

ผลของการใช้คีเฟอร์ร่วมกับเอนไซม์บางชนิดต่อการตกตะกอนโปรตีนนม ในกระบวนการผลิตมอซซาเรลล่าชีส

Effect of Kefir Grain with Some Enzyme to Milk Protein Sedimentation in Mozzarella Cheese Process

สุวัฒน์ เนตรเจริญ¹ วรัญญา เสงเจริญ² นัฐวุฒิ วิเศษโสภา³

Suwat Netjaroen¹ Waranya Hengcharoen² Natthawut Wisetsopa³

¹⁻³ แผนกวิชาแปรรูปสัตว์น้ำ วิทยาลัยประมงสมุทรสาคร จังหวัดสมุทรสาคร รหัสไปรษณีย์ 74110

Department of Aquaculture Processing, Samut Sakhon Fisheries College, Samut Sakhon 74110

¹ Corresponding Author: E-mail: Suwataeae@gmail.com

Received: 19 Mar. 2021 ; Revised: 5 May. 2021 ; Accepted: 9 June. 2021 ;

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการวิจัยในครั้งนี้ 1) เพื่อศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการหมักหัวเชื้อคีเฟอร์ ที่สร้างกรดแลคติก 4 ระดับ ได้แก่ 0, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง 2) เพื่อศึกษาปริมาณกรดแลคติกที่เหมาะสม ในการตกตะกอนของโปรตีนนมจำนวน 4 ระดับ ได้แก่ ร้อยละ 2, 4, 6 และ 8 3) เพื่อศึกษาชนิดและ ปริมาณของเอนไซม์ที่เหมาะสมในการตกตะกอนโปรตีนนม ได้แก่ เอนไซม์โปรติเอส และเอนไซม์เรนนิ นชนิดละ 4 ระดับ ปริมาณร้อยละ 0.02, 0.04, 0.06 และ 0.08 และ 4) เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของ มอซซาเรลล่าชีสกับมอซซาเรลล่าชีสทางการค้าด้วยวิธีแบบทดสอบความแตกต่างอย่างง่าย โดยใช้ผู้ทดสอบ ทัวไปจำนวน 40 คน

ผลการวิจัยพบว่า การหมักคีเฟอร์เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง มีปริมาณกรดแลคติก ร้อยละ 0.77 มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 4.02 และน้ำนมเกิดการแยกชั้นของเวย์โปรตีนอย่างชัดเจนมี กลิ่นเปรี้ยวรุนแรง ส่วนการเติมกรดแลคติกปริมาณร้อยละ 8 นมเกิดการตกตะกอนได้ก้อนเคิร์ด สูงสุด เท่ากับ 132 กรัม และผลการศึกษาชนิดและปริมาณของเอนไซม์เรนนิและเอนไซม์โปรติเอสร่วมกับกรด แลคติกในปริมาณร้อยละ 0.6 ให้น้ำหนักมอซซาเรลล่าชีสสูงที่สุด เท่ากับ 92.33 กรัมต่อน้ำนมดิบ 1 ลิตร มีเปอร์เซ็นต์ yield เท่ากับ 9.23 เปอร์เซ็นต์ สำหรับผลการเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างมอซซาเรลล่า ชีสกับมอซซาเรลล่าชีสทางการค้า พบว่า คุณลักษณะโดยรวมของผลิตภัณฑ์ทั้งสองชนิด ไม่มีความแตกต่าง กันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $\alpha = 0.05$ ผู้ทดสอบไม่สามารถแยกความแตกต่างได้ จึงสามารถนำเอา กรรมวิธีการผลิตมอซซาเรลล่าชีสมาใช้ผลิตในเชิงพาณิชย์ได้

คำสำคัญ : มอซซาเรลล่าชีส เอนไซม์ คีเฟอร์ การตกตะกอน โปรตีนนม

Abstract

The objectives of this study were 1) to study the appropriate time for fermentation of kefir grain to produce of lactic acid amount 4 levels: 0, 24, 48 and 72 hours respectively, 2) to study an appropriate quantity of lactic acid in the sedimentation of milk protein amount 4 levels: 2, 4, 6 and 8 percent, 3) to study the kind and amount of enzyme which suitable for sedimentation of milk protein; protease enzyme and renin enzyme for 4 levels: 0.02, 0.04, 0.06 and 0.08 percent and (4) to compare the difference between mozzarella and commercial mozzarella cheese with a simple difference, test by using general examiner list of 40 people.

The result found that, kefir fermentation was 48 hours at room temperature it has lactic acid content was 0.77 percent, the pH value was 4.02, the milk was distinct stratification of whey protein with more sour smell ostensibly for adding 8 percent of lactic acid, the milk precipitated highest in cord mass for 132 grams. For the type and quantity of renin and equals to protease enzyme with lactic acid together at 0.6 percent, it gave the highest weight of mozzarella cheese 92.33 gram per 1 liter of raw milk and yield percentage was 9.23 percent. For a comparison of the difference between mozzarella and commercial mozzarella cheese were found that the overall characteristics of both products there was no statistically significant difference at $\alpha = 0.05$ level the testers weren't different. Therefore, mozzarella cheese production process can be used for commercial production purpose.

Keywords: Mozzarella Cheese, Enzyme, Kefir Grain, Sedimentation, Whey Protein

1. บทนำ

ปัจจุบันความนิยมบริโภคอาหารตะวันตกเพิ่มมากขึ้น ตลาดชีสในประเทศไทยมีมูลค่าการนำเข้าอยู่ที่ประมาณ 2,200 ล้านบาท เดบิตขึ้นร้อยละ 6.7 ในปี 2561 ผู้บริโภคส่วนใหญ่เป็นกลุ่มคนไทยที่อาศัยอยู่ในเมืองคุ้นเคยกับอาหารตะวันตกที่ทำมาจากชีส และนักท่องเที่ยวชาวต่างชาติที่บริโภคชีสเป็นอาหารหลัก [6,9] มอสซาเรลล่าชีส (Mozzarella Cheese) จัดเป็นเนยแข็ง มีสีเหลืองอ่อน เนื้อสัมผัสค่อนข้างนิ่ม นิยมใช้เป็นส่วนประกอบในการทำพิซซ่าและอาหารจากพาสต้าชนิดต่าง ๆ เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำน้ำนมดิบมาตกตะกอนด้วยเอนไซม์ กรดหรือจุลินทรีย์จนเกิดการรวมตัวกันเป็นก้อนแล้วแยกส่วนที่เป็นน้ำออกนำมาใช้ในลักษณะสดหรือนำมาบ่มก่อนการบริโภค [1] โดยทั่วไปการผลิตมอสซาเรลล่าชีสนั้นจะใช้อุปกรณ์ในการผลิตค่อนข้างมีราคาสูง มีขั้นตอนและกระบวนการที่ซับซ้อน เช่น เวลาในการพาสเจอร์ไร้น้ำนมก่อนการผลิต การลดอุณหภูมิ น้ำนม การบ่มชีส การพักก้อนโปรตีนเพื่อให้ได้ค่าพีเอชที่ต้องการ ส่งผลให้ชีสมีต้นทุนสูง โดยเฉพาะการใช้เอนไซม์เรนินในการตกตะกอนโปรตีนซึ่งได้จากการสกัดจากกระเพาะของ

ลูกวัว ซึ่งการฆ่าลูกวัวเพียงเพื่อสกัดเอาเอนไซม์เรนินเป็นการไม่คุ้มค่าส่งผลให้เอนไซม์เรนินมีราคาแพง จากงานวิจัย พบว่า เอนไซม์โปรตีนเอสที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย *Bacillus* นั้นมีความสามารถย่อยโปรตีนเคซีนในน้ำนมทำให้เคซีนไมเซลล์ (Casein Micell) เปลี่ยนแปลงไปและจับตัวเป็นก้อน [2] ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้มีราคาถูกกว่าเอนไซม์เรนินหลายเท่าตัว อย่างไรก็ตามการตกตะกอนโปรตีนนมนี้สามารถทำได้ด้วยการเติมเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดกรดแลคติกอาศัยระยะเวลาบ่มเพื่อให้เกิดการผลิตกรด เมื่อความเข้มข้นของกรดแลคติกเพิ่มขึ้นจะทำให้เคิร์ดหลุดตัวได้เร็วและกำจัดความชื้นออกได้เร็วยิ่งขึ้น [3,10]

คีเฟอร์ (Kefir) หมายถึง จุลินทรีย์กลุ่มเชื้อผสมกลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติก ได้แก่ *Lactobacillus kefir* แบคทีเรียในสกุล *Leuconostoc*, *Lactococcus* และแบคทีเรียกรดอะซิติกในสกุล *Acetobacter* ร่วมกับยีสต์กลุ่มที่สามารถหมักน้ำตาลแลคโตส จับตัวเป็นกลุ่มก้อนลักษณะเป็นเม็ดสีขาว เรียกว่า เม็ดคีเฟอร์ (Kefir Grains) เป็นผลิตภัณฑ์อาหารมีคุณค่าทางโภชนาการสูง ประกอบไปด้วยสารอาหารหลักจากน้ำนม ได้แก่ โปรตีน และกรดอะมิโนจำเป็น อีกทั้งยังอุดมไปด้วยแร่ธาตุ และวิตามินที่จำเป็นต่อร่างกาย จัดเป็นจุลินทรีย์โปรไบโอติก เมื่อผู้บริโภคได้รับเข้าสู่ร่างกายในปริมาณที่เพียงพอจะทำให้เกิดผลที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ เช่น ปรับให้เกิดภาวะสมดุลในลำไส้ ลดความเสี่ยงในการติดเชื้อจากจุลินทรีย์ก่อโรค มะเร็งลำไส้ ช่วยเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย เป็นต้น [4] ดังนั้น คณะผู้วิจัยจึงมีแนวคิดในการศึกษาการใช้คีเฟอร์ร่วมกับเอนไซม์บางชนิดต่อการตกตะกอนโปรตีนนมในการผลิตมอซซาเรลล่าชีสโปรไบโอติก เนื่องจากกรดแลคติกที่ผลิตจากคีเฟอร์สามารถทำได้ง่าย อีกทั้งยังช่วยป้องกันการเน่าเสียของชีสได้ ช่วยยับยั้งการเจริญและการสร้างสารพิษของแบคทีเรียที่ไม่ใช้ออกซิเจนและแบคทีเรียที่สร้างสปอร์ได้ อีกทั้งยังช่วยในการลดต้นทุนการผลิตมอซซาเรลล่าชีสให้ต่ำลง

2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 2.1 เพื่อศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการหมักคีเฟอร์ที่สร้างกรดแลคติก
- 2.2 เพื่อศึกษาปริมาณกรดแลคติกที่เหมาะสมในการตกตะกอนของโปรตีนนม
- 2.3 เพื่อศึกษาชนิดและปริมาณของเอนไซม์ที่เหมาะสมในการตกตะกอนของโปรตีนนม
- 2.4 เพื่อเปรียบเทียบความแตกต่างของมอซซาเรลล่าชีสโปรไบโอติกกับผลิตภัณฑ์มอซซาเรลล่าชีสทางการค้า

3. สมมติฐานการวิจัย

- 3.1 ระยะเวลาในการหมักคีเฟอร์มีผลต่อการผลิตกรดแลคติกในปริมาณที่แตกต่างกัน
- 3.2 ปริมาณของกรดแลคติกมีผลต่อการตกตะกอนของโปรตีนที่ทำให้เกิดเคิร์ดแตกต่างกัน
- 3.3 ชนิดและปริมาณของเอนไซม์ต่างกันมีผลให้คุณลักษณะทางกายภาพต่างกัน
- 3.4 ผู้ทดสอบส่วนใหญ่ไม่สามารถแยกความแตกต่างของผลิตภัณฑ์มอซซาเรลล่าชีสจากการทดลองกับผลิตภัณฑ์มอซซาเรลล่าชีสทางการค้าได้

4. วิธีดำเนินการวิจัย

4.1 การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการหมักคีเฟอร์ที่สร้างกรดแลคติก

นำคีเฟอร์ปริมาณ 15 กรัม ผสมกับนมสดพาสเจอร์ไรซ์ปริมาณ 250 มิลลิลิตร (ร้อยละ 6) ผสมให้เข้ากันแล้วใส่ในภาชนะบรรจุสำหรับเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง วางในที่มืด บันทึกผลการทดลอง ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 0, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ จากนั้นนำมากรองเพื่อเก็บเม็ดคีเฟอร์ (Kefir Grains) ไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แยกส่วนของเหลวกรดแลคติกที่ได้ หลังจากนั้นตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยใช้เครื่อง pH-meter และนำไปทำการวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์กรดแลคติกตามวิธีของ AOAC (1990) โดยการไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐาน NaOH 0.1 N ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

4.2 การศึกษาปริมาณกรดแลคติกที่เหมาะสมในการตกตะกอนของโปรตีนนม

1) นำนมวัวดิบปริมาณ 1 ลิตร ใส่ในหม้อแล้วเติมกรดแลคติกที่ได้จากข้อ 4.1 ลงไปตกตะกอนโปรตีนนมโดยตรง แบ่งสิ่งทดลองออกเป็น 4 ระดับ ได้แก่ ร้อยละ 2, 4, 6 และ 8 ตามลำดับ ผสมนมดิบเข้าด้วยกันด้วยพายไม้และกวนแบบสวนทางกัน

2) ปรับอุณหภูมิส่วนผสมให้ได้ 35 องศาเซลเซียส โดยการต้มผ่านน้ำร้อนหรือการตุ๋น เมื่ออุณหภูมิถึงระดับที่ต้องการให้ยกลงทันที จากนั้นพักส่วนผสมทิ้งไว้ 30 นาที

3) ตัดก้อนเคิร์ด (curd) เป็นรูปลูกบาศก์ (2-3 เซนติเมตร) แยกเคิร์ดออกมาจากส่วนของน้ำเวย์ โดยการตักหรือกรองด้วยผ้าขาวบางใส่ภาชนะวางทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำนาน 20 นาที

4) บันทึกผลการทดลองโดยชั่งน้ำหนักก้อนเคิร์ดที่ได้ และการสังเกตลักษณะของก้อนเคิร์ดหลังบีบน้ำออก และคัดเลือกปริมาณกรดแลคติกที่เหมาะสมในการตกตะกอนโปรตีน

4.3 การศึกษาชนิดและปริมาณของเอนไซม์ที่เหมาะสมในการตกตะกอนโปรตีนนม

1) นำนมปริมาณ 1 ลิตร ใส่ในหม้อแล้วเติมกรดแลคติกที่ได้จากข้อ 4.2 ปรับอุณหภูมิส่วนผสมให้เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ที่ 35 องศาเซลเซียส โดยการต้มผ่านน้ำร้อนหรือในอ่างควบคุมอุณหภูมิ และนำไปศึกษาชนิดและปริมาณของเอนไซม์ โดยการทดลองจะทำการแปรผันชนิดของเอนไซม์ที่ใช้ในการตกตะกอนโปรตีน 2 ชนิด คือ เอนไซม์โปรติเอส และเอนไซม์เรนิน โดยการผันแปรความเข้มข้นของเอนไซม์แต่ละชนิด 4 ระดับ ได้แก่ ร้อยละ 0.02, 0.04, 0.06 และ 0.08 ตามลำดับต้มต่อที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 30 วินาที และปิดเตา และวางทิ้งไว้ให้โปรตีนตกตะกอนนาน 30 นาที จนเกิดเคิร์ดและน้ำเวย์จะแยกออกจากกัน

2) แยกเคิร์ดออกมาโดยการตักหรือกรองด้วยผ้าใส่ภาชนะแยกไว้วางทิ้งไว้ให้สะเด็ดน้ำนาน 20 นาที โดยไม่ทิ้งส่วนที่เป็นน้ำ

3) นำส่วนเวย์ ต้มต่อจนอุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส และทำการปิดเตาน้ำเวย์ที่ต้มตักใส่ภาชนะที่แยกเคิร์ดไว้โดยใส่ให้ระดับสูงกว่าเคิร์ดและเติมเกลือเพื่อปรุงรสร้อยละ 0.5 กรัม และทิ้งไว้นาน 1-3 นาที

4) ตักเคิร์ดขึ้นมาทำการนวด ให้ตัวชีสมีลักษณะนุ่ม ๆ และยืดหยุ่น วางให้เซตตัวในน้ำเย็นนาน 15 นาที และเก็บรักษาในตู้เย็น

5) บันทึกผลโดยชั่งน้ำหนัก และหา % yield ของมอชชาเรลล่าชีสที่ผลิตได้ ซึ่งคำนวณได้จาก
 $\% \text{ yield} = a/b \times 100\%$

a = น้ำหนักของมอชชาเรลล่าชีสที่ผลิตได้ (กรัม)

b = ปริมาณนมดิบที่ใช้ในการผลิต (กรัม)

สังเกตลักษณะของก้อนชีสคุณลักษณะของชีสหลังบีบน้ำออก เพื่อคัดเลือกชนิดและปริมาณของเอนไซม์ที่เหมาะสมในการตกตะกอนโปรตีน แล้วนำไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป

4. 4 การเปรียบเทียบความแตกต่างของผลิตภัณฑ์มอชชาเรลล่าชีสโปรไบโอติกกับผลิตภัณฑ์มอชชาเรลล่าชีสทางการค้า

1) เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างผลิตภัณฑ์มอชชาเรลล่าชีสโปรไบโอติกกับผลิตภัณฑ์มอชชาเรลล่าชีสทางการค้า โดยการทดสอบคุณลักษณะโดยรวมของผลิตภัณฑ์ และใช้แบบทดสอบความแตกต่างอย่างง่าย (Sample Paired Difference Test) จำนวนผู้ทดสอบ 40 คน เป็นนักศึกษาสาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตรและสาขาแปรรูปสัตว์น้ำ ซึ่งผ่านฝึกฝนการทดสอบทางประสาทสัมผัสมาแล้ว

2) เตรียมตัวอย่างผลิตภัณฑ์มอชชาเรลล่าชีสโปรไบโอติกกับผลิตภัณฑ์มอชชาเรลล่าชีสทางการค้า เพื่อทดสอบทางประสาทสัมผัส เป็นหอยแมลงภู่อบชีส โดยอ้างอิงจากสูตรมาตรฐานและวิธีการทำตาม (<https://food.mthai.com>) เสร็จแล้วจัดเรียงใส่ถาดเสิร์ฟให้ผู้ทดสอบทันที

4.5 การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และวิเคราะห์ข้อมูลเปรียบเทียบความแตกต่างของผลิตภัณฑ์มอชชาเรลล่าชีสโปรไบโอติกกับมอชชาเรลล่าชีสทางการค้า โดยใช้สถิติ Chi-square Test

5. ผลการวิจัย

5.1 ผลการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการหมักคีเฟอร์ที่สร้างกรดแลคติก

ตารางที่ 1 การเปลี่ยนแปลงคุณภาพทางเคมีในการสร้างกรดแลคติกของคีเฟอร์

ชั่วโมงที่	ปริมาณกรดแลคติก (ร้อยละ)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง
0	0.26 ± 0.02^c	6.64 ± 0.15^c
24	0.38 ± 0.06^c	5.37 ± 0.39^c
48	0.77 ± 0.12^a	4.02 ± 0.05^b
72	0.82 ± 0.07^a	3.98 ± 0.07^a

หมายเหตุ: ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในคอลัมน์เดียวกัน แสดงว่าค่าเฉลี่ยมีความแตกต่างกันอย่าง

มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากตารางที่ 1 ระยะเวลาที่เหมาะสมในการหมักคีเฟอร์ที่สร้างกรดแลคติก พบว่า การหมักนาน 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง มีปริมาณกรดแลคติกร้อยละ 0.38 มีค่าความเป็นกรด ต่างเท่ากับ -5.28 เคิร์ดมีการแยกชั้นเล็กน้อย มีฟองอากาศ มีความมันวาว และมีกลิ่นเปรี้ยวเล็กน้อย และเมื่อหมักนาน 48 ชั่วโมง พบว่า คีเฟอร์มีการสร้างกรดแลคติกเพิ่มขึ้นเท่ากับร้อยละ 0.77 มีค่าความเป็นกรดเพิ่มขึ้นเท่ากับ 4.02 ลักษณะการเกิดเคิร์ดลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว เป็นลิ่ม เริ่มมีความคงตัว แยกชั้นอย่างเห็นได้ชัด มีความมันวาว และมีกลิ่นเปรี้ยวชัดเจน และเมื่อหมักนาน 72 ชั่วโมง ปริมาณกรดแลคติกเพิ่มขึ้นร้อยละ 0.82 มีค่าความเป็นกรด ต่างเท่ากับ -3.98 และมีลักษณะปรากฏเกิดการแยกชั้นอย่างชัดเจน มีกลิ่นเปรี้ยวรุนแรง มีความเป็นกรด ต่าง-และปริมาณกรดแลคติกเพิ่มขึ้น

5.2 ผลการศึกษาปริมาณกรดแลคติกที่เหมาะสมในการตกตะกอนของโปรตีนนม

ตารางที่ 2 ปริมาณกรดแลคติกในการตกตะกอนของโปรตีนนม (ปริมาตรนมดิบ 1 ลิตร)

กรดแลคติก (ร้อยละ)	น้ำหนักเคิร์ด (กรัม)	% Yield	คุณลักษณะการเกิดเคิร์ด
2	79	7.9	เคซีนจับตัวกันเป็นก้อนสีขาว ผิวเรียบ เคิร์ดอ่อนนุ่ม และเกิดการแยกตัวของเวย์เพียงเล็กน้อย
4	88	8.8	เคซีนจับตัวกันเป็นก้อนสีขาว อ่อนนุ่ม เคิร์ดอ่อนนุ่ม ผิวหน้าเรียบ และเกิดการแยกชั้นของเวย์เพียงเล็กน้อย
6	120	12.0	เคซีนจับตัวกันเป็นก้อนสีขาว เคิร์ดแข็งตัวดี ผิวหน้าเรียบ และเกิดการแยกชั้นของเวย์ได้ดี
8	132	13.2	เคซีนจับตัวกันเป็นก้อนสีขาว อ่อนตัวเล็กน้อย ผิวหน้าเรียบ และเกิดการแยกชั้นของ เวย์ได้ดี

จากตารางที่ 2 การศึกษาปริมาณกรดแลคติกที่เหมาะสมในการตกตะกอนของโปรตีนนม แบ่งออกเป็น 4 ระดับ ได้แก่ ร้อยละ 2, 4, 6 และ 8 พบว่า การใช้กรดแลคติกในการปรับสภาพความเป็นกรด-ด่าง ที่ร้อยละ 8 โปรตีนนมหรือเคซีนเกิดการตกตะกอนได้น้ำหนักของเคิร์ดเคซีนเท่ากับ 132 กรัม รองลงมาคือ ปริมาณกรดแลคติกร้อยละ 6 มีน้ำหนักเท่ากับ 120 กรัม ลักษณะของการเกิดเคิร์ดเคซีนจับตัวกันเป็นก้อนสีขาว เคิร์ดแข็งตัวดี ผิวหน้าเรียบ และเกิดการแยกชั้นของน้ำเวย์ได้ดี สำหรับการใช้ปริมาณกรดแลคติกร้อยละ 2 และ 4 นั้น เคซีนจับตัวกันเป็นก้อนสีขาว ผิวเรียบ เคิร์ดอ่อนนุ่มให้น้ำหนักของเคิร์ดเท่ากับ 79 และ 88 กรัม ตามลำดับ ลักษณะของการเกิดเคิร์ดจับตัวกันเป็นก้อนสีขาว ผิวเรียบ เคิร์ดอ่อนนุ่ม และเกิดการแยกตัวของเวย์เพียงเล็กน้อย

5.3 ผลการศึกษาชนิดและปริมาณของเอนไซม์ที่เหมาะสมในการตกตะกอนโปรตีนนมร่วมกับกรดแลคติก

ตารางที่ 3 ชนิดและปริมาณของเอนไซม์ที่เหมาะสมในการตกตะกอนโปรตีนนมร่วมกับกรดแลคติก
(ปริมาตรนมดิบ 1 ลิตร)

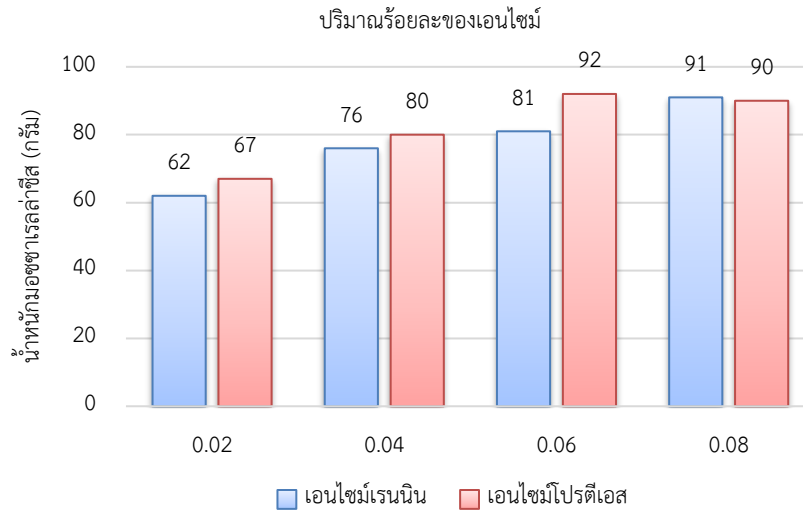
ปริมาณเอนไซม์ (ร้อยละ)	น้ำหนักมอชชาเรลล่าชีส (กรัม)			
	เอนไซม์เรนิน (W/V)	เอนไซม์โปรตีเอส (V/V)	เอนไซม์เรนิน % Yield	เอนไซม์โปรตีเอส % Yield
0.02	61.66 ± 0.57 ^d	67.33 ± 1.52 ^d	6.16	6.73
0.04	76.00 ± 1.00 ^c	88.00 ± 2.00 ^c	7.60	8.80
0.06	82.67 ± 1.53 ^b	92.33 ± 2.08 ^a	8.27	9.23
0.08	91.33 ± 1.53 ^a	92.11 ± 1.02 ^a	9.13	9.21

หมายเหตุ : ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

: ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่กำกับค่าของข้อมูลตามแนวตั้งของแต่ละชุดทดลองที่แตกต่างกัน

แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

จากตารางที่ 3 การศึกษาชนิดและปริมาณของเอนไซม์ที่ใช้ในการตกตะกอนนมร่วมกับกรดแลคติกพบว่า การใช้เอนไซม์โปรตีเอสร่วมกับกรดแลคติกในปริมาณร้อยละ 0.06 และ 0.08 ได้น้ำหนักมอชชาเรลล่าชีสโปรไบโอติกสูงที่สุดเท่ากับ 92.33 และ 92.11 กรัมต่อน้ำนมดิบ 1 ลิตร คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ yield เท่ากับ 9.23 และ 9.21 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เอนไซม์เรนินในปริมาณที่เท่ากันร้อยละ 0.06 และ 0.08 ได้น้ำหนักมอชชาเรลล่าชีสโปรไบโอติกเท่ากับ 82.67 และ 91.33 กรัมต่อน้ำนมดิบ 1 ลิตร คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ yield เท่ากับ 8.27 และ 9.13 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่การใช้เอนไซม์โปรตีเอสปริมาณร้อยละ 0.04 ได้น้ำหนักมอชชาเรลล่าชีสโปรไบโอติกเท่ากับ 88.00 กรัมต่อน้ำนมดิบ 1 ลิตร คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ yield เท่ากับ 8.80 เปอร์เซ็นต์ สูงกว่าการใช้เอนไซม์เรนินปริมาณร้อยละ 0.04 ซึ่งมีน้ำหนักมอชชาเรลล่าชีสโปรไบโอติกเท่ากับ 76.00 กรัมต่อน้ำนมดิบ 1 ลิตร คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ yield เท่ากับ 7.60 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการใช้เอนไซม์เรนินและเอนไซม์โปรตีเอสในปริมาณร้อยละ 0.02 ได้น้ำหนักมอชชาเรลล่าชีสโปรไบโอติกน้อยกว่าทุกชุดทดลองเท่ากับ 61.66 และ 67.33 กรัมต่อนมดิบ 1 ลิตร ตามลำดับ



ภาพที่ 1 ปริมาณของมอชชาเรลล่าชีสโปรไบโอติกตามชนิดและปริมาณของเอนไซม์ที่ใช้ในการตกตะกอนโปรตีน

จากภาพที่ 1 เมื่อมีการใช้เอนไซม์เรนินและเอนไซม์โปรตีเอสในปริมาณที่มีความเข้มข้นสูงขึ้นไปพบว่ามีปริมาณร้อยละ 0.08 ได้นำหนักของมอชชาเรลล่าชีสโปรไบโอติกสูงในระดับที่ใกล้เคียงกัน ลักษณะของการตกตะกอนเริ่มคงที่โดยเอนไซม์เรนินได้นำหนักมอชชาเรลล่าชีสโปรไบโอติกชีสเท่ากับ 91.33 กรัมต่อนมดิบ 1 ลิตร และเอนไซม์โปรตีเอสร่วมกับกรดแลคติก เท่ากับ 92.11 กรัมต่อนมดิบ 1 ลิตร เนื่องจากการใช้เอนไซม์ในปริมาณมากขึ้นทำให้เกิดการตัดเส้นเคซีนโนมาโครเปปไทด์เอนไซม์ มีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่างส่งผลต่อลักษณะของตะกอนหรือเคิร์ดที่เกิดขึ้น

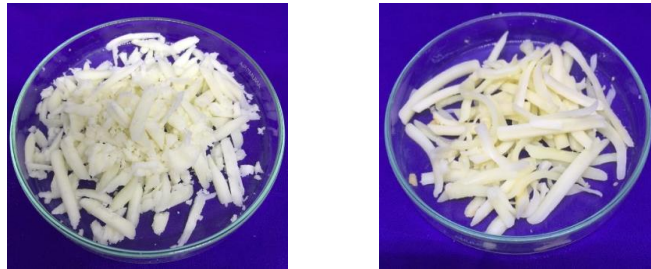
5.4 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างของผลิตภัณฑ์มอชชาเรลล่าชีสโปรไบโอติกกับผลิตภัณฑ์มอชชาเรลล่าชีสทางการค้า

ตารางที่ 4 การเปรียบเทียบความแตกต่างของผลิตภัณฑ์มอชชาเรลล่าชีสโปรไบโอติกกับผลิตภัณฑ์มอชชาเรลล่าชีสทางการค้า

รหัสผู้ทดสอบ	ตัวอย่างผลิตภัณฑ์	รายการ	AA,BB	AB,BA	รวม
1-10	AA	จำนวนเต็ม	20	20	40
11-20	AB	กลุ่มที่ 1 (เหมือนกัน)	16	17	33
21-30	BA	กลุ่มที่ 2 (แตกต่างกัน)	4	3	7
31-40	BB				

จากตารางที่ 4 ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างของผลิตภัณฑ์มอชชาเรลล่าชีสโปรไบโอติกกับผลิตภัณฑ์มอชชาเรลล่าชีสทางการค้า พบว่า วิธีการทดสอบความแตกต่างของผลิตภัณฑ์ได้มาจากการ

เปรียบเทียบผลของคู่ของตัวอย่างที่ต่างกัน)A/B และ B/A) และผลของคู่ที่เหมือนกันดังตารางที่ 4 ทดสอบ ตัวอย่าง 4 ชุด ผลการทดลอง ดังตารางที่ 4(df = 0 ระดับความเชื่อมั่น 1.01) ค่า t จากตาราง =6.63 มากกว่าค่า t จากการคำนวณเท่ากับ 1.สรุปได้ว่า คุณสมบัติโดยรวมของ 87ผลิตภัณฑ์มอซซาเรลล่าชีสทางการค้า ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $\alpha = 0$.ผู้ทดสอบไม่สามารถแยกความ 01 แตกต่างได้ การเปรียบเทียบความแตกต่างของผลิตภัณฑ์มอซซาเรลล่าชีสโปรไบโอติกและผลิตภัณฑ์มอซซาเรลล่าชีสทางการค้า



มอซซาเรลล่าชีสโปรไบโอติก (A) มอซซาเรลล่าชีสทางการค้า (B)

ภาพที่ 2 ความแตกต่างของผลิตภัณฑ์มอซซาเรลล่าชีสโปรไบโอติกและผลิตภัณฑ์มอซซาเรลล่าชีสทางการค้า

6. อภิปรายผล

1) ผลจากการใช้หัวเชื้อคีโอเฟอร์ในการผลิตกรดแลคติกโดยทำการหมักนาน 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง (29-31 องศาเซลเซียส) มีความเหมาะสมมากที่สุด มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.02 เกิดการแยกชั้นของ น้ำเวย์อย่างชัดเจน มีกลิ่นเปรี้ยวรุนแรง มีความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้น ปริมาณกรดแลคติกเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ [5] ได้ศึกษาผลผลิตกรดแลคติกจากกระบวนการหมักเศษผลไม้ภายใต้ อุณหภูมิที่แตกต่างกัน พบว่า อุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักแบคทีเรีย *Lactobacillus plantarum* สายพันธุ์ TISTR 926 เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของการหมัก [8,11] จะเห็น ได้ว่าการผลิตกรดแลคติกจากหัวเชื้อคีโอเฟอร์จะแปรผกผันตามปริมาณกรดแลคติกที่เกิดขึ้นกล่าวคือการ เจริญของเชื้อเพิ่มขึ้น เชื้อก็จะสร้างกรดเพิ่มขึ้น ปริมาณกรดที่ได้จึงสูงขึ้น และมีค่าความเป็นกรด-ด่างสูงขึ้น

2) จากการศึกษาปริมาณกรดแลคติกที่ใช้ในการตกตะกอนของโปรตีนร้อยละ 8 ได้น้ำหนักเคิร์ดสูงที่สุด เท่ากับ 132 กรัม เปอร์เซ็นต์ yield เท่ากับ 13.2 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้เวลาในการตกตะกอนโปรตีนนาน 20 นาที สามารถช่วยให้เคซีนจับตัวกันเป็นก้อนสีขาว เกิดการเคิร์ดแข็งตัวได้ดี และเกิดการแยกชั้นของน้ำ เวย์ได้ดี ซึ่งการตกตะกอนด้วยกรดที่สร้างโดยแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก นั้นเมื่อเกิดสภาวะความเป็นกรด ของน้ำนมจะทำให้เกิดเคซีนเมื่อทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงถึงจุด isoelectric point ซึ่งมีความเป็น กรด-ด่าง 4.6 ซึ่งเป็นหลักการเดียวกันกับการผลิตโยเกิร์ต [3]

3) การใช้เอนไซม์โปรตีเอสร่วมกับกรดแลคติกในปริมาณร้อยละ 0.6 ได้น้ำหนักมอซซาเรลล่าชีส โปรไบโอติกสูงที่สุดเท่ากับ 92.33 กรัมต่อน้ำนมดิบ 1 ลิตร เปอร์เซ็นต์ yield เท่ากับ 9.23 เปอร์เซ็นต์

ซึ่งให้น้ำหนักมากกว่าการใช้เอนไซม์เรนิน ลักษณะของมอซซาเรลล่าชีสโปรไบโอติกที่ได้ สอดคล้องกับผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส ด้านเนื้อสัมผัส ผลการประเมินด้านความเหนียวและความยืดหยุ่นของมอซซาเรลล่าชีส เช่นเดียวกันกับการผลิตเนยแข็งชนิดแข็งมีความชื้นประมาณร้อยละ 20-42 เช่น เชดดาร์ชีส (Cheddar Cheese) สวิสชีส (Swiss Cheese) เป็นต้น [3] [7] ได้ศึกษาการประยุกต์เอนไซม์สำหรับอุตสาหกรรมอาหารกลุ่มโปรตีน ซึ่งสรุปกลไกการทำงานของเอนไซม์โปรตีน พบว่า ปัจจัยที่ส่งผลต่อปฏิกิริยาการตกตะกอนโปรตีน เช่น อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง ความเข้มข้นของเอนไซม์และตัวยับยั้ง

4) จากผลการประเมินเปรียบเทียบความแตกต่างของผลิตภัณฑ์มอซซาเรลล่าชีสโปรไบโอติกจากการตกตะกอนของโปรตีนด้วยหัวเชื้อคีเฟอร์ร่วมกับเอนไซม์โปรตีเอสเมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์มอซซาเรลล่าชีสทั่วไปในท้องตลาดด้วยการทดสอบทางประสาทสัมผัส คุณลักษณะโดยรวมของผลิตภัณฑ์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $\alpha = 0.01$ ผู้ทดสอบไม่สามารถแยกความแตกต่างได้ แสดงว่าการใช้กรดแลคติกที่ได้จากการหมักด้วยหัวเชื้อคีเฟอร์ร่วมกับเอนไซม์โปรตีเอส สามารถนำมาใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์มอซซาเรลล่าชีสโปรไบโอติกในระดับชุมชนได้ไม่แตกต่างจากระดับอุตสาหกรรม และวิธีการดังกล่าวสามารถส่งเสริมให้กับเกษตรกรได้ นอกจากนี้ยังช่วยให้ผู้บริโภคได้รับคุณค่าทางอาหารจากมอซซาเรลล่าชีสโปรไบโอติกที่สามารถให้พลังงาน และสารอาหารสูง โดยเฉพาะโปรตีน และแคลเซียม เป็นส่วนที่สำคัญของกระดูก สามารถป้องกันโรคกระดูกพรุน ยังมีประโยชน์ต่อสุขภาพฟัน เพราะมีปริมาณน้ำตาลต่ำกว่านม

7. สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

1) การใช้ระยะเวลาในการหมักหัวเชื้อคีเฟอร์ที่ผลิตกรดแลคติกนาน 48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง (29-31 องศาเซลเซียส) มีความเหมาะสมมากที่สุด มีปริมาณกรดแลคติกร้อยละ 0.77 ค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 4.02 ใกล้เคียงกับการหมักที่ 72 ชั่วโมง ซึ่งให้ปริมาณกรดแลคติกร้อยละ 0.82 มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 3.98 ลักษณะปรากฏเกิดเคิร์ดลักษณะกึ่งแข็งกึ่งเหลว มีความคงตัว มีฟองอากาศเล็กน้อย มีความมันวาว และมีกลิ่นเปรี้ยวชัดเจนน เกิดการแยกชั้นของน้ำเวย์อย่างชัดเจน มีกลิ่นเปรี้ยวรุนแรง

2) ปริมาณกรดแลคติกที่เหมาะสมในการตกตะกอนของโปรตีนคือร้อยละ 6 และ 8 เคิร์ดมีน้ำหนัก เท่ากับ 120 และ 132 กรัม ตามลำดับ โดยใช้เวลาในการตกตะกอนโปรตีนนาน 20 นาที สามารถช่วยให้เคซีนจับตัวกันเป็นก้อนสีขาว เคิร์ดแข็งตัวได้ดี ผิวหน้าเรียบ และเกิดการแยกชั้นของน้ำเวย์ได้ดี

3) การใช้เอนไซม์โปรตีเอสร่วมกับกรดแลคติกในปริมาณร้อยละ 0.06 ให้น้ำหนักมอซซาเรลล่าชีสโปรไบโอติกสูงที่สุดเท่ากับ 92.33 กรัมต่อน้ำนมดิบ 1 ลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้เอนไซม์เรนินในปริมาณที่เท่ากันให้น้ำหนักมอซซาเรลล่าชีสโปรไบโอติกเท่ากับ 82.67 กรัมต่อน้ำนมดิบ 1 ลิตร มีปริมาณน้อยกว่า

4) ผลการเปรียบเทียบความแตกต่างของผลิตภัณฑ์มอซซาเรลล่าชีสโปรไบโอติกกับผลิตภัณฑ์มอซซาเรลล่าชีสทั่วไปในท้องตลาด คุณลักษณะโดยรวมของผลิตภัณฑ์ทั้งสองชนิด ไม่มีความแตกต่างกันอย่าง

มีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ $\alpha = 0.01$ ผู้ทดสอบไม่สามารถแยกความแตกต่างได้ แสดงว่าสามารถนำผลิตภัณฑ์มอซซาเรลล่าชีสมาใช้เพื่อการผลิตและจำหน่ายในเชิงพาณิชย์ได้

ข้อเสนอแนะ

- 1) ควรตรวจวัดคุณภาพทางด้านเนื้อสัมผัส ความยืดหยุ่นของมอซซาเรลล่าชีสโปรไบโอติก เพื่อสังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพที่มีผลต่อคุณภาพของมอซซาเรลล่าชีส
- 2) ควรศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และทางจุลชีววิทยาของผลิตภัณฑ์ตามมาตรฐานอาหารด้านจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีความปลอดภัย และเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภค

8. เอกสารอ้างอิง

- [1] กระทรวงสาธารณสุข. (2560). *ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 209) พ.ศ. 2543 เรื่อง เนยแข็ง*. [ข้อมูลอิเล็กทรอนิกส์]. สืบค้นจาก http://food.fda.moph.go.th/Rules/dataRules/600914_17type.pdf
- [2] จิรณัฐ ยูชูพี, และภุชชัญ บรรจบ. (2551). *การศึกษาคุณสมบัติของเอนไซม์ที่ทำให้เนยแข็งตัว*. *ปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต*. คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- [3] ปิยวรรณ ศุภวิทย์พัฒนา. (2555). *เทคโนโลยีนมและผลิตภัณฑ์*. [ข้อมูลอิเล็กทรอนิกส์]. สืบค้นจาก http://elearning.psru.ac.th/courses/104/บทที่%2012/29_บทที่%2012.pdf
- [4] ศานต์ เศรษฐชัยมงคล, และอัญชิสา กุลทวิสุข. (2561). *นมเปรี้ยวคีเฟอร์ : เทคโนโลยีชีวภาพจากมุมมองวิทยาการด้านโอมิกส์*. วารสารเทคโนโลยีการอาหาร, ปีที่ 13 (ฉบับที่ 1) มหาวิทยาลัยสยาม.
- [5] ศศิธร นนทา, สมพงศ์ โอทอง, และนุชนาถ แชมช้อย. (2559). *ผลผลิตกรดแลคติกจากการหมักเคสผลไม้มะม่วง*. วารสาร มจร 1 วิชาการ., ปีที่ 20 (ฉบับที่ 39) มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ.
- [6] สถาบันอาหาร. (2560). *ตลาดชีสในประเทศไทย*. ศูนย์วิจัยเพื่ออุตสาหกรรมอาหาร. [เว็บไซต์]. สืบค้นจาก <http://fic.nfi.or.th/MarketOverviewDomesticDetail.php?id=134>
- [7] สามารถ สายอุต. (2561). *การประยุกต์เอนไซม์สำหรับอุตสาหกรรมอาหารกลุ่มโปรตีน*. วารสารวิทยาศาสตร์บูรพา, ปีที่ 23 (ฉบับที่ 3), คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.
- [8] สุรัตน์ วัชรกุล, วิรัชญ์ แก่นแสนดี, สมพร มุลมั่งมี, ปริญญาธิ์ อิศรานวัฒน์. (2558). *การพัฒนาและเพิ่มศักยภาพผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตเนยขาวโพรไบโอติกแลคติกแอซิดแบคทีเรีย*. สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ.
- [9] Breene, W.M., Price, W.V., and Ernstrom, C.A. (1964). *Manufacture of pizza cheese without starter*. J. Dairy Sci. 47: 1173-1180.
- [10] Kosikowski, F.V., and Mistry, V.V. (1997). *Cheese and Fermented Milk Foods*. vols. 1-2. (3rded.). F.V. Kowsikowski, LLC. Westport.
- [11] Stiles, M.E., and Holzapfel, W.H., 1997. *Lactic acid bacteria of Food and their Current Taxonomy*. International Journal of Food Microbiology. 36:1- 29.

