

## การเสริมแคลเซียมในโยเกิร์ตไขมันต่ำรสผลไม้ผสม Calcium Fortification of Fruit-Mix Set-Type Low-Fat Yogurt

จงกลณี เยาวภาคย์โสภณ<sup>1\*</sup> อังคณา ทุมดี<sup>1</sup> จรรยา คงฤทธิ์<sup>1</sup> และ ประสิทธิ์ แผ้วบาง<sup>2</sup>  
Jongkolnee Yaowapaksophon<sup>1</sup> Angkana Thumdee<sup>1</sup> Junya Kongrit<sup>1</sup> and Prasit Phaeobang<sup>2</sup>

<sup>1</sup> หลักสูตรสัตวศาสตร์ ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

<sup>2</sup> ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
วันที่ส่ง : 22 สิงหาคม 2559 วันที่แก้ไข : 16 ธันวาคม 2559 วันที่ตอบรับ : 22 ธันวาคม 2559

### บทคัดย่อ

การเสริมแคลเซียมแอล-แลคเตทเพนทะไฮเดรทในโยเกิร์ต ระดับ 0, 400, 600 และ 800 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร (ควบคุมและเสริมแคลเซียม 3 ระดับ) มีปริมาณธาตุแคลเซียมในโยเกิร์ตทั้ง 4 กลุ่ม คือ 130, 176, 191 และ 207 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร ตามลำดับ ปริมาณแคลเซียมในโยเกิร์ตเสริมธาตุแคลเซียมมีสูงกว่ากลุ่มควบคุมคิดเป็น 35%, 47% และ 58% การเสริมแคลเซียมในโยเกิร์ตระดับ 400 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร มีรสชาติที่สดแต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มอื่น การทรงตัวและเนื้อสัมผัสสูงสุดในโยเกิร์ตเสริมแคลเซียม 400 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม โยเกิร์ตทั้ง 4 กลุ่มไม่มีผลต่อค่าความเป็นกรดในวันที่ 1, 7 และ 14 วันของการเก็บรักษา ในวันที่ 1 และวันที่ 14 ของการเก็บรักษาพบว่า โยเกิร์ตเสริมแคลเซียม 400 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร และกลุ่มควบคุมมีความหนืดสูงสุดและไม่แตกต่าง แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากโยเกิร์ตเสริมแคลเซียมในกลุ่มอื่นๆ สำหรับในวันที่ 7 ของการเก็บรักษา โยเกิร์ตเสริมแคลเซียม 400 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร มีความหนืดสูงสุด และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) จากโยเกิร์ตทุกกลุ่ม จำนวนแลคโทบาซิลลัสสูงในสัปดาห์แรกของการเก็บรักษาทุกกลุ่มโยเกิร์ต และลดจำนวนลงในสัปดาห์ที่สามของการเก็บรักษา และมีระดับต่ำกว่าที่แนะนำ แต่การเสริมแคลเซียมในโยเกิร์ต 400 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร ในสัปดาห์ที่ 3 ของการเก็บรักษายังคงมีจำนวนแลคโทบาซิลลัสอยู่ในระดับสูง ( $1.55 \times 10^8$  CFU/g หรือ  $8.19 \log_{10}$  *Lactobacillus* counts, CFU/g) และพอเพียงตามที่แนะนำให้รับประทานต่อวัน ดังนั้นการเสริมแคลเซียมแลคเตท ในโยเกิร์ตระดับ 400 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร เป็นระดับเหมาะสมและแนะนำสำหรับการเสริมในอุตสาหกรรมการผลิตโยเกิร์ต

คำสำคัญ : โยเกิร์ต การเสริมแคลเซียม

\*ที่อยู่ติดต่อ. โทรศัพท์: (66) 0-23298519, (66)-0898124900 Fax : (66) 0-23298519

E-mail address : chongkolneeyaowapaksophon@gmail.com, kwchongk@kmitl.ac.th

## Abstract

Yogurt samples were prepared after fortification of pasteurized milk by addition of four level (0, 400, 600 and 800 mg per 100 mL of milk) of calcium L-lactate pentahydrate. Calcium measurement of control (0 mg per 100 mL of milk) and calcium-fortified fruit yogurts were 130, 176, 191 and 207 mg, and calcium fortification at these level resulted in 0%, 35%, 47% and 58% increases in calcium content of yogurts respectively. Sensorial evaluation shows that there were no significant differences ( $P>0.05$ ) in the flavor and overall acceptance of the control and calcium-fortified fruit yogurts. Yogurt with calcium fortification at 400 mg per 100 mL of milk got the highest scores for smoothness perception and body/texture characteristics and not significantly different ( $P>0.05$ ) from control but had higher ( $P<0.05$ ) than the yogurt with calcium fortification at 600 and 800 mg per 100 mL of milk. pH of control and calcium-fortified fruit yogurt did not show any statistical difference ( $P>0.05$ ) on 1 st, 7th and 14th day during storage. On 1 st and 14th day during storage, the viscosity of control yogurt and yogurt with calcium fortification at 400 mg per 100 mL of milk were significantly ( $P<0.05$ ) higher than the viscosity of the remaining yogurts. On 7th day during storage, the viscosity of yogurt with calcium fortification at 400 mg per 100 mL of milk were significantly ( $P<0.05$ ) higher than the viscosity of the remaining yogurts. On the first week during storage all yogurt samples had the highest  $\log_{10}$  *Lactobacillus* counts and average viable cell counts of *Lactobacillus* tended to decrease with storage time or on the third week during storage and less than  $10^8$ - $10^9$  cells daily recommended intake. The level of *Lactobacillus* count in yogurt with calcium fortification at 400 mg per 100 mL of milk on the end of the 21 th day of storage had been maintained high ( $1.55 \times 10^8$  CFU/g or 8.19  $\log_{10}$  *Lactobacillus*, CFU/g) and been sufficient for recommended dietary allowance (RDA). Yogurt with calcium fortification at 400 mg per 100 mL of milk is the most appropriate and recommended level for commercial manufacturer.

**Keywords:** yogurt, calcium fortification

### 1. บทนำ

การบริโภคอาหารของคนในปัจจุบัน มุ่งเน้นรับประทานอาหารที่มีประโยชน์ทางคุณค่าทางโภชนาการและส่งผลดีต่อสุขภาพ (Functional food) จึงเลือกรับประทานโยเกิร์ต โยเกิร์ตคือนมเปรี้ยวที่ได้จากการหมักด้วยแบคทีเรีย *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* หรือแล็กโทบาซิลลัส ซับสปิซีส์ [1] อื่น ซึ่งทั้งสองจัดเป็นแบคทีเรียกรดแลคติก (Lactic Acid

Bacteria: LAB) โยเกิร์ตที่ดีมีคุณภาพ มีวิธีการผลิตที่ได้มาตรฐานของโยเกิร์ต ซึ่งมีคุณลักษณะสำคัญ 5 ประการ คือ (1) มีกลิ่นรสตามลักษณะของนมเปรี้ยวโยเกิร์ตนั้น (2) มีโปรตีนไม่น้อยกว่า 2.7 % ของน้ำหนัก (3) มีมันเนย น้อยกว่า 15 % ของน้ำหนัก (4) มีค่าความเป็นกรด คำนวณเป็นกรดแลคติกไม่น้อยกว่า 0.6 % ของน้ำหนัก (5) มีแบคทีเรียที่ใช้ในกรรมวิธีกรรมหมักคงเหลือในนมเปรี้ยวโยเกิร์ต 1 กรัม ที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อหลังการหมัก ไม่น้อยกว่า  $10^7$  โคโลนี [1]

โยเกิร์ตไขมันต่ำรสผลไม้ผสมเสริมธาตุแคลเซียมจัดเป็น Functional food เพราะมีโภชนาการอาหารสูง แต่มีไขมันต่ำ ทำให้คนไม่เป็นโรคเกี่ยวกับไขมันและคอเลสเตอรอล โยเกิร์ตไขมันต่ำเสริมธาตุแคลเซียมเหมาะที่เป็นอาหารเช้าของคนทำงานที่มีเวลาจำกัด คนที่ดื่มนมสดไม่ได้เพราะขาดเอนไซม์ย่อยน้ำตาลนม ก็ไม่ต้องกังวลกับปัญหานี้ก็เพราะแลคโทสซึ่งเป็นน้ำตาลนม ถูกย่อยโดยแบคทีเรียในโยเกิร์ต ให้เป็นกรดแลคติกทำให้นมมีรสเปรี้ยว การบริโภคโยเกิร์ตเป็นประจำทำให้ร่างกายมีแบคทีเรียชนิดดีมากขึ้น เป็นผลดีต่อการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้และส่งผลดีต่อระบบย่อยอาหาร ทำให้คนมีสุขภาพดี การเตรียมโยเกิร์ตไขมันต่ำเสริมธาตุแคลเซียมต้องคำนึงถึงคุณภาพของโยเกิร์ต มีวิธีการผลิตได้มาตรฐาน และต้องถูกใจ เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคด้วย [2]

ส่วนใหญ่แล้วนมและผลิตภัณฑ์นมจะมีปริมาณแคลเซียมที่เป็นประโยชน์และนำไปใช้ได้สูง ตัวชั่งน้ำหนักคิดเพื่อที่จะได้รับธาตุแคลเซียมพิเศษเพิ่มเติมนอกเหนือจากที่เคยได้รับ (extra calcium) โดยเสริมแคลเซียมในน้ำนมหรือโยเกิร์ต โยเกิร์ตแคลเซียมสูงเป็นแหล่งให้แคลเซียมซึ่งมีบทบาทสำคัญคือลดความเสี่ยงของการเกิดโรคต่างๆ อาทิ กระดูกพรุน ความดันเลือดสูง นิ่วที่ไต และโรคอ้วน [3-6] แคลเซียมในนมและผลิตภัณฑ์นมสามารถดูดซึมได้ง่ายที่ลำไส้มากกว่าแคลเซียมในพืชและเมล็ดธัญพืช ไฟเตต (phytate) พบในเมล็ดธัญพืชและออกซาเลต (oxalate) พบในใบพืชจะลดแคลเซียมที่เป็นประโยชน์และลดปริมาณนำไปใช้ได้โดยสร้างเป็นแคลเซียมเชิงซ้อนที่ไม่ละลายและต้องขับออก [7-8] แคลเซียมในโยเกิร์ตขนาด 220 กรัมมีแคลเซียมร้อยละ 30 ตาม Reference Daily Intake (RDI) สถาบันหรือองค์การเภสัชกรรมแนะนำให้เด็กอายุ 1-3 ปีควรบริโภคแคลเซียม 500 มิลลิกรัมต่อวัน เด็กอายุ 4-8 ปีควรบริโภคแคลเซียม 800 มิลลิกรัมต่อวัน เด็กอายุ 9 ปีจนถึงวัยรุ่นอายุ 18 ปีควรบริโภคแคลเซียม 1,300 มิลลิกรัมต่อวัน คนอายุ 19-50 ปีรวมถึงสตรีมีครรภ์และให้นมบุตร ควรบริโภคแคลเซียม 1,000 มิลลิกรัมต่อวัน คนอายุมากกว่า 51 ปีขึ้นไปควรบริโภคแคลเซียม 1,300 มิลลิกรัมต่อวัน [8-10]

การเสริมธาตุแคลเซียมในหญิงมีครรภ์ที่มีตะกั่วสะสมในร่างกาย ทำให้การรับตะกั่วของลูกในครรภ์ลดลง การเสริมธาตุแคลเซียมในอาหารจำพวกผลิตภัณฑ์นมของหญิงที่มีบุตรจัดเป็นกลยุทธ์เชิงป้องกันระดับทุติยภูมิ (secondary prevention) โดยไม่เพียงแต่จะไปลดระดับตะกั่วในระบบหมุนเวียนโลหิตของหญิงมีครรภ์ แต่ยังไปลดตะกั่วที่ส่งไปให้ลูกในครรภ์ช่วงเจริญพัฒนา รวมถึงช่วงให้นมบุตรด้วย [11]

การเสริมธาตุแคลเซียมในนมและผลิตภัณฑ์นม รวมถึงโยเกิร์ต ไอศกรีม ครีมเปรี้ยว ครีมชีส ค็อกเทลชีส [3, 8, 12] เกลือของธาตุแคลเซียมเชิงการค้าหลายชนิดใช้ในการเติมลงไปนมนมและเครื่องดื่มเพื่อเพิ่มธาตุแคลเซียม อาทิ แคลเซียม คาร์บอเนต (calcium carbonate) แคลเซียม คลอไรด์ (calcium chloride) แคลเซียม ฟอสเฟต (calcium phosphate) แคลเซียม ซิเตรต มาเลต (calcium citrate malate) แคลเซียม กลูโคเนต (calcium gluconate) แคลเซียม แลคเตท (calcium lactate) [6, 8, 13]

การศึกษาคุณภาพของโยเกิร์ตเสริมธาตุแคลเซียม [12, 14] ศึกษาลักษณะต่างๆ ของโยเกิร์ต เช่น ความหนืด (viscosity) ความสามารถในการอุ้มน้ำของโยเกิร์ต (water holding capacity) เนื้อสัมผัส (texture) ความเรียบเนียน (smoothness) ความเป็นกรด (acidity) กระบวนการผลิตโยเกิร์ตโดยใช้ความร้อนและเติมหางนมผง ซึ่งเป็นวิธีมาตรฐานจะมีความเป็นกรดสูงกว่ากระบวนการที่ทำให้นมเป็นเนื้อเดียวกันโดยใช้แรงดันสูง (ultra-high pressure homogenization: UHPH) [15]

วัตถุประสงค์ของการทดลอง เพื่อศึกษาผลของการเสริมแคลเซียมระดับสูงและไม่เสริมแคลเซียมในโยเกิร์ตไขมันต่ำรสผลไม้ผสมที่มีต่อลักษณะเนื้อสัมผัส ด้านความหนืด ความเป็นกรด การยอมรับทางประสาทสัมผัส และจำนวนแลคโทบาซิลลัสที่มีชีวิตในโยเกิร์ต ระดับแคลเซียมที่เสริมในโยเกิร์ตไขมันต่ำรสผลไม้ผสมคือเสริมแคลเซียมระดับสูงที่ 400, 600, 800 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรเทียบกับกลุ่มควบคุมซึ่งไม่เสริมแคลเซียม ความต่างกันของระดับแคลเซียมในโยเกิร์ตนี้จะส่งผลให้เกิดความแตกต่างอย่างไรในคุณภาพของโยเกิร์ตและการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค

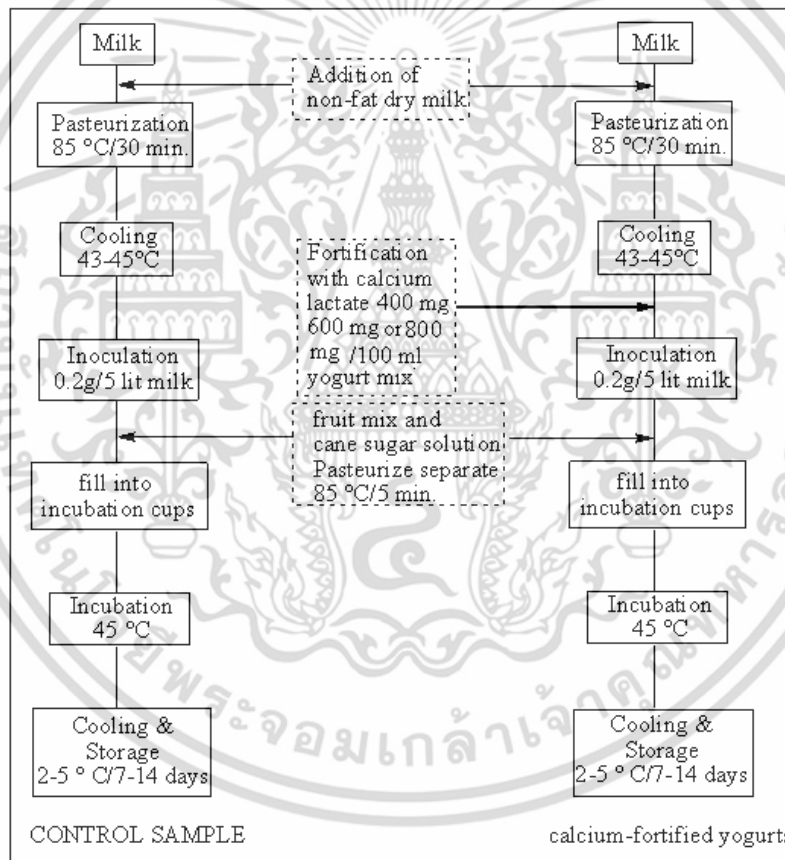
## 2. วิธีการทดลอง

**2.1 การเตรียม yogurt mother culture :** เตรียม 2 แบบ (1) หัวเชื้อทางการค้า (Yo-Mix 496 LYO 100 DCU, Danisco's product, Berli Jucker Specialties Ltd.) ซึ่งมี 2 เชื้อคือ *Streptococcus thermophiles* และ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* จำนวน 1 ของใส่ในนมผงละลาย น้ำปลอดเชื้อ 1 ลิตร นำไปต้ม 38°C เป็นเวลา 10 ชั่วโมง นำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C (2) ก. ละลายหัวเชื้อ freeze-dried yogurt bacterial starter (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* 785, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย) ด้วยอาหารเหลว (MRS broth) ให้เป็นเนื้อเดียวกัน ข. ตูดเชื้อใส่ MRS broth culture หลอดละ 100 µl นำไปต้มที่อุณหภูมิ 38°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ค. ใช้เข็มจุ่มในหลอดแล้วนำไป streak ในอาหารแข็ง (MRS agar) แล้วนำไปต้ม 38°C 24 ชั่วโมง เชื้อเกิดเป็นโคโลนีเดี่ยว ง. ถ่ายเชื้อบริสุทธิ์ไว้ใน MRS broth นำไปต้ม 38°C 24 ชั่วโมง ได้ yogurt mother culture จ. ใช้ 500 µl mother culture ผสมรวมกับ 500 µl glycerol เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C

**2.2 การเตรียมโยเกิร์ต :** ก. เติมหางนมผง 14 กรัมในน้ำนมพาสเจอร์ไรส์ไขมันต่ำ 100 มิลลิลิตรในช่วงพาสเจอร์ไรส์ซ้ำ ข. ทำให้น้ำนมเย็นลงจนถึงอุณหภูมิ 45°C เติมแคลเซียมสำหรับกลุ่มทดลองที่ 2, 3 และ 4 (กลุ่มทดลองที่ 1 ไม่เติมแคลเซียม) ค. เติม yogurt mother culture แบบ (1) 1.4 มิลลิกรัมต่อน้ำนม 700 มิลลิลิตร และแบบ (2) 210 µl ต่อน้ำนม 700 มิลลิลิตร (หรือหัวเชื้อผสมจำนวน 2 กรัมต่อน้ำนม 50 ลิตร) จะได้โยเกิร์ตมิกซ์ ง. พาสเจอร์ไรส์น้ำเชื่อม ละลายน้ำตาลทราย 60 กรัมในน้ำอุณหภูมิ 80 °C ให้เป็นสารละลายน้ำตาล 100 มิลลิลิตร แล้วใส่เพคติน 20 กรัม จ. เติมผลไม้ที่ผสมรวมแล้ว (แอปเปิ้ลเขียว สับปะรด เงาะ) 120 กรัมกับน้ำเชื่อมเพคตินลงในถ้วยบรรจุหรือภาชนะปากกว้างปริมาตร 800 มิลลิลิตร ฉ. เทโยเกิร์ตมิกซ์ (จาก ค.) ลงไปส่วนบนของถ้วยบรรจุ ข. นำไปต้มในตู้ต้มที่ อุณหภูมิ 45°C นาน 6 ชั่วโมง และยุติการหมัก ฉ. ตรวจสอบความเป็นกรด (titratable acidity, standard 0.1 N NaOH, 0.5% phenolphthalein indicator) มีความเป็นกรดตั้งแต่ 0.70% (lactic acid) เป็นต้นไป และยุติการหมัก (Method No. 947.05) [16] ฎ. นำไปเก็บไว้ในตู้เย็นเพื่อการวิเคราะห์ต่อไป (รูปที่ 1)

**2.3 รูปแคลเซียมและระดับแคลเซียม :** คือ แคลเซียม แอล-แลคเตท เพนทะไฮเดรท (calcium L-lactate pentahydrate, Formula  $[CH_3CH(OH)COO]_2Ca \cdot 5H_2O$ , MW 308.29 g/mol, EC-No. 248-953-3, Product No. 21175, Testing Conforms to Pharmacopecia, Sigma-Aldrich, Singapore) การเสริมแคลเซียมในโยเกิร์ต 4 ระดับคือ 0, 400, 600 และ 800 มิลลิกรัมต่อโยเกิร์ต 100 มิลลิลิตรมีปริมาณแคลเซียมที่ตรวจสอบได้คือ 80.00, 398.35, 587.85, 782.12 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตรตามลำดับ

**2.4 การเก็บข้อมูลน้ำหนักและโยเกิร์ต :** ส่วนประกอบของโยเกิร์ตก่อนนำไปบ่ม และแคลเซียมในโยเกิร์ต การวิเคราะห์ส่วนประกอบของโยเกิร์ตมิทซ์ ได้แก่ ไขมัน โปรตีน แลคโทส\_เนื่อนมไม่รวมไขมัน โดยใช้ Milk content analyzer (LactoStar 3510-072003, Funke Gerber, Berlin, Germany) หลังจากตรวจสอบความเที่ยงตรงของเครื่องมือ



รูปที่ 1. แผนผังของโรงงานผลิตโยเกิร์ต

**2.5 การเก็บข้อมูล โยเกิร์ตในวันที่ 1, 7 และ 14 ของการเก็บรักษา :** ความเป็นกรด โดย pH-meter การยอมรับทางประสาทสัมผัส (รสชาติ เนื้อสัมผัสและการทรงตัว ความเรียบเนียน ลักษณะที่ปรากฏ การยอมรับโดยรวม) โดยกลุ่มผู้ชิมโดยไม่ผ่านการฝึกฝน 28 คน ให้ระดับคะแนนตั้งแต่ 1 ถึง 5 (5-point

hedonic scale) มีความหมายคือ 1=ไม่ชอบมาก 2=ไม่ชอบ 3=ชอบปานกลาง 4=ชอบ 5=ชอบมาก (ตารางที่ 3) ลักษณะเนื้อสัมผัสด้านความหนืดโดยใช้เครื่องมือวัดความหนืด (Brookfield Engineering Laboratories, Inc., Viscometer DV-II+, SMC 40, TK 0.9373, Model code LV, MA, USA.) และ จำนวนแลคโทบาซิลลัสมีชีวิตในโยเกิร์ตด้วยวิธี plate count นำโยเกิร์ต 1 กรัมเจือจางด้วย 9 มิลลิลิตรของ 0.15 % ของสารละลายเพปโทนอนปลอดเชื้อ ทำเป็นลำดับๆ ละ 10 เท่า เพาะเลี้ยงตัวอย่างเชื้อที่ระดับการเจือจาง  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$  หยตสารละลายโยเกิร์ตปริมาณ 0.1 มิลลิลิตร ลงบนอาหารแข็ง *Lactobacillus* MRS agar โดยการ spread plate บ่มอุณหภูมิที่ 38 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วตรวจนับ โคโลนี

**2.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ :** การเก็บข้อมูลทุกค่าจะทำการเก็บ 12 ซ้ำ (ยกเว้นองค์ประกอบทางเคมีและปริมาณแคลเซียมในโยเกิร์ตมิกซ์จะเก็บข้อมูล 6 และ 3 ซ้ำตามลำดับ) วิเคราะห์ข้อมูลของปัจจัยจากการเสริมแคลเซียมระดับต่างๆ และไม่เสริมแคลเซียมด้วย ANOVA ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (CRD) และ วิเคราะห์ความแตกต่างของปัจจัยโดย least significant difference (LSD) test ( $P = 0.05$ )

### 3. ผลการทดลองและวิจารณ์

#### 3.1 องค์ประกอบทางเคมีของโยเกิร์ตมิกซ์

องค์ประกอบทางเคมีของโยเกิร์ตมิกซ์ก่อนนำไปบ่มแสดงใน ตารางที่ 1 ระดับการเติมแคลเซียมในโยเกิร์ต 4 กลุ่ม (0, 40, 600, 800 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร) ทำให้โยเกิร์ตมีไขมัน (1.83%-1.91%) โปรตีน (7.76%-8.13%) และเนื้อมันไม่รวมไขมัน (17.81%-18.28%) ไม่แตกต่างกัน ( $P>0.05$ ) การเติมหางนมผง 14 กรัมใน 100 มิลลิลิตรของโยเกิร์ตเสริมแคลเซียม ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงระดับองค์ประกอบทางเคมี (ไขมัน โปรตีน เนื้อมันไม่รวมไขมัน) ของโยเกิร์ตก่อนบ่ม การเติมหางนมผงในการทดลองนี้เพื่อปรับให้เนื้อมันไม่รวมไขมัน (solid-not fat) คงที่เป็น 18% มีงานวิจัยสอดคล้องคือ นมพาสเจอร์ไรส์หรือนมโฮโมจีไนส์ให้ความร้อนอุณหภูมิ 45 °C แล้วเติมหางนมผงและผสมให้เข้ากันโดยใช้ความเร็วสูง ทำให้โยเกิร์ตมีเนื้อมันไม่รวมไขมัน (milk solids not fat) ปรับเพิ่มสูงขึ้นเป็น 16 กรัมต่อ 100 กรัมของโยเกิร์ตที่ไม่เสริมฟอสฟอรัส [17] การเติมหางนมผงเป็นวิธีที่นิยมปฏิบัติในอุตสาหกรรมนม [15] การเติมหางนมผงในน้ำนมใช้หมักทำให้โยเกิร์ตเนื้อแน่นและหนักแตกต่างกัน ซึ่งขึ้นกับปริมาณของหางนมผงที่ใช้และชนิดของน้ำนมที่ใช้หมัก เช่นน้ำนมไขมันเต็ม น้ำนมพร่องไขมันระดับต่างๆ และขึ้นกับจุดประสงค์ของการผลิตโยเกิร์ตที่แตกต่างกัน หน่วยงานที่ควบคุมและกำหนดคุณภาพและมาตรฐานการผลิตนมเปรี้ยวโยเกิร์ต [1] ไม่กำหนดระดับขั้นต่ำหรือขั้นสูงของเนื้อมันและเนื้อมันไม่รวมไขมันของโยเกิร์ต การเติมหางนมผงในน้ำนม (พาสเจอร์ไรส์ นมยูเอชที หมกก่อนพาสเจอร์ไรส์ และน้ำนมให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 85 °C เป็นเวลา 30 นาที) ปรับเนื้อมันเพิ่มเป็น 18% [18] ปรับเนื้อมันเพิ่มเป็น 14% [12, 14, 15]

ตารางที่ 1. องค์ประกอบของโยเกิร์ตมิกซ์<sup>#</sup> ก่อนการบ่ม

ระดับการเสริมแคลเซียม	% milk fat	% milk protein	% solid-not fat
Control I (0 mg/100 ml)	1.91	7.76	17.91
Ca fortified II (400 mg/100 ml)	1.77	7.80	18.03
Ca fortified III (600 mg/100 ml)	1.87	8.13	18.12
Ca fortified IV (800 mg/100 ml)	1.83	7.81	18.28
SEM <sup>†</sup>	0.08	0.25	0.08
P value	P>0.05	P>0.05	P>0.05

<sup>#</sup> Data presented are least square means (n=6 samples per calcium fortification level)

<sup>†</sup> Pooled standard error of mean

### 3.2 ปริมาณแคลเซียมในโยเกิร์ต

ปริมาณแคลเซียมในโยเกิร์ต 100 มิลลิลิตรในกลุ่มที่ 1, 2, 3, 4 คือ 130.28, 175.56, 191.01 และ 207.12 มิลลิกรัมตามลำดับ ปริมาณธาตุแคลเซียมในโยเกิร์ตเสริมแคลเซียมมีสูงกว่า ( $P<0.05$ ) กลุ่มควบคุมคิดเป็นร้อยละ 34.82, 46.65 และ 58.46 (ตารางที่ 2) แหล่งของแคลเซียมที่หาได้ง่าย สะดวก และราคาถูก คือน้ำนมและผลิตภัณฑ์นมซึ่งจะให้แคลเซียมมากกว่า 75% ของการบริโภคแคลเซียมในมนุษย์ และดังนั้นแหล่งหลักของแคลเซียมจากอาหารคือแคลเซียมในนมและผลิตภัณฑ์ สำหรับโยเกิร์ต นม นมพร่องไขมัน (มีไขมัน 1% 2%) ขนาด 250 มิลลิลิตร มีแคลเซียมเฉลี่ย 300 มิลลิกรัม ดูดซึมแคลเซียม 33% หรือดูดซึมแคลเซียมสูงถึง 96 มิลลิกรัม และเทียบกับผัก เช่นบร็อกโคลี่ 125 มิลลิกรัม มีแคลเซียมเฉลี่ย 35 มิลลิกรัม ดูดซึมแคลเซียม 61% หรือดูดซึมแคลเซียมเพียง 22 มิลลิกรัม [19]

แคลเซียมในนมส่วนใหญ่อยู่ในรูปของแขวนลอยของ colloidal phosphate แคลเซียมบางส่วนในสภาพแขวนลอยนี้สามารถแลกเปลี่ยนได้ [20] การแลกเปลี่ยนแคลเซียมระหว่างสองสภาพ คือสภาพแขวนลอย (colloid) และสภาพสารละลาย (aqueous หรือ dissolved phase) ขึ้นกับ ความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิ [20] เลเบลไอโซโทปของแคลเซียมในนม โดยหาค่าการนำเอาแคลเซียมในนมและผลิตภัณฑ์ไปใช้ประโยชน์ ทำให้ทราบว่า Ca 45 ซึ่งเสริมเข้าไปในนม มีสัดส่วนสูงของแคลเซียมที่เสริมเข้าไปนี้จะอยู่ในสภาพสารละลายของนมและแขวนลอย [20] การเสริมแคลเซียม เลคเททในโยเกิร์ต พบว่าแคลเซียมที่เสริมอยู่ในส่วนของสารละลายในน้ำนม 2/3 ส่วนหรืออยู่ใน dissolved phase หรือ aqueous phase และ 1/3 อยู่ในสภาพแขวนลอย [14] หนูที่ได้ตัดต่อมพาราไทรอยด์ออก (parathyroidectomized rat) สามารถดูดซึมแคลเซียมจากลำไส้และการนำแร่ธาตุไปสร้างฟันหน้าได้ดีที่สุด ปานกลาง และต่ำ เมื่อใช้แคลเซียม แลคเทท แคลเซียม คาร์บอเนต และ แคลเซียม ฟอสเฟต ตามลำดับ [19]

การกินโยเกิร์ตหรือน้ำนม 400 มิลลิลิตรในสุกรมื้ออัตราการดูดซึมแคลเซียมเกือบ 80% ของแคลเซียมที่ได้รับทั้งหมด โดยมีการดูดซึมเกือบครึ่งหนึ่งของทั้งหมดในช่วงแรกหลังกิน [20] แคลเซียมในโยเกิร์ตควบคุมในการทดลองนี้ 100 มิลลิลิตร อยู่ในระดับต่ำ (130.28 มิลลิกรัม) กว่า Reference Daily Intake (RDI) และประมาณเป็นการดูดซึมแคลเซียม 42.99 มิลลิกรัม (ตารางที่ 2) [19] (แคลเซียมในโยเกิร์ตควบคุมในการทดลองนี้ขนาด 250 มิลลิลิตร อยู่ในระดับ 325.7 มิลลิกรัม ซึ่งดูดซึมได้ 33% คาดว่าได้รับ

แคลเซียม 107.48 มิลลิกรัม) การเสริมแคลเซียมในโยเกิร์ตกลุ่ม 2, 3, 4 คาดว่าดูดซึมแคลเซียมได้ 57.93, 63.03 และ 68.35 มิลลิกรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 2) โดยคาดว่า การเสริมแคลเซียมในโยเกิร์ตกลุ่ม 2 ในการทดลองนี้ (400 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร) ทำให้แคลเซียมอยู่ในสภาวะสารละลายของน้ำนม (aqueous หรือ dissolved phase) ซึ่งจะช่วยให้โครงสร้างเจลโยเกิร์ตแข็งแรงขึ้น แต่การเสริมแคลเซียมในโยเกิร์ตกลุ่ม 3 และ 4 (600, 800 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร) ประสิทธิภาพการดูดซึมแคลเซียมเพิ่มขึ้นในอัตราที่ลดลง และแคลเซียมแอลแลคเตทเพนทไฮเดรท ในโยเกิร์ตในการทดลองนี้ดูดซึมได้ง่ายและดีที่ลำไส้ ซึ่งเป็นแหล่งให้แคลเซียมปริมาณสูงกว่าพืชหรือในอาหารชนิดอื่น

ตารางที่ 2. ปริมาณแคลเซียม<sup>#</sup> ของตัวควบคุมและโยเกิร์ตผลไม้ที่มีการเสริมแคลเซียม

ระดับการเสริมแคลเซียม	ปริมาณการเสริม calcium lactate pentahydrate (mg/100 ml)	ปริมาณแคลเซียมที่วัดได้* (mg/100 ml)	เปอร์เซ็นต์ที่เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับตัวควบคุม	การประมาณแคลเซียมที่ถูกดูดซึม
Control I (0 mg/100 ml)	0	130.28 <sup>d</sup>	-	42.99
Ca fortified II (400 mg/100 ml)	389.35 <sup>c</sup>	175.56 <sup>c</sup>	34.82 <sup>c</sup>	57.93
Ca fortified III (600 mg/100 ml)	587.85 <sup>b</sup>	191.01 <sup>b</sup>	46.65 <sup>b</sup>	63.03
Ca fortified IV (800 mg/100 ml)	782.12 <sup>a</sup>	207.12 <sup>a</sup>	58.46 <sup>a</sup>	68.35
SEM <sup>†</sup>	4.25	4.32	2.05	-
P value	P<0.05	P<0.05	P<0.05	-

<sup>#</sup> Data presented are least square means (n=3 samples per calcium fortification level)

<sup>†</sup> Pooled standard error of mean

\*33% Estimated absorption

abcd Within the same column with the different superscripts differ at P<0.05 by LSD test

### 3.3 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ต

การประเมินรสชาติสูงสุด (flavor) ในโยเกิร์ตกลุ่ม 2 และไม่แตกต่าง (P>0.05) กับโยเกิร์ตอื่นๆ (ตารางที่ 3) แต่การทรงตัว เนื้อสัมผัส ความเรียบเนียน (body texture smoothness) มีการประเมินสูงสุดใน โยเกิร์ตกลุ่ม 2 และไม่แตกต่างจากกลุ่ม 1 (P>0.05) แต่การทรงตัวและเนื้อสัมผัสของโยเกิร์ตกลุ่ม 2 สูงกว่าและแตกต่าง (P<0.05) จากกลุ่ม 3 และ 4 สำหรับการยอมรับโดยรวม (acceptance) ของโยเกิร์ตทุกกลุ่มไม่แตกต่าง (P>0.05) การเสริมวิตามินและแร่ธาตุ ในระหว่างการเตรียมโยเกิร์ตที่ติดต่อหัวใจ ซึ่งพบว่า ไม่ส่งผลต่อรสชาติ การทรงตัว/เนื้อสัมผัสและการยอมรับโดยรวม [2] วันที่ 1 ของการเก็บรักษา โยเกิร์ต รสชาติดีที่สุดคือโยเกิร์ตเสริมแคลเซียมแลคเตทเมื่อเทียบกับโยเกิร์ตเสริมแคลเซียมกลูโคเนทให้รสชาติของโยเกิร์ตต่ำที่สุด [12] สอดคล้องกับงานวิจัยของ Singh และ Muthukumarappan [14] ที่กล่าวว่าการเสริมแคลเซียม แลคเตท ในโยเกิร์ตเทียบกับโยเกิร์ตไม่เสริมไม่มีความแตกต่างกันของโยเกิร์ตในด้านรสชาติ เนื้อสัมผัส ลักษณะที่ปรากฏและการยอมรับโดยรวม ในการทดลองนี้การเสริมแคลเซียมในโยเกิร์ตทุกๆ ระดับ ให้รสชาติ การยอมรับโดยรวมไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม แต่การทรงตัวและเนื้อสัมผัสและความเรียบเนียนดีที่สุดเมื่อเสริมแคลเซียมระดับ 400 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร

ตารางที่ 3. ผลของการเสริมแคลเซียมต่อการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตที่ระยะเวลาการเก็บรักษามากกว่า 14 วัน

ระดับการเสริมแคลเซียม	การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส <sup>#</sup>		
	รสชาติ	การทรงตัว/เนื้อสัมผัส/ ความเรียบเนียน	การยอมรับโดยรวม
Control I (0 mg/100 ml)	3.83	4.00 <sup>ab</sup>	4.25
Ca fortified II (400 mg/100 ml)	4.00	4.25 <sup>a</sup>	4.08
Ca fortified III (600 mg/100 ml)	3.58	3.42 <sup>b</sup>	3.83
Ca fortified IV (800 mg/100 ml)	3.63	3.50 <sup>b</sup>	3.75
SEM <sup>†</sup>	0.81	0.82	0.76
P value	P>0.05	P<0.05	P>0.05

<sup>#</sup> Sensorial evaluation was based on a 1 to 5 point scale (1=dislike extremely 5=like extremely) and data presented are least square means (n=12 samples per calcium fortification level)

<sup>†</sup> Pooled standard error of mean

<sup>ab</sup> Within the same column with the different superscripts differ at P<0.05 by LSD test

### 3.4 พิเอซของโยเกิร์ต

ผลความเป็นกรดของโยเกิร์ตแสดงใน ตารางที่ 4 ในวันที่ 1, 7 และ 14 ของการเก็บรักษา พบว่า พิเอซของโยเกิร์ตทุกกลุ่มไม่แตกต่างกัน ( $p>0.05$ ) ในวันที่ 7 และ 14 ของการเก็บรักษา พิเอซของโยเกิร์ตลดลงระหว่างการเก็บรักษาในทุกกลุ่มโยเกิร์ต อาจเป็นเพราะเชื้อหมักโยเกิร์ตที่มีกิจกรรมทางเมแทบอลิซึมต่อเนื่องจึงเกิดการสร้างกรดเพิ่มในภายหลัง (post หรือ over acidification) เชื้อหมักโยเกิร์ตยังคงทำงานแม้อุณหภูมิต่ำของตู้เย็นและยังคงผลิตกรดแลคติก จำนวนน้อยๆ ซึ่งเป็นผลทำให้พีเอซลดลง อย่างสังเกตเห็นได้ในระหว่างการเก็บรักษา

ความเป็นกรดเพิ่มขึ้นระหว่างการเก็บรักษา คือปรากฏการณ์ที่เรียกว่า over acidification หรือ กระบวนการสร้างกรดภายหลัง จะเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ยังคงทำงานได้ที่อุณหภูมิ 0-5 °C และยังคงผลิตกรดแลคติกในช่วงอุณหภูมิ 0-5°C หากพีเอซลดลงต่ำกว่า 4.2 เป็นผลให้เกิด whey ออกมาสูง และมีผลต่อจำนวนรอดชีวิตของแบคทีเรียกรดแลคติก (Lactic Acid Bacteria: LAB) เนื่องจากมีไฮโดรเจนไอออนมากกว่า แลคเตอไอออน แต่พิเอซของโยเกิร์ตในการทดลองนี้ไม่ลดลงถึง 4.2 และสังเกตเห็นเวย์เล็กน้อยเท่านั้น ซึ่งไม่มีนัยสำคัญต่อคุณภาพโยเกิร์ต ซึ่งเวย์เป็นลักษณะปกติของ set yogurt ซึ่งไม่มีนัยสำคัญต่อการประเมินโยเกิร์ตในด้านต่างๆ [22]

### 3.5 ความหนืดของโยเกิร์ต

ตารางที่ 5 แสดงความหนืดของโยเกิร์ตในช่วงการเก็บรักษาต่างๆ ในตู้เย็น ในวันที่ 1 ของการเก็บรักษาโยเกิร์ตในกลุ่ม 2 (400 มิลลิกรัม/100 มิลลิกรัม) มีความหนืดสูงสุด (20,320 cP) แต่ไม่แตกต่างจากกลุ่ม 1 (20,108 cP) แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากโยเกิร์ตในกลุ่มอื่นๆ (600, 800 มิลลิกรัม/100 มิลลิกรัม) (18,200 cP) (13,680 cP) ในการทดลองนี้พบว่าโยเกิร์ตเติมแคลเซียมกลุ่ม 2 (400 มิลลิกรัม/100 มิลลิกรัม) ส่งผลให้เจลของโยเกิร์ตแข็งแรงที่สุด แต่เมื่อเติมในระดับสูงกวานี้ (600, 800 มิลลิกรัม/100 มิลลิกรัม) มีผลทางลบต่อเจลของโยเกิร์ตคือทำให้โยเกิร์ตเหลวขึ้น และเมื่อเสริมในระดับสูงสุดยิ่งทำให้โยเกิร์ตเหลวมากขึ้น

ตารางที่ 4. ผลของการเสริมแคลเซียมต่อพีเอชของโยเกิร์ตที่เวลาการเก็บรักษาที่ 1, 7 และ 14 วัน

ระดับการเสริมแคลเซียม	พีเอช <sup>#</sup>		
	ระยะเวลาเก็บรักษา (วัน)		
	วันที่	วันที่ 7	วันที่ 14
Control I (0 mg/100 ml)	4.47	4.45	4.35
Ca fortified II (400 mg/100 ml)	4.49	4.42	4.39
Ca fortified III (600 mg/100 ml)	4.45	4.40	4.37
Ca fortified IV (800 mg/100 ml)	4.44	4.39	4.36
SEM <sup>†</sup>	0.02	0.03	0.08
P value	P>0.05	P>0.05	P>0.05

<sup>#</sup> Data presented are least square means (n=12 samples per calcium fortification level)

<sup>†</sup> Pooled standard error of mean

ในวันที่ 7 ของการเก็บรักษาโยเกิร์ตในกลุ่ม 2 มีความหนืดสูงสุด (22,300 cP) และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.05$ ) จากโยเกิร์ตกลุ่ม 1 (19,936 cP) และโยเกิร์ตเสริมแคลเซียมในกลุ่ม 3 และ 4 (17,970 cP) (13,694 cP)

ในวันที่ 14 ของการเก็บรักษาโยเกิร์ตในกลุ่ม 1 และ 2 มีความหนืดสูงสุด ไม่แตกต่างจากโยเกิร์ตในกลุ่ม 2 แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P<0.05$ ) จากโยเกิร์ตเสริมแคลเซียมในกลุ่ม 3 และ 4 การเสริมแคลเซียมในกลุ่ม 2 มีผลทำให้ความหนืดของโยเกิร์ตอยู่ในระดับสูงที่ทุกๆระยะของการเก็บรักษา

การเสริมแคลเซียมในกลุ่ม 2 (400 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร) ในโยเกิร์ตทำให้ความหนืดของโยเกิร์ตในวันที่ 7 ของการเก็บรักษาสูงกว่าวันที่ 1 และ 14 ของการเก็บรักษา แต่สำหรับโยเกิร์ตในกลุ่ม 3 และ 4 ในวันที่ 7 และ 14 ของการเก็บรักษา ความหนืดของโยเกิร์ตลดลงเมื่อเทียบกับวันที่ 1 ของการเก็บรักษา

การเสริมแคลเซียมในโยเกิร์ตระดับ 400 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร ในการทดลองนี้ มีผลทำให้ความหนืดของโยเกิร์ตอยู่ในระดับสูงที่ทุกๆระยะของการเก็บรักษา ซึ่งการเติมแคลเซียมนี้เป็นระดับเหมาะสม แคลเซียมที่เติมละลายใน dissolved ซึ่งทำให้แคลเซียมเติมในนมในสภาพแขวนลอยยึดกับเคซีนไมเซลล์ได้แน่นขึ้น โอกาสที่แคลเซียมเติมของนมจะออกจากเคซีนไมเซลล์ได้ต่ำ ทำให้ทำให้โครงสร้างเจลโยเกิร์ตแข็งแรงมาก และเมื่อโยเกิร์ตมีความเป็นกรดสูง แคลเซียมในสภาพ dissolved จะลดแรงผลักกันของประจุเหมือนกันของเคซีนไมเซลล์ ทำให้เคซีนไมเซลล์จับกันได้แน่นและแข็งแรง โครงสร้างเจลโยเกิร์ตแข็งแรง

การเติมแคลเซียมในโยเกิร์ตทำให้ แคลเซียม-ฟอสเฟตในสภาพแขวนลอย (colloidal calcium phosphate) ยึดกับเคซีนไมเซลล์เพิ่มขึ้น ซึ่งทำให้เพิ่มความแข็งแรงโครงข่ายเจลของโยเกิร์ต ทำให้เพิ่ม cross-link ของเคซีนไมเซลล์ และ dissolved calcium จากการเติมในโยเกิร์ตทำให้เกิดพันธะแบบที่ทำให้โครงสร้างเคซีนไมเซลล์ยึดตัวได้แข็งแรงขึ้น แต่พันธะในเคซีนไมเซลล์ไม่เปลี่ยน [14]

ตารางที่ 5. ผลของการเสริมแคลเซียมต่อความหนืดของโยเกิร์ตที่เวลาการเก็บรักษาที่ 1, 7 และ 14 วัน

ระดับการเสริมแคลเซียม	ความหนืดของโยเกิร์ต <sup>#</sup> (cP)		
	ระยะเวลาการเก็บรักษา (วัน)		
	วันที่ 1	วันที่ 7	วันที่ 14
Control I (0 mg/100 ml)	20108 <sup>ab</sup>	19936 <sup>b</sup>	20676 <sup>a</sup>
Ca fortified II (400 mg/100 ml)	20320 <sup>a</sup>	22300 <sup>a</sup>	20504 <sup>ab</sup>
Ca fortified III (600 mg/100 ml)	18200 <sup>c</sup>	17970 <sup>c</sup>	16496 <sup>c</sup>
Ca fortified IV (800 mg/100 ml)	13680 <sup>d</sup>	13694 <sup>d</sup>	13698 <sup>d</sup>
SEM <sup>†</sup>	2850.11	3427.58	3024.86
P value	P<0.05	P<0.05	P<0.05

<sup>#</sup> Data presented are least square means (n=12 samples per calcium fortification level)

<sup>†</sup> Pooled standard error of mean

<sup>abcd</sup> Mean within the same column with the different superscripts differ at P<0.05 by LSD test

### 3.6 จำนวนแลคโตบาซิลลัสในโยเกิร์ต

จำนวนแลคโตบาซิลลัสในโยเกิร์ตในสัปดาห์ที่ 1, 2 และ 3 ของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 °C (ตารางที่ 6) พบว่าในสัปดาห์แรกของการเก็บรักษา โยเกิร์ตเสริมแคลเซียมกลุ่ม 2 มีจำนวนแลคโตบาซิลลัส สูงสุด ( $2.43 \times 10^8$  cfu/g หรือ  $8.39 \log_{10}$  *Lactobacillus*, CFU/g) และมีจำนวนแลคโตบาซิลลัสไม่แตกต่าง (P>0.05) จากกลุ่มควบคุม ( $2.29 \times 10^8$  cfu/g หรือ  $8.36 \log_{10}$  *Lactobacillus*, CFU/g) แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับอีกสองกลุ่มที่เหลือ ( $1.64 \times 10^8$  หรือ  $8.21 \log_{10}$  *Lactobacillus*, CFU/g) ( $1.22 \times 10^8$  หรือ  $8.29 \log_{10}$  *Lactobacillus*, CFU/g) ในสัปดาห์แรกของการเก็บรักษาโยเกิร์ตทั้งหมดมีจำนวนแลคโตบาซิลลัสอยู่ในระดับที่แนะนำให้กินต่อวัน ( $10^8$  CFU/g) [23]

จำนวนแลคโตบาซิลลัสในโยเกิร์ตสูงเมื่อพีเอชของโยเกิร์ตค่อนข้างสูง เมื่อจำนวนแลคโตบาซิลลัสต่ำ เพราะพีเอชของโยเกิร์ตค่อนข้างต่ำ นั่นหมายความว่าจำนวนแลคโตบาซิลลัสของโยเกิร์ตลดลงมีความสัมพันธ์ทางบวกกับพีเอชลดลงตามเวลาที่เก็บรักษาที่ยาวนานขึ้น

จำนวนแลคโตบาซิลลัสของโยเกิร์ตในสัปดาห์ที่ 2 ของการเก็บรักษา โยเกิร์ตทั้งหมดยกเว้นโยเกิร์ตเสริมแคลเซียมระดับสูงสุด (800 mg/100ml; กลุ่มที่ 4) มีจำนวนแลคโตบาซิลลัสอยู่ในระดับพอเพียงตามที่แนะนำให้กินต่อวัน ( $10^8$ - $10^9$  เซลล์) โยเกิร์ตที่เติมแคลเซียม 400 มก./100 มล. ( $1.43 \times 10^8$  cfu/g หรือ  $8.16 \log_{10}$  *Lactobacillus*, CFU/g) และโยเกิร์ตควบคุม ( $1.49 \times 10^8$  cfu/g หรือ  $8.17 \log_{10}$  *Lactobacillus*, CFU/g) มีจำนวนแลคโตบาซิลลัสไม่แตกต่างกัน (P>0.05) แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับอีกสองกลุ่มที่เหลือ (กลุ่มที่ 3 คือ  $1.08 \times 10^8$  cfu/g หรือ  $8.03 \log_{10}$  *Lactobacillus*, CFU/g; กลุ่มที่ 4 คือ  $0.98 \times 10^8$  cfu/g หรือ  $7.99 \log_{10}$  *Lactobacillus*, CFU/g)

ตารางที่ 6. ผลของการเสริมแคลเซียมต่อ  $\log_{10}$  Lactobacilli counts (CFU/g) ในโยเกิร์ตที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 1, 2 และ 3 สัปดาห์

ระดับการเสริมแคลเซียม	$\log_{10}$ Lactobacilli counts <sup>#</sup> (CFU/g)		
	ระยะเวลาการเก็บรักษา (สัปดาห์)		
	สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3
Control I (0 mg/100 ml)	8.36 <sup>a</sup>	8.17 <sup>a</sup>	7.48 <sup>c</sup>
Ca fortified II (400 mg/100 ml)	8.39 <sup>a</sup>	8.16 <sup>a</sup>	8.19 <sup>a</sup>
Ca fortified III (600 mg/100 ml)	8.21 <sup>b</sup>	8.03 <sup>b</sup>	7.95 <sup>b</sup>
Ca fortified IV (800 mg/100 ml)	8.09 <sup>b</sup>	7.99 <sup>b</sup>	7.81 <sup>b</sup>
SEM <sup>†</sup>	0.14	0.09	0.13
P value	P<0.05	P<0.05	P<0.05

<sup>#</sup> Data presented are least square means (n=12 samples per calcium fortification level)

<sup>†</sup> Pooled standard error of mean

<sup>abcd</sup> Mean within the same column with the different superscripts differ at P<0.05 by LSD test

จำนวนแลคโตบาซิลลัสของโยเกิร์ตในการทดลองนี้ ในสัปดาห์ที่ 3 ของการเก็บรักษาให้ผลการทดลองต่ำกว่า  $10^8$  เซลล์ ยกเว้นกลุ่มโยเกิร์ต กลุ่ม 2 ที่ยังคงมีจำนวนแลคโตบาซิลลัสที่มีชีวิตอยู่ในระดับสูง ( $1.55 \times 10^8$  CFU/g หรือ  $8.19 \log_{10}$  Lactobacillus, CFU/g) ไม่มีความแตกต่างของจำนวนจุลินทรีย์ที่นับได้ในวันที่ 1, 21 และ 34 ของการเก็บรักษา จำนวนจุลินทรีย์ต่ำเพราะมี พีเอช 4.3 หรือต่ำกว่า และในวันสุดท้ายของการเก็บรักษา วันที่ 34 มีจำนวนจุลินทรีย์เพียง  $7 \times 10^7$  cfu/g [21] บางงานวิจัยรายงานจำนวนรอดชีวิตของแบคทีเรียในโยเกิร์ต โดยจำนวนต่ำกว่า  $10^8$ - $10^9$  เซลล์ ที่แนะนำให้กินต่อวัน [23]

#### 4. สรุปผลการทดลอง

การเสริมแคลเซียม แอล-แลคเตท เพนทะ ไฮเดรทในโยเกิร์ต ในกลุ่ม 1, 2, 3 และ 4 (0, 400, 600 และ 800 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร) ทำให้มีปริมาณธาตุแคลเซียมในโยเกิร์ต 4 กลุ่มคือ 130, 176, 191 และ 207 มิลลิกรัมตามลำดับ ปริมาณธาตุแคลเซียมในโยเกิร์ตในกลุ่ม 2, 3, 4 มีแคลเซียมสูงกว่ากลุ่มควบคุมคิดเป็น 35%, 47% และ 58% การเสริมแคลเซียมในโยเกิร์ตไม่มีผลทางลบต่อการประเมินรสชาติ นอกจากนั้น การเสริมแคลเซียมในโยเกิร์ตระดับ 400 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตรกับกลุ่มควบคุมมีการทรงตัวและเนื้อสัมผัสและความเรียบเนียนดีเทียบเท่ากัน แต่ดีกว่าการเสริมแคลเซียมระดับสูง พีเอชของโยเกิร์ตลดลงตามจำนวนวันของการเก็บรักษาเพิ่มสูงขึ้น พีเอชของโยเกิร์ตสูง มีจำนวนแลคโตบาซิลลัสสูง เมื่อการเก็บรักษาโยเกิร์ตในสัปดาห์ที่ 2 ทำให้พีเอชของโยเกิร์ตต่ำลงเล็กน้อย และมีจำนวนแลคโตบาซิลลัสลดต่ำลงเล็กน้อยด้วยเช่นกัน

ในสัปดาห์ที่ 3 การเสริมแคลเซียมระดับ 400 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร ทำให้ความหนืดของโยเกิร์ตสูงขึ้น และมีจำนวนแลคโตบาซิลลัสสูงสุด ( $8.19 \log_{10}$  Lactobacillus, CFU/g) ซึ่งยังคงมีแบคทีเรียระดับสูงตามที่แนะนำให้รับประทานต่อวัน การทดลองเสริมแคลเซียม แลคเตท ในระดับที่สูงเช่น 600, 800 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตรทำให้โยเกิร์ตมีความหนืดต่ำ โครงสร้างเจลโยเกิร์ตไม่แข็งแรง มีจำนวนแลคโตบาซิลลัสต่ำ แม้ว่ารสชาติของโยเกิร์ตและการยอมรับโดยรวมเท่ากับโยเกิร์ตควบคุมและเสริม 400 มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตรก็ตาม ในการทดลองนี้สามารถสรุปว่า การเสริมแคลเซียมในโยเกิร์ตระดับ 400

มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร ทำให้มีจำนวนแลคโทบาซิลัสสูงสุดที่ทุกระยะเวลาของการเก็บรักษา มีความหนืดสูงสุดที่ทุกระยะการเก็บรักษา ซึ่งทำให้เจลของโยเกิร์ตแข็งแรงหลังการผลิตตลอดระยะเวลาการเก็บรักษา และไม่ส่งผลกระทบต่อรสชาติและการประเมินทางประสาทสัมผัสโดยการชิม

### กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังที่ให้การสนับสนุนงบประมาณจากเงินรายได้ในการทำการวิจัย

### เอกสารอ้างอิง (References)

- [1] ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 353. 2556. กฎกระทรวงฉบับปรับปรุง ฉบับที่ 353 ปี พ.ศ. 2556 ตามพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ.2522 <http://elib.fda.moph.go.th> [Amendment of the Notification of the Ministry of Public Health (No. 353) 2013./Ministerial Regulation (No. 353) 2013 according to the Food Act 1979. <http://elib.fda.moph.go.th> (in Thai)]
- [2] Lourens-Hattingh, A. and Viljoen, B.C. 2001. Yogurt as probiotic carrier food. *Int. Dairy J.*, 11, 1–17.
- [3] Heaney, R. P. 2005. The challenges of calcium. [Online] Available : <http://www.functionalingredientsmag.com/fimag/articleDisplay.asp?strArticleId=723&strSite 18/06/2008>.
- [4] McCarron, D.A. and Heaney, R.P. 2004. Estimated healthcare savings associated with adequate dairy food intake. *Am. J. Hypertension*, 17, 88–97.
- [5] Miller, G.D. and Anderson, J.J. 1999. The role of calcium in prevention of chronic diseases. *J. Am. Coll. Nutr.*, 18, 371S–372S.
- [6] Quilici-Timmcke, J. 2002. Opportunities Expanding For Calcium-fortified Foods. [Online]Available : <http://www.functionalingredientsmag.com/fimag/articleDisplay.asp?strArticleId=104&strSite 18/06/2008>.
- [7] Fairweather-Tait, S.J., Johnson, A., Eagles, J., Ganatra, S., Kennedy, H. and Gurr, M.I. 1989. Studies on calcium absorption from milk using a double-label stable isotope technique. *Br. J. of Nutri.*, 62, 379–388.
- [8] Klahorst, S. 2001. Calcium's role—food product design: Design . [Online] Available: [http://www.foodproductdesign.com/articles/463/463\\_0101de.html](http://www.foodproductdesign.com/articles/463/463_0101de.html) 18/06/2008.
- [9] Bryant, R.J., Cadogan, J. and Weaver, C.M. 1999. The new dietary reference intakes for calcium: implications for osteoporosis. *J. Am. Coll. Nutr.*, 18, 406S–412S.
- [10] Vaskonen, T. 2003. Dietary minerals and modification of cardiovascular risk factors. *J. Nutri. Biochem.*, 14, 492–506.

- [11] Ettinger, A.S., Howard, H. and Hernandez-Avila, M. 2007. Dietary calcium supplementation to lower blood lead levels in pregnancy and lactation. *J. Nutri. Biochem.*, 18, 172–178.
- [12] Pirkul, T., Temiz, A. and Erdem, Y. K. 1997. Fortification of yogurt with calcium salts and its effect on starter microorganisms and yogurt quality. *Int. Dairy J.*, 7, 547–552.
- [13] Goldscher, R. L. and Edelstein, S. 1996. Calcium citrate: A revised look at calcium fortification. *Food Technol.*, 50, 96–98.
- [14] Singh, G. and Muthukumarappan, K. 2007. Influence of calcium fortification on sensory, physical and rheological characteristics of fruit yogurt. *LWT- Food Sci. Technol.*, doi:10.1016/j.lwt.2007.08.027
- [15] Serra, M., Trujillo, A.J., Guamis, B. and Ferragut, V. 2008. Evaluation of physical properties during storage of set and stirred yogurts made from ultra-high pressure homogenization-treated milk. *Food Hydrocolloids*. doi:10.1016/j.foodhyd.2007.11.015.
- [16] AOAC. 1997. (Association of Official Analytical Chemists) Official methods of milk analysis: Official methods of analysis (16th ed., 3rd revision). Washington, USA: Association of Official Analytical Chemists.
- [17] Aryana, K.J. and McGrew, P. 2007. Quality attributes of yogurt with *Lactobacillus casei* and various prebiotics. *LWT- Food Sci. Technol.*, 40, 1808–1814.
- [18] Kailasapathy, K., Harmstorf, I. and Phillips, M. 2008. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* in stirred fruit yogurts. *LWT- Food Sci. Technol.*, 41, 1317-1322.
- [19] Anonymous. 2015. Calcium and Bioavailability in Nutrient in milk product Dairy nutrition. [Online] Available: <https://www.dairynutrition.ca/nutrients-in-milk-products/calcium/calcium-and-bioavailability>. 18/06/2015.
- [20] Mpassi, D., Rychen, G., Mertes, M. and Laurent, F. 2001. Portal absorption of <sup>45</sup>Ca from labelled milk, yoghurt or heat treated yoghurt in the growing pig. *Int. Dairy J.*, 11, 809–815.
- [21] Cueva, O. and Aryana, K.J. 2008. Quality attributes of a heart healthy yogurt. *LWT- Food Sci. Technol.*, 41, 537–544.
- [22] Dave, R. and Shah, N.P. 1998. Ingredient supplementation effects on viability of probiotic bacteria in yogurt. *J Dairy Sci.*, 81, 2804–2816.
- [23] Kailasapathy, K. 2006. Survival of free and encapsulated probiotic bacteria and their effect on the sensory properties of yoghurt. *LWT- Food Sci. Technol.*, 39, 1221–1227.