บทความวิชาการ

การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ในการศึกษาข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของน้ำนมและผลิตภัณฑ์นม

Application of Metabolomics Technology for Investigation of Biomolecular Profile of Milk and Dairy Products

ศานต์ เศรษฐชัยมงคล[1, 2,*] และ มยุรี เหลืองวิลัย[1]
Sarn Settachaimongkon[1, 2,*] and Mayuree Luangwilai[1]

บทคัดย่อ

ในปัจจุบันได้มีการนำเทคโนโลยีโอมิกส์ (omics technology) มาประยุกต์ใช้ในการศึกษาวิจัยทางด้านการเกษตรและอาหาร (foodomics) โดยเฉพาะการนำเทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ (metabolomics) มาใช้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของอาหารแทนวิธีการวิเคราะห์แบบดั้งเดิม ซึ่งมีข้อดี คือ เป็นการวิเคราะห์แบบไม่จำเพาะ (non-targeted analysis) จึงสามารถลดขั้นตอนและความยุ่งยากในการเตรียมตัวอย่าง และผลที่ได้จะอยู่ในรูปแบบข้อมูลการวิเคราะห์สารเมตาโบไลต์โดยรวม เรียกว่า “เมตาโบโลม” (metabolome) เปรียบเสมือนลายพิมพ์ระดับโมเลกุล (molecular fingerprint) ของตัวอย่างนั้น ซึ่งการนำเทคโนโลยีนี้มาประยุกต์ใช้ ต้องอาศัยการบูรณาการกับนักวิจัยที่มีความเชี่ยวชาญในต่างสาขา โดยเฉพาะทางด้านเคมีวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือขั้นสูง (high-throughput chemical analysis) เพื่อให้ได้ข้อมูลเมตาโบโลมตามที่ต้องการ และการประมวลผลข้อมูลที่ได้ด้วยเทคนิคทางเคโมเมตริกซ์ (chemometrics) ซึ่งเป็นการวิเคราะห์หารูปแบบและเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลเมตาโบโลมระหว่างตัวอย่างด้วยวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร (multivariate statistical analysis) ในบทความวิจัยนี้จึงขอเสนอรูปแบบของการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีดังกล่าว เพื่อศึกษาผลกระทบของปัจจัยการผลิตน้ำนมดิบในระดับฟาร์มและกระบวนการแปรรูป ในรูปแบบของการติดตามการเปลี่ยนแปลงของข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของน้ำนมและผลิตภัณฑ์นม โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้เกิดความเข้าใจถึงกลไกการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางเคมีโดยรวมในระหว่างกระบวนการผลิต การแปรรูป และการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ โดยข้อมูลดังกล่าวจะเป็นพื้นฐานสำคัญเพื่อใช้ในการศึกษาออกแบบและพัฒนาผลิตภัณฑ์นมให้มีทั้งสมบัติเชิงหน้าที่และคุณภาพทางประสาทสัมผัสตามที่ต้องการ

คำสำคัญ: น้ำนม ผลิตภัณฑ์นม ข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุล เมตาโบโลมิกส์ เคโมเมตริกซ์

บทนำ

วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีโอมิกส์ (omics sciences and technology) ได้แก่ จีโนมิกส์ (genomics) ทรานสคริบโตมิกส์ (transcriptomics) โปรตีโอมิกส์ (proteomics) และเมตาโบโลมิกส์ (metabolomics) นับว่ามีบทบาทสำคัญอย่างมากในการศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมีของพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ นับตั้งแต่ระดับพันธุกรรม การแสดงออกของยีนในระดับอาร์เอ็นเอ การสังเคราะห์โปรตีน รวมถึงการวิเคราะห์หาสารเมตาโบไลต์ (metabolite) ที่เกี่ยวข้องกับคุณลักษณะที่สนใจ [1] ในปัจจุบันได้มีการนำเทคโนโลยีโอมิกส์มาประยุกต์ใช้ในการศึกษาวิจัยทางด้านการเกษตรและอาหาร (foodomics) [2] โดยเฉพาะการนำเทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์มาใช้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของอาหารแทนวิธีการ

* sarn.s@chula.ac.th
[1] ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร
[2] ศูนย์วิทยาศาสตร์โอมิกส์และชีวสารสนเทศ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร

วิเคราะห์แบบดั้งเดิม ซึ่งมีข้อดี คือ เป็นการวิเคราะห์แบบไม่จำเพาะ จึงสามารถลดขั้นตอนและความยุ่งยากในการเตรียมตัวอย่าง และผลที่ได้จะอยู่ในรูปแบบข้อมูลการวิเคราะห์สารเมตาโบไลต์โดยรวม เรียกว่า "เมตาโบโลม" (metabolome) เปรียบเสมือนลายพิมพ์ระดับโมเลกุล (molecular fingerprint) ของตัวอย่างนั้น [3] อย่างไรก็ตาม การนำเทคโนโลยีนี้มาใช้ในการศึกษาวิจัยด้านวิทยาศาสตร์การอาหารในประเทศไทยนั้นยังค่อนข้างจำกัด เนื่องด้วยเป็นศาสตร์ที่ค่อนข้างใหม่และต้องอาศัยการบูรณาการกับนักวิจัยที่มีความเชี่ยวชาญในต่างสาขาโดยเฉพาะทางด้านเคมีวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือขั้นสูง (high-throughput chemical analysis) เพื่อให้ได้ข้อมูลเมตาโบโลมตามที่ต้องการ และการประมวลผลข้อมูลที่ได้ด้วยเทคนิคทางเคโมเมตริกซ์ (chemometrics) ซึ่งเป็นการวิเคราะห์หารูปแบบ และเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลเมตาโบโลม ระหว่างตัวอย่างด้วยวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร (multivariate statistical analysis) [4] โดยข้อมูลที่ได้จะช่วยพัฒนาองค์ความรู้ใหม่เพื่อให้เกิดความเข้าใจถึงข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุล (biomolecular profile) ของผลิตภัณฑ์อาหาร และกลไกการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบเหล่านั้นในระหว่างกระบวนการผลิต การแปรรูป การเก็บรักษา ซึ่งเกี่ยวข้องกับสมบัติเชิงหน้าที่ (functionality) และคุณภาพทางประสาทสัมผัส (organoleptic property) ของผลิตภัณฑ์ [5] อีกทั้งสามารถประยุกต์ใช้ข้อมูลดังกล่าวร่วมกับการประเมินผลด้วยเทคนิคทางเคโมเมตริกซ์ เพื่อระบุหาสารที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (potential biomarker) สำหรับใช้ระบุอัตลักษณ์หรือตรวจสอบแหล่งที่มาของวัตถุดิบและส่วนผสม สัมพันธ์กับทำเลที่ตั้งทางภูมิศาสตร์ของแหล่งผลิตในเขตพื้นที่เฉพาะ หรือกระบวนการแปรรูปเฉพาะของผลิตภัณฑ์ รวมถึงการตรวจหาสารเมตาบอไลต์ที่มีผลต่อความปลอดภัยของผู้บริโภคได้ [6]

ความรู้เบื้องต้นเกี่ยวกับเทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์

คำว่า "โอมิกส์" (~omics) มีรากศัพท์มาจากคำในภาษาละติน "*~omne*" ซึ่งหมายถึง ลักษณะโดยรวมหรือองค์ประกอบทั้งหมด ซึ่งได้ถูกนำมาใช้เป็นคำต่อท้ายในภาษาอังกฤษ (suffix) ของเทคโนโลยีที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาองค์ประกอบโดยรวมของสารชีวโมกุล (biomolecule) ตั้งแต่ระดับข้อมูลทางพันธุกรรม (gene) การแสดงออกของยีนในระดับอาร์เอ็นเอ (transcript) การสังเคราะห์โปรตีน (protein) รวมถึงการวิเคราะห์หาสารเมตาโบไลต์ (metabolite) ทั้งหมดในสิ่งมีชีวิตหรือระบบชีวภาพ [1] (Figure 1) ผลการศึกษาที่ได้จะอยู่ในรูปข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุล (biomolecular profile) ได้แก่ ข้อมูลรหัสพันธุกรรมทั้งหมด (genome) ข้อมูลการแสดงออกหรือการถอดรหัสของยีนเป็นเอ็มอาร์เอ็นเอทั้งหมด (transcriptome) ข้อมูลการสังเคราะห์โปรตีน (proteome) และสารเมตาโบไลต์ทั้งหมด (metabolome) ของสิ่งมีชีวิตหรือระบบชีวภาพชนิดใดชนิดหนึ่ง ภายใต้สภาวะใดสภาวะหนึ่ง [1] โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อให้เกิดความเข้าใจในกลไกเชิงหน้าที่และอันตรกิริยาระหว่างสารชีวโมเลกุลเหล่านั้น รวมทั้งหาความสัมพันธ์ระหว่างข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลดังกล่าวต่อลักษณะปรากฏ (phenotype) หรือคุณลักษณะเฉพาะ (characteristics) ของสิ่งมีชีวิตหรือระบบชีวภาพนั้นๆ ภายใต้สภาวะที่สนใจ [7]

เมตาโบโลมิกส์ หรืองานวิจัยบางส่วนใช้คำว่า การวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ (metabolite analysis) หรือ การรวบรวมข้อมูลสารเมตาบอไลต์ (metabolite profiling) เป็นศาสตร์หนึ่งในวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีโอมิกส์ ที่เน้นการศึกษาสารชีวโมเลกุลขนาดเล็ก (โดยทั่วไปมีขนาดต่ำกว่า 1.5 กิโลดาลตัน) [3] เช่น กรดนิวคลีอิค นิวคลีโอไทด์ กรดอะมิโน เพปไทด์สายสั้น กรดไขมัน น้ำตาล โอลิโกแซคคาไรด์ ไวตามิน สารประกอบแอลกอฮอล์ สารประกอบคาร์บอนิล กรดอินทรีย์ สารประกอบซัลเฟอร์ สารประกอบฟีนอลิก สารประกอบ

* sarn.s@chula.ac.th
[1] Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok
[2] Omics Sciences and Bioinformatics Center, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

อะโรมาติกไฮโดรคาร์บอน ฯลฯ ที่สังเคราะห์โดยสิ่งมีชีวิต หรือเป็นองค์ประกอบของระบบชีวภาพชนิดใดชนิดหนึ่ง [8] โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อรวบรวมข้อมูลชนิดและปริมาณของสารเมตาบอไลต์ทั้งหมด หรือ เมตาโบโลม ทั้งสารที่สังเคราะห์อยู่ภายในเซลล์ (intracellular) และสารที่หลั่งออกมาภายนอกเซลล์ (extracellular) ซึ่งเป็นผลผลิตจากวิถีเมตาบอลิซึม (metabolic pathway) เพื่อให้เกิดความเข้าใจแบบองค์รวม (holistic approach) ของระบบชีวภาพนั้นๆ โดยเป็นผลมาจากการแสดงออกทางพันธุกรรมร่วมกับการปรับตัวเพื่อตอบสนองต่อสภาวะแวดล้อม [9] ในช่วงเริ่มต้น เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ได้รับการพัฒนาขึ้น เพื่อนำมาใช้ในงานวิจัยด้านวิทยาศาสตร์การแพทย์ เช่น การวิเคราะห์เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างเมตาโบโลมของของเหลวชีวภาพ (biological fluid) เช่น เลือด ปัสสาวะ น้ำลาย สารคัดหลั่ง ที่ได้จากผู้ป่วยกับลักษณะทางพยาธิวิทยาที่เกี่ยวข้อง [9] ในปัจจุบัน การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีดังกล่าวได้ขยายขอบเขตครอบคลุมไปยังศาสตร์สาขาอื่นๆ รวมทั้งการวิจัยด้านเกษตรศาสตร์ วิทยาศาสตร์การอาหารและโภชนาการ เป็นต้น [10]

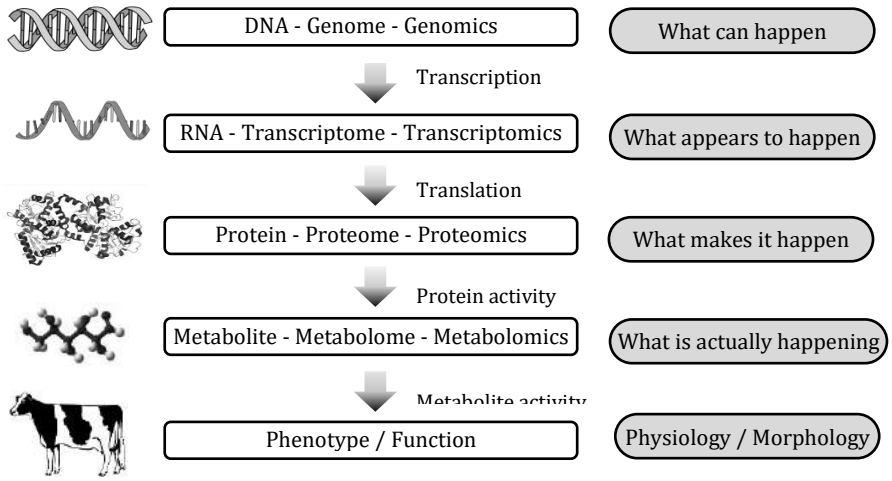

Figure 1 The "omics" cascade depicting an integrated comprehensive approach combining genomics, transcriptomics, proteomics and metabolomics. The flow of information starting from gene to phenotype. Information adapted from Xu et al. (2014) [43].

ความก้าวหน้าของเทคโนโลยีเคมีวิเคราะห์ในปัจจุบันช่วยให้สามารถวิเคราะห์จำแนกชนิด (identification) และตรวจหาปริมาณ (quantification) สารเมตาบอไลต์ที่เป็นองค์ประกอบในระบบชีวภาพได้เป็นจำนวนมาก โดยนักวิจัยสามารถเข้าถึงข้อมูลเหล่านั้นได้จากระบบฐานข้อมูลออนไลน์ เช่น ในฐานข้อมูล Human metabolome database (HMDB) version 3.6 (www.hmdb.ca) ได้แสดงรายละเอียดของสารเมตาบอไลต์ที่ตรวจพบในร่างกายมนุษย์ไว้ถึง 41,993 ชนิด และในฐานข้อมูล FooDB version 1.0 (www.foodb.ca) ได้แสดงรายละเอียดของสารเมตาบอไลต์ที่ตรวจพบในอาหาร และสารเมตาบอไลต์ที่ใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหารไว้ถึง 26,630 ชนิด [11] โดยเทคนิคทางเคมีวิเคราะห์ที่นิยมนำมาใช้ในการศึกษาทาง เมตาโบโลมิกส์ ได้แก่ นิวเคลียร์แมกเนติกเรโซแนนซ์สเปกโทรสโกปี (nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy) [12, 13] และ แมสสเปกโทรเมตรี (mass spectrometry: MS) ซึ่งนิยมใช้ร่วมกับเทคนิคการแยกสาร เช่น แก๊สโครมาโตรกราฟฟี/แมสสเปกโทรเมตรี (gas chromatography/ mass spectrometry: GC/ MS) หรือ ลิควิดโครมาโตกราฟฟี/แมสสเปกโทรเมตรี (liquid

* sarn.s@chula.ac.th
[1] ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร
[2] ศูนย์วิทยาศาสตร์โอมิกส์และชีวสารสนเทศ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร

chromatography/mass spectrometry: LC/MS) [14, 15] โดยเทคนิคเหล่านี้มีข้อดี คือ สามารถวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์แบบไม่จำเพาะเจาะจง (non-targeted analysis) จึงสามารถลดขั้นตอนและความยุ่งยากในการเตรียมตัวอย่าง และมีความละเอียดสูงจึงให้ข้อมูลครอบคลุมชนิดของสารที่เป็นองค์ประกอบจำนวนมาก (high-throughput data) ในรูปแบบของเมตาโบโลม หรือ metabolite fingerprint [16] ซึ่งต้องอาศัยการประมวลผลด้วยเทคนิคทางเคโมเมตริกซ์ [4, 7] เพื่อวิเคราะห์หารูปแบบความสัมพันธ์และเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลเมตาโบโลมระหว่างกลุ่มตัวอย่าง ด้วยวิธีการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร เช่น การวิเคราะห์องค์ประกอบหลัก (principal component analysis: PCA) หรือการวิเคราะห์แบบจัดกลุ่ม (cluster analysis) [17] (Figure 2) ปัจจุบันได้มีการบูรณาการข้อมูลเมตาโบโลมร่วมกับการสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ (mathematical modeling) และชีวสารสนเทศ (bioinformatics) จะทำให้สามารถเข้าใจกระบวนการเมตาบอลิซึมของสิ่งมีชีวิตหรือระบบชีวภาพภายใต้การเปลี่ยนแปลงในสภาวะใดสภาวะหนึ่ง และสามารถจำลองระบบพลวัต (dynamic) ดังกล่าวในคอมพิวเตอร์ (*in silico*) เพื่อประโยชน์ในการทำนายรูปแบบการเปลี่ยนแปลง (predictive modeling) ของวิถีเมตาบอลิซึม และการสลายตัวของสารเมตาบอไลต์ ที่จะเกิดขึ้นในสิ่งมีชีวิตหรือระบบชีวภาพดังกล่าว ควบคู่ไปกับการทดลองในห้องปฏิบัติการได้ [7, 18] ทั้งนี้ ผู้อ่านสามารถศึกษาข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับเทคโนโลยีเคมีวิเคราะห์และเทคนิคทางเคโมเมตริกซ์ ที่นำมาประยุกต์ใช้ในงานวิจัยด้านเมตาโบโลมิกส์ได้จากเอกสารอ้างอิงตามที่ระบุไว้ในเนื้อความข้างต้น

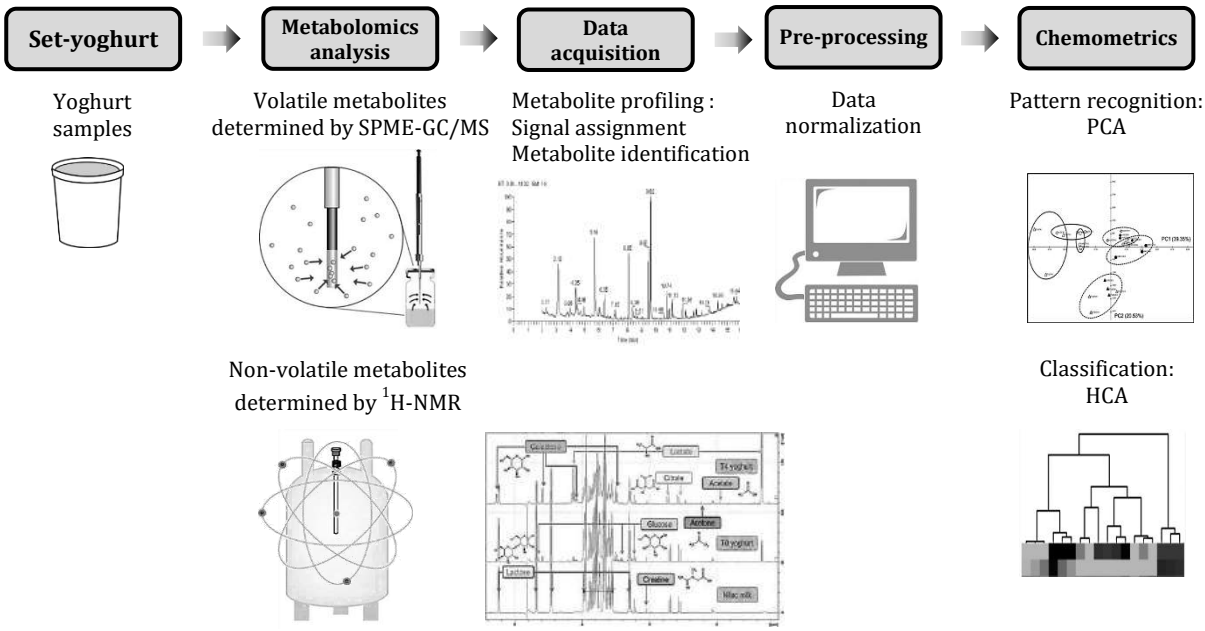

Figure 2 General workflow of the metabolomic-based analytical approach in the study of Settachaimongkon et al. (2014a, 2014b, 2015, 2016) [44-47].

การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ในงานวิจัยด้านเกษตรและอาหาร

ปัจจุบันได้มีการนำเทคโนโลยีโอมิกส์มาประยุกต์ใช้ในการวิจัยทางด้านการเกษตรและอาหาร ทำให้เกิดการพัฒนารูปแบบการวิเคราะห์องค์ประกอบทางชีวโมเลกุลของระบบอาหาร เพื่อให้ได้ข้อมูลในลักษณะแบบองค์รวมที่เรียกว่า foodomics [2] โดย Cifuentes (2013) ได้ให้คำจำกัดความของ foodomics ว่า

* sarn.s@chula.ac.th
[1] Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok
[2] Omics Sciences and Bioinformatics Center, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

หมายถึง การนำเทคโนโลยี จีโนมิกส์ ทรานสคริบโตมิกส์ โปรตีโอมิกส์ และเมตาโบโลมิกส์ มาประยุกต์ใช้ในการวิจัยด้านการเกษตร อาหาร และโภชนาการ เพื่อให้ได้ข้อมูลเชิงลึกที่เป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภค ทั้งในเชิงคุณภาพของวัตถุดิบ การเปลี่ยนแปลงในระหว่างกระบวนการแปรรูปและเก็บรักษาอาหาร สมบัติทางโภชนาการและการออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารอาหาร รวมทั้งระดับการปนเปื้อนของสารพิษและความปลอดภัยของอาหาร [19] นอกจากนี้ ผลจากการบูรณาการข้อมูลที่ได้ ยังก่อให้เกิดศาสตร์แขนงย่อยในกลุ่มวิทยาศาสตร์โอมิกส์ เช่น การศึกษาผลของสารอาหารต่อการแสดงออกของยีนและวิถีเมตาบอลิซึมของเซลล์ เรียกว่า โภชนพันธุศาสตร์ (Nutrigenomics: nutrient + gene + omics) [20] โดยเฉพาะการนำเทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์มาใช้ศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมีของวัตถุดิบทางการเกษตรและอาหาร (food metabolomics) แทนวิธีการวิเคราะห์แบบดั้งเดิม เพื่อให้เกิดความเข้าใจถึงข้อมูลเมตาโบโลมของวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์อาหาร ตลอดทั้งการตรวจติดตามการเปลี่ยนแปลงของข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลดังกล่าวในระหว่างกระบวนการผลิต การแปรรูป การเก็บรักษา [5, 21] โดยสามารถจำแนกงานวิจัยตามวัตถุประสงค์และการนำข้อมูลไปประยุกต์ใช้ได้เป็น (i) เพื่อระบุอัตลักษณ์ของอาหาร (food authentication) สัมพันธ์กับทำเลที่ตั้งทางภูมิศาสตร์ของแหล่งผลิต (geographic identity) และตรวจสอบแหล่งที่มาของส่วนผสม (traceability) [6, 22] (ii) เพื่อติดตามผลของกระบวนการแปรรูป เช่น การให้ความร้อน การทำแห้ง การหมัก การบรรจุ การเก็บรักษา ต่อการเปลี่ยนแปลงของข้อมูลเมตาโบโลม ซึ่งสัมพันธ์กับคุณค่าทางโภชนาการและคุณภาพทางประสาทสัมผัสของอาหาร [1, 5] (iii) เพื่อตรวจสอบการปลอมปน (adulteration) และการปนเปื้อน (contamination) ของสารพิษตกค้างทางการเกษตร ฮอร์โมน สารก่อภูมิแพ้ พืชหรือสัตว์ดัดแปลงพันธุกรรม วัตถุเจือปนอาหาร และจุลินทรีย์ก่อโรค (foodborne pathogen) ในอาหาร ซึ่งมีผลอย่างยิ่งต่อความปลอดภัยของผู้บริโภค [10, 14] และ (iv) เพื่อระบุหาสารที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ (biomarker) สัมพันธ์กับสมบัติด้านการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive property) และโภชนบำบัดของอาหาร (therapeutic property) [10, 23] (Figure 3) โดยผู้อ่านสามารถศึกษาข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ในงานวิจัยด้านเกษตรและอาหาร ได้จากเอกสารอ้างอิงตามที่ระบุไว้ในเนื้อความข้างต้น

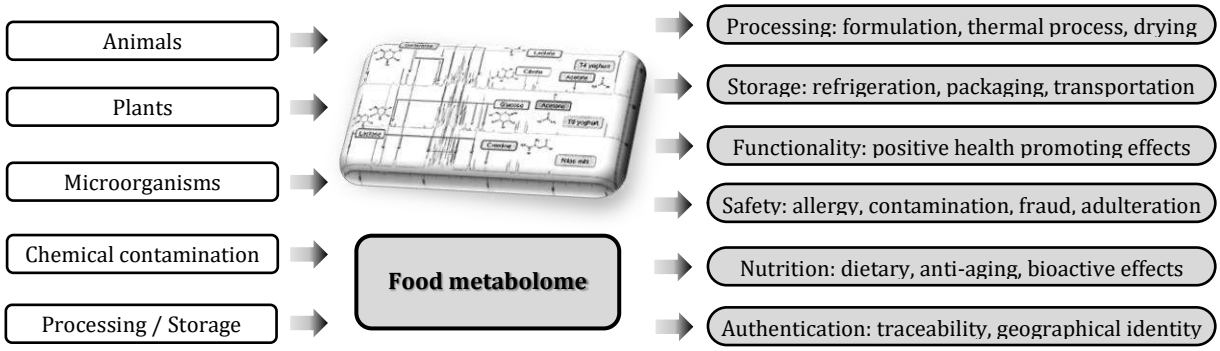

Figure 3. Sources of metabolites constituting in food products and information obtained through a metabolomics-based analytical approach. Information adapted from Trimigno et al. (2015) [12] and Johanningsmeier et al. (2016) [21].

* sarn.s@chula.ac.th
[1] ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร
[2] ศูนย์วิทยาศาสตร์โอมิกส์และชีวสารสนเทศ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร

การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ในการศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมีในน้ำนม

คุณภาพของน้ำนมดิบนั้นสามารถพิจารณาได้จากสมบัติทางกายภาพ องค์ประกอบทางชีวเคมี และสุขลักษณะทางจุลินทรีย์ของน้ำนม โดยองค์ประกอบดังกล่าวจะเป็นตัวกำหนดราคาที่ศูนย์รับน้ำนมใช้ประเมินเพื่อรับซื้อน้ำนมดิบจากเกษตรกร [24] หากพิจารณาเฉพาะองค์ประกอบทางชีวเคมี น้ำนมจัดเป็นของเหลวชีวภาพ (biological fluid) ที่มีองค์ประกอบค่อนข้างซับซ้อน ประกอบด้วยน้ำ (ร้อยละ 87.1) โปรตีน (ร้อยละ 3.3) ไขมันหรือมันเนย (ร้อยละ 4.0) น้ำตาลแลคโตส (ร้อยละ 4.6) แร่ธาตุ ร้อยละ (0.7) กรดอินทรีย์และสารประกอบอินทรีย์อื่นๆ (ร้อยละ 0.3) [24] และปริมาณองค์ประกอบหลักเหล่านี้ผันแปรโดยขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายประการ เช่น สายพันธุ์ อายุ ระยะการให้นม สุขภาวะของแม่โค ฤดูกาล อาหารสัตว์ และวิธีปฏิบัติในการจัดการฟาร์มโคนม [25] ซึ่งความก้าวหน้าของเทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ในปัจจุบันได้ช่วยให้สามารถวิเคราะห์จำแนกสารเมตาบอไลต์ที่เป็นองค์ประกอบย่อยในน้ำนม ทั้งชนิดที่ระเหยง่าย (volatile) และชนิดที่ระเหยยาก (non-volatile) ได้มากกว่า 200 ชนิด [26-28] โดยชนิดและปริมาณของสารเมตาบอไลต์เหล่านี้ผันแปรขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ดังที่กล่าวมาแล้วขั้นต้นเช่นกัน [29-33] ถึงแม้ว่าจะเป็นองค์ประกอบที่มีอยู่ในปริมาณเพียงเล็กน้อย แต่ก็มีความจำเป็นที่จะต้องศึกษา เพราะมีผลโดยตรงต่อองค์ประกอบทางชีวเคมีและคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำนมและผลิตภัณฑ์นม

Lu และคณะ (2015) ศึกษาผลของความแปรผันทางพันธุกรรม (genetic variation) ในยีน DGAT1 ซึ่งทำหน้าที่ควบคุมการสร้างเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ไตรกลีเซอไรด์ (triglyceride) จากไดกลีเซอไรด์ และ acyl-coenzyme A ต่อชนิด และปริมาณสารเมตาบอไลต์ในน้ำนมดิบ ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR โดยคณะผู้วิจัยพบว่า น้ำนมดิบที่ได้จากแม่โคพันธุ์โฮลส์ไตน์ที่มียีน DGAT1 ชนิด KK-genotype จะมีปริมาณ stomatin, sphingomyelin, choline และ carnitine สูงกว่าน้ำนมดิบที่ได้จากแม่โคที่มียีนดังกล่าวชนิด AA-genotype แต่จะมีปริมาณ citrate, creatine, phosphocreatine, mannose-like sugar, glycerol-phosphocholine, acetyl sugar phosphate, uridine diphosphate (UDP)-related sugar และ orotic acid ต่ำกว่า ซึ่งคณะผู้วิจัยอภิปรายว่า น่าจะมีสาเหตุมาจากความแตกต่างของชั้น stomatin-sphingomyelin lipid ที่โครงสร้างของเซลล์เยื่อบุผิวของต่อมน้ำนม (mammary epithelial cell) ในแม่โคที่มีลักษณะจีโนไทป์ของยีน DGAT1 แตกต่างกัน [29]

Yang และคณะ (2016) ศึกษาเปรียบเทียบข้อมูลเมตาโบโลมของน้ำนมดิบที่ได้จากสัตว์เคี้ยวเอื้อง (ruminants) ต่างชนิดและสายพันธุ์ ได้แก่ โคพันธุ์โฮลส์ไตน์ โคพันธุ์เจอร์ซี ควาย จามรี และแพะ และน้ำนมดิบที่ได้จากสัตว์ไม่เคี้ยวเอื้อง (non-ruminants) ได้แก่ ม้า และอูฐ ด้วยเทคนิค LC/MS และ ^{1}H-NMR โดยคณะผู้วิจัยพบว่า ปริมาณของ choline, capric acid, succinic acid และ citrate สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ เพื่อจำแนกน้ำนมที่ได้จากโคพันธุ์โฮลส์ไตน์ ออกจากน้ำนมที่ได้จากโคพันธุ์เจอร์ซี และสัตว์ชนิดอื่นในงานวิจัยนี้ได้ อีกทั้งปริมาณของ valine, capric acid, succinic acid, carnitine, 3-(uracil-1-yl)-L-alanine และ uridine สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ เพื่อจำแนกความแตกต่างระหว่างน้ำนมที่ได้จากโคพันธุ์โฮลส์ไตน์และน้ำนมที่ได้จากแพะ คณะผู้วิจัยยังพบว่า ปริมาณของ leucine, valine และ pyruvate ในน้ำนมที่ได้จากโคพันธุ์โฮลส์ไตน์มีค่าต่ำกว่าน้ำนมที่ได้จากสัตว์เคี้ยวเอื้องชนิดอื่น จากผลการวิเคราะห์วิถีเมตาบอลิซึม (metabolic pathway analysis) ด้วยโปรแกรม MetaboAnalyst 3.0 คณะผู้วิจัยอภิปราย

* sarn.s@chula.ac.th
[1] Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok
[2] Omics Sciences and Bioinformatics Center, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

ว่า leucine และ isoleucine เป็นสารเมตาบอไลต์ที่เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพต่อกระบวนการสังเคราะห์โปรตีนในเซลล์เยื่อบุผิวของต่อมน้ำนม ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในน้ำนมที่ได้จากโคพันธุ์โฮลส์ไตน์ ที่มีค่าต่ำกว่าน้ำนมที่ได้จากโคพันธุ์เจอร์ซี ควาย จามรี และแพะ นอกจากนี้ คณะผู้วิจัยยังพบข้อแตกต่างของปริมาณสารเมตาบอไลต์ที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์กรดไขมันไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid) ระหว่างน้ำนมที่ได้จากโคพันธุ์โฮลส์ไตน์และน้ำนมที่ได้จากสัตว์ไม่เคี้ยวเอื้อง กล่าวคือ ตรวจพบปริมาณของ alpha-linolenic acid และ linoleic acid ในระดับค่อนข้างสูงในน้ำนมที่ได้จากม้า และตรวจพบปริมาณของ oleic acid, clupanodonic acid, alpha-linolenic acid และ linoleic acid ในระดับค่อนข้างสูงในน้ำนมที่ได้จากอูฐ ซึ่งคณะผู้วิจัยอภิปรายว่า น่าจะเป็นผลมาจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ประจำถิ่น (microbiota) ในระบบกระเพาะหมัก (rumen) ซึ่งมีความแตกต่างกันระหว่างสัตว์เคี้ยวเอื้องและสัตว์ไม่เคี้ยวเอื้อง [32]

Antunes-Fernandes และคณะ (2016) ศึกษาความสัมพันธ์ของชนิดอาหารหยาบ ได้แก่ พืชอาหารหมัก จากหญ้า (grass silage) ข้าวโพด (corn silage) และของผสมหมักจากพืชทั้งสองชนิด ที่รวมอยู่ในสูตรอาหารผสมในสัดส่วน (อาหารหยาบ ร้อยละ 80: อาหารข้น ร้อยละ 20) ต่อลักษณะการปล่อยแก๊สมีเทน (methane emission) ของแม่โคพันธุ์โฮลส์ไตน์ และความผันแปรของปริมาณสารเมตาบอไลต์ชนิดที่ระเหยง่ายและระเหยยากในน้ำนมดิบ ด้วยเทคนิค GC/MS และ ^{1}H-NMR ตามลำดับ โดยคณะผู้วิจัยพบว่า สารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยง่าย ได้แก่ 1-heptanol-decanol, 3-nonanone, ethanol tetrahydrofuran มีค่าสหสัมพันธ์ (correlation) เชิงบวกต่อความเข้ม (intensity) ของปริมาณแก๊สมีเทนที่แม่โคปล่อยออกมา ส่วนสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยาก ได้แก่ acetoacetate, creatinine, ethanol, formate, methylmalonate และ *N*-acetylsugar A มีค่าสหสัมพันธ์เชิงบวก แต่ uridine diphosphate (UDP)-hexose B และ citrate มีค่าสหสัมพันธ์เชิงลบ ต่อความเข้มของปริมาณแก๊สมีเทนที่แม่โคปล่อยออกมา โดยคณะผู้วิจัยอภิปรายว่า UDP-hexose B เป็นสารมัธยันตร์ (intermediate) ในวิถีเมตาบอลิซึมของน้ำตาลแลคโตส และ citrate เป็นสารมัธยันตร์ในวัฏจักรเครบส์ (Krebs cycle) ซึ่งเป็นกระบวนการสร้างพลังงานให้กับเซลล์ นั่นคือ ค่าสหสัมพันธ์เชิงลบของปริมาณสารเมตาบอไลต์ทั้งสองชนิด สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพต่อการลดลงของอัตราเมตาบอลิซึม (metabolic activity) ของเซลล์ในต่อมน้ำนม นอกจากนี้ยังให้ผลกระทบต่อเนื่องกับปริมาณไขมันและโปรตีนที่ตรวจวัดได้ในน้ำนม (per unit of fat- and protein-corrected milk: FPCM) ด้วยเช่นกัน [30]

Tian และคณะ (2016) ศึกษาผลของความเครียดเนื่องจากความร้อน (heat stress) ในแม่โคพันธุ์โฮลส์ไตน์ ต่อความผันแปรของชนิด และปริมาณสารเมตาบอไลต์ในน้ำนมดิบ ด้วยเทคนิค LC/MS และ ^{1}H-NMR โดยคณะผู้วิจัยพบการเปลี่ยนแปลงอย่างมีนัยสำคัญของปริมาณสารเมตาบอไลต์ในน้ำนมถึง 53 ชนิด ในแม่โคที่มีภาวะความเครียดเนื่องจากความร้อน โดยสารเมตาบอไลต์ดังกล่าว เกี่ยวข้องกับวิถีเมตาบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโน ไขมัน และมีสารบางชนิดสังเคราะห์ขึ้นโดยกิจกรรมของจุลินทรีย์ในระบบกระเพาะหมักของแม่โค จากการประเมินผลการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร ร่วมกับการวิเคราะห์ปริมาณสารเมตาบอไลต์ในเลือดของแม่โค คณะผู้วิจัยเสนอว่า การเปลี่ยนแปลงของปริมาณ lactate, pyruvate, creatine, acetone, ß-hydroxybutyrate, trimethylamine, oleic acid, linoleic acid, lysophosphatidylcholine 16:0 และ phosphatidylcholine 42:2 ในน้ำนม สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพต่อภาวะความเครียดเนื่องจากความร้อนในแม่โคได้ [31]

* sarn.s@chula.ac.th

[1] ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร

[2] ศูนย์วิทยาศาสตร์โอมิกส์และชีวสารสนเทศ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร

Sundekilde และคณะ (2013) ศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณเซลล์โซมาติก (somatic cell count: SCC) ต่อความผันแปรของชนิดและปริมาณสารเมตาบอไลต์ในน้ำนมดิบ ที่ได้จากแม่โคพันธุ์โฮลส์ไตน์และพันธุ์เจอร์ซี ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR โดยเซลล์โซมาติกเป็นกลุ่มของเซลล์เม็ดเลือดขาวที่ร่างกายสร้างขึ้น เพื่อตอบสนองต่อการอักเสบจากการติดเชื้อแบคทีเรียในเต้านม จึงใช้การตรวจนับจำนวนเซลล์ดังกล่าว ในการประเมินสุขภาวะเบื้องต้นของโคที่เป็นโรคเต้านมอักเสบ (mastitis) [34] ซึ่งลักษณะทางพยาธิวิทยาเช่นนี้ ส่งผลกระทบต่อปริมาณโปรตีน ไขมัน และองค์ประกอบทางชีวเคมีอื่นๆ ในน้ำนม [34] โดยคณะผู้วิจัยพบว่า น้ำนมดิบที่ได้จากแม่โคที่ตรวจพบ SCC ในปริมาณสูง (มากกว่า 720,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร) จะมีปริมาณของ lactate, butyrate, isoleucine, acetate และ ß-hydroxybutyrate ในระดับสูงตามไปด้วย แต่จะมีปริมาณของ lactose, hippurate และ fumarate ลงลดต่ำกว่าในน้ำนมดิบที่ได้จากแม่โคที่ตรวจพบ SCC ในปริมาณต่ำ (ไม่เกิน 14,000 เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ซึ่งคณะผู้วิจัยอภิปรายว่า น่าจะเป็นผลจากภาวะการขาดสารอาหารและพลังงานที่เรียกว่า คีโตซิส (ketosis) ร่วมกับกิจกรรมของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของการติดเชื้อในเต้านม โดยเฉพาะ *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae* และ *Escherichia coli* และการสูญเสียหน้าที่ของเซลล์เยื่อบุผิวของต่อมน้ำนมที่ถูกทำลายโดยแบคทีเรียเหล่านั้น [33] นอกจากนี้ Hettinga และคณะ (2008) สามารถจำแนกชนิดของแบคทีเรียที่เป็นสาเหตุของโรคเต้านมอักเสบตามลักษณะข้อมูลแบบแผนสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยง่าย (volatile metabolite profile) ที่เชื้อแต่ละชนิดสร้างขึ้นในน้ำนม โดยใช้การวิเคราะห์ด้วยเทคนิค headspace GC/MS ร่วมกับการประมวลผลด้วยวิธี artificial neural network [35]

Boudonck และคณะ (2009) ศึกษาเปรียบเทียบข้อมูลเมตาโบโลมของน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมเกษตรอินทรีย์ (organic dairy farming) และฟาร์มโคนมที่มีระบบการจัดการฟาร์มแบบทั่วไป ด้วยเทคนิค LC/MS/MS และ GC/MS โดยคณะผู้วิจัยสามารถตรวจวิเคราะห์สารเมตาบอไลต์ในน้ำนมดิบได้ถึง 223 ชนิด ด้วยเทคโนโลยีดังกล่าว และพบสารที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ ได้แก่ tyrosine, isoleucine, mannose, glycerate, ribose, carnitine, butyrylcarnitine และ hippurate ซึ่งมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นในน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมเกษตรอินทรีย์ โดยเฉพาะ hippurate ซึ่งมีค่าสหสัมพันธ์เชิงบวกกับปริมาณใยอาหาร (dietary fiber) ที่มีอยู่ในปริมาณสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ในสูตรอาหารสัตว์ของฟาร์มโคนมเกษตรอินทรีย์ แต่กลับพบว่า ปริมาณของ proline, trans-4-hydroxyproline, glucose 1-phosphate, ribose 5-phosphate, glycerol 3-phosphate และ glycerol 2-phosphate มีค่าลดลงในน้ำนมที่ได้จากฟาร์มโคนมเกษตรอินทรีย์ ซึ่งเมตาบอไลต์ดังกล่าวเป็นสารที่ผลิตได้จากวิถีเพนโตสฟอสเฟต (pentose phosphate pathway) โดยคณะผู้วิจัยเสนอว่า น่าจะมีสาเหตุจากความแตกต่างในสูตรอาหารสัตว์ที่ใช้ในฟาร์มทั้งสองแบบ ซึ่งส่งผลกระทบโดยตรงต่อรูปแบบประชากรและกิจกรรมของจุลินทรีย์ประจำถิ่นในระบบกระเพาะหมักของแม่โค [26] นอกจากนี้ Erich และคณะ (2015) สามารถจำแนกข้อมูลเมตาโบโลมของน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมเกษตรอินทรีย์ ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR, ^{13}C-NMR และข้อมูลไอโซโทปเสถียร (stable isotope data) ออกจากน้ำนมดิบที่ได้จากฟาร์มโคนมแบบทั่วไปได้ [36]

ปัจจุบัน มีการนำเทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์มาประยุกต์ใช้ เพื่อศึกษาข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของน้ำนมมนุษย์หรือน้ำนมแม่ (human breast milk) ด้วยเช่นกัน โดย Marincola และคณะ รายงานผล

* sarn.s@chula.ac.th
[1] Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok
[2] Omics Sciences and Bioinformatics Center, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

การศึกษาเมตาโบโลมของน้ำนมแม่เป็นครั้งแรกในปี 2012 ด้วยเทคนิค GC/MS และ ^{1}H-NMR [37] Wu และคณะ (2016) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงข้อมูลเมตาโบโลมของน้ำนมแม่ในช่วงระยะการให้นม (lactation stage) ที่แตกต่างกัน ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR โดยคณะผู้วิจัยพบว่า ปริมาณของ lactose, choline, alanine, glutamate และ glutamine มีระดับเพิ่มสูงขึ้น แต่ว่าปริมาณของ glycerophosphocholine, citrate, phosphocholine และ N-acetyl glucosamine มีระดับลดลง ในช่วงท้ายของระยะการให้นม (31-87 วัน หลังคลอด) [38] Sundekilde และคณะ (2016) ได้ตีพิมพ์ผลงานวิจัยเกี่ยวกับการเปลี่ยนแปลงข้อมูลเมตาโบโลมของน้ำนมแม่ในช่วงระยะต่างๆ ของการให้นมด้วยเช่นกัน [39] Spevacek และคณะ (2015) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงข้อมูลเมตาโบโลมของน้ำนมแม่ ในช่วงระยะเดือนแรกหลังคลอด โดยเปรียบเทียบปริมาณสารเมตาบอไลต์ 69 ชนิด ในน้ำนมจากสตรีที่คลอดบุตรก่อนกำหนดและตามกำหนดเวลา ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR [40] Urbaniak และคณะ (2014) ศึกษาผลของการได้รับเคมีบำบัด (chemotherapy) ต่อการเปลี่ยนแปลงข้อมูลเมตาโบโลมของน้ำนมในสตรีที่ป่วยเป็นโรคมะเร็งต่อมน้ำเหลือง ด้วยเทคนิค GC/MS โดยคณะผู้วิจัยพบว่าการได้รับเคมีบำบัดส่งผลให้ปริมาณของ arabinose, threitol, decanoic acid, myristic acid, 1-monopalmitin และ butanal ในน้ำนมเพิ่มสูงขึ้น [41] Smilowitz และคณะ (2013) ศึกษาความผันแปรของชนิดและปริมาณสารเมตาบอไลต์ โดยเฉพาะกลุ่มโอลิโกแซ็กคาไรด์ ซึ่งเป็นสารที่มีปริมาณมากที่สุด เป็นอันดับ 3 ในน้ำนมแม่รองจากไขมันและแลคโตส โดยสาร เมตาบอไลต์กลุ่มดังกล่าว มีความสำคัญอย่างยิ่งทางโภชนาการของทารก เนื่องจากเป็นสารที่ทำให้เกิดภาวะสมดุล (modulation) ของจุลินทรีย์ประจำถิ่นในลำไส้ (gut microbiota) ซึ่งสามารถลดอุบัติการณ์และความรุนแรงของการติดเชื้อแบคทีเรียในระบบทางเดินอาหารของทารกได้ [42]

การประยุกต์ใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ในการศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมีในผลิตภัณฑ์นม

ปัจจุบัน มีการนำเทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์มาประยุกต์ใช้ เพื่อศึกษาข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของผลิตภัณฑ์นม เช่น นมพร้อมดื่ม นมผงสูตรดัดแปลงสำหรับทารก นมเปรี้ยว โยเกิร์ต เนยแข็ง โดยงานวิจัยส่วนใหญ่ มีวัตถุประสงค์เพื่อให้เกิดความเข้าใจถึงข้อมูลองค์ประกอบทางชีวเคมีแบบองค์รวมตลอดจนกลไกการเปลี่ยนแปลงของข้อมูลเมตาโบโลมในผลิตภัณฑ์ดังกล่าว ที่เป็นผลมาจากกระบวนการแปรรูป เช่น การให้ความร้อน การทำแห้ง หรือกิจกรรมของจุลินทรีย์กล้าเชื้อ (starter activity) ซึ่งมีบทบาทต่อการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในระหว่างกระบวนการหมัก (fermentation) การบ่ม (ripening) และช่วงอายุการเก็บ (shelf life) และส่งผลโดยตรงต่อสมบัติทางกายภาพ คุณค่าทางโภชนาการ สมบัติเชิงหน้าที่ และคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ [1, 43] เนื่องจากผู้เขียนหลักมีประสบการณ์ดำเนินงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการประยุกต์ใช้เทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของข้อมูลเมตาโบโลมในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต โดยเน้นศึกษาผลของปฏิสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์กล้าเชื้อ (starter interaction) [44] และการเปลี่ยนแปลงของชนิด และปริมาณสารเมตาบอไลต์เมื่อมีการเติมแบคทีเรียกลุ่มโพรไบโอติกส์ (probiotics) สายพันธุ์ต่างๆ เพื่อเป็นสารเสริมสมบัติเชิงหน้าที่ [45-47] จึงขอยกตัวอย่างงานวิจัยในผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมาอภิปรายไว้ ณ ที่นี้ด้วย

Settachaimongkon และคณะ (2014a) ศึกษาปฏิสัมพันธ์ระหว่างจุลินทรีย์กล้าเชื้อโยเกิร์ต โดยทดสอบผลของการได้รับประโยชน์ร่วมกัน (proto-cooperation) ระหว่าง *Lactobacillus delbrueckii* subsp. bulgaricus และ *Streptococcus thermophilus* สายพันธุ์ชนิดที่สร้างเอนไซม์โปรตีเอส (proteolytic strain) และไม่สร้างเอนไซม์โปรตีเอส (non-proteolytic

* sarn.s@chula.ac.th
[1] ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร
[2] ศูนย์วิทยาศาสตร์โอมิกส์และชีวสารสนเทศ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร

strain) ต่อการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในน้ำนมระหว่างกระบวนการหมัก โดยวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยง่าย 35 ชนิด และระเหยยาก 43 ชนิด ด้วยเทคนิค headspace GC/MS และ ^{1}H-NMR ตามลำดับ โดยคณะผู้วิจัยพบว่า ปฏิสัมพันธ์เชิงบวกระหว่าง *L. delbrueckii* subsp. bulgaricus และ *S. thermophilus* สายพันธุ์ชนิดที่ไม่สร้างเอนไซม์โปรตีเอส ส่งผลทำให้อัตราการเจริญของจุลินทรีย์ทั้งสองชนิด การสร้างกรดแลคติกในนม (milk acidification) การสร้างสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรสเฉพาะ (aroma volatile metabolite) ได้แก่ acetaldehyde, dimethyl sulfide, 2-butanone, diacetyl, 2,3-pentanedione, acetoin, 3-pentanol, 2-hydroxy-3-pentanone, acetic acid, butyric acid และ hexanoic acid รวมทั้งสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยยาก ได้แก่ lactate, pyruvate, formate, succinate และ free amino acids ซึ่งเป็นผลผลิตจากกระบวนการหมักกรดแลคติกและการย่อยสลายโปรตีน เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในระหว่างกระบวนการหมัก นอกจากนี้ ยังสามารถจำแนกความแตกต่างของข้อมูลเมตาโบโลมของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่ได้จากการหมักด้วยกล้าเชื้อต่างชนิดกัน ด้วยเทคนิคการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปรได้อย่างชัดเจน [44]

ผลงานวิจัยของ Settachaimongkon และคณะ (2014b) แสดงให้เห็นผลกระทบจากการเติมแบคทีเรียโพรไบโอติกส์ต่อการเปลี่ยนแปลงข้อมูลเมตาโบโลมของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต โดยคณะผู้วิจัยศึกษาผลจากการเติมแบคทีเรียโพรไบโอติกส์ สายพันธุ์ *Lactobacillus rhamnosus* GG และ *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB12 ร่วมกับจุลินทรีย์กล้าเชื้อโยเกิร์ต (*L. delbrueckii* subsp. bulgaricus และ *S. thermophilus*) ต่อการเปลี่ยนแปลงของชนิดและปริมาณสารเมตาบอไลต์ในผลิตภัณฑ์ ด้วยเทคนิค headspace GC/MS และ ^{1}H-NMR ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า การเติมแบคทีเรียโพรไบโอติกส์ทั้งสองสายพันธุ์ ไม่ส่งผลต่อการสร้างกรดและการสร้างสารเมตาบอไลท์ชนิดระเหยง่ายที่ให้กลิ่นรสหลัก ได้แก่ acetaldehyde, diacetyl, acetoin, 2,3-pentanedione, acetone, 2-butanone และ acetic acid ในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต อย่างไรก็ตาม กิจกรรมของแบคทีเรียโพรไบโอติกส์สายพันธุ์ *L. rhamnosus* GG มีผลต่อปริมาณของสารเมตาบอไลท์ชนิดระเหยยาก โดยเฉพาะทำให้สารในกลุ่ม organic acids และ free amino acids มีระดับเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ในช่วงการเก็บผลิตภัณฑ์ไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ นอกจากนี้ Settachaimongkon และคณะ (2015, 2016) ทดสอบเตรียมกล้าเชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกส์สายพันธุ์ *L. rhamnosus* GG, *B. animalis* subsp. *lactis* BB12 และ *Lactobacillus plantarum* WCFS1 ภายใต้สภาวะความเครียด ด้วยการควบคุมค่าความเข้มข้นของเกลือ (NaCl) และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่ระดับต่ำกว่าทำให้ตาย (sub-lethal stress) ในถังหมัก (fermenter) ก่อนนำมาเติมร่วมกับจุลินทรีย์กล้าเชื้อโยเกิร์ต โดยศึกษาผลต่อของสภาวะที่ใช้ในการเตรียมกล้าเชื้อดังกล่าว ต่ออัตราการมีชีวิตรอด (viability) และกิจกรรมของจุลินทรีย์ (microbial activity) ดังกล่าว ซึ่งจะมีผลโดยตรงต่อการเปลี่ยนแปลงข้อมูลเมตาโบโลมของผลิตภัณฑ์ โดยคณะผู้วิจัยพบว่า ปริมาณของ acetic acid, acetoin, 2-butanone, ethanol 1-methoxy-2-propanol, 2-methyl-1-butanol, 3-methyl-2-butenal, 3-methyl-butanoic acid, 2-methyl-propanoic acid และ sulfur compounds มีระดับเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งเป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพต่อการตอบสนองของแบคทีเรียโพรไบโอติกส์ภายใต้สภาวะความเครียด (adaptive stress response) ที่ใช้เตรียมกล้าเชื้อ ซึ่งคณะผู้วิจัยอภิปรายว่า การเพิ่มขึ้นของสารเมตาบอไลต์เหล่านี้ เกี่ยวข้องกับเมตาบอลึซึมของ pyruvate และ amino acids ซึ่งเป็นหนึ่งในกลไกการตอบสนองทาง

* sarn.s@chula.ac.th
[1] Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok
[2] Omics Sciences and Bioinformatics Center, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

สรีรวิทยาเพื่อรักษาสมดุลของเซลล์ (homeostasis) [48] นอกจากนี้ คณะผู้วิจัยสามารถแยกความแตกต่างของข้อมูลเมตาโบโลมของผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตที่หมักโดยใช้เชื้อแบคทีเรียโพรไบโอติกส์สายพันธุ์แตกต่างกันหรือสายพันธุ์เดียวกันที่ผ่านการเตรียมกล้าเชื้อด้วยสภาวะที่แตกต่างกัน รวมทั้งผลิตภัณฑ์ที่มีระยะอายุการเก็บแตกต่างกันได้ โดยใช้เทคนิคการวิเคราะห์ทางสถิติหลายตัวแปร [45-47]

นอกจากนี้ ยังมีการนำเทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์มาประยุกต์ใช้เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมีในผลิตภัณฑ์นมชนิดอื่น โดย Scano และคณะ (2016) ศึกษาเปรียบเทียบข้อมูลเมตาโบโลมระหว่างผลิตภัณฑ์นมสูตรดัดแปลงสำหรับทารก (infant formula milk) และน้ำนมแม่ ด้วยเทคนิค GC/MS ซึ่งคณะผู้วิจัยตรวจพบว่า ปริมาณของ malic acid, glucose, fructose, galactose, และ mannitol มีระดับสูงกว่าในนมสูตรดัดแปลงสำหรับทารก นอกจากนี้ สามารถใช้ orotic acid และ isomaltulose เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ โดยสามารถตรวจพบสารเมตาบอไลต์ดังกล่าว ได้เฉพาะในนมสูตรดัดแปลงสำหรับทารกที่นำมาศึกษาเท่านั้น [49] Pisano และคณะ (2016) ศึกษาเปรียบเทียบข้อมูลเมตาโบโลม ระหว่างผลิตภัณฑ์เนยแข็งมอสซาเรลลา (Mozzarella cheese) ที่ผลิตจากน้ำนมโคและน้ำนมควาย ด้วยเทคนิค GC/MS โดยคณะผู้วิจัยพบว่า threonine, serine, valine, orotic acid และ urea สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ชีวภาพสำหรับเนยแข็งมอสซาเรลลาที่ผลิตจากน้ำนมควายได้ [50] Pogacic และคณะ (2016) รายงานผลการใช้จุลินทรีย์กล้าเชื้อในกลุ่ม *Lactobacillus* spp. และ *Leuconostoc* spp. 18 สายพันธุ์ ต่อลักษณะข้อมูลแผนแบบสารเมตาบอไลต์ชนิดระเหยง่ายที่มีผลต่อกลิ่นรสเฉพาะในระหว่างกระบวนการบ่มเนยแข็งเป็นระยะเวลานาน 5 สัปดาห์ ด้วยเทคนิค GC/MS โดยคณะผู้วิจัย พบว่า *L. rhamnosus* และ *L. paracasei* มีบทบาทในการสร้างสารให้กลิ่นรสชนิด diacetyl, acetoin, acids และ esters ส่วน *Leuconostocs* spp. มีบทบาทในการสร้างสารให้กลิ่นรสในกลุ่มของ alcohols และ esters โดยปริมาณของ diacetyl, 2-butanol, ethyl acetate, 3-methylbutanol, 3-methylbutanoic acid และ 2-methylbutanoic acid มีค่าความผันแปรในช่วงกว้างมากที่สุด สำหรับกลุ่มจุลินทรีย์กล้าเชื้อที่นำมาใช้ในการศึกษา [51] Consonni และ Cagliani (2008) ศึกษาเปรียบเทียบข้อมูลเมตาโบโลมของผลิตภัณฑ์เนยแข็งพาร์มีซาน (Parmesan cheese) ที่มีระยะเวลาการบ่มแตกต่างกัน และเปรียบเทียบข้อมูลเมตาโบโลมของผลิตภัณฑ์เนยแข็งดังกล่าวกับเนยแข็งที่ผลิตจากเขตพื้นที่อื่น (geographical discrimination) โดยการวิเคราะห์ปริมาณสารเมตาบอไลต์ 29 ชนิด ด้วยเทคนิค ^{1}H-NMR คณะผู้วิจัยพบว่า สามารถใช้ปริมาณของ leucine, isoleucine, lactate, butanoate และ acetate เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ เพื่อระบุตัวอย่างเนยแข็งพาร์มีซานที่มีระยะอายุการบ่มสั้นแค่ 14 เดือน และจะตรวจพบ threonine ในปริมาณสูงในเนยแข็งดังกล่าว ที่มีระยะอายุการบ่มนาน 30 เดือน นอกจากนี้ สามารถใช้ปริมาณของ threonine, valine, proline, glutamate, lysine, alanine, serine, arginine และ citrulline เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพเพื่อจำแนกเนยแข็ง พาร์มีซานที่ผลิตในประเทศอิตาลีออกจากผลิตภัณฑ์เนยแข็งชนิดอื่นๆ ที่ผลิตในกลุ่มประเทศยุโรปตะวันออกได้ [52]

บทสรุป

การนำเทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์มาใช้ศึกษาองค์ประกอบทางชีวเคมีของอาหารแทนวิธีการวิเคราะห์แบบดั้งเดิม มีวัตถุประสงค์เพื่อรวบรวมข้อมูลในรูปแบบการวิเคราะห์สารเมตาโบไลต์โดยรวม หรือเมตาโบโลมซึ่งเปรียบเสมือนลายพิมพ์ระดับโมเลกุลของตัวอย่างนั้น โดยความก้าวหน้าของเทคโนโลยีดังกล่าว ช่วยให้สามารถวิเคราะห์จำแนกสารเมตาบอไลต์ที่เป็น

* sarn.s@chula.ac.th
[1] ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร
[2] ศูนย์วิทยาศาสตร์โอมิกส์และชีวสารสนเทศ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร

องค์ประกอบย่อยในน้ำนมได้มากกว่า 200 ชนิด ซึ่งรูปแบบชนิดและปริมาณของสารเมตาบอไลต์เหล่านี้ มีความผันแปรขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ อายุ ระยะการให้นม สุขภาวะของแม่โค ฤดูกาล อาหารสัตว์ และวิธีปฏิบัติในการจัดการฟาร์มโคนม โดยข้อมูลที่ได้ช่วยพัฒนาองค์ความรู้ใหม่เพื่อให้เกิดความเข้าใจถึงข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลของน้ำนมดิบ และกลไกการเปลี่ยนแปลงของสารเมตาบอไลต์เหล่านั้นในระหว่างกระบวนการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์นม เช่น การให้ความร้อน การทำแห้ง การหมัก การบรรจุ การเก็บรักษา ซึ่งเกี่ยวข้องกับสมบัติเชิงหน้าที่และคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ อีกทั้งสามารถประยุกต์ใช้ข้อมูลดังกล่าว ร่วมกับการประเมินผลด้วยเทคนิคทางเคโมเมตริกซ์ เพื่อระบุหาสารเมตาบอไลต์ที่สามารถใช้เป็นตัวบ่งชี้ทางชีวภาพ สำหรับใช้ระบุอัตลักษณ์หรือตรวจสอบแหล่งที่มาของวัตถุดิบและส่วนผสม สัมพันธ์กับทำเลที่ตั้งทางภูมิศาสตร์ของแหล่งผลิตในเขตพื้นที่เฉพาะหรือกระบวนการแปรรูปเฉพาะ ซึ่งในอนาคต ข้อมูลแบบแผนทางชีวโมเลกุลที่ได้จากเทคโนโลยีเมตาโบโลมิกส์จะเป็นพื้นฐานสำคัญ เพื่อใช้ในการศึกษาออกแบบและพัฒนาผลิตภัณฑ์นมให้มีทั้งสมบัติเชิงหน้าที่และคุณภาพทางประสาทสัมผัสตามที่ต้องการ รวมถึงสามารถพัฒนาให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่เหมาะสมต่อผู้บริโภคเฉพาะกลุ่มตามความต้องการทางโภชนาการที่แตกต่างกันได้

เอกสารอ้างอิง

[1] Mozzi, F., Ortiz, M.E., Bleckwedel, J., De Vuyst, L. and Pescuma, M. (2013). Metabolomics as a tool for the comprehensive understanding of fermented and functional foods with lactic acid bacteria. Food Research International. 54(1): 1152-1161.

[2] Ibáñez, E. and Cifuentes, A. (2014). Foodomics: food science and nutrition in the postgenomic era. Comprehensive Analytical Chemistry. 64: 395-440.

[3] Wishart, D.S. (2008). Metabolomics: applications to food science and nutrition research. Trends in Food Science & Technology. 19(9): 482-493.

[4] Skov, T., Honoré, A.H., Jensen, H.M., Næs, T. and Engelsen, S.B. (2014). Chemometrics in foodomics: handling data structures from multiple analytical platforms. TrAC-Trends in Analytical Chemistry. 60: 71-79.

[5] Capozzi, F. and Trimigno, A., (2015). Using metabolomics to describe food in detail. pp. 204-229. In L. Brennan and J.L. Sebedio (eds.). Metabolomics as a tool in nutrition research. Woodhead Publishing.

[6] Cubero-Leon, E., Peñalver, R. and Maquet, A. (2014). Review on metabolomics for food authentication. Food Research International. 60: 95-107.

[7] Ren, S., Hinzman, A.A., Kang, E.L., Szczesniak, R.D. and Lu, L.J. (2015). Computational and statistical analysis of metabolomics data. Metabolomics. 11(6): 1492-1513.

[8] Cevallos-Cevallos, J.M., Reyes-De-Corcuera, J.I., Etxeberria, E., Danyluk, M.D. and Rodrick, G.E. (2009). Metabolomic analysis in food science: a review. Trends in Food Science & Technology. 20(11-12): 557-566.

* sarn.s@chula.ac.th

[1] Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

[2] Omics Sciences and Bioinformatics Center, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

[9] Nicholson, J.K. and Lindon, J.C. (2008). Systems biology: metabonomics. Nature. 455(7216): 1054-1056.

[10] Kim, S., Kim, J., Yun, E.J. and Kim, K.H. (2016). Food metabolomics: from farm to human. Current Opinion in Biotechnology. 37: 16-23.

[11] Wishart, D.S., Jewison, T., Guo, A.C., Wilson, M., Knox, C., Liu, Y. et al. (2013). HMDB 3.0: The human metabolome database in 2013. Nucleic Acids Research. 41(D1): D801-D807.

[12] Trimigno, A., Marincola, F.C., Dellarosa, N., Picone, G. and Laghi, L. (2015). Definition of food quality by NMR-based foodomics. Current Opinion in Food Science. 4: 99-104.

[13] Laghi, L., Picone, G., and Capozzi, F. (2014). Nuclear magnetic resonance for foodomics beyond food analysis. TrAC Trends in Analytical Chemistry. 59(0): 93-102.

[14] Castro-Puyana, M. and Herrero, M. (2013). Metabolomics approaches based on mass spectrometry for food safety, quality and traceability. TrAC-Trends in Analytical Chemistry. 52: 74-87.

[15] Herrero, M., Simo, C., Garcia-Canas, V., Ibanez, E. and Cifuentes, A. (2012). Foodomics: MS-based strategies in modern food science and nutrition. Mass Spectrometry Reviews. 31(1): 49-69.

[16] Cuadros-Rodríguez, L., Ruiz-Samblás, C., Valverde-Som, L., Pérez-Castaño, E. and González-Casado, A. (2016). Chromatographic fingerprinting: an innovative approach for food identitation and food authentication - a tutorial. Analytica Chimica Acta. 909: 9-23.

[17] Ebbels, T.M.D. and De Iorio, M. (2011). Statistical data analysis in metabolomics. pp. 163-180. In M. Stumpf, D.J. Balding and M. Girolami (eds.). Handbook of statistical systems biology. John Wiley & Sons, Ltd. West Sussex.

[18] Yi, L., Dong, N., Yun, Y., Deng, B., Ren, D., Liu, S. and Liang, Y. (2016). Chemometric methods in data processing of mass spectrometry-based metabolomics: a review. Analytica Chimica Acta. 914: 17-34.

[19] Cifuentes, A., (2013). Foodomics: principles and applications. pp. 1-13. In A. Cifuentes (ed.). Foodomics: advanced mass spectrometry in modern food science and nutrition. John Wiley & Sons. New Jersey.

[20] Sales, N.M.R., Pelegrini, P.B. and Goersch, M.C. (2014). Nutrigenomics: definitions and advances of this new science. Journal of Nutrition and Metabolism. 2014.

[21] Johanningsmeier, S.D., Harris, G.K., and Klevorn, C.M. (2016). Metabolomic technologies for improving the quality

* sarn.s@chula.ac.th

[1] ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร

[2] ศูนย์วิทยาศาสตร์โอมิกส์และชีวสารสนเทศ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร

of food: practice and promise. Annual Review of Food Science and Technology. 7: 413-438.

[22] Danezis, G.P., Tsagkaris, A.S., Brusic, V. and Georgiou, C.A. (2016). Food authentication: state of the art and prospects. Current Opinion in Food Science. 10: 22-31.

[23] Odriozola, L. and Corrales, F.J. (2015). Discovery of nutritional biomarkers: future directions based on omics technologies. International Journal of Food Sciences and Nutrition. 66: S31-S40.

[24] Walstra, P., Wouters, J.T.M. and Geurts, T.J., (2006). Dairy science and technology. 2nd ed. CRC/Taylor & Francis. New York.

[25] Mehta, B.M. (2015). Chemical composition of milk and milk products. pp. 511-553. In P.C.K. Cheung and B.M. Mehta (eds.). Handbook of food chemistry. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

[26] Boudonck, K., Mitchell, M., Wulff, J. and Ryals, J. (2009). Characterization of the biochemical variability of bovine milk using metabolomics. Metabolomics. 5(4): 375-386.

[27] Klein, M.S., Almstetter, M.F., Schlamberger, G., Nürnberger, N., Dettmer, K., Oefner, P.J. et al. (2010). Nuclear magnetic resonance and mass spectrometry-based milk metabolomics in dairy cows during early and late lactation. Journal of Dairy Science. 93(4): 1539-1550.

[28] Sundekilde, U.K., Larsen, L.B. and Bertram, H.C. (2013). NMR-based milk metabolomics. Metabolites. 3(2): 204-222.

[29] Lu, J., Boeren, S., van Hooijdonk, T., Vervoort, J. and Hettinga, K. (2015). Effect of the DGAT1 K232A genotype of dairy cows on the milk metabolome and proteome. Journal of Dairy Science. 98(5): 3460-3469.

[30] Antunes-Fernandes, E.C., van Gastelen, S., Dijkstra, J., Hettinga, K.A. and Vervoort, J. (2016). Milk metabolome relates enteric methane emission to milk synthesis and energy metabolism pathways. Journal of Dairy Science. 99(8): 6251-6262.

[31] Tian, H., Zheng, N., Wang, W., Cheng, J., Li, S., Zhang, Y. and Wang, J. (2016). Integrated metabolomics study of the milk of heat-stressed lactating dairy cows. Scientific Reports. 6: article no. 24208.

[32] Yang, Y., Zheng, N., Zhao, X., Zhang, Y., Han, R., Yang, J. et al. (2016). Metabolomic biomarkers identify differences in milk produced by Holstein cows and other minor dairy animals. Journal of Proteomics. 136: 174-182.

* sarn.s@chula.ac.th

[1] Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

[2] Omics Sciences and Bioinformatics Center, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

[33] Sundekilde, U.K., Poulsen, N.A., Larsen, L.B. and Bertram, H.C. (2013). Nuclear magnetic resonance metabonomics reveals strong association between milk metabolites and somatic cell count in bovine milk. Journal of Dairy Science. 96(1): 290-299.

[34] Maréchal, C.L., Thiéry, R., Vautor, E. and Loir, Y.L. (2011). Mastitis impact on technological properties of milk and quality of milk products-a review. Dairy Science and Technology. 91(3): 247-282.

[35] Hettinga, K.A., van Valenberg, H.J.F., Lam, T.J.G.M. and van Hooijdonk, A.C.M. (2008). Detection of mastitis pathogens by analysis of volatile bacterial metabolites. Journal of Dairy Science. 91(10): 3834-3839.

[36] Erich, S., Schill, S., Annweiler, E., Waiblinger, H.U., Kuballa, T., Lachenmeier, D.W. and Monakhova, Y.B. (2015). Combined chemometric analysis of 1H NMR, 13C NMR and stable isotope data to differentiate organic and conventional milk. Food Chemistry. 188: 1-7.

[37] Marincola, F.C., Noto, A., Caboni, P., Reali, A., Barberini, L., Lussu, M. et al. (2012). A metabolomic study of preterm human and formula milk by high resolution NMR and GC/MS analysis: preliminary results. Journal of Maternal-Fetal and Neonatal Medicine. 25(SUPPL. 5): 62-67.

[38] Wu, J., Domellöf, M., Zivkovic, A.M., Larsson, G., Öhman, A. and Nording, M.L. (2016). NMR-based metabolite profiling of human milk: a pilot study of methods for investigating compositional changes during lactation. Biochemical and Biophysical Research Communications. 469(3): 626-632.

[39] Sundekilde, U.K., Downey, E., O'Mahony, J.A., O'Shea, C.A., Ryan, C.A., Kelly, A.L. and Bertram, H.C. (2016). The effect of gestational and lactational age on the human milk metabolome. Nutrients. 8(5).

[40] Spevacek, A.R., Smilowitz, J.T., Chin, E.L., Underwood, M.A., German, J.B. and Slupsky, C.M. (2015). Infant maturity at birth reveals minor differences in the maternal milk metabolome in the first month of lactation. Journal of Nutrition. 145(8): 1698-1708.

[41] Urbaniak, C., McMillan, A., Angelini, M., Gloor, G.B., Sumarah, M., Burton, J.P. and Reid, G. (2014). Effect of chemotherapy on the microbiota and metabolome of human milk, a case report. Microbiome. 2(1).

[42] Smilowitz, J.T., O'Sullivan, A., Barile, D., German, J.B., Lönnerdal, B. and Slupsky, C.M. (2013). The human milk metabolome reveals diverse

* sarn.s@chula.ac.th

[1] ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร

[2] ศูนย์วิทยาศาสตร์โอมิกส์และชีวสารสนเทศ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร

oligosaccharide profiles. Journal of Nutrition. 143(11): 1709-1718.

[43] Xu, Y.J., Wang, C., Ho, W.E. and Ong, C.N. (2014). Recent developments and applications of metabolomics in microbiological investigations. TrAC-Trends in Analytical Chemistry. 56: 37-48.

[44] Settachaimongkon, S., Nout, M.J.R., Antunes Fernandes, E.C., Hettinga, K.A., Vervoort, J.M., van Hooijdonk, T.C.M. et al. (2014). Influence of different proteolytic strains of *Streptococcus thermophilus* in co-culture with *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* on the metabolite profile of set-yoghurt. International Journal of Food Microbiology. 177: 29-36.

[45] Settachaimongkon, S., Nout, M.J.R., Antunes Fernandes, E.C., van Hooijdonk, A.C.M., Zwietering, M.H., Smid, E.J. and van Valenberg, H.J.F. (2014). The impact of selected strains of probiotic bacteria on metabolite formation in set-yoghurt. International Dairy Journal. 38(1): 1-10.

[46] Settachaimongkon, S., van Valenberg, H.J.F., Gazi, I., Nout, M.J.R., van Hooijdonk, T.C.M., Zwietering, M.H. and Smid, E.J. (2016). Influence of *Lactobacillus plantarum* WCFS1 on post-acidification, metabolite formation and survival of starter bacteria in set-yoghurt. Food Microbiology. 59: 14-22.

[47] Settachaimongkon, S., van Valenberg, H.J.F., Winata, V., Wang, X., Nout, M.J.R., van Hooijdonk, T.C.M. et al. (2015). Effect of sublethal preculturing on the survival of probiotics and metabolite formation in set-yoghurt. Food Microbiology. 49: 104-115.

[48] Van de Guchte, M., Serror, P., Chervaux, C., Smokvina, T., Ehrlich, S. and Maguin, E. (2002). Stress responses in lactic acid bacteria. Antonie van Leeuwenhoek. 82(1): 187-216.

[49] Scano, P., Murgia, A., Demuru, M., Consonni, R. and Caboni, P. (2016). Metabolite profiles of formula milk compared to breast milk. Food Research International. 87: 76-82.

[50] Pisano, M.B., Scano, P., Murgia, A., Cosentino, S. and Caboni, P. (2016). Metabolomics and microbiological profile of Italian mozzarella cheese produced with buffalo and cow milk. Food Chemistry. 192: 618-624.

[51] Pogacic, T., Maillard, M.B., Leclerc, A., Hervé, C., Chuat, V., Valence, F. and Thierry, A. (2016). *Lactobacillus* and *Leuconostoc* volatilomes in cheese conditions. Applied Microbiology and Biotechnology. 100(5): 2335-2346.

[52] Consonni, R. and Cagliani, L.R. (2008). Ripening and geographical characterization of Parmigiano Reggiano cheese by 1H-NMR spectroscopy. Talanta. 76(1): 200-205.

* sarn.s@chula.ac.th

[1] Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok

[2] Omics Sciences and Bioinformatics Center, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Bangkok