดาห์ที่ 1 ถึง 10 จะเห็นว่าถึงแม้จะมีความชื้นเพิ่มขึ้นแต่ก็ไม่มากซึ่งสอดคล้องกับการงานวิจัยของ Minnie (1987)

ตารางที่ 20 การเปลี่ยนแปลงทาง กายภาพ ของโยเกิร์ตผงที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง ที่อุณหภูมิแช่แข็ง -20 °C อุณหภูมิทำแห้ง 25 °C ในระหว่างการเก็บที่ภาวะอุณหภูมิห้องและที่ 37 °C

อุณหภูมิการเก็บ	สัปดาห์ที่	สีของโยเกิร์ตผง				ร้อยละความชื้น
		แดง[ns]	เหลือง	น้ำเงิน	ร้อยละความสว่าง	
อุณหภูมิห้อง	0	0.33±0.12	0.53±0.12^{a}	0	52.33±1.53^{ab}	8.26±0.01^{d}
	1	0.40±0.00	0.60±0.00^{a}	0	51.00±1.00^{ab}	9.17±0.01^{c}
	2	0.40±0.00	0.60±0.00^{a}	0	50.67±1.15^{b}	9.23±0.01^{b}
	3	0.37±0.06	0.60±0.00^{a}	0	52.67±0.58^{ab}	9.18±0.01^{c}
	4	0.40±0.00	0.60±0.00^{a}	0	50.50±0.50^{b}	9.27±0.01^{a}
	8	0.37±0.06	0.60±0.00^{a}	0	52.67±0.58^{ab}	9.25±0.01^{ab}
	10	0.43±0.06	0.70±0.10^{a}	0	54.33±1.53^{a}	9.28±0.01^{a}
37 °C	1	0.40±0.00	0.70±0.00^{A}	0	52.33±0.58^{A}	9.19±0.01^{C}
	2	0.40±0.00	0.70±0.00^{A}	0	49.67±0.58^{B}	9.26±0.01^{B}
	3	0.40±0.01	0.70±0.00^{A}	0	50.83±0.29^{AB}	9.26±0.01^{B}
	4	0.40±0.00	0.70±0.00^{A}	0	52.17±0.29^{A}	9.30±0.02^{A}

- ตัวอักษรกำกับที่ต่างกันแสดงค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)
- ตัวอักษร ns แสดงค่าที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

จากการเปลี่ยนแปลงทางด้าน pH และร้อยละความเป็นกรดในระหว่างการเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 สัปดาห์ และอุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 4 สัปดาห์ แล้วนำโยเกิร์ตผงมาคืนรูปโดยการละลายน้ำดังได้กล่าวมาแล้วข้างต้น ผลการวิเคราะห์แสดงดังตารางที่ 21 พบว่าทั้งระดับ pH และร้อยละความเป็นกรดไม่มีการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เพราะถึงแม้ว่าแบคทีเรียผลิตกรดแลคติคยังคงมีชีวิตอยู่ในโยเกิร์ตผง แต่แบคทีเรียผลิตกรดหล่านั้นอยู่ในภาวะพักตัว แบคทีเรียหยุดกิจกรรมต่าง ๆ เนื่องจากภาวะแวดล้อมไม่เหมาะต่อการเจริญจึงไม่มีการสร้างกรดแลคติคขึ้นอีก

ตารางที่ 21 การเปลี่ยนแปลงทาง เคมี ของโยเกิร์ตผงคืนรูป ที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็งที่อุณหภูมิแช่แข็ง -20 °C อุณหภูมิทำแห้ง 25 °C ในระหว่างการเก็บที่ภาวะอุณหภูมิห้องและที่ 37 °C

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อุณหภูมิการเก็บ	สัปดาห์ที่	pH[ns]	ร้อยละความเป็นกรด[ns]
อุณหภูมิห้อง	0	3.95±0.02	1.26±0.02
	1	3.94±0.03	1.25±0.03
	2	3.95±0.02	1.26±0.01
	3	3.96±0.02	1.26±0.01
	4	3.94±0.02	1.27±0.01
	8	3.96±0.01	1.27±0.03
	10	3.96±0.01	1.26±0.02
37 °C	1	3.97±0.01	1.26±0.02
	2	3.95±0.01	1.26±0.02
	3	3.97±0.01	1.25±0.01
	4	3.97±0.01	1.26±0.01

- ตัวอักษร ns แสดงค่าที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ผลการวิเคราะห์เชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแลคติค เชื้อรา และยีสต์ ในระหว่างการเก็บ ดังแสดงในตารางที่ 22 พบว่าเมื่อระยะเวลาในการเก็บนานขึ้นจำนวนจุลินทรีย์กลุ่มต่าง ๆ กลับลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ที่พบจะเป็นแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลคติคซึ่งเป็นเชื้อกลุ่มหลักที่มีในโยเกิร์ต นอกจากนั้นยังพบเชื้อราและยีสต์ในปริมาณไม่มากนัก ซึ่งเชื้อเหล่านี้อาจปนเปื้อนมาในระหว่างกระบวนการทำแห้งและการบรรจุ และจากการติดตามยังพบว่าปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด และเชื้อแบคทีเรียผลิตกรดแลคติคลดลงอย่างรวดเร็วในสัปดาห์ที่ 1 และ 2 อาจเนื่องจากจุลินทรีย์บางส่วนโดยเฉพาะแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลคติคได้รับบาดเจ็บจากการทำแห้ง จึงตายลงส่วนจุลินทรีย์ที่ไม่ได้รับบาดเจ็บก็จะอยู่ในภาวะพักตัว (Robinson, 1981) และรอดชีวิตในระหว่างระยะเวลาการเก็บตลอด 10 สัปดาห์ นอกจากนี้สาเหตุอีกประการน่าจะมาจากปริมาณความชื้นที่มีอยู่สูงในโยเกิร์ตผง ทำให้ภาวะพักตัวของแบคทีเรียผลิตกรดแลคติคเกิดไม่สมบูรณ์ แบคทีเรียยังมีแอคติวิตีอยู่แต่ภาวะนั้นไม่เหมาะต่อการเจริญจึงตายลง ส่วนการรอดชีวิตของเชื้อราและยีสต์พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย อาจเป็นได้ว่าเชื้อราส่วนใหญ่ที่พบในโยเกิร์ตผงอยู่ในรูปสปอร์ จึงทนต่อภาวะการเก็บได้ดีกว่าเซลล์ของแบคทีเรีย จึงมีการเปลี่ยนแปลงที่น้อยกว่า

สำหรับการทดสอบทางประสาทสัมผัสระหว่างการเก็บโดยใช้ Trained Panelist 6 คน ผลการทดสอบแสดงดังตารางที่ 23 ช่วงคะแนนที่ใช้ คือ 1 ถึง 5 โดยที่ คะแนน 5 หมายถึง โยเกิร์ตผงคืนรูปที่ไม่มีข้อบกพร่องใด ๆ และคะแนน 1 หมายถึง โยเกิร์ตที่มีข้อบกพร่องมาก ระดับคะแนนที่ต่ำกว่า 2.5 ชี้ให้เห็นว่าโยเกิร์ตผงคืนรูปมีข้อบกพร่องในด้านใดด้านหนึ่ง จากการวิเคราะห์พบว่าโยเกิร์ตผงคืนรูปไม่มีความแตกต่างในด้าน กลิ่น-รส ความเปรี้ยว ลักษณะปรากฏ และเนื้อสัมผัสตลอดการเก็บ 10 สัปดาห์ ทั้งในภาวะอุณหภูมิห้อง และภาวะเร่ง ซึ่งการทดสอบด้านความเปรี้ยวสอดคล้องกับค่า pH และร้อยละความเป็นกรดที่ไม่เปลี่ยนแปลงตลอดระยะเวลาการเก็บ และการทดสอบด้านกลิ่น-รส ลักษณะปรากฏ เนื้อสัมผัส มีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาในการเก็บนานขึ้นโยเกิร์ตผงคืนรูปมีข้อบกพร่องด้าน กลิ่น-รส ในสัปดาห์ที่ 10 ส่วนการทดสอบด้านสี และการยอมรับรวม พบว่าเมื่อเก็บโยเกิร์ตที่อุณหภูมิห้องนาน 10 สัปดาห์ หรือที่ภาวะเร่งนาน 4 สัปดาห์ ระดับคะแนนที่ได้รับจากการทดสอบจะลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และโยเกิร์ตผงคืนรูปเริ่มไม่ได้รับการยอมรับในสัปดาห์ที่ 10 ของการเก็บที่อุณหภูมิห้อง จากการทดสอบพบว่าโยเกิร์ตผงคืนรูปมีข้อบกพร่อง

ทางด้าน กลิ่น-รส ในการทดสอบทางประสาทสัมผัส ได้แก่ รสขม กรดสูง ไม่มีความสด เก่า เกิดกลิ่นอับ ขาดกลิ่นรสที่นุ่มนวล

ตารางที่ 22 การเปลี่ยนแปลงทาง จุลินทรีย์ ของโยเกิร์ตผงคืนรูป ที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็งที่อุณหภูมิแช่แข็ง -20 °C อุณหภูมิทำแห้ง 25 °C ในระหว่างการเก็บที่ภาวะอุณหภูมิห้องและที่ 37 °C

อุณหภูมิการเก็บ	สัปดาห์ที่	จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด Log CFU/Ml.	จำนวนจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกรด Log CFU/Ml.	จำนวนราและยีสต์ Log CFU/Ml.
อุณหภูมิห้อง	0	7.53 ± 0.06^{a}	6.89 ± 1.16^{a}	3.52 ± 0.01^{aA}
	1	5.72 ± 0.03^{b}	5.95 ± 0.03^{ab}	3.33 ± 0.03^{b}
	2	5.49 ± 0.02^{c}	5.23 ± 0.05^{bc}	3.32 ± 0.05^{b}
	3	4.62 ± 0.04^{d}	4.48 ± 0.03^{bc}	3.15 ± 0.02^{c}
	4	4.44 ± 0.03^{e}	4.28 ± 0.06^{c}	3.11 ± 0.02^{c}
	8	4.31 ± 0.03^{ef}	4.24 ± 0.01^{c}	3.10 ± 0.02^{c}
	10	4.31 ± 0.05^{f}	4.15 ± 0.07^{c}	3.08 ± 0.01^{c}
37 °C	1	5.68 ± 0.02^{A}	5.52 ± 0.04^{A}	3.43 ± 0.04^{A}
	2	4.57 ± 0.08^{B}	4.26 ± 0.04^{B}	3.24 ± 0.01^{B}
	3	4.16 ± 0.08^{C}	3.00 ± 0.04^{C}	2.99 ± 0.01^{C}
	4	2.97 ± 0.02^{D}	2.93 ± 0.03^{C}	2.61 ± 0.09^{D}

- ตัวอักษรกำกับที่ต่างกันแสดงค่าที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 23 การประเมินการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านต่าง ๆ ของโยเกิร์ตผงคืนรูปที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็งที่อุณหภูมิแช่แข็ง -20 °C อุณหภูมิทำแห้ง 25 °C ในระหว่างการเก็บที่ภาวะอุณหภูมิห้องและที่ 37 °C โดยใช้ Trained Panelist จำนวน 6 คน

อุณหภูมิการเก็บ	สัปดาห์ที่	การประเมินผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส					
		สี	กลิ่น-รส[ns]	ความเปรี้ยว[ns]	ลักษณะปรากฏ[ns]	เนื้อสัมผัส[ns]	การยอมรับรวม
อุณหภูมิห้อง	0	5.00±0.00^{a}	3.42±0.66	5.00±0.00	5.00±0.00	4.33±0.52	3.67±0.75^{a}
	1	5.00±0.00^{a}	3.00±0.89	4.83±0.41	4.33±0.82	4.33±0.82	3.33±0.52^{ab}
	2	5.00±0.00^{a}	3.33±1.21	5.00±0.00	4.50±0.84	4.17±0.75	3.67±0.98^{a}
	3	4.67±0.52^{ab}	2.83±0.75	4.83±0.41	4.33±1.02	4.00±0.89	3.42±0.58^{ab}
	4	4.50±0.55^{ab}	2.75±1.33	5.00±0.00	4.33±1.02	3.75±0.76	3.00±0.89^{ab}
	8	4.50±0.55^{ab}	2.58±0.66	4.83±0.41	4.17±0.75	3.75±0.76	2.83±0.41^{ab}
	10	4.17±0.41^{b}	2.33±0.52	4.67±0.52	4.00±0.89	3.50±0.45	2.67±0.52^{b}
37 °C	1	5.00±0.00^{A}	2.42±0.80	4.50±0.84	4.33±0.82	4.33±0.82	2.92±0.66^{A}
	2	4.83±0.41^{AB}	2.33±0.52	4.58±0.49	4.50±0.84	4.17±0.75	2.83±0.75^{AB}
	3	4.67±0.82^{AB}	3.00±0.89	5.00±0.00	4.25±0.99	4.00±0.89	2.83±0.75^{AB}
	4	4.33±0.82^{B}	2.25±0.88	4.50±0.55	4.17±1.33	3.75±1.17	2.55±0.73^{B}

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย