

นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12
LACTIC SOYDRINK FROM VITAMIN B₁₂ ENRICHED SOYMILK



นางสาววิศชนม์ นิลนนท์
MISS WARITCHON NILANON

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร
บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2539
ISBN 974-621-663-5
ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เลขหมู่.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดก็ตาม และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เลขทะเบียน..... 27257
วัน, เดือน, ปี 18 ส.ค. 2540

LACTIC SOYDRINK FROM VITAMIN B₁₂ ENRICHED SOYMILK



THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF REQUIREMENTS FOR THE DEGREE
MASTER OF SCIENCE PROGRAM IN FOOD SCIENCE
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

1996

ISBN 974-621-663-5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนํ้านมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12
นักศึกษา	นางสาววิศชนม์ นิลนนท์
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	รศ.ดร.วราวุฒิ ครูสง
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม	ผศ.ดร.รุ่งนภา วิสิษฐอุดการ
ระดับการศึกษา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต
ภาควิชา	สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร อุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ.	2539

บทคัดย่อ

นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนํ้านมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำ High vitamin B12- tempe (HVT) ที่เตรียมได้ในภาวะที่เหมาะสมมาใช้ในการเตรียมนมเปรี้ยวพร้อมดื่มเพื่อเพิ่มปริมาณวิตามินบี12 ให้กับผลิตภัณฑ์ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการเตรียม HVT ในระดับขยายส่วน บัจจัยในการเตรียมนํ้านมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 และการผลิตนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนํ้านมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 รวมทั้งศึกษาถึงคุณค่าทางอาหารของนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนํ้านมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12

บัจจัยในการผลิต HVT ในระดับขยายส่วน (ระดับ 2-3 กิโลกรัมต่อถาด) ถั่วเหลืองที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรดแลคติก(ความเข้มข้นร้อยละ 80-) ในปริมาณร้อยละ 1 ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ล้างและแยกเปลือกออกก่อนนำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จนกระทั่งผิวหน้าของถั่วเหลืองแห้ง พบว่าความหนาของชั้นถั่วเหลือง 2 เซนติเมตร ปรับความชื้นของถั่วเหลืองร้อยละ 55 และปริมาณโคบอลท์ความเข้มข้น 3 ppm หมักด้วยหัวเชื้อรา *Rhizopus oligosporus* และหัวเชื้อแบคทีเรีย *Propionibacterium shermanii* ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ให้ปริมาณของวิตามินบี12 สูงสุดเท่ากับ 288.67 ng/100 g

ปัจจัยในการเตรียมนํ้านมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 พบว่าอัตราส่วนของ HVT ต่อนํ้าร้อนเท่ากับ 1 : 8 และใช้นํ้าร้อนที่มีอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ในการตีปั่นเป็นเวลา 3 นาที ให้สภาพนํ้านมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่ดีที่สุดเนื่องจากมีปริมาณของแข็งทั้งหมด ลักษณะของนํ้านม และการแยกตัวของอนุภาคที่ดี รวมทั้งมีกลิ่นถั่วหมักเกิดขึ้นน้อย

การผลิตกรดในนมเปรี้ยวจากนํ้านมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 พบว่าการใช้หางนมผงร้อยละ 9 และปริมาณนํ้าตาลซูโครสร้อยละ 5 หลังจากถ่ายหัวเชื้อแบคทีเรียแลคติกคัส (*Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus*) ปริมาณร้อยละ 5 ป่มที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 22 ชั่วโมง ให้ปริมาณของกรดสูงสุด โดยระยะเวลาการหมักที่ 16 ชั่วโมง มีค่าความเป็นกรดเท่ากับร้อยละ 1.27 และลักษณะของตะกอนที่แข็งแรงเหมาะสมที่สุดสำหรับการเตรียมนมเปรี้ยวพร้อมดื่ม ดังนั้นจึงเลือกใช้ระยะเวลาที่ 16 ชั่วโมง ในการหมักนมเปรี้ยวจากนํ้านมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 เพื่อนำไปใช้ในการผลิตเป็นนมเปรี้ยวพร้อมดื่มต่อไป

อัตราส่วนของนมเปรี้ยวจากนํ้านมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ต่อปริมาณนํ้าเชื่อม (ความหวาน 28 องศาบริกซ์) ที่เหมาะสมในการเตรียมนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนํ้านมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 โดยอาศัยค่าความเป็นกรดและการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่าผู้บริโภคให้การยอมรับอัตราส่วนของนมเปรี้ยวต่อนํ้าเชื่อมที่อัตราส่วน 50:50 ในด้านรสชาติและการยอมรับรวมอย่างมีนัยสำคัญ

การใช้สารคงตัวที่เหมาะสม ในการเตรียมนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนํ้านมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ด้วยเจลาติน คาราจีแนน และแซนแทนกัม พบว่าการใช้เจลาตินเข้มข้นร้อยละ 0.5 ให้ผลต่อการแยกตัวของตะกอนน้อยที่สุดและให้ความหนืดของนํ้านมที่ดีที่สุด

การยอมรับของผู้บริโภคทางประสาทสัมผัสที่มีต่อผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนํ้านมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 พบว่าผู้บริโภคให้การยอมรับนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่ปรุงแต่งกลิ่นรสสตรอเบอร์รี่มากที่สุดโดยเฉพาะในด้านกลิ่นอย่างมีนัยสำคัญ

จากการวิเคราะห์ทางเคมีของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนํ้านมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ปรุงแต่งกลิ่นรสสตรอเบอร์รี่ พบว่ามีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 22.52 ไขมันร้อยละ 0.41 โปรตีนร้อยละ 2.18 ปริมาณแอลฟา-อะมิโนไนโตรเจน 0.12 g/ L และปริมาณ

II

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิตามินบี12 16.78 ng/100g อีกทั้งยังมีคุณค่าทางโภชนาการที่สูงกว่านมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมวัวในทางการค้า โดยเฉพาะอย่างยิ่งปริมาณของวิตามินบี12

ดังนั้นผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 จัดเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ที่น่าสนใจ การยอมรับในผลิตภัณฑ์อยู่ในระดับพอใช้ และเนื่องจากมีคุณค่าโภชนาการที่สูงจึงเหมาะสมอย่างยิ่งที่จะมีการแนะนำให้กับผู้บริโภค และพัฒนาการผลิตผลิตภัณฑ์ในขั้นต่อไป



Thesis Title	Lactic Soydrink from Vitamin B ₁₂ Enriched Soymilk
Student	Miss Waritchon Nilanon
Thesis Advisor	Assoc.Prof. Dr.Warawut Krusong
Thesis Co-advisor	Assist.Prof. Dr.Rungnaphar Wisitudonkan
Level of Study	Master of Science Program in Food Science
Department	Agro-Industry Department, Faculty of Agricultural Technology King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang
Year	1996

ABSTRACT

The HVT lactic soydrink was prepared from the optimum conditions of high vitamin B₁₂ - tempe (HVT) for the highest vitamin B₁₂ enriched lactic soydrink product. This study was conducted to scale up high vitamin B₁₂ tempe (HVT) production , and to determine the factors affecting HVT soydrink , HVT lactic soydrink preparations. The nutritive value of HVT lactic soydrink was investigated.

Before fermentation , soybean was pretreated by soaking in acidified water (1% of 80% lactic acid) at 70°C for 2 hours, dehulling and dried at 80°C until it was superficially dry. The optimum conditions for scaling up HVT consisted of 2 cm. thickness of pretreated soybean layer, 55 % moisture content of pretreated soybean , and 3 ppm cobalt sulphate supplementation. After inoculation with *Rhizopus oligosporus* and *Propionibacterium shermanii* starters, and incubating at 35°C for 24 hours, the highest concentration of vitamin B₁₂ was obtained.

The HVT soymilk preparation, HVT to hot water was 1:8 when it was blended in 80°C hot water for 3 minutes. High solid content, homogeneous characteristic, and less fermented beany odor were observed.

HVT lactic soydrink was prepared by using 9 % skim milk , 5 % sucrose and 5 % mixed starter (*Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*). The highest acid concentration 1.27 % was found after incubating at 43°C for 24 hours. However, 16 hours of fermentation time was acceptable for acid and curd characteristic of HVT lactic soydrink preparation.

Lactic soydrink prepared by using sucrose syrup (28 degree Brix) at ratio of 50:50 (w/v) showed a highly significant difference from the other ratios. Among gelatin, carragenan and xanthan gum the 0.5 % gelatin showed the more stability of curd.

Sensory evaluation of lactic soydrink products with flavor supplementation were tested. The strawberry flavor supplemented product was highly significant accepted from the others.

The nutritional quality of HVT lactic soydrink consisting of 22.52% solid content, 0.41% ash, 2.18% protein, 0.12 g/ L α - amino nitrogen and 16.78 ng/100g vitamin B12 were analyzed. These nutritional values were more condensed than commercial drinking yogurt . The benefit of HVT lactic soydrink was a high nutritive value , especially vitamin B12 , when compared with commercial drinking yogurt.

The lactic soydrink from vitamin B12 - enriched soymilk gave the best quality with high nutritive value, to be appropriate disseminated to consumers. These findings are recommended for further studies.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ เนื่องจากได้รับความกรุณาจากรองศาสตราจารย์ ดร. วราวุฒิ ครุสง และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.รุ่งนภา วิสิษฐอุดรกร ที่ได้ให้เกียรติเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาและอาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม ตลอดจนให้คำแนะนำแนวทาง และข้อคิดเห็นต่างๆ แก่ข้าพเจ้าตลอดมา ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งและขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ อาจารย์อดิสร เสวตวิวัฒน์ ที่ได้กรุณาแนะนำแนวทางในงานวิจัยบางส่วนจนสำเร็จลุล่วงได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสาทความรู้ให้แก่ข้าพเจ้าตลอดระยะเวลาของการศึกษาจนกระทั่งข้าพเจ้ามีโอกาสประสบความสำเร็จ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่วิทยาศาสตร์ของภาควิชาอุตสาหกรรมทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือในงานวิจัยครั้งนี้ และคุณนุจริย์ อินอุดม ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ตลอดมา ขอขอบคุณคุณลินจง สุขล้ำภู คุณประมวล ศรีกาหลง และคุณนิรมล บัญญัติศยกุล เป็นอย่างมากที่ได้ให้ความช่วยเหลือมาโดยตลอด และรวมถึงพี่ๆ น้องๆ ปริญญาโทรุ่น 2 ที่ได้ร่วมงานและได้ช่วยเหลืองานวิจัยมาทุกคน ตลอดจนเพื่อนๆ พี่ๆ และน้องๆ ทุกคนที่ได้ให้ความปรารถนาดีเสมอมา

สุดท้ายนี้ขอรำลึกถึงพระคุณของคุณบิดา คุณมารดา และความปรารถนาดีของพี่ๆ ทุกท่านที่ได้ให้การสนับสนุนและกำลังใจมาโดยตลอด

วิรัชชนม์ นิลนนท์

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	IV
สารบัญ.....	VII
สารบัญตาราง.....	X
สารบัญภาพ.....	XIII
บทที่	
1. บทนำ.....	1
ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
วัตถุประสงค์.....	3
2. วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง.....	4
วิตามินบี12.....	4
การผลิตวิตามินบี12 และจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้อง.....	6
การผลิตเทมเป้ที่มีวิตามินบี12 สูง.....	9
แบคทีเรียที่สร้างวิตามินบี12.....	19
การผลิตนมเปรี้ยวจากถั่วเหลือง.....	23
3. อุปกรณ์และวิธีการ.....	26
วัตถุประสงค์.....	26
อุปกรณ์ในการผลิต.....	26
อุปกรณ์ในการวิเคราะห์.....	27
วิธีการ.....	28
ภาวะที่เหมาะสมในการผลิตHigh Vitamin B12-Tempe (HVT) ในระดับขยายส่วน.....	28
การเตรียมน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12.....	30
การผลิตนมเปรี้ยวจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12.....	31

สารบัญ (ต่อ)

บทที่	หน้า
ปัจจัยที่เหมาะสมในการเตรียมนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจาก น้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12.....	34
การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคทางประสาทสัมผัสที่มีต่อ ผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12.....	36
การวิเคราะห์ทางเคมีของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี12.....	36
4. ผลการทดลองและวิจารณ์.....	37
ภาวะที่เหมาะสมในการผลิตHigh Vitamin B12-Tempe (HVT) ในระดับขยายส่วน.....	37
การเตรียมน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12.....	47
การผลิตนมเปรี้ยวจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12.....	52
ปัจจัยที่เหมาะสมในการเตรียมนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจาก น้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12.....	66
การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคทางประสาทสัมผัสที่มีต่อ ผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12.....	69
การวิเคราะห์ทางเคมีของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี12.....	74
5. สรุปผลการทดลอง.....	76
ข้อเสนอแนะ.....	79
บรรณานุกรม.....	80
ภาคผนวก.....	86
ก วิธีวิเคราะห์ทางเคมี.....	87
ข วิธีวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์.....	93
ค สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ.....	96
ง แบบการประเมินผลทางประสาทสัมผัสในอัตราส่วนของนมเปรี้ยว พร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่เหมาะสม.....	97

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
จ. แบบการประเมินผลทางประสาทสัมผัสในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่ม จากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12.....	98
ฉ. การวิเคราะห์ทางสถิติ.....	99



สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1	แสดงตัวอย่างของ cobamides ที่สร้างโดยจุลินทรีย์8
2	ปริมาณกรดอมิโน (กรัม/16 กรัมไนโตรเจน) และค่า nutritive index ของถั่วเหลือง ที่ผ่านการหมักและไม่ผ่านการหมักด้วยเชื้อรา <i>Rhizopus oligosporus</i>14
3	ผลของความหนาของชั้นถั่วเหลืองที่เหมาะสมต่อผลผลิตของวิตามินบี12 ในการผลิต HVT ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง38
4	ผลของระดับความชื้นที่เหมาะสมต่อผลผลิตของวิตามินบี12 ในการผลิตHVT ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง.....40
5	ผลของปริมาณโคบอลท์ที่เหมาะสมต่อผลผลิตของวิตามินบี12 ในการผลิตHVT ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง.....43
6	ผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการหมักต่อผลผลิตของวิตามินบี12 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง.....46
7	ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคที่มีต่ออัตราส่วนของนมเปรี้ยว ถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ต่อน้ำเชื่อม (28 องศาบริกซ์).....68
8	ผลการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์นม นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12.....72
9	การเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ทางเคมีของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่ม จากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 น้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 และนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมวัวในทางการค้า.....75
10	การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าวิตามินบี12 ในการผลิต HVT เมื่อใช้ความหนา ของชั้นถั่วเหลืองที่ระดับต่างๆ.....99
11	การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าวิตามินบี12 ในการผลิต HVT ในระดับความ ชื้นของถั่วเหลืองที่ระดับต่างๆ.....99

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
12	การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าวิตามินบี12 ในการผลิต HVT ที่ความเข้มข้นของโคบอลต์ระดับต่างๆ.....100
13	การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าวิตามินบี12 ในการผลิต HVT เมื่อใช้อุณหภูมิของการหมัก HVT ที่ระดับต่างๆ.....100
14	การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนด้านกลิ่นในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 เมื่อใช้อัตราส่วนของนมเปรี้ยวต่อน้ำเชื่อม (28 องศาบริกซ์) ที่อัตราส่วนต่างๆ.....101
15	การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนด้านสีในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 เมื่อใช้อัตราส่วนของนมเปรี้ยวต่อน้ำเชื่อม (28 องศาบริกซ์) ที่อัตราส่วนต่างๆ.....101
16	การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนด้านรสชาติในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 เมื่อใช้อัตราส่วนของนมเปรี้ยวต่อน้ำเชื่อม (28 องศาบริกซ์) ที่อัตราส่วนต่างๆ.....102
17	การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนด้านเนื้อสัมผัสในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 เมื่อใช้อัตราส่วนของนมเปรี้ยวต่อน้ำเชื่อม (28 องศาบริกซ์) ที่อัตราส่วนต่างๆ.....102
18	การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนด้านการยอมรับโดยรวมในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 เมื่อใช้อัตราส่วนของนมเปรี้ยวต่อน้ำเชื่อม (28 องศาบริกซ์) ที่อัตราส่วนต่างๆ.....103
19	การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนด้านกลิ่นในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่ปรุงแต่งกลิ่นรส ไม่ปรุงแต่งกลิ่นรส และนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมวัวในทางการค้า.....103

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
20	การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนด้านสีในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่ม จากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่ปรุงแต่งกลิ่นรส ไม่ปรุงแต่ง กลิ่นรสและนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมวัวในทางการค้า.....104
21	การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนด้านรสชาติในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่ม จากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่ปรุงแต่งกลิ่นรส ไม่ปรุงแต่งกลิ่นรส และนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมวัวในทางการค้า.....104
22	การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนด้านเนื้อสัมผัสในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อม ดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่ปรุงแต่งกลิ่นรส ไม่ปรุงแต่งกลิ่นรส และนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมวัวในทางการค้า.....105
23	การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนด้านการยอมรับโดยรวมในผลิตภัณฑ์นม เปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่ปรุงแต่งกลิ่นรส ไม่ปรุงแต่งกลิ่นรส และนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมวัวในทางการค้า.....105

สารบัญภาพ

	หน้า
1 แสดงโครงสร้างของวิตามินบี12.....	5
2 แสดงการผลิตเทมเป้ในครัวเรือน	11
3 แสดงการผลิตเทมเป้ในระดับอุตสาหกรรม.....	12
4 แสดงโครงสร้างของเชื้อรา <i>Rhizopus oligosporus</i>	18
5 แสดงการผลิต High Vitamin B12- Tempe	29
6 แสดงการผลิตนมเปรี้ยวจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12.....	32
7 แสดงการผลิตนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12.....	35
8 ผลของความหนาของถั่วเหลืองต่อ pH และความเป็นกรดที่เกิดขึ้น ในHVTเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง.....	38
9 ผลของความชื้นต่อปริมาณความเป็นกรด และpH ใน HVT เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง.....	41
10 ผลของปริมาณโคบอลต์ต่อปริมาณความเป็นกรด และpH ใน HVT เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง.....	44
11 ผลของอุณหภูมิในการบ่มต่อปริมาณความเป็นกรด และpH ในHVT เป็นเวลา 24 ชั่วโมง.....	46
12 ผลของอัตราส่วนของ HVT ต่อน้ำร้อน ที่มีผลต่อปริมาณของแข็งทั้งหมด ในน้ำนมถั่วเหลืองที่เตรียมโดยใช้น้ำร้อนอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส และบ่มเป็นเวลา 3 นาที.....	48
13 ผลของอุณหภูมิของน้ำร้อนที่ใช้ตีบ่ม ต่อปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ เกิดขึ้นในน้ำนมถั่วเหลืองที่เตรียมโดยใช้อัตราส่วนของ HVT ต่อน้ำร้อน เท่ากับ 1:8 และบ่มเป็นเวลา 3 นาที.....	49

สารบัญภาพ (ต่อ)

หน้า

14	ผลของระยะเวลาในการตีบ้น ต่อปริมาณของแข็งทั้งหมดที่เกิดขึ้น ในน้ำนมถั่วเหลืองที่เตรียมโดยใช้อัตราส่วนของ HVT ต่อน้ำร้อนเท่ากับ 1:8 และอุณหภูมิของน้ำร้อนที่ใช้ในการตีบ้นเท่ากับ 80 องศาเซลเซียส.....	51
15	ผลของความเข้มข้นของหางนมผงต่อค่าความเป็นกรด และpH ของนมเปรี้ยวจากถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ภายหลังจากการ หมักด้วยหัวเชื้อแบคทีเรียแลคติกผสม ที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง.....	54
16	ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสต่อค่าความเป็นกรด และpH ในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวจากถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่ปรับสภาพด้วย หางนมผงร้อยละ 9 บ่มที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง.....	56
17	ผลของความเข้มข้นของหัวเชื้อต่อค่าความเป็นกรด pH และTSS ในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 บ่มที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง.....	58
18	ผลของอุณหภูมิที่ใช้บ่มต่อค่าความเป็นกรด และ pH ที่เกิดขึ้น ในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ภายหลังจากการหมัก เป็นเวลา 24 ชั่วโมง.....	60
19	ผลของอุณหภูมิที่ใช้บ่มต่อ ปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติกและความเป็นกรด ของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 เมื่อหมักเป็นเวลา 24 ชั่วโมง.....	61

สารบัญญภาพ (ต่อ)

หน้า

20	ผลของระยะเวลาการหมักต่อค่าความเป็นกรด pH และปริมาณของวิตามินบี12 ของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ป่มที่อุณหภูมิตั้งที่ 43 องศาเซลเซียส.....	63
21	ผลของระยะเวลาการหมักต่อค่าความเป็นกรด และปริมาณของหัวเชื้อแบคทีเรียแลคติกผสมในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ป่มที่อุณหภูมิตั้งที่ 43 องศาเซลเซียส.....	64
22	ผลของอัตราส่วนของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ต่อน้ำเชื่อม (28 องศาบริกซ์) ที่มีผลต่อค่าความเป็นกรด และปริมาณของวิตามินบี12.....	67
23	ผลของการใช้สารคงตัวต่อค่าสัดส่วนการลอยตัวของตะกอนในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12	70
24	ผลของการใช้สารคงตัวต่อค่าความหนืดในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่อุณหภูมิตั้งที่ 25 องศาเซลเซียส.....	71
25	ความสัมพันธ์ของระยะเวลาในการอบต่อความชื้นของถั่วเหลืองที่ผ่านการปรับสภาพแล้วที่อุณหภูมิตั้งที่ 80 องศาเซลเซียส.....	92

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

นมเปรี้ยวเป็นผลิตภัณฑ์นมชนิดหนึ่ง ที่ได้รับความนิยมอย่างแพร่หลายมีโปรตีนที่ย่อยได้ง่ายกว่านมสด และใช้ดื่มได้ในปริมาณมากโดยไม่เกิดอาการท้องเสีย โดยเฉพาะคนที่ไม่ มีเอนไซม์แลคเตสที่ช่วยในการย่อยน้ำตาลแลคโตสในนม สามารถที่จะดื่มได้

นมเปรี้ยวปัจจุบันที่นิยมอยู่ในรูปของโยเกิร์ต (yoghurt) โยเกิร์ตมีลักษณะเนื้อแน่น คล้ายสังขยามีทั้งกึ่งแข็งและเหลวเกิดจากการหมักน้ำนมด้วยแบคทีเรียที่นิยมใช้คือ *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus* โดยโยเกิร์ตจะแบ่งออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่ชนิดครีมและชนิดพร้อมดื่ม (drinking yoghurt) ทั้งสองชนิดมีการขยายตัวและการแข่งขันกันในตลาดสูง โดยเฉพาะชนิดพร้อมดื่ม หรือเรียกอีกอย่างหนึ่งว่านมเปรี้ยวพร้อมดื่ม มีการขยายตัวอยู่ในเกณฑ์ที่สูงกว่าชนิดครีมทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการส่งเสริมด้านตลาด การโฆษณา และอยู่ในรูปที่ง่ายต่อการบริโภค การผลิตนมเปรี้ยวจากเตรียมได้จากนมโคแล้ว ปัจจุบันได้มีการวิจัยการผลิตนมเปรี้ยวจากนมถั่วเหลือง โดยมีจุดประสงค์เพื่อลดต้นทุนในการผลิตจากนมโคที่มีราคาแพงกว่า ในขณะที่ส่วนประกอบด้านสารอาหารต่างๆใกล้เคียงกัน และเนื่องจากปัญหาด้านกลิ่นของถั่วที่ไม่เป็นที่ชื่นชอบของผู้บริโภค การใช้แบคทีเรียแลคติกที่ผลิตกรดแลคติกจึงเป็นวิธีหนึ่งที่จะช่วยลดปัญหาด้านกลิ่นของถั่วได้ (Angeles และ Marth 1971:20 ; Mital และ Steinkraus. 1974:38 ; Pinthong และคณะ 1980:48)

ถั่วเหลืองจัดเป็นพืชโปรตีนที่มีคุณภาพสูงและเป็นแหล่งของโปรตีนที่มีราคาถูก โดยปกติถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการแปรรูปจะมีความสามารถในการย่อยได้ต่ำ แต่เมื่อนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์หมักด้วยการหมักกับเชื้อรา *R. oligosporus* ทำให้ร่างกายสามารถย่อยหมักได้ดีกว่าถั่วเหลืองปกติ ทั้งนี้เนื่องจากเชื้อรา *R. oligosporus* มีเอนไซม์ที่มีสมบัติในการย่อยโปรตีน

ไขมัน และเซลล์ได้สูง ต่อมาได้มีการศึกษาวิจัยการผลิตวิตามินบี12 ในเทมเป้ เพื่อเพิ่มปริมาณการผลิตของวิตามินบี12 โดยมีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องนับตั้งแต่ Liem และคณะ (1977:37) ได้ใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ที่สร้างวิตามินบี12 ร่วมกับเชื้อราในการหมักเทมเป้สามารถเพิ่มวิตามินบี12 ได้ถึง 148 ng/g ในขณะที่ Krusong และคณะ (1991c:34) ศึกษาถึงการใช้เชื้อผสม (mixed culture) ของเชื้อรา *Rhizopus oligosporus* และแบคทีเรีย *Propionibacterium shermanii* ในการเพิ่มผลผลิตของวิตามินบี12 ในเทมเป้ การพัฒนาเทมเป้จากถั่วเหลืองเพื่อเสริมวิตามินบี12 ดังกล่าวเป็นการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของถั่วเหลือง ซึ่งผู้บริโภคจะได้รับวิตามินบี12 และคุณค่าของโปรตีนจากถั่วเหลืองเพิ่มขึ้น

วิตามินบี12เป็นวิตามินชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญต่อร่างกายมาก แต่ร่างกายต้องการไม่มากนัก ถั่วร่างกายขาดวิตามินบี12จะทำให้เกิดการรบกวนการทำงานของอวัยวะต่างๆและมีผลทำให้เกิดโรคโลหิตจางได้ ในธรรมชาติวิตามินบี12 อาจรวมตัวอยู่กับโปรตีน หรือกรดอมิโนได้ถึง 80 ชนิด โดยส่วนน้อยจะพบในรูปของ cyanocobalamin และส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของ active form ที่เรียกว่า cobamide coenzyme ในการศึกษาเกี่ยวกับวิตามินบี12 มักนิยมใช้ cyano - B₁₂ เพราะเป็นโครงสร้างที่เสถียร(สุวิทย์ ตรีกุล 2525:17)

ดังนั้นเพื่อเป็นการพัฒนาผลผลิตของวิตามินบี12 ในเทมเป้ในระดับอุตสาหกรรม จึงจำเป็นต้องศึกษาถึงภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตดังกล่าว นอกจากนี้แล้วยังมีความจำกัดในด้านการนำผลิตภัณฑ์ไปใช้ประโยชน์ การผลิตนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนํ้านมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 จึงเป็นการพัฒนาผลิตภัณฑ์ใหม่ และได้มีการศึกษาปัจจัยการเตรียมการผลิตและปัจจัยในการผลิตของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนํ้านมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 เพื่อเป็นการพัฒนาผลิตภัณฑ์ใหม่ให้เป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภคในด้านคุณค่าทางโภชนาการที่เพิ่มขึ้น และเป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิต High vitamin B₁₂ - tempe ในระดับขยายส่วน
2. เพื่อศึกษาปัจจัยของการเตรียมน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12
3. เพื่อศึกษาปัจจัยของการผลิตนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12
4. เพื่อศึกษาคุณค่าทางอาหารของนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12



บทที่ 2

วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

วิตามินบี12

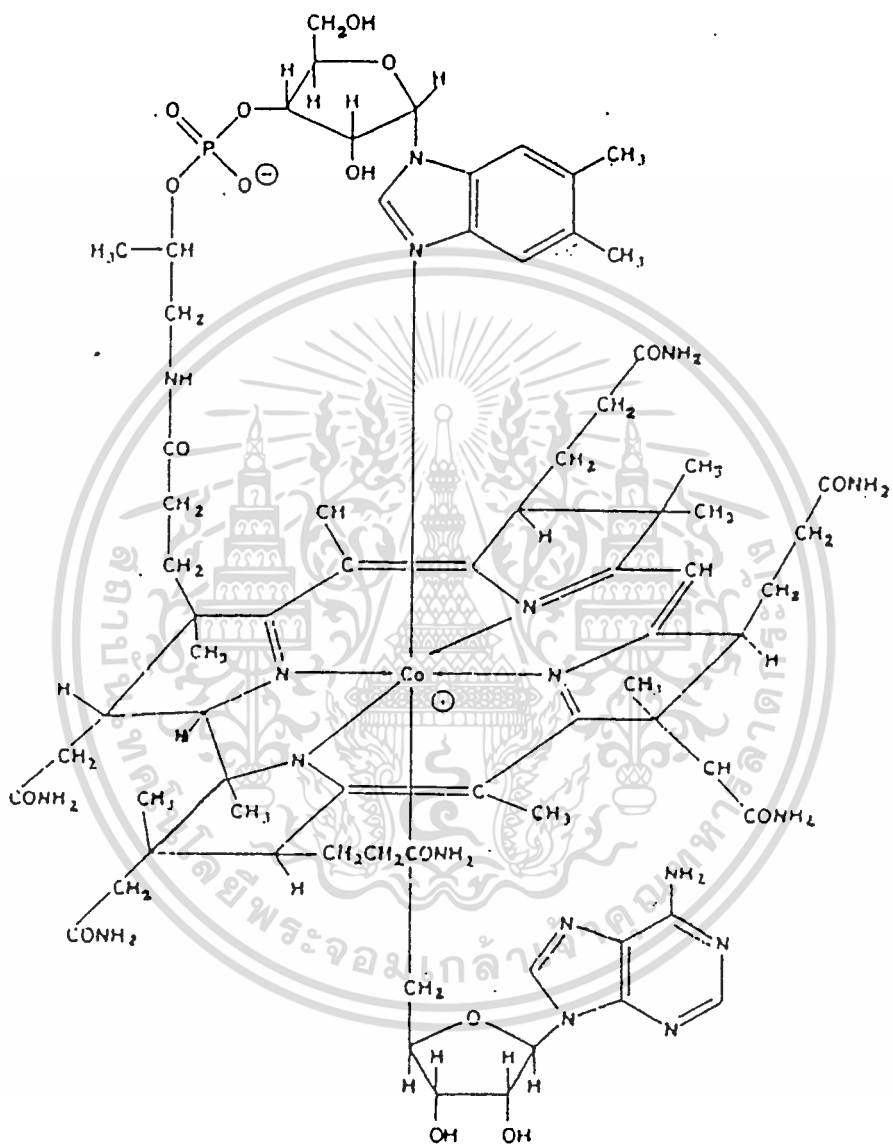
วิตามินบี12 เป็นวิตามินที่มีลักษณะเป็นผลึกสีแดง สามารถละลายได้ดีทั้งในน้ำและแอลกอฮอล์มีความคงตัวที่ pH 4 - 7 และละลายได้ง่ายที่ pH 2 หรือ pH 9 ไวต่อแสงมาก วิตามินบี12 เป็นวิตามินชนิดหนึ่งที่มีความสัมพันธ์กับกรดโฟลิก การขาดวิตามินบี12 จะทำให้เกิด megaloblastic anemia เช่นเดียวกับการขาดกรดโฟลิก (สุวิทย์ ตรีกุล 2525 : 17) สำหรับประวัติของวิตามินบี12 นั้นเริ่มในปี ค.ศ. 1926 Minot และ Murphy ประสบความสำเร็จในการรักษาผู้ป่วยที่เป็นโรค pernicious anemia ด้วยการให้ผู้ป่วยรับประทานอาหารที่มาจากตับหรือเตรียมจากการสกัดจากตับ และในปี 1929 มีการค้นพบว่าทั้งสองปัจจัยนั้นมีความจำเป็นต่อการคืนสภาพของเซลล์เม็ดเลือดแดง ในผู้ป่วยที่เป็นโรคโลหิตจางชนิด pernicious anemia

โครงสร้างวิตามินบี12

วิตามินบี12 ประกอบด้วยส่วนสำคัญ 2 ส่วนคือ Corrin ring และ nucleotide ดังภาพที่ 1 โดยโครงสร้างของวิตามินบี12 จะค่อนข้างสลับซับซ้อนและมีขนาดใหญ่ และพบว่าเป็นวิตามินชนิดแรกและชนิดเดียวที่มีโลหะโคบอลต์เป็นส่วนประกอบ โดยธาตุโคบอลต์จะเป็นชนิดไตรวาเลนต์ (trivalent) 1 อะตอมเชื่อมอยู่กับหมู่ไซอะโน (cyanogroup) จึงเรียกชื่อว่า cyanocobalamin

วิตามินบี12 มีสูตรโครงสร้างทางเคมีคือ $C_{63}H_{88}O_{14}N_{14}PCo$ และชื่อทางเคมีว่า 5,6-dimethylbenzimidazolyl cobamide cyanide เรียกสั้นๆว่า Cyanocobalamin ในส่วนที่เป็น

ภาพที่ 1



แสดงโครงสร้างของวิตามินบี12

ที่มา : Tannenbaum และคณะ (1985 : 59)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

corrin ring หรือ corrinoid คือ ส่วนแกนกลางโครงสร้าง ที่ประกอบด้วยสามเหลี่ยม pyrrole ring เชื่อมกันมีโคบอลท์เป็นแกนกลาง ส่วนที่เป็น nucleotide คือ 5,6-dimethylbenzimidazole จะเชื่อมกับ corrin ring 2 ส่วน คือ phosphoric acid ของ nucleotide เชื่อมกับ propionamide group ของ ring D ด้วย aminopropanol bridge และ nitrogen ของ nucleotide จะ Co-ordinate กับอะตอมโคบอลท์ในแนวเกือบตั้งฉากกับ Corrin ring ซึ่ง bond นี้จะถูกทำลายได้ง่ายเช่นการเติม cyanide ลงไป จะได้สารประกอบที่เรียกว่า cyanocobalamin (ปริยา วิบูลย์เศรษฐ์ 2525 : 8)

สาเหตุของการขาดวิตามินบี12

สาเหตุการขาดวิตามินบี12 ที่สำคัญได้แก่

1. ได้รับสารอาหารไม่เพียงพอกับความต้องการของร่างกาย เช่น คนกินอาหารมังสวิรัต เด็กที่กินนมมารดาที่ขาดวิตามินบี12 เป็นต้น
2. มีการดูดซึมน้อย เนื่องจากการขาด intrinsic factor โรคทางเดินอาหารของลำไส้ การผ่าตัดกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก การได้รับยาบางอย่างที่ขัดขวางการดูดซึม
3. ร่างกายมีความต้องการเพิ่มขึ้นกว่าปกติ เช่นขณะให้นมบุตรหรือตั้งครรภ์
4. ร่างกายไม่สามารถนำวิตามินไปใช้ได้

การขาดวิตามินบี12 ในอาหารมังสวิรัต โดยเฉพาะผู้ที่รับประทานเฉพาะอาหารพวกผักและผลไม้ (Vegans) จะพบว่าในซีรัมมีระดับวิตามินบี12 ลดลงภายหลังเริ่มรับประทานอาหารมังสวิรัต (Hardinge และ Hardinge 1992:30)

การผลิตวิตามินบี12 และจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้อง

วิตามินบี12 สกัดพบครั้งแรกจากตับแต่เนื่องจากตับมีวิตามินบี12 ในระดับต่ำประมาณ 1 ppm จึงทำให้การสกัดไม่สามารถทำการค้าได้เพราะมีราคาค่อนข้างแพง อีกทั้งเป็นการยากที่จะสังเคราะห์วิตามินบี12 ได้โดยวิธีทางเคมีเพราะมีโครงสร้างที่ซับซ้อน ดังนั้นจึง

นิยมผลิตจากจุลินทรีย์ ทั้งนี้เพราะมีจุลินทรีย์หลายชนิดที่สามารถผลิตวิตามินบี12 ได้ เช่น *Propionibacterium freudenreichii* , *P. shermanii* , *Bacillus megaterium* , *Streptomyces olivaceus* และ *Klebsiella pneumoniae* แต่สำหรับการผลิตในระดับอุตสาหกรรม เพื่อที่จะสามารถสังเคราะห์วิตามินบี12 ได้ในปริมาณสูง จะใช้จุลินทรีย์ในกลุ่ม *P. freudenreichii* ATCC 6207 , *B. megaterium* ATCC 13639 *P. shermanii* , *S. griseus*, *S. olivaceus* , *Streptomyces* sp. ATCC 11072 และ *Pseudomonas* sp. ในการคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่สามารถสังเคราะห์วิตามินบี12 นั้น อาจทำได้โดยการคัดเลือกโดยตรงจากแหล่งที่อยู่ของจุลินทรีย์ ซึ่งจุลินทรีย์ที่สังเคราะห์วิตามินบี12 อาจจะเป็นได้ทั้งแบคทีเรีย ยีสต์ และเชื้อรา หรือสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว ในแต่ละชนิดจะผลิตวิตามินบี12 ได้มากน้อยแตกต่างกัน สำหรับ cobamide ที่สร้างโดยจุลินทรีย์ แสดงอยู่ในตารางที่ 1

Toraya และคณะ (1976:60) ศึกษาสายพันธุ์ใหม่ของจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตวิตามินบี12 ได้ ได้แก่ สายพันธุ์ FM-02T เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่สร้างเม็ดสีสีชมพู (Pink-pigmented) มีรูปร่างเป็นท่อนสามารถใช้ 1,2-propanediol กรดแลคติก และเมธานอลเป็นแหล่งของคาร์บอนได้ ในขณะที่เดียวกันนอกจากจุลินทรีย์ที่สามารถสังเคราะห์วิตามินบี12 ได้แล้วยังมีจุลินทรีย์บางกลุ่มที่ต้องการใช้วิตามินบี12 ในการเจริญเติบโตเช่น *Lactobacillus lactis* , *L. leichmanii* และ *E. coli* เป็นต้น โดยใน *L. leichmanii* มีการใช้วิตามินบี12 ใน ribonucleotide reductase โดยจะรวมอยู่ด้วยกันในฟอร์มของ deoxyadenosyl-B12 ในการผลิตวิตามินบี12 นอกจากจะมาจากแหล่งต่างๆ ที่กล่าวมาแล้วยังพบว่าในผลิตภัณฑ์บางชนิดมีวิตามินบี12 สูง เช่นในน้ำปลา ปลาร้า ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักของพืชตระกูลถั่วและผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักผักชนิดต่างๆ ได้แก่ กิมจิ (Kimchi) เป็นต้น

การผลิตวิตามินบี12ในอุตสาหกรรมได้จากการสังเคราะห์จากจุลินทรีย์เป็นส่วนมาก โดยเฉพาะจุลินทรีย์พวก *Propionibacterium* ดังที่ใช้ในผลิตภัณฑ์ของเทมเป้ (Krusong และ คณะ,1991a :32)

ตารางที่ 1
แสดงตัวอย่างของ cobamides ที่สร้างโดยจุลินทรีย์

cobamide	sources
5,6 Dimethyl- α -benzimidazolylcobamide	Bacilli, Propionibacteria Sewage, Streptomyces
α - Adenylcobamide	Anaerobes, Propionibacteria Rumen samples, Sewage.
2 - Methyl- α -adenylcobamide	Anaerobes, Propionibacteria Rumen samples, Sewage
5 - Hydroxy- α -benzimidazolylcobamide	Sewage
2 - Methylmercapto- α -adenylcobamide	Sewage
α - Guanylcobamide	Nocaridia
Cobinamide	Propionibacteria Streptomyces, Rumen samples
5-Methyl - α -benzimidazolylcobamide	Sewage
α - Benzimidazolylcobamide	Sewage

ที่มา : ดัดแปลงจากปริยา วิบูลย์เศรษฐ์ (2525 : 8)

การผลิตเทมเป้ที่มีวิตามินบี12 สูง

เทมเป้เป็นอาหารหมักพื้นบ้านที่นิยมมากของอินโดนีเซีย และยังมีผลิตในประเทศ ศรีลังกา แคนาดา เนเธอร์แลนด์ และมาเลเซีย (Salunkhe และ Kadam 1989:52) ดังนั้นจึงจัด เทมเป้เป็นอาหารที่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคมั่งคั่งทั่วโลกโดยทั่วไป เทมเป้ทำจากถั่วเหลืองและผ่านการหมักด้วยเชื้อรา *R. oligosporus* มีลักษณะเป็นก้อนสีขาวล้อมรอบด้วยเส้นใยของเชื้อรา วัตถุดิบที่ใช้ผลิตอาจจะเป็นถั่วชนิดอื่นๆเช่น ถั่วลิสง ถั่วเขียว ถั่วถั่วพูชนิดอื่นๆ หรือมะพร้าว เทมเป้ที่หั่นเป็นชิ้นๆ แล้วทอดจะมีสีเหลืองกรอบ กลิ่นหอม และรสชาติดี ลักษณะเนื้อสัมผัส คล้ายพวกเนื้อสัตว์ ให้คุณค่าทางอาหารเหมือนกับอาหารหมักอื่นๆ เช่น เนยแข็ง โยเกิร์ต ขนหมัก นอกจากนี้แล้วจัดเป็นอาหารที่มีโปรตีนสูงและย่อยได้ง่าย เพราะเชื้อราจะสร้างเอนไซม์ ย่อยโปรตีน และไขมันถั่วเหลืองบางส่วนในระหว่างการหมัก มีผลทำให้เทมเป้สามารถย่อยได้ง่าย ดังนั้นจึงได้รับการแนะนำให้เป็นแหล่งโปรตีนราคาถูก (Steinkraus และคณะ 1983 : 56) นอกจากนี้แล้วเชื้อราสามารถสร้างสารต่างๆ ได้ เช่น วิตามินบี1 บี2 และสารอาหารที่มีคุณค่า อื่น ๆ เป็นต้น

สำหรับรายละเอียดเกี่ยวกับเทมเป้สามารถกล่าวถึงได้ดังนี้

ก. วัตถุดิบ

วัตถุดิบที่นิยมนำมาผลิตเทมเป้มากที่สุดได้แก่ถั่วเหลือง ถั่วเหลืองเป็นพืชในตระกูล leguminosae มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Glycine max* ชื่อสามัญเรียกต่างกันเช่น soya bean , soja bean , chinese pea , manchurian bean และ soybean ทั้งนี้ชื่อ soybean เป็นชื่อที่ยอมรับมากที่สุด (กรมส่งเสริมการเกษตร 2525 :1)

องค์ประกอบหลักที่สำคัญของถั่วเหลือง ประกอบด้วยโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต เกลือแร่ เส้นใย และความชื้น ในปริมาณร้อยละ 40 20 25.04 5.06 1.5 และ 8.4 ตามลำดับ น้ำมันที่พบในถั่วเหลืองเป็นน้ำมันที่มีคุณภาพสูงคือ กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวถึงร้อยละ 80-85 ส่วนโปรตีนที่พบเป็นโปรตีนที่มีคุณภาพสูง ถึงแม้จะพบว่าปริมาณของ sulfured amino acid เช่น methionine และ cystein ในปริมาณน้อย ส่วนคาร์โบไฮเดรตหรือน้ำตาลที่พบในถั่วเหลืองได้แก่ ซูโครส แรฟฟิโนส (raffinose) และสแตคโคส (stachyose) ในปริมาณร้อยละ 5 1.1 และ 3.8 ตามลำดับ (Norman 1978:43) และเนื่องจากถั่วเหลืองเป็นพืชที่มีโปรตีนค่อนข้าง

ข้างสมบูรณประกอบกับมีราคาที่ถูกกว่าโปรตีนจากแหล่งเนื้อสัตว์ โดยเมื่อเปรียบเทียบจำนวนโปรตีนเท่ากันจะถูกกว่าถึง 7 - 8 เท่า ดังนั้นจึงเหมาะที่จะนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์นมแปะ

ข. กรรมวิธีการผลิตนมแปะ มีวิธีทำหลายวิธี ในวิธีการทำแบบครัวเรือนดังแสดงในภาพที่ 2 วิธีที่ได้รับการพัฒนาขึ้นโดย Steinkraus และคณะ (1983:56) อาศัยการแช่ถั่วเหลืองในน้ำผสมกรดแลคติก ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมงหรือต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วจึงต้มอีกครั้งในน้ำที่แช่เป็นเวลา 90 นาที จากนั้นทำให้สะเด็ดน้ำรอให้เย็นและเกลี่ยใส่ถาด (ดังแสดงในภาพที่ 3) ถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำก่อนทำนมแปะจะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทั้งด้านกายภาพและทางเคมี

Gandhi และ Bourne (1991:28) รายงานว่าปกติถั่วเหลืองต้องการระยะเวลาในการทำให้สุกนานกว่าพืชตระกูลถั่วอื่นๆ เนื่องจากมีส่วนประกอบของแคลเซียมและแมกนีเซียมสูง เช่นการทำให้ถั่วเหลืองสลายพันธุ์อินเดียสุกและนิ่ม ต้องใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 5 ชั่วโมง ในภาชนะปิด

Mulyowidarso และคณะ (1991a :40) พบว่าถั่วเหลืองที่แช่น้ำที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้ปริมาณของน้ำตาลในถั่วเหลือง ซึ่งประกอบด้วยซูโครส สแตโคไอส์ และราฟฟิโนส ลดลงในปริมาณร้อยละ 84 65 และ 50 ตามลำดับ และก่อให้เกิดการเจริญของจุลินทรีย์ในน้ำแช่ถั่วเหลือง เนื่องจากจุลินทรีย์ใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นวัตถุดิบในการเจริญเติบโต นอกจากมีการลดลงของน้ำตาลแล้ว Mulyowidarso และคณะ (1991b :41) ได้รายงานเพิ่มเติมถึงการลดลงของปริมาณความเข้มข้นของกรดในถั่วเหลืองในระหว่างการแช่กรดเหล่านี้ได้แก่ กรดวาเลอริก (valeric acid) กรดไพโรพิโอนิค กรดฟอร์มิก และกรดอะซิติก แต่สุดท้ายจะเหลือเฉพาะกรดแลคติกและกรดมาลิกในถั่วเหลืองเท่านั้น ซึ่งเป็นผลจากกระบวนการหมักของจุลินทรีย์ในน้ำแช่ถั่วเหลืองและกรดเหล่านี้จะแพร่เข้าไปในเมล็ดถั่วเหลือง นอกจากนี้แล้วในขั้นตอนของการหมักนมแปะยังพบว่า การถ่ายเชื้อ *L. plantarum* ลงในถั่วเหลืองทำให้ pH ของนมแปะลดลงและช่วยลดอัตราการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ต่างๆเช่น *Bacillus sp.* และ *Corynebacteria* ลดลงในระหว่างการหมักและยังเป็นการควบคุม proliferation ของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการในนมแปะ (Ashenafi และ Busse 1991:23) เช่นเดียวกับการเจริญของ *Staphylococcus aureus* ในลักษณะของ acid-soaking และ เมื่อถ่ายเชื้อ *L. plantarum* จะช่วย

ภาพที่ 2



แสดงการผลิตเห็ดในครัวเรือน

ที่มา : Shurtleff และ Aoyagi (1979 :54)

ภาพที่ 3



แสดงการผลิตแอมแป้ในระดับอุตสาหกรรม

ที่มา : Steinkraus และคณะ (1983 : 56)

ยับยั้งการเจริญของ *S. aureus* ในการหมักเทมเป้ได้ (Ashenafi และ Busse 1992 :24)

ค. คุณค่าทางโภชนาการของเทมเป้

เทมเป้มีคุณค่าทางโภชนาการหลายประการด้วยกันดังนี้ (วราวุฒิและรุ่งนภา 2532 :12)

1.เป็นอาหารที่มีโปรตีนสูงโดยมีเปอร์เซ็นต์โปรตีนที่สูงกว่าเนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์นม จากตารางที่ 2 แสดงปริมาณของกรดอะมิโน และ nutritive index ของถั่วเหลืองที่ยังไม่ผ่านการหมัก และผ่านการหมักด้วยเชื้อรา *R. oligosporus* ที่ระยะเวลาต่างๆ พบว่าโดยส่วนใหญ่แล้วถั่วเหลืองที่ผ่านการหมักนั้นมีปริมาณของกรดอะมิโนในแต่ละชนิดที่สูงกว่าถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการหมัก

2.เป็นแหล่งของวิตามินบี12 ในปี 1977 Liem ,Steinkraus และCrock แห่ง Cornell University's New York State Agriculture Experiment Station ได้รายงานว่เทมเป้เป็นอาหารที่เหมาะสมสำหรับผู้รับประทานอาหารแบบมังสวิรัต เพราะมีคุณค่าทางโภชนาการสูงรวมทั้งมีวิตามินบี12 สูง แต่เดิมมีรายงานว่าวิตามินบี12 ในเทมเป้ถูกสังเคราะห์ขึ้นจากแบคทีเรีย *Klebsiella* ซึ่งปนมาในระหว่างกระบวนการผลิตเทมเป้ที่ใช้น้ำจากลำคลอง ดังนั้นจึงจัดได้ว่าเทมเป้เป็นแหล่งของวิตามินบี12 ที่มีความสำคัญต่อร่างกายผู้บริโภคเป็นอย่างมาก

3.มีปริมาณไขมันอิ่มตัวต่ำ แต่มี lecithin ร่วมกับ essential polyunsaturated fatty acid (เช่น linoleic acid และ linolenic acid) ปริมาณมาก ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวผสมที่เรียกว่า emulsifier ซึ่งสามารถลดการสะสมของคอเลสเตอรอล และกรดไขมันชนิดอื่นๆ ตามอวัยวะและกระแสโลหิตได้.

4.ไม่มีคอเลสเตอรอล คอเลสเตอรอลเป็นสาเหตุของโรคเส้นเลือดหัวใจอุดตัน (coronary heart diseases) ในแต่ละปีจะมีคนตายด้วยโรคหัวใจเป็นจำนวนมาก แต่ในอาหารพวกเทมเป้และอาหารที่ทำจากถั่วเหลืองชนิดอื่นเช่น เต้าหู้ เต้าเจี้ยว เป็นต้น จัดเป็นอาหารที่ไม่มีคอเลสเตอรอล จึงเหมาะสมอย่างยิ่งต่อการบริโภคและแก้ไขปัญหาดังกล่าว

5.สามารถย่อยได้ง่าย ร่างกายจะย่อยอาหารหลายชนิดที่ทำจากถั่ว (bean) ได้ยาก ทำให้เกิดก๊าซขึ้นในทางเดินอาหารจนเกิดผลเสียแก่สุขภาพ แต่เทมเป้เป็นอาหารที่ร่างกายสามารถย่อยได้ง่าย โดยมีความสามารถในการย่อย(digestibility) มักกล่าวในรูปของ

ตารางที่ 2

ปริมาณกรดอมิโน (กรัม/16 กรัมไนโตรเจน) และค่า nutritive index ของถั่วเหลือง
ที่ผ่านการหมัก และไม่ผ่านการหมักด้วยเชื้อรา *R. oligosporus*

Component	Raw soybean	Length of soybean (h) fermentation				Mycelium of <i>R. oligosporus</i>
		0	24	36	72	
Lysine	6.08	5.92	5.79	5.51	5.54	4.07
Histidine	2.50	2.53	2.47	2.27	2.46	1.52
Arginine	7.13	7.07	6.57	6.14	6.17	2.47
Aspartic acid	11.30	11.10	10.60	10.06	10.50	4.82
Threonine	3.76	3.82	3.73	3.71	3.62	2.56
Serine	5.67	5.92	5.55	5.81	5.55	2.95
Glutamic acid	16.90	17.10	15.70	16.10	15.80	4.72
Proline	4.86	5.10	4.80	4.54	4.52	1.96
Glycine	4.01	4.07	3.91	3.92	3.86	2.68
Alanine	4.23	4.30	4.27	4.34	4.29	2.77
Valine	4.59	4.81	4.51	4.48	4.43	3.41
Cystine	1.70	1.70	1.56	1.61	1.55	1.03
Methionine	1.22	1.30	1.34	1.28	1.25	0.89
Isoleucine	4.62	4.83	4.65	4.65	5.59	3.22
Leucine	7.72	8.07	7.69	7.78	7.65	4.61
Tyrosine	3.39	3.50	3.63	3.58	3.48	1.85
Phenylalanine	4.84	5.02	4.96	4.92	5.06	2.89
Tryptophan	1.24	1.03	1.32	1.29	1.23	0.50
Ammonia	1.85	1.87	2.22	2.04	2.68	4.37
Glucosamine	0.187	0.199	0.646	0.881	1.23	27.30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 (ต่อ)

Component	Raw soybean	Length of soybean (h) fermentation				Mycelium of <i>R. oligosporus</i>
		0	24	36	72	
Essential amino acid index	74.4	74.4	74.6	73.5	72.8	46.2

ที่มา : Salunkhe และ Kadam (1987: 52)

digestibility coefficient ซึ่งเทมเป้มีค่านี้นเท่ากับร้อยละ 86.1 ทั้งนี้เนื่องจากการทำงานของเอนไซม์ชนิดต่างๆในระหว่างช่วงของการหมักรวมทั้งการให้ความร้อนในช่วงการเตรียมวัตถุดิบ (pretreatment)

6. เป็นแหล่งของวิตามินและเกลือแร่ เทมเป้เป็นแหล่งของวิตามินหลายชนิด เช่นวิตามินบี12 วิตามินเอ บี1 บี6 ในอาซิน และไบโอดีน เป็นต้น ส่วนเกลือแร่ในเทมเป้มีแคลเซียม ฟอสฟอรัส แมงกานีส เป็นต้น นอกจากนี้แล้วในเชื้อรา *Rhizopus* ที่ใช้ในการหมักเทมเป้ยังผลิตเอนไซม์ phytase ออกมาย่อย phytate ซึ่งเป็น chelating agent ในถั่วเหลืองทำให้เกลือแร่ต่างๆสามารถนำออกมาใช้ประโยชน์ได้

7. สารปฏิชีวนะในเทมเป้ พบว่าเชื้อราที่ใช้ในการทำเทมเป้สามารถผลิต heat-stable antibacterial agents ซึ่งทำหน้าที่คล้ายสารปฏิชีวนะประเภทเพนิซิลิน ทำให้มีผลทำลายจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค โดยเฉพาะพวกแบคทีเรียแกรมบวกได้

8. เทมเป้ปราศจากสารพิษ เมื่อเปรียบเทียบกับเนื้อ ปลา และสัตว์ปีกซึ่งพบว่ามียาฆ่าแมลงปนเปื้อนในเนื้อสัตว์สูงกว่าในเมล็ดพืชถึง 20 เท่า และพบมากกว่า 4.5 เท่าในอาหารนม นอกจากนี้แล้วยังพบยาฆ่าวัชพืชและสารโลหะหนักในเนื้อสัตว์ด้วย แต่ไม่พบสารพิษดังกล่าวในเทมเป้

จากคุณค่าทางอาหารที่กล่าวมาแล้วของเหมเบ้ นั้น สามารถจัดให้เหมเบ้เป็นอาหารหมักพื้นบ้านชนิดหนึ่งที่มีคุณค่าต่อการบริโภค หรือเป็นอาหารเสริม (food supplementation) ได้ ดังนั้นจึงน่าที่จะทำการผลิตอาหารชนิดนี้ให้แพร่หลายยิ่งขึ้น .

ง. การพัฒนาการเพิ่มผลผลิตวิตามินบี12 ในเหมเบ้

เนื่องจากเหมเบ้เป็นแหล่งของวิตามินบี12 จึงได้มีการพัฒนาวิธีการทำเหมเบ้เพื่อให้ได้ผลผลิตวิตามินบี12 ที่สูงขึ้น จากที่พบว่าในเหมเบ้มีวิตามินบี12 ในปริมาณ 150ng/100 g ซึ่งเกิดจากกิจกรรมของแบคทีเรีย *Klebsiella pneumoniae* ที่เจริญขึ้นในระหว่างการหมักเหมเบ้ ที่ใช้น้ำจากลำคลองในการผลิตในประเทศอินโดนีเซีย อย่างไรก็ตามถึงแม้ว่าแบคทีเรีย *K. pneumoniae* ที่พบจะเป็นสายพันธุ์ที่ไม่ก่อให้เกิดโรค (non virulent strain) ก็ตาม แต่ไม่นิยมใช้เป็นเชื้อแบคทีเรียที่ใช้เพิ่มวิตามินบี12 เนื่องจากไม่มีความมั่นใจว่าสายพันธุ์ดังกล่าวจะกลายพันธุ์เป็นสายพันธุ์ที่ก่อให้เกิดโรคหรือไม่ (วราวุฒิ ครุสง 2529 : 11)

Liem และคณะ (1977:37) รายงานว่าแหล่งผลิตของวิตามินบี12 ในเหมเบ้ที่ผลิตในระดับอุตสาหกรรมที่เมืองโตรอนโตประเทศแคนาดา มีการใช้แบคทีเรียร่วมในการหมักของเหมเบ้โดยอาศัยการถ่ายเชื้อแบคทีเรียที่บริสุทธิ์ที่สามารถสร้างวิตามินบี12 และเชื้อราลงบนตัวเหลืองที่ผ่านฆ่าเชื้อแล้วทำให้สามารถผลิตวิตามินบี12 ได้ถึง 148 ng/g และการที่มีเชื้อราเจริญร่วมในการหมักด้วยนั้นจะไม่มีผลในการยับยั้งหรือเพิ่มผลผลิตของวิตามินบี12 จากเชื้อแบคทีเรียที่ใช้

Ro และคณะ(1979:50) ศึกษาการผลิตของวิตามินบี12 ในการหมักกิมจิ (Kimchi) โดยใช้กระหล่ำปลีเป็นวัตถุดิบ พบว่าจุลินทรีย์ที่ผลิตวิตามินบี12 คือเชื้อ *P. freudenreichii* ss. *shermanii* (ATCC 13673) และจากการถ่ายเชื้อ *P. freudenreichii* ss.*shermanii* ลงในกิมจิโดยตรง พบว่าในสัปดาห์แรกของการหมักที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีการผลิตวิตามินบี12 เพิ่มมากที่สุดถึง 102 ng/100g ในขณะที่ไม่เติมเชื้อ *P. freudenreichii* ss.*shermanii* (ATCC 13673) มีวิตามินบี12 เพียง 47 ng/100 g และวิตามินบี12 เพิ่มเป็น 197 และ203 ng/100 g ตามลำดับในสัปดาห์ต่อมา

Krusong และคณะ(1991a:32) ศึกษาอิทธิพลของเชื้อรา *R. oligosporus* ต่อผลผลิตของวิตามินบี12 พบว่าไม่มีผลต่อการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของวิตามินบี12 ในผลิตภัณฑ์เหมเบ้

Liem และคณะ (1977:37) รายงานว่าสายพันธุ์ถั่วเหลืองโดยทั่วไปจะมีวิตามินบี12 อยู่น้อยกว่า 1 ng/g การหมักด้วยแบคทีเรียแลคติกที่เกิดขึ้น ในระหว่างการแช่ถั่วเหลืองจะไม่มีผลต่อปริมาณของวิตามินบี12 ของเทมเป้ที่ได้จากเชื้อราที่บริสุทธิ์ ในขณะที่ Krusong และคณะ (1991b: 33) ศึกษาการใช้ *Lactobacillus casei* ในระหว่างการแช่ถั่วที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง พบว่าไม่มีผลต่อปริมาณของวิตามินบี12 ในผลิตภัณฑ์เทมเป้ และวิตามินบี12 ในเทมเป้ที่ผลิตโดยเชื้อผสมของแบคทีเรีย *L. casei* และ *P. shermanii* มีปริมาณการผลิตที่ต่ำกว่าการใช้เชื้อ *P. shermanii* เพียงอย่างเดียว

จ. เชื้อราที่ใช้ในการหมักเทมเป้

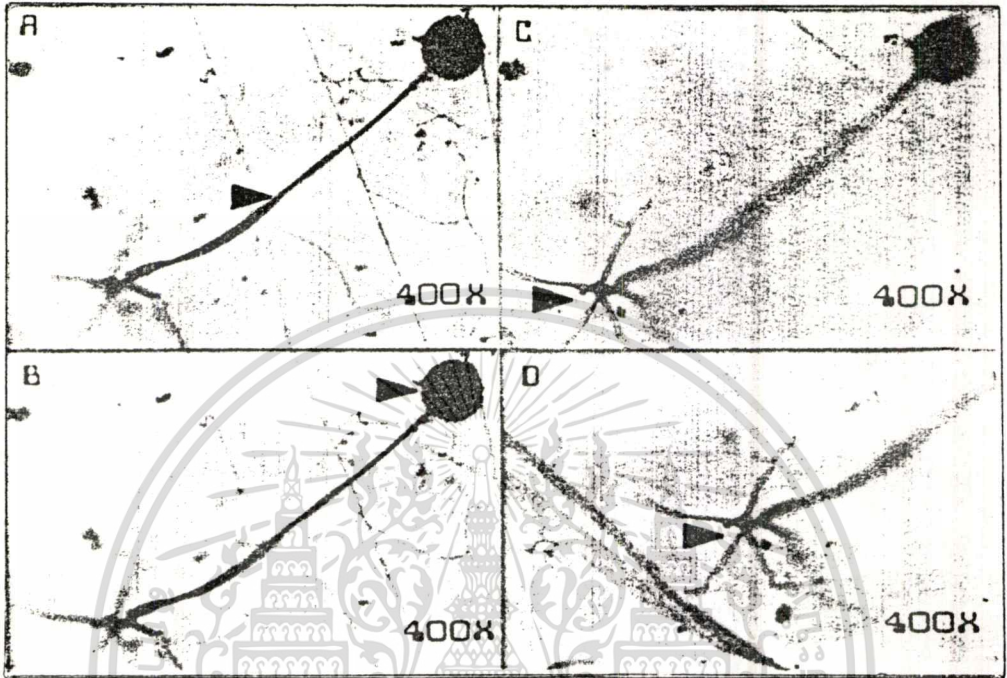
เชื้อราที่มีบทบาทในการหมักเทมเป้ ได้แก่ เชื้อราในสกุลของ *Rhizopus* หลายสายพันธุ์ได้แก่ *R. oryzae* , *R. oligosporus* , *R. arrchinus* , *R. stolonifer*, *R. formosaesis* , *R. achlamydosporus* , *R. chinensis*, และ *R. cohnii* โดยที่ *R. formosaesis* และ *R. oligosporus* เหมาะสมที่สุดสำหรับการใช้เป็นเชื้อบริสุทธิ์ในการทำเทมเป้ และได้มีการคัดเลือกได้หลายสายพันธุ์ด้วยกัน เช่น *R. oligosporus* สายพันธุ์ NRRL 1521, NRRL 2710 , NRRL 5905 และ CBS 338.62 เป็นต้น (นภา โสฬ์ทอง 2535:6) ดังแสดงโครงสร้างของ *R. oligosporus* ที่ใช้ในภาพที่ 4

สมบัติที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *R. oligosporus* มีดังนี้ (นภา โสฬ์ทอง 2535:6)

1.เจริญได้ในที่อุณหภูมิตั้งแต่ 30-42 องศาเซลเซียส และเมื่อ pH ของถั่วเหลืองลดลงประมาณ 4.0 เชื้อราจะเจริญและสร้างเส้นใยขึ้นปกคลุมทั่วก้อนภายใน 18-20 ชั่วโมง ทำให้จุลินทรีย์อื่นๆเจริญแข่งขันได้ยาก

2.เป็นเชื้อราที่ไม่สามารถใช้น้ำตาลซูโครสได้ คุณสมบัตินี้มีผลดีต่อการหมักเทมเป้ เนื่องจากเมล็ดถั่วที่นึ่งสุกแล้วจะประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส สแตโคไอส และแรฟฟิโนสเท่ากับร้อยละ 1.84 1.40 และ 0.35 ของน้ำหนักแห้งตามลำดับ ในการหมักพวกเชื้อราจะใช้น้ำตาลซูโครสให้หมดไปก่อน จึงเริ่มมีการใช้น้ำตาลชนิดอื่น ซึ่งเป็นขณะกิจกรรมการหมักเล็วจึ้น ดังนั้นเทมเป้ที่ผลิตได้จึงยังคงมีน้ำตาลสแตโคไอสที่เหลืออยู่ในปริมาณค่อนข้างมาก จึงทำให้ผู้บริโภคมีอาการท้องอืดเนื่องจากไม่สามารถย่อยน้ำตาลนี้ได้ เป็นอาการเดียวกับที่ผู้บริโภคนมที่

ภาพที่ 4



แสดงโครงสร้างของ *R. oligosporus**: (A) sporangiophore ; (B) sporangium ; (C), และ(D) rhizoid

* คัดเลือกจากเห็บที่จำหน่ายในเมือง Bogor ประเทศอินโดนีเซีย ปี ค.ศ. 1986
ที่มา : วราวุฒิ ครุสง (2538:13)

ขาดน้ำย่อยแลคเตส ดังนั้นเมื่อสายพันธุ์เชื้อราที่คัดเลือกไม่สามารถใช้ซูโครส เมื่อเริ่มเจริญเชื้อราจะใช้สแตโคไอสแทนที่ทำให้น้ำตาลนี้หมดไปหรือเหลืออยู่น้อยมาก

3.เป็นสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์โปรติเอส พบว่าโปรติเอสที่ผลิตโดย *R. oligosporus* นั้นมีทั้งเอนไซม์ที่มีกิจกรรมการย่อยที่ดีที่สุดที่ pH ประมาณ 3 และเอนไซม์ที่มีกิจกรรมการย่อยที่สูงสุดที่ pH 5 เอนไซม์ทั้งสองจัดเป็นเอนไซม์ acid protease ซึ่งมีสมบัติที่ดีต่อการหมักเห็บ เนื่องจากในขณะแช่น้ำนั้นจะมีกิจกรรมการหมักของแบคทีเรียบางชนิดมีผลต่อการผลิตวิตามินบี12 และแบคทีเรียเหล่านี้จะผลิตกรดทำให้ pH ของถั่วเหลืองลด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลงในระดับที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ ในปัจจุบันนิยมแช่ถั่วเหลืองในน้ำซึ่งเติมกรดแลคติก

การที่สายพันธุ์ที่คัดเลือกมีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์โปรติเอสสูง ทำให้การย่อยสลายโปรตีนในถั่วเหลืองดำเนินไปอย่างรวดเร็ว และปลดปล่อยแอมโมเนียในปริมาณมาก โดยที่หลังจากการหมักเกิดขึ้นได้ประมาณ 48 ชั่วโมง แอมโมเนียจะมีมากพอที่จะยับยั้งไม่ให้เชื้อราเจริญต่อซึ่งในช่วงระยะเวลาในการหมัก 24-48 ชั่วโมงนี้ เชื้อราจะไม่สร้างสปอร์ จึงทำให้ผลิตภัณฑ์มีลักษณะน่ารับประทาน ดังนั้นการปลดปล่อยแอมโมเนียจึงเท่ากับเป็นการหยุดกิจกรรมการหมัก

นอกจากนี้การที่เชื้อสามารถย่อยสลายโปรตีนได้ดี โปรตีนจะเปลี่ยนเป็นกรดอมิโนในปริมาณมาก ทำให้เทมเป้เป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงและย่อยง่าย

4.สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสย่อยไขมันในเมล็ดถั่วเหลือง ดังนั้นเทมเป้จึงประกอบไปด้วยกรดไขมัน (fatty acid) หลายชนิดเช่น กรดลิโนลิอิก กรดโอเลอิก กรดพาล์มิติก กรดลิโนเลนิกและกรดสเตียริก เป็นต้น

5.สามารถผลิตเอนไซม์ย่อยเซลลูโลส เช่น เซลลูเลส ไซลาเนส อราบิเนส เป็นต้น

6.เป็นสายพันธุ์ที่ผลิตสารที่มีสมบัติเป็น antioxidant ได้แก่ 6,7,4, trihydroxy isoflavone จึงทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้ไม่มีกลิ่นเหม็นหืน

7.สามารถผลิตเอนไซม์ phytase ทำให้ phytic acid ในถั่วเหลืองลดปริมาณลง

8.เทมเป้ที่ผลิตโดยใช้ *R. oligosporus* เหล่านี้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีกลิ่นรสและเนื้อสัมผัสเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

แบคทีเรียที่สร้างวิตามินบี12

เชื้อแบคทีเรียที่สร้างวิตามินบี12 มีหลายชนิดแต่ที่ได้รับความสนใจมาก ได้แก่ : *Propionibacterium shermanii* (Krusong และคณะ 1991a: 32) ซึ่งมีสมบัติดังนี้

1.ลักษณะรูปร่างของ *P. shermanii* เป็นแบคทีเรียที่แยกได้จากผลิตภัณฑ์นม นมดิบ และ Swiss cheese มีรูปร่างขนาดเล็ก ขนาดเล็กกว่า 0.5 ไมครอน มักอยู่เป็นคู่หรือเป็นสาย

สั้นๆในสภาพไม่มีอากาศ (anaerobe) ส่วนในสภาพที่มีอากาศ (aerobe) มีการเจริญที่ไม่สม่ำเสมอ รูปร่างอาจเป็นแบบ club-shaped และ branched หรือเป็นท่อนยาวไม่เคลื่อนที่มี metachromatic granules แกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ catalase-positive เจริญในสภาพไม่มีอากาศ จนถึง aerotolerant สามารถหมักกรดแลคติก กรดไพรูวิก และคาร์โบไฮเดรตได้ (พรพรรณ อภิรักษ์ติงศ์ 2519:9)

2.การสังเคราะห์วิตามินบี12 โดย *Propionibacterium* sp. เชื้อ *Propionibacteria* ต้องการอากาศเพียงเล็กน้อยเท่านั้นในการผลิตวิตามินบี12 โดยใช้อาหารที่มีการเติมโคบอลท์ลงไปด้วย การผลิตวิตามินบี12 ที่เรียกว่า adenosyl cobalamin ขึ้นอยู่กับการเติม 5,6-dimethylbenzimidazole (DBI) ลงในกระบวนการผลิต แต่ก็มีบางชนิดสามารถสังเคราะห์ DBI ด้วยตัวเองและการหมุนเวียนของอากาศที่เหมาะสมแก่การสังเคราะห์ DBI ด้วยคือ เชื้อจะสังเคราะห์ DBI ในช่วงที่มีอากาศ ดังนั้นการที่จะผลิตวิตามินบี12 ให้ได้ปริมาณมากควรผลิตแบบ 2 ขั้นตอน ขั้นตอนแรกให้เชื้อเจริญในสภาพปราศจากอากาศ โดยใช้เวลา 2-4 วัน เชื้อจะใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนเกือบหมด ขั้นตอนที่สองมีการให้อากาศเป็นเวลา 3-4 วัน จะได้วิตามินบี12 ในปริมาณมาก คาดคะเนว่าสาร cobinamide-5-deoxyadenosine จะเกิดขึ้นในขั้นตอนแรกและสารนี้จะเปลี่ยนเป็น 5,6-dimethyl- α -benzoylcobamide-5-deoxyadenosine ในช่วงหลัง การเลี้ยงจุลินทรีย์อาจจะเลี้ยงเป็นครั้งคราวในถังหมักเดียวกันหรืออาจจะเลี้ยงแบบต่อเนื่องได้ โดยทำให้เกิดสองสภาพในถังดังกล่าวหรืออาจจะเลี้ยงจุลินทรีย์ในสภาพที่ปราศจากอากาศ เมื่อได้เซลล์ในปริมาณมากๆแล้วจึงแยกเซลล์ออกโดยใช้เครื่องเหวี่ยง นำเซลล์ไปเลี้ยงไว้ในสภาพที่มีอากาศ เพื่อผลิตวิตามินบี12 หรืออาจนำเซลล์ที่แยกได้ นำไปเติม DBI และ CN หรืออาจเติม DBI ในช่วงที่ปราศจากอากาศ ระยะเวลาในการบ่มจะสั้นลงเพราะสามารถตัดช่วงที่มีอากาศออกไป แต่ต่อมาพบว่าสายพันธุ์ที่ไม่สามารถสังเคราะห์ DBI ได้จะเติม DBI ในขั้นตอนที่สองเท่านั้น เนื่องจากสารตัวนี้จะไปยับยั้งการสังเคราะห์ corrinoid จึงไม่ควรเติม DBI ในระหว่างการเลี้ยงขั้นแรก (ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์ 2525:8)

3.ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตวิตามินบี12 ของ *Propionibacterium sp.*

3.1 อาหาร

ก. แหล่งธาตุคาร์บอน

- คาร์โบไฮเดรต เช่น เด็กซ์โตรส มอลโตส ซาโลส แลคโตส ซูโครส กากน้ำตาล แป้ง และคาร์โบไฮเดรตอื่นๆ บางชนิด

- สารประกอบอินทรีย์อื่น ๆ เช่น กรดแลคติก กรดกลูโคนิก กรดซิตริก และกลีเซอรอล ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในปริมาณร้อยละ 5-10 น้ำตาลที่ดีที่สุดที่เหมาะสมสำหรับการเจริญและการผลิตวิตามินบี12 ของ *P. shermanii* คือ น้ำตาลกลูโคส

ข. แหล่งไนโตรเจน

มักเป็นพวกกรดอะมิโนหรือโปรตีนจากตัวเหลือง ข้าวโอ๊ต ข้าวโพด ข้าวสาลี เนื้อสัตว์ ยีสต์สกัด , tryptic digest of casein, pancreatic digest of casein , meat extract , blood meal protein , bone scrop , fish meals , fish solubles , peptone , peanut meal , cotton seed meal , corn steep liquor และ lactalbumin แต่พบว่าแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมแก่การเจริญของ *P. shermanii* คือ แอมโมเนียไฮดรอกไซด์และแอมโมเนียมฟอสเฟต

ค. แหล่งแร่ธาตุ

แร่ธาตุที่มีความสำคัญต่อการเจริญและการผลิตวิตามินบี12 ได้แก่ โคบอลต์ ไชยาไนต์ และแมกนีเซียม

-โคบอลต์จำเป็นต่อการเพิ่มผลผลิตของวิตามินบี12 เมื่อเติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อจะต้องเติมในปริมาณที่พอเหมาะ ถ้าสูงเกินไปจะเป็นพิษกับจุลินทรีย์และมีผลต่อการสร้างวิตามินบี12 จุลินทรีย์จะสามารถใช้โคบอลต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ในช่วงไม่เกิน 20 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้จะเป็นพิษต่อจุลินทรีย์แล้วยังมีผลถึงการสร้างวิตามินบี12 ได้ โคบอลต์ที่ได้อาจอยู่ในรูปของเกลือที่ละลายน้ำได้เช่น โคบอลต์คลอไรด์ โคบอลต์ซัลเฟต โคบอลต์ไนเตรท หรือเกลือโคบอลต์อื่น ๆ

-ไชยาไนต์ ช่วยเพิ่มผลผลิตของวิตามินบี12 เมื่อเติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อจะต้องเติมในปริมาณที่พอเหมาะไม่เกิน 0.1-100 มิลลิกรัมต่อลิตร ถ้าสูงกว่านี้จะเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ ส่วนใหญ่นิยมใช้ในลักษณะของ ammonium cyanide , metal , alkali metal และ alkaline earth , metal cyanides , ferrocyanides , ferricyanides หรือในรูปเกลือโซเดียม

โปแตสเซียม แมกนีเซียม แคลเซียม สตรอนเตียม และลักษณะอื่นๆ เช่น ของเหลวและก๊าซได้แก่ hydrocyanide acid และ hydrogen cyanide

-เหล็ก (Fe) มีความสำคัญต่อการเจริญและผลิตวิตามินบี12 ของ

P. shermanii เช่นเดียวกับกับแคลเซียม

ง. วิตามิน

วิตามินบี12 มีความสำคัญในการช่วยเพิ่มวิตามินบี12 โดยที่สามารถใช้วิตามินบี12 แทน 5,6-dimethylbenzimidazole ซึ่งเป็น precursor ที่สำคัญของวิตามินบี12 *P. shermanii* สามารถเปลี่ยนวิตามินบี12 เป็น 5,6-dimethylbenzimidazole ได้

3.2 สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตวิตามินบี12

ประกอบด้วย

ก. pH ของอาหาร

pH ที่เหมาะสมในการเจริญของ *Propionibacterium* sp. อยู่ระหว่าง 6.8-7.2 แต่เจริญได้ดีที่สุดที่ pH 7.0 โดยจะต้องรักษาระดับ pH ของอาหารให้อยู่ระหว่าง 4-9 (ที่เหมาะสม 6-7) เพราะถ้า pH สูงหรือต่ำกว่านี้จะทำให้เกิดการสลายตัวของวิตามินบี12 เนื่องจาก cobalamin ไม่คงตัวหรือถูกทำลายได้ง่าย

ข. อุณหภูมิ

อุณหภูมิประมาณ 30 องศาเซลเซียส เป็นสภาวะที่แบคทีเรียเจริญได้ดีและเหมาะสมในการผลิตวิตามินบี12 แต่สำหรับ *P. shermanii* พบว่าสามารถผลิตวิตามินบี12 มากที่สุดที่อุณหภูมิระหว่าง 18-21 องศาเซลเซียส

ค. อากาศ

ในสภาวะไม่มีอากาศสามารถทำได้โดยผ่าน non-oxidizing gas เช่น ไนโตรเจนหรือคาร์บอนไดออกไซด์ลงไป ในอาหารเลี้ยงเชื้อ หรือรักษาระดับก๊าซเหนืออาหารในสภาวะที่ไม่ต้องกวนเพราะจะเป็นการนำออกซิเจนลงไป ในอาหารเลี้ยงเชื้อ คาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งจุลินทรีย์สร้างขึ้นจะช่วยรักษาสภาวะไม่มีอากาศของอาหารเลี้ยงเชื้อ สาเหตุที่ต้องควบคุมออกซิเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ เนื่องจากการให้ออกซิเจนมากเกินไปจะทำให้ผลผลิตของ cobalamin น้อยลง

การผลิตนมเปรี้ยวจากถั่วเหลือง

นมเปรี้ยวเป็นผลิตภัณฑ์นมชนิดหนึ่งที่เป็นที่รู้จักกันมานาน ในกลุ่มชาวยุโรปตะวันออก และเอเชีย ตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่ 46 (พศ. 2523) เรื่องนมเปรี้ยว กำหนดว่า นมเปรี้ยว (culture milk) หมายถึง นมหรือผลิตภัณฑ์นมที่ได้จากนมที่หมักด้วยจุลินทรีย์ที่ไม่ทำให้เกิดโรคหรือไม่ทำให้เกิดพิษ และจุลินทรีย์ดังกล่าวยังคงมีชีวิตเหลืออยู่จากกรรมวิธีการหมักนั้น อาจจะมีวัตถุอื่นที่จำเป็นต่อกรรมวิธีการผลิตหรืออาจปรุงแต่งสี กลิ่น รสด้วยก็ได้

ประเภทของนมเปรี้ยวที่ผลิตออกมาจำหน่ายส่วนใหญ่ จะเป็นนมเปรี้ยวชนิดโยเกิร์ต โดยแบ่งออกเป็น 2 ประเภทคือ

1. โยเกิร์ตชนิดครีม ปัจจุบันมี 3 ลักษณะคือ

1.1 โยเกิร์ตแบบธรรมดาที่ไม่ปรุงแต่งกลิ่นรส หรือเติมผลไม้ลงไป

1.2 โยเกิร์ตรสผลไม้

1.3 โยเกิร์ตผสมน้ำตาล หรือบางครั้งอาจเติมผลไม้ลงไปด้วย

2. โยเกิร์ตพร้อมดื่ม เป็นโยเกิร์ตชนิดครีมผสมกับน้ำเชื่อม และปรุงแต่งรสตามที่ต้องการเช่น รสผลไม้รวม รสสับปะรด รสส้ม เป็นต้น ในอัตราส่วน 1:1 ปัจจุบันตลาดของโยเกิร์ตพร้อมดื่มขยายตัวอยู่ในเกณฑ์สูงมาก โดยมีการขยายตัวสูงกว่าโยเกิร์ตแบบครีม (ส่วนวิจัยเกษตรกรรม ฝ่ายวิชาการธนาคารกสิกรไทย 2523:18)

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตโยเกิร์ตส่วนใหญ่ได้แก่นมโค และอาจมีการเติมองค์ประกอบอื่นๆลงไปได้อีก เช่น นมผง น้ำตาล และสารช่วยให้คงตัว เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีการวิจัยการผลิตโยเกิร์ตเพื่อใช้น้ำนมถั่วเหลืองแทนนมโค ทั้งนี้เนื่องจากน้ำนมถั่วเหลืองมีราคาต้นทุนที่ต่ำกว่านมโคและมีโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบสูง และจากการใช้ประโยชน์จากแบคทีเรียชนิดที่มีการผลิตกรดแลคติกในการปรับปรุงคุณภาพด้านกลิ่นของถั่วเหลืองได้เป็นผลสำเร็จ ผู้บริโภคให้การยอมรับในผลิตภัณฑ์มากขึ้น

Angeles และ Marth (1971:20) ได้รายงานว่าน้ำนมถั่วเหลืองเป็นอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกชนิดหนึ่ง

Buono และคณะ (1990:26) ได้ปรับปรุงคุณภาพของโยเกิร์ตจากถั่วเหลืองโดยการเติมน้ำตาลฟรุคโตส นมข้น และหางนม พบว่าโยเกิร์ตที่เติมหางนมจะให้ความหนืดที่สูงที่สุด ส่วนโยเกิร์ตที่เติมน้ำตาลฟรุคโตสจะให้ความหวานที่มากกว่า และมีกลิ่นถั่วเหลืองที่น้อยกว่า การเติมหางนมและนมข้น

Lee และคณะ (1990:36) ได้ศึกษาเปรียบเทียบโยเกิร์ตที่เตรียมได้จากนมโคและโยเกิร์ตที่เตรียมได้จากนํ้านมถั่วเหลืองโดยการใส่เวย์โปรตีนเข้มข้นและหางนมผงเป็นส่วนผสม พบว่าโยเกิร์ตที่ได้จากถั่วเหลืองที่เติมเวย์โปรตีนเข้มข้นและหางนมผงเป็นส่วนผสมมีการฟอร์มตัวได้ดีเท่ากับโยเกิร์ตที่เตรียมได้จากนมโค

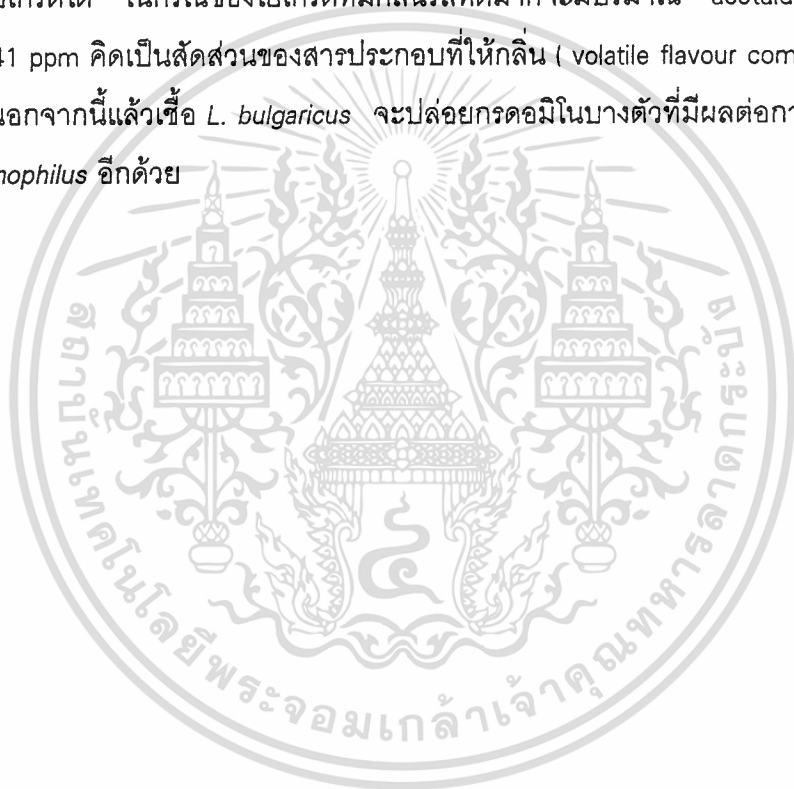
Nsofor และ Chukwu (1992:45) ศึกษาคุณภาพทางประสาทสัมผัสของโยเกิร์ตจากถั่วเหลืองโดยใช้ soybean solids น้ำตาลซูโครส แป้งข้าวโพด โซเดียมซิเตรท ในปริมาณร้อยละ 22 4 2 และ 0.3 ตามลำดับ เป็นส่วนผสมในการเตรียมโยเกิร์ตจากถั่วเหลือง เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับโยเกิร์ตที่เตรียมจากนมโคโดยทางประสาทสัมผัส พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติผู้บริโภครับประทานให้ยอมรับผลผลิตภัณฑ์

จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตนมเปรี้ยว

หัวเชื้อเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในการผลิตโยเกิร์ต ลักษณะที่ต้องการของหัวเชื้อโยเกิร์ตคือสภาพปลอดเชื้อปนเปื้อน เจริญได้ดีในส่วนผสมของนมที่ใช้เตรียมโยเกิร์ต ให้กลิ่นรสที่ต้องการ โครงสร้างของลักษณะเนื้อดี และต้านทานต่อ phages และสารปฏิชีวนะ ในการสร้างกลิ่นรส (flavor) และลักษณะของเนื้อสัมผัส (texture) ต้องใช้หัวเชื้อผสมของ *Lactobacillus bulgaricus* และเชื้อ *Streptococcus thermophilus* โดยทั่วไปจะใช้หัวเชื้อทั้งสองชนิดนี้ในอัตราส่วนที่เท่ากัน (จำนวนเซลล์) แบคทีเรียเหล่านี้จะมีความสัมพันธ์แบบพึ่งพากันเมื่อใช้ร่วมกัน (symbiosis) โดยปกติเชื้อทั้งสองเจริญร่วมกันภายใต้สภาวะที่ควบคุม เพื่อให้ได้เชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสมดุลย์ถูกต้อง (วราวุฒิและรุ่งนภา 2532:12)

ลักษณะที่พึ่งพาอาศัยกันของจุลินทรีย์ในหัวเชื้อโยเกิร์ต คือช่วงแรกเชื้อ *S. thermophilus* ซึ่งมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตเท่ากับ 40 องศาเซลเซียส สามารถเจริญขึ้น

อย่างรวดเร็วและก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงหลายประการกล่าวคือ เชื้อ *S. thermophilus* สร้าง diacetyl และสารประกอบที่คล้ายกัน ซึ่งมีผลต่อกลิ่นรสของครีมเนยในผลิตภัณฑ์สุดท้าย และช่วยกำจัดออกซิเจนออกจากนม เพื่อป้องกันมิให้เกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ การเจริญจะดำเนินต่อไปจนกระทั่งความเป็นกรดถึง pH 5.5 จะมีสารอาหารที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของเชื้อ *L. bulgaricus* ต่อไป เชื้อ *L. bulgaricus* มีอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญที่ 43 องศาเซลเซียส และยังให้ปริมาณกรดแลคติกที่มากพอที่จะสร้าง acetaldehyde ซึ่งให้กลิ่นรสเฉพาะของโยเกิร์ตได้ ในกรณีของโยเกิร์ตที่มีกลิ่นรสที่ดีมากจะมีปริมาณ acetaldehyde อยู่ระหว่าง 23-41 ppm คิดเป็นสัดส่วนของสารประกอบที่ให้กลิ่น (volatile flavour compound) ถึงร้อยละ 90 นอกจากนี้แล้วเชื้อ *L. bulgaricus* จะปล่อยกรดอมิโนในบางตัวที่มีผลต่อการเจริญของเชื้อ *S. thermophilus* อีกด้วย



บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

วัตถุดิบ

- 1.1 ถั่วเหลือง
- 1.2 น้ำตาลทราย (น้ำตาลซูโครส)
- 1.3 หางนมผง
- 1.4 สารให้ความคงตัว (stabilizer) ได้แก่
 - 1.4.1 เจลาติน
 - 1.4.2 คาราจีแนน
 - 1.4.3 แชนแทนกัม
- 1.5 สารให้กลิ่นรส ได้แก่
 - 1.5.1 กลิ่นรสส้ม
 - 1.5.2 กลิ่นรสสตรอเบอร์รี่
 - 1.5.3 กลิ่นรสส้มประด
- 1.6 หัวเชื้อผง *Rhizopus oligosporus*
- 1.7 เชื้อแบคทีเรีย *Propionibacterium shermanii*
- 1.8 เชื้อแบคทีเรียแลคโตค็อคคัส *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus*
- 1.9 เชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus leichmanii* (ATCC 7830)

อุปกรณ์ในการผลิต

- | | | |
|----------------------------|-----------|----------|
| 2.1 ตู้อบ (hot air oven) | Binder, | เยอร์มัน |
| 2.2 ตู้บ่ม (incubator) | Memmert , | เยอร์มัน |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ถาดสแตนเลสขนาด 35x45x3 ตารางเซนติเมตร		
2.4 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave)	Tomy ss-245 ,	ญี่ปุ่น
2.5 เครื่องปั่นผสม (blender)	MX - T 100 PN ,	ญี่ปุ่น
2.6 เครื่องชั่งน้ำหนัก	Mettler PE 3000,	ญี่ปุ่น
2.7 เทอร์โมมิเตอร์		
2.8 เครื่องไฮโมจีโนเซอร์	Armfield FT 9 ,	อังกฤษ

อุปกรณ์ในการวิเคราะห์

3.1 ตู้อบ	Memmert ,	เยอรมัน
3.2 เครื่องวัด pH	Suntex SP-701,	ญี่ปุ่น
3.3 เครื่องสเปคโตรมิเตอร์	Cecil 292 ,	อังกฤษ
3.4 ตู้อบเพาะเชื้อ	Memmert ,	เยอรมัน
3.5 เครื่องวัดความหนืด	Brookfield ,	อเมริกา
3.6 เครื่องชั่งชนิดละเอียด	Mettler AE50 ,	ญี่ปุ่น
3.7 เครื่องวิเคราะห์หาโปรตีน	Buchi 425 ,	เยอรมัน
3.8 อุปกรณ์เครื่องแก้ว เคมีภัณฑ์ และอาหารเลี้ยงเชื้อ		

วิธีการ

1. ภาวะที่เหมาะสมในการผลิต High Vitamin B₁₂ - Tempe (HVT) ในระดับขยาย ส่วน

เตรียม HVT ตามวิธีของ Krusong และคณะ (1991a:32) ดังแสดงในภาพที่ 5 โดยนำ ถั่วเหลืองมาผ่านขั้นตอนการปรับสภาพดังนี้ นำถั่วเหลืองมากระเทาะเปลือกออก ล้าง แล้วแช่ ถั่วเหลืองในน้ำที่ปรับความเป็นกรดด้วยของกรดแลคติก (ความเข้มข้นร้อยละ 80) ในปริมาณ ร้อยละ 1 ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง นำมาล้างและแยกเปลือกออกก่อน นำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จนผิวหน้าของถั่วเหลืองแห้ง จากนั้นจึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง ถ่ายหัวเชื้อราวมง *Rhizopus oligosporus* ปริมาตรร้อยละ 0.5 และหัวเชื้อแบคทีเรีย *Propionibacterium shermanii* ปริมาตรร้อยละ 5 บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยเชื้อ *R. oligosporus* ได้จากการแยกเชื้อของ Krusong (1986) จากประเทศอินโดนีเซีย และเชื้อ *P. shermanii* ได้จากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สำหรับปัจจัยที่เหมาะสมในการผลิต HVT ในระดับขยายส่วน(ระดับ 2-3 กิโลกรัมต่อ ถาด)ที่ทำการศึกษประกอบด้วย

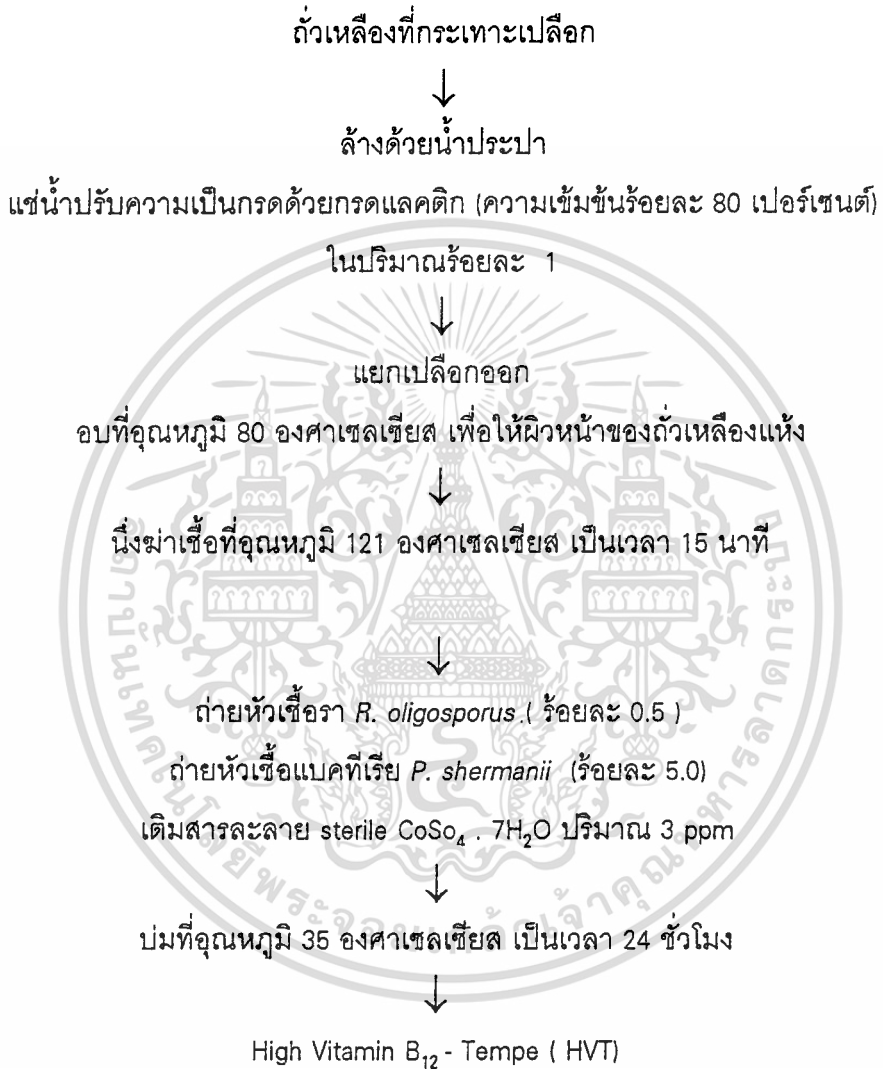
1.1 ความหนาของชั้นถั่วเหลืองที่เหมาะสมในการหมักเพื่อผลิต HVT

โดยใช้ระดับความหนาของชั้นถั่วเหลืองที่ 1 2 และ 3 เซนติเมตร ในถาดหมักที่ ทำด้วยสแตนเลสขนาด 30x45x3 เซนติเมตร หลังจากถ่ายหัวเชื้อรา *R. oligosporus* และหัวเชื้อ แบคทีเรีย *P. shermanii* บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ ปริมาณของวิตามินบี₁₂ (ภาคผนวก ข) ความเป็นกรด(ภาคผนวก ก. 4) และ pH ที่เกิดขึ้นใน ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองหมัก

1.2 ความชื้นของถั่วเหลืองที่เหมาะสมในการผลิต HVT

โดยหลังจากแช่ถั่วเหลืองและแยกเอาเปลือกออกแล้วอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส จนกระทั่งได้ความชื้นร้อยละ 45 50 55 และ 60 ทั้งนี้ขั้นตอนการปรับความชื้นดังกล่าวแสดง ในภาคผนวก ก. 9 จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ทำให้

ภาพที่ 5



แสดงการผลิต High Vitamin B₁₂ - Tempe

ที่มา : Krusong และคณะ (1991a:32)

เย็น และปรับปริมาณความหนาของชั้นถั่วเหลืองที่เหมาะสมจากข้อ 1.1 ถ่ายหัวเชื้อรา *R. oligosporus* และหัวเชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณของวิตามินบี12 ความเป็นกรด และ pH ที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองหมัก

1.3 ปริมาณของโคบอลต์ ($\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) ที่เหมาะสมต่อการผลิตวิตามินบี12 ใน HVT ระดับขยายส่วน

หลังจากที่ศึกษาระดับของความหนาของชั้นถั่วเหลืองและความชื้นที่เหมาะสมจากข้อ 1.1 และ 1.2 นำถั่วเหลืองมาผ่านการฆ่าเชื้อและเพิ่มปริมาณของโคบอลต์ (Sterilized cobalt solution) ความเข้มข้น 0 1 2 3 4 และ 5 ppm จากนั้นถ่ายหัวเชื้อรา *R. oligosporus* และหัวเชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณของวิตามินบี12 ความเป็นกรด และ pH ที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองหมัก

1.4 อุณหภูมิที่ใช้บ่ม HVT ระดับขยายส่วน

หลังจากที่ควบคุมปัจจัยต่างๆที่เหมาะสมจากข้อ 1.1 1.2 และ 1.3 นำถั่วเหลืองที่ปรับสภาพที่เหมาะสมและผ่านการฆ่าเชื้อแล้วมาถ่ายหัวเชื้อรา *R. oligosporus* และหัวเชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* นำมาบ่มที่อุณหภูมิ 30 35 37 และ 40 องศาเซลเซียส ที่ระยะเวลา 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณของวิตามินบี12 ความเป็นกรด และ pH ที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองหมัก

2. การเตรียมน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12

2.1 อัตราส่วนของ HVT ต่อปริมาณน้ำที่เหมาะสม

นำ HVT ที่เตรียมได้จากข้อ 1 มาเตรียมเป็นน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 โดยนำ HVT มาบ่มด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที (ทศพร ยศสมบัติ 2527:5) ด้วย อัตราส่วน HVT ต่อปริมาณน้ำร้อนเท่ากับ 1:6 1:7 1:8 1:9 และ 1:10 วิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด (ภาคผนวก ก. 1) และพิจารณากลิ่นของถั่วเหลืองที่เกิดขึ้นทางประสาทสัมผัสและการแยกตัวของตะกอนที่เกิดขึ้น (ภาคผนวก ก. 7)

2.2 อุณหภูมิของน้ำที่ใช้ในการตีปั่น

หลังจากที่ได้อัตราส่วนของ HVT ต่อปริมาณน้ำร้อนที่เหมาะสมจากข้อ 2.1 ปริมาณน้ำร้อนที่เหมาะสมนั้นจะนำมาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60 70 80 90 และ 100 องศาเซลเซียส นำมาปั่นเป็นเวลา 3 นาที และวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด และพิจารณากลิ่นของถั่วเหลืองทางประสาทสัมผัสและการแยกตัวของตะกอนที่เกิดขึ้น

2.3 ระยะเวลาในการตีปั่นที่เหมาะสม

นำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่เตรียมได้จากอัตราส่วนที่เหมาะสมจากข้อ 2.1 และอุณหภูมิที่เหมาะสมจากข้อ 2.2 แล้ว นำมาปั่นด้วยระยะเวลา 1 2 3 4 และ 5 นาที จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด และพิจารณากลิ่นของถั่วเหลืองที่เกิดขึ้นทางประสาทสัมผัสและการแยกตัวของตะกอนที่เกิดขึ้น

3. การผลิตนมเปรี้ยวจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12

โดยนำน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่เตรียมได้จากข้อ 2 มาผ่านการให้ความร้อนในระดับพาสเจอร์ไรส์ ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วจึงถ่ายหัวเชื้อแลคติกผสมของ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* จาก Hansen's Laboratory ในปริมาณร้อยละ 5 บ่มที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วิธีการเตรียมนมเปรี้ยวจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 แสดงในภาพที่ 6

สำหรับปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ประกอบด้วย

3.1 ผลของปริมาณหางนมผง (skim milk) ต่อการสร้างกรดในการหมักนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12

นำน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 มาเติมหางนมผงในปริมาณ คือร้อยละ 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 และ 10 หลังจากนั้นทำการฆ่าเชื้อและถ่ายเชื้อแลคติกผสมของ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* ในปริมาณร้อยละ 5 บ่มที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ค่าความเป็นกรด (ภาคผนวก ก. 4) และ pH ที่เกิดขึ้น

ภาพที่ 6

High Vitamin B12 - Tempe



บดด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส
เป็นเวลา 3 นาที (อัตราส่วน HVT ต่อน้ำเท่ากับ 1:8)



กรองด้วยผ้ากรอง 2 ชั้น



นมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12



ปรับสภาพนํ้านมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12



ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที



ถ่ายหัวเชื้อแบคทีเรียแลคติกผสมของ *L. bulgaricus*

และ *S. thermophilus* ในปริมาณร้อยละ 5.0



บ่มที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง



นมเปรี้ยวจากนํ้านมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12

แสดงการผลิตนมเปรี้ยวจากนํ้านมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12

3.2 ผลของปริมาณน้ำตาลซูโครสต่อการสร้างกรด ในการหมักนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12

นํ้านมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่ผ่านการปรับสภาพจากข้อ 3.1 นำมาเติมน้ำตาลซูโครสในปริมาณร้อยละ 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 และ 10 ทำการฆ่าเชื้อและถ่ายเชื้อผสมของ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* ในปริมาณร้อยละ 5 ป่มที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ค่าความเป็นกรด (ภาคผนวก ก. 4) และ pH ที่เกิดขึ้น

3.3 ปริมาณเชื้อ (starter) ที่เหมาะสมต่อการสร้างกรดในการหมักนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12

นํ้านมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่ผ่านการปรับสภาพจากข้อ 3.1 และ 3.2 หลังจากการถ่ายหัวเชื้อแลคติกผสม *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* ในปริมาณร้อยละ 0 2 5 7 และ 10 ป่มที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ค่าความเป็นกรด (ภาคผนวก ก. 4) pH และ TSS (ภาคผนวก ก. 1) ที่เกิดขึ้น

3.4 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสร้างกรดในการหมักนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12

นํ้านมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่เตรียมได้จากข้อ 3.1 และ 3.2 หลังจากถ่ายหัวเชื้อแลคติกผสมที่เหมาะสมจากข้อ 3.3 นำมาป่มที่อุณหภูมิ 35 37 40 43 และ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ค่าความเป็นกรด (ภาคผนวก ก. 4) pH และตรวจนับปริมาณของเชื้อแลคติก *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* ที่เจริญ ด้วยวิธี dilution plate count โดยใช้ pour plate technique บนอาหารแข็ง MRS (ภาคผนวก ค) ป่มที่อุณหภูมิ 42-43 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง โดยที่โคโลนีของ *L. bulgaricus* มีสีเหลือง รูปร่างกลมหรือวงรี ขนาดเล็ก อยู่ในชั้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ส่วนโคโลนีของ *S. thermophilus* มีสีขาว โคโลนีมีขนาดใหญ่กว่า รูปร่างกลม โคโลนีส่วนใหญ่อยู่บริเวณด้านล่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ

3.5 ระยะเวลาการหมัก (fermentation time) ที่เหมาะสมต่อการเกิดรสเปรี้ยวของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12

นํ้านมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่ผ่านการปรับสภาพแล้วจากการศึกษาที่ผ่านมา นำมาฆ่าเชื้อและถ่ายหัวเชื้อแลคติกผสมของ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* ในปริมาณที่เหมาะสมจากข้อ 3.3 บ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสมจากข้อ 3.4 ในระยะเวลา 0 3 6 9 12 14 16 18 20 22 และ 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ค่าความเป็นกรด (ภาคผนวก ก. 4) pH ปริมาณวิตามินบี12 (ภาคผนวก ข) และตรวจนับปริมาณของหัวเชื้อแลคติก *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* ที่เจริญ ด้วยวิธีเดียวกับข้อ 3.4

4. ปัจจัยที่เหมาะสมในการเตรียมนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนํ้านมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12

4.1 อัตราส่วนที่เหมาะสมของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ต่อปริมาณน้ำเชื่อม

นํ้านมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่ได้จากสภาพการผลิตที่เหมาะสมจากข้อ 3 นำมาเติมน้ำเชื่อมความเข้มข้น 28 องศาบริกซ์ (แสดงวิธีการผลิตในภาพที่ 7) ในอัตราส่วนของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ต่อปริมาณน้ำเชื่อมในอัตราส่วน 30:70 40:60 50:50 60:40 และ 70:30 นำมาบ่มผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องโฮโมจีไนส์ จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อและนำผลที่ได้วิเคราะห์หาปริมาณวิตามินบี12 (ภาคผนวก ข) ความเป็นกรด (ภาคผนวก ก.4) และ pH ของผลิตภัณฑ์ที่ได้ รวมทั้งทดสอบการยอมรับของผลิตภัณฑ์ โดยใช้ตัวอย่างนมเปรี้ยวพร้อมดื่มแช่เย็นที่อุณหภูมิ 5-10 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในปริมาณตัวอย่างละ 50 มิลลิลิตร และให้ผู้ชิมพิจารณาคุณภาพในด้าน กลิ่น สี รสชาติ เนื้อสัมผัสและการยอมรับรวม โดยอาศัยการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี 7 Point Hedonic Scale (ภาคผนวก ง)

4.2 ผลการใช้สารคงตัว (stabilizer) ที่เหมาะสมในการเตรียมนํ้านมเปรี้ยวพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี12

นํ้านมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 มาเติมน้ำเชื่อม 28 องศาบริกซ์ ในอัตราส่วนของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ต่อปริมาณน้ำเชื่อมที่เหมาะสมจากข้อ 4.1 และนำมา

ภาพที่ 7

นมเปรี้ยวจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12



เติมน้ำเชื่อม 28 องศาบริกซ์

อัตราส่วนนมเปรี้ยวต่อน้ำเชื่อมตามกำหนด



ทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องโฮโมจีไนส์



ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส

เป็นเวลา 30 นาที



นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12

แสดงการผลิตนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12

เติมสารคงตัว 3 ชนิดได้แก่ เจลาติน คาราจีแนน และแซนแทนกัม ในปริมาณร้อยละ 0 0.1 0.2 0.3 0.4 0.5 0.6 0.7 0.8 0.9 และ 1.0 วิเคราะห์ค่าสัดส่วนการลอยตัวของ ตะกอน และความหนืดของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น (ภาคผนวก ก. 8)

5.ทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคทางประสาทสัมผัสที่มีต่อผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี 12

นำน้ำนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่เตรียมขึ้นมาจากสภาพที่เหมาะสมจากการทดลองที่ผ่านมา นำมาเติมกลิ่นรสผลไม้คือกลิ่นรสส้ม กลิ่นรสสตรอเบอรี่ และกลิ่นรส สับปะรด ในปริมาณร้อยละ 0.2 จากนั้นนำมาทดสอบด้านประสาทสัมผัสของผู้บริโภค (ภาคผนวก จ) โดยพิจารณาในด้านสี กลิ่น รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส และการยอมรับรวม ซึ่งในการทดสอบใช้วิธี 7 Point Hedonic Scale โดยทำการเปรียบเทียบกับน้ำนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่ไม่ปรุงแต่งกลิ่นรสผลไม้ และน้ำนมเปรี้ยวพร้อมดื่มปรุงแต่งกลิ่นรสผลไม้จากนมวัวที่จำหน่ายในทางการค้า (ควบคุม)

6.การวิเคราะห์ทางเคมีของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี12

ผลิตภัณฑ์ที่ได้นำมาทำการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินบี12 (ภาคผนวก ข) ปริมาณของแข็ง(ภาคผนวก ก. 1) ปริมาณเถ้า (ภาคผนวก ก. 3) ปริมาณโปรตีนทั้งหมด (ภาคผนวก ก. 5) และปริมาณแอลฟา-อามิโนไนโตรเจน (ภาคผนวก ก. 6) โดยเปรียบเทียบกันระหว่างผลิตภัณฑ์ที่มีจำหน่ายตามท้องตลาด

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

1.ภาวะที่เหมาะสมในการผลิต High Vitamin B₁₂ - Tempe (HVT) ในระดับขยายส่วน

1.1 ความหนาของชั้นถั่วเหลืองที่เหมาะสมในการผลิต HVT

จากการทดลองพบว่าปริมาณของวิตามินบี₁₂ ที่พบในผลิตภัณฑ์ที่ระดับความหนาของชั้นถั่วเหลืองที่แตกต่างกันมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P \leq 0.01$) ดังแสดงในตารางที่ 3 ที่ระดับความหนาของชั้นถั่วเหลือง 1 2 และ 3 เซนติเมตร มีปริมาณของวิตามินบี₁₂ เท่ากับ 261.67 284.33 และ 250.67 ng/100g ตามลำดับ โดยที่ระดับความหนาของถั่วเหลือง 2 เซนติเมตร เป็นระดับความหนาของชั้นถั่วเหลืองที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากมีปริมาณของวิตามินบี₁₂ สูงสุด รองลงมาได้แก่ที่ระดับความหนา 1 และ 3 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งสัมพันธ์กับความเป็นกรดและ pH ในทิศทางเดียวกันดังภาพที่ 8 ในระดับความหนาของชั้นถั่วเหลือง 1 เซนติเมตร มีความเป็นไปได้สูงที่มีระบบการถ่ายเทอากาศได้ดีกว่าที่ระดับความหนา 2 และ 3 เซนติเมตร เนื่องจากมีระดับความหนาที่น้อย อากาศหรือออกซิเจนสามารถแพร่กระจายเข้าไปในมวลของวัตถุดิบได้ง่าย ดังนั้นเชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* ซึ่งเป็นแบคทีเรียชนิดที่ไม่ต้องการอากาศหรือต้องการอากาศเพียงเล็กน้อย (ดวงพร คันธโชติ 2530 : 4) ไม่สามารถจะเจริญได้อย่างเต็มที่ และมีผลต่อการสร้าง 5,6-dimethyl-benzimidazole ในการสังเคราะห์เป็นวิตามินบี₁₂ โดยในสภาวะที่มีอากาศหรือออกซิเจนมาก อากาศจะส่งผลยับยั้งการสังเคราะห์ไซโตโครม (cytochrome) บางส่วน (พรพรรณ อภิรักษ์ติวงศ์ 2519 : 9) จึงมีผลทำให้ปริมาณของวิตามินบี₁₂ ที่เกิดขึ้นในเซลล์ของเชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* มีปริมาณที่ลดลงและมีผลต่อปริมาณของวิตามินบี₁₂ ที่เกิดขึ้นดังกล่าว

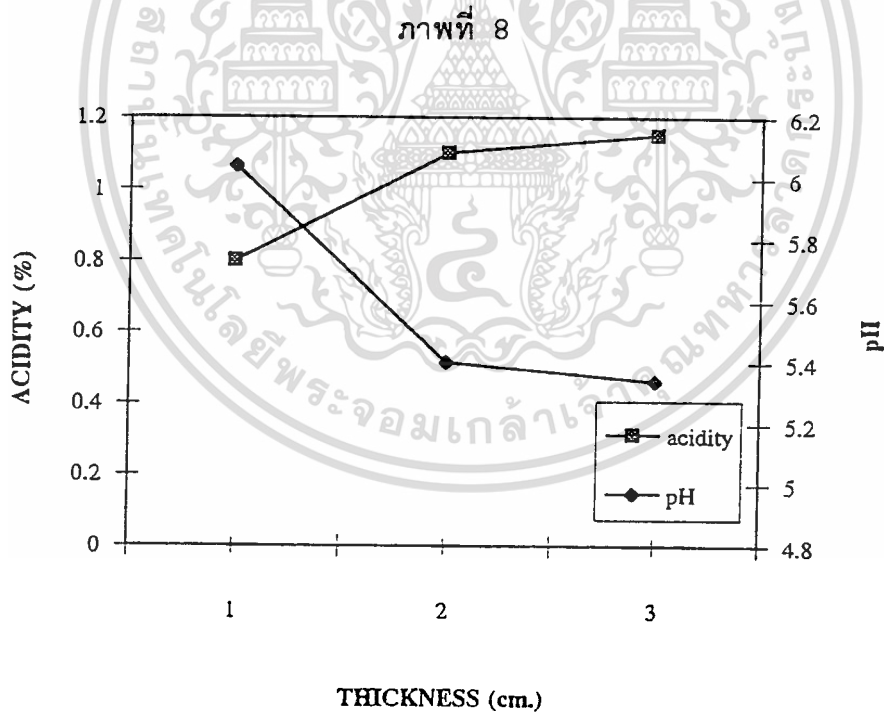
ส่วนในระดับความหนาของชั้นถั่วเหลืองที่ 3 เซนติเมตร พบว่ามีปริมาณของวิตามินบี₁₂ ที่น้อยกว่าระดับความหนาของชั้นถั่วเหลืองที่ 1 และ 2 เซนติเมตร อาจมีสาเหตุเนื่องจาก

ตารางที่ 3

ผลของความหนาของถั่วเหลืองที่เหมาะสมต่อผลผลิตวิตามินบี12 ในการผลิต
HVT ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ระดับความหนาของถั่วเหลือง (เซนติเมตร)	ปริมาณวิตามินบี12 * (ng / 100 g)
1	261.67 ^b
2	284.33 ^a
3	250.67 ^c

* ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในแนวดิ่ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัย
สำคัญยิ่ง ($P \leq 0.01$)



ผลของความหนาของถั่วเหลืองต่อ pH และความเป็นกรดที่เกิดขึ้นในHVT เมื่อบ่มที่
อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ความหนาของวัตถุบดที่มีมากเกินไป ความร้อนที่เกิดจากกระบวนการหมักมีค่อนข้างสูงและมีการสะสมของความร้อนมากยิ่งขึ้นเมื่อระยะเวลาการหมักดำเนินต่อไปนานขึ้น ในสภาพที่มีการถ่ายเทของอากาศน้อยมีผลทำให้เชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* ชะงักการเจริญเติบโตและถูกทำลายไปเป็นบางส่วน เช่นเดียวกับสภาพการหมักของอาหารแห่งอื่นๆ ที่เกิดการสะสมของความร้อนที่จุลินทรีย์ปล่อยออกมาในระหว่างการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์นั้น เมื่อความร้อนสะสมมากขึ้นจะทำให้เกิดปัญหาในการหมักได้ (วราวุฒิและรุ่งนภา 2532 : 12) ในกระบวนการหมัก HVT พบว่าในขณะที่ทำการหมักด้วยเชื้อรา *R. oligosporus* เชื้อราจะผลิตเอนไซม์โปรติเอสได้สูง เนื่องจากมี pH อยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อกิจกรรมในการย่อยสลายโปรตีนในถั่วเหลือง (pH 5) เมื่อการย่อยสลายดำเนินไปอย่างรวดเร็วทำให้แอมโมเนียเกิดขึ้นได้ในปริมาณมาก Steinkraus และคณะ(1960:55) รายงานว่าปกติในการหมักเทมเป้ ในระยะเวลา 20-24 ชั่วโมงของการหมัก ปริมาณไนโตรเจนที่ละลายน้ำได้ (soluble nitrogen) จะเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 0.5 จนถึงร้อยละ 2.0 แต่ถ้าในระบบการหมักที่ต่อเนื่องจะทำให้เกิดแอมโมเนียมากยิ่งขึ้น จากการทดลองของ Agosin และคณะ(1989:19) พบว่าในกระบวนการหมักเทมเป้จากถั่ว lupine ด้วยเชื้อรา *R. oligosporus* มีแอมโมเนียเกิดขึ้นในปริมาณร้อยละ 0.1 ภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมงของการหมัก แอมโมเนียที่ผลิตขึ้นนี้มีปริมาณที่มากพออาจมีผลในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ (ภา ไล่ห์ทอง 2535:6) ซึ่งมีผลทำให้มีปริมาณของวิตามินบี12 ลดลง

นอกจากนี้การลดจำนวนลงของเชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* และปริมาณของวิตามินบี12 ในระดับความหนาของชั้นถั่วเหลือง 3 เซนติเมตร อาจมีสาเหตุเนื่องจากในอาหารมีการสะสมของสารบางอย่างเช่น กรดไพโรพิอินิค หรือ กรดอะซิติก จากเชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* ไปยับยั้งการสร้างวิตามิน หรือเกิดการย่อยสลายตัวเองของเซลล์ อาจทำให้วิตามินบี12 เปลี่ยนรูปเป็นสารอื่นที่ทำให้การตรวจสอบวิตามินไม่สามารถตรวจสอบได้ ดังที่แสดงในรายงานของ พรพรรณ อภิรักษ์ติวงศ์ (2519 : 9)

ดังนั้นจากผลการทดลองดังกล่าวสรุปได้ว่า ระดับความหนาของชั้นถั่วเหลืองที่ 2 เซนติเมตร เหมาะสมที่สุดที่นำไปใช้ในการทดลองต่อไป เนื่องจากให้ปริมาณวิตามินบี12 ที่สูงสุ่มมากกว่าระดับความหนาของชั้นถั่วเหลืองอื่นๆ

1.2 ความชื้นของถั่วเหลืองที่เหมาะสมในการผลิต HVT

จากการศึกษาพบว่าที่ระดับความชื้นร้อยละ 45 50 55 และ 60 มีปริมาณของวิตามินบี12 เท่ากับ 203.00 257.67 288.33 และ 287.67 ng/100g ตามลำดับ ดังแสดงตารางที่ 4 ในที่ระดับความชื้นร้อยละ 55 พบว่ามีปริมาณของวิตามินบี12 สูงสุด รองลงมาได้แก่ที่ระดับความชื้นร้อยละ 60 50 และ 45 ตามลำดับ โดยที่ระดับความชื้นร้อยละ 55 และ 60 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับที่ระดับความชื้นร้อยละ 45 และ 50 ตามลำดับ โดยระดับความชื้นดังกล่าวยังมีผลต่อความเป็นกรดและ pH ที่เกิดขึ้นดังแสดงในภาพที่ 9

ตารางที่ 4

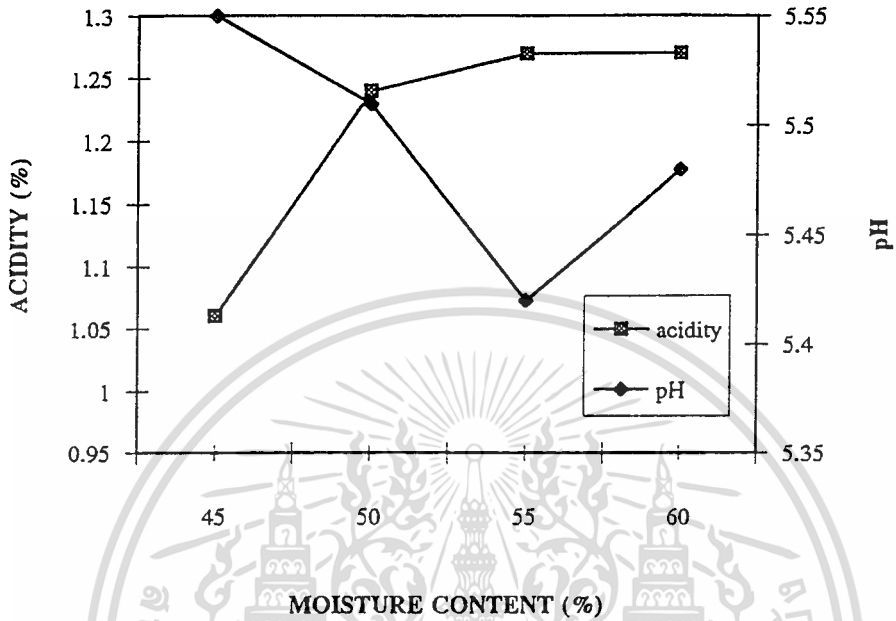
ผลของระดับความชื้นที่เหมาะสมต่อผลผลิตของวิตามินบี12 ในการผลิต HVT

→ ที่อุณหภูมิตั้งที่ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ระดับความชื้นของถั่วเหลือง (ร้อยละ)	ปริมาณวิตามินบี12 * (ng / 100 g)
45	203.00 ^c
50	257.67 ^b
55	288.33 ^a
60	287.67 ^a

*ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P \leq 0.01$)

ภาพที่ 9



ผลของความชื้นต่อปริมาณ ความเป็นกรด และ pH ใน HVT เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ความชื้นมีความสำคัญสำหรับจุลินทรีย์เป็นอย่างมาก จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญได้ดีในที่ที่ไม่มีน้ำ . โดยปกติแล้วเชื้อราจะมีความต้องการระดับของความชื้นที่น้อยกว่าแบคทีเรีย ในการกำหนดค่า water activity เชื้อราสามารถเจริญได้ที่ค่า water activity ตั้งแต่ 0.62 ขึ้นไป ส่วนเชื้อแบคทีเรียต้องการค่า water activity ประมาณ 0.90 (Pederson 1971:47) แต่ในที่นี้ทั้งเชื้อรา (*R. oligosporus*) และเชื้อแบคทีเรีย (*P. shermanii*) ต่างก็สามารถเจริญได้ดีในสถานะที่มีระดับของความชื้นร้อยละ 55 และ 60 โดยสังเกตจากการเจริญเป็นเส้นใยสีขาวของเชื้อ *R. oligosporus* และปริมาณของวิตามินบี12 ที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์ได้ดีกว่าที่ความชื้นร้อยละ 45 และ 50

จากผลการทดลองในระดับของความชื้นที่ร้อยละ 55 และ 60 มีปริมาณของวิตามินบี12 สูงมีสาเหตุเนื่องจากเชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* มีความต้องการความชื้นอิสระที่สูงสำหรับในการเจริญเติบโต ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Krusong และคณะ (1991c:34) ได้รายงานถึงระดับความชื้นร้อยละ 55 และ 60 ให้ปริมาณของวิตามินบี12 ที่สูง และได้เลือกความชื้นที่ร้อยละ 55 สำหรับใช้ในการทดลองเนื่องจากการเจริญของเชื้อรา *R. oligosporus* ที่ระดับความชื้นร้อยละ 55 ได้ดีกว่าที่ระดับความชื้นร้อยละ 60

1.3 ปริมาณโคบอลท์ที่เหมาะสมในการผลิต HVT ระดับขยายส่วน

จากผลการทดลอง (ตารางที่ 5) พบว่าปริมาณของโคบอลท์ 0 1 2 3 4 และ 5 ppm มีปริมาณของวิตามินบี12 เท่ากับ 161.33 216.33 282.20 288.00 152.33 และ 106.67 ng/100g ตามลำดับ โดยปริมาณโคบอลท์ที่ 3 ppm ให้ปริมาณของวิตามินบี12 สูงสุด ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับการใช้ปริมาณโคบอลท์ 2 ppm แต่จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P \leq 0.01$) กับปริมาณโคบอลท์ 0 1 4 และ 5 ppm

จากผลการทดลองที่ปริมาณโคบอลท์ 0 และ 1 ppm มีปริมาณของวิตามินบี12 อยู่ในระดับต่ำกว่าที่ระดับโคบอลท์ 2 และ 3 ppm เนื่องจากความสำคัญของโคบอลท์ที่ทำหน้าที่เป็นนิวเคลียสใน corrin ring ในโมเลกุลของวิตามินบี12 เมื่อมีปริมาณของโคบอลท์ที่น้อยทำให้ไม่เพียงพอสำหรับการสร้างวิตามินบี12 ดังนั้นปริมาณวิตามินบี12 (Rainbow และ Rose 1963:50 ; Noyes 1969:44 ; Sebrell และ Harris 1968:53) ที่ได้จึงน้อยลงตามลำดับ โดยที่ความเข้มข้นของโคบอลท์ 1 ppm มีปริมาณวิตามินบี12 มากกว่าที่ไม่เติมโคบอลท์ (0 ppm) แต่ทั้งนี้อาจขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์หมักด้วยที่จะให้ผลของวิตามินบี12 ที่ต่างกัน ในการทดลองของ Ro และคณะ (1979: 51) พบว่าในผลิตภัณฑ์กิมจิ (Kimchi) ที่เพิ่มโคบอลท์ในรูปของ $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ และทำการหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *P. freudenreichii* ss. *shermanii* พบว่าไม่สามารถเพิ่มปริมาณของวิตามินบี12 ได้ ขณะที่ Hendlin และ Ruger (1950:31) ได้รายงานว่าการเพิ่มปริมาณของโคบอลท์ 1-2 ppm ในผลิตภัณฑ์ สามารถเพิ่มปริมาณของวิตามินบี12 ทั้งนี้โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์หลายชนิดด้วยกัน

ตารางที่ 5

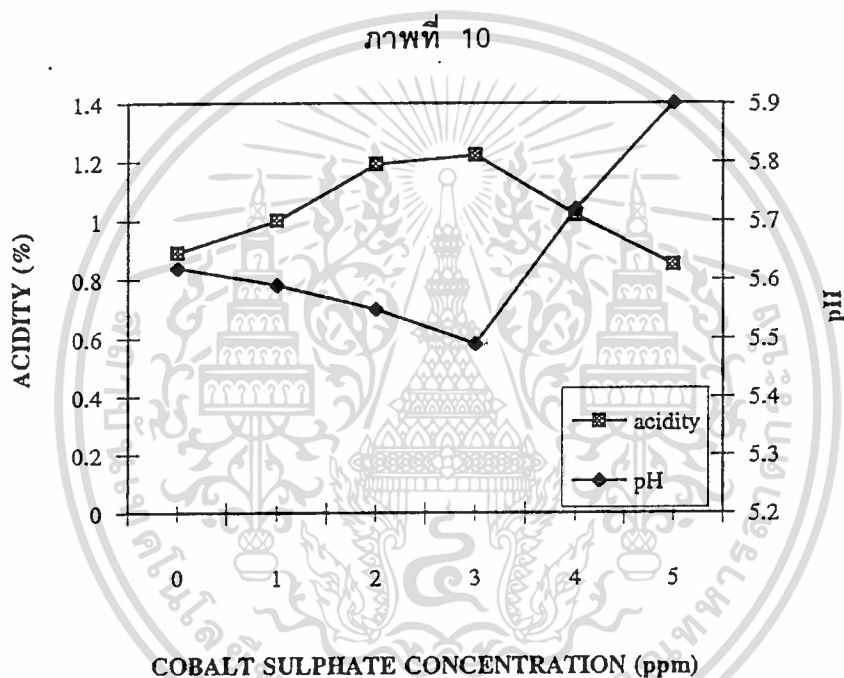
ผลของปริมาณโคบอลต์ที่เหมาะสมต่อผลผลิตของวิตามินบี12 ในการผลิต HVT
ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ปริมาณของโคบอลต์ (ppm)	ปริมาณวิตามินบี12 * (ng / 100 g)
0	161.33 ^c
1	216.33 ^b
2	282.20 ^a
3	288.00 ^a
4	152.33 ^c
5	106.67 ^d

* ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในแนวดิ่ง แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P \leq 0.01$)

ส่วนที่ปริมาณโคบอลต์ 4 และ 5 ppm พบว่ามีปริมาณของวิตามินบี12 น้อยมาก โดยเฉพาะที่ความเข้มข้น 5 ppm มีปริมาณวิตามินบี12 ต่ำสุด เมื่อเทียบกับความเข้มข้นอื่นๆ ทั้งนี้เนื่องจากความเข้มข้นของโคบอลต์มีปริมาณสูงเกินไปจนเป็นพิษกับเชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* และมีผลไปถึงการสร้างวิตามินบี12 (พรพรรณ อภิรักษ์ติวงศ์ 2519: 9) ในขณะที่ปริมาณความเข้มข้นของโคบอลต์ 2 และ 3 ppm มีผลต่อปริมาณวิตามินบี12 ที่สร้างขึ้นสูงมาก โดยมีมากที่สุดที่ความเข้มข้น 3 ppm ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Krusong และคณะ (1991c :34) ที่เตรียมหมักแบคทีเรียโคบอลต์ ($\text{CoSo}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) ในปริมาณ 3 ppm และได้ผลผลิตของวิตามินบี12 สูงสุด (278.10 ng/100g) จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าปริมาณของโคบอลต์มีอิทธิพลต่อการผลิตวิตามินบี12 เป็นอย่างมาก และแสดงถึงความสามารถในการใช้โคบอลต์ในชนิดที่จำกัดของเชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* ด้วยเช่นกัน

นอกจากนี้จากผลการทดลองในความเป็นกรด และ pH ยังมีความสัมพันธ์กับปริมาณผลผลิตของวิตามินบี12 ด้วย (ภาพที่ 10) พบว่าที่ความเข้มข้นของโคบอลท์ที่เหมาะสม 3 ppm ให้ค่าความเป็นกรดสูง และ pH ต่ำกว่า ที่ความเข้มข้นโคบอลท์ 2 ppm ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* ที่มีมากกว่าจะให้ปริมาณของกรดและวิตามินบี12 ที่สูง ดังนั้นการใช้โคบอลท์ที่ความเข้มข้น 3 ppm จึงมีความเหมาะสมสำหรับนำไปใช้ในการทดลองต่อไป



ผลของปริมาณโคบอลท์ต่อปริมาณความเป็นกรด และ pH ใน HVT เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

1.4 อุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิต HVT ระดับขยายส่วน

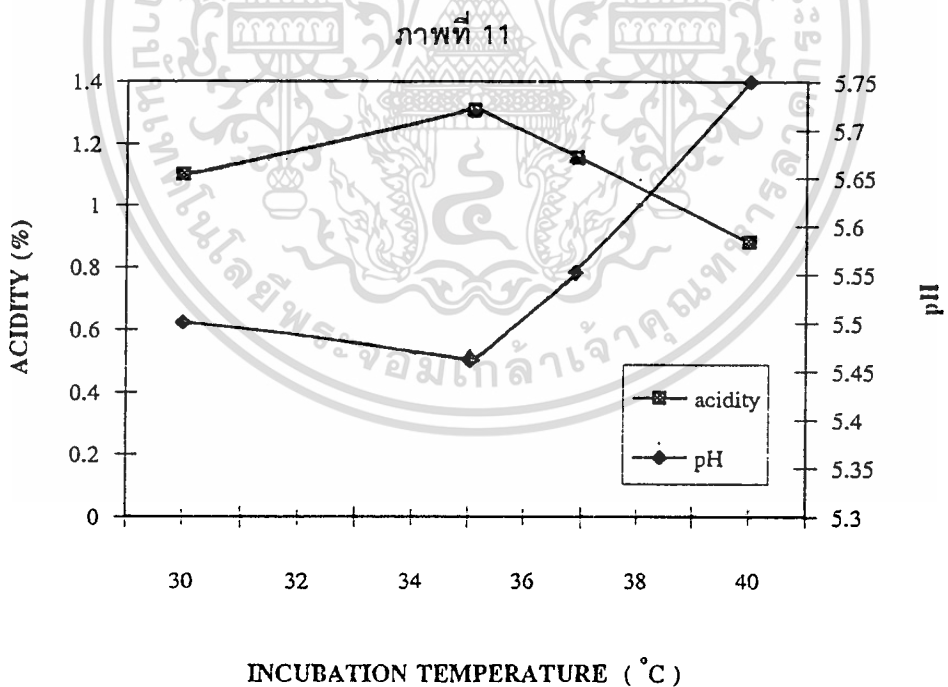
จากการทดลองพบว่าที่อุณหภูมิ 30 35 37 และ 40 องศาเซลเซียส มีปริมาณของวิตามินบี12 เท่ากับ 243.33 288.67 278.33 และ 215.00 ng/100g ตามลำดับ (ตารางที่ 6) โดยที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส มีปริมาณของวิตามินบี12 สูงสุด รองลงมาได้แก่ อุณหภูมิ 37 30 และ 40 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

อุณหภูมิที่ใช้ป้อน HVT นั้นมีความจำเป็นที่จะต้องปรับให้มีความเหมาะสมกับการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* และเชื้อรา *R. oligosporus* Prescott และ Dunn (1959 :49) ได้กล่าวว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักของ Propionic acid bacteria ประมาณ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นสภาวะที่เชื้อนี้สามารถเจริญได้ดีและเหมาะสมต่อการผลิตวิตามินบี12 และจากการทดลองของพรพรรณ อภิรักษ์ติวงศ์ (2519:9) ได้เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ complete medium ที่อุณหภูมิต่างๆ ปรากฏว่าที่อุณหภูมิห้อง (28 - 30 องศาเซลเซียส) เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อมากที่สุด สำหรับอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของเชื้อรา *R. oligosporus* สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 25 - 42 องศาเซลเซียส (สุจินดา สุวรรณกิจ 2534:16 ; ณาภา โล่ห์ทอง 2535:6) ส่วนอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับเชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* นั้นจำเป็นที่จะต้องควบคุมเพราะอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ในช่วงที่จำกัด ซึ่งจะอยู่ในช่วงประมาณ 30-37 องศาเซลเซียส (Moore และ Holdeman 1974:39) จากผลการทดลองพบว่าที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิเหมาะสมที่สุด เนื่องจากให้ปริมาณวิตามินบี12 สูงสุด ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Krusong และคณะ (1991c:34) ในการหมักนมเป้จากถั่วเหลืองด้วยเชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* และเชื้อรา *R. oligosporus* ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ให้ปริมาณของวิตามินบี12 สูงสุด (299.60 ng/100g) รองลงมาได้แก่ที่อุณหภูมิ 32 30 และ 40 องศาเซลเซียส ตามลำดับ โดยอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณวิตามินบี12 ต่ำสุด ทั้งนี้เนื่องจากที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีความร้อนที่สูงมากซึ่งจะไปมีผลในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* เป็นบางส่วน มีผลทำให้ผลผลิตวิตามินบี12 ลดลงและจะสัมพันธ์กับความเป็นกรดที่ลดลง และ pH ที่เพิ่มสูงขึ้นดังแสดงในภาพที่ 11

ตารางที่ 6
ผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการหมักต่อผลผลิตของวิตามินบี12
ในการผลิต HVT เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณวิตามินบี12 * (ng / 100 g)
30	243.33 c
35	288.67 a
37	278.33 b
40	215.00 d

* ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P \leq 0.01$)



ผลของอุณหภูมิในการบ่มต่อปริมาณความเป็นกรด และ pH ใน HVT เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2. การเตรียมน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12

2.1 อัตราส่วนของ HVT ต่อปริมาณน้ำที่เหมาะสม

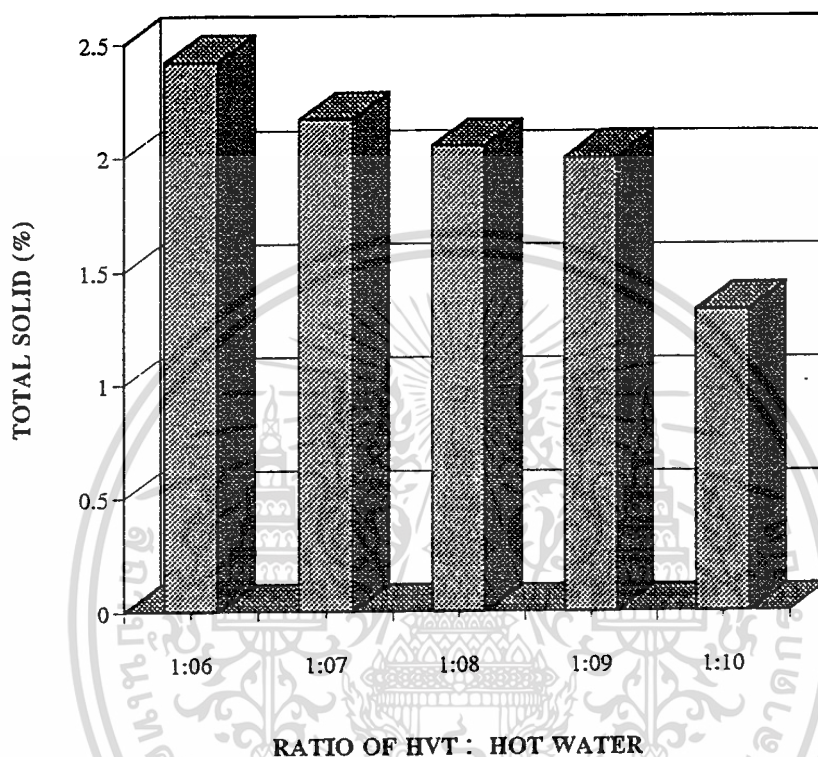
จากผลการทดลองพบว่า น้ำนมถั่วเหลืองที่ได้มีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 2.42 2.17 2.05 2.00 และ 1.33 ตามลำดับ (ภาพที่ 12) และมีสัดส่วนการแยกตัวของตะกอนตามอัตราส่วนของ HVT ต่อน้ำร้อน การแยกตัวของตะกอนมากเมื่ออัตราส่วนของน้ำน้อย และเมื่ออัตราส่วนของน้ำมากขึ้น การแยกตัวของตะกอนจะน้อยลงตามลำดับ เช่นเดียวกับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่เกิดขึ้น

ส่วนลักษณะของน้ำนมที่ได้ที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:7 มีลักษณะขุ่นมากเมื่อเปรียบเทียบกับอัตราส่วน 1:9 และ 1:10 ที่มีลักษณะค่อนข้างใส และเมื่อทดสอบทางประสาทสัมผัส ด้านกลิ่นของอัตราส่วน HVT ต่อน้ำร้อนที่ระดับต่างๆ พบว่ากลิ่นที่เกิดขึ้นเป็นกลิ่นที่เกิดจากการหมักของเชื้อราและแบคทีเรียที่เกิดขึ้นในขณะหมักของ HVT ดังนั้นกลิ่นที่ได้รับจึงปราศจากกลิ่นเหม็นเขียวของถั่วเหลือง โดยที่อัตราส่วนของ HVT ต่อน้ำร้อนเท่ากับ 1:6 และ 1:7 จะมีกลิ่นที่เกิดจากการหมักแรงมาก และมีกลิ่นลดลงตามลำดับเมื่อมีอัตราส่วนของน้ำมากขึ้น ที่อัตราส่วน 1:8 จะมีกลิ่นถั่วหมักน้อยลงใกล้เคียงกับที่อัตราส่วน 1:9 และ 1:10 ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเลือกอัตราส่วน HVT ต่อน้ำร้อนเท่ากับ 1:8 เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป เนื่องจากมีปริมาณของแข็งในปริมาณที่เหมาะสม ลักษณะของน้ำนมไม่ข้นหรือใสเกินไปและมีกลิ่นถั่วเหลืองหมักที่น้อยมาก ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของทศพร ยศสมบัติ (2527:5) ที่ได้ใช้อัตราส่วนของถั่วเหลืองต่อน้ำร้อนเท่ากับ 1:8 มาใช้ในการเตรียมน้ำนมถั่วเหลืองเพื่อทำผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มหมัก เนื่องจากให้ลักษณะของน้ำนมและกลิ่นรสเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

2.2 อุณหภูมิของน้ำที่ใช้ในการตีปั่น

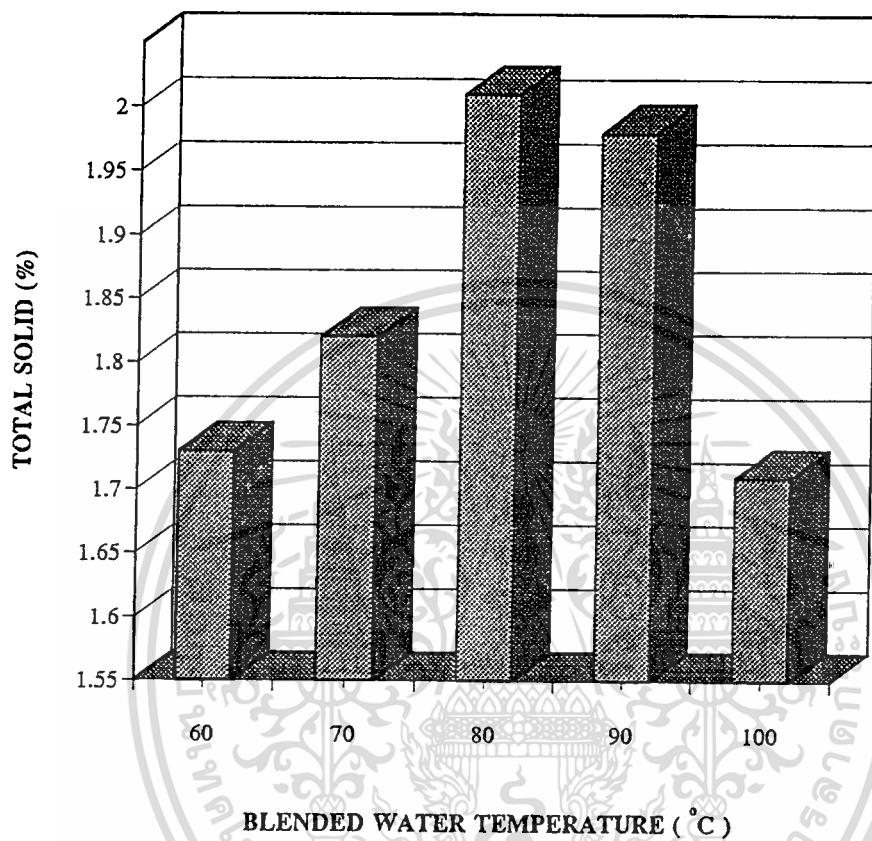
จากผลการทดลองพบว่าที่อุณหภูมิของน้ำร้อนเท่ากับ 60 70 80 90 และ 100 องศาเซลเซียส มีปริมาณของแข็งทั้งหมดเท่ากับร้อยละ 1.73 1.82 2.01 1.98 และ 1.71 ตามลำดับ (ภาพที่ 13) โดยอุณหภูมิของน้ำร้อนที่ใช้ปั่นถั่วเหลืองหมัก (HVT) มีอิทธิพลต่อปริมาณของแข็งในน้ำนมเป็นอย่างมากในกรณีที่มีอุณหภูมิของน้ำร้อนเท่ากับ 60 และ 70 องศาเซลเซียส

ภาพที่ 12



ผลของอัตราส่วนของHVT ต่อน้ำร้อน ที่มีผลต่อปริมาณของแข็งทั้งหมดในน้ำนมถั่วเหลืองที่เตรียมโดยใช้น้ำร้อนอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส และปั่นเป็นเวลา 3 นาที

ภาพที่ 13



ผลของอุณหภูมิของน้ำร้อนที่ใช้ปั่น ต่อปริมาณของแข็งทั้งหมดที่เกิดขึ้น ในน้ำนมถั่วเหลืองที่เตรียมโดยใช้อัตราส่วนของ HVT ต่อน้ำร้อนเท่ากับ 1:8 และปั่นเป็นเวลา 3 นาที

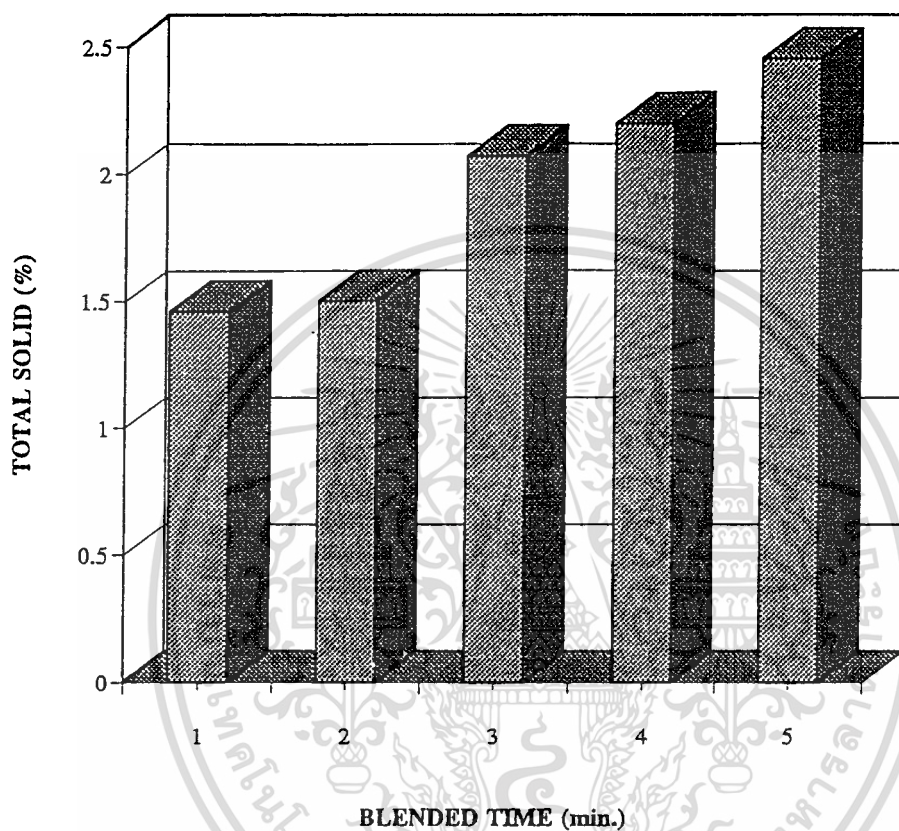
ปริมาณของแข็งส่วนใหญ่ได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และเถ้า จะมีปริมาณการละลายได้น้อย ดังนั้นของแข็งส่วนใหญ่จะติดอยู่ที่กากของ HVT เมื่อผ่านการกรองจะทำให้ส่วนที่เป็นน้ำนมค่อนข้างใสและมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ต่ำ ซึ่งมีผลต่อปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ได้น้อยลงด้วย ส่วนน้ำที่มีอุณหภูมิสูงหรือความร้อนมากเกินไป (90 และ 100 องศาเซลเซียส) ประกอบกับ HVT มี pH ต่ำและความเป็นกรดสูง (ประมาณร้อยละ 1.2) จึงเป็นผลทำให้โปรตีนบางส่วนเกิดการเปลี่ยนแปลง (denatured) อยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้ยากขึ้น (กุลยา 2533:3 ; Nakai และ Li-Chan 1989:42) และรวมตัวอยู่ที่กากของ HVT ซึ่งมีผลต่อปริมาณตะกอนและปริมาณของแข็งของน้ำนมที่กรองได้น้อยลง ดังนั้นอุณหภูมิของน้ำร้อนที่ 80 องศาเซลเซียส จึงเหมาะสมที่จะใช้ในการตีปั่นมากเนื่องจากมีปริมาณของแข็งสูงสุด

การทดสอบประสาทสัมผัสด้านกลิ่น พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส มีกลิ่นที่เกิดจากการหมักน้อยลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลิ่นที่ได้รับที่อุณหภูมิ 60 และ 70 องศาเซลเซียส และกลิ่นที่เกิดขึ้นไม่แตกต่างจากที่อุณหภูมิ 90 และ 100 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามจากการทดลองของทศพร ยศสมบัติ (2527:5) และ มัณฑนาและคณะ (2529:10) พบว่าการตีปั่นที่อุณหภูมิน้ำร้อนเท่ากับ 80 องศาเซลเซียส สามารถช่วยกำจัดกลิ่นเหม็นเขียวของถั่วเหลืองได้และน้ำนมที่ได้จากการตีปั่นจะมีลักษณะที่ขาวนวลเนียน ใหนักลิ้นและรสชาติที่ดี ดังนั้นในการทดลองนี้จึงได้เลือกใช้อุณหภูมิของน้ำร้อนในการตีปั่นเท่ากับ 80 องศาเซลเซียส เพื่อเตรียมน้ำนมสำหรับทำผลิตภัณฑ์ในขั้นต่อไป

2.3 ระยะเวลาในการตีปั่นที่เหมาะสม

จากผลการทดลองพบว่าที่ระยะเวลาตีปั่น 1 2 3 4 และ 5 นาที ได้ปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 1.46 1.50 2.07 2.20 และ 2.45 ตามลำดับ (ภาพที่ 14) ซึ่งมีความสัมพันธ์กับระยะเวลาในการตีปั่น ปริมาณของแข็งมากขึ้นเมื่อระยะเวลาในการตีปั่นนานขึ้นตามลำดับ ส่วนลักษณะและการแยกตัวของตะกอนที่ระยะเวลาตีปั่นต่ำ (1 และ 2 นาที) ลักษณะของตะกอนที่ได้และการแยกตัวของตะกอนมีสัดส่วนที่น้อย เนื่องจากระยะเวลาการตีปั่นที่ไม่เพียงพอที่จะทำให้ HVT มีความละเอียดได้ กากที่ได้จึงมีขนาดใหญ่เมื่อผ่านการกรองทำให้ของแข็งส่วนใหญ่ติดอยู่ที่กาก ดังนั้นน้ำนมที่ได้จึงมีปริมาณของแข็งน้อยและ

ภาพที่ 14



ผลของระยะเวลาในการตีบ้นต่อปริมาณของแข็งทั้งหมดที่เกิดขึ้น ในน้ำมันถั่วเหลืองที่เตรียมโดยใช้อัตราส่วนของ HVT ต่อน้ำร้อนเท่ากับ 1:8 และอุณหภูมิของน้ำร้อนที่ใช้ในการตีบ้น เท่ากับ 80 องศาเซลเซียส

น้ำนมค่อนข้างใส มีการแยกตัวของตะกอนอย่างรวดเร็ว การสูญเสียไขมันที่ติดไปกับกากของวัตถุขี้มีมาก รวมถึงกลิ่นของถั่วที่เกิดจากการหมักเมื่อทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่ามีกลิ่นที่แรงมาก เนื่องจากพื้นที่ผิวของ HVT ที่สัมผัสกับน้ำมีน้อยทำให้การกระจายและการระเหยไปของกลิ่นต่ำ ดังนั้นที่ระยะเวลา 1 และ 2 นาที จึงไม่เหมาะสมที่ใช้ในการตีปั่น HVT

ส่วนที่ระยะเวลาตีปั่น 3 4 และ 5 นาที พบว่ามีปริมาณของแข็งทั้งหมดสูงขึ้นรวมถึงสัดส่วนการแยกตัวของตะกอนมากขึ้นลักษณะของตะกอนที่ได้ละเอียด และเมื่อเปรียบเทียบกลิ่นของการหมักที่เกิดขึ้นไม่มีความแตกต่างกัน เนื่องจากการปั่นที่เวลานานขึ้นเป็นการทำให้น้ำร้อนสามารถแทรกซึมเข้าไปในเนื้อของ HVT ได้มาก และยังเป็นการเพิ่มกระบวนการ oxygenation หรือ aeration ในน้ำนมทำให้เกิดการระเหยของกลิ่นมากขึ้น กลิ่นที่เกิดจากการหมักจึงน้อยลง (มัทธนา และคณะ 2529 : 10 ; พรพรรณ อภิรักษ์ติวงศ์ 2519 : 9 ; Bottazzi 1983 : 25) ซึ่งในที่นี้เลือกใช้ระยะเวลาในการตีปั่น 3 นาที สำหรับนำไปใช้ในการเตรียมน้ำนมถั่วเหลืองต่อไป เนื่องจากลักษณะของน้ำนมและกลิ่นไม่มีความแตกต่างจากระยะเวลาปั่น 4 และ 5 นาที นอกจากนี้ยังประหยัดเวลาที่ใช้ในการเตรียมน้ำนมถั่วเหลืองด้วย

3. การผลิตนมเปรี้ยวจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12

3.1 ผลของปริมาณหางนมผง (skim milk) ต่อการสร้างกรดในการหมักนมเปรี้ยว

สำหรับในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวจากถั่วเหลือง Patal และคณะ (1980:46) ได้แนะนำว่าหางนมผงเป็นแหล่งของไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับการเพิ่มประสิทธิภาพการสร้างกรดของแบคทีเรียแลคติก (lactic acid bacteria) โดยในสภาวะการหมักที่เหมาะสมจะทำให้น้ำตาลที่เติมลงไปนมนมถั่วเหลืองมีผลต่อการสร้างกรดของแบคทีเรียแลคติกเป็นอย่างมาก (Angeles และ Marth 1971:20) และจากการทดลองของ Krusong และ Ninlanon (1994:35) พบว่าการใช้หางนมผงเติมลงในน้ำนมถั่วเหลือง อัตราการสร้างกรดของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองที่มีหางนมมีกรดในปริมาณมากกว่านมเปรี้ยวถั่วเหลืองที่ไม่เติมหางนมผงในอัตราที่สูงกว่ามาก ดังนั้นจึงเป็นเหตุผลที่สำคัญในการใช้หางนมผงในการหมักนมเปรี้ยว

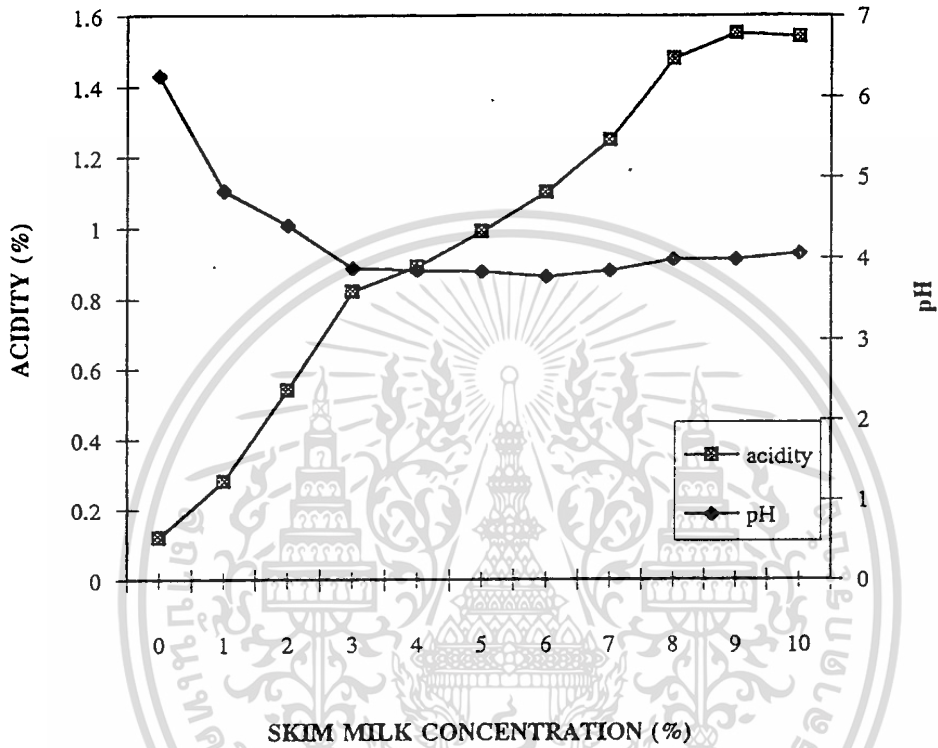
จากผลการทดลองพบว่าน้ำหนักหัวเชื้อเสริมวิตามินบี12 ที่เตรียมได้ในสภาวะที่เหมาะสมจากข้อ 2 ภายหลังจากผ่านการกรองและเติมหางนมผงในปริมาณต่างๆ ทำการหมักด้วยหัวเชื้อแลคติกผสมของเชื้อ *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* ในปริมาณร้อยละ 5 บ่มที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ค่าความเป็นกรด และ pH พบว่าการใช้หางนมผงในปริมาณร้อยละ 0 ถึง 10 มีอัตราการสร้างกรดร้อยละ 0.12 0.28 0.54 0.82 0.89 0.99 1.10 1.25 1.48 1.55 และ 1.54 ตามลำดับ และมีความสัมพันธ์กับ pH ที่เกิดขึ้นดังแสดงในภาพที่ 15 โดยอัตราการสร้างกรดสูงสุดเมื่อใช้หางนมผงปริมาณร้อยละ 9 และรองลงมาได้แก่ในปริมาณร้อยละ 10 ที่ให้ความเป็นกรดใกล้เคียงกัน อัตราการสร้างกรดที่คงที่หรือลดลงและมี pH ที่สูงขึ้นหลังจากเพิ่มปริมาณหางนมผงมากขึ้น น่าจะมีสาเหตุเนื่องมาจากแร่ธาตุในหางนมผงที่มีอิทธิพลต่ออัตราการสร้างกรดของหัวเชื้อแบคทีเรียแลคติกผสม Tamime และ Deeth (1980:57) ได้กล่าวว่าในปริมาณของ SNF (solid not fat) ที่สูงขึ้น (ร้อยละ 16) ในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวยังมีผลทำให้ปริมาณของเชื้อและ pH เพิ่มขึ้น แต่ในทางตรงกันข้ามกับค่าความเป็นกรดจะลดลงกว่าที่ความเข้มข้นของ SNF ที่เหมาะสม(ร้อยละ 12) เนื่องจากสภาพการเป็น buffering action ของของแข็งในนม และอาจมีผลต่ออัตราการตายของเซลล์ด้วยและจากผลการทดลองดังกล่าวยังสอดคล้องกับผลการทดลองของ กาญจนา และวราวุฒิ (2537:2) ในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวจากหัวเชื้อที่พบว่าการใช้หางนมผงในปริมาณร้อยละ 9 ให้ปริมาณของกรดที่สูงสุด

ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเลือกใช้ความเข้มข้นของหางนมร้อยละ 9 เพื่อนำไปใช้ในการทดลองขั้นต่อไป เนื่องจากให้อัตราการสร้างกรดที่ดีที่สุด

3.2 ผลของปริมาณน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมต่อการสร้างกรด ในการหมักนมเปรี้ยวจากหัวเชื้อเสริมวิตามินบี12

จากรายงานการศึกษาของ Angeles และ Marth (1971:20) Mital และ Steinkraus (1974 : 38) พบว่าแบคทีเรียแลคติกสามารถเจริญได้ดีในนมหัวเชื้อและใช้น้ำตาลได้หลายชนิด แต่การเพิ่มน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลแลคโตสจะทำให้อัตราการสร้างกรดได้มากยิ่งขึ้น สำหรับการใช้น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลแลคโตสนั้นอาจมีข้อจำกัดในด้านของราคาและการจัดหา ดังนั้นในการทดลองของ Krusong และ Ninlanon (1994 : 35) จึงได้มีการเปรียบเทียบ

ภาพที่ 15



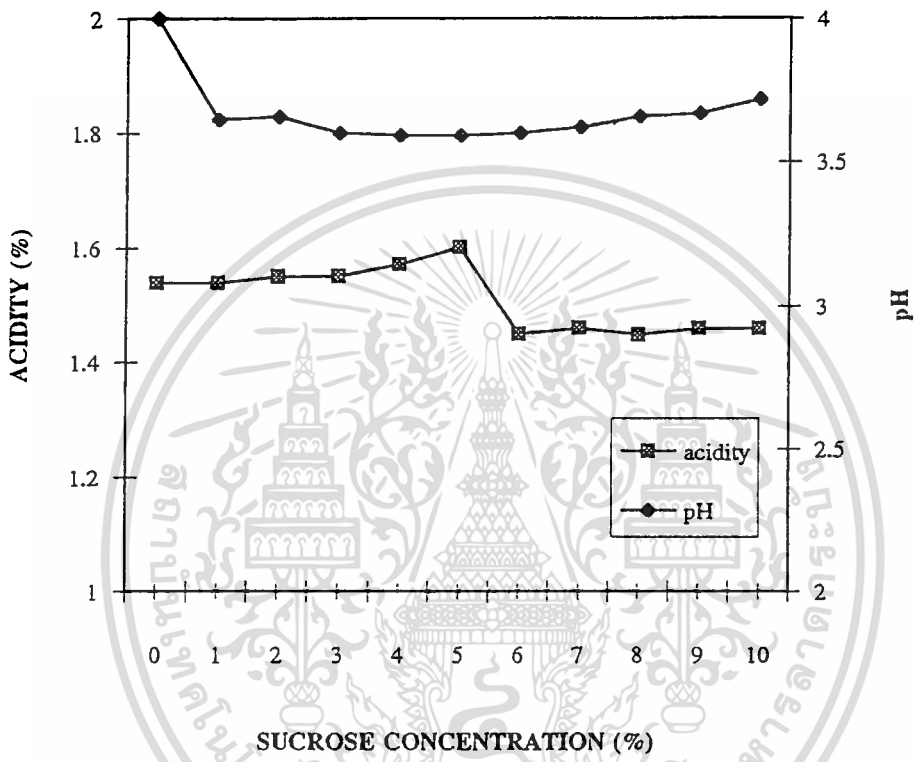
ผลของความเข้มข้นของหางนมผงต่อค่าความเป็นกรด และ pH ของนมเปรี้ยวจากถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 หลังจากการหมักด้วยหัวเชื้อแบคทีเรียแลคโตคัสสม ที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

การใช้น้ำตาลแลคโตสและน้ำตาลซูโครส ที่ผลต่อการสร้างกรดในนมเปรี้ยวจากถั่วเหลืองที่ปรับสภาพด้วยหางนมผงร้อยละ 9 พบว่าอัตราการสร้างกรดสูงสุดของน้ำตาลทั้งสองชนิดไม่แตกต่างกันที่ความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ 5 และน้ำตาลซูโครสยังให้ลักษณะของตะกอนโปรตีน (curd formed) ที่คงตัวกว่า ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าน้ำตาลซูโครสเหมาะสมสำหรับผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวจากถั่วเหลืองและถูกนำมาใช้ในการทดลองครั้งนี้

จากการทดลองพบว่าที่ปริมาณของน้ำตาลซูโครสร้อยละ 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 และ 10 ให้อัตราการสร้างกรดเท่ากับ 1.54 1.54 1.55 1.55 1.57 1.60 1.45 1.46 1.45 1.46 และ 1.46 ตามลำดับ และมีความสัมพันธ์กับค่าของ pH ดังแสดงในภาพที่ 16 โดยอัตราการสร้างกรดมีมากที่สุดที่ความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ 5 หลังจากเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลมากขึ้น อัตราการสร้างกรดของแบคทีเรียแลคติกกลับลดลงและมีผลถึงค่าของ pH ที่เพิ่มสูงขึ้น ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปริมาณของน้ำตาลในหางนมผงที่หลงเหลืออยู่จากการหมัก และปริมาณของน้ำตาลที่เติมลงไปมีความเข้มข้นที่สูงขึ้น จึงมีผลในการยับยั้งการเจริญของหัวเชื้อได้เนื่องจากผลของ adverse osmotic ของสารถูกละลายในน้ำ และผลของ water activity ในผลิตภัณฑ์ (วรารุณีและรุ่งนภา 2532:12) ซึ่งมีผลทำให้อัตราการสร้างกรดลดลง และมี pH ที่สูงขึ้นดังกล่าว นอกจากนี้ Chang และ Stone (1990:27) ยังได้ยืนยันถึงความเข้มข้นของคาร์โบไฮเดรตในนมถั่วเหลืองว่ามีผลต่อการผลิตกรดของแบคทีเรียในความเข้มข้นที่สูงกว่าระดับที่เหมาะสม และมีผลทำให้ปริมาณกรดลดลงได้เช่นกัน

อย่างไรก็ตามจากผลการทดลองดังกล่าว ได้ให้ผลการทดลองที่สอดคล้องกับการทดลองของกาญจนาและวรารุณี (2537:2) ที่รายงานว่าการปรับสภาพด้วยหางนมผงร้อยละ 9 และเพิ่มน้ำตาลซูโครสในปริมาณร้อยละ 5 ให้อัตราการสร้างกรดที่สูงสุดในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวจากถั่วเหลือง ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่าปริมาณของน้ำตาลซูโครสที่ร้อยละ 5 เป็นปริมาณความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุด ที่นำไปใช้ในการผลิตนมเปรี้ยวจากถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ต่อไป

ภาพที่ 16



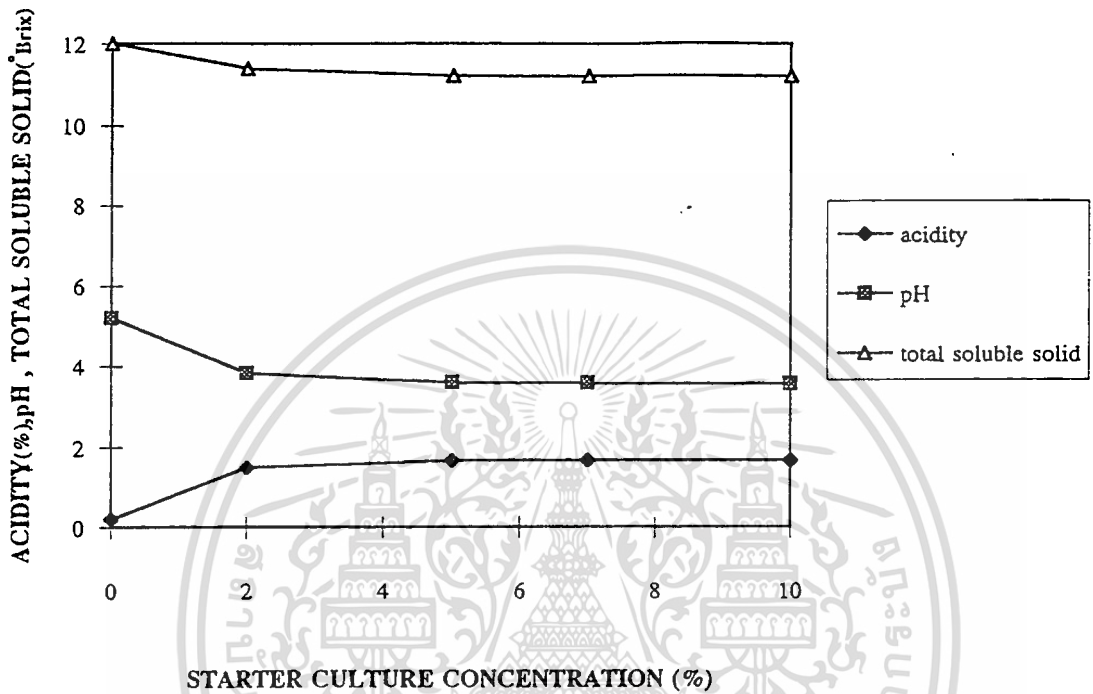
ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสต่อค่าความเป็นกรด และ pH ในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวจากถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่ปรับสภาพด้วยหางนมผงร้อยละ 9 บ่มที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.3 ผลของปริมาณหัวเชื้อที่เหมาะสมต่อการสร้างกรด ในการสร้างกรดของนมเปรี้ยว ถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12

จากการศึกษาพบว่าปริมาณของหัวเชื้อแบคทีเรียแลคติกผสมร้อยละ 0 2 5 7 และ 10 มีอัตราการสร้างกรดร้อยละ 0.20 1.49 1.67 1.67 และ 1.66 ตามลำดับ และมีอัตราการสร้างกรดสูงสุดที่ปริมาณของหัวเชื้อร้อยละ 5 และ 7 รองลงมาคือร้อยละ 10 โดยปริมาณของกรดที่ได้ไม่แตกต่างกันมาก และจากภาพที่ 17 พบว่าอัตราการสร้างกรดมีความสัมพันธ์กับ pH ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 0 และ 2 มีค่า pH ที่มาก และ pH จะลดลงตามลำดับที่ปริมาณหัวเชื้อเพิ่มขึ้นร้อยละ 5 7 และ 10 โดยที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 5 7 และ 10 มีแนวโน้มของค่า pH ที่ลดลงแต่ไม่แตกต่างกันมาก ซึ่งสัมพันธ์กับค่าความเป็นกรดที่คงที่ สาเหตุของอัตราการสร้างกรดที่คงที่และลดลงในปริมาณของหัวเชื้อที่สูงขึ้น เนื่องจากสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของเชื้อได้แก่คาร์โบไฮเดรต และโปรตีนมีอยู่ในปริมาณจำกัด จึงไม่เพียงพอต่อความต้องการของเชื้อแบคทีเรียแลคติกผสมที่เพิ่มจำนวนสูงขึ้น นอกจากนี้การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์อย่างต่อเนื่องในปริมาณมาก ทำให้ผลผลิตที่ได้จากการหมักเช่น กรดแลคติก แอมโมเนีย ยูเรีย และสารอื่นๆเกิดการสะสมมากขึ้น ซึ่งทำให้เกิดผลกระทบต่อแบคทีเรียแลคติกเอง โดยอัตราการเจริญจะช้าลงและเซลล์บางส่วนตายได้ (Pederson 1971:47) ปริมาณของหัวเชื้อส่วนใหญ่ที่นิยมเติมลงในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวมักอยู่ในช่วงร้อยละ 2 - 5 แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับปริมาณการใช้ว่าอยู่ในรูปแบบใด ถ้าใช้เชื้อจากนมเปรี้ยวที่ทำแล้ว ความว่องไวของเชื้อจะลดลง อาจต้องใช้ในความเข้มข้นที่มากขึ้นกว่าร้อยละ 5 (สมพร ตันสกุล 2535:15 ; Tamime และ Robinson 1985:58)

นอกจากนี้ผลการทดลองยังสอดคล้องกับการทดลองของ Nsofor และ Chukwu (1992:45) ที่ใช้หัวเชื้อแลคติกผสมในปริมาณร้อยละ 5 ในการเตรียมผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวจากถั่วเหลือง เพื่อศึกษาความชอบของผู้บริโภค ในขณะที่ Krusong และ Ninlanon (1994:35) ; กาญจนาและวราวุฒิ (2537:2) ได้รายงานการใช้ความเข้มข้นของหัวเชื้อแบคทีเรียแลคติกผสมร้อยละ 5 ที่มีอัตราการสร้างกรดสูงสุดในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวจากถั่วเหลือง ดังนั้นความเข้มข้นของกรดที่ร้อยละ 5 จึงเหมาะสมที่สุดสำหรับใช้ในการผลิตนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12

ภาพที่ 17



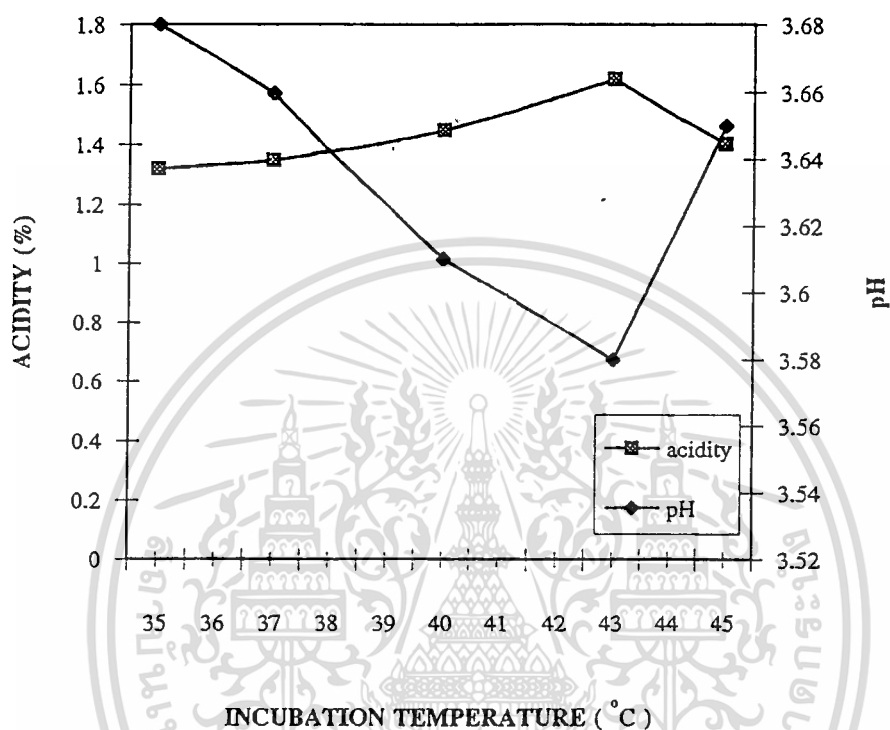
ผลของความเข้มข้นของหัวเชื้อต่อค่าความเป็นกรด pH และ TSS ในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 บ่มที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.4 ผลของอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสร้างกรด ในการหมักนมเปรี้ยวถั่วเหลือง เสริมวิตามินบี12

จากการทดลองพบว่าเมื่อปรับนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่อุณหภูมิ 35 37 40 43 และ 45 องศาเซลเซียส มีการสร้างกรดร้อยละ 1.32 1.35 1.45 1.62 และ 1.40 ตามลำดับ และมีอัตราการสร้างกรดสูงสุดที่ 43 องศาเซลเซียส ซึ่งมีความสัมพันธ์กับ pH ที่ลดต่ำลงมากที่สุดที่ pH 3.58 (ดังภาพที่ 18) นอกจากนี้อัตราการสร้างกรดดังกล่าวยังมีความสัมพันธ์กับปริมาณของเชื้อแบคทีเรียแลคติกผสมที่เจริญด้วย โดยที่อุณหภูมิบ่ม 43 องศาเซลเซียส มีจำนวนของเชื้อแบคทีเรียแลคติกผสมสูงสุด 2.8×10^7 โคโลนี / มิลลิลิตร ซึ่งมีผลทำให้อัตราการสร้างกรดที่สูงสุด (ภาพที่ 19) รองลงมาคือที่อุณหภูมิบ่ม 40 45 37 และ 35 องศาเซลเซียส โดยปกติอุณหภูมิที่ใช้บ่มนมเปรี้ยวนั้นจะอยู่ในช่วงอุณหภูมิประมาณ 40 - 45 องศาเซลเซียส (Bottazzi 1983:25) เนื่องจากเชื้อ *S. thermophilus* และเชื้อ *L. bulgaricus* เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถเจริญและมีกิจกรรมร่วมกันได้ดีเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น แต่ถึงแม้ว่าเชื้อแบคทีเรียผสมทั้งสอง (mixed culture) จะมีกิจกรรมเหมาะสมที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เนื่องจากต้องการให้สัดส่วนของหัวเชื้อทั้งสองอยู่ในระดับ 1 : 1 จึงควรเลือกอุณหภูมิการหมักเป็น 43 องศาเซลเซียส (Tamime และ Robinson 1985:58) นอกจากนี้แล้ว Tamime และ Deeth (1980: 57) รายงานว่าการบ่มนมเปรี้ยวที่อุณหภูมิต่ำกว่า 40 - 45 องศาเซลเซียส จะมีผลทำให้อัตราการสร้างกรดของแบคทีเรียในนมเปรี้ยวเป็นไปอย่างช้า และทำให้คุณภาพของนมเปรี้ยวไม่เป็นที่ต้องการ เช่นเกิดการแยกตัวของของเหลว (whey syneresis) เป็นต้น

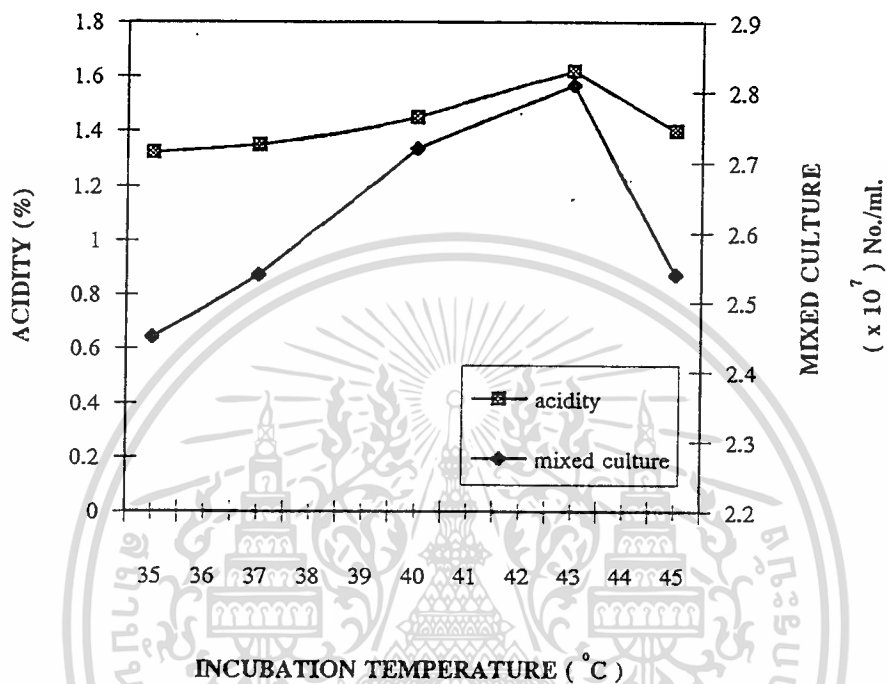
นอกจากนี้ วราวุฒิและรุ่งนภา (2532:12) ระบุว่าในระหว่างการหมักอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเชื้อแบคทีเรียแลคติกผสมจะเท่ากับ 40-42 องศาเซลเซียส เนื่องจากอุณหภูมิดังกล่าวหัวเชื้อแบคทีเรียแลคติกผสมสามารถมีกิจกรรมร่วมกันได้สูงสุด โดยอุณหภูมิการหมักที่ 45 องศาเซลเซียส เหมาะสมสำหรับการสร้างกรดของเชื้อ *L. bulgaricus* และที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส จะเหมาะกับการสร้างกรดของเชื้อ *S. thermophilus* ส่วนสมพร ตันสกุล (2535:15) รายงานว่าอุณหภูมิที่ใช้บ่มนมเปรี้ยวโดยทั่วไปใช้ 43.3 องศาเซลเซียส และบ่มจนกว่าจะวัดค่าความเป็นกรดได้ร้อยละ 0.85 - 0.95 ซึ่งจะเหมาะในการบริโภคที่สุด

ภาพที่ 18



ผลของอุณหภูมิที่ใช้ปมต่อค่าความเป็นกรด และ pH ที่เกิดขึ้นในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยว
 ถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ภาพที่ 19



ผลของอุณหภูมิที่ใช้บ่มต่อปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคติก และความเป็นกรดของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวแก้วเหลืองเสริมวิตามินบี12 เมื่อหมักเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

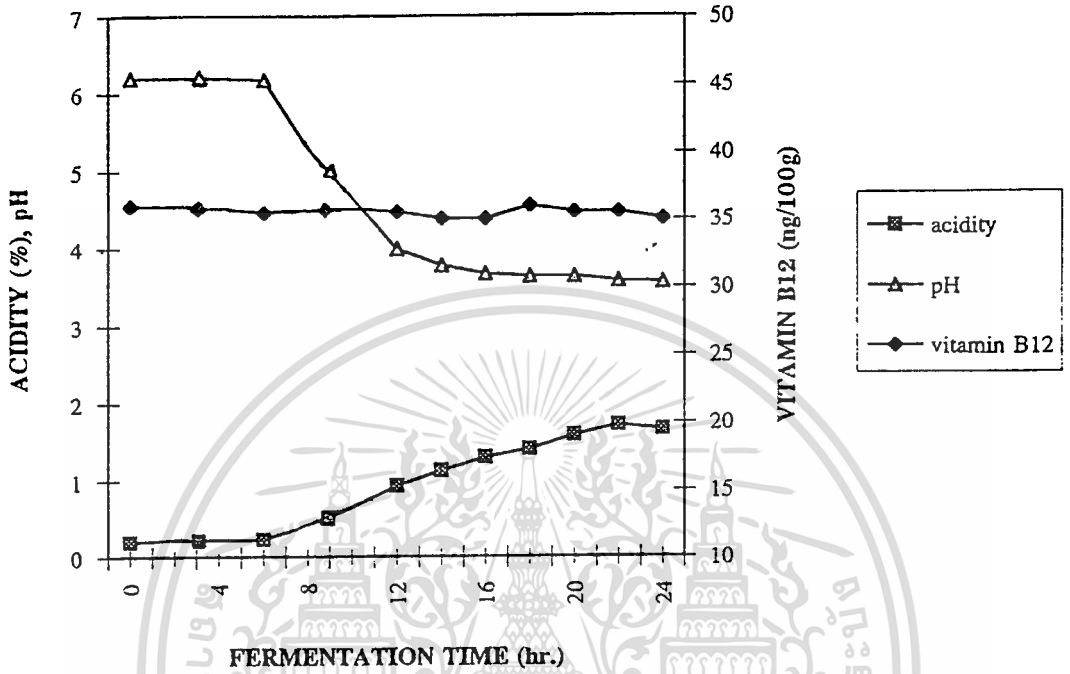
ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าอุณหภูมิที่ใช้บ่มเหมาะสมสำหรับผลิตนมเปรี้ยวมากที่สุดอยู่ในระหว่าง 40 - 45 องศาเซลเซียส และจากผลการทดลองที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับบ่มนมเปรี้ยวด้วยเชื้อแลคโตบาซิลลัส 12 มากที่สุด เนื่องจากมีอัตราการเจริญของเชื้อแบคทีเรียแลคโตคัสสูงและให้อัตราการสร้างกรดที่ดีที่สุด

3.5 ระยะเวลาการหมักที่เหมาะสมในการผลิตกรดของนมเปรี้ยวด้วยเชื้อแลคโตบาซิลลัส 12

จากผลการทดลองเมื่อเปรียบเทียบอัตราการสร้างกรดและ pH จากภาพที่ 20 และความสัมพันธ์ของปริมาณเชื้อแบคทีเรียแลคโตคัส และอัตราการสร้างกรดดังภาพที่ 21 พบว่าที่ระยะเวลาการหมัก 0 - 3 ชั่วโมง อัตราการสร้างกรดมีในปริมาณที่ต่ำอยู่ในระดับเดียวกัน เช่นเดียวกับ pH ที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงมาก และเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณเชื้อที่ 0 และ 3 ชั่วโมง จำนวนเชื้อมีอยู่ในปริมาณที่น้อยกว่าเมื่อระยะเวลาการหมักสูงขึ้น ซึ่งทำให้อัตราการสร้างกรดคงที่หรือไม่มีการเปลี่ยนแปลง เนื่องจากช่วงเริ่มต้นของการหมักเป็นช่วงที่จุลินทรีย์มีการปรับตัวให้เข้ากับสภาวะแวดล้อม ดังนั้นการเพิ่มจำนวนเซลล์และการสร้างกรดจึงมีน้อยลงด้วย (Pederson 1971: 47) และที่ระยะเวลาการหมักตั้งแต่ 6 จนถึง 18 ชั่วโมงของการหมักถือว่าเป็นช่วงที่จุลินทรีย์เจริญเติบโตมีการแบ่งเซลล์ และสร้างผลผลิตเพิ่มขึ้นเป็นอย่างมาก และพบว่ามีปริมาณของเชื้อแบคทีเรียแลคโตคัสในจำนวนที่เพิ่มสูงขึ้น อัตราการสร้างกรดมากขึ้น และมีค่า pH ที่ลดลงตามลำดับ (ภาพที่ 20 , 21) ส่วนที่ระยะเวลาการหมักชั่วโมงที่ 20 ถึง 24 ปริมาณของเชื้อมีจำนวนที่สูงสุดและเริ่มมีจำนวนคงที่ โดยมีอัตราการสร้างกรดสูงสุดร้อยละ 1.71 ที่เวลาหมัก 22 ชั่วโมง และชั่วโมงที่ 24 ของการหมักจะมีปริมาณกรดที่ลดลงเนื่องจากเป็นช่วงที่เชื้อจุลินทรีย์บางส่วนเริ่มตาย สาเหตุจากปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นและปริมาณอาหารที่มีอยู่อย่างจำกัด จึงมีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ แต่ช่วงนี้ก็ยังมีเซลล์ใหม่ที่เกิดขึ้นมาในจำนวนที่สมดุลกัน (Pederson 1971:47) ดังนั้นจำนวนของจุลินทรีย์จึงไม่มีการเปลี่ยนแปลง แต่มีผลต่ออัตราการสร้างกรดที่ลดลง

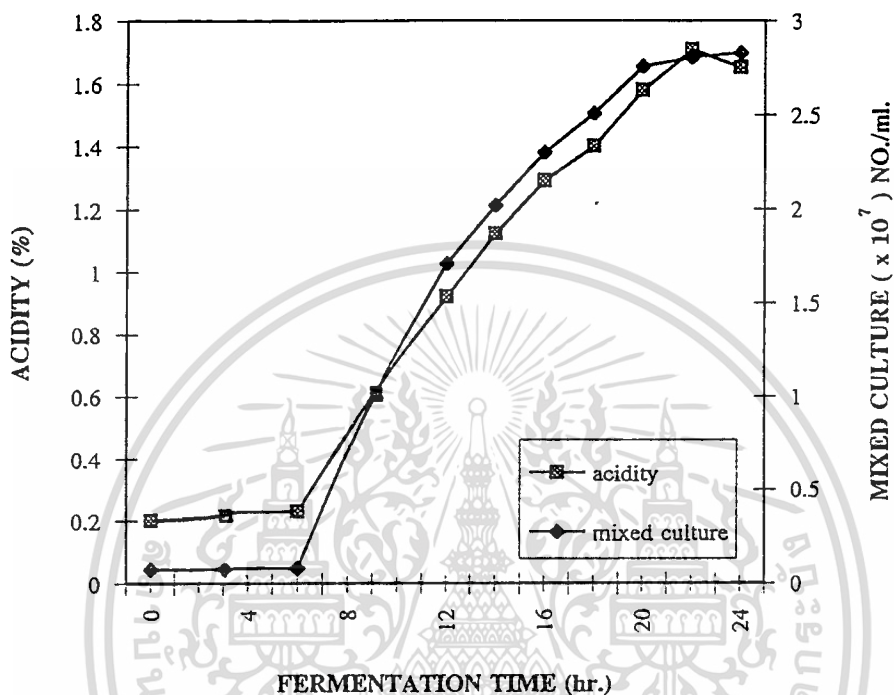
ส่วนในปริมาณของวิตามินบี 12 พบว่าในระยะเวลาการหมักตั้งแต่ 0 ถึง 24 ชั่วโมง (ภาพที่ 20) ให้ปริมาณของวิตามินบี 12 ที่ไม่แตกต่างกัน เมื่อเปรียบเทียบกับอัตราการสร้างกรด และ pH ที่เกิดขึ้น ดังนั้นจึงกล่าวได้ว่าในการหมักนมเปรี้ยวด้วยเชื้อแลคโตบาซิลลัส 12

ภาพที่ 20



ผลของระยะเวลาการหมักต่อค่าความเป็นกรด pH และปริมาณของวิตามินบี12 ของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 บ่มที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส

ภาพที่ 21



ผลของระยะเวลาการหมักต่อค่าความเป็นกรด และปริมาณของหัวเชื้อแบคทีเรียแลคติกผสมในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 บ่มที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส

ที่ระยะเวลาต่างๆด้วยหัวเชื้อแบคทีเรียแลคติกผสมไม่มีผลต่อปริมาณของวิตามินบี12 ที่เพิ่มขึ้นหรือลดลงทั้งนี้อาจเนื่องจากเชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* ที่สามารถสังเคราะห์วิตามินบี12 นั้นไม่สามารถมีชีวิตอยู่ได้ในนมถั่วเหลืองจาก HVT ที่ผ่านการให้ความร้อนในอุณหภูมิพาสเจอร์ไรส์แล้ว หรือถ้ามีจำนวนที่หลงเหลืออยู่บ้าง ในสภาวะการหมักด้วยแบคทีเรียแลคติกดังกล่าว เป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตวิตามินบี12 ของเชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* เนื่องจากมีอุณหภูมิที่สูงเกินไป (43 องศาเซลเซียส) และมี pH ที่อยู่ในช่วงที่ต่ำมาก

จากระยะเวลาต่างๆที่ใช้ในการหมักนมเปรี้ยว ค่าความเป็นกรดที่เกิดขึ้นค่อนข้างสูงและถึงแม้ว่าอัตราการสร้างกรดสูงสุดถึงร้อยละ 1.71 ที่ 22 ชั่วโมงของการหมักก็ตาม เพื่อความเหมาะสมสำหรับในการเตรียมผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่ม และเพื่อความชื่นชอบของผู้บริโภคจึงควรที่จะกำหนดค่าความเป็นกรดให้เหมาะสม โดยสถาบันพัฒนาผลิตภัณฑ์นมและวิจัยโคนมแห่งชาติ (2526:14) และสมพร ตันสกุล (2535:15) ได้กำหนดค่าความเป็นกรดของนมเปรี้ยวไว้ประมาณร้อยละ 0.85 - 0.95 ซึ่งเป็นระดับความเป็นกรดหรือความเปรี้ยวที่ผู้บริโภคให้การยอมรับ แต่ Krusong และ Ninlanon (1994:35) ได้รายงานถึงตะกอนโปรตีนที่ได้จากการหมักนมเปรี้ยวถั่วเหลืองที่ระยะเวลาหมัก 16 ชั่วโมงมีลักษณะของตะกอนที่แข็งแรงและเหมาะสมที่สุดในการเตรียมนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากถั่วเหลือง นอกจากนี้จากการสัมภาษณ์พิเศษนิรนาม (2536 : 7) พบว่าในโรงงานอุตสาหกรรมการผลิตนมเปรี้ยวจะใช้ความเป็นกรดเท่ากับร้อยละ 0.6 ซึ่งเป็นระดับความเป็นกรดที่ผู้บริโภคให้การยอมรับ

ดังนั้นในการทดลองครั้งนี้จึงเลือกใช้ระยะเวลาหมักนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่ผ่านการบ่มเป็นเวลา 16 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปผลิตเป็นนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ต่อไป เนื่องจากให้ลักษณะของตะกอนโปรตีนและความเป็นกรดที่เหมาะสมสอดคล้องกับผลการทดลองดังกล่าว

4. ปัจจัยที่เหมาะสมในการเตรียมนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12

4.1 อัตราส่วนที่เหมาะสมของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ต่อปริมาณน้ำเชื่อม

จากการทดลองพบว่าในอัตราส่วนของนมเปรี้ยวต่อน้ำเชื่อม (28 องศาบริกซ์) ในอัตราส่วน 30:70 60:40 50:50 60:40 และ 70:30 มีความเป็นกรดที่ระดับ 0.45 0.56 0.65 0.84 และ 0.97 ตามลำดับ และมีปริมาณของวิตามินบี12 ตามอัตราส่วนของนมเปรี้ยวที่มีอัตราส่วนมากขึ้น (ภาพที่ 22) จากอัตราส่วนที่ 50:50 มีความเป็นกรดร้อยละ 0.65 ซึ่งเป็นระดับความเป็นกรดที่เหมาะสม เนื่องจากความเป็นกรดอยู่ในระดับที่ผู้บริโภคให้การยอมรับ และใช้ในโรงงานอุตสาหกรรม โดยในอุตสาหกรรมนมเปรี้ยวจะใช้ความเป็นกรดเท่ากับ 0.6 (นิรนาม 2536 : 7)

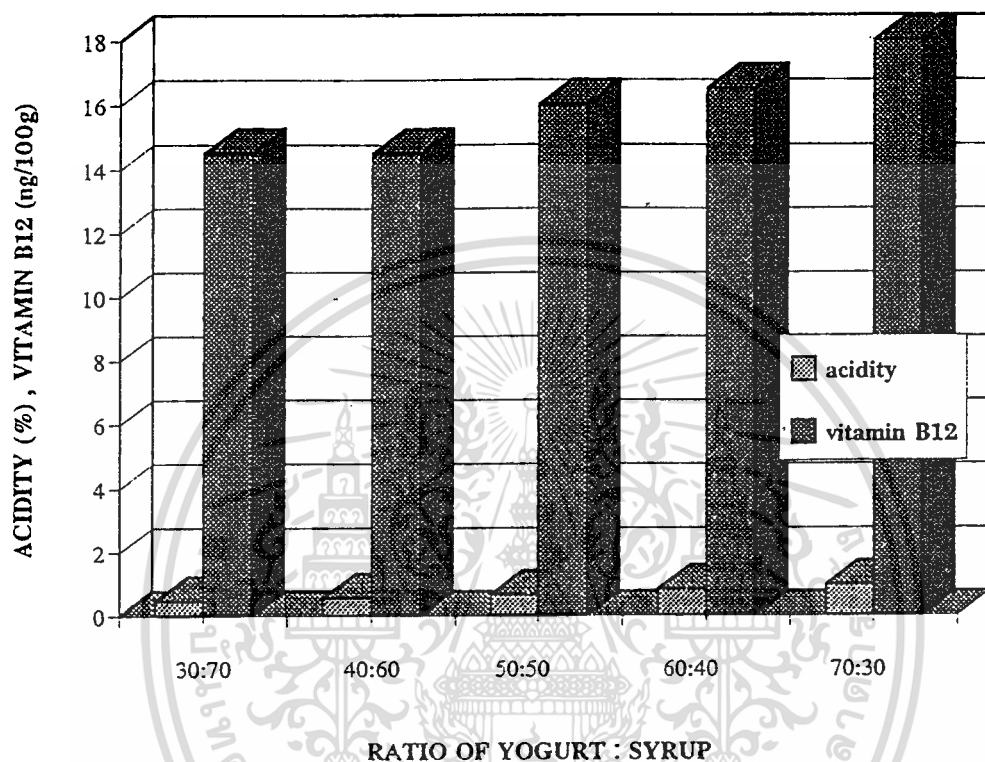
จากการทดสอบทางประสาทสัมผัส (ตารางที่ 7) พบว่าที่อัตราส่วนของนมเปรี้ยวต่อน้ำเชื่อมที่อัตราส่วน 50:50 ผู้ชิมจะให้การยอมรับโดยรวมมากที่สุด รวมถึงในด้านของรสชาติ โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับอัตราส่วนอื่นๆ ส่วนในด้านสี กลิ่น และเนื้อสัมผัส ไม่มีความแตกต่างจากอัตราส่วน 40:60 และ 60:40 แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับที่อัตราส่วน 30:70 และ 70:30 ซึ่งเป็นอัตราส่วนที่ผู้ชิมไม่ยอมรับมากที่สุด โดยเฉพาะเรื่องของรสชาติที่เปรี้ยวหรือหวานมากเกินไป และสีที่อัตราส่วน 30:70 สีค่อนข้างใสและมีความเนียน ส่วนที่อัตราส่วน 70:30 สีเข้มมากผู้ชิมจะไม่ยอมรับ

ดังนั้นที่อัตราส่วนของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ต่อปริมาณน้ำเชื่อม (28 องศาบริกซ์) ที่ 50:50 จึงเป็นอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุด ซึ่งผู้บริโภคให้การยอมรับมากที่สุด

4.2 ผลการใช้สารคงตัว (stabilizer) ที่เหมาะสมในการเตรียมนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12

จากการทดลองพบว่าความเข้มข้นของเจลาตินและคาราจีแนนที่ร้อยละ 0 ถึง 0.4 มีการแยกตัวของตะกอนเล็กน้อย และที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ถึง 1.0 ไม่มีการแยกส่วนของตะกอนเกิดขึ้น ส่วนแซนแทนกัมพบว่าการแยกตัวของตะกอนมีจนถึงความเข้มข้นร้อยละ 0.5

ภาพที่ 22



ผลของอัตราส่วนของนมเปรี้ยวต่อเหลืงเสริมวิตามินบี12 ต่อน้ำเชื่อม (28 องศาบริกซ์) ที่มีผลต่อค่าความเป็นกรด และปริมาณของวิตามินบี12

ตารางที่ 7

ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคที่มีต่ออัตราส่วนของนมเปรี้ยว
ถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ต่อน้ำเชื่อม (28 องศาบริกซ์)
โดยวิธี 7 Point Hedonic Scale

อัตราส่วน	ลักษณะคุณภาพ **				
	กลิ่น	สี	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	การยอมรับรวม
นมเปรี้ยวต่อน้ำเชื่อม					
30 : 70	3.250 ^b	3.146 ^b	4.077 ^c	4.308 ^b	4.154 ^c
40 : 60	5.333 ^a	5.583 ^a	4.769 ^b	5.385 ^a	5.000 ^b
50 : 50	5.583 ^a	5.917 ^a	5.417 ^a	5.692 ^a	5.692 ^a
60 : 40	5.250 ^a	5.417 ^a	4.846 ^b	5.462 ^a	4.923 ^b
70 : 30	3.833 ^b	2.250 ^c	4.231 ^{bc}	4.615 ^b	4.462 ^{cd}

**ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันตามแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมี
นัยสำคัญยิ่ง ($P \leq 0.01$)

และไม่พบการแยกตัวที่ร้อยละ 0.6 ถึง 1.0 (ภาพที่ 23) และในด้านความหนืด แชนแทนกัม จะทำให้นมเปรี้ยวมีความหนืดมากใกล้เคียงกับคาราจีแนน ในขณะที่เจลาตินมีความหนืดที่ น้อยที่สุด แต่ให้ลักษณะของน้ำนมดีที่สุด โดยลักษณะของนมเปรี้ยวหลังจากใช้สารคงตัวพบว่า นมเปรี้ยวที่ใช้ เจลาตินจะให้ลักษณะของน้ำนมที่ละเอียดเนียน อนุภาครวมตัวเป็นเนื้อ เดียวกันมากที่สุด ส่วนคาราจีแนนกับแชนแทนกัมเนื่องจากมีความหนืดมาก (ภาพที่ 24) ดังนั้นจึงจับตัวกับโปรตีนในนมจนเป็นก้อน เนื้อนมไม่ละเอียดและเนียน ให้ลักษณะปรากฏ ของน้ำนมเปลี่ยนแปลงไป ทั้งนี้อาจเนื่องจากคาราจีแนนและแชนแทนกัมมีสมบัติที่ไม่เหมาะสม ในอาหารที่มี pH ต่ำ Glahn (1982:29) ได้กล่าวว่าความสามารถในความคงตัวของสารให้คง ตัวในสภาวะที่ pH ไม่เหมาะสม (pH ต่ำ) จะก่อให้เกิดผลในทางตรงกันข้าม โดยจะไปยับยั้ง การแยกตัวของกลุ่ม carboxyl ของ hydrocolloid ดังนั้นสมบัติในการคงตัวของผลิตภัณฑ์นม เปรี้ยวจึงลดลง ดังนั้นเจลาตินที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 มีความเหมาะสมมากที่สุด โดยมี สมบัติที่เหมาะสมในด้านความหนืดและตะกอนที่คงตัวมากที่สุดสำหรับนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจาก น้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12

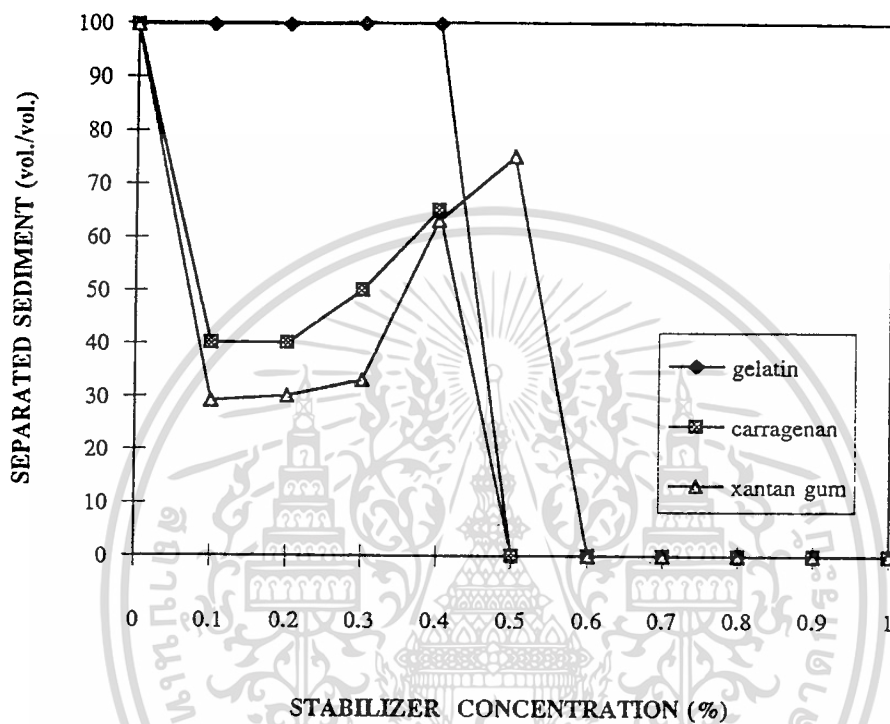
5. ผลการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคทางประสาทสัมผัสที่มีต่อผลิตภัณฑ์นม เปรี้ยว พร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12

จากผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสมีดังต่อไปนี้ (ตารางที่ 8)

5.1 ด้านกลิ่น

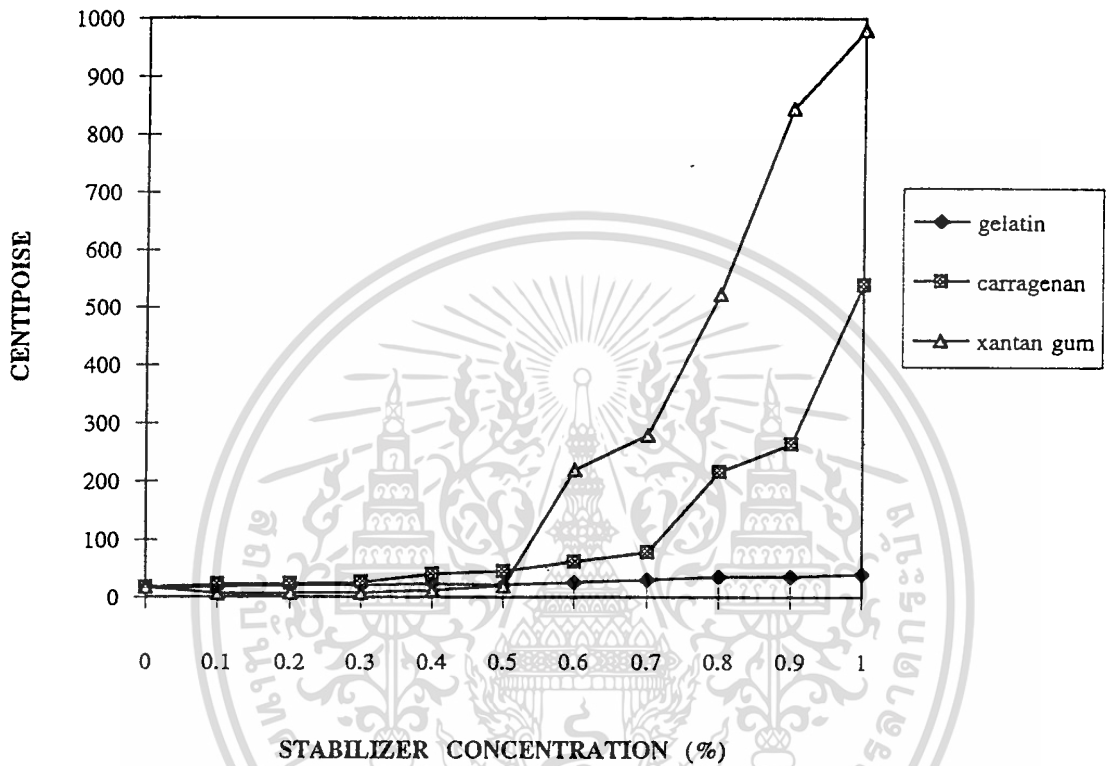
ผู้ชิมจะให้การยอมรับในกลิ่นของนมเปรี้ยวพร้อมดื่มที่ปรุงแต่งกลิ่นรสสตรอเบอร์รี่มากที่สุด โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งเมื่อเปรียบเทียบกับนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่ว เหลืองเสริมวิตามินบี12 ปรุงแต่งกลิ่นรสส้ม และกลิ่นรสสับปะรด และมีความแตกต่างอย่างมี นัยสำคัญยิ่งกับนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมวัวในทางการค้า(ควบคุม)ด้วย ทั้งนี้เพราะผู้ชิมยัง สามารถแยกถึงความแตกต่างของกลิ่นนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมวัวกับนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจาก น้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12ได้ แม้จะมีการปรุงแต่งกลิ่นรสแล้วก็ตามเนื่องจากกลิ่นที่พบยังมีกลิ่นที่เกิดจากการหมักของ HVT อยู่เล็กน้อย

ภาพที่ 23



ผลของการใช้สารคงตัวต่อค่าสัดส่วนการลอยตัวของอนุภาคในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยว
พร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12

ภาพที่ 24



ผลของการใช้สารคงตัวต่อค่าความหนืด ในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนม
ถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

ตารางที่ 8

ผลการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคทางประสาทสัมผัส ของผลิตภัณฑ์
นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12
โดยวิธี 7 Point Hedonic Scale

นมเปรี้ยวพร้อมดื่ม	ลักษณะคุณภาพ **				
	กลิ่น	สี	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	การยอมรับรวม
ไม่ปรุงแต่งกลิ่นรส	2.750 ^{cd}	3.750 ^c	3.000 ^{bc}	3.917 ^c	2.333 ^c
ปรุงแต่งกลิ่นรสส้ม	2.000 ^d	4.500 ^c	2.083 ^c	3.833 ^c	2.250 ^c
ปรุงแต่งกลิ่นรสสตรอเบอร์รี่	4.500 ^b	4.917 ^{bc}	3.455 ^b	4.833 ^{bc}	3.667 ^b
ปรุงแต่งกลิ่นรสลับประรด	3.667 ^{cd}	4.083 ^c	3.833 ^b	4.429 ^c	3.667 ^b
ปรุงแต่งกลิ่นรสส้ม (ควบคุม) *	6.583 ^a	6.417 ^a	5.692 ^a	6.083 ^a	6.000 ^a
ปรุงแต่งกลิ่นรสลับประรด (ควบคุม) *	5.917 ^a	5.833 ^{ab}	5.250 ^b	5.667 ^{ab}	6.000 ^a
ปรุงแต่งกลิ่นรสสตรอเบอร์รี่ (ควบคุม) *	6.083 ^a	5.917 ^{ab}	5.500 ^a	6.300 ^a	5.917 ^a

** ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันตามแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ($P \leq 0.01$)

* หมายถึงนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมวัวที่จำหน่ายตามท้องตลาดทั่วไป

5.2 สี

ผู้ซิมให้การยอมรับสีของนมเปรี้ยวพร้อมดื่มที่ปรุงแต่งกลิ่นรสสตรอเบอร์รี่มากที่สุด โดยสีจะอยู่ในระดับที่ไม่แตกต่างจากนมเปรี้ยวพร้อมดื่มในทางการค้า ส่วนนมเปรี้ยวพร้อมดื่มที่ปรุงแต่งกลิ่นรสส้ม และสับปะรดมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับนมเปรี้ยวพร้อมดื่มในทางการค้า

5.3 รสชาติ

ผู้ซิมให้การยอมรับในรสชาติของนมเปรี้ยวพร้อมดื่มที่ปรุงแต่งกลิ่นรสสตรอเบอร์รี่และกลิ่นรสสับปะรดมากกว่ากลิ่นรสส้ม โดยความชอบในรสชาติของนมเปรี้ยวพร้อมดื่มที่ปรุงแต่งกลิ่นรสสตรอเบอร์รี่และสับปะรดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง

5.4 เนื้อสัมผัส

พบว่าในกลิ่นรสของนมเปรี้ยวพร้อมดื่มทั้ง 3 ตัวอย่างให้ลักษณะของเนื้อสัมผัสที่ไม่แตกต่างกัน และไม่แตกต่างจากนมเปรี้ยวที่ไม่ปรุงแต่งกลิ่นรส แต่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับนมเปรี้ยวพร้อมดื่มในทางการค้า ซึ่งความแตกต่างที่เกิดขึ้นอาจเนื่องจากในกระบวนการผลิตยังผ่านการโฮมจีในซีไม่เพียงพอ (ให้ความดันที่ต่ำกว่า) ทำให้เกิดความแตกต่างกันของลักษณะเนื้อสัมผัสในนมเปรี้ยวพร้อมดื่มในทางการค้า

5.6 การยอมรับรวม

พบว่าผู้ซิมให้การยอมรับกลิ่นรสสตรอเบอร์รี่ และกลิ่นรสสับปะรดมากที่สุด และไม่ยอมรับในกลิ่นรสส้ม และในนมเปรี้ยวที่ไม่ปรุงแต่งกลิ่นรส อย่างไรก็ตามทั้งกลิ่นรสส้ม กลิ่นรสสตรอเบอร์รี่ และกลิ่นรสสับปะรด ให้การยอมรับที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งกับนมเปรี้ยวพร้อมดื่มในทางการค้า

จากการประเมินผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสดังกล่าวสรุปได้ว่า นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่ปรุงแต่งกลิ่นรสสตรอเบอร์รี่ได้รับการยอมรับมากที่สุดโดยเฉพาะในด้านกลิ่น รองลงมาได้แก่กลิ่นรสสับปะรดที่ผู้บริโภคให้การยอมรับรวมเท่ากันแต่ให้ความชอบในด้านกลิ่น สี และเนื้อสัมผัสที่ด้อยกว่ากลิ่นรสสตรอเบอร์รี่ และกลิ่นรสส้มที่ผู้ซิมให้

การยอมรับน้อยที่สุด โดยผลการยอมรับโดยรวมในนมเปรี้ยวพร้อมดื่มทั้งสามกลิ่นรสนั้นยังถือว่าไม่ได้รับการยอมรับเท่ากับนมเปรี้ยวในทางการค้า แต่สามารถยอมรับได้ในระดับหนึ่ง

6. ผลการวิเคราะห์ทางเคมีของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี12

จากผลการวิเคราะห์ทางเคมีตามตารางที่ 9 พบว่าผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ประยุกต์กลิ่นรสสตอเบอรี่และไม่ประยุกต์กลิ่นรส มีปริมาณของแข็ง ถั่ว โปรตีน แอลฟา-อไมโนไนโตรเจน และปริมาณของวิตามินบี12 ที่สูงกว่านมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมวัวในทางการค้าและน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 โดยในนมเปรี้ยวพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี12 ประยุกต์กลิ่นรสสตอเบอรี่ และไม่ประยุกต์กลิ่นรสมีปริมาณของแข็งร้อยละ 22.52 และ 22.16 ปริมาณถั่วย่อยละ 0.41 และ 0.40 ปริมาณโปรตีนร้อยละ 2.18 และ 2.20 ปริมาณแอลฟา-อไมโนไนโตรเจน 0.12 และ 0.12 g/L และปริมาณของวิตามินบี12 เท่ากับ 16.78 และ 16.80 ng/100g ตามลำดับ

นอกจากนี้ในผลการวิเคราะห์ที่ให้ความแตกต่างกันมากระหว่างนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 กับนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมวัวในทางการค้า คือปริมาณของวิตามินบี12 ที่ไม่พบในนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมวัวในทางการค้า ส่วนปริมาณของวิตามินบี12 ที่พบในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 นั้นมีในปริมาณที่มากกว่าตัวอย่างอื่นๆทั้งหมด

ตารางที่ 9

การเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ทางเคมีของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่ม
จากถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 นำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12
และนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมวัวในทางการค้า

ชนิดของผลิตภัณฑ์*	ปริมาณของ แข็ง (%)	ถั่ว (%)	โปรตีน (%)	แอลฟา-อมีโน ไนโตรเจน(g/l)	วิตามินบี12 (ng / 100 g)
1	2.05	0.12	1.00	0.24	35.00
2	22.16	0.40	2.20	0.12	16.80
3	22.52	0.41	2.18	0.12	16.78
4	19.47	0.25	2.00	0.10	0.00

*หมายเหตุ

- 1 นำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12
- 2 นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ไม่ปรุงแต่งกลิ่นรส
- 3 นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ปรุงแต่งกลิ่นรสสตรอเบอร์รี่
- 4 นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมวัวปรุงแต่งกลิ่นรสสตรอเบอร์รี่ (ควบคุม)

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

1. ภาวะในการผลิต HVT ในระดับขยายส่วน โดยใช้เชื้อผสมของหัวเชื้อรา *R. oligosporus* ร้อยละ 0.5 และหัวเชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* ร้อยละ 5.0 ประกอบด้วยความหนาของชั้นถั่วเหลืองที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว ปริมาณความชื้น ความเข้มข้นของโคบอลต์ และอุณหภูมิการหมัก เพื่อให้มีปริมาณของวิตามินบี₁₂ สูงที่สุด สรุปได้ดังนี้

1.1 ระดับความหนาของชั้นถั่วเหลืองที่ผ่านการปรับสภาพความหนา 2 เซนติเมตร ให้ปริมาณของวิตามินบี₁₂ สูงที่สุดเท่ากับ 284.33 ng/100g

1.2 ระดับของความชื้นของถั่วเหลือง เมื่อใช้ถั่วเหลืองที่ผ่านการปรับสภาพหนา 2 เซนติเมตร พบว่าความชื้นร้อยละ 55 ให้ปริมาณของวิตามินบี₁₂ สูงสุด 288.33 ng/100g

1.3 ความเข้มข้นของโคบอลต์ที่เหมาะสม เมื่อใช้ความชื้นของถั่วเหลืองที่ผ่านการปรับสภาพร้อยละ 55 ความหนาของชั้นถั่วเหลือง 2 เซนติเมตร พบว่าในปริมาณของโคบอลต์ 3 ppm ให้ปริมาณของวิตามินบี₁₂ สูงสุดเท่ากับ 288.00 ng/100g

1.4 ถั่วเหลืองที่ผ่านการปรับสภาพแล้วความหนาของชั้นถั่วเหลือง 2 เซนติเมตร ความชื้นร้อยละ 55 และโคบอลต์ความเข้มข้น 3 ppm ถ่ายเชื้อและนำมาบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ได้ปริมาณของวิตามินบี₁₂ สูงสุด 288.67 ng/100g ภายใน 24 ชั่วโมง

2. การเตรียมน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี₁₂ โดยอัตราส่วนของ HVT ต่อน้ำร้อนเท่ากับ 1 : 8 อุณหภูมิของน้ำร้อนที่ใช้ในการตีปั่นเท่ากับ 80 องศาเซลเซียส และระยะเวลาในการตีปั่นของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี₁₂ เป็นเวลา 3 นาที น้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี₁₂ ที่ได้มีลักษณะของตะกอนละเอียด และให้ลักษณะของน้ำนมไม่ข้นหรือใสเกินไป มีกลิ่นที่เกิดเนื่องจากการหมักของเชื้อรา *R. oligosporus* และเชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* อยู่ในระดับต่ำ

3. การผลิตนมเปรี้ยวจากนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 พบว่าการใช้หางนมผงร้อยละ 9 และ น้ำตาลซูโครสร้อยละ 5 ปรงแต่งในนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 และหลังจากใช้ปริมาณของ หัวเชื้อแบคทีเรียแลคติกผสมร้อยละ 5 และบ่มที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ให้ปริมาณกรดที่สูงสุดร้อยละ 1.62 ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณของเชื้อแบคทีเรีย แลคติกผสมที่มีอัตราการเจริญสูงสุดเท่ากับ 2.8×10^7 โคโลนีต่อมิลลิลิตร

ส่วนในระยะเวลาการหมักที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดของนมเปรี้ยว พบว่าระยะเวลา การหมัก 22 ชั่วโมง มีอัตราการสร้างกรดสูงสุดร้อยละ 1.71 ซึ่งมีความสัมพันธ์กับปริมาณของ เชื้อที่มีอัตราการเจริญที่สูงเท่ากับ 2.81×10^7 โคโลนีต่อมิลลิลิตร อีกทั้งระยะเวลาการหมักยัง พบว่าไม่มีอิทธิพลต่อการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของวิตามินบี12 อย่างไรก็ตามระยะเวลาที่ใช้ในการ หมักเท่ากับ 16 ชั่วโมง สามารถนำมาใช้ในการผลิตนมเปรี้ยวพร้อมดื่มต่อไป เนื่องจากมีระดับ ความเป็นกรดอยู่ในช่วงร้อยละ 1.2 ซึ่งใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตนมเปรี้ยวพร้อมดื่ม

4. การเตรียมนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ในอัตราส่วนของนม เปรี้ยวต่อปริมาณน้ำเชื่อม (ความหวาน 28 องศาบริกซ์)

จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสและค่าความเป็นกรด ผู้ชิมให้การยอมรับอัตรา ส่วน 50:50 มากที่สุด โดยรสชาติ สี และการยอมรับรวมในระดับที่ผู้ชิมชอบมาก และมีค่า ความเป็นกรดอยู่ในระดับร้อยละ 0.65 ซึ่งเป็นระดับที่เหมาะสม

การใช้สารคงตัวในผลิตภัณฑ์ พบว่าเจลาตินเป็นสารคงตัวที่เหมาะสมที่สุด โดยใช้ใน ปริมาณร้อยละ 0.5 ให้ค่าสัดส่วนการลอยตัวของอนุภาคและความหนืดที่ดีที่สุด ให้ลักษณะ ของนมเปรี้ยวที่มีเนื้อเนียนและไม่เกิดการแยกชั้นของอนุภาค

5. การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคทางด้านประสาทสัมผัสที่มีต่อนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากถั่ว เหลืองเสริมวิตามินบี12

จากผลการทดสอบผู้ชิมให้การยอมรับในกลิ่นรสสตรอเบอร์รี่มากที่สุด โดยเฉพาะใน ด้านกลิ่น ส่วนสี รสชาติ และการยอมรับรวมไม่มีความแตกต่างจากนมเปรี้ยวที่ปรงแต่งด้วย กลิ่นรสลับประรด

6.การวิเคราะห์ทางเคมี พบว่าในผลิตภัณฑ์ของนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ปรงแต่งกลิ่นรสสตรอเบอร์รี่ให้ผลการวิเคราะห์ในปริมาณของแข็งร้อยละ 22.52 เถ้าร้อยละ 0.41 โปรตีนร้อยละ 2.18 ปริมาณแอลฟา-อไมโนไนโตรเจน 0.12 g/L และปริมาณวิตามินบี12 16.78 ng/100g ปริมาณวิตามินบี12 ที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์จัดเป็นข้อได้เปรียบที่ดีเมื่อเปรียบเทียบกับนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมวัวซึ่งไม่มีวิตามินบี12



ข้อเสนอแนะ

1. ในการผลิตนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ในขั้นตอนของการทำให้เป็นเนื้อเดียวกันควรที่จะใช้เครื่องโฮโมจีไนซ์ที่มีแรงดันสูงมากขึ้น เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการทำให้เป็นเนื้อเดียวกันได้ดียิ่งขึ้น

2. ในการปรับปรุงในด้านรสชาติของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 การปรับปรุงรสชาติอาจทดสอบในด้านรสชาติอื่นๆได้อีกตามความนิยมของผู้บริโภคเช่น กลิ่นรสผลไม้รวม เป็นต้น

3. เพื่อเป็นการยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 อาจนำไปแปรรูปให้อยู่ในลักษณะเป็นผลิตภัณฑ์แห้ง เช่น การทำ spray dry .หรือ freeze dry เพื่อทำเป็นผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มผง เป็นต้น

บรรณานุกรม

1. กรมส่งเสริมการเกษตร. ถั่วเหลือง. เอกสารชุดพฤกษศาสตร์(crop manual) เล่มที่ 3 ม.ป.ท. 2525.
2. กาญจนา นิลนนท์ และ วราวุฒิ ครุสง นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากถั่วเหลือง . การประชุม สัมมนาแลคติกแอซิดแบคทีเรียในอุตสาหกรรมไทย ครั้งที่ 2 , 27-29 ตุลาคม 2537, คณะอุตสาหกรรมเกษตร . มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 2537.
3. กุลยา จันทร์อรุณ. เคมีอาหาร. กรุงเทพฯ : กรมการฝึกหัดครู , 2533.
4. ดวงพร คันธโชติ. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม:ผลิตภัณฑ์จุลินทรีย์. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์, 2530.
5. ทศพร ยศสมบัติ. การกำจัดกลิ่นถั่วเหลืองเพื่อทำผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มหมัก. ปรินูญานินพณ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2527.
6. นภา ไฉ่ทอง. กล้าเชื้ออาหารหมักและเทคโนโลยีการผลิต. กรุงเทพฯ : พันนี้พับบลิชซิง, 2535.
7. นิรนาม. เจ้าหน้าที่ฝ่ายผลิต บริษัทดัชมิลค์ จำกัด. สัมภาษณ์ 2 ตุลาคม 2536.
8. ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์. จุลชีววิทยาของการผลิตภัณฑ์เกษตร. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2525.
9. พรพรรณ อภิรักษ์ติวงศ์. การศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการผลิตวิตามินบี12 ของ *Propionibacterium freudenreichii sub shermanii*. ปรินูญานินพณ์ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. กรุงเทพฯ : บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2519.
10. มณฑนา ร่วมรักษะ วิภา คำดา และ ทศนีย์ ลิ้มสุวรรณ " ผลของวิธีการผลิตต่อคุณภาพของ น้ำนมถั่วเหลือง "วารสารอาหาร. ปีที่ 16, ฉบับที่ 1 (มกราคม 2529) : 59-71.
11. วราวุฒิ ครุสง " มาตรฐานการหมักเบเกอรี่ "วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. ปีที่ 4 , ฉบับที่ 1 (2529): 68-73.

12. วราวุฒิ ครุสง และ รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม.
กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์, 2532.
13. วราวุฒิ ครุสง. จุลชีววิทยาในกระบวนการแปรรูปอาหาร. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์, 2538.
14. สถาบันพัฒนาผู้ประกอบการและวิจัยโคนมแห่งชาติ. เอกสารประกอบการสอนวิชานมและผลิตภัณฑ์นม. เชียงใหม่ : ศูนย์วิจัยและบำรุงพันธุ์สัตว์, 2526.
15. สมพร ตันสกุล. "ผลิตภัณฑ์นมหมัก" วารสารวิทยาศาสตร์. ปีที่ 46, ฉบับที่ 4 (มีนาคม 2535) : 332-334.
16. สุจินดา สุวรรณกิจ. การผลิตเทมเป้ถั่วลิสงระดับอุตสาหกรรมในครัวเรือน. ปริญญาโท วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. กรุงเทพฯ: บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2534.
17. สุวิทย์ ตรีกุล. กรดโฟลิกและวิตามินบี12. กรุงเทพฯ : อมรการพิมพ์, 2525.
18. ส่วนวิจัยเกษตรกรรม ฝ่ายวิชาการธนาคารกสิกรไทย. อาหารเสริมสุขภาพ, ม.ป.ท. 2533.
19. AGOSIN, F., D. DIAZ, R. ARAVENA and E. YANEZ. "Chemical and Nutritional Characherization of Lupine Tempe". J. Food Sci. 54 (1989) :102-104.
20. ANGELES, A.G. and E.H. MARTH. " Growth and Activity of Lactic Acid Bacteria in Soymlk. Growth and Acid Production ". J. Milk Food Techno. 34 (1971) : 30-36.
21. AOAC. Official Methods of Analysis. 12th ed. The Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C., 1975.
22. AOAC. Official Methods of Analysis. 14th ed. The Association of Official Analytical Chemists. Virginia, 1984.
23. ASHENAFI, M. and M. BUSSE. " Microbial Development during Tempe Fermentation from Various Beans and Effect of *Lactobacillus plantarum* on the Nutural Microflora". International J. Food Sci. and Tech. 26 (1991) : 501-506.
24. ASHENAFI, M. and M. BUSSE. " Growth of *Staphylococcus aureus* in Fermenting Tempe Made from Various Beans and Its Inhibition by *Lactobacillus plantarum* ". International J. Food Sci. and Tech. 27 (1992) : 81-86.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

25. BOTTAZZI, V. Biotechnology Volume 5. Food and Production with microorganism
Weinheim ;Deerfield Beach, Florida; Basel: Verlag Chemic, 1983 .
26. BUONO, M.A., C. SETSER, L.E. ERICKSON and D.Y.C. FUNG. " Soymilk Yogurt : Sensory Evaluation and Chemical Measurement " . J. Food Sci. 55 (1990) : 528-531.
27. CHANG, C. and M.B. STONE. " Effect of Total Soymilk Solids Production by Selected *Lactobacilli* " . J. Food Sci. 55 (1990) : 1643-1675.
28. GANDHI, A.P and M.C. BOURNE. " Pre- Soaking on the Rate of Thermal Softening of Soybeans " .International J. Food Sci. and Tech. 26 (1991) :117-121.
29. GLAHN, P.E. " Hydrocolloid Stabilization of Protein Suspensions at Low pH". Prog. Fd. Nutr. Sci. 6 (1982) : 171-177.
30. HARDINGE , F and M. HARDINGE . " The Vegetarian Perspective and the Food Industry. " J. Food Tech. 29 (1992) : 114-121.
31. HENDLIN, D. and M.L. RUGER. " The Effect of Cobalt on the Microbial Synthesis of LLD-Active Substances" . Sci. 3 (1950) : 541-545.
32. KRUSONG, W., B. YONGSMITH and P.C. SANCHEZ. " Effect of Pretreatment on Soybeans in Production of High Vitamin B₁₂-Tempeh by *Propionibacterium shermanii* " . Philippine Agri. J. 74 (1991a) : 89-94.
33. KRUSONG, W., B. YONGSMITH and P.C. SANCHEZ. " Influence of *Lactobacillus casei* in Production of High Vitamin B₁₂-Tempeh" .Kasetsart J. 25 (1991b) : 458-462.
34. KRUSONG, W., B. YONGSMITH and P.C. SANCHEZ. Vitamin B₁₂ Production by *Propionibacterium shermanii* in Tempeh . Proceedings of the 3rd Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology on Current Advances in Biotechnology : Industry and Environment. Chulalongkorn University, 1991c.
35. KRUSONG, W. and K. NINLANON . Comparison Effect of Sucrose and Lactose on acid formation in Lactic Soydrink. The 9th NRCT,NUS,DOST-JSPS Joint Seminar on Biotechnology and The 6th Annual Meeting of The THai Society for Biotechnology Khonkaen University, 12-15 October 1994.

36. LEE, S.Y., C.V. MORR and A. SEO. " Comparison of Milk-based and Soymilk-based Yoghurt" J. Food Sci. 55 (1990) : 532-536.
37. LIEM, I.T.H., K.H. STEINKRAUS and T. CRONK. . " Production of Vitamin B₁₂ in Tempeh, a Fermented Soybean Food" . Appl. Env. Microbiol. 36 (1977) : 773-776.
38. MITAL, B.K. and K.H. STEINKRAUS. " Growth of Lactic Acid Bacteria in Soy Milk . J. Food Sci. 39 (1974) : 1018-1021.
39. MOORE, W.E.C. and L.V. HOLDEMAN. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Baltimore: The Williams & Wilkins Company, 1974.
40. MULYOWIDARSO, R.K., G.H. FLECT and K.A. BUCKLE. "Changes in the Concentration of Carbohydrates during the Soaking of Soybean for Tempeh Production". International J. Food Sci. and Tech. 26 (1991a) : 595-606.
41. MULYOWIDARSO, R.K., G.H. FLECT and K.A. BUCKLE. " Changes in the Concentration of Organic Acid during the Soaking of Soybean for Tempeh Production ' . International J. Food sci. and Tech. 26 (1991b) : 607-614.
42. NAKAI, S. and E. LI-CHAN. Protein Quality and The Effects of Processing. New york : Marcel Deaker , 1989.
43. NORMAN, A.G. Soybean Physiology Agronomy and Utilization. , New York : Academic Press, 1978.
44. NOYES, R. Vitamin B₁₂ Manufacture. New Jersey : Noyes Development Crop, 1969.
45. NSOFOR, L.M and E.U. CHUKWU. " Sensory Evaluation of Soymilk-based Yoghurt". J. Food Sci. Tech. 29 (1992) : 301-303.
46. PATEL, A.A., W.W. WAGHMARE and S.K. GUPTA. Lactic Fermentation of Soymilk a Rview. Process Biochem. Oct./Nov. 9-13, 1980.
47. PEDERSON, G.S. Microbiology of Food Fermentations. Westport Connecticut : The AVI Pubishing Company, 1971.

48. PINTHONG, R. , R. MACRAE and J. DICK. " The Development of a Soya- Based Yoghurt"
J. Food Tech. 15 (1980) : 661-667.
49. PRESCOTT, S.C. and C. G. DUNN. " The Production of Vitamin B12. New York, Toronto
 and London : Mc Graw-Hill Book, 1959.
50. RAINBOW, R. and A.H. ROSE. Biochemistry of Industrial Microorganism. London and
 New York : Academic Press, 1963.
51. RO, S.L., M. WOODBURN and W.K. SANDINE. " Vitamin B12 and Ascorbic Acid in
 Kimchi Inoculated with *Propionibacterium freudenreichii ss. shermanii* ". J. Food
 sci. 44 (1979) : 873-877.
52. SALUNKHE, D.K., and S.S. KADAM. CRC Handbook of World Food Legumes. Nutritional
 Chemistry, Processing Technology and Utilization. Vol 3. Boca Raton : CRC Press,
 1987.
53. SEBRELL, W.H. and R.S. HARRIS. The Vitamins Chemistry . Physiology . Pathology
 .Methods. London and New York : Academic Press, 1968.
54. SHURTLEFF, W. and A. AOYAGI. The Book of Tempeh. New York : Harper and Row,
 1979.
55. STEINKRAUS, K.H., B.H. YAP, J.P. VAN BUREN, M.I. PROVIDENT and D.B. HAND. "Study
 on Tempe ; an Indonesian Fermented Soybean Food " .Food Res. 25 (1960) :
 777-788.
56. STEINKRAUS, K.H., R.E. CULLER, C.S. PEDERSON and L.E. NELLIS. Handbook of
 Indigenous Fermented Food. New York : Marcel Dekkar , 1983.
57. TAMIME, A.Y. and H.C. DEETH. " Yogurt: Technology and Biotechnology". J. Food Prot. 43
 (1980) : 939-977.
58. TAMIME, A.Y. and R.K. ROBINSON. Yoghurt Science and Technology. Oxford : Pergamon
 Press, 1985.
59. TANNENBAUM, S.R. , V.R. YOUNG and M.C. ARCHER. Food Chemistry. New York :
 Marcel Dekker , 1985.

60.TORAYA, T., B. YONGSMITH, S. HONDA, A. TANAKA and S. FUKUI. "Production of Vitamin B₁₂ by a Methanol-Utilizing Bacterium". J. Ferment Tech. 54 (1976) : 102-108.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์ทางเคมี

1 การวิเคราะห์หาปริมาณของแข็ง (AOAC, 1984 : 22)

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างประมาณ 2.5-3 กรัม ใส่ลงในภาชนะอลูมิเนียมที่ผ่านการอบจนน้ำหนักที่คงที่แล้ว
2. นำไปอบต่อในตู้อบที่อุณหภูมิ 98-100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง
3. ทำให้เย็นใน desiccator
4. ชั่งน้ำหนัก moisture can หลังอบแล้ว

การคำนวณ

ปริมาณร้อยละของของแข็ง = $\frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างและภาชนะบรรจุหลังอบ} - \text{น้ำหนักภาชนะบรรจุ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$

2 วิธีวิเคราะห์ความชื้น (AOAC 1984 :22)

ชั่งตัวอย่างประมาณ 2 กรัม ให้น้ำหนักที่แน่นอน ใน moisture can ที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 130+3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในเดซิเคเตอร์ แล้วชั่งน้ำหนัก ทดลองอบซ้ำอีกประมาณ 1 ชั่วโมง หรือจนได้น้ำหนักคงที่

การคำนวณ

ปริมาณความชื้นร้อยละ = $\frac{(\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}) \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}}$

3 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC, 1984 :22)

ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 2-5 กรัม โดยทราบน้ำหนักตัวอย่างที่แน่นอน ใส่ลงในถ้วยกระเบื้องทนไฟที่ทราบน้ำหนักที่แน่นอน นำไปเผาด้วยตะเกียงเบนเสนในตู้ควันจนเขม่าดำหมดไป นำไปเผาต่อในเตาที่อุณหภูมิ 600 องศาเซลเซียส เผาจนกระทั่งเถ้าเป็นสีขาว (ประมาณ 3-4 ชั่วโมง

เป็นอย่างต่ำ) นำออกมาทิ้งให้เย็นใน desiccator ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของสารที่เหลือเป็น น้ำหนักของแร่ธาตุหรือเถ้า นำมาคำนวณเป็นร้อยละของเถ้าต่อไป

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณร้อยละของเถ้า} = \frac{\text{น้ำหนักของเถ้า}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

4 การวิเคราะห์หาเปอร์เซ็นต์กรด (AOAC, 1984: 22)

ปิเปตตัวอย่าง 5 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร หยดสารละลายฟีนอล์ฟทาลีน 1-2 หยด เขย่าให้เข้ากันแล้วจึงไตเตรทด้วย 0.1 N NaOH จำนวนปริมาณกรดเทียบเป็น เปอร์เซ็นต์ของกรดที่ต้องการ

การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์กรด} = \frac{\text{มิลลิลิตรของ NaOH} \times N \text{ ของ NaOH} \times MW \text{ ของกรด}}{1000 \times 5} \times 100$$

5 วิเคราะห์โปรตีนแบบ Buchi-Kjeldahl-systems

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้น
2. กรดบอริก 2 เปอร์เซ็นต์
3. กรดไฮโดรคลอริก 0.01 นอร์มัล
4. โซเดียมไฮดรอกไซด์ 32 เปอร์เซ็นต์
5. Catalyst :
 - ผสมซีลีเนียมไดออกไซด์ (SeO₂) 2.5 กรัม โปรตัสเซียมซัลเฟต (K₂SO₄) 100 กรัม และคอปเปอร์ซัลเฟต (CuSO₄·5H₂O) 20 กรัม เข้าด้วยกัน
6. อินดิเคเตอร์ผสม
 - ก. เตรียม 0.1 เปอร์เซ็นต์ Bromo cresol green ใน 95 เปอร์เซ็นต์ แอลกอฮอล์ และ 0.1 เปอร์เซ็นต์ Methyl red ใน 95 เปอร์เซ็นต์ แอลกอฮอล์

ข. ผสม 10 มิลลิลิตร Bromocresol green กับ 2 มิลลิลิตร Methyl red ใน
ขวดหยด

วิธีวิเคราะห์

1. ปิเปตตัวอย่าง 2 มิลลิลิตร ลงใน digestion vessels
2. เติม catalyst 5 กรัม กรดซัลฟูริกเข้มข้น 15 มิลลิลิตร และ glass beads
3. นำ digestion vessels ตั้งในชุดย่อยโปรตีน ย่อยจนได้สารละลายสีฟ้า
4. เทสารละลายทั้งหมดลงในปีกเกอร์แล้วนำไปใส่ในเครื่องกลั่นโปรตีน (Buchi) เติมน้ำให้ได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร แล้วเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 32 เปอร์เซ็นต์ 50 มิลลิลิตร ทำการกลั่นโดยตั้งเวลาไว้ประมาณ 4-5 นาที เก็บก๊าซแอมโมเนียที่ได้ในสารละลายกรดบอริก 2 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณ 100 มิลลิลิตร ที่มีอินดิเคเตอร์ ผสมอยู่ 2-3 หยด ในขวดลูกชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
5. นำส่วนที่กลั่นได้ไปไตเตรทกับกรดไฮโดรคลอริก 0.01 นอร์มัลจนสีน้ำเงินเปลี่ยนเป็นสีใสหรือไม่มีสี

การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์โปรตีน} = \frac{N.HCl \times \text{ml.HCl} \times 14 \times 6.25 \times 100}{\text{ml. ตัวอย่าง} \times 1000}$$

6 วิธีวิเคราะห์หาแอลฟา-อะมิโนไนโตรเจน

1. การวิเคราะห์หาฟอर्मัลดีไฮด์ไนโตรเจน

สารละลายที่ใช้

1. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.1 โมลาร์
2. สารละลายฟอर्मัลดีไฮด์ ที่มี pH 9 (ปรับด้วย 0.1 M NaOH)

วิธีวิเคราะห์

1. นำตัวอย่างมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วนตัวอย่างต่อน้ำเท่ากับ 1:10
2. ปิเปตตัวอย่างมา 10 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เป็น 7 ด้วย 0.1 M NaOH

3. เติมสารละลายฟอร์มาลดีไฮด์ 10 มิลลิลิตร ไตเตรทด้วย 0.1 M NaOH จนได้ pH 9

การคำนวณ

$$X = 14YM$$

X คือ ปริมาณของฟอร์มาลดีไฮด์ในโตรเจนในตัวอย่าง 1 ลิตร หน่วยเป็นกรัม

Y คือ ปริมาตรของ NaOH ที่ใช้ในการไตเตรท หน่วยเป็นมิลลิกรัม

M คือ ความเข้มข้นของ NaOH หน่วยเป็นโมลาร์

2. การวิเคราะห์หาอัมโมเนียคลในโตรเจน

สารเคมีและสารละลายที่ใช้

1. แมกนีเซียมออกไซด์
2. กรดบอริกเข้มข้น 6.5 โมลาร์ (4 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก)
3. สารละลายกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.05 โมลาร์
4. เมทิลเรด-โบรโมครีซอลกรีนอินดิเคเตอร์ (เมทิลเรดและโบรโมครีซอลกรีนเข้มข้น 0.1เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ในอัตราส่วน 1 ต่อ 5)

วิธีวิเคราะห์

1. นำตัวอย่างมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วนตัวอย่างต่อน้ำเท่ากับ 1:10
2. บีบตัวอย่างมา 50 มิลลิลิตร ใส่ในขวดน้ำกลั่น เติมแมกนีเซียมออกไซด์ 3 กรัม และน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร
3. กลั่นอัมโมเนียที่เกิดขึ้นลงในขวดแก้วที่มีกรดบอริก 50 มิลลิลิตร ผสมกับอินดิเคเตอร์ 7 - 8 หยด จนปริมาตรของสารละลายในขวดน้ำกลั่นเหลือเพียง 1 ใน 4 ของปริมาตรเดิม
4. ไตเตรทอัมโมเนียที่กลั่นได้ด้วยกรดซัลฟูริกจนสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเทา

การคำนวณ

$$X = 5.6YM$$

X คือ ปริมาตรอัมโมเนียคัลไนโตรเจน ในตัวอย่าง 1 ลิตร หน่วยเป็นกรัม

Y คือ ปริมาตรของสารละลายกรดซัลฟูริกที่ใช้ในการไตเตรตหน่วยเป็น มิลลิลิตร

M คือ ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก หน่วยเป็นโมลาร์

3. วิธีคำนวณแอลฟา-อะมิโนไนโตรเจน

$$\text{แอลฟา-อะมิโนไนโตรเจน} = \text{ฟอร์มาลดีไฮด์ไนโตรเจน} - \text{อัมโมเนียคัลไนโตรเจน}$$

7 วิธีหาค่าสัดส่วนการล่อยตัวของตะกอน

นำตัวอย่างที่เตรียมได้ในปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่ลงใน cylinder ขนาด 100 มิลลิลิตรจับเวลาทุกๆ 30 นาที วัดปริมาณการล่อยตัวของตะกอน (อนุภาค) ที่เกิดขึ้น จนกระทั่งได้ค่าคงที่ (ประมาณ 3 ชั่วโมง)

8 วิธีวิเคราะห์หาค่าความหนืด (โดยใช้เครื่อง Brookfield)

1. สังเกตตัวอย่างที่ใช้มีความหนืดมากน้อยแค่ไหน เพื่อเลือกใช้ถ้วยวัดความหนืดโดยเรียงตามเบอร์ (ในที่นี้ใช้เบอร์ 2)

2. นำตัวอย่างใส่ภาชนะที่มีขนาดเหมาะสมกับถ้วยวัดความหนืด โดยให้ระดับของตัวอย่างถึงขีดที่กำหนด และให้ตัวอย่างมีอุณหภูมิอยู่ในระดับเดียวกัน

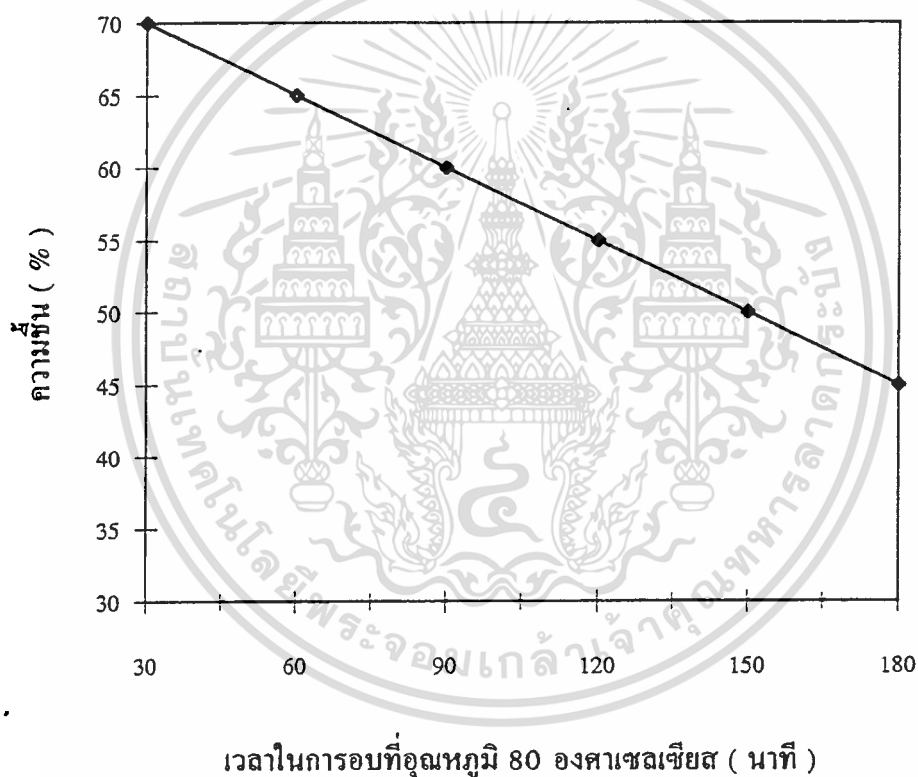
3. กดสวิทช์เครื่องที่ระดับความเร็ว 100 รอบต่อนาที จับเวลาที่ 30 วินาที (ทุกตัวอย่างใช้เวลาเท่ากัน) วัดค่าความหนืดที่ได้ทางหน้าปัทม์เครื่อง

4: ค่าความหนืดที่ได้คูณกับ 4 (ใช้ถ้วยเบอร์ 2) โดยตัวเลขที่นำมาคูณ ได้กำหนดไว้ในคู่มือ หน่วยที่ได้เป็น centipoise

9 วิถีหาความชื้นของถั่วเหลือง

โดยการอบถั่วเหลืองที่ผ่านการแช่น้ำที่ปรับความเป็นกรดด้วยกรดแลคติก (ความเข้มข้นร้อยละ 80) ในปริมาณ ร้อยละ 1 หลังจากนำมาล้างน้ำแล้ว อบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส โดยวิเคราะห์ความชื้น (ภาคผนวก ก. 2) ตามระยะเวลาที่ใช้อบถั่วเหลือง ผลดังแสดงในภาพที่ 25

ภาพที่ 25



ความสัมพันธ์ของระยะเวลาในการอบต่อความชื้นของถั่วเหลืองที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

ภาคผนวก ข

วิธีวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

วิธีวิเคราะห์วิตามินบี12 (AOAC, 1975:21)

นำตัวอย่างที่ดีที่สุดมาวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินบี12 โดยใช้ microbiological assay ด้วยเชื้อ *Lactobacillus leichmanii* ATCC 7830 มีรายละเอียดดังนี้

1. การเตรียมตัวอย่าง (sample preparation)

นำตัวอย่าง 5 กรัม (มิลลิลิตร) มาเติมสารละลาย KCN-acetate buffer 45 มิลลิลิตร (0.1 เปอร์เซ็นต์ KCN ละลายใน 0.1 M acetate buffer pH 5.5) นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที หลังจากทำให้เย็น นำส่วนใสไปวิเคราะห์วิตามินบี12 โดยเจือจางให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสม

2. การเตรียมสารละลายมาตรฐานวิตามินบี12

2.1 การเตรียมสารละลายสต็อก (stock solution)

นำผลึกวิตามินบี12 1 มิลลิกรัม มาละลายในสารละลาย KCN - acetate buffer นำส่วนที่เตรียมได้ 1 มิลลิลิตร ไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที จะได้สารละลายสต็อกที่มีความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

2.2 การเตรียมสารละลายที่ใช้ (working solution)

นำสารละลายวิตามินบี12 ที่ได้จากข้อ 2.1 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาตรเป็น 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร จะได้สารละลาย A ซึ่งมีความเข้มข้นของวิตามินบี12 เท่ากับ 5×10^{-2} มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สำหรับสารละลาย B เตรียมได้จากการนำสารละลาย A ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร สารละลาย B ที่ได้มีความเข้มข้น 5×10^{-5} มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

3. การเตรียมเชื้อ *Lactobacillus leichmanii* ATCC 7830

ถ่ายเชื้อ *L. leichmanii* ATCC 7830 จาก stock culture ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ Bacto B₁₂ inoculum agar นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง

5.3 การคำนวณปริมาณวิตามินบี12

คำนวณปริมาณวิตามินบี12 ในตัวอย่างโดยใช้สูตร

Amount of vitamin B₁₂ (x 10⁻⁵ ug/g)

= average amount of vitamin B₁₂ x dilution factor

sample weight (g)



ภาคผนวก ค

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียแลคติกผสม MRS medium

Beef extract	10	กรัม
Peptone	10	กรัม
Yeast extract	0.5	กรัม
Glucose	20.0	กรัม
Potassium dihydrogen phosphate	2.0	กรัม
Magnesium sulfate	0.4	กรัม
Manganese sulfate	0.05	กรัม
Sodium acetate	5.0	กรัม
Ammonium citrate	2.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
Tween 80	1.0	มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1000.0	มิลลิลิตร

หมายเหตุ ลักษณะโคโลนีของ *L. bulgaricus*

- กลม รี โคโลนีสีเหลือง,

ลักษณะโคโลนีของ *S. thermophilus*

-กลม โคโลนีสีขาว และมีขนาดใหญ่กว่าโคโลนีของ *L. bulgaricus*

ภาคผนวก ง

แบบประเมินผลทางประสาทสัมผัสในอัตราส่วนของนมเปรี้ยวพร้อมดื่ม
จากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่เหมาะสม

ชื่อ วันที่.....

กรุณาชิมตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ แล้วให้คะแนนตามการยอมรับของท่านต่อคุณลักษณะ
ด้านกลิ่น สี รสชาติ เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวม ของตัวอย่างโดยเกณฑ์การให้คะแนนมี
ดังนี้

- 7 ชอบมากที่สุด
- 6 ชอบปานกลาง
- 5 ชอบเล็กน้อย
- 4 เฉยๆ
- 3 ไม่ชอบเล็กน้อย
- 2 ไม่ชอบปานกลาง
- 1 ไม่ชอบมากที่สุด

คำแนะนำ ลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ คือ มีกลิ่นถั่วหรือกลิ่นที่เกิดจากการหมักของ
ถั่วน้อยที่สุด มีเนื้อสัมผัสที่เนียนเป็นเนื้อเดียวกัน สีและรสชาติเป็นที่ยอมรับได้

ตัวอย่าง	กลิ่น	สี	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	การยอมรับรวม

ข้อเสนอแนะ.....

ภาคผนวก จ

แบบประเมินผลทางประสาทสัมผัส
ผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12

ชื่อ วันที่.....

กรุณาชิมตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ แล้วให้คะแนนตามการยอมรับของท่านต่อคุณลักษณะด้านกลิ่น สี รสชาติ เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวม ของตัวอย่างโดยเกณฑ์การให้คะแนนมีดังนี้

- 7 ชอบมากที่สุด
- 6 ชอบปานกลาง
- 5 ชอบเล็กน้อย
- 4 เฉยๆ
- 3 ไม่ชอบเล็กน้อย
- 2 ไม่ชอบปานกลาง
- 1 ไม่ชอบมากที่สุด

ตัวอย่าง	กลิ่น	สี	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	การยอมรับรวม

ข้อเสนอแนะ.....
.....

ภาคผนวก จ.

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางที่ 10

การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าวิตามินบี12 ในการผลิต HVT
เมื่อใช้ความหนาของชั้นแก้วเหลืองที่ระดับต่างๆ

Source	DF	SS	MS	F Value
Model	2	1768.22	884.11	29.47
Error	6	180.00	30.00	
Corrected total	8	1948.22		
	R-square	CV	Root MSE	
	0.91	2.06	5.48	

ตารางที่ 11

การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าวิตามินบี12 ในการผลิต HVT
ในระดับความชื้นของแก้วเหลืองที่ระดับต่างๆ

Source	DF	SS	MS	F Value
Model	3	14459.67	4819.89	86.07
Error	8	448.00	56.00	
Corrected total	11	14907.67		
	R-square	CV	Root MSE	
	0.97	2.89	7.48	

ตารางที่ 12

การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าวิตามินบี12 ในการผลิต HVT
ที่ความเข้มข้นของโคบอลต์ระดับต่างๆ

Source	DF	SS	MS	F Value
Model	5	80282.14	16056.43	253.70
Error	12	759.47	63.29	
Corrected total	17	81041.61		
	R-square	CV	Root MSE	
	0.99	3.96	7.96	

ตารางที่ 13

การวิเคราะห์ทางสถิติของค่าวิตามินบี12 ในการผลิต HVT
เมื่อใช้อุณหภูมิของการหมัก HVT ที่ระดับต่างๆ

Source	DF	SS	MS	F Value
Model	3	10220.67	3406.89	127.36
Error	8	214.00	26.75	
Corrected total	11	10434.67		
	R-square	CV	Root MSE	
	0.98	2.02	5.17	

ตารางที่ 14

การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนด้านกลิ่นในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่ม
จากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 เมื่อใช้อัตราส่วนของนมเปรี้ยว
ต่อน้ำเชื่อม (28 องศาบริกซ์) ที่อัตราส่วนต่างๆ

Source	DF	SS	MS	F Value
Model	4	51.98	12.98	11.56
Error	55	61.75	1.12	
Corrected total	59	113.65		
	R-square	CV	Root MSE	
	0.46	22.79	1.06	

ตารางที่ 15

การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนด้านสีในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่ม
จากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 เมื่อใช้อัตราส่วนของนมเปรี้ยว
ต่อน้ำเชื่อม (28 องศาบริกซ์) ที่อัตราส่วนต่างๆ

Source	DF	SS	MS	F Value
Model	4	130.27	32.57	26.08
Error	55	68.67	1.25	
Corrected total	59	198.93		
	R-square	CV	Root MSE	
	0.65	25.02	1.12	

ตารางที่ 16

การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนด้านรสชาติในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่ม
จากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 เมื่อใช้อัตราส่วนของนมเปรี้ยว
ต่อน้ำเชื่อม (28 องศาบริกซ์) ที่อัตราส่วนต่างๆ

Source	DF	SS	MS	F Value
Model	4	19.14	4.78	6.20
Error	60	46.31	0.77	
Corrected total	64	65.44		
	R-square	CV	Root MSE	
	0.29	18.66	0.88	

ตารางที่ 17

การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนด้านเนื้อสัมผัสในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่ม
จากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 เมื่อใช้อัตราส่วนของนมเปรี้ยวต่อ
น้ำเชื่อม (28 องศาบริกซ์) ที่อัตราส่วนต่างๆ

Source	DF	SS	MS	F Value
Model	4	18.52	4.63	4.88
Error	60	56.92	0.95	
Corrected total	64	75.45		
	R-square	CV	Root MSE	
	0.24	19.13	0.97	

ตารางที่ 18

การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนด้านการยอมรับโดยรวมในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยว
พร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 เมื่อใช้อัตราส่วนของ
นมเปรี้ยวต่อน้ำเชื่อม (28 องศาบริกซ์) ที่อัตราส่วนต่างๆ

Model	4	17.85	4.46	6.59
Source	DF	SS	MS	F Value
Error	60	40.62	0.68	
Corrected total	64	58.46		
	R-square	CV	Root MSE	
	0.31	16.98	0.82	

ตารางที่ 19

การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนด้านกลิ่น ในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่ม
จากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่ปรุงแต่งกลิ่นรส ไม่ปรุงแต่งกลิ่นรส
และนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมวัวในทางการค้า

Source	DF	SS	MS	F Value
Model	6	226.33	37.72	23.30
Error	77	124.67	1.62	
Corrected total	83	351.00		
	R-square	CV	Root MSE	
	0.64	28.27	1.27	

ตารางที่ 20

การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนด้านสีในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่ม
จากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่ปรุงแต่งกลิ่นรส ไม่ปรุงแต่ง
กลิ่นรส และนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมวัวในทางการค้า

Source	DF	SS	MS	F Value
Model	6	74.12	12.35	6.32
Error	77	150.58	1.96	
Corrected total	83	224.70		
	R-square	CV	Root MSE	
	0.33	27.64	1.40	

ตารางที่ 21

การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนด้านรสชาติในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่ม
จากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่ปรุงแต่งกลิ่นรส ไม่ปรุงแต่งกลิ่นรส
และนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมวัวในทางการค้า

Source	DF	SS	MS	F Value
Model	6	140.96	23.49	9.26
Error	77	195.33	2.54	
Corrected total	83	336.28		
	R-square	CV	Root MSE	
	0.42	38.44	1.59	

ตารางที่ 22

การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนด้านเนื้อสัมผัสในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่ม
จากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่ปรุงแต่งกลิ่นรส ไม่ปรุงแต่ง
กลิ่นรสและนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมวัวในทางการค้า

Source	DF	SS	MS	F Value
Model	6	71.53	11.92	6.40
Error	77	143.36	1.86	
Corrected total	83	214.89		
	R-square	CV	Root MSE	
	0.33	27.49	1.36	

ตารางที่ 23

การวิเคราะห์ทางสถิติของคะแนนด้านการยอมรับโดยรวมในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยว
พร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่ปรุงแต่งกลิ่นรส ไม่ปรุง
แต่งกลิ่นรสและนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมวัวในทางการค้า

Source	DF	SS	MS	F Value
Model	6	177.48	29.58	14.98
Error	77	152.08	1.98	
Corrected total	83	329.56		
	R-square	CV	Root MSE	
	0.54	34.02	1.40	

ประวัติผู้เขียน

นางสาววิศชนม์ นิลนนท์ เกิดวันที่ 31 ธันวาคม 2509 ที่จังหวัดฉะเชิงเทรา สำเร็จการศึกษาเทคโนโลยีการเกษตรบัณฑิต (ทช.บ) สาขาวิชาเทคโนโลยีและอุตสาหกรรมอาหาร จากมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ปีการศึกษา 2532 และศึกษาต่อในระดับวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต ณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในสาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร ในปีพ.ศ. 2536 และสำเร็จการศึกษาในปีพ.ศ. 2539 ปัจจุบันรับราชการในตำแหน่งอาจารย์ 1 ระดับ 4 สังกัดสถาบันราชภัฏรำไพพรรณี กระทรวงศึกษาธิการ

