นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 โดยกระบวนการหมักแบบอาหารเหลว

LACTIC SOYDRINK FROM VITAMIN B12 ENRICHED SOYMILK BY SUBMERGED FERMENTATION

นางสาวบุณฑริกา สุมะนา
MISS BOONDARIKA SUMANA

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร
บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2541

ISBN 974-622-248-1

ลิขสิทธิ์ของบัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

LACTIC SOYDRINK FROM VITAMIN B12 ENRICHED SOYMILK BY SUBMERGED FERMENTATION

BOONDARIKA SUMANA

THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF REQUIREMENT FOR THE DEGREE
MASTER OF SCIENCE (FOOD SCIENCE)
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
1998

ISBN 974-622-248-1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี 12 โดยกระบวนการหมักแบบอาหารเหลว

LACTIC SOYDRINK FROM VITAMIN B12 ENRICHED SOYMILK BY SUBMERGED FERMENTATION

ชื่อนักศึกษา นางสาวบุณฑริกา สุมะนา **รหัสประจำตัว** 37065102

หลักสูตร วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต **สาขาวิชา** วิทยาศาสตร์การอาหาร

อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ รศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	ลายมือชื่อ
รศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง	
ผศ.ดร.ระติพร หาเรือนกิจ	
ผศ.ดร.ประภาพร ขอไพบูลย์	

ค่าระดับคะแนนที่ผ่านเป็นเอกฉันท์จากคณะกรรมการ GOOD

วัน/เดือน/ปี ที่สอบ 7 กรกฎาคม 2541 **เวลา** 13.30 น. เป็นต้นไป

สถานที่สอบ ห้องประชุม คณะเทคโนโลยีการเกษตร (ชั้น 1 ห้อง 1)

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว

(รศ.ดร.มนัส สังวรศิลป์)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 17 **เดือน** กรกฎาคม **พ.ศ.** 2541

<u>หมายเหตุ</u> การวัดผลวิทยานิพนธ์ให้ใช้ค่าระดับคะแนนดังนี้

ค่าระดับคะแนน	ผลการศึกษา	
O	Outstanding	(ดีเยี่ยม)
G	Good	(ดี)
P	Pass	(ผ่าน)
F	Fail	(ตก)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 โดยกระบวนการหมักแบบอาหารเหลว
นักศึกษา	นางสาวบุณฑริกา สุมะนา
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	รศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง
ระดับการศึกษา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร
ภาควิชา	อุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ.	2541

บทคัดย่อ

การผลิตนมเปรี้ยวพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมักโดยกระบวนการหมักผสมในอาหารเหลวโดยศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสมของการหมักเพื่อเพิ่มปริมาณวิตามินบี12 คือ การเตรียมสภาพถั่วเหลืองก่อนการหมัก ปริมาณหางนมผงและน้ำตาลซูโครส อุณหภูมิในการหมักและความเข้มข้นของหัวเชื้อ ภายหลังการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินบี12 พบว่าน้ำนมถั่วเหลืองที่เตรียมจากถั่วเหลืองที่ปรับสภาพโดยแช่ในสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที และปรับสภาพโดยเติมหางนมผงปริมาณร้อยละ 9.0 และน้ำตาลซูโครสปริมาณร้อยละ 5.0 ถ่ายหัวเชื้อผสมของเชื้อรา *Rhizopus oligosporus* ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และเชื้อแบคทีเรีย *Propionibacterium shermanii* ความเข้มข้นร้อยละ 3.0 บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง น้ำนมถั่วเหลืองหมักที่ได้มีปริมาณวิตามินบี12 สูงที่สุด คือ 30.95 ng/100ml และมีปริมาณเอนไซม์ lipoxygenase ลดลง

การผลิตนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมักทำการศึกษาถึงปัจจัยที่เหมาะสมในการผลิตคือ ชนิดและปริมาณคาร์โบไฮเดรตและไนโตรเจน สารให้ความคงตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบว่าการใช้น้ำตาลกลูโคสปริมาณร้อยละ 2.0 หางนมผงปริมาณร้อยละ 7.0 และสารให้ความคงตัวคือเจลาตินปริมาณร้อยละ 0.5 เติมลงไปในน้ำนมถั่วเหลืองหมักหลังจากนั้นทำการถ่ายเชื้อแบคทีเรียแลคติกซึ่งประกอบด้วยเชื้อ *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus* ร้อยละ 5.0 บ่มที่อุณหภูมิ 43 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ได้นมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมักที่มีปริมาณกรดสูงที่สุดคือ ร้อยละ 1.324 และเมื่อนำไปผลิตเป็นนมเปรี้ยวพร้อมดื่มโดยผสมกับน้ำเชื่อมที่มีความหวาน 28 องศาบริกซ์ ในอัตราส่วนนมเปรี้ยวต่อน้ำเชื่อมที่อัตราส่วน 50 ต่อ 50 ปรุงแต่งกลิ่นรสซึ่งประกอบด้วยกลิ่นรสส้ม สตรอเบอรี่และมะนาว พบว่าผู้บริโภคให้การยอมรับนมเปรี้ยวพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมักที่ปรุงแต่งกลิ่นรสสตรอเบอรี่มากที่สุด

ในการศึกษาถึงการผลิตนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 ผง โดยใช้เครื่องอบแห้งแบบพ่นกระจาย พบว่าความเข้มข้นของนมเปรี้ยวป้อนก่อนเข้าเครื่องที่ 20 องศาบริกซ์ เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุด โดยใช้อุณหภูมิลมเข้าเป็น 110 องซาเซลเซียส อัตราการป้อนตัวอย่างร้อยละ 5.0 Atomizer air pressure 5 Kg/cm^3 เติมสารโซเดียมไบซัลไฟต์ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 หรือสารไตรโซเดียมฟอสเฟตความเข้มข้นร้อยละ 0.2 เก็บรักษาในถุง Al-foil/PE สามารถเก็บรักษานมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12ผงได้ตลอดระยะเวลาในการศึกษานาน 4 เดือน โดยมีลักษณะปรากฏดีและเมื่อนำมาคืนรูปโดยการละลายน้ำพบว่าผู้บริโภคให้การยอมรับด้านกลิ่นและการยอมรับรวมดีกว่าที่เก็บรักษาในถุงพลาสติก PE.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Lactic Soydrink from VitaminB12 Enriched Soymilk by Submerged Mixed Fermentation
Student	Miss Boondarika Sumana
Thesis Advisor	Assoc.Prof.Dr.Warawut Krusong
Level of Study	Master of Science (Food Science)
Department	Agro-Industry Department, Faculty of Agricultural Technology King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang
Year	1998

Abstract

High vitaminB12 lactic soydrink from vitaminB12 enriched soymilk by submerged mixed fermentation production are determined the factors affecting that soybean preparations were investigated. The optimum conditions for preparations dehulled soybean was soaking in 0.5 % $NaHCO_3$ at 80 °C for 30 min, fortified with 9.0 % skim milk , 5.0 % sucrose . After inoculation with 0.25 % *Rhizopus oligosporus* and 3.0 % *Propionibacterium shermanii* starters and incubating at 35 °C for 24 hrs, the highest concentration of vitaminB12 and decreased lipoxygenase activity fermented soymilk was obtained.

High vitaminB12 lactic soydrink from vitaminB12 enriched soymilk was prepared by fortified with 2.0 % glucose , 7.0 % skim milk and 0.5 % gelatin was inoculated with 5.0 % starter (*Lactobacillus bulgaricus* and *Streptococcus thermophilus*). The highest acid concentration 1.324 % was found after incubating

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

at 43 ^{o}C for 24 Hrs. Then lactic soydrink was prepared by mixed sucrose syrup (28 degree Brix) at ratio of 50 : 50 (w/v) and the orange, strawberry and lemon flavor supplementation was mixed. The strawberry flavor supplementation product was the most accepted from the other.

High vitaminB12 soymilk yoghurt powder was processed. The 20 ^{o}Brix of soymilk yoghurt was adjusted before feeding into Spray dryer. Conditions of spray drying were as follows : inlet temperature 110 ^{o}C, sample flow rate 5.0 %, atomizer air pressure 5 Kg/cm^{3}, $NaSO_2$ 0.05 % or $3NaPO_4$ 0.2 % addition. Keeping quality of powder product packed in Al-foil / PE bag was studied. The high vitaminB12 yoghurt powder could be kept at room temperature during studying period, 4 months with the same appearance and more acceptable than kept in PE. bag.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงได้ เนื่องจากความกรุณาจากรองศาสตราจารย์ ดร. วราวุฒิ ครูส่ง ที่ได้ให้เกียรติเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา และกรุณาให้ความรู้และคำแนะนำอันเป็นประโยชน์ตลอดจนช่วยตรวจทานและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งและขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสาทความรู้แก่ ข้าพเจ้าตลอดระยะเวลาการศึกษาจนกระทั่งข้าพเจ้ามีโอกาสประสบความสำเร็จ

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ของภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือในงานวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบคุณ คุณณัฐพล ฟ้าภิญโญ คุณประชิต อยู่หว่าง คุณชุติมา เลิศลักษมี คุณสมยศ ตันติวงศ์วาณิช คุณนุจรีย์ อินอุดม รวมถึงพี่ๆน้องๆปริญญาโทรุ่น 1 และรุ่น 3 ที่ได้ให้ความช่วยเหลือมาโดยตลอด

สุดท้ายนี้ขอรำลึกถึงพระคุณของบิดา มารดา ที่ได้ให้การสนับสนุนและเป็นกำลังใจมาโดยตลอด

บุณฑริกา สุมะนา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... III

สารบัญ..... VI

สารบัญตาราง..... VIII

สารบัญภาพ..... XII

บทที่

1. บทนำ..... 1

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา..... 1

วัตถุประสงค์..... 3

2. วรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง..... 4

2.1 ถั่วเหลือง..... 4

2.2 องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของถั่วเหลือง..... 4

2.3 นมถั่วเหลื องและกลิ่นถั่วในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง..... 5

2.4 การผลิตผลิตภัณฑ์ ถั่วเหลืองที่ปราศจากกลิ่นถั่ว..... 10

2.5 วิตามินบี12..... 13

2.6 การหมักนมถั่วเหลืองด้วยแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก..... 21

2.7 กระบวนการผลิตนมถั่วเหลือง..... 24

2.8 รสชาติของนมถั่วเหลืองหมัก..... 26

2.9 การอบแห้งแบบสเปรย์ดราย..... 28

2.10 ขั้นตอนในการอบแห้งแบบสเปรย์ดราย..... 28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

บทที่ หน้า

2.11 อิทธิพลของตัวแปรในการดำเนินการ....32

2.12 การบรรจุและเก็บรักษา....33

2.13 การควบคุมคุณภาพและกระบวนการผลิต....34

3. อุปกรณ์และวิธีการ....36

4. ผลการทดลองและวิจารณ์....45

5. สรุปผลการทดลอง....95

ข้อเสนอแนะ....98

บรรณานุกรม....99

ภาคผนวก....109

ก. วิธีวิเคราะห์ทางเคมี....109

ข. วิธีวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา....118

ค. แบบประเมินผลทางประสาทสัมผัส....120

ประวัติผู้เขียน....121

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

1. แสดงระดับปฏิกิริยาของเอนไซม์ lipoxygenase ในพืชต่างๆ..... 7
2. สารประกอบที่ทำให้เกิดกลิ่นถั่วและกลิ่นเหม็นเขียว
ในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง..... 9
3. แสดงตัวอย่างของ cobamides ที่สร้างโดยจุลินทรีย์..... 17
4. แสดงลักษณะคุณภาพทางเคมีของน้ำนมถั่วเหลือง..... 46
5. แสดงลักษณะคุณภาพทางกายภาพของน้ำนมถั่วเหลือง..... 47
6. แสดงผลการวิเคราะห์ ทางเคมีของน้ำนมถั่วเหลืองหมักจาก
กระบวนการหมักผสมในอาหารเหลว..... 49
7. แสดงผลการตรวจวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ในน้ำนมถั่วเหลืองหมัก
จากกระบวนการหมักผสมในอาหารเหลว..... 51
8. แสดงผลของปริมาณน้ำตาลซูโครสและหางนมผงต่อปริมาณ
วิตามินบี12 ในน้ำนมถั่วเหลืองหมัก..... 53
9. แสดงผลของอุณหภูมิในการหมักต่อปริมาณวิตามินบี12
ในน้ำนมถั่วเหลืองหมักผสมในอาหารเหลวแบบ non-sequential..... 54
10. แสดงผลของปริมาณเชื้อ *P. shermanii* และ *R. oligosporus*
ต่อปริมาณ วิตามินบี12 ในน้ำนมถั่วเหลืองหมัก..... 58
11. แสดงผลของปริมาณเชื้อ *P. Shermanii* และ *R. oligosporus*
ต่อปริมาณแอลฟา-อะมิโนไนโตรเจนของน้ำนมถั่วเหลืองหมัก
เสริมวิตามินบี12..... 59
12. แสดงผลการยอมรับของผู้บริโภคด้านกลิ่นและการยอมรับรวม
ต่อน้ำนมถั่วเหลืองหมักเสริมวิตามินบี12..... 60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

13. แสดงผลการหมักต่อการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ lipoxygenase ในน้ำนมถั่วเหลือง 61
14. แสดงผลของน้ำตาลกลูโคสต่อปริมาณกรดและค่า pH ในนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก 64
15. แสดงผลของน้ำตาลซูโครสต่อปริมาณกรดและค่า pH ในนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก 65
16. แสดงผลของน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลซูโครสต่อปริมาณกรดและค่า pH ในนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก 66
17. แสดงผลของยีสต์สกัดและเปปโตน ต่อปริมาณกรดและค่า pH ในนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก 68
17. (ต่อ). แสดงผลของหางนมผงต่อปริมาณกรดและค่า pH ในนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก 69
18. แสดงผลของเจลาตินต่อการแยกตัวของตะกอนและความหนืดในนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก 71
19. แสดงผลของ CMC ต่อการแยกตัวของตะกอนและความหนืดในนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก 72
20. แสดงผลของเจลาตินและ CMC ต่อการแยกตัวของตะกอนและความหนืดในนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก 73
21. แสดงผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสและการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก 75

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

22. แสดงการเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ทางเคมีของผลิตภัณฑ์
นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองหมักเสริม
วิตามินบี12 และนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมวัวในทางการค้า.....78
23. แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น ปริมาณของแข็งรวมทั้งหมด
และความหนืดของนมเปรี้ยวพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี12
จากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก..... 80
24. แสดงผลของความเข้มข้นของ นมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12
ที่เหมาะสมต่อองค์ประกอบทางเคมี ลักษณะทางกายภาพและ
ปริมาณผลผลิตของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12
ในการป้อนเข้าเครื่อง Spray dryer 83
25. แสดงผลของอุณหภูมิลมเข้าเครื่อง Spray dryer ต่อองค์ประกอบ
ทางเคมี ลักษณะทางกายภาพและปริมาณผลผลิตของ
นมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12
ในการป้อนเข้าเครื่อง Spray dryer 85
26. แสดงผลของโซเดียมไบซัลไฟต์ต่อองค์ประกอบทางเคมี
ลักษณะทางกายภาพและปริมาณผลผลิตของนมเปรี้ยวถั่วเหลือง
เสริมวิตามินบี12 ในการป้อนเข้าเครื่อง Spray dryer.....86
27. แสดงผลของไตรโซเดียมฟอสเฟตต่อองค์ประกอบทางเคมี
ลักษณะทางกายภาพและปริมาณผลผลิตของนมเปรี้ยวถั่วเหลือง
เสริมวิตามินบี12 ในการป้อนเข้าเครื่อง Spray dryer 88

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

28. แสดงผลการเก็บรักษาต่อค่า Solubility index และลักษณะปรากฏ
ของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ผงในภาชนะบรรจุ
ถุงพลาสติก PE ที่อุณหภูมิห้อง..... 90
29. แสดงผลการเก็บรักษาต่อค่า Solubility index และลักษณะปรากฏ
ของ นมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ผงในภาชนะบรรจุ
ถุง Al-foil/ PE ที่อุณหภูมิห้อง..... 91
30. แสดงผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นและ
การยอมรับรวมของผู้ บริโภคต่อผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวถั่วเหลือง
เสริมวิตามินบี12ผงที่เก็บรักษาในถุงพลาสติก PE ที่อุณหภูมิห้อง.....92
31. แสดงผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นและ
การยอมรับรวมของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวถั่วเหลือง
เสริมวิตามินบี12ผงที่เก็บรักษาในถุง Al-foil/PE ที่อุณหภูมิห้อง.....93

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

1. แสดงการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ lipoxygenase..... 8
2. แสดงโครงสร้างของวิตามินบี12..... 15
3. แสดงลักษณะการสัมผัสระหว่างลมร้อนและของเหลว..... 30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

นมเปรี้ยวเป็นผลิตภัณฑ์นมหมักชนิดหนึ่ง ซึ่งปัจจุบันได้รับความนิยมอย่างแพร่หลาย เนื่องจากมีโปรตีนที่ย่อยได้ง่าย และยังมีกลิ่นรส ตลอดจนเนื้อสัมผัสที่เป็นลักษณะเฉพาะตัว โดยทั่วไปนมเปรี้ยวนี้เตรียมได้จากนมโค ซึ่งอาจเป็นนมสด นมขาดมันเนย นมเข้มข้น หรือนมคืนรูปที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วหมักต่อด้วยแบคทีเรียแลคติก

ผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวชนิดหนึ่งที่รู้จักกันดี คือ โยเกิร์ต ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวที่หมักโดยใช้หัวเชื้อแลคติก หัวเชื้อที่ใช้มีทั้งที่เป็นหัวเชื้อชนิดเดียวและหัวเชื้อผสม แต่ที่นิยมใช้กันมากจะเป็นหัวเชื้อแบคทีเรียแลคติกผสมของ *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus* โยเกิร์ตที่มีจำหน่ายตามท้องตลาดนี้สามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ ชนิดครีม (มีลักษณะเนื้อแบบครีมกึ่งแข็งกึ่งเหลว) และชนิดพร้อมดื่ม (Drinking yoghurt) ปัจจุบันนมเปรี้ยวชนิดพร้อมดื่ม เป็นที่นิยมของผู้บริโภคมาก การผลิตนมเปรี้ยวนี้ตามปกติจะใช้นมโคเป็นวัตถุดิบ แต่ในปัจจุบันมีการค้นคว้าวิจัยโดยมีการนำน้ำนมจากถั่วเหลืองมาใช้เป็นวัตถุดิบแทน สำหรับจุดประสงค์ของการนำถั่วเหลืองมาใช้แทนก็เพื่อลดต้นทุนการผลิต เพราะนมโคมีราคาแพง และหาได้ยากกว่า น้ำนมที่ได้ยังคงมีคุณค่าทางโภชนาการที่ใกล้เคียงกันในด้านปริมาณโปรตีน

วิตามินบี12 เป็นวิตามินที่มีความสำคัญต่อร่างกายมาก ถึงแม้ว่าร่างกายจะต้องการเพียงเล็กน้อยแต่ก็ขาดไม่ได้ ถ้าขาดอาจก่อให้เกิดผลเสียต่อระบบการทำงานของอวัยวะ และมีผลทำให้เกิดโรคโลหิตจางได้ วิตามินบี12 ในธรรมชาติอาจรวมตัวอยู่กับโปรตีน หรือกรดอะมิโนได้ถึง 80 ชนิด ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของ active form ที่เรียกว่า cobamide coenzyme แต่จะพบในรูปของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

cyanocobalamin น้อยมาก ในการศึกษาเกี่ยวกับวิตามินบี12 นี้ มักนิยมใช้ในรูปของ cyano-B12 เพราะเป็นรูปเดียวที่เสถียร (stable) และหาง่ายที่สุด (สุวิทย์ 2525) การผลิตวิตามินบี12 มีการศึกษาวิจัยเพื่อเพิ่มปริมาณวิตามินบี12 ในอาหาร โดยมีการค้นพบแบคทีเรียสายพันธุ์ FM-02T สามารถผลิตวิตามินบี12 ได้ในเมธานอล (Toraya et al 1976) นอกจากนี้ มีการพัฒนาโดยใช้เทมเป้จากถั่วเหลืองโดยใช้เชื้อผสมของเชื้อรา *Rhizopus oligosporus* และแบคทีเรีย *Propionibacterium shermanil* ในการเพิ่มผลผลิตของวิตามินบี12 ในเทมเป้ด้วย (Krusong et al 1991 :b)

จากปัจจัยที่กล่าวมาทำข้างต้นนั้น ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากน้ำนมถั่วเหลือง เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ใหม่ คือ นมเปรี้ยวพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลือง โดยใช้กระบวนการหมักผสมในอาหารเหลว(Submerged mixed fermentation) นี้ ศึกษาถึงสภาวะและปัจจัยที่เหมาะสมต่อกระบวนการผลิตและยังพัฒนาผลิตภัณฑ์ใหม่ เพื่อประโยชน์ต่อผู้บริโภคในด้านคุณค่าทางโภชนาการ และเป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ต่อไป

ขอบเขตการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักน้ำนมถั่วเหลือง เพื่อผลิตวิตามินบี12 และนำน้ำนมถั่วเหลืองหมักที่มีการเพิ่มปริมาณวิตามินบี12 แล้วนั้น มาผลิตเป็นนมเปรี้ยวถั่วเหลืองพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี12 ในการผลิตจะมีการศึกษาถึงปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิต การยอมรับของผู้บริโภค ตรวจสอบถึงคุณค่าทางโภชนาการที่ผู้บริโภคจะได้รับตลอดจนศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการพัฒนาให้เป็นผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวผงเสริมวิตามินบี12 ด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการหมักเพื่อเพิ่มปริมาณวิตามินบี12 ของน้ำนมถั่วเหลืองในสภาพการหมักแบบอาหารเหลว

2. เพื่อศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของน้ำนมถั่วเหลืองหมัก ในสภาพการหมักผสมในอาหารเหลว

3. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตนมเปรี้ยวพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมักในสภาพการหมักผสมในอาหารเหลว

4. เพื่อศึกษาคุณค่าทางอาหารของนมเปรี้ยวพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมักในสภาพการหมักผสมในอาหารเหลว

5. เพื่อศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการพัฒนาผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวถั่วเหลืองผงจากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

1. ถั่วเหลือง

ถั่วเหลือง (Glycine max) มีถิ่นกำเนิดในภูมิภาคแถบเอเชีย ใช้เป็นอาหารกันมานานหลายศตวรรษ มีชื่อเรียกแตกต่างกันไปตามพื้นที่ที่ปลูก เช่น Chinese pea, Manchurian bean, Soya หรือ Soja bean ลักษณะของเมล็ดถั่วเหลืองมีรูปร่างเกือบจะเป็นทรงกลม น้ำหนักเมล็ดโดยเฉลี่ยเท่ากับ 120-180 มิลลิกรัม ซึ่งคิดเป็นเปลือกหุ้มเมล็ดร้อยละ 10 (Smith and Circle 1978)

2. องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของถั่วเหลือง

2.1 โปรตีน ถั่วเหลืองเป็นพืชที่มีปริมาณโปรตีนสูงสุด เพื่อเปรียบเทียบในกลุ่มพืชตระกูลเดียวกัน มีปริมาณโปรตีนโดยเฉลี่ยถึงร้อยละ 40.4 ของน้ำหนักแห้ง (Smith and Circle 1978) ในขณะที่ถั่วอื่นๆ เช่น ถั่วเขียวมีปริมาณโปรตีนเพียงร้อยละ 25.98 ถั่วมะแฮะมีปริมาณร้อยละ 22.03 (วิเชียร 2525)

2.2 ไขมัน ถั่วเหลืองมีปริมาณไขมันโดยเฉลี่ยในเมล็ดประมาณร้อยละ 29.63 ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งมีความแตกต่างไปตามสายพันธุ์และพื้นที่ที่ปลูก ไขมันในเมล็ดถั่วเหลืองมีกรดไขมันอิสระที่จำเป็นต่อร่างกาย ได้แก่ กรดลิโนเลอิก ร้อยละ 5-11 กรดลิโพเลนิกร้อยละ 43-56 และกรดโอเลอิกร้อยละ 15-33 ส่วนกรดไขมันอิ่มตัวมีเพียงประมาณร้อยละ 11-26 (Smith and Circle 1978)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 คาร์โบไฮเดรต ถั่วเหลืองไม่ได้เป็นแหล่งของคาร์โบไฮเดรต น้ำตาลในถั่วเหลืองมีหลายชนิดที่เป็น disaccharide เช่น ซูโครสและที่เป็น tetrasaccharide เช่น สตาชิโอส ส่วนพวก penta-saccharide เช่น เวอบาโดสนั้น พบบ้างเป็นจำนวนเล็กน้อย Mital et al. (1974) รายงานว่าในถั่วเหลืองมีซูโครสอยู่ร้อยละ 4.5 แรฟฟิโนสร้อยละ 1.1 สตาชิโอสร้อยละ 3.7 อราบิโนสและกลูโคสอีกเป็นจำนวนเล็กน้อย นอกจากนี้ยังมีน้ำตาลแรฟฟิโนส ซึ่งเป็นน้ำตาล non-reducing และไม่ให้คุณค่าทางอาหารโดยตรงนอกจากจะถูกย่อยจนได้กาแลคโตส กลูโคส และฟรุคโตส

2.4 แร่ธาตุ แร่ธาตุที่พบส่วนใหญ่ในถั่วเหลืองเป็นโปตัสเซียมร้อยละ 1.83 ฟอสฟอรัสร้อยละ 0.78 แมกนีเซียมร้อยละ 0.31 โซเดียม แคลเซียม กำมะถันอีกอย่างละร้อยละ 0.24 สารประกอบที่มีฟอสฟอรัสเป็นองค์ประกอบที่พบในถั่วเหลืองคือ phytin, phospholipid และกรด nucleic ซึ่ง phytin เป็นแหล่งที่มีฟอสฟอรัสมากที่สุด มีความสำคัญต่อการละลายได้ของโปรตีนและต่อคุณค่าทางอาหารของแคลเซียม (Smith and Circle 1978)

3. นมถั่วเหลือง และกลิ่นถั่วในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองนำมาทำผลิตภัณฑ์อาหารได้หลายชนิด นมถั่วเหลืองนับเป็นผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองที่ได้รับความนิยมอย่างกว้างขวาง ทำได้จากการสกัดถั่วเหลืองบดด้วยน้ำ ซึ่งพบว่าถั่วเหลืองแห้ง 1 กิโลกรัม เมื่อนำมาสกัดด้วยน้ำในอัตราส่วน 1 ต่อ 3 จะได้นมถั่วเหลืองประมาณ 6.5 ลิตร และมีองค์ประกอบทางเคมีดังนี้ ปริมาณของแข็งร้อยละ 8.99 โปรตีนร้อยละ 3.55 ขณะที่นมสดจากวัวมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 3.69 (Metwalli and Shlabi 1982) ดังนั้นจะเห็นได้ว่านมถั่วเหลืองมีคุณค่าทางอาหารที่ใกล้เคียงกับนมวัว นักโภชนาการจึงสนับสนุนให้มีการดื่มนมถั่วเหลืองทดแทนน้ำนมวัวเพิ่มมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เกี่ยวกับการเตรียมน้ำนมถั่วเหลือง Hitzman et al (1982) ได้รายงานว่าตามปกติแล้วน้ำนมถั่วเหลืองจะก่อให้เกิดความรู้สึกที่สากลิ้นแก่ผู้บริโภค และพบว่าถ้าเติม hydrogenated oil ลงไปร้อยละ 2 จะช่วยแก้ปัญหาเหล่านี้ได้ นอกจากนี้ยังทำให้ผลิตภัณฑ์มีสีขาวขึ้นด้วย โดยเฉพาะอย่างยิ่งน้ำมันข้าวโพดให้ผลดีที่สุด Lawhon et al. (1982) ได้รายงานว่าเมื่อนำแป้งถั่วเหลืองมาละลายน้ำแล้วผสมกับหางน้ำนม จากนั้นกรองผ่าน Ultrafiltration membrane จะได้ของผสมที่มีคุณค่าทางอาหารเพิ่มขึ้น เช่นใช้โปรตีนจากถั่วเหลืองร้อยละ 33 จากนมร้อยละ 57 ผสมกันแล้วให้ค่า PER เป็น 2.36 ขณะที่โปรตีนจากถั่วเหลืองเพียงอย่างเดียวมีค่า PER เพียง 1.47

การเตรียมผลิตภัณฑ์จากนมถั่วเหลือง Vijayalaksami (1982) ได้เตรียมเต้าหู้จากนมผสมระหว่างนมถั่วเหลืองและหางน้ำนมวัวในอัตราส่วน 60 ต่อ 40 พบว่าให้โปรตีนสูงสุดถึงร้อยละ 52.28 ซึ่งมากกว่าเต้าหู้ที่ได้จากน้ำนมถั่วเหลืองแต่เพียงอย่างเดียว Peng (1982) ได้ทดลองทำผลิตภัณฑ์ชนิดหนึ่งเรียกว่า Ohio curd ซึ่งเป็นของผสมระหว่างนมถั่วเหลืองและ cheese whey เพื่อเป็นการเพิ่มกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย จากนั้นตกตะกอนของผสมด้วย glucono & lactone พบว่าได้ตะกอนสีขาว นุ่มคล้ายวุ้น มีกลิ่นรสและเนื้อสัมผัสที่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ได้ผลิตภัณฑ์ที่ปราศจากกลิ่นถั่วและเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณค่าทางอาหารโปรตีนสูง

3.1 กลิ่นถั่วในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง

Wilken et al. (1967) รายงานว่าการเกิดกลิ่นถั่วในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองเกี่ยวข้องกับสารประกอบที่ระเหยได้ อันมีสาเหตุสำคัญมาจากเอนไซม์ lipoxygenase ซึ่งมีอยู่แล้วในถั่วเหลืองตามธรรมชาติ เอนไซม์นี้นอกจากพบในถั่วเหลืองตามธรรมชาติ เอนไซม์นี้นอกจากพบในถั่วเหลืองแล้วยังพบในพวกธัญพืชอื่นๆ เช่น ข้าวสาลี เมล็ดพืชน้ำมัน และในพืชตระกูลถั่วอื่นๆ จะเห็นได้ว่าถั่วเหลืองเป็นพืชที่มีเอนไซม์นี้มากที่สุด ดังตารางที่ 1 (Obaidy and Siddhiqui 1981)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 เอนไซม์ lipoxygenase

เอนไซม์ lipoxygenase เป็นเอนไซม์ในกลุ่ม oxidoreductase หรือที่เรียกว่า linoleate : oxygen oxidoreductase หรือ E.C. 1.99.2.1 เป็นเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการ oxidation ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ที่มีบอนด์คู่ 2 คู่อยู่ในรูป cis form substrate ที่ดีที่สุดของเอนไซม์พวกนี้คือกรดลิโนเลอิก ลิโนเลนิก อราชิโดนิก และพวกลิโนลิเอท หรือลิโนลิเนท ซึ่งเมื่อถูกคะตะไลซ์แล้วได้ผลิตภัณฑ์ที่เป็น conjugated diene hydroperoxide

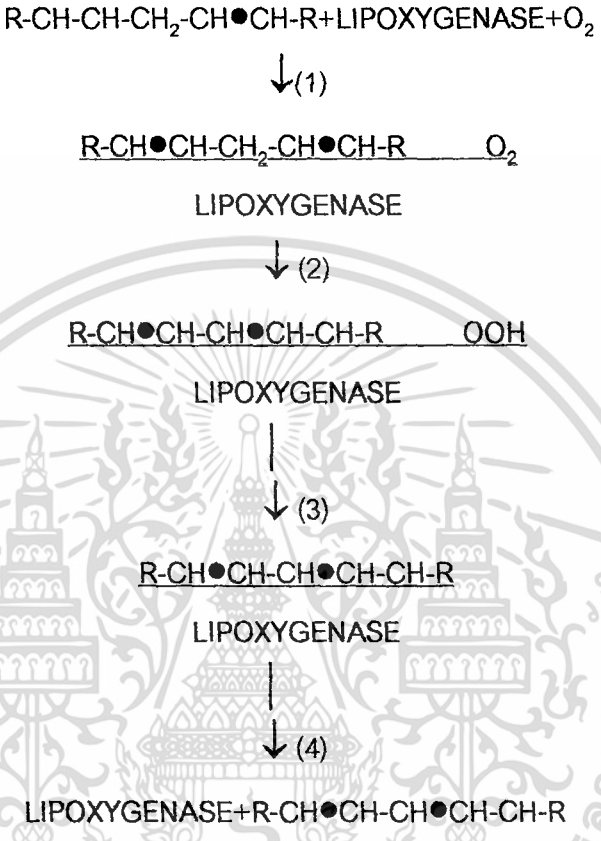
ตารางที่ 1 แสดงระดับปฏิกิริยาของเอนไซม์ lipoxygenase ในพืชต่างๆ

พืช	ปฏิกิริยาเมื่อเทียบกับถั่วเหลือง (ร้อยละ)
ถั่วเหลือง	100
ถั่วเขียว	14
ถั่วลันเตา	13
ถั่วแขก	28
Broad Bean	11
ข้าวสาลี	3

ที่มา : Obaidy and Siddhiqui (1981)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 1 แสดงการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์ lipoxygenase



ที่มา : Holman et al. (1969)

ขั้นตอนที่ 1 substrate อยู่ที่ผิวของเอนไซม์และเริ่มทำปฏิกิริยากับ oxygen

ขั้นตอนที่ 2 เคลื่อนย้าย electron และ H^+ จาก substrate ให้แก่ oxygen เพื่อสร้าง radicle ที่ผิวของเอนไซม์

ขั้นตอนที่ 3 biradicle ทำปฏิกิริยากันให้ conjugated diene hydro-peroxide และจากนั้น peroxide จะแตกตัวออกจากเอนไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สาร conjugated diene hydroperoxide จะสลายตัวต่อไปให้สารประกอบที่ระเหยได้ และทำให้เกิดกลิ่นเหม็นเขียวขึ้นในผลิตภัณฑ์ (Holman et al. 1969) สารประกอบเหล่านี้ส่วนใหญ่คือ l-pentanol, l-hexanol, 2-octa 3-ol hexanol และ hexanol มีมากที่สุดถึงร้อยละ 25 (Arai 1967) แป้งถั่วเหลืองมีสารประกอบพวก ethyl vinyl ketone และ 2 pentyl-furan ทำให้เกิดกลิ่นถั่วและกลิ่นเหม็นเขียว นอกจากนี้ 2-pentyl-furan, 3-cis hexanol และ ethyl vinyl ketone ก็เป็นตัวการที่ทำให้เกิดกลิ่นถั่วในถั่วเหลืองและในน้ำมันถั่วเหลือง (Rackis et al. 1977)

Hsich and Huang (1981) ศึกษาสารประกอบที่ให้กลิ่นรสจากแป้งถั่วเหลืองที่สกัดไขมันแล้วโดยวิธี Infrared และ Mass Spectrometry พบว่าส่วนที่ก่อให้เกิดกลิ่นถั่วและกลิ่นเหม็นเขียวในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง เป็นสารประกอบตามตารางที่ 2

ตารางที่ 2 สารประกอบที่ทำให้เกิดกลิ่นถั่วและกลิ่นเหม็นเขียวในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง

Alchols	Ketones
3-Methyl butanol	Ethyl vinyl keton
1-Pentanol	2-Methyl cyclopentanone
1-Hexanol	Methyl ethyl cyclopentanone
2-Hexanol	3-Methyl-2-cyclopentanone
3-Hexanol	2-Heptanone
t-2-Hexan-1-ol	2,6-Dimethyl-3-heptanone
t-2-Hepten-1-ol	3-Octanone
1-Octen-3-ol	3-Octen-2-one
2-Octen-1-ol	Amyl vinyl ketone
	Furan
	Z-Pentyl Furan

Aldehydes
Pentanal
Hexanal
t-2-Hexanal
Heptanal
2,4-Heptadienal
t-2-Octenal

ที่มา : Hsich and Huang (1981)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากสารประกอบที่ระเหยได้ซึ่งเกิดจากเอนไซม์ lipoxygenase ก่อให้เกิดปัญหาด้านกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง ดังนั้นทางแก้ไขคือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาอันเนื่องมาจากเอนไซม์

3.3 คุณสมบัติของเอนไซม์ Surrey (1960) รายงานว่าเอนไซม์ lipoxygenase มีน้ำหนักโมเลกุล 108,000 มีโครงสร้างย่อยที่ประกอบด้วย 2 component คือร้อยละ 85 เป็น 2.8 s และที่เหลือเป็น 6.3 s (Swedburg unit)

pH ที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 6.5-9 pI ประมาณ 5.4 อุณหภูมิที่เหมาะสมประมาณ 35-40 องศาเซลเซียส

Inhibitor ที่สำคัญที่สุดของเอนไซม์ lipoxygenase คือพวก lipid anti-oxidant เช่น tocopherol, nordihydroguaiaretic acid (NDGA), propylgallate, hydroquinone, napthol

3.4 วิธีการ assay เอนไซม์ Obaidy and Siddhiqui (1981) ได้พัฒนาวิธีการ assay เอนไซม์โดยใช้ linoleate substrate ความเข้มข้น $7.5x10^{-3}$ โมล่าร์ ปริมาณ 3 มิลลิลิตรใน silica cell ใน Spectrophotometer เมื่อเวลาเริ่มต้นเติมเอนไซม์ lipoxygenase ที่เจือจางแล้วลงไป 0.1 มิลลิลิตร ให้ส่วนผสมผสมกันอย่างรวดเร็ว และวัดค่า absorbance ที่เพิ่มขึ้นทุก 30 วินาที ที่ความยาวคลื่น 234 nm หน่วยของเอนไซม์ที่ได้คือจำนวนเอนไซม์ที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนค่า absorbance ไป 0.001 ต่อวินาที ที่ 234 *nm*

4. การผลิตผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองที่ปราศจากกลิ่นถั่ว

Wilken et al. (1967) พบว่าถ้าบดถั่วกับน้ำที่อุณหภูมิระหว่าง 80 และ 100 องศาเซลเซียส และคงอุณหภูมินี้ไว้ประมาณ 10 นาที จะสามารถยับยั้งเอนไซม์ lipoxygenase ได้อย่างสมบูรณ์ และได้นมถั่วเหลืองที่ปราศจากกลิ่นเหม็นเขียว Mustaka and Albrecht (1969) ได้ใช้วิธีการให้ความร้อนแห้ง 212 องศาฟาเรนไฮต์แก่เนื้อถั่วเหลืองก่อนบดเป็นแป้ง พบว่าสามารถยับยั้งปฏิกิริยาเอนไซม์ lipoxygenase ได้ และเมื่อวิเคราะห์พบว่าแป้งถั่วเหลืองที่ได้มีปริมาณ peroxide, conjugated diene และกรดไขมันอิสระต่ำ ต่อมา Kon and Horvat (1970) รายงานว่าการบดถั่ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กับน้ำภายใต้สภาพเป็นกรด pH 3.85-2.2 สามารถยับยั้งเอนไซม์ lipoxygenase ได้ และได้ของผสมที่ไม่มีกลิ่นแปลกปลอมหรือกลิ่นเหม็นเขียว นอกจากประโยชน์ในการกำจัดกลิ่นถั่วแล้ว สภาพเป็นกรดที่ pH 2.2 นี้สามารถสกัดโปรตีนได้มากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการสกัดถั่วแห้งด้วยน้ำ ดังตารางที่ 3 Nelson et al. (1971) รายงานว่าถั่วเหลืองในสภาพทั้งเมล็ดนั้นไม่มีสารประกอบที่ทำให้เกิดกลิ่นเหม็นเขียวหรือกลิ่นถั่วขึ้น แต่ถ้าบดถั่วหรือทำให้เนื้อเยื่อถูกทำลายแล้วจะเกิดกลิ่นเหม็นเขียว ทั้งนี้เนื่องจากเอนไซม์และ substrate ทำปฏิกิริยากัน Schroder and Jackson (1971) ทำการลดกลิ่นถั่วในเต้าหู้โดยบดถั่วในน้ำร้อนอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส และทำให้ร้อนขึ้นถึง 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 นาที เมื่อกรองแล้วอุณหภูมิจะลดลงเป็น 80 องศาเซลเซียส แล้วตกตะกอนด้วย $CaSO_4$ จะได้เต้าหู้ที่มีกลิ่นถั่วน้อยกว่าเต้าหู้ที่ได้จากการบดถั่วในน้ำเป็นธรรมดา Nelson et al. (1976) ศึกษาถึงขบวนการเตรียมนมถั่วเหลืองตามวิธี Illinois Process พบว่าถ้าแช่ถั่วค้างกันในสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนตร้อยละ 0.5 หรือในน้ำธรรมดาแล้วลวกต่อในสารละลายชนิดเดียวกันเป็นเวลา 30 นาที จะได้ถั่วที่ปราศจากกลิ่นเหม็นเขียว เนื่องจากเอนไซม์ lipoxygenase ถูกทำลายลงจนไม่ก่อให้เกิดปัญหากลิ่นถั่ว

วิธีการต่างๆ เหล่านี้ใช้ความร้อนทำลายเอนไซม์ lipoxygenase ซึ่งจะทำให้โปรตีนที่ละลายได้ลดน้อยลง และทำให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นสุก Eldridge et al. (1977) รายงานถึงการปรับปรุงกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองโดยใช้วิธีการแช่ถั่วหรือบดถั่วในสารละลายเอธิลแอลกอฮอล์ พบว่าเมื่อใช้สารละลายแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 40-60 แช่ถั่วที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้ปฏิกิริยา lipoxygenase ในถั่วเหลืองลดลงอย่างรวดเร็ว แต่ในขณะเดียวกันดัชนีการละลายได้ของโปรตีน (protein solubility index) ลดลงด้วย นอกจากนั้น trypsin inhibitor ถูกทำลายลงไปเพียงบางส่วนเท่านั้น ผลการทดลองทางประสาทสัมผัสพบว่ากลิ่นถั่ว กลิ่นเหม็นเขียว และรสขมลดลง และเมื่อทดสอบกับถั่วอื่นๆ เช่น ถั่วลิสงพบว่าการแช่ในสารละลายแอลกอฮอล์ช่วยลดกลิ่นถั่วลงได้เช่นเดียวกัน และยังพบว่าการใช้ความร้อนร่วมกับการแช่ถั่วในแอลกอฮอล์เพื่อยับยั้งปฏิกิริยาเอนไซม์ lipoxygenase และในขณะเดียวกันยังรักษาคุณสมบัติของการนำโปรตีนไปใช้ประโยชน์ได้ (functional property) โดยพบว่าถ้าแช่ถั่วในสารละลายเอธิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 15 ถึง 45 ที่อุณหภูมิ 40 ถึง 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ถึง 6 ชั่วโมง ถั่วเหลืองที่ได้นั้นมีดัชนีการละลายได้ของโปรตีนสูงสุด และ เอนไซม์ lipoxygenase ถูกทำลายลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้มากที่สุด แต่ trypsin inhibitor ถูกทำลายไปเพียงร้อยละ 50 เท่านั้นและถ้าเพิ่ม pH ของสารละลายที่แช่ ทำให้อัตราการทำลายเอนไซม์ lipoxygenase เพิ่มขึ้น และถ้ามีเกลือ carbonate ในน้ำที่แช่ทำให้ดัชนีการละลายได้ของโปรตีนเพิ่มขึ้นด้วย Ashraf and Snyder (1981) ศึกษาถึงการเพิ่ม pH ในสารละลายแอลกอฮอล์ที่ใช้แช่ถั่ว พบว่าถ้าแช่ถั่วในสารละลายที่มีแอลกอฮอล์ร้อยละ 15 และ Na_2CO_3 หรือ $NaHCO_3$ 0.1 โมล่าร์ละลายอยู่ นมถั่วเหลืองที่ได้มีกลิ่นรสดีกว่านมถั่วเหลืองจากถั่วที่แช่ในสารละลายที่ใช้การเพิ่ม ด้วยการเติม NaOH และถ้าเพิ่มความชื้นของถั่วจากร้อยละ 11 เป็นร้อยละ 16.3 ด้วยการแช่ในสารละลายคาร์บอเนต บัฟเฟอร์ pH 9.8 และอบเมล็ดถั่วนั้นด้วยไอน้ำร้อนจนมีอุณหภูมิ 91 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 วินาที พบว่าระงับปฏิกิริยาเอนไซม์ lipoxygenase ได้ถึงร้อยละ 99 และคงการละลายได้ของโปรตีนไว้ได้มากกว่าร้อยละ 70 นอกจากนี้แล้ว สุชาติ และ ลูกจันทร์ (2525) เตรียมนมถั่วเหลืองโดยแช่ถั่วในน้ำธรรมดาก่อน 24 ชั่วโมง แล้วแช่ในน้ำร้อน 80 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำไปแช่ในสารละลาย $NaHCO_3$ เข้มข้นร้อยละ 0.5 ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที แล้วบดถั่วในน้ำร้อนอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ทำเป็นน้ำนมถั่วเหลือง ซึ่งเมื่อทำการตรวจสอบทางประสาทสัมผัสพบว่าผู้ชิมยอมรับมากที่สุด

นอกจากวิธีการทำลายหรือยับยั้งปฏิกิริยาเอนไซม์ lipoxygenase เพื่อปรับปรุงด้านกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองดังกล่าวแล้ว ในประเทศทางแถบตะวันออกมีการผลิตผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองในรูปของอาหารหมักจากเชื้อจุลินทรีย์เช่น ซีอิ้ว เต้าเจี้ยว เทมเป้ มิโส ซึ่งพบว่าผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองมีคุณสมบัติและลักษณะที่คล้ายกับน้ำนมวัว Wang et al. (1974) จึงได้พัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากนมถั่วเหลืองโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ชนิดเดียวกับที่ใช้ในการหมักน้ำนมวัวในขบวนการทำนมเปรี้ยวซึ่งพบว่าเมื่อหมักน้ำนมถั่วเหลืองด้วย *Lactobacillus acidophilus* NRRL-1910 แล้ว นำไปทำให้เย็นโดยผสมกับน้ำเย็นในปริมาณเท่าตัว ได้เครื่องดื่มหมักจากถั่วเหลืองที่ผู้ชิมไม่ได้กลิ่นถั่วเลย ซึ่งได้ให้เหตุผลไว้ว่าเป็นเพราะกลิ่นถั่วถูกกลบด้วยกลิ่นอื่นๆ ที่แบคทีเรียพวกผลิตกรดแลคติกสร้างขึ้นระหว่างการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. วิตามินบี12

วิตามินบี12 เป็นวิตามินที่มีลักษณะเป็นผลึกสีแดง สามารถละลายได้ดีทั้งในน้ำและแอลกอฮอล์มีความคงตัวที่ pH 4 - 7 และละลายได้ง่ายที่ pH 2 หรือ pH 9 ไวต่อแสงมากวิตามินบี12 เป็นวิตามินชนิดหนึ่งที่มีความสัมพันธ์กับกรดโฟลิค การขาดวิตามินบี12 จะทำให้เกิด megaloblastic anemia เช่นเดียวกับการขาดกรดโฟลิค (สุวิทย์ 2525) สำหรับประวัติของวิตามินบี12 นั้นเริ่มในปี ค.ศ. 1926 Minot และ Murphy ประสบความสำเร็จในการรักษาผู้ป่วยที่เป็นโรค pernicious anemia ด้วยการให้ผู้ป่วยรับประทานอาหารที่มาจากตับหรือเตรียมการสกัดจากตับ และในปี 1929 มีการค้นพบว่าทั้งสองปัจจัยนั้นมีความจำเป็นต่อการคืนสภาพของเซลล์เม็ดเลือดแดง ในผู้ป่วยที่เป็นโรค pernicious anemia

5.1 โครงสร้างวิตามินบี12

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

วิตามินบี12 มีสูตรโครงสร้างทางเคมีคือ C_{63} H_{88} O_{14} N_{14} PCo และชื่อทางเคมีว่า 5,6-dimethylbenzimidazolyl cobamide cyanide เรียกสั้นๆ ว่า Cyanocobalamin ในส่วนที่เป็น corrin ring หรือ corrinoid คือ ส่วนแกนกลางโครงสร้าง ที่ประกอบด้วยสามเหลี่ยม pyrrole ring เชื่อมกันมีโคบอลท์เป็นแกนกลางส่วนที่เป็น nucleotide คือ 5,6-dimethylbenzimidazole จะเชื่อมกัน corrin ring 2 ส่วน คือ phosphoric acid ของ nucleotide เชื่อมกับ propioramide group ของ ring D ด้วย aminopropanol bridge และ nitrogen ของ nucleotide จะ Co-ordinate กับอะตอมโคบอลท์ในแนวเกือบตั้งฉากกับ Corrin ring ซึ่ง bond นี้จะถูกทำลายได้ง่ายเช่นการเติม cyanide ลงไป จะได้สารประกอบที่เรียกว่า cyanocobalamin ดังแสดงในภาพที่ 2 (ปรียา 2525)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 สาเหตุของการขาดวิตามินบี12

สาเหตุการขาดวิตามินบี12 ที่สำคัญได้แก่

1. ได้รับสารอาหารไม่เพียงพอกับความต้องการของร่างกาย เช่น คนกินอาหารมังสวิรัติ เด็กที่กินนมมารดาที่ขาดวิตามินบี12 เป็นต้น

2. มีการดูดซึมน้อย เนื่องจากการขาด intrinsic factor โรคทางเดินอาหารของลำไส้ การผ่าตัดกระเพาะอาหารและลำไส้เล็ก การได้รับยาบางอย่างที่ขัดขวางการดูดซึม

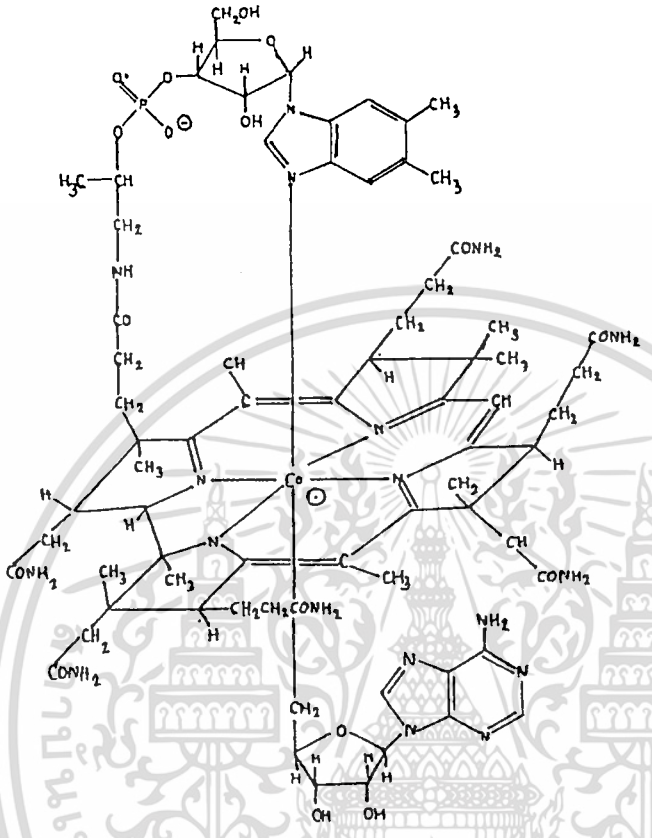
3. ร่างกายมีความต้องการเพิ่มขึ้นกว่าปกติ เช่นขณะให้นมบุตรหรือตั้งครรภ์

4. ร่างกายไม่สามารถนำวิตามินไปใช้ได้

การขาดวิตามินบี12 ในอาหารมังสวิรัติ โดยเฉพาะผู้ที่รับประทานเฉพาะอาหารพวกผักและผลไม้เป็นหลักไม่ทานเนื้อและผลิตภัณฑ์จากสัตว์ (vegans) จะพบว่าในซีรัมมีระดับวิตามินบี12 ลดลงภายหลังเริ่มรับประทานอาหารมังสวิรัติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 2 แสดงโครงสร้างของวิตามินบี12



ที่มา : Tannenbaum et al. (1985)

5.3 การผลิตวิตามินบี12 และจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้อง

วิตามินบี12 สกัดพบครั้งแรกจากตับ แต่เนื่องจากตับมีวิตามินบี12 ในระดับต่ำประมาณ 1 ppm จึงทำให้การสกัดไม่สามารถทำเป็นการค้าได้เพราะมีราคาค่อนข้างแพง อีกทั้งเป็นการยากที่จะสังเคราะห์วิตามินบี12 ได้โดยวิธีทางเคมีเพราะมีโครงสร้างที่ซับซ้อน ดังนั้นจึงนิยมผลิตจากจุลินทรีย์ ทั้งนี้เพราะมีจุลินทรีย์หลายชนิดที่สามารถผลิตวิตามินบี12ได้ เช่น *Propionibacterium freudenreichii* , *P. shermanii* , *Bacillus megaterium* , *Streptomyces olivaceus* และ *Klebsiella pneumoniae* แต่สำหรับการผลิตในระดับอุตสาหกรรม เพื่อที่จะสามารถสังเคราะห์วิตามินบี12 ได้ในปริมาณสูง จะใช้จุลินทรีย์ในกลุ่ม *P. freudenreichii* ATCC 6207 ,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

B. megaterium ATCC 13639, *P. shermanii* , *S. grisceus* , *S. olivaceus* , *Streptomyces sp.* ATCC 11072 และ *Pseudomonas sp.* ในการคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่สามารถสังเคราะห์วิตามินบี12 นั้น อาจทำได้โดยการคัดเลือกโดยตรงจากแหล่งที่อยู่ของจุลินทรีย์ ซึ่งจุลินทรีย์ที่สังเคราะห์วิตามินบี12 อาจจะเป็นได้ทั้งแบคทีเรีย ยีสต์ และรา หรือสาหร่ายสีน้ำเงินแกมเขียว ในแต่ละชนิดจะผลิตวิตามินบี12 ได้มากน้อยแตกต่างกันไป ดังแสดงในตารางที่ 3 ซึ่งแสดงตัวอย่าง cobamide ที่สร้างโดยจุลินทรีย์

Toraya et al. (1976) ศึกษาสายพันธุ์ใหม่ของจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตวิตามินบี12 ได้ ได้แก่ สายพันธุ์ FM-02T เป็นแบคทีเรียแกรมลบสร้างเม็ดสีสีชมพู (Pink-pigment) มีรูปร่างเป็นแท่ง สามารถใช้ 1,2-propanediol กรดแลคติก และเมธานอลเป็นแหล่งของคาร์บอนได้ ในขณะเดียวกัน นอกจากจุลินทรีย์ที่สามารถสังเคราะห์วิตามินบี12 ได้แล้ว ยังมีจุลินทรีย์บางกลุ่มที่ต้องการใช้วิตามินบี12 ในการเจริญเติบโตเช่น *Lactobacillus lactis* , *L. leichmanii* และ *E. coli* เป็นต้น โดยใน *L. leichmanii* มีการใช้วิตามินบี12 ใน ribonucleotide reductase โดยจะรวมอยู่ด้วยกันในฟอร์มของ deoxyadenosyl-B12 ในการผลิตวิตามินบี12 นอกจากมาจากแหล่งต่างๆ ที่กล่าวมาแล้วยังพบว่าในผลิตภัณฑ์บางชนิดมีวิตามินบี12 สูงเช่นในน้ำปลา ปลาร้า ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักของพืชตระกูลถั่ว และผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักผักชนิดต่างๆ ได้แก่ กิมจิ (Kimchi) เป็นต้น

การผลิตวิตามินบี12 ในอุตสาหกรรมมีการใช้ประโยชน์จากการสังเคราะห์จากจุลินทรีย์เป็นส่วนมาก โดยเฉพาะจุลินทรีย์พวก Propionibacterium ดังที่ใช้ในผลิตภัณฑ์ของเทมเป้ (Krusong et al. 1991 :a)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 แสดงตัวอย่างของ cobamides ที่สร้างโดยจุลินทรีย์

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

ที่มา : ดัดแปลงจากปรียา (2525)

5.4 เชื้อ *Propionibacterium shermanii*

เชื้อแบคทีเรียที่สร้างวิตามินบี12 ที่นิยมใช้ในการผลิตวิตามินบี12 คือ แบคทีเรีย *Propionibacteriun shermanii* ซึ่งเป็นเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากผลิตภัณฑ์นม เช่น นมดิบ และ swiss cheese เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ ไม่มีการเคลื่อนไหว สามารถเจริญได้ดีในสภาพที่เป็น anaerobic จนถึง aerotolerant โดยสภาพที่เป็น anaerobe จะมีรูปร่างเล็กกลมและรูปแท่ง ขนาดเล็กกว่า 0.5 ไมครอน ส่วนในสภาพที่เป็น aerobe มีรูปร่างเป็น club-shaped

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และbranch หรือเป็นแท่งยาว และในสภาพที่เป็น micro-aerobe จะมีลักษณะเป็นแท่งเล็กๆ อยู่กันเป็นคู่ๆ หรือเป็นสายสั้นๆ

Propionibacterium shermanii นอกจากจะสร้างวิตามินบี12 แล้ว ก็ยังสามารถหมักกรดแลคติก (lactic acid) กรดไพรูวิค (pyruvic acid) คาร์โบไฮเดรท และโพลีแอลกอฮอร์ ได้กรดโพรพิโอนิค (propionic acid) กรดอะซิติค (acetic acid) และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งกรดโพรพิโอนิคที่ได้ยังเป็นตัวป้องกันการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่นๆที่มักเกิดกับการหมักธรรมดาได้ด้วย แต่คุณสมบัติที่สำคัญคือการผลิตวิตามินบี12 ในสภาพ anaerobe หรือสภาพ micro-aerobe fermentation (พรพรรณ 2519 ; ปรียา 2525)

จุลินทรีย์ชนิดนี้ต้องการอากาศเพียงเล็กน้อยสามารถที่จะผลิตวิตามินบี12 ได้โดยใช้อาหารที่มีการเติมโคบอลท์(Co) ลงไปด้วยและเลี้ยงในสภาพที่ไม่มีการหมุนเวียนของอากาศ การผลิตวิตามินบี12 โดยเฉพาะ adenosyl cobalamin ขึ้นอยู่กับการเติม 5,6-dimethyl benzimidazole (DBI) ลงไปในขบวนการผลิต แต่มีบางชนิดสังเคราะห์ DBI ด้วยตัวมันเอง และการหมุนเวียนของอากาศเหมาะสมแก่การสังเคราะห์ DBI ด้วย คือเชื้อสังเคราะห์ DBI ในช่วงที่มีอากาศ ดังนั้น การที่ต้องการผลิตวิตามินบี12 ให้ได้มากควรจะผลิตแบบสองขั้นตอน ขั้นตอนแรกให้เชื้อเจริญในสภาพปราศจากอากาศ โดยใช้เวลา 2-4 วัน เชื้อใช้แหล่งคาร์บอนเป็นน้ำตาลกลูโคสเกือบหมด ขั้นตอนที่สองมีการให้อากาศเป็นเวลา 3-4 วัน ก็ได้วิตามินบี12 เป็นปริมาณมาก คาดคะเนว่าสาร cobinamide-5-deoxyadenosine เกิดขึ้นในขั้นตอนแรกและสารนี้เปลี่ยนเป็น 5,6-dimethyl-α-benzimidazolylcobamide-5-deoxyadenosine ในช่วงหลังการเลี้ยงจุลินทรีย์อาจเลี้ยงในสภาพปราศจากอากาศ เมื่อได้เซลในปริมาณมากๆ แล้วจึงแยกเซลออกโดยใช้เครื่องเหวี่ยง นำเซลไปเลี้ยงในสภาพมีอากาศเพื่อผลิตวิตามินบี12 หรืออาจนำเซลที่แยกออกไปเติม DBI และไซยาไนด์ (CN) หรืออาจเติม DBI (ที่ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมี) ในช่วงที่ปราศจากอากาศทำให้เวลาในการเลี้ยงสั้นเข้า เพราะสามารถตัดช่วงที่ต้องการอากาศออกไป แต่ต่อมาพบว่าการเติม DBI ควรเติมในขั้นตอนที่สองเท่านั้นสำหรับสายพันธุ์ที่ไม่สามารถสังเคราะห์ DBI ได้เนื่องจากสารตัวนี้จะไปยับยั้งการสังเคราะห์ corrinoid จึงไม่ควรจะมีการเติม DBI ในระหว่างการเลี้ยงขั้นแรกเลย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารที่ใช้เลี้ยงเพื่อผลิตวิตามินบี12 ประกอบด้วย น้ำตาลกลูโคสเป็นหลัก (10-100 g/L) มีเกลือแร่ Fe^{2+} Mn^{2+} และ Mg^{2+} ในปริมาณเล็กน้อยพร้อมกับเติม Co (10-100 mg/L) สารเคมีพวกบัฟเฟอร์ สารประกอบไนโตรเจนที่เตรียมได้จากยีสต์ ไฮโดรไลเซทของเคซีนหรือน้ำแช่ข้าวโพด (30-70 g/L) ก็นิยมใช้เพราะมีกรดแลคติค และ กรดแพนโทธินิค(pantothenic acid) ปนมาด้วยช่วยทำให้เชื้อเจริญได้ดี นอกจากนี้กรดแพนโทธินิค ยังกระตุ้นการสังเคราะห์ corrinoid ด้วย จึงนิยมเติมกรดชนิดนี้ลงไปด้วย อุณหภูมิทั่วไปที่ใช้คือ 30 องศาเซลเซียส pH 6.5-7.0 และจากการศึกษากลไกการสังเคราะห์วิตามินบี12 จึงมีการเติมน้ำตาลแลคโตส ไกลซีน และα-aminolevulinic acid ลงในอาหารดังกล่าวด้วย เชื้อนี้สามารถผลิตวิตามินบี12 ได้ 25-40 mg/L และในอุตสาหกรรมคาดว่าผลิตได้มากกว่านี้ประมาณ 216 mg/L วิตามินบี12 ที่สังเคราะห์ปกติจะอยู่ภายในเซลถูกขับออกนอกเซลได้ต้องทำให้สารละลายเป็นกรด pH 2-3 และเติม KCN ลงไปด้วยระหว่างที่มีการสกัดโดยการต้มทำให้ได้วิตามินบี12 ออกมา (ปรียา 2525)

5.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของ *Propionibacterium shermanii*

5.5.1. อาหาร ได้แก่

5.5.1.1 แหล่งคาร์บอน (carbon source) ได้แก่คาร์โบไฮเดรต เช่น dextrose , maltose , lactose , corn syrup เป็นต้น และสารประกอบอินทรีย์อื่นๆ เช่น กรดแลคติก กรดกลูโคนิค กรดซิตริค และกลีเซอรอล แต่น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีและเหมาะสมที่สุด

5.5.1.2 แหล่งไนโตรเจน (nitrogen source) มักเป็นกรดอะมิโน หรือโปรตีนจากถั่วเหลือง ข้าวสาลี เนื้อสัตว์ เมล็ดธัญญพืช เช่น ฝ้าย ฯลฯ แต่การใช้กรดอะมิโนในอาหารเลี้ยงเชื้อจะได้วิตามินบี12 ในปริมาณที่ต่ำกว่าการใช้แอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจน แต่แหล่งไนโตรเจนที่ดีและเหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตวิตามินบี12 คือ แอมโมเนียมซิเตรท และแอมโมเนียมฟอสเฟต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.5.1.3 แร่ธาตุ (minerals) ที่สำคัญได้แก่

- โคบอลต์ ช่วยเพิ่มผลผลิตของวิตามินบี12 อาจใช้โคบอลต์ในรูปของเกลือที่ละลายน้ำได้ดี เช่น โคบอลต์คลอไรด์ โคบอลต์ซัลเฟต โคบอลต์ไนเตรท หรือเกลือโคบอลต์อื่นๆ ปริมาณที่ใช้ไม่เกิน 20 มก./ลิตร

- ไซยาไนด์ ช่วยเพิ่มผลผลิตของวิตามินบี12 เติมในอาหารเลี้ยงเชื้อไม่เกิน 0.1-100 มก./ลิตร โดยเติมในรูปของ แอมโมเนียมไซยาไนด์ เฟอโรไซยาไนด์ เป็นต้น หรืออยู่ในรูปของเหลวและแก๊ส เช่น กรดไฮโดรไซยานิค ไฮโดรเจนไซยาไนด์

- แร่ธาตุอื่นๆ เช่น เหล็กช่วยในการเจริญเติบโตและผลิตวิตามินบี12 , แมกนีเซียม ช่วยในการเจริญเติมโตอย่างเดียว แต่ทองแดง และบิสมัส จะเป็นพิษต่อจุลินทรีย์

5.5.1.4 วิตามิน

- วิตามิน ที่สำคัญคือ วิตามินบี2 เพราะใช้แทน 5,6-dimetylbenzi-midazale ซึ่งเป็นสารเริ่มต้นของวิตามินบี12

5.6 สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตวิตามินบี 12 ของเชื้อ *P. shermanii*

5.6.1 สภาพความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่เหมาะสมของ Propionic acid bacteria อยู่ระหว่าง 6.8-7.2 แต่ pH ที่แบคทีเรียชนิดนี้เจริญได้ดีที่สุด คือ pH 7.0 ในการหมักจะต้องรักษา pHอยู่ในช่วง 4-9 ถ้าสูงหรือต่ำกว่านี้ วิตามินบี12 จะสลายตัวได้ เนื่องจาก cobalamin ถูกทำลายได้ง่าย

5.6.2 อุณหภูมิ ที่ใช้ในการหมักทั่วไปประมาณ 30 องศาเซลเซียส เป็นสภาวะที่แบคทีเรียที่สร้างกรดโพรพิโอนิคเจริญได้ดี จึงเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตวิตามินบี12 ด้วย

5.6.3 การให้อากาศ เชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* สามารถเจริญได้ในสภาพที่ไร้อากาศหรือมีอากาศเพียงเล็กน้อยได้ดี ดังนั้นในถังหมักขนาดใหญ่จึงได้ปรับให้เป็นสภาพไร้อากาศโดยการผ่าน non-oxidizing gas เช่น ไนโตรเจน หรือ คาร์บอนไดออกไซด์ ลงใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหาร จากนั้นจึงอาศัยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์จากแบคทีเรียในการรักษาสภาพไร้อากาศ และเมื่ออากาศสัมผัสกับอาหารในถังหมักในสภาพ micro-aerobe จึงทำให้มีการสร้างวิตามินบี12 ได้ดี แต่ถ้ามีอากาศมากเกินไป ผลผลิตของ cobalamin จะลดลง (พรพรรณ 2519)

6. การหมักนมถั่วเหลืองโดยแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก

นมถั่วเหลืองเป็นผลิตภัณฑ์ที่คล้ายกับนมโค โดยได้จากการสกัดของเหลวจากถั่วเหลือง โปรตีนที่ได้ก็มีเหมือนกับนมโค แต่นมถั่วเหลืองปัญหาเกี่ยวกับกลิ่นเหม็นเขียว จึงเป็นปัจจัยที่จำกัดการบริโภคสำหรับผู้ที่ไม่คุ้นเคยกับนมถั่วเหลือง จึงได้มีการศึกษาทางลดกลิ่นถั่ว ซึ่งสามารถทำได้หลายวิธีคือ

1. การให้ความร้อนต่อเมล็ดถั่วเหลืองก่อนหรือระหว่างการแปรรูป เพื่อระงับการทำงานของเอนไซม์ lipoxygenase หรือระงับกระบวนการออกซิเดชันของไขมัน

2. การสกัดเอาไขมันออก เพื่อป้องกันการเกิดกลิ่นเหม็นเขียว

3. การใช้กระบวนการหมักโดยจุลินทรีย์ที่ผลิตกรดแลคติกที่เหมาะสม ซึ่งวิธีนี้ ได้ประสบผลสำเร็จมาแล้วในการใช้เชื้อรา เช่น *Rhizopus oligosporus*, *Neurospora sitophila* และ *Aspergillus oryzae* ตลอดจนแบคทีเรีย *Bacillus natto* (Kanda et al. 1976)

ในปี ค.ศ. 1934 ได้มีการใช้แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกในการหมักนมถั่วเหลืองเพื่อทำ butter-like products โดยใช้ *L. acidophilus* ต่อมา ในปี ค.ศ. 1947ได้มีการศึกษาและพบว่านมถั่วเหลืองนั้นจัดเป็นอาหารที่ดีของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก แต่ปริมาณกรดแลคติกที่ได้จะมีน้อยกว่าการใช้นมโค แบคทีเรีย *Streptococcus citrovorus* (*Leuconostoc cremoris*), *S. paracitrovorus* (*Leu. dextranicum*) และ *S. lactis* จะสามารถสร้างกรดแลคติกได้เพียงครึ่งเดียวของนมโค และไม่พบความแตกต่างของกรดไขมันที่ระเหยได้ในนมทั้ง 2 ตัวอย่างเลย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการหมักนมถั่วเหลืองเพื่อทำโยเกิร์ตได้มีการพัฒนาโดยผลิตจากน้ำนมถั่วเหลืองที่มีโปรตีนร้อยละ 9.8 และแร่ธาตุอื่นๆ สูงกว่าโยเกิร์ตทั่วๆ ไป โดยการเติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 15 แล้วหมักด้วยเชื้อ *L. bulgaricus* หรือทั้ง *L. bulgaricus* และ *S. thermophilus* ปรากฏว่าได้ผลิตภัณฑ์ที่ดีเป็นที่น่าสนใจ จากการศึกษาของนักวิจัยหลายคณะได้สรุปว่าเชื้อ *L. bulgaricus* ไม่มีความสามารถใช้ซูโครสได้เลย ดังนั้นจึงต้องใช้เชื้อทั้ง 2 ชนิดเพื่อให้ *S. thermophilus* ใช้ซูโครสหรือผลผลิตที่ได้จากการไฮโดรไลซ์ซูโครส ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการเจริญเติบโตของ *L. bulgaricus* ดังนั้นจึงสรุปว่าการสร้างกรดแลคติกในผลิตภัณฑ์จะให้ดีและมีปริมาณสูงจำเป็นจะต้องใช้เชื้อโยเกิร์ตทั้ง 2 ชนิดร่วมกัน อีกทั้งผลิตภัณฑ์ที่ได้จากนมถั่วเหลืองที่มีปริมาณของแข็งรวม (Total solid) สูง ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะและความหนืดแตกต่างไป จากการใช้ นมโค

Hang et al. (1967) ได้ทำเนยแข็งจากนมถั่วเหลือง โดยใช้ *S. thermophilus* และได้สรุปไว้ว่าสามารถทำเนยแข็งได้ โดยมีเนื้อสัมผัสและความชื้นอยู่น้อยกว่าเมื่อใช้กรดอะซิติกหรือการตกตะกอนด้วยเกลือ การใช้หางนมและเรนเนทสกัดร่วมกับกรดแลคติกช่วยทำให้ผลิตภัณฑ์ที่มีรสชาติดี เพราะหางนมช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อในนมถั่วเหลือง เนื่องจากมีแลคโตสอยู่ร่วมด้วย Obera (1978) ได้แนะนำไว้ว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้นั้นไม่ดีนักถ้าหากว่าเนยแข็งนั้นทำมาจากขบวนการผลิตแบบเก่าๆ ดังนั้นจึงปรับปรุงก้อนเคิร์ด (Curd) ที่ได้จากการตกตะกอนโดยเกลือมาเป็นการใช้ด้วย proteolytic enzyme ก่อนการเติมเชื้อ *S. cremoris* และ *S. lactis* Yamanaka and Furukawa (1970) ได้ทดลองทำโยเกิร์ตจากโปรตีนถั่วเหลืองผสมกับนมโคและซูโครส และใช้เชื้อ *S. thermophilus* และ *L. bulgaricus* โดยมีการเติมกรดอะมิโนบางชนิดลงไปเพื่อปกปิดกลิ่นเหม็นเขียวจากถั่วเหลืองเช่น อลานีน (alanine), อาร์จินีน (arginine),กรดแอสปาร์ติค (aspartic acid), โซเดียมกลูตาเมท (sodium glutamate), ไลซีน (lysine),เมทไทโอนีน (methionine) และไกลซีน (glycine) หรือทดแทนกรดอะมิโนดังกล่าวนี้ด้วยโพรลีน (proline)หรือส่วนผสมของโพรลีนกับอลานีน ก็ได้ผลเช่นเดียวกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อ *S. thermophilus* มีความสามารถสร้างกรดแลคติกในน้ำนมถั่วเหลืองได้ดีกว่าแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกชนิดอื่นๆ โดย Matsuoka et al. (1967) พบว่า *S. thermophilus* สามารถผลิตกรดแลคติกได้ดีกว่า *S. lactis* และ *L. bulgaricus* แต่ปรากฏว่าผลิตภัณฑ์โนยแข็งที่ผลิตจากถั่วเหลือง (cheese-like-product) มีสีดำคล้ำอย่างมากในระหว่างการบ่ม Kim and Shin (1971) ก็พบทำนองเดียวกันว่า *S. thermophilus* สร้างกรดแลคติกได้ดีกว่า *S. lactis* และ *L. bulgaricus* อย่างไรก็ดีผลการทดลองจากนักวิจัยหลายคณะพบว่าปริมาณกรดที่เกิดจาก *S. lactis* subsp. *diacetylactis* นั้นก็เทียบเท่ากับ *S. thermophilus* นอกจากนี้เขาทั้งสองยังได้ทำ cheese-like-product โดยการใช้ *S. thermophilus* แล้วราดทับผิวหน้าก้อนเคิร์ดด้วยเชื้อ *Penicillium caseolyticum* และน้ำเกลือแกง

Yamanaka and Furukawa (1970) ได้ทำการศึกษาการสร้างกรดแลคติกในน้ำนมถั่วเหลืองกับนมถั่วเหลืองผสมหางนม เปรียบเทียบกับการใช้หางนมล้วนๆได้พบว่า *S. thermophilus*, *S. faecalis*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus* และ *L. casei* สามารถสร้างกรดได้มากในนมถั่วเหลืองผสมหางนมโดยที่มีระดับนมถั่วเหลืองมากถึงร้อยละ 70 ในส่วนผสม ส่วนในหางนมนั้นเกิดกรดน้อยกว่า นอกจากนี้เขายังได้เพิ่ม glucose ลงในนมผสม ผลปรากฏว่าเชื้อแบคทีเรียทุกชนิดสามารถสร้างกรดได้มากในขณะที่การเพิ่ม sucrose นั้น *L. acidophilus* สามารถสร้างกรดได้มากเพียงชนิดเดียว ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าความแข็งแกร่งของเคิร์ด(curd) ยิ่งมีมากขึ้นตามปริมาณของนมถั่วเหลืองที่ใช้ Pintong et al. (1980) ได้พัฒนาผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวจากนมถั่วเหลืองพบว่าเมื่อใช้เชื้อ *L. bulgaricus* บ่มในนมถั่วเหลืองที่มีกลูโคสอยู่ร้อยละ 1 และยีสต์สกัดร้อยละ 0.1 จะได้ผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวที่มีความเป็นกรดอย่างเพียงพอและผลการตรวจสอบรสชาติพบว่านมถั่วเหลืองที่หมักด้วย *L. bulgaricus* มีรสชาติดีที่สุด และผลจากการวิเคราะห์หาสารที่ระเหยได้ที่เกิดขึ้นขณะทำการหมักพบว่าปริมาณ acetaldehyde,acetone, methanol, ethanol, n-pentanol และ n-hexanol มีระดับที่แตกต่างกันเมื่อหมักด้วยวิธีต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Angeles and Marth (1971)ได้พบว่าปริมาณกรดแลคติกในนมถั่วเหลืองนั้นไม่สัมพันธ์กับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยที่ว่า *S. thermophilus*, *L. delbrucekii*, *L. plantarum* และ *Leu. dextranicum* ให้กรดได้มากในนมถั่วเหลืองเมื่อเทียบกับแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกชนิดอื่นๆที่ทดสอบ เพราะว่าจุลินทรีย์นี้สามารถใช้ซูโครสได้นั่นเอง การสร้างกรดของ *S.lactis*, *S. cremoris*, *S. lactis* subsp. *diacetylactis*, *L. casei* และ *L. helveticus* ในนมถั่วเหลืองที่ผสมกลูโคสและเวย์ผง (whey powder)หรือแลคโตสพบว่าชนิดของคาร์โบไฮเดรตในนมถั่วเหลืองหรือชนิดของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกจะเป็นปัจจัยที่ควบคุมการสร้างกรดแลคติก

Mital et al. (1974) ทำการทดลองแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกในการใช้ oligosaccharide ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตในนมถั่วเหลืองเพื่อใช้ในการผลิตกรดพบว่า *S. thermophilus*, *L. acidophilus*, *L. cellobiose* ในขณะที่ *L. plantarum* มีความสามารถในการเจริญเติบโตและสร้างกรดได้มากอย่างมีนัยสำคัญ ส่วน *L. buchneri* ใช้ซูโครสจากนมถั่วเหลืองมาสร้างความเจริญเติบโตและสร้างกรดได้น้อยกว่า สำหรับ *L. bulgaricus* นั้น การเจริญเติบโตและการสร้างกรดเกิดขึ้นได้น้อยมาก ทั้งนี้เพราะมีความสามารถในการใช้คาร์โบไฮเดรตของนมถั่วเหลืองได้นั่นเอง

ได้มีการศึกษาเกี่ยวกับการสลายโปรตีนและการสลายไขมันของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกในนมถั่วเหลือง ส่วนใหญ่เชื้อที่ใช้ทดสอบไม่สามารถย่อยสลายไขมันของถั่วเหลืองได้เลย ยกเว้น *L. casei*, *L. delbrucekii* และ *S. thermophilus* ที่มีความสามารถปลดปล่อยกรดไขมันอิสระได้เล็กน้อย

7. กระบวนการผลิตนมถั่วเหลือง

ความผันแปรของกระบวนการผลิตและวิธีการเตรียมนมถั่วเหลืองมีผลกระทบต่อการสร้างกรดของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก ในระหว่างการแช่ถั่วเหลือง คาร์โบไฮเดรตบางส่วนถูกชะล้างออกไปกับน้ำล้างทิ้ง ทำให้คาร์โบไฮเดรตลดลงการเกิดกรดก็น้อยลงด้วย Lo et al. (1968) พบว่าการแช่ถั่วเหลืองยิ่งใช้เวลานานการสูญเสียก็จะยิ่งมีมากขึ้น ปริมาณของแข็งแห้งลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Badenhop and Hackler (1970) พบว่าถ้าแช่ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.05 นอร์มัล ทำให้มี pH 7.37 ซึ่งในสภาพเป็นด่างเช่นนี้ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก Mital et al. (1974) พบว่าแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกเจริญได้มากและสร้างกรดได้ดีในนมถั่วเหลืองที่ใช้กระบวนการผลิตแบบบดด้วยการเติมน้ำร้อน (hot-grind method) ส่วนนมถั่วเหลืองที่ทำมาจากถั่วเหลืองที่กระเทาะเปลือกและขจัดไขมันออก (dehulled defatted soy milk) ได้ผลไม่ดีเนื่องจากการสูญเสียสารเสริมการเจริญเติบโตบางอย่างเกิดขึ้นในกระบวนการสกัดสารละลาย (solvent extract)

Angeles and Marth (1971) ศึกษาผลของความร้อนต่อการสร้างกรดแลคติกพบว่า การเตรียมนมถั่วเหลือง โดยการใช้ความร้อนอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ช่วยสนับสนุนต่อการสร้างกรด แต่ถ้าใช้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 50-60 นาที การสร้างกรดเกิดขึ้นได้น้อยลง เนื่องจากเกิดสารซัลไฮดริล (sulhydryls) และท็อกซิค โวลาไทล์ ซัลไฟด์ (toxic volatile sulfide) ซึ่งเป็นสารพิษต่อจุลินทรีย์ แต่เมื่อใช้ความร้อนอุณหภูมิ 100-120 องศาเซลเซียส กลับทำให้การเจริญเติบโตและการสร้างกรดเป็นไปด้วยดี ทั้งนี้เนื่องจากสารยับยั้งการเจริญเติบโตนั้นระเหยออกไป

คาร์โบไฮเดรตของถั่วเหลือง เช่น แรฟฟิโนส (raffinose) และสตาชิโอส (stachyose) ซึ่งมี α (1-6) galactoside linkage อยู่จัดเป็นปัจจัยที่ทำให้เกิดโรคท้องอืดเฟ้อได้ Mital et al. (1973) ได้ทำการคัดเลือกแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกที่มีเอ็นไซม์ α - galactosidase อยู่ เช่นเชื้อ *L. buchneri*, *L. brevis*, *L. cellobiose*, *L. fermentum* และ *L. salivarius* subsp. *salivarius* มาทำการหมักกับน้ำนมถั่วเหลือง พบว่าสามารถลดปริมาณของ raffinose และ stachyose ได้ แต่เนื่องจากการสร้างกรดอย่างรวดเร็วจากซูโครส ทำให้ pH ลดลงเป็นปัจจัยทำให้เชื้อจุลินทรีย์ชะงักการเจริญเติบโต ทำให้การกำจัดน้ำตาลเหล่านี้ให้หมดสิ้นไปไม่สามารถกระทำได้

Wang et al. (1974) ศึกษาการสร้างกรดระหว่าง *L. acidophilus* และ *L. bulgaricus* ในนมถั่วเหลืองพบว่า *L. acidophilus* สามารถสร้างกรดได้รวดเร็วกว่าเพราะสามารถใช้คาร์โบไฮเดรตได้ดีกว่า ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Mital et al. (1974) นอกจากนี้กลิ่นเหม็นเขียวของถั่วเหลืองถูกกลบเกลื่อนได้อีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. รสชาติของนมถั่วเหลืองหมัก

Mital and Steinkraus (1976) ศึกษาเรื่องกลิ่นถั่วที่ผู้บริโภคจะยอมรับกันโดยทำการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างนมถั่วเหลืองที่เตรียมโดยวิธี hot - grind method กับนมถั่วเหลืองที่เตรียมจากแป้งสกัดไขมันโดยมีนมโคสดที่ผ่านขบวนการโฮโมจิไนส์แล้วเป็นตัวเปรียบเทียบ พบว่าวิธี hot - grind method มีกลิ่นไม่ดีเท่านมโค ส่วนนมถั่วเหลืองที่เตรียมจากแป้งสกัดไขมันแล้วเติมด้วยน้ำมันถั่วเหลืองร้อยละ 2.5 และน้ำตาลทรายร้อยละ 2 มีความแตกต่างจากกลิ่นนมโคไม่มากนัก ซึ่งต่อมา Mital et al. (1977) ศึกษาเรื่องรสชาติเปรียบเทียบนมเปรี้ยวที่เตรียมจากนมถั่วเหลืองที่เตรียมจากแป้งสกัดไขมันกับนมเปรี้ยวจากนมโคล้วนๆ พบว่า เคิร์ดของนมเปรี้ยวมีความเหนียวแน่นกว่าของนมโคและมีรสชาติชวนรับประทานอีกด้วยอีกทั้งการสร้างกรดนั้นดีขึ้นถ้ามีการเติมน้ำตาลทราย กลูโคสหรือแลคโตส รวมทั้งการคัดเลือกแบคทีเรียที่ผลิตกรดแล คติกที่เหมาะสมด้วย

หัวเชื้อเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในการผลิตนมเปรี้ยว ลักษณะที่ต้องการของหัวเชื้อ คือ ปราศจากการปนเปื้อน เจริญได้ดีในส่วนผสมของน้ำนมที่ใช้เตรียม ให้กลิ่นรสที่ต้องการ โครงสร้าง ลักษณะเนื้อดี และต้านทานต่อสารปฏิชีวนะ ในการผลิตนมเปรี้ยวถั่วเหลืองใช้หัวเชื้อผสม *L. bulgalicus* และ *S. thermophilus* ในสัดส่วนที่เท่ากัน หากหัวเชื้ออยู่ในรูปแช่เยือกแข็งต้องบ่มหัวเชื้อในอาหารเหลว เป็นเวลา 5 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส หรือนาน 11 ชั่วโมง ที่ 32 องศาเซลเซียส หรือ 14-16 ชั่วโมงที่ 29-30 องศาเซลเซียสเสียก่อน แบคทีเรียที่ใช้เป็นหัวเชื้อนั้นมีความสัมพันธ์แบบพึ่งพากัน เมื่อใช้ร่วมกันเรียกว่า symbiosis โดยปกติมีการใช้เชื้อทั้งสองเจริญร่วมกันภายใต้สภาวะที่ควบคุมเพื่อให้ได้เชื้อจุลินทรีย์ที่มีสมดุลที่ถูกต้อง ในการหมักต้องใช้หัวเชื้อในปริมาณที่เหมาะสม หลังจากการถ่ายเชื้อแล้วทำการบ่มที่อุณหภูมิประมาณ 42-45 องศาเซลเซียส จนกระทั่งการหมักเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะการพึ่งพาอาศัยกันของจุลินทรีย์เหล่านี้ในหัวเชื้อ คือ เริ่มแรกเชื้อ *S. thermophilus* เจริญได้เร็วกว่า *L. bulgaricus* เนื่องจากมีอุณหภูมิการหมักที่เหมาะสมคือ ที่ 40 องศาเซลเซียส หลังจากนั้น *L. bulgaricus* จึงเจริญเด่นขึ้นมา และผลิต กรดอะมิโนพวก valine, glycine และ histidine ออกมาในน้ำนมซึ่งเป็นสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของเชื้อ *L. bulgaricus* จึงช่วยกระตุ้นให้ *L. bulgaricus* เจริญเติบโตได้ดี และจะสร้าง diacetyl และสารประกอบที่คล้ายกัน ซึ่งมีผลต่อกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์ นอกจากนี้ *S. thermophilus* ยังช่วยกำจัดออกซิเจนออกจากน้ำนม ช่วยทำให้สภาวะการหมักเป็น microaerophilic การเจริญเติบโตมีต่อไปเรื่อยๆจนกระทั่งมีความเป็นกรดถึง pH 5.5 ก็จะมีสารอาหารที่เหมาะสมกับ *L. bulgaricus* ต่อไป หัวเชื้อผสมทั้งสองเจริญและสร้างกรดแลคติก จากการย่อยสลายน้ำตาลแลคโตสให้เป็นกรดไพรรูวิก (pyruvic acid) ตามวิถีไกลโคไลซีส และอาศัยเอ็นไซม์แลคเตท ดีไฮโดรจีเนส (lactic dehydrogenase:LDH) เปลี่ยนกรดไพรรูวิกให้เป็นกรดแลคติก โดยทั่วไปในการหมัก หัวเชื้อส่วนที่เป็น *S. thermophilus* ให้กรดแลคติกในรูป L(+) lactic acid ในขณะที่ *L. bulgaricus* ให้กรดแลคติกในรูป L(-) กรดแลคติกที่ได้นี้มีความสำคัญต่อผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวคือ สามารถย่อยสลายเคซีน และทำให้เคซีนตกตะกอนที่ pH 4.6-4.7 รวมทั้งทำให้เกิดลักษณะเป็นเจลขึ้น นอกจากนี้ยังให้รสชาติที่เฉพาะ คือ รสเปรี้ยวแหลม (sharp and acidic taste) ในผลิตภัณฑ์ทำให้ได้กลิ่นรสที่หอม (วราวุฒิและรุ่งนภา 2532)

ในการสร้างสารให้กลิ่นรสของผลิตภัณฑ์โดยเชื้อสายพันธุ์ผสมนี้พบว่า *S. thermophilus* นั้นสร้างกรดฟอร์มิคออกมา ซึ่งเชื้อ *L. bulgaricus* นำกรดฟอร์มิคนี้ไปใช้ในการสร้างสารให้กลิ่นรส รวมทั้ง acetaldehyde ดังนั้นจึงเห็นได้ว่าเชื้อ *L. bulgaricus* นี้เป็นตัวการสำคัญในการสร้างสารให้กลิ่นรส แต่อย่างไรก็ตาม เชื้อ *S. thermophilus* ก็สามารถสร้างสารให้กลิ่นรสพวก acetaldehyde ได้ด้วย แต่ปริมาณของ acetaldehyde นั้นน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกัน

ในระหว่างการหมักอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเชื้อสายพันธุ์ผสมเท่ากับ 40-42 องศาเซลเซียส เนื่องจากที่อุณหภูมินี้หัวเชื้อที่ผสมกันสามารถมีกิจกรรมได้สูงสุด เพราะหัวเชื้อทั้งสองชนิดมีอุณหภูมิการหมักที่เหมาะสมสำหรับแต่ละสายพันธุ์แตกต่างกัน คือ ที่อุณหภูมิการหมักเป็น 45 องศาเซลเซียส สำหรับการสร้างกรดของเชื้อ *L. bulgaricus* และที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส เหมาะสมสำหรับการสร้างกรดของเชื้อสายพันธุ์ *S. thermophilus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

9. การอบแห้งแบบสเปรย์ดราย (Spary dryer)

การอบแห้งแบบสเปรย์ดราย หมายถึง การแปลงของเหลว ซึ่งอาจเป็นสารละลายหรือของเหลวข้น ให้เปลี่ยนสภาพเป็นผงแห้งในการทำแห้งเพียงขั้นตอนเดียว หลักการพื้นฐานของการอบแห้งแบบสเปรย์ดรายนั้น อาหารเหลวถูกฉีดให้เป็นละอองและให้สัมผัสกับลมร้อนที่ไหลเข้ามา ทำให้เกิดการระเหยน้ำขึ้นอย่างรวดเร็วเนื่องจากละอองฝอยมีพื้นที่ผิวมาก หลังจากนั้นอนุภาคผงแห้งที่ได้จึงตกลงมา และผงนี้ก็ถูกแยกจากลมร้อนเพื่อนำไปบรรจุต่อไป

10. ขั้นตอนในการอบแห้งแบบสเปรย์ดราย

การอบแห้งแบบสเปรย์ดรายประกอบไปด้วยขั้นตอน 4 ขั้นตอนตามลำดับดังนี้คือ

10.1 การทำอาหารเหลวให้มีอนุภาคเล็กลงหรือเป็นละอองฝอย (Atomization stage)

เพื่อให้สามารถระเหยน้ำออกจากอาหารเหลวได้อย่างรวดเร็ว เนื่องจากอนุภาคของเหลวมีขนาดเล็กลงเพิ่มพื้นที่ผิวในการรับความร้อนได้มาก ทำให้การถ่ายเทความร้อนเป็นไปอย่างรวดเร็วและมีประสิทธิภาพ ในการฉีดอาหารเหลวให้เป็นละอองฝอย อาจใช้หัวฉีดซึ่งใช้แรงดันจากเครื่องสูบอาหารเหลว (feed pump) หรือแรงดันจากเครื่องอัดอากาศ (air compressor) ส่วนชนิดของเครื่องทำอาหารให้เป็นละอองฝอย (atomizer) จำแนกออกเป็น 3 แบบ คือ

Rotary disc atomizer อาหารเหลวถูกป้อนหรือส่งไปยังศูนย์กลางของวงล้อที่หมุนด้วยความเร็วสูง ทำให้อาหารเหลวกระจายเป็นแผ่นบางๆ บนผิวของวงล้อหมุนนี้ เนื่องจากอัตราการหมุนของวงล้อสูงมาก อาหารเหลวถูกทำเป็นละอองฝอยขนาดเล็กมาก ละอองฝอยของอาหารเหลวดังกล่าว จะถูกส่งออกจากล้อมาตามแนวราบ และมีมุมฉีกประมาณ 180 องศา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pressure nozzle เป็นการพ่นกระจายตัวอย่าง โดยใช้ความดัน

Two-fluid nozzle เป็นการพ่นกระจายตัวอย่าง โดยใช้หัวฉีด 2 หัวพร้อมกัน

10.2 การสัมผัสระหว่างละอองอาหารและลมร้อน

ในขั้นตอนที่ 2 นี้ ละอองอาหารซึ่งได้รับการอัดในขั้นตอนที่ 1 สัมผัสกับลมร้อนหรือตัวกลางที่ให้ความร้อนแก่ละอองอาหาร เพื่อให้น้ำในอาหารรับเอาความร้อนจากลมร้อนมาเพื่อให้เกิดการระเหยน้ำออกไป การสัมผัสระหว่างละอองอาหารกับลมร้อนกระทำได้ 3 แบบ

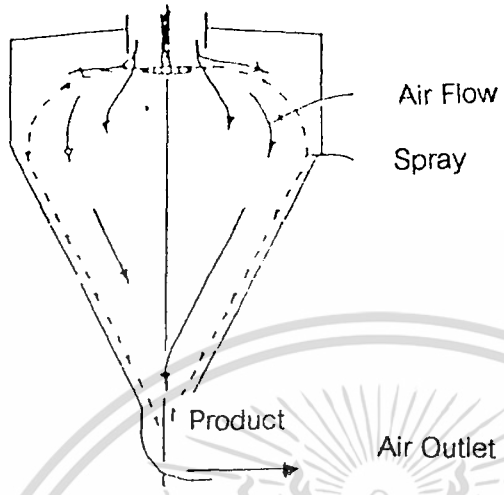
10.2.1 การป้อนอาหารเหลวในทิศทางเดียวกับลมร้อน (co-current) อาหารถูกป้อนไปในทิศทางเดียวกับลมร้อน อนุภาคอาหารแขวนลอยในอากาศ เกิดการระเหยน้ำจนอาหารแห้งเป็นผง แบบนี้ใช้กับอาหารที่ไม่ค่อยทนต่อความร้อนสูง อาหารแห้งที่ได้มีอุณหภูมิต่ำกว่าลมร้อนที่ออกจากเครื่อง

10.2.2 การป้อนอาหารเหลวสวนทางกับลมร้อน (counter-current) อาหารถูกพ่นสวนทางกับลมร้อน โดยเริ่มต้นอาหารมีอุณหภูมิต่ำ และค่อยๆ มีอุณหภูมิสูงขึ้นจนเท่ากับอุณหภูมิของลมร้อน แบบนี้มีการถ่ายเทความร้อนอย่างมีประสิทธิภาพเหมาะสำหรับอาหารที่สามารถทนต่อความร้อนสูงได้ดี และต้องการความร้อนมาก เพื่อให้ได้ลักษณะหรือคุณภาพบางอย่างที่ต้องการ เช่น ความโปร่ง (porosity) หรือมี bulk density มาก ในกรณีนี้อุณหภูมิของอาหารผงที่ได้สูงกว่าอุณหภูมิของลมร้อนที่ออกจากเครื่อง

10.2.3 แบบผสม (mixed flow) เป็นแบบผสมของ 2 แบบแรก ในการเลือกใช้แบบนี้สามารถทำได้เมื่อต้องการอนุภาคที่หยาบ และอาหารต้องทนความร้อนสูง

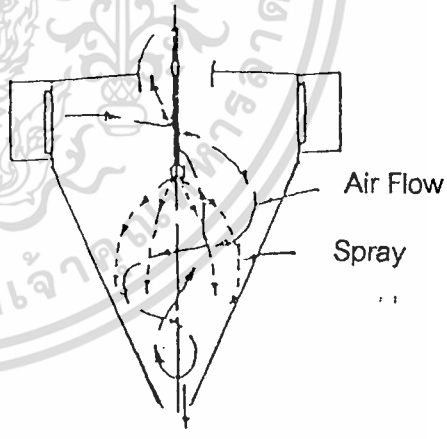
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 3 แสดงลักษณะการสัมผัสระหว่างลมร้อนและของเหลว



(ก) แบบลมร้อนทิศทางเดียวกับอาหาร(Co-current flow)

(ข) แบบลมร้อนสวนทางกับอาหาร
(Counter-current flow)



(ค) แบบผสม(mixed flow)

ที่มา: Heldman (1975)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10.3. ช่วงการระเหย (Evaporation stage)

การระเหยเริ่มต้นจากไอน้ำที่อิ่มตัว ซึ่งเริ่มก่อตัวที่บริเวณผิวของหยดหรืออนุภาคของเหลว หยดของเหลวตรงส่วนผิวมีอุณหภูมิต่ำซึ่งใกล้เคียงกับอุณหภูมิจัดเปียก (wet bulk temperature) ของลมร้อนที่ใช้การออกแบบภาชนะทำแห้ง ต้องออกแบบให้ผงมีระยะเวลานานพอควรก่อนที่ตกลงสู่ด้านล่าง เพื่อให้อนุภาคมีเวลาพอเพียงที่จะแห้งพอดีเมื่อถึงตอนก้นของภาชนะทำแห้ง แต่ก็ไม่ยาวนานเกินไปเพราะผงอาจไหม้ได้ ภาชนะทำแห้งมีส่วนประกอบที่สำคัญคือแหล่งให้ความร้อน อาจเป็นไฟฟ้าหรือก๊าซ และพัดลมซึ่งทำหน้าที่เป่าลมร้อนหรือดูดอากาศผงที่แห้งแล้วออกมา ถ้าการพ่นอาหารเหลวเป็นไปอย่างสม่ำเสมอและมีการผสมกับลมร้อนอย่างมีประสิทธิภาพ อาหารนั้นก็แห้งเป็นผงภายในไม่กี่วินาที

10.4. การแยกอาหารผงจากภาชนะทำแห้ง (Dry product recovery)

หลังจากอาหารผงที่ได้ตกลงสู่เบื้องล่างของภาชนะทำแห้ง ผงที่มีน้ำหนักเบาจะถูกดูดโดยแรงจากพัดลม และส่งออกมาทางท่อลมออก ผงอาหารสามารถแยกออกจากลมร้อนได้โดยอาศัยระบบไซโคลน (cyclone) ให้ตกกระทบกับผนังหอไซโคลน และตกลงในภาชนะที่รองรับ

ระบบในการแยกเอาผงที่ลอยตัวอยู่ในอากาศออกจากภาชนะทำแห้งมี 2 ระบบคือ

1. แบบที่มีช่องทางออก 2 จุด ช่องทางออกแรกจะเป็นทางออกสำหรับผงที่มีขนาดใหญ่ ซึ่งจะตกอยู่ภายในภาชนะของเครื่องทำแห้ง ส่วนผงขนาดเล็กจะถูกลมดูดออกจากเครื่องทำแห้ง และแยกจากลมร้อนด้วยไซโคลน

2. แบบที่มีช่องทางออกทางเดียว อาหารผงทั้งหมดจะถูกแยกโดยเครื่องแยกผง เช่น ไซโคลน ถุงกรอง หรือเครื่องทำให้ผงตกลงมาโดยอาศัยไฟฟ้าสถิตย์ (electrostatic precipitator)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

11. อิทธิพลของตัวแปรในการดำเนินงาน

11.1 คุณสมบัติของของเหลว (feed properties)

การเพิ่มความหนืดของของเหลวหรือลดอุณหภูมิของของเหลวก่อนเข้าเครื่อง จะทำให้ละอองฝอยมีขนาดใหญ่โต การเพิ่มความเข้มข้นของของเหลว มีผลต่อสภาวะการระเหยน้ำ โดยทั่วไปจะมีผลทำให้ขนาดของอนุภาคใหญ่ขึ้นและ bulk density ลดลง

11.2 อัตราการป้อนของเหลว (Feed rate)

เมื่ออัตราการป้อนของเหลวเพิ่มขึ้นขณะที่สภาวะอื่นคงที่จะได้อาหารแห้งที่มีขนาดใหญ่ขึ้น

11.3 อัตราการไหลของอากาศ (Air flow rate)

เมื่อเพิ่มเวลาให้อาหาร อัตราการไหลของอากาศเป็นตัวควบคุมเวลาที่อาหารจะอยู่ในหอทำแห้ง (residence time) การเพิ่มเวลาให้อาหารอยู่ในหอทำแห้งนานขึ้นจะมีผลทำให้การระเหยน้ำมีมากขึ้น การลดความเร็วของอากาศช่วยให้เก็บรวบรวมอาหารผงจากภาชนะทำแห้งได้ดี แต่ความสามารถของเครื่องจักรจะลดลง ซึ่งแก้ไขโดยการเพิ่มอุณหภูมิของลมเข้า ซึ่งทำให้การระเหยน้ำรวดเร็วแต่ bulk density ลดลงเพราะผงที่ได้มีความโปร่ง (porosity) มากขึ้น

11.4 อุณหภูมิในการทำแห้ง (Drying temperature)

เมื่อเพิ่มอุณหภูมิของลมเข้า โดยที่อัตราการป้อนของอาหารเหลวคงที่ จะเพิ่มความสามารถในการระเหยน้ำ(evaporative capacity) ทำให้การทำแห้งประหยัดขึ้น การเพิ่มอุณหภูมิลมเข้ามักเป็นเหตุให้ bulk density ลดลง อัตราการระเหยน้ำเร็วขึ้น และผงที่ได้มีความโปร่งมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิลมออก เมื่ออุณหภูมิลมออกเพิ่มขึ้น ปริมาณความชื้นในอาหารจะลดลง ในการปฏิบัติงานโดยมีอุณหภูมิลมออกต่ำ เพื่อให้ได้ผงที่มีความชื้นสูงนั้นจะมีการทำผงโดยเกาะกลุ่มเป็นก้อน (agglomeration) อีกขั้นตอนหนึ่ง เพื่อผลิตผงชนิดละลายน้ำได้ทันที (instant powder)

12. การบรรจุและเก็บรักษา (Packing and storage)

การบรรจุมีความสำคัญต่อการที่จะรักษาคุณภาพนมผงระหว่างการเก็บ หลังจากที่ผลิตนมผงแล้ว ควรบรรจุไว้ในภาชนะที่สามารถป้องกันความชื้น แสง แมลง และสิ่งแปลกปลอมอื่นๆ ได้ ปกติวัสดุภาชนะบรรจุที่นิยมใช้ในการบรรจุนมผงได้แก่ กระดาษ กล่องหรือถุงหลายชั้นที่ประกบกับวัสดุอื่นและมีพลาสติกโพลีเอทิลีนอยู่ด้านใน ถังโลหะที่มีถุงพลาสติกโพลีเอทิลีนอยู่ด้านใน และกระป๋องที่บุด้านในด้วยอลูมิเนียมฟอยด์ นมผงที่จะเก็บไว้เป็นเวลานานควรบรรจุในสภาพบรรยากาศของแก๊สเฉื่อย ซึ่งส่วนใหญ่ใช้แก๊สไนโตรเจน หรือบรรจุในสภาพสุญญากาศ เพื่อป้องกันการเกิดออกซิเดชันของไขมันและองค์ประกอบนมอื่นๆ (Caric 1994)

ในการเก็บรักษานมผงควรคำนึงถึง สภาพบรรยากาศรอบๆ นมผง โดยไม่ควรที่จะเก็บนมผงไว้ในบรรยากาศที่มีความชื้นสูงเกินไป ถ้าหากอากาศมีความชื้นสูงกว่าร้อยละ 95 ถุงบรรจุนมผงธรรมดาที่นิยมใช้กัน ซึ่งทำด้วยกระดาษหลายชั้น และอลูมิเนียมฟอยด์หนึ่งชั้นนั้น จะไม่สามารถป้องกันความชื้นจากภายนอกได้ และในสภาพที่มีความชื้นสูงเช่นนี้อาจทำให้มีการเพิ่มขึ้นของกรดไขมันอิสระด้วย นอกจากนี้การเก็บนมผงไว้ในบรรยากาศของออกซิเจน จะมีผลทำให้ปริมาณสารอาหารบางชนิดในนมผงลดลงมากกว่าการเก็บไว้ในบรรยากาศของไนโตรเจน ซึ่งมีผู้ศึกษาพบว่าถ้าหากเก็บนมผงไว้ในบรรยากาศของออกซิเจนที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จะทำให้ปริมาณ ไลซีน (lysine) โฟเลท (folates) และแอสคอร์เบท (ascorbates) ลดลงมากกว่าการเก็บไว้ในบรรยากาศของไนโตรเจนที่อุณหภูมิเดียวกัน (Caric 1994)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

13. การควบคุมคุณภาพและกระบวนการผลิต (Quality and process control)

การควบคุมคุณภาพนมผงประกอบด้วย การควบคุมคุณภาพทางจุลินทรีย์ และการควบคุมคุณภาพทางประสาทสัมผัส ซึ่งจะต้องทำการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำ ปริมาณไขมัน (ไขมันทั้งหมดและไขมันอิสระ) ปริมาณโปรตีน ปริมาณเกลือแร่ ความเป็นกรด(titratable acidity) ความสามารถในการละลาย(solubility) ความสามารถในการไหล(flowability) ความหนาแน่น(bulk density) อนุภาคนมผงที่ไหม้(scorched particles) การกระจายของอนุภาคนมผง และปริมาณออกซิเจนในภาชนะที่บรรจุนม ปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพของนมผงในระหว่างการผลิตและเก็บรักษา ได้แก่ เทคนิคในการผลิตและตัวแปรต่างๆ (การแยกไขมัน การให้ความร้อน การโฮโมจิไนส์ การระเหย) เทคนิคและสภาพต่างๆในการทำแห้ง (การทำแห้งแบบลูกกลิ้ง การทำแห้งแบบสเปรย์ดราย การทำให้มีคุณสมบัติละลายทันที การทำแห้งแบบหลายขั้นตอน) และสภาพในการเก็บรักษา(วัสดุบรรจุภัณฑ์และวิธีการบรรจุ อุณหภูมิและระยะเวลาใน การเก็บรักษา ค่าวอเตอร์ แอ็คติวิตี้ (water activity) ของนมผง (Caric 1994)

การขาดการดูแลเอาใจใส่ระหว่างกระบวนการผลิต อาจนำมาซึ่งการเปลี่ยนแปลงที่ไม่พึงปรารถนาของคุณภาพนมผง คุณสมบัติพื้นฐานของนมผงที่จะบอกได้ถึงคุณภาพของนมผง หรือตำหนิที่อาจเกิดขึ้น ได้แก่ โครงสร้างของนมผง ความสามารถในการละลาย ปริมาณน้ำ อนุภาคของนมผงที่ไหม้ ความสามารถในการไหล การเปลี่ยนแปลงเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่น กลิ่นรส สี และการปนเปื้อนของเชื้อ Staphylococci (Caric 1994)

ความสามารถในการละลาย เป็นคุณสมบัติที่สำคัญอีกอย่างหนึ่งของนมผงที่จะต้องให้ได้ตรงตามมาตรฐาน หมายถึงว่า การที่นมผงมีความสามารถในการละลายต่ำเป็นตำหนิที่ร้ายแรง ซึ่งอาจทำให้นมผงนั้นถูกส่งคืน สำหรับการทดสอบความสามารถในรูปของดรรชนีการละลาย (solubility test) นั้นจะหาปริมาณของสิ่งที่ไม่ละลายโดยนิยมหาในรูปของดรรชนีการละลาย (solubility index) ซึ่งก็คือปริมาตรของตะกอน (มิลลิลิตร) ที่ได้จากการนำนมผงมาคืนรูปเป็นน้ำนมคืนรูป 50 มิลลิลิตร แต่ในบางประเทศจะรายงานค่าความสามารถในการละลายของนมผงเป็นร้อยละโดยปริมาตร กล่าวคือถ้านมผงมีดรรชนีการละลาย 0.5 มิลลิลิตร และมีปริมาตรของตะกอนที่ไม่ละลายเป็น 1 มิลลิลิตรต่อน้ำนมคืนรูป 100 มิลลิลิตร จะรายงานว่านมผงนั้นมีความสามารถในการละลายเป็นร้อยละ 99.5 และเช่นเดียวกันถ้านมผงมีดรรชนีการละลายเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

0.25 และมีปริมาตรของตะกอนที่ไม่ละลายเป็น 0.5 มิลลิลิตรต่อน้ำนมคืนรูป 100 มิลลิลิตร จะรายงานว่านมผงนั้นมีความสามารถในการละลายเป็นร้อยละ 99 ซึ่งการที่นมผงมีความสามารถในการละลายต่ำ ก็เนื่องมาจากการที่มีโปรตีนที่เสียสภาพธรรมชาติจากความร้อนที่อยู่ในนมผง ฉะนั้นจึงควรให้ความร้อนน้ำนมอย่างเหมาะสม เพื่อที่จะปรับปรุงความคงตัวของโปรตีนในระหว่างทำแห้ง นอกจากนี้จะต้องปรับตัวแปรต่าง ๆ ในระหว่างการทำแห้งโดยเครื่องทำแห้งแบบสเปรย์ดรายอย่างเหมาะสมด้วย เพื่อลดการเสียสภาพของโปรตีนจากความร้อน เช่นไม่ควรใช้เวลาในการทำแห้งช่วงหลังนานเกินไป และต้องมีการปรับความสมดุลของไอออนของเกลือแร่ในน้ำนมก่อนการทำแห้ง เนื่องจากไอออนมีผลต่อความคงตัวของโปรตีน การทำแห้งน้ำนมโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบลูกกลิ้งจะให้นมผงที่มีความสามารถในการละลายต่ำกว่าการใช้เครื่องทำแห้งแบบสเปรย์ดราย เพราะการทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบลูกกลิ้งมีแนวโน้มที่โปรตีนจะเสียสภาพมากกว่า (Caric 1994 ; Knipschildt and Andersen 1994)

ปริมาณน้ำในนมผงจะต้องตรงตามมาตรฐาน ส่วนใหญ่จะไม่เกินร้อยละ 5 การมีปริมาณน้ำสูงเกินไปจะทำให้นมผงเสียโดยจุลินทรีย์ และจะเร่งการเกิดปฏิกิริยาเคมีที่จะทำให้นมผงเสื่อมคุณภาพ ซึ่งปริมาณน้ำในนมผงจะสูงขึ้นถ้าหากอากาศที่ออกจากเครื่องทำแห้งมีอุณหภูมิต่ำ หรือน้ำนมเข้มข้นไหลเข้าเครื่องในอัตราที่สูงเกินไป ส่วนความสามารถในการไหลของนมผงนั้นคือการที่นมผงสามารถไหลได้อย่างอิสระเหมือนทราย โดยที่ไม่มีการจับตัวเป็นกลุ่มก้อนการจับตัวเป็นก้อนในนมผงเกิดจากการที่แลคโตสตกผลึกไม่สมบูรณ์ภายใต้สภาพปกติ แลคโตสส่วนใหญ่อยู่ในรูปของแลฟา-โมโนไฮเดรต และส่วนน้อยอยู่ในรูป อะมอฟัส-แลคโตส (amorphus lactose)ซึ่งถ้าหากมีการบรรจุที่ไม่เหมาะสมแล้ว แลคโตสในรูปของอะมอฟัส-แลคโตสจะดูดน้ำจากบรรยากาศและเปลี่ยนรูปไปเป็นผลึกของแอลฟาโมโนไฮเดรต ทำให้เกิดการจับตัวเป็นก้อนของนมผง ซึ่งจะทำให้ความสามารถในการไหลลดลง นอกจากนี้ความสามารถในการไหลยังขึ้นอยู่กับขนาดและรูปร่างของอนุภาคนมผง ความหนาแน่น และประจุไฟฟ้า

สีของนมผงเป็นสิ่งหนึ่งที่บ่งบอกถึงคุณภาพของนมผง ถ้าหากนมผงมีสีที่ผิดปกติ นมผงนั้นอาจไม่เป็นที่ยอมรับ ซึ่งสีที่ผิดปกตินั้นเกิดขึ้นจากการมีอนุภาคของนมผงที่ไหม้หรือเกดจากปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล สำหรับอนุภาคนมผงที่ไหม้นั้นเกิดจากนมผงบางส่วนได้รับความร้อนในเครื่องทำแห้งนานเกินไป ส่วนปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่มักเกิดในนมผงนั้นคือปฏิกิริยาเมลลาร์ด ปัจจัยที่มีผลต่อปฏิกิริยานี้ก็คือ ส่วนประกอบของนมผง และสภาพในการเก็บรักษา (Caric 1994)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

1. วัตถุดิบ

1.1 ถั่วเหลือง

1.2 น้ำตาลทราย (น้ำตาลซูโครส)

1.3 หางนมผง

1.4 สารให้ความคงตัว (stabilizer) ได้แก่

1.4.1 เจลาติน

1.4.2 CMC

1.5 สารให้กลิ่นรส ได้แก่

1.5.1 กลิ่นรสส้ม

1.5.2 กลิ่นรสสตรอเบอรี่

1.5.3 กลิ่นรสมะนาว

1.6 หัวเชื้อผง *Rhizopus oligosporus*

1.7 เชื้อแบคทีเรีย *Propionibacterium shermanii*

1.8 เชื้อแบคทีเรียแลคติคผสม *Lactobacillus bulgaricus* และ *Streptococcus thermophilus*

1.9 เชื้อแบคทีเรีย *Lactobacillus leichmanii* (ATCC 7830)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. อุปกรณ์ในการผลิต

2.1 ตู้อบ (hot air oven)	Binder,	เยอรมัน
2.2 ตู้อบ (incubator)	Memmert,	เยอรมัน
2.3 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave)	Tomy ss-245	ญี่ปุ่น
2.4 เครื่องปั่นผสม (blender)	MX - T 100 PN,	ญี่ปุ่น
2.5 เครื่องชั่งน้ำหนัก	Mettler PE3000,	ญี่ปุ่น
2.6 เทอร์โมมิเตอร์		
2.7 เครื่องโฮโมจีไนเซอร์	Armfield FT 9,	อังกฤษ
2.8 เครื่องทำแห้งแบบพ่นกระจาย (Mini Spray Dryer)	Buchi B191,	เยอรมัน
2.9 เครื่องระเหยภายใต้สุญญากาศ (Vacuum Rotary Evaporator)	Buchi R114,	เยอรมัน

3. อุปกรณ์ในการวิเคราะห์

3.1 ตู้อบ	Memmert,	เยอรมัน
3.2 เครื่องวัด pH	Suntex SP-701	ญี่ปุ่น
3.3 เครื่องสเปคโตรมิเตอร์	Cecil ce 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		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. สถานที่ทดลอง

ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

5. วิธีการทดลอง

5.1 การเตรียมสภาพถั่วเหลืองก่อนการหมัก

การเตรียมสภาพถั่วเหลืองก่อนการหมักมี 2 ลักษณะ คือ

5.1.1 นำถั่วเหลืองที่กระเทาะเปลือกออกแล้ว แช่ในน้ำประปาที่ปรับสภาพความเป็นกรดด้วยกรดแลคติกในปริมาณร้อยละ 0.88 แช่ไว้ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ซึ่งเป็นตามวิธีของ Krusong et al. (1991 :a) จากนั้นนำมาล้างน้ำให้สะอาดจนหมดสภาพกรด

5.1.2 ตามวิธีของมัณฑณาและคณะ (2521) โดยนำถั่วเหลืองที่กระเทาะเปลือกออกแล้วมาแช่ในสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากนั้นนำมาล้างน้ำให้สะอาด

เมื่อได้ถั่วเหลืองที่ผ่านการปรับสภาพจากข้อ 5.1.1 และ 5.1.2 แล้ว นำมาตีปั่นกับน้ำร้อนที่มีอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส โดยใช้อัตราส่วนของถั่วเหลืองกับน้ำร้อนเป็น 1 ต่อ 8 ใช้เวลาในการตีปั่นนาน 3 นาที จากนั้นนำไปกรอง แล้ววิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมด การแยกตัวของตะกอนและกลิ่นถั่วโดยใช้การทดสอบทางประสาทสัมผัสเพื่อเลือกวิธีการเตรียมสภาพถั่วเหลืองที่ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 กระบวนการหมักที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มคุณภาพของน้ำนมถั่วเหลือง

ในการหมักนี้ใช้กระบวนการหมักผสมในอาหารเหลว (Submerged mixed fermentation) โดยใช้หัวเชื้อราผง *Rhizopus oligosporus* ร้อยละ 0.5 และหัวเชื้อแบคทีเรีย *Propionibacterium shemanii* ร้อยละ 5.0 ตามวิธีของ Krusong et al. (1991 : b) โดยกระบวนการหมักแบ่งออกเป็น 2 ลักษณะ คือ

5.2.1 การหมักผสมในอาหารเหลวแบบพร้อมกัน (non-sequential mixed fermentation)

โดยนำน้ำนมถั่วเหลืองที่เลือกได้จากข้อ 1 มาปรับสภาพโดยการเติมน้ำตาลปริมาณร้อยละ 5.0 และหางนมผงร้อยละ 9.0 ซึ่งเป็นปริมาณที่พบว่าเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ ตามวิธีของ Krusong and Ninlanon (1994) แล้วนำมาถ่ายหัวเชื้อราผง *R. oligosporus* ร้อยละ 0.5 และหัวเชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* ร้อยละ 5.0 บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง นำน้ำนมถั่วเหลืองหมักที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ และปริมาณของแข็งที่สกัดได้ รวมทั้งปริมาณวิตามินบี12 (AOAC 1975)

5.2.2 การหมักผสมในอาหารเหลวแบบตามลำดับ (sequential mixed fermentation)

โดยนำน้ำนมถั่วเหลืองที่เลือกได้จากข้อ 1 มาปรับสภาพโดยการเติมน้ำตาลปริมาณร้อยละ 5.0 และหางนมผงร้อยละ 9.0 ซึ่งเป็นปริมาณที่พบว่าเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อตามวิธีของ Krusong and Ninlanon (1994) แล้วนำมาถ่ายหัวเชื้อราผง *R. oligosporus* ร้อยละ 0.5 แล้วนำไปบ่มที่ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดนำไปนึ่งฆ่าเชื้อราที่ 65 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากนั้นนำไปถ่ายหัวเชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* ร้อยละ 5.0 นำไปบ่มที่ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง นำน้ำนมถั่วเหลืองหมักที่ได้มาวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 5.2.1

การเปรียบเทียบผลการทดลองระหว่างการหมักผสมทั้งสองแบบ โดยเลือกลักษณะการหมักผสมที่ให้ปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ ปริมาณของแข็งทั้งหมด และปริมาณวิตามินบี12 ที่ดีเพื่อใช้ในการศึกษาขั้นต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.3. ปัจจัยที่เหมาะสมในการหมักผสมระหว่างหัวเชื้อราผง *R. oligosporus* และหัวเชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* ในสภาพอาหารเหลว

5.3.1 ปริมาณหางนมผงและน้ำตาลซูโครส

โดยมีการเติมหางนมผงลงไปในปริมาณร้อยละ 5.0 6.0 7.0 8.0 9.0 และ 10.0 และน้ำตาลซูโครสปริมาณร้อยละ 5.0 ตามวิธีการของKrusong and Ninlanon (1994) จากนั้นจึงนำไปทำการฆ่าเชื้อแล้วจึงถ่ายหัวเชื้อราผง *R. oligosporus* และหัวเชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* ลงตามปริมาณดังกล่าวข้างต้น ทำการหมักผสมแบบที่เลือกได้จากข้อ 5.2

5.3.2 อุณหภูมิการบ่ม

โดยเปรียบเทียบอุณหภูมิการบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ คือ 30 35 และ 40 องศาเซลเซียส เพื่อเลือกอุณหภูมิที่เหมาะสมที่หัวเชื้อผสมที่ถ่ายลงไปสามารถผลิตวิตามินบี12 ได้ปริมาณสูงที่สุด

5.3.3 ปริมาณของหัวเชื้อที่เหมาะสม

โดยปริมาณของเชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0 3.0 5.0 7.0 และ 10.0 ขณะที่ใช้หัวเชื้อรา *R. oligosporus* ที่ศึกษาคือปริมาณร้อยละ 0 0.1 0.25 และ 0.5 เพื่อเลือกกระบวนการที่เหมาะสมที่จะใช้ในการพัฒนากระบวนการผลิตและคุณภาพของผลิตภัณฑ์ต่อไป โดยทำการทดลองแบบ 5 x 4 Factorial in CRD

5.4. การติดตามการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในน้ำนมถั่วเหลืองหมัก

หลังจากที่ได้เลือกกระบวนการที่เหมาะสมแล้ว ศึกษาการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในน้ำนมถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการหมัก เพื่อผลิตน้ำนมถั่วเหลืองหมักเสริมวิตามินบี12 ให้มีคุณค่าทางโภชนาการและเหมาะสมต่อการหมักด้วยเชื้อแบคทีเรียแลคติกต่อไป โดยศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์และส่วนประกอบของน้ำนมถั่วเหลืองหมักคือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.4.1 การเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ Lipoxygenase โดยศึกษาตามวิธีของ Obaidy and Siddhigui (1981) เพื่อหาข้อมูลและแนวทางในการกำจัดกลิ่นถั่วของผลิตภัณฑ์ การศึกษาหาค่าการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ Lipoxygenase นี้ทำโดยศึกษาหาค่าการเปลี่ยนแปลงในน้ำนมถั่วเหลืองที่ผ่านการหมักด้วยหัวเชื้อผสมระหว่างหัวเชื้อผสมระหว่างหัวเชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* และหัวเชื้อราผง *R. oligosporus* ทั้งที่หมักด้วยการหมักผสมในอาหารเหลวแบบ sequential และแบบ non-sequential โดยเปรียบเทียบกับปริมาณเอนไซม์Lipoxygenase ที่มีอยู่ในเมล็ดถั่วเหลืองและในน้ำนมถั่วเหลืองเริ่มต้นที่ยังไม่ผ่านการหมัก

5.4.2 การเปลี่ยนแปลงของส่วนประกอบของน้ำนมถั่วเหลืองหมักโดยเปรียบเทียบกับส่วนประกอบที่มีอยู่ในน้ำนมถั่วเหลืองก่อนที่จะนำมาทำการหมัก โดยศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของน้ำนมถั่วเหลืองหมัก ประกอบด้วย ปริมาณวิตามินบี12 ที่เกิดขึ้น ปริมาณของแข็ง ปริมาณโปรตีนทั้งหมด (AOAC 1984) โดยเปรียบเทียบกับน้ำนมถั่วเหลืองก่อนการหมัก

5.5. การผลิตนมเปรี้ยวจากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก

นำน้ำนมถั่วเหลืองหมักที่ได้จากกระบวนการที่เลือกได้ นำมาหมักต่อด้วยหัวเชื้อแบคทีเรียแลคติก หัวเชื้อแบคทีเรียที่ใช้เป็นเชื้อผสมของเชื้อ *S. thermophilus* และเชื้อ *L. bulgaricus* บ่มที่ 43 องศาเซลเซียส นาน 18-24 ชั่วโมง (Krusong and Ninlanon 1994) โดยจะศึกษาถึงปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการหมักประกอบด้วย

5.5.1 แหล่งของคาร์โบไฮเดรตและปริมาณที่เหมาะสม

แหล่งของคาร์โบไฮเดรตที่ศึกษานี้คือ น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลซูโครส และการใช้น้ำตาลทั้งสองชนิดร่วมกัน ปริมาณความเข้มข้นที่ใช้เท่ากับร้อยละ 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 และ 10 โดยพิจารณาถึงลักษณะของตะกอนที่เกิดขึ้น ปริมาณน้ำเวย์ และปริมาณกรดที่ได้ ตามวิธีของ AOAC (1984) และค่า pH ของนมเปรี้ยวจากนมถั่วเหลืองหมักที่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.5.2 แหล่งไนโตรเจนและปริมาณที่เหมาะสม

แหล่งของไนโตรเจนที่ศึกษาคือ ยีสต์สกัด เปปโตน และหางนมผง โดยใช้ความเข้มข้นต่างๆ กันคือ

ปริมาณยีสต์สกัด ใช้ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0 0.1 0.2 0.3 0.4 และ 0.5

ปริมาณเปปโตน ใช้ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0 0.1 0.2 0.3 0.4 และ 0.5

ปริมาณหางนมผง ใช้ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 และ 10

นมเปรี้ยวที่ได้ทำการศึกษาลักษณะและสมบัติต่างๆ เช่นเดียวกับข้อ 5.5.1

5.5.3 ชนิดและความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารคงตัว (Stabilizer)

สารคงตัวที่นำมาศึกษามี 2 ชนิด คือ เจลาติน CMC และใช้สารทั้งสองตัวผสมกัน ความเข้มข้นที่ใช้เท่ากับร้อยละ 0 0.1 0.2 0.3 0.4 0.5 0.6 0.7 0.8 0.9 และ 1.0 ทำการศึกษาลักษณะและสมบัติต่างๆ เช่นเดียวกับข้อ 5.5.1

5.6 การพัฒนาผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี12 จากนมถั่วเหลืองหมัก

โดยนำตะกอนที่ได้จากการหมักน้ำนมถั่วเหลืองด้วยเชื้อแบคทีเรียแลคติกจากกระบวนการที่เลือกแล้ว มาผสมกับน้ำเชื่อมที่มีความหวาน 28 องศาบริกซ์ จากนั้นจะนำไปโฮโมจิไนซ์ให้เป็นเนื้อเดียวกัน เติมกลิ่นสังเคราะห์โดยใช้กลิ่นรสส้ม สตรอเบอรี่ และมะนาว (Krusong and Ninlanon 1994) ในปริมาณร้อยละ 0.1-0.2 นำไปฆ่าเชื้อแล้วจึงนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านความหวาน สี กลิ่น และการยอมรับรวม เมื่อเปรียบเทียบกับนมเปรี้ยวที่จำหน่ายตามท้องตลาด รวมทั้งวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี คือปริมาณวิตามินบี2 ความเป็นกรดค่า pH และปริมาณของแข็งทั้งหมดที่สามารถละลายได้ของผลิตภัณฑ์ที่ได้

5.7. การพัฒนาผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 ผงจากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก

โดยนำน้ำนมเปรี้ยวพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมักที่มีการปรับปรุงคุณภาพทั้งด้านความหวาน สี กลิ่น และการยอมรับรวมจนเป็นที่ยอมรับจากผู้บริโภคแล้วนั้น มาทำให้เป็นผง โดยใช้เครื่องทำแห้งแบบสเปรย์ดราย (Spray Dryer) น้ำนมที่นำมาผ่านกระบวนการทำแห้งเป็นผงนี้ ต้องมีการศึกษาถึงปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการทำแห้งเป็นผงนี้ โดยดัดแปลงจากวิธีการของพิมพรรณ (2526)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.7.1 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของแข็งรวมทั้งหมดกับค่าดัชนีการหักเห (Refractive index) และความหนืดของน้ำนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก

นำน้ำนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมักมาทำให้เข้มข้นโดยใช้เครื่องระเหยน้ำภายใต้สุญญากาศ (Rotary Vacuum Evaporator) โดยบรรจุน้ำนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมักลงในขวดก้นกลมขนาด 2 ลิตร ที่ต่อเข้ากับเครื่องระเหยน้ำภายใต้สุญญากาศ ใช้อุณหภูมิในการระเหย 65 องศาเซลเซียส ซึ่งควบคุมอุณหภูมิโดยการจุ่มขวดก้นกลมลงในเครื่องควบคุมอุณหภูมิ ใช้ความเร็วในการหมุน 130 รอบต่อนาที สุญญากาศ 15 นิ้ว ปรอทจะเก็บตัวอย่างน้ำนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 ที่ระเหยน้ำแล้วตามความเข้มข้นที่ระดับต่างๆ คือร้อยละ 10 15 20 และ 25 (ปริมาณของแข็งทั้งหมด) โดยการเก็บตัวอย่างมาวัดด้วย Hand refractometer นำน้ำนมถั่วเหลืองที่ความเข้มข้นระดับต่างๆ มาวิเคราะห์หาปริมาณของแข็งทั้งหมด ตามวิธีของ AOAC (1984) ค่าดัชนีการหักเห โดยใช้ Hand Refractometer และวัดความหนืดโดยใช้ Brook field viscometer

5.7.2 ความเข้มข้นของน้ำนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่เหมาะสมในการป้อนเข้าเครื่อง Spray Dryer เพื่อผลิตนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี 12 ผง

โดยนำน้ำนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมักที่นำไปผ่านกระบวนการทำให้เข้มข้นจนกระทั่งมีความเข้มข้นในระดับต่างๆ ตามข้อ 5.7.1 มาผ่านเข้าเครื่อง Spray Dryer ซึ่งมีการควบคุมให้มีอุณหภูมิลมเข้าเป็น 130 องศาเซลเซียส ความดันอากาศในการพ่นกระจายและอัตราการป้อนตัวอย่างที่คงที่

นำนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 ผง จากน้ำนมถั่วเหลืองหมักที่ได้มาวิเคราะห์หาความชื้น ปริมาณโปรตีนตามวิธีของ AOAC (1975) Bulk density ตามวิธีของ Tamsma et al. (1967) Colloidal Stability ตามวิธีของ Nelsonet al. (1971) ปริมาณผลผลิตที่ได้ (Yield)

5.7.3 อุณหภูมิของลมเข้าที่เหมาะสมในการผลิตนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12ผง จากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก

นำน้ำนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมักที่ผ่านการทำให้เข้มข้นจนมีความเข้มข้นที่เหมาะสมตามที่ศึกษาได้จากข้อ 5.7.2 มาผ่านเข้าเครื่อง Spray Dryer ที่มีอุณหภูมิลมเข้าที่แตกต่างกันคือ 110 130 และ 150 องศาเซลเซียส ซึ่งมีการควบคุมสภาวะของเครื่อง Spray Dryer คือความดันอากาศในการพ่นกระจายและอัตราการป้อนตัวอย่างที่คงที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 ผงจากน้ำนมถั่วเหลืองหมักที่ได้มาวิเคราะห์ตามข้อ 5.7.2

5.7.4 ผลของการเติมโซเดียมไบซัลไฟต์ (Sodium bisulfite) ต่อคุณภาพของนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 ผงจากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก

นำน้ำนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมักที่ผ่านการทำให้เข้มข้นจนมีความเข้มข้นที่เหมาะสมตามที่ศึกษาได้จากข้อ 5.7.2 มาเติมโซเดียมไบซัลไฟต์ โดยปริมาณของโซเดียมไบซัลไฟต์ ที่เติมลงไปในนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมักก่อนเข้าเครื่อง Spray dry คือร้อยละ 0.01 0.03 และ 0.05 (น้ำหนักต่อปริมาตร) นมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 ผง จากน้ำนมถั่วเหลืองหมักที่ได้นำมาวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 5.7.2

5.7.5 ศึกษาถึงผลของการเติมไตรโซเดียมฟอสเฟต (Trisodium phosphate)

นำน้ำนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมักที่ผ่านการทำให้เข้มข้นจนมีความเข้มข้นที่เหมาะสมตามที่ศึกษาได้จากข้อ 5.7.2 มาเติมไตรโซเดียมฟอสเฟต ปริมาณของไตรโซเดียมฟอสเฟตที่เติมลงไปก่อนที่นำน้ำนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมักไปเข้าเครื่อง Spray Dryer คือร้อยละ 0.05 0.1 และ 0.2 (น้ำหนักต่อปริมาตร) นมเปรี้ยว เสริมวิตามินบี12 ผง จากน้ำนมถั่วเหลืองหมักที่ได้นำมาวิเคราะห์เช่นเดียวกับข้อ 5.7.2

5.7.6 ศึกษาสภาวะการเก็บรักษาที่เหมาะสม

โดยมีการศึกษาสภาวะการเก็บรักษาต่างๆ กันคือ

ภาชนะบรรจุในระหว่างการเก็บรักษา ใช้ภาชนะบรรจุ 2 ชนิดคือ ถุงพลาสติกโพลีเอทีลิน (PE) และถุงอลูมิเนียมเคลือบพลาสติกโพลีเอทีลีน (Al-foil/PE) โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

นำผลิตภัณฑ์ที่เก็บรักษานั้นมาวิเคราะห์ถึงความเปลี่ยนแปลงทุกๆ เดือนเป็นระยะเวลา 4 เดือน โดยทำการวิเคราะห์ค่าความสามารถในการละลาย (ดัดแปลงจาก พิมพรรณ 2526) และประเมินการยอมรับทางประสาทสัมผัส โดยการนำนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี 12 ผง มาคืนรูปในอัตราส่วน นมผง 2 ช้อนชา ต่อน้ำ 100 มล.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การเตรียมสภาพถั่วเหลืองที่เหมาะสมก่อนการหมัก

ผลการทดสอบคุณภาพของน้ำนมถั่วเหลืองที่ได้พบว่า น้ำนมถั่วเหลืองที่ได้จากถั่วเหลืองที่เตรียมสภาพตามวิธีของมัณฑนาและคณะ (2521) คือแช่ในสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 0.5 มีปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 5.11 มีการแยกตัวของตะกอนน้อยมาก น้ำนมถั่วเหลืองที่ได้มีสีขาวนวล มีค่าความเป็นกรด (pH) 7.09 ส่วนน้ำนมถั่วเหลืองที่ได้จากการเตรียมสภาพถั่วเหลืองตามวิธีของ Krusong et at. (1991 :a) มีลักษณะค่อนข้างใส มีการแยกตัวของตะกอนมาก ปริมาณของแข็งทั้งหมดร้อยละ 3.94 ดังแสดงในตารางที่ 4และ 5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4 แสดงลักษณะคุณภาพทางเคมีของน้ำนมถั่วเหลือง

น้ำนมถั่วเหลืองที่เตรียมจากถั่วเหลืองที่เตรียมโดย	ค่าความเป็นกรด (pH)	ปริมาณของแข็งทั้งหมด (ร้อยละ)	ปริมาณกรดทั้งหมด (ร้อยละ)
แช่ในสารละลายกรดแลคติกเข้มข้นร้อยละ 0.88	5.98	3.94	0.08
แช่ในสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนตเข้มข้นร้อยละ 0.5	7.09	5.11	0.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 แสดงลักษณะคุณภาพทางกายภาพของน้ำนมถั่วเหลือง

น้ำนมถั่วเหลืองที่เตรียมจากถั่วเหลืองที่เตรียมโดยวิธี	ลักษณะคุณภาพ		
	กลิ่น [1]	สี	การแยกตัวของตะกอน
แช่ในสารละลายกรดแลคติกเข้มข้นร้อยละ 0.88	ไม่ดี	มีสีเหลืองอ่อน	มีการแยกตัวของตะกอนมาก
แช่ในสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนตเข้มข้น ร้อยละ 0.5	ดี	มีสีขาวนวล	ไม่มีการแยกตัวของตะกอน

หมายเหตุ [1] กลิ่นที่ดี คือ ปราศจากกลิ่นถั่ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับลักษณะทางกายภาพของน้ำนมถั่วเหลืองที่เตรียมจากถั่วเหลืองที่แช่ในสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 30 นาทีให้ลักษณะปรากฏ ด้านกลิ่น สี และการแยกตัวของตะกอนที่ดีกว่าน้ำนมถั่วเหลืองที่เตรียมน้ำนมถั่วเหลืองจากถั่วเหลืองที่แช่ในสารละลายกรดแลคติกความเข้มข้นร้อยละ 0.88 ที่ 70 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมงกล่าวคือจะได้น้ำนมถั่วเหลืองที่มีสีขาวนวล ไม่มีการแยกตัวของตะกอน มีกลิ่นถั่วน้อย เนื่องจากว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการแช่ถั่วและบดถั่วคือที่ 80 องศาเซลเซียส มีผลในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ lipoxygenase ที่เป็นตัวที่ส่งผลต่อกลิ่นถั่วโดยตรง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของสุชาติและลูกจันทร์ (2529) พบว่าน้ำนมถั่วเหลืองที่ได้จากการถั่วในน้ำร้อนและแช่ในสารละลายโซเดียมไบคาร์อบเนตความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และบดในน้ำร้อนที่ 80 องศาเซลเซียสเป็นวิธีที่ดีที่สุดสำหรับการทำผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลืองทั้งในด้านกลิ่น สี และรสชาติ โดยน้ำนมถั่วเหลืองที่ได้จะมีกลิ่นถั่วน้อย และมีสีขาว และสอดคล้องกับการทดลองของมัณฑนาและคณะ (2521) ซึ่งได้ทำการตีปั่นถั่วเหลืองในน้ำร้อนที่ 80 องศาเซลเซียส น้ำนมที่ได้มีกลิ่นและรสชาติที่ดีกว่าน้ำนมถั่วเหลืองที่ตีปั่นในน้ำเย็น เพราะน้ำร้อนจะแทรกซึมเข้าไปในเนื้อถั่วเหลือง และทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ lipoxygenase ได้ง่ายและเร็วขึ้น จึงทำให้น้ำนมถั่วเหลืองนั้นมีกลิ่นถั่วเหลืองน้อยลง

ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเลือกการเตรียมสภาพถั่วเหลืองก่อนการหมัก โดยแช่ในสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 30 นาทีในการเตรียมน้ำนมถั่วเหลืองเพื่อทำการผลิตผลิตภัณฑ์ในการทดลองต่อไป

2. กระบวนการหมักผสมในอาหารเหลว (Submerged Mixed Fermantation) ที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองหมักเสริมวิตามินบี 12

นำน้ำนมถั่วเหลืองที่เตรียมจากถั่วเหลืองที่ปรับสภาพโดยแช่ในสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต์ ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แล้วล้างให้สะอาด นำมาตีปั่นกับน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที โดยใช้อัตราส่วนของถั่วเหลืองต่อน้ำ 1 ต่อ 8 ซึ่งเป็นวิธีการทดลองของมัณฑนาและคณะ (2521) หลังจากนั้นนำมาเติมน้ำตาลปริมาณร้อยละ 5.0 และหางนมผงร้อยละ 9.0 ซึ่งเป็นปริมาณที่เหมาะสมในการทดลองของกาญจนาและวราวุฒิ (2537) และ Krusong and Ninlanon (1994) หลังจากนั้น จึงนำน้ำนมถั่ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เหลืองที่ได้ไปฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่ 80 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แล้วนำไปทำการหมักโดยกระบวนการหมักผสมในอาหารเหลว (Submerged mixed fermantation)

กระบวนการหมักผสมในอาหารเหลวที่ศึกษามี 2 แบบ คือ การหมักผสมในอาหารเหลวแบบตามลำดับ (sequential mixed fermentation) และการหมักผสมในอาหารเหลวแบบพร้อมกัน(non-sequential mixed fermentation)โดยใช้หัวเชื้อราผง *R. oligosporus* ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และเชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* ความเข้มข้นร้อยละ 5.0 ตามวิธีของ Krusong et al. (1991 : b) นำไปบ่มที่ 35 องศาเซลเซียสนาน 24 ชั่วโมง ตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีคือปริมาณโปรตีน ปริมาณของแข็ง ปริมาณกรด และปริมาณวิตามินบี12 ในน้ำนมถั่วเหลืองหมัก

จากการทดลองพบว่า น้ำนมถั่วเหลืองที่หมักด้วยกระบวนการหมักผสมในอาหารเหลวแบบ non-sequential มีปริมาณวิตามินบี12 ที่สูงกว่า น้ำนมถั่วเหลืองที่หมักด้วยกระบวนการหมักผสมในอาหารเหลวแบบ sequential ดังแสดงในตารางที่ 6 คือมีปริมาณวิตามินบี12 10.50 ng/100 ml ปริมาณของแข็งทั้งหมดและปริมาณกรด ก็พบว่าในน้ำนมถั่วเหลืองที่หมักด้วยกระบวนการหมักผสมในอาหารเหลวแบบ sequential มีค่ามากกว่าเช่นกัน น้ำนมถั่วเหลืองที่หมักผสมในอาหารเหลวแบบ sequential และ non-sequential มีปริมาณโปรตีนใกล้เคียงกันคือร้อยละ 3.94 และ 3.95 ตามลำดับ

ตารางที่ 6 แสดงผลการวิเคราะห์ทางเคมีของน้ำนมถั่วเหลืองหมักจากกระบวนการหมักผสมในอาหารเหลว

กระบวนการหมัก	ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)	ปริมาณกรด (ร้อยละ)	ของแข็ง (ร้อยละ)	วิตามินบี12 (ng/100 ml)	ค่า pH
น้ำนมถั่วเหลืองเริ่มต้น	4.66	0.068	4.2	0.00	6.64
หมักผสมในอาหารเหลวแบบ sequential	3.94	0.252	1.5	7.30	5.87
หมักผสมในอาหารเหลวแบบ non-sequential	3.95	0.364	1.6	10.53	5.66

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองพบว่ากระบวนการหมักผสมในอาหารเหลวแบบ non-sequential นั้น น้ำนมถั่วเหลืองหมักที่ได้มีปริมาณวิตามินบี12 ที่สูงกว่าการหมักผสมในอาหารเหลวแบบ sequential ทั้งนี้อาจเนื่องจากว่า ในกระบวนการหมักผสมในอาหารเหลวแบบ sequential ที่ใช้เชื้อราผง *R. oligosporus* เป็นเชื้อแรกที่ใช้ในการหมัก มีกิจกรรมการย่อยสลายโดยเอนไซม์โปรติเอสที่เชื้อราผลิตขึ้น ทำให้เกิดแอมโมเนียและอาจมีปริมาณมากพอที่จะยับยั้งการเจริญของเชื้อ *P. shermanii* ให้มีการเจริญเติบโตน้อยลงและผลิตวิตามินบี12ได้น้อยลงด้วย ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของวราวุฒิและรุ่งนภา (2532) ซึ่งพบว่าในกระบวนการหมัก HVT ด้วยเชื้อรา *R. oligosporus* เชื้อราจะผลิตเอนไซม์โปรติเอสและย่อยสลายโปรตีนในถั่วเหลือง ทำให้มีแอมโมเนียเกิดขึ้น ถ้ากิจกรรมการย่อยเกิดขึ้นมากส่งผลให้แอมโมเนียที่เกิดขึ้นมีปริมาณมากด้วยและสอดคล้องกับการทดลองของนภา (2535) โดยพบว่าแอมโมเนียที่เกิดขึ้นมั้นถ้ามีในปริมาณมากนั้นมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้เช่นกัน ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ที่พบว่าปริมาณเชื้อ *P. shermanii* ในน้ำนมถั่วเหลืองหมักในกระบวนการหมักผสมในอาหารเหลวแบบ non-sequential มีปริมาณมากกว่าน้ำนมถั่วเหลืองหมักที่ผ่านการหมักด้วยกระบวนกการหมักผสมในอาหารเหลวแบบ sequential ดังแสดงในตารางที่ 7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 7 แสดงผลการตรวจวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ในน้ำนมถั่วเหลืองหมักจากกระบวนการหมักผสมในอาหารเหลว

กระบวนการหมัก	ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ (colony / ml)	
	เชื้อ *P. shermanii*	เชื้อ *R. oligosporus*
น้ำนมถั่วเหลืองเริ่มต้น	1.7×10^{6}	3.69×10^{4}
หมักผสมในอาหารเหลวแบบ sequential	1.06×10^{11}	4.85×10^{7}
หมักผสมในอาหารเหลวแบบ non-sequential	1.67×10^{15}	1.23×10^{8}

ดังนั้นจากผลการทดลองสรุปได้ว่า กระบวนการหมักผสมในอาหารเหลวที่เหมาะสมที่จะนำไปใช้ในการทดลองต่อไปคือ กระบวนการหมักผสมในอาหารเหลวแบบ non-sequential เนื่องจากให้ปริมาณวิตามินบี12 สูงกว่ากระบวนการหมักผสมในอาหารเหลวแบบ sequential

3. ปัจจัยที่เหมาะสมในกระบวนการหมักผสมในอาหารเหลวแบบ non-sequential

3.1 ปริมาณหางนมผง และปริมาณน้ำตาลซูโครส

หางนมผงเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากนมโคที่ผ่านการสกัดเอาไขมันออกและมีส่วนประกอบที่ใกล้เคียงกับนมโค เป็นแหล่งของโปรตีนคาร์โบไฮเดรต และแร่ธาตุต่างๆ ที่สำคัญมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองพบว่า น้ำนมถั่วเหลืองหมักที่มีการเติมน้ำตาลซูโครสปริมาณร้อยละ 1 5 10 และหางนมผงในปริมาณร้อยละ 5 ถึง 10 แล้วทำการหมักในสภาวะที่เหมาะสมจากข้อ 2 คือ กระบวนการหมักผสมในอาหารเหลวแบบ non-sequential ด้วยเชื้อรา *R. oligosporus* ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และเชื้อ *P. shermanii* ความเข้มข้นร้อยละ 5.0 บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณวิตามินบี12 ในน้ำนมถั่วเหลืองหมัก พบว่าการใช้น้ำตาลซูโครสปริมาณร้อยละ 5 และหางนมผงร้อยละ 9.0 ให้น้ำนมถั่วเหลืองหมักที่มีปริมาณวิตามินบี12 ที่สูงที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 8

ในกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ แหล่งอาหารคือไนโตรเจนและคาร์โบไฮเดรตเป็นปัจจัยที่สำคัญที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ โดยแหล่งอาหารทั้ง 2 ชนิดนี้ต้องมีอยู่ในปริมาณที่เหมาะสม ไม่มากหรือน้อยเกินไป จึงส่งผลให้จุลินทรีย์สามารถเจริญและผลิตวิตามินบี12 ได้ในปริมาณที่สูงที่สุด ถ้ามีปริมาณน้อยเกินหรือมากเกินไป ปริมาณวิตามินบี12 จะมีปริมาณลดลง เช่นเดียวกับผลการทดลอง ซึ่งพบว่าปริมาณน้ำตาลซูโครสและหางนมผงที่เหมาะสมคือร้อยละ 5 และ 9 ตามลำดับ ซึ่งถึงแม้ว่ามีการเพิ่มปริมาณน้ำตาลซูโครสหรือหางนมผงให้มากขึ้นแต่ ปริมาณวิตามินบี12 กลับมีค่าลดลงนั้นเนื่องจากว่าปริมาณน้ำตาลซูโครสและหางนมผงที่มากเกินไปนั้นอาจมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ได้เนื่องจากผลของ reverse osmotic ของอาหารเลี้ยงเชื้อ และผลของค่า water activity ได้ ซึ่งสอดคล้องกับวราวุฒิและรุ่งนภา (2532) ซึ่งพบว่าปริมาณน้ำตาลและหางนมผงที่มีปริมาณมากเกินไปนั้นมีผลยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกได้นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการทดลองของ Chang and Stone (1990) ที่พบว่าความเข้มข้นของคาร์โบไฮเดรตในนมถั่วเหลืองนั้นมีผลต่อการผลิตกรดของแบคทีเรีย ถ้าความเข้มข้นสูงกว่าความเข้มข้นที่เหมาะสมก็มีผลให้ปริมาณกรดลดลงได้

ดังนั้นปริมาณน้ำตาลซูโครสและหางนมผงที่เหมาะสมคือน้ำตาลความเข้มข้นร้อยละ 5.0 และหางนมผงความเข้มข้นร้อยละ 9.0 เป็นปริมาณที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองหมักเสริมวิตามินบี12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 แสดงผลของปริมาณน้ำตาลซูโครสและหางนมผง ต่อ ปริมาณวิตามินบี 12 ในน้ำนมถั่วเหลืองหมัก

ปริมาณน้ำตาลซูโครส (ร้อยละ)	ปริมาณหางนมผง (ร้อยละ)	ปริมาณวิตามินบี12 * (ng/100 ml)
1	5	15.56 [b]
1	6	15.84 [b]
1	7	15.91 [b]
1	8	16.21 [b]
1	9	15.86 [b]
1	10	15.04 [b]
5	5	18.07 [ab]
5	6	20.14 [ab]
5	7	21.16 [ab]
5	8	22.02 [ab]
5	9	26.10 [a]
5	10	22.70 [ab]
10	5	19.64 [ab]
10	6	19.89 [ab]
10	7	22.59 [ab]
10	8	21.65 [ab]
10	9	21.28 [ab]
10	10	19.61 [ab]

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 อุณหภูมิในการหมักที่ เหมาะสม

จากการทดลองพบว่า ที่อุณหภูมิ 30 35 และ 40 องศาเซลเซียส น้ำนมถั่วเหลืองหมักมีปริมาณวิตามินบี12 เท่ากับ 22.99 26.10 15.94 ng/100 ml ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 แสดงผลของอุณหภูมิในการหมัก ต่อปริมาณวิตามินบี12ในน้ำนมถั่วเหลืองหมักผสมในอาหารเหลวแบบ non-sequential

อุณหภูมิในการหมัก (องศาเซลเซียส)	ปริมาณวิตามินบี 12 * (ng/100 ml)
30	22.99[b]
35	26.10[a]
40	15.94[c]

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

อุณหภูมิที่ใช้หมักน้ำนมถั่วเหลืองนั้น จำเป็นต้องปรับให้มีความเหมาะสมกับการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย*P. shermanii* และ *R. oligosporus* Prescott and Dunn (1959) ได้กล่าวว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักของ Propionic acid bacteria ประมาณ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นสภาวะที่เชื้อแหล่งนี้สามารถเจริญได้ดีและเหมาะสมต่อการผลิตวิตามินบี12 และจากการทดลองของพรพรรณ (2519) ได้เปรียบเทียบการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย*P. shermanii* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ complete medium ที่อุณหภูมิต่างๆ ปรากฏว่าที่อุณหภูมิห้อง (28-30 องศาเซลเซียส) เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อมากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญของเชื้อรานั้น *R. oligosporus* สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 30-42 องศาเซลเซียส (สุจินดา 2534 ; นภา 2535) ดังนั้นในการทดลองนี้อุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มจึงไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อรา *R. oligosporus* โดยเชื้อราดังกล่าวสามารถเจริญและมีกิจกรรมย่อยสลายได้อย่างปกติ

จากผลการทดลองพบว่า ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิเหมาะสมที่สุด เนื่องจากให้ปริมาณวิตามินบี12 สูงสุดคือ 26.10 ng/100ml ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Krusong et al. (1991 : c) ที่ทำการหมักเทมเป้จากถั่วเหลืองด้วยเชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* และเชื้อรา *R. oligosporus* ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ให้ปริมาณวิตามินบี 12 สูงสุด (299.60 ng/100 g) รองลงมาได้แก่ที่อุณหภูมิ 32 30 และ 40 องสาเซลเซียส ตามลำดับ และสอดคล้องกับการทดลองของวริศชนม์ (2539) ในการผลิตเทมเป้เสริมวิตามินบี 12 โดยพบว่าอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียสเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดโดยให้ปริมาณวิตามินบี 12 สูงสุดคือ 288.67 ng/100g

สำหรับที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จากการทดลองพบว่าน้ำนมถั่วเหลืองที่ได้มีปริมาณวิตามินบี 12 ต่ำสุด เนื่องจากมีความร้อนที่สูงมากซึ่งจะมีผลในการทำลายเชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* บางส่วน ทำให้ปริมาณวิตามินบี 12 ลดลง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Krusong et al. (1991 : c) และวริศชนม์ (2539)

ดังนั้นจึงเลือกอุณหภูมิในการหมักที่ 35 องศาเซลเซียสเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมที่จะใช้ทดลองต่อไป

3.3 ความเข้มข้นของหัวเชื้อ

หลังจากที่ได้สภาวะการหมักที่เหมาะสมคือ ปริมาณน้ำตาลและหางนมผงที่เหมาะสม ตลอดจนอุณหภูมิที่ใช้ในการหมักแล้ว นำมาศึกษาถึงปริมาณหัวเชื้อที่เหมาะสมในปริมาณที่ต่างๆ กัน คือ เชื้อรา *R. oligosporus* ปริมาณความเข้มข้นร้อยละ 0 0.1 0.25 และ 0.5 เชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* ปริมาณความเข้มข้นร้อยละ 0 3.0 5.0 7.0 และ 10.0 บ่มที่ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง วิเคราะห์หาปริมาณวิตามินบี 12 ในน้ำนมถั่วเหลืองหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองพบว่า เชื้อแบคทีเรีย *P. shermanii* ปริมาณความเข้มข้นร้อยละ 3.0 และเชื้อรา *R. oligoslporus* ปริมาณความเข้มข้นร้อยละ 0 0.1 0.25 และ 0.5 ให้น้ำนมถั่วเหลืองที่มีปริมาณวิตามินบี 12 สูงและไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติกับน้ำนมถั่วเหลืองหมักที่ใช้ปริมาณเชื้อ *P. shermanii* ร้อยละ 5 และเชื้อ *R. oligosporus* ร้อยละ 0.25 และ ที่ใช้ปริมาณเชื้อ *P. shermanii* ร้อยละ 10.0 และเชื้อ R. oligosporus ร้อยละ 0.25 ดังแสดงในตารางที่ 10

แต่เมื่อทำการวิเคราะห์ถึงปริมาณแอลฟา-อะมิโนไนโตรเจนและการยอมรับของผู้บริโภคด้านกลิ่นและการยอมรับรวม พบว่าน้ำนมถั่วเหลืองหมักที่ใช้ปริมาณเชื้อ *P. shermanii* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 3.0 และเชื้อ *R. oligosporus* ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 จะให้ปริมาณแอลฟา-อะมิโน ไนโตรเจน สูงที่สุดคือร้อยละ 0.20 และผู้บริโภคให้การยอมรับด้านกลิ่นและการยอมรับรวมที่สูงที่สุดเช่นกัน ดังแสดงในตารางที่ 11 และ 12

จากการทดลองนั้นพบว่าถึงแม้ปริมาณความเข้มข้นของเชื้อ *P. shermanii* ที่เพิ่มขึ้นนั้นส่งผลให้ปริมาณแอลฟา-อะมิโนไนโตรเจน ในปริมาณที่สูงขึ้น เนื่องจากว่าเชื้อ *R. oligosporus* เป็นเชื้อที่สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอส ที่ย่อยโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลือง ทำให้น้ำนมถั่วเหลืองนั้นมีปริมาณโปรตีนและสารประกอบไนโตรเจนที่ละลายน้ำได้สูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Steinkraus et al. (1983) ซึ่งได้แนะนำแหล่งโปรตีนที่มีราคาถูกคือผลิตภัณฑ์ถั่วหมักที่หมักด้วยเชื้อรา *R. oligosporus* หรือเทมเป้ โดยเป็นแหล่งโปรตีนที่สามารถย่อยได้ง่าย แต่จากการทดลองพบว่าปริมาณเชื้อ *P. shermanii* ที่เพิ่มมากขึ้นเป็นร้อยละ 5.0 และ 10.0 นั้นส่งผลให้ปริมาณแอลฟา-อะมิโนไนโตรเจนมีค่าลดลง เนื่องมาจากว่า เชื้อ *P. shermanii* นั้นผลิตกรดพวกกรดโพรพิโอนิค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งเป็นกรดที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อรา *R.oligosporus* ได้เป็นผลให้มีกิจกรรมการย่อยสลายลดลงด้วย ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของพรพรรณ (2519) ซึ่งทำการเลี้ยงเชื้อ *P. shermanii* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ compleate medium พบว่าเมื่อเชื้อ *P. shermanii* มีการเจริญเติบโต มีผลให้อาหารเลี้ยงเชื้อนั้นมีค่า pH ลดลงโดยมีกรดโพรพิโอนิดเกิดขึ้น

ดังนั้นปริมาณเชื้อ *P. shermanii* และ *R. oligosporus* ที่เหมาะสมในการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองหมักเสริมวิตามินบี12 คือ ความเข้มข้นร้อยละ 3.0 และ 0.25 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 แสดงผลของปริมาณเชื้อ *P. shermanii* และ *R. oligosporus* ต่อปริมาณวิตามินบี 12 ในน้ำนมถั่วเหลืองหมัก

ปริมาณเชื้อ *P. shermanii* (ร้อยละ)	เชื้อ *R. oligosporus* (ร้อยละ)	ปริมาณวิตามินบี 12* (ng/100 ml)
0	0	3.21[d]
0	0.1	22.48[c]
0	0.25	24.02[c]
0	0.50	22.12[c]
3	0	29.78[a]
3	0.1	30.00[a]
3	0.25	30.95[a]
3	0.50	30.44[a]
5	0	25.69[b]
5	0.1	28.61[b]
5	0.25	31.53[a]
5	0.50	28.66[b]
7	0	28.25[b]
7	0.1	29.64[a]
7	0.25	30.37[a]
7	0.50	27.96[b]
10	0	26.94[b]
10	0.1	28.91[b]
10	0.25	32.05[a]
10	0.50	25.48[b]

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11 แสดงผลของปริมาณเชื้อ *P. shermanii* และเชื้อ *R. oligosporus* ต่อปริมาณแอลฟา-อะมิโนไนโตรเจนของน้ำนมถั่วเหลืองหมักเสริมวิตามินบี12

ปริมาณเชื้อ *P. shermanii* (ร้อยละ)	ปริมาณเชื้อ *R. oligosporus* (ร้อยละ)	ปริมาณแอลฟา-อะมิโนไนโตรเจน (ร้อยละ)
3	0	0.12
3	0.1	0.14
3	0.25	0.18
3	0.50	0.20
5	0.25	0.18
10	0.25	0.17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 12 แสดงผลการยอมรับของผู้บริโภคด้านกลิ่นและการยอมรับรวมต่อน้ำนมถั่วเหลืองหมักเสริมวิตามินบี12

ปริมาณเชื้อ*P. shermanii* / *R.oligosporus* (ร้อยละ)	ลักษณะคุณภาพ *	
	กลิ่น	การยอมรับรวม
3/0	4.65[b]	4.52[b]
3/0.1	4.89[b]	4.77[b]
3/0.25	5.23[a]	5.18[a]
3/0.5	5.31[a]	5.22[a]
5/0.25	5.29[a]	5.25[a]
10/0.25	5.21[a]	5.18[a]

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ผลการหมักต่อการปฏิกิริยาของเอนไซม์ lipoxygenase ของน้ำนมถั่วเหลืองหมัก

ศึกษาถึงผลของการหมักที่มีต่อคุณภาพของน้ำนมถั่วเหลืองหมัก โดยศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ lipoxygenase ในน้ำนมถั่วเหลืองที่ผ่านการหมักด้วยการหมักผสมในอาหารเหลวแบบ seguential และ แบบ non-sequential โดยเปรียบเทียบกับปริมาณเอนไซม์ lipoxygenase ที่มีอยู่ในน้ำนมถั่วเหลืองเริ่มต้นที่ยังไม่ผ่านการหมัก

จากผลการทดลอง พบว่า เอนไซม์ lipoxygenase ที่มีอยู่ในน้ำนมถั่วเหลืองหลังหมักทั้งแบบ sequential และ non-sequential มีปริมาณลดลง โดยดูจากปฏิกิริยาของเอนไซม์มีค่าลดลง ดังแสดงในตารางที่ 13 โดยพบว่าปฏิกิริยาของเอนไซม์มีค่าลดลงจากที่มีอยู่ในน้ำนมถั่วเหลืองเริ่มต้น เป็นผลให้น้ำนมถั่วเหลืองหลังหมักนั้นมีกลิ่นถั่วลดลง ซึ่งสอดคล้องกับ สุชาติ และ ลูกจันทร์ (2525) ที่เตรียมนมถั่วเหลือง โดยแช่ถั่วในน้ำธรรมดาก่อน 24 ชั่วโมง แล้วแช่ในน้ำร้อน 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำไปแช่ในสารละลาย โซเดียมไบคาร์บอเนต เข้มข้นร้อยละ 0.5 ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ทำเป็นน้ำนมถั่วเหลือง ซึ่งเมื่อทำการตรวจสอบทางประสาทสัมผัสพบว่าผู้ชิมยอมรับมากที่สุด มัณฑณาและคณะ (2521) พบว่าน้ำนมถั่วเหลืองที่เตรียมโดยแช่ถั่วในสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 จะมีลักษณะปรากฏที่ดีที่สุด มีกลิ่นถั่วน้อยที่สุด

ตารางที่ 13 แสดงผลการหมักต่อการเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์ lipoxygenase ในน้ำนมถั่วเหลือง

วัตถุดิบ	ปฏิกิริยาของเอนไซม์ lipoxygenase (ΔOD / sec)
น้ำนมถั่วเหลืองเริ่มต้น	2.22×10^{-2}
หมักผสมในอาหารเหลว แบบ sequential	7.92×10^{-3}
หมักผสมในอาหารเหลว แบบ non-sequential	8.20×10^{-3}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Wilken et al. (1967) รายงานว่ากลิ่นถั่วในผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองเกี่ยวข้องกับสารประกอบที่ระเหยได้ อันมีสาเหตุมาจากเอนไซม์ lipoxygenase ซึ่งมีอยู่ในถั่วเหลืองตามธรรมชาติ ดังนั้นในการลดกลิ่นถั่วในผลิตภัณฑ์ จำเป็นต้องยับยั้งการทำงานของเอนไซม์นี้ ซึ่งมีด้วยกันหลายวิธีเช่น บดถั่วกับน้ำที่อุณหภูมิระหว่าง 80 และ 100 องศาเซลเซียส และคงอุณหภูมินี้ไว้ประมาณ 10 นาที สามารถยับยั้งเอนไซม์ lipoxygenase ได้อย่างสมบูรณ์ และ Nelson et al. (1976) ได้เตรียมน้ำนมถั่วเหลืองตามวิธี Illinois Process พบว่าถ้าแช่ถั่วค้างคืนในสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนตร้อยละ 0.5 หรือในน้ำธรรมดาแล้วลวกต่อสารละลายชนิดเดียวกันเป็นเวลา 30 นาที ได้น้ำนมถั่วเหลืองที่ปราศจากกลิ่นเหม็นเขียว เนื่องจากเอนไซม์ lipoxygenase ถูกทำลายลงไปจนไม่ก่อให้เกิดปัญหากลิ่นถั่ว

5. การผลิตนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก

โดยนำน้ำนมถั่วเหลืองที่หมักจากกระบวนการที่เลือกไว้แล้วนั้นมาหมักต่อด้วยหัวเชื้อแบคทีเรียแลคติก คือเชื้อผสมของ *S. thermophilus* และ *L. bulgaricus* ในปริมาณร้อยละ 5.0 บ่มที่ 43 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ตามวิธีของวริศชนม์ (2539) โดยในการผลิตนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 นี้ ศึกษาถึงปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการหมักคือ

5.1 ผลของคาร์โบไฮเดรตและปริมาณที่เหมาะสมในการหมักน้ำตาลเป็นแหล่งอาหาร

นำน้ำนมถั่วเหลืองหมักที่ได้มาหมักต่อด้วยเชื้อแบคทีเรียแลคติก โดยเติมหางนมผงร้อยละ 9.0 ซึ่งเป็นปริมาณที่เหมาะสมตามวิธีของ Krusong and Ninlanon (1994) เติมน้ำตาลกลูโคส น้ำตาลซูโครส และใช้น้ำตาลทั้งสองชนิดร่วมกันในปริมาณร้อยละ 0 ถึง10 หลังจากนั้น นำมาหมักด้วยเชื้อแบคทีเรียแลคติกร้อยละ 5 บ่มที่ 43 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง วิเคราะห์ค่าความเป็นกรด และ pH ที่เกิดขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองพบว่า การใช้น้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 จะให้ปริมาณกรดที่มากที่สุดคือ ร้อยละ 1.324 โดยที่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำตาลมากขึ้น ปริมาณกรดกับมีค่าลดลงซึ่งสัมพันธ์กับ pH ที่มีค่าสูง ขึ้นสำหรับน้ำตาลซูโครส และการใช้น้ำตาลสองชนิดร่วมกันก็เช่นเดียวกัน โดยพบว่าที่น้ำตาลซูโครสความเข้มข้นร้อยละ 1 และการใช้น้ำตาลสองชนิดร่วมกันที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 จะให้ปริมาณกรดที่มากที่สุดแต่จะน้อยกว่าที่ใช้น้ำตาลกลูโคสร้อยละ 2 คือ ปริมาณกรดร้อยละ 1.130 และ 1.091 ตามลำดับ ดังตารางที่ 14, 15 และ16

ในนมเปรี้ยวถั่วเหลืองที่ใช้น้ำตาลกลูโคสจะได้ปริมาณกรดสูงกว่าที่ใช้น้ำตาลซูโครสและใช้น้ำตาลทั้งสองชนิดร่วมกันนั้นเป็นเพราะว่า เชื้อแบคทีเรียแลคติกสามารถใช้น้ำตาลกลูโคสได้ดีกว่าน้ำตาลซูโครส ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Mital et al. (1974) ทำการทดลองแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกในการใช้ oligosaccharide ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตในนมถั่วเหลืองเพื่อใช้ในการผลิตกรด พบว่า *S. thermophilus* , *L. cellobiose* และ *L. plantarum* มีความสามารถในการเจริญเติบโตและการสร้างกรดได้มากอย่างมีนัยสำคัญ ส่วน *L. buchneri* จะใช้ซูโครสจากนมถั่วเหลืองมาสร้างความเจริญเติบโตและสร้างกรดได้น้อยกว่า สำหรับ *L. bulgaricus* นั้น การเจริญเติบโตและการสร้างกรดเกิดขึ้นได้น้อยมาก ทั้งนี้เพราะไม่มีความสามารถในการใช้คาร์โบไฮเดรทของนมถั่วเหลืองได้

ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากปริมาณน้ำตาลที่เติมลงไปในระหว่างการหมักเพื่อเพิ่มปริมาณวิตามินบี12 นั้นยังคงมีปริมาณหลงเหลืออยู่ ในน้ำนมถั่วเหลืองหมัก ดังนั้นในการเติมน้ำตาลลงไปเพื่อเป็นแหล่งอาหารของแบคทีเรียแลคติกจึง สามารถเติมลงไปเพียงเล็กน้อยเท่านั้นก็เพียงพอแล้วสำหรับการเจริญเติบโตและผลิตกรดแลคติกของแบคทีเรียแลกติก โดยปริมาณน้ำตาลที่เติมลงไปในความเข้มข้นที่สูงกว่านั้นกลับมีผลในการยับยั้งการเจริญของหัวเชื้อได้เนื่องจากผลของ reverse osmotic ของสารละลายและเป็นผลของ water activity ในผลิตภัณฑ์ (วราวุฒิและ รุ่งนภา 2532) จึงเป็นผลให้อัตราการสร้างกรดลดลงและมีผลทำให้ pH มีค่าสูงขึ้น นอกจากนี้ Chang and Stone (1990) ยังได้ยืนยันว่าความเข้มข้นของคาร์โบไฮเดรตในนมถั่วเหลืองมีผลต่อการผลิตของกรดของแบคทีเรียอีกทั้งในความเข้มข้นที่สูงกว่าระดับที่เหมาะสมกลับทำให้ปริมาณกรดลดลงได้เช่นกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 14 แสดงผลของน้ำตาลกลูโคส ต่อปริมาณกรดและค่า pH ในนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก

ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (ร้อยละ)	ปริมาณกรด * (ร้อยละ)	ค่า pH
0	0.094^{f}	7.09
1	1.166^{b}	3.76
2	1.324^{a}	3.67
3	1.299^{a}	3.72
4	1.094^{bc}	3.80
5	1.047^{cd}	3.83
6	0.977^{de}	3.88
7	0.967^{de}	3.95
8	0.963^{de}	3.96
9	0.937^{de}	4.00
10	0.920^{e}	4.06

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 15 แสดงผลของน้ำตาลซูโครส ต่อปริมาณกรดและค่าpH ในนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก

ปริมาณน้ำตาลซูโครส (ร้อยละ)	ปริมาณกรด * (ร้อยละ)	ค่า pH
0	0.094^{e}	7.09
1	1.130^{a}	3.73
2	1.066^{ab}	3.84
3	1.028^{ab}	3.86
4	0.998^{bc}	3.90
5	0.994^{bc}	3.90
6	0.972^{bcd}	3.97
7	0.945^{bcd}	4.02
8	0.897^{cd}	4.03
9	0.861^{d}	4.07
10	0.857^{d}	4.10

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 16 แสดงผลของน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลซูโครสต่อปริมาณกรดและค่า pH ในนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก

ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลซูโครส (ร้อยละ)	ปริมาณกรด * (ร้อยละ)	ค่า pH
0	0.094[d]	7.09
1	1.040[a]	3.82
2	1.091[a]	3.79
3	1.040[a]	3.83
4	1.038[a]	3.84
5	0.912[b]	4.04
6	0.902[b]	4.06
7	0.897[b]	4.08
8	0.884[b]	4.09
9	0.844[b]	4.12
10	0.742[c]	4.18

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าปริมาณน้ำตาลที่เหมาะสมสำหรับผลิตนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก คือ น้ำตาลกลูโคสปริมาณความเข้มข้นร้อยละ 2 เป็นปริมาณที่เหมาะสมที่สุด เนื่องจากมีปริมาณกรดที่สูงที่สุด

5.2 ผลของไนโตรเจนและปริมาณที่เหมาะสมต่อการผลิตนมเปรี้ยว

แหล่งไนโตรเจนนับว่าเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญแหล่งหนึ่งที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ แหล่งไนโตรเจนที่นิยมใช้ในการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์มีหลายชนิด เช่น หางนมผง ยีสต์สกัด เปปโตน เป็นต้น

จากการทดลองพบว่า แหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุด คือ หางนมผงที่ความเข้มข้นร้อยละ 7 เป็นปริมาณที่เหมาะสมที่สุดโดยให้ค่าความเป็นกรดที่สูงที่สุดคือ ร้อยละ 1.304 ส่วนยีสต์สกัดนั้นปริมาณความเข้มข้นร้อยละ 0.1 และเปปโตนที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.2 ให้ปริมาณกรดสูงที่สุด คือ ร้อยละ 1.007 และ 1.064 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 17

จากการทดลองพบว่าแหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุดคือ หางนมผง เนื่องจากหางนมผงเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากนมโคที่ผ่านการสกัดไขมันออก และมีส่วนประกอบที่ใกล้เคียงกับนมโค จึงจัดเป็นแหล่งของโปรตีน คาร์โบไฮเดรทและ แร่ธาตุต่างๆที่สำคัญ ทำให้ได้ปริมาณกรดมากกว่าแหล่งไนโตรเจนอื่น แต่อัตราการสร้างกรดที่เพิ่มขึ้นนั้นจะมีค่าสูงสุดและลดลงตามลำดับ ถึงแม้ว่าจะมีการเพิ่มปริมาณไนโตรเจนก็ตาม เนื่องมาจากปริมาณไนโตรเจนที่เติมลงไปคือ หางนมผง ยีสต์สกัด และเปปโตน ที่มากขึ้นนั้นจะทำให้เกิดการเสียสภาพการเป็น buffering action ของของแข็งในน้ำนม ส่งผลให้เกิดการตายของแบคทีเรียแลคติกได้ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Tamaine and Deeth (1980) ซึ่งพบว่าปริมาณของ SNF (Solid non fat) ที่สูงขึ้นคือ ร้อยละ 16 ในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวนั้นมีผลทำให้ปริมาณเชื้อลดลง ค่า pH เพิ่มขึ้นและปริมาณกรดลดลงกว่าที่มีปริมาณของ SNF ที่เหมาะสมคือที่ร้อยละ 12 และจากผลการทดลองดังกล่าวยังสอดคล้องกับผลการทดลองของ กาญจนาและวราวุฒิ (2537) ในการผลิตผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวจากถั่วเหลืองที่พบว่าการใช้หางนมผงในปริมาณร้อยละ 9 ให้ปริมาณกรดสูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 17 แสดงผลของยีสต์สกัดและเปปโตน ต่อปริมาณกรดและค่า pH ในนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก

	ปริมาณความเข้มข้น (ร้อยละ)	ปริมาณกรด * (ร้อยละ)	ค่า pH
ยีสต์สกัด	0	0.881^{bc}	4.08
	0.1	0.998^{ab}	3.95
	0.2	1.007^{ab}	3.90
	0.3	0.998^{ab}	3.90
	0.4	0.948^{abc}	3.99
	0.5	0.881^{bc}	4.05
เปปโตน	0.1	0.953^{abc}	3.97
	0.2	0.973^{ab}	3.93
	0.3	1.002^{ab}	3.92
	0.4	1.025^{ab}	3.83
	0.5	1.061^{ab}	3.86

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 17 (ต่อ) แสดงผลของหางนมผงต่อปริมาณกรดและค่า pH ในนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก

ปริมาณความเข้มข้น (ร้อยละ)		ปริมาณกรด * (ร้อยละ)	ค่า pH
หางนมผง	0	0.881^{bc}	4.08
	1	0.804^{bc}	4.10
	2	0.957^{abc}	3.87
	3	0.975^{ab}	3.87
	4	0.993^{ab}	3.83
	5	1.025^{ab}	3.81
	6	1.029^{ab}	3.77
	7	1.304^{a}	3.87
	8	1.025^{ab}	3.80
	9	1.016^{ab}	3.84
	10	0.973^{abc}	3.85

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และนอกจากหางนมผงที่เติมลงไปสามารถทำให้ปริมาณกรดในน้ำนมถั่วเหลืองเพิ่มมากขึ้นและมีผลต่อกลิ่นของนมเปรี้ยวที่เกิดขึ้นด้วย นมเปรี้ยวที่เติมหางนมผงมีกลิ่นหอมของนมมากกว่า นมเปรี้ยวที่เติมยีสต์สกัดหรือเปปโตน ดังนั้นหางนมผงจึงเป็นแหล่งของไนโตรเจนที่ดีที่สุด และปริมาณที่เหมาะสมที่สุด ในการผลิตนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมักคือปริมาณร้อยละ 7.0

5.3 ผลของสารคงตัวที่เหมาะสมต่อการผลิตนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12

จากผลการทดลองพบว่า การเติมเจลาตินในปริมาณร้อยละ 0.1 ถึง 1.0 จะทำให้นมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี 12 นี้มีการแยกตัวของตะกอนลดลง โดยที่ปริมาณเจลาตินร้อยละ 0.5 จะให้นมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี 12 ที่ไม่มีการแยกตัวของตะกอน ส่วนผลของ CMC พบว่าการแยกตัวของตะกอนมีจนถึงความเข้มข้นร้อยละ 0.8 และไม่พบการแยกตัวของตะกอนที่ร้อยละ 0.9 ถึง 1.0 สำหรับการใช้สารทั้ง 2 ชนิดร่วมกันนั้นพบว่า ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0 ถึง 0.7 พบว่ามีการแยกตัวของตะกอนอยู่ ดังแสดงในตารางที่ 18 19 และ 20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 18 แสดงผลของเจลาตินต่อการแยกตัวของตะกอนและความหนืดในนมเปรี้ยวเสริม

วิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก

ปริมาณเจลาติน (ร้อยละ)	การแยกตัวของตะกอน (ปริมาตรของเวย์/ปริมาตรตัวอย่าง)	ความหนืด (centipoise)
0	0.59	9.07
0.1	0.35	11.12
0.2	0.27	13.01
0.3	0.23	14.49
0.4	0.19	16.12
0.5	0.00	21.96
0.6	0.00	23.96
0.7	0.00	24.84
0.8	0.00	26.56
0.9	0.00	28.30
1.0	0.00	30.36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 19 แสดงผลของ CMC ต่อการแยกตัวของตะกอนและความหนืดในนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก

ปริมาณ CMC (ร้อยละ)	การแยกตัวของตะกอน (ปริมาตรของเวย์/ปริมาตรของตัวอย่าง)	ความหนืด (centipoise)
0	0.59	9.07
0.1	0.53	13.86
0.2	0.50	26.17
0.3	0.43	40.54
0.4	0.38	73.93
0.5	0.30	96.11
0.6	0.25	130.85
0.7	0.23	235.49
0.8	0.10	440.28
0.9	0.00	645.98
1.0	0.00	859.21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 20 แสดงผลของเจลาตินและ CMC ต่อการแยกตัวของตะกอนและความหนืดใน นมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก

ปริมาณเจลาติน และ CMC(ร้อยละ)	การแยกตัวของตะกอน (ปริมาตรของเวย์/ปริมาตรของตัวอย่าง)	ความหนืด (centipoise)
0	0.59	9.07
0.1	0.44	12.95
0.2	0.37	23.81
0.3	0.33	30.49
0.4	0.30	51.17
0.5	0.25	73.84
0.6	0.21	93.33
0.7	0.16	115.96
0.8	0.00	144.37
0.9	0.00	231.92
1.0	0.00	398.74

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในด้านความหนืดนั้น การใช้ CMC และใช้สารทั้ง 2 ชนิดร่วมกัน ให้นมเปรี้ยวที่มีความหนืดใกล้เคียงกัน ในขณะที่เจลาตินจะให้ความหนืดที่น้อยที่สุด และให้ลักษณะของนมเปรี้ยวที่ดีกว่า คือ มีเนื้อของตะกอนที่ละเอียดเนียน เป็นเนื้อเดียวกัน ส่วนที่ใช้ CMC และใช้สารทั้ง 2 ชนิดร่วมกันนั้น ตะกอนนมเปรี้ยวที่ได้จะไม่ละเอียดเนียน เนื่องมาจาก CMC มีคุณสมบัติไม่เหมาะสมในการเป็นสารให้ความคงตัวในอาหารที่เป็นกรดหรือที่มี pH ต่ำๆ ทำให้นมเปรี้ยวที่มีการใช้ CMC และใช้สารทั้ง 2 ชนิดร่วมกันมีลักษณะปรากฏที่ไม่ดี ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ วริศชนม์ (2539) พบว่า การใช้เจลาตินความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ในการผลิตผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี 12 จากน้ำนมถั่วเหลืองจะให้ลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ดีที่สุด ซึ่งจากการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับการทดลองของ ลินจง (2540) ในการผลิตนมเปรี้ยวจากถั่วเหลืองโดยใช้เจลาตินในการผลิต ทำให้นมเปรี้ยวถั่วเหลืองนั้นมีความคงตัวของตะกอนที่ดีที่สุด

ดังนั้นปริมาณเจลาตินที่เหมาะสมในการผลิตนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมักคือ ที่ร้อยละ 0.5 ซึ่งจะนำไปใช้ในการผลิตต่อไป

6.ผลการยอมรับของผู้บริโภคทางประสาทสัมผัสที่มีต่อผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก

นำนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมักที่ได้มาผสมกับน้ำเชื่อมที่มีความหวาน 28 องศาบริกซ์ ในอัตราส่วนนมเปรี้ยวต่อน้ำเชื่อมเท่ากับ 1:1 ปรุงแต่งกลิ่นรสส้ม สตรอเบอรี่ และมะนาว ความเข้มข้นร้อยละ 0.2 ทำการทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยใช้ตัวอย่างที่แช่เย็นอุณหภูมิ 5-10 องศาเซลเซียส โดยเปรียบเทียบกับนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่ไม่ปรุงแต่งกลิ่นรส และนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมวัวกลิ่นรสส้มและสตรอเบอรี่ ให้ผู้ชิมทดสอบ ด้านกลิ่น สี รสชาติ เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวมได้ผลการทดสอบตัวแสดงในตารางที่ 21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 21 แสดงผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์และการยอมรับของผู้บริโภคต่อนมเปรี้ยวพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก

นมเปรี้ยวพร้อมดื่ม	ลักษณะคุณภาพ *				
	กลิ่น	สี	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	การยอมรับรวม
ไม่ปรุงแต่งกลิ่นรส	2.16^{d}	2.16^{d}	2.36^{d}	4.76^{b}	2.68^{d}
ปรุงแต่งกลิ่นรสส้ม	3.12^{c}	4.24^{c}	3.08^{c}	4.72^{b}	3.76^{c}
ปรุงแต่งกลิ่นรสสตรอเบอรี่	4.84^{b}	5.16^{b}	5.00^{b}	4.76^{b}	5.04^{b}
ปรุงแต่งกลิ่นรสมะนาว	4.40^{b}	5.08^{b}	3.44^{c}	4.74^{b}	3.65^{c}
ปรุงแต่งกลิ่นรสส้ม (การค้า)	6.52^{a}	6.32^{a}	6.12^{a}	5.96^{a}	6.04^{a}
ปรุงแต่งกลิ่นสตรอเบอรี่ (การค้า)	6.08^{a}	5.76^{b}	5.64^{a}	5.76^{a}	5.86^{a}

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.1ด้านกลิ่น

ผู้ชิมให้การยอมรับในกลิ่นของนมเปรี้ยวพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี 12 ที่ปรุงแต่งกลิ่นรสสตรอเบอรี่มากที่สุด แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับที่ปรุงแต่งกลิ่นด้วยรสมะนาว และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมวัวในทางการค้าและที่ปรุงแต่งกลิ่นจากรสส้มและไม่ปรุงแต่งกลิ่นรส ทั้งนี้เพราะผู้ชิมยังสามารถแยกถึงความแตกต่างของกลิ่นนมเปรี้ยวจากพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี 12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมักได้ เนื่องจากยังมีกลิ่นที่ได้จากการหมักผสมในอาหารเหลวของเชื้อราและแบคทีเรียอยู่เล็กน้อย

6.2 ด้านสี

ผู้ชิมให้การยอมรับสีของนมเปรี้ยวพร้อมดื่มที่ปรุงแต่งกลิ่นรสสตรอเบอรี่มากที่สุด ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันกับนมเปรี้ยวพร้อมดื่มในทางการค้าและที่ปรุงแต่งกลิ่นรสมะนาว ส่วนนมเปรี้ยวพร้อมดื่มที่ปรุงแต่งกลิ่นรสส้มและที่ไม่ปรุงแต่งกลิ่นรส มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับนมเปรี้ยวพร้อมดื่มในทางการค้า

6.3 รสชาติ

ผู้ชิมให้การยอมรับในรสชาติของนมเปรี้ยวพร้อมดื่มที่ปรุงแต่งกลิ่นรสสตรอเบอรี่มากที่สุด โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับนมเปรี้ยวพร้อมดื่มที่ปรุงแต่งกลิ่นรสมะนาว รสส้มและที่ไม่ปรุงแต่งกลิ่นรส

6.4 เนื้อสัมผัส

พบว่านมเปรี้ยวพร้อมดื่มที่ปรุงแต่งกลิ่นรสทั้ง 3 ตัวอย่างและที่ไม่ปรุงแต่งกลิ่นรส ให้ลักษณะเนื้อสัมผัสที่ไม่แตกต่างกัน แต่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับนมเปรี้ยวพร้อมดื่มทางการค้า ซึ่งความแตกต่างที่เกิดขึ้นอาจเนื่องจากในขบวนการผลิตยังผ่านการโฮโมจิไนซ์ไม่เพียงพอ (ใช้ความดันที่ต่ำ) ทำให้เกิดความแตกต่างกันของลักษณะเนื้อสัมผัสกับนมเปรี้ยวพร้อมดื่มในทางการค้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.5 การยอมรับรวม

ผู้ชิมให้การยอมรับกลิ่นรสสตรอเบอรี่มากที่สุด โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับที่ปรุงแต่งกลิ่นรสมะนาวและส้ม และไม่ยอมรับในนมเปรี้ยวที่ไม่ปรุงแต่งกลิ่นรส แต่อย่างไรก็ตามนมเปรี้ยวทั้งที่ปรุงแต่งกลิ่นรสสตรอเบอรี่ มะนาว และส้ม ให้ผลการยอมรับที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับนมเปรี้ยวพร้อมดื่มในทางการค้า

จากการประเมินผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสสรุปได้ว่า นมเปรี้ยวพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี 12 จากนมถั่วเหลืองหมักที่ปรุงแต่งกลิ่นรสสตอเบอรี่ได้รับการยอมรับมากที่สุด โดยเฉพาะในด้านสีและรสชาติ รองลงมาได้แก่ กลิ่นรสมะนาวที่ผู้บริโภคให้การยอมรับรวมเท่ากับที่ปรุงแต่งกลิ่นรสส้ม โดยผลการยอมรับโดยรวมในนมเปรี้ยวพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี 12 ทั้ง 3 กลิ่นรสนั้นยังถือว่าไม่ได้รับการยอมรับเท่ากับนมเปรี้ยวพร้อมดื่มในทางการค้า แต่สามารถยอบรับได้ระดับหนึ่ง

7.ผลการวิเคราะห์ทางเคมี

จากผลการวิเคราะห์ทางเคมีตามตารางที่ 22 พบว่าผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองหมักเสริมวิตามินบี12 ที่ปรุงแต่งกลิ่นรสสตรอเบอรี่ กลิ่นรสมะนาว กลิ่นรสส้ม และไม่ปรุงแต่งกลิ่นรสมีปริมาณของแข็ง โปรตีน และวิตามินบี12 ที่สูงกว่านมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมวัวในทางการค้า โดยนมเปรี้ยวพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี12 ปรุงแต่งกลิ่นรสสตรอเบอรี่ มีปริมาณของแข็ง ร้อยละ 22.15 ปริมาณวิตามินบี12 เท่ากับ 14.46 ng/ 100 ml

จากผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างของปริมาณวิตามินบี12 ที่พบในนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองหมักเสริมวิตามินบี12 แต่ไม่พบในนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมวัวในทางการค้า โดยปริมาณของวิตามินบี 12 ที่พบในนมเปรี้ยวพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี 12 จากน้ำนมถั่วเหลืองทุกตัวอย่างมีในปริมาณที่มากกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 22 การเปรียบเทียบผลการวิเคราะห์ทางเคมีของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองหมักเสริมวิตามินบี12 และนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมวัวในทางการค้า

ชนิดของผลิตภัณฑ์**	ปริมาณของแข็ง* (ร้อยละ)	โปรตีน * (ร้อยละ)	วิตามินบี12 * (ng/ 100 ml)
1	22.15[a]	2.16[a]	14.46[a]
2	22.16[a]	2.17[a]	14.47[a]
3	22.15[a]	2.18[a]	14.46[a]
4	22.15[a]	2.18[a]	14.46[a]
5	20.47[b]	2.00[b]	0[b]
6	20.46[e]	2.00[b]	0[b]

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

** 1 นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองหมักเสริมวิตามินบี12 ไม่ปรุงแต่งกลิ่นรส

2 นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองหมักเสริมวิตามินบี12 ปรุงแต่งกลิ่นรสส้ม

3 นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองหมักเสริมวิตามินบี12 ปรุงแต่งกลิ่นรสสตรอเบอรี่

4 นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองหมักเสริมวิตามินบี12ปรุงแต่งกลิ่นรสมะนาว

5 นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมวัวปรุงแต่งกลิ่นรสส้ม (การค้า)

6 นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากนมวัวปรุงแต่งกลิ่นรสสตรอเบอรี่ (การค้า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8.การผลิตนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 ผงจากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก

นมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 ผง จากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก เตรียมโดยนำนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองหมักเสริมวิตามินบี12 ที่มีการปรับปรุงคุณภาพด้านสี กลิ่น รสชาติ จนเป็นที่ยอมรับจากผู้ชิมแล้วนั้นมาทำแห้งเป็นผงโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบพ่นกระจาย (Spray Dryer) ปัจจัยที่ศึกษาถึงการผลิตนั้นมีดังนี้คือ

8.1 ความสัมพันธ์ระหว่าง ความเข้มข้น ปริมาณของแข็งรวมทั้งหมดและความหนืดของนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก

ได้นำนมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองหมักเสริมวิตามินบี12 มาระเหยน้ำออกภายใต้สุญญากาศโดยใช้เครื่อง Rotary vacuum evaporator ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ได้นมเปรี้ยวพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี12 ที่มีความเข้มข้นระดับต่างๆ คือ 10 15 20 และ 25 องศาบริกซ์ วัดค่าความเข้มข้น ปริมาณของแข็งรวมทั้งหมด และความหนืดของนมเปรี้ยวพร้อมดื่มซึ่งแสดงในตารางที่ 23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 23 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้น ปริมาณของแข็งรวมทั้งหมดและความหนืดของนมเปรี้ยวพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก

ความเข้มข้น (องศาบริกซ์)	ปริมาณของแข็งรวมทั้งหมด (ร้อยละ)	ความหนืด (cps)
10	11.26	9.341x10
15	15.86	14.679×10^2
20	20.65	19.564×10^3
25	25.63	23.386×10^3

จากตารางที่ 23 จะเห็นว่าค่าความหนืดและปริมาณของแข็งทั้งหมด มีความสัมพันธ์กัน โดยค่าความหนืดที่เพิ่มขึ้นสัมพันธ์กับปริมาณของแข็งเพิ่มขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของพิมพรรณ (2526) ที่พบว่าลักษณะของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่ความเข้มข้นสูงขึ้น ลักษณะที่ได้จะมีลักษณะข้นขึ้น โดยเฉพาะเมื่อความเข้มข้นประมาณ 25 องศาบริกซ์ นมเปรี้ยวถั่วเหลืองที่ได้จะมีลักษณะข้น แต่ยังสามารถป้อนเข้าเครื่อง Spray dryer ได้ โดยไม่ติดขัดหรืออุดตัน ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Lo et al. (1968) ซึ่งได้ทดลองทำนมถั่วเหลืองเข้มข้นโดยใช้ Vacuum evaporator ที่อุณหภูมิระหว่าง 65-75 องศาเซลเซียส ปรากฏว่าเมื่อนมถั่วเหลืองมีปริมาณของแข็งรวมทั้งหมด เท่ากับร้อยละ 27 นมถั่วเหลืองจะมีลักษณะข้นเหนียว และเมื่อศึกษาถึงการเปลี่ยนแปลงของความหนืดของนมถั่วเหลืองที่ความเข้มข้นต่างๆ โดยใช้ Brookfield viscometer ในการวัดพบว่า ความเข้มข้นของนมถั่วเหลืองที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้ความหนืดมีค่าเพิ่มขึ้นด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และจากผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับการทดลองของ พิมพรรณ (2526) ที่ศึกษาถึงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของแข็ง ความเข้มข้น และความหนืดของนมถั่วเหลืองที่มีความเข้มข้น 10 15 20 และ23 องศาบริกซ์ พบว่า ความหนืดของนมถั่วเหลืองมีค่าเพิ่มขึ้นตามปริมาณของแข็งที่เพิ่มขึ้นและโดยเฉพาะเมื่อความเข้มข้นประมาณ 25 องศาบริกซ์ นมถั่วเหลืองที่ได้มีลักษณะข้นเหนียว

ดังนั้นในการเตรียมนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี 12 เข้มข้นก่อนเข้าเครื่อง Spray dryer นั้น ความเข้มข้นของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี 12 ควรอยู่ในระดับที่ไม่เกินร้อยละ 25 เพราะเมื่อความเข้มข้นสูงกว่าร้อยละ 25 นมถั่วเหลืองจะมีลักษณะข้น ทำให้ไม่สามารถป้อนเข้าเครื่อง Spray dryer ได้

8.2 ความเข้มข้นของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่เหมาะสมในการป้อนเข้าเครื่อง Spray dryer เพื่อผลิตนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ผง

ในการทดลองเพื่อหาความเข้มข้นของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่เหมาะสมในการป้อนเข้าเครื่อง Spray dryer นั้นใช้ตัวอย่างที่มีความเข้มข้น 10 15 20 และ 25 องศาบริกซ์ ซึ่งพบว่า จากตัวอย่างสามารถที่ป้อนเข้าเครื่องได้อย่างต่อเนื่องไม่มีการอุดตันหรือติดขัด โดยควบคุมอุณหภูมิลมเข้าเป็น 130 องศาเซลเซียส มีอัตราการป้อนตัวอย่างร้อยละ 5 Atomizer air pressure 5 Kg/cm^2 จากการทดลองพบว่าองค์ประกอบทางเคมีของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ผง นั้นปรากฏว่า นมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่มีความเข้มข้น 20 องศาบริกซ์ มีปริมาณผลผลิตสูงสุด คือ 1.633 g/ชั่วโมง และพบว่าเมื่อความเข้มข้นของตัวอย่างเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12ผง ที่ได้นั้นมีความชื้นต่ำลง ซึ่งเนื่องมาจากในผลิตภัณฑ์นั้นมีปริมาณน้ำอยู่น้อย โดยสัมพันธ์กับค่า Bulk density ที่มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณความชื้นลดลง ส่วน ปริมาณโปรตีนพบว่าไม่มีความแตกต่างกันในทุกความเข้มข้นของนม เปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 คือ มีปริมาณโปรตีนอยู่ในช่วงร้อยละ 11.27-11.29 ดังแสดงใน ตารางที่ 24 สำหรับปริมาณความชื้นในนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 นั้น อยู่ในช่วงร้อยละ 4-5 เมื่อเปรียบเทียบกับความชื้นที่กฎหมายกำหนดคือ ไม่เกินร้อยละ 6 ของน้ำหนัก ซึ่งแสดงว่านม เปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12ผง นี้ได้มีความชื้นอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด (กระทรวง สาธารณสุข 2525)

เมื่อพิจารณาลักษณะทางกายภาพพบว่า สีของทั้ง 4 ตัวอย่างมีสีใกล้เคียงกันคือ มีสี น้ำตาลอ่อน มีค่า Bulk density อยู่ในช่วง 0.40-0.45 กรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งนับว่าอยู่ในเกณฑ์ดี เมื่อเปรียบเทียบกับ Bulk density ของนมผงซึ่งกำหนดค่าเท่ากับ 0.45-0.50 กรัมต่อมิลลิลิตร (Narkprasit 1981)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 24 แสดงผลของความเข้มข้นของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่เหมาะสมต่อองค์ประกอบทางเคมี ลักษณะทางกายภาพและปริมาณผลผลิตของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ผง ในการป้อนเข้าเครื่อง Spray dryer*

ความเข้มข้น (องศาบริกซ์)	ความชื้น (ร้อยละ)	โปรตีน (ร้อยละ)	Bulk density (g/ ml)	Colloidal Stability (นิ้วของการแยกตัว)	ปริมาณผลผลิต (g/ hr)
10	5.1826	11.29	0.40	1 5/8	1.548
15	5.0039	11.28	0.43	1 5/8	1.473
20	4.2057	11.27	0.45	1 5/8	1.633
25	4.1939	11.27	0.45	1 5/8	1.597

หมายเหตุ * สภาวะที่คงที่ของเครื่อง Spray dryer คือ

อุณหภูมิลมเข้า 130 องศาเซลเซียส

อัตราการป้อนตัวอย่างร้อยละ 5

Atomizer air pressure 5 Kg/cm^3

ส่วนค่า Colloidal stability นั้น เมื่อนำนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ผง ไปละลายน้ำและตั้งทิ้งไว้เพื่อดูความคงตัวของคอลลอยด์ ปรากฏว่ามีการแยกชั้นของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 โดยวัดระยะจากผิวหน้าของของเหลวไปจนถึงแนวการแยกชั้นได้ระยะถึง $1\frac{5}{8}$ นิ้ว นั้น เนื่องมาจากในกระบวนการทำแห้งเกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและกายภาพของโปรตีนทำให้โปรตีนสูญเสียการละลายที่มีสาเหตุหลักคือการเกิด disulfide bond และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

hydrophobic bond ของโปรตีนในนมถั่วเหลือง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Fukushima (1970)

จากการทดลองสรุปได้ว่า ความเข้มข้นของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่สามารถป้อนที่เครื่องได้คือที่ความเข้มข้น 10 15 20 และ 25 องศาบริกซ์ แต่ที่ความเข้มข้น 20 องศาบริกซ์ ให้ผลผลิตสูงกว่า คือได้ปริมาณนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12ผง 1.633 g ต่อเวลาในการผลิต 1 ชั่วโมง และสามารถป้อนเข้าเครื่องได้โดยไม่มีการอุดตันหรือติดขัดจึงเลือกความเข้มข้นของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ที่ 20 องศาบริกซ์ เพื่อทำการทดลองต่อไป

8.3 อุณหภูมิลมเข้าที่เหมาะสมในการผลิตนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ผง

จากผลการทดลองพบว่าเมื่อความเข้มข้นของตัวอย่างและอัตราการป้อนตัวอย่างมีค่าคงที่ มีอุณหภูมิลมเข้ามีผลทำให้อุณหภูมิของผลิตภัณฑ์ที่ออกจากเครื่องสูงขึ้นและทำให้ความชื้นของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ผง มีค่าลดต่ำลงดังแสดงในตารางที่ 25 ส่วนปริมาณโปรตีนนั้นไม่มีการเปลี่ยนแปลง

เมื่อพิจารณาคุณสมบัติทางกายภาพ พบว่าสีของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ผง มีสีคล้ำขึ้นเมื่ออุณหภูมิลมเข้าเพิ่มขึ้นและมีกลิ่นไหม้ โดยพบว่า ผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี 12 ผงมีสีคล้ำและกลิ่นไหม้อย่างชัดเจน เมื่อใช้อุณหภูมิลมเข้าที่ 130 และ 150 องศาเซลเซียส ถึงแม้ว่าที่อุณหภูมิลมเข้าที่ 130 และ 150 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณผลผลิตที่สูงกว่าที่ 110 องศาเซลเซียสก็ตาม ส่วนค่า colloidal stability นั้นไม่แตกต่างกันนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 คืนรูปยังคงมีการแยกชั้น ปริมาณผลผลิตพบว่ามีปริมาณสูงขึ้นตามอุณหภูมิลมเข้าที่สูงขึ้น

ดังนั้นในการทดลองนี้จึงเลือกอุณหภูมิลมเข้าที่ 110 องศาเซลเซียส ซึ่งได้ผลิตภัณฑ์ที่มีสีน้ำตาลอ่อนไม่มีกลิ่นไหม้ใช้ในการทดลองต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 25 แสดงผลของอุณหภูมิลมเข้าเครื่อง Spray dryer ต่อองค์ประกอบทางเคมี ลักษณะทางกายภาพและปริมาณผลผลิตของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ผงในการป้อนเข้าเครื่อง Spray dryer*

อุณหภูมิลมเข้า (องศาเซลเซียส)	ความชื้น (ร้อยละ)	ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)	Bulk density (g/ml)	Colloidal stability (นิ้วของการแยกตัว)	ปริมาณผลผลิต (g/hr)
110	4.821	11.29	0.43	1 ½	1.458
130	4.536	11.29	0.45	1 ½	1.461
150	4.175	11.27	0.47	1 5/8	1.495

หมายเหตุ * สภาวะที่คงที่ของเครื่อง Spray dryer คือ

อัตราการป้อนตัวอย่างร้อยละ 5

Atomizer air pressure 5 Kg/cm^3

8.4 อิทธิพลของโซเดียมไบซัลไฟต์ที่มีต่อคุณภาพของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองผง เมื่อเติมลงในนมเปรี้ยว

จากผลการทดลองพบว่า ปริมาณโซเดียมไบซัลไฟต์ที่เติมลงไปในนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ก่อนเข้าเครื่องอบแห้งนั้น มีผลต่อการละลายคืนสู่สภาพเดิมของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองผง คือ ปริมาณโซเดียมไบซัลไฟต์ที่เติมนั้นทำให้ความคงตัวของคอลลอยด์มีความคงตัวดีขึ้น คือมีการแยกตัวของตะกอนน้อยลงโดยที่ปริมาณร้อยละ 0.05 ให้ความคงตัวของคอลลอยด์ที่ดีที่สุด ทั้งนี้เพราะว่าในระหว่างการทำแห้งนั้นโปรตีนในนมเปรี้ยวถั่วเหลืองจะเกิด disulfide bond ทำให้การละลายไม่ดีและโซเดียมไบซัลไฟต์ที่เติมลงไปนั้นมีคุณสมบัติเป็น disulfide-splitting agent ดังนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเติมโซเดียมไบซัลไฟต์ลงในนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ก่อนการทำแห้งจึงทำให้มีการละลายดีขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของพิมพรรณ (2526) ที่ทำการทดลองเติมโซเดียมไบซัลไฟต์ลงในนมถั่วเหลืองก่อนเข้าเครื่อง Spray dryer พบว่ามีผลทำให้ความคงตัวของคอลลอยด์ดีขึ้นโดยที่ปริมาณร้อยละ 0.05 ให้ผลดีที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 26

ตารางที่ 26 แสดงผลของโซเดียมไบซัลไฟต์ต่อองค์ประกอบทางเคมี ลักษณะทางกายภาพและปริมาณผลผลิตของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ผง *

ปริมาณโซเดียมไบซัลไฟต์ (ร้อยละ)	ความชื้น (ร้อยละ)	โปรตีน (ร้อยละ)	Bulk density (g/ml)	Colloidal stability (นิ้วของการแยกตัว)	ปริมาณผลผลิต (g/hr)
0.01	4.834	11.28	0.45	1 1/2	1.442
0.03	4.839	11.27	0.45	1.0	1.445
0.05	4.828	11.26	0.45	5/8	1.450

หมายเหตุ * สภาวะที่คงที่ของเครื่อง Spray dryer คือ

อุณหภูมิลมเข้า 110 องศาเซลเซียส

อัตราการป้อนตัวอย่างร้อยละ 5

Atomizer air pressure 5 Kg/cm^3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งจากตารางที่ 26 นี้ ผลในด้านปริมาณผลผลิต ปริมาณโปรตีน ปริมาณความชื้น และ Bulk density ของผลิตภัณฑ์ที่มีการเติมโซเดียมไบซัลไฟต์ในปริมาณต่างๆ นั้นไม่มีความแตกต่างกัน ซึ่งปริมาณ โซเดียมไบซัลไฟต์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.05 มีค่า Colloidal stability ต่ำที่สุดคือ 5/8 นิ้วของการแยกตัว

8.5อิทธิพลของไตรโซเดียมฟอสเฟต ต่อการผลิตนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ผง

จากตารางที่ 27 พบว่าการเติมไตรโซเดียมฟอสเฟตมีผลทำให้นมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ผง เมื่อนำมาคืนรูปแล้วมีการแยกตัวของตะกอนน้อยลง หรือมีค่า Colloidal stability ดีขึ้น โดยที่ความเข้มข้นของไตรโซเดียมฟอสเฟตที่ร้อยละ 0.2 ให้ค่า Colloidal stability ต่ำสุดคือ 1.0 ทั้งนี้เนื่องจากเกลือฟอสเฟตมีคุณสมบัติในการทำให้เกิดการกระจายตัวของส่วนประกอบที่ไม่ละลายน้ำให้มีการละลายที่ดีขึ้นและช่วยเป็น protein stabilizer ด้วย ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ พิมพรรณ (2526)

ส่วนผลในด้านปริมาณความชื้น ปริมาณโปรตีน ผลผลิต และค่า Bulk density ของผลิตภัณฑ์ที่มีการเติมไตรโซเดียมฟอสเฟตนั้นไม่มีความแตกต่างกัน สำหรับปริมาณของไตรโซเดียมฟอสเฟตที่ร้อยละ 0.2 ให้ผลิตภัณฑ์ที่มีความคงตัวของคอลลอยด์ที่ดีที่สุดคือ 1.0 นิ้วของการแยกตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 27 แสดงผลของไตรโซเดียมฟอสเฟตต่อองค์ประกอบทางเคมี ลักษณะทางกายภาพและปริมาณผลผลิตของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ผง *

ปริมาณไตรโซเดียมฟอสเฟต (ร้อยละ)	ความชื้น (ร้อยละ)	โปรตีน (ร้อยละ)	Bulk density (g/ml)	Colloidal stability (นิ้วของการแยกตัว)	ปริมาณผลผลิต (g/hr)
0.05	4.821	11.28	0.45	11/2	1.446
0.1	4.835	11.28	0.45	11/2	1.457
0.2	4.828	11.28	0.45	1.0	1.437

หมายเหตุ * สภาวะที่คงที่ของเครื่อง Spray dryer คือ

อุณหภูมิลมเข้า 130 องศาเซลเซียส

อัตราการป้อนตัวอย่างร้อยละ 5

Atomizer air pressure 5 Kg/cm^3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8.6 สภาวะการเก็บรักษานมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ผง

ในการศึกษาสภาวะการเก็บรักษานมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ผงที่จะศึกษาโดยทำการเก็บรักษานมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ผงนี้ในภาชนะบรรจุ 2 ชนิดคือ ถุงพลาสติกโพลีเอทีลีน (PE) และถุงอลูมิเนียมเคลือบพลาสติก (Al-foil/PE) เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง วิเคราะห์ถึง Solubility index และการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ทุกเดือนเป็นเวลา 0- 4 เดือน

จากผลการทดลองพบว่าค่า Solubility index ของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ผงที่เก็บรักษาในถุงพลาสติก PE มีค่า Solubility index เพิ่มขึ้น เมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษาเพิ่มมากขึ้น ทั้งนี้เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องดังแสดงในตารางที่ 28 และ 29

ค่า Solubility index ของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี 12 ผง นั้นที่เก็บในถุงพลาสติก PE มีค่าเพิ่มขึ้นในเดือนแรก ซึ่งแสดงว่าการละลายของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี 12 มีค่าลดลง และในเดือนที่ 2 เพิ่มขึ้นเป็น 100 มิลลิลิตร ซึ่งเป็นค่าที่สูง และในเดือนที่ 3 เริ่มมีการจับตัวกันเป็นก้อน เนื่องมาจากความชื้นสามารถผ่านเข้าออกภาชนะพลาสติก PE ได้ ส่วนที่บรรจุในถุง Al-foil/PE พบว่า ใน 2 เดือนแรกไม่พบการเปลี่ยนแปลง แต่เมื่อถึงเดือนที่ 3 พบการเปลี่ยนแปลงมีการเปลี่ยนแปลงโดยมีค่า solubility index เพิ่มขึ้นเป็น 82 มิลลิลิตร และพบว่าสามารถเก็บได้นานขึ้น ความสามารถในการละลายของผลิตภัณฑ์นั้นมีค่าลดลงจากค่า Solubility index ที่เพิ่มขึ้น

แต่อย่างไรก็ดี ทั้งการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี 12 ผง ในถุงพลาสติก PE และถุง Al-foil/PE พบว่า มีค่า Solubility index ที่สูงมาก โดยสูงกว่ามาตรฐานในนมโคชนิดผงว่าไม่ควรมีค่า Solubility index สูงเกินกว่า 1 มิลลิลิตร ทั้งนี้เนื่องมาจากนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี 12 ที่นำมาทำเป็นนมเปรี้ยวผงนี้ได้มีกระบวนการผลิตที่เป็นผลทำให้โปรตีนที่มีอยู่ในนมเกิดการเสื่อมสภาพและเปลี่ยนแปลงไปแล้ว ทำให้มีความสามารถในการละลายลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 28 แสดงผลการเก็บรักษาต่อค่า Solubility index และลักษณะปรากฏของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี 12 ผง ในภาชนะบรรจุถุงพลาสติก PE ที่อุณหภูมิห้อง

ระยะเวลาการเก็บรักษา (เดือน)	ค่า Solubility index (มล.)	ลักษณะปรากฏ
0	79	เป็นผง
1	83	เป็นผง
2	100	มีการจับตัวเป็นก้อน
3	150	มีการจับตัวเป็นก้อนมาก
4	200	มีการจับตัวเป็นก้อนมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 29 แสดงผลการเก็บรักษาต่อค่า Solubility index และลักษณะปรากฏของนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี 12 ผง ในภาชนะถุง Al-foil / PE ที่อุณหภูมิห้อง

ระยะเวลาการเก็บรักษา (เดือน)	ค่า Solubility index (มล.)	ลักษณะปรากฏ
0	79	เป็นผงไม่มีการจับตัวเป็นก้อน
1	79	เป็นผงไม่มีการจับตัวเป็นก้อน
2	79	เป็นผงไม่มีการจับตัวเป็นก้อน
3	82	เป็นผงไม่มีการจับตัวเป็นก้อน
4	83	เป็นผงไม่มีการจับตัวเป็นก้อน

จากผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นและการยอมรับรวม โดยการนำนมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี 12 ผง มาคืนรูปโดยใช้อัตราส่วนนมเปรี้ยวผงต่อน้ำ 2 ช้อนชาต่อ 100 มล. ซึ่งพบว่านมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี 12 ผง ที่เก็บในถุงพลาสติก PE นั้นเมื่อระยะเวลาในการเก็บรักษานานขึ้น ผู้ชิมจะให้คะแนนการยอมรับด้านกลิ่นและการยอมรับรวมลดลง โดยที่ระยะเวลาในการเก็บนาน 2 เดือน ซึ่งผลิตภัณฑ์นั้นเริ่มมีการยอมรับน้อยกว่าที่เก็บรักษาที่ 0 – 1 เดือน โดยคะแนนการยอมรับมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญดังแสดงในตารางที่ 30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนการเก็บรักษาในถุง Al-foil/PE พบว่าผู้ชิมให้คะแนนการยอมรับด้านกลิ่นและการยอมรับรวมลดลงตามระยะเวลาในการเก็บที่นานขึ้น แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติดังแสดงในตารางที่ 31

ตารางที่ 30 แสดงผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่น และการยอมรับรวมของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี 12 ผง ที่เก็บรักษาในถุงพลาสติก PE ที่อุณหภูมิห้อง ที่ระยะเวลาในการเก็บรักษา 0-4 เดือน

ระยะเวลา (เดือน)	ลักษณะคุณภาพ	
	กลิ่น	การยอมรับรวม
0	4.84[a]	4.76[a]
1	4.60[a]	4.49[a]
2	3.52[b]	3.48[b]
3	3.16[b]	3.12[b]
4	2.68[c]	2.57[c]

หมายเหตุ * ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 31 แสดงผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นและการยอมรับรวมของผู้บริโภคผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี 12 ผง ที่เก็บรักษาในถุง AL-foil / PE ที่อุณหภูมิห้อง ที่ระยะเวลา 0-4 เดือน

ระยะเวลา (เดือน)	ลักษณะคุณภาพ *	
	กลิ่น	การยอมรับรวม
0	5.00[a]	4.98[a]
1	4.89[a]	4.76[a]
2	4.76[a]	4.74[a]
3	4.67[a]	4.63[a]
4	4.63[a]	4.59[a]

หมายเหตุ *ค่าเฉลี่ยที่กำกับด้วยตัวอักษรที่แตกต่างกันตามแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งจากผลการทดลองนี้ การเก็บรักษาผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ผงนั้น ควรที่เก็บในภาชนะบรรจุ คือ ถุง Al-foil/PE ซึ่งสามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้นานกว่า โดยที่ผลิตภัณฑ์ไม่จับตัวกันเป็นก้อน มีลักษณะปรากฏที่ดีกว่า และสอดคล้องกับการทดลองของพิมพรรณ (2526) ทั้งนี้เนื่องจากว่า ถุงAl-foil/PE นั้นจะสามารถป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำและออกซิเจนได้ดีกว่าถุง PE ทำให้ลักษณะคุณภาพของผลิตภัณฑ์มีการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการเก็บรักษาน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

1. การเตรียมสภาพถั่วเหลืองที่เหมาะสมก่อนการหมัก โดยแช่ถั่วเหลืองที่กระเทาะเปลือกออกแล้วในสารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที แล้วล้างน้ำให้สะอาด ตีปั่นกับน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส นาน 3 นาที แล้วนำไปกรองด้วยผ้าขาวบางทบ 2 ชั้น ได้น้ำนมถั่วเหลืองที่มีลักษณะปรากฏที่ดี คือมีสีขาวนวล การแยกตัวของตะกอนน้อย มีค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 7.09 ปริมาณของแข็งทั้งหมดเป็นร้อยละ 5.11

2. ปัจจัยที่เหมาะสมต่อกระบวนการหมักผสมในอาหารเหลวในการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 พบว่ากระบวนการหมักผสมในอาหารเหลวแบบพร้อมกัน (non-sequential mixed fermentation) โดยปรับสภาพน้ำนมถั่วเหลืองก่อนการหมักด้วยหางนมผงความเข้มข้นร้อยละ 9.0 และน้ำตาลความเข้มข้นร้อยละ 5.0 และทำการหมักด้วยเชื้อราผง *Rhizopus oligosporus* ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และเชื้อแบคทีเรีย *Propionibacterium shermanii* ความเข้มข้นร้อยละ 3.0 บ่มที่ 35 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ได้น้ำนมถั่วเหลืองหมักเสริมวิตามินบี12 ที่มีปริมาณวิตามินบี12 สูงที่สุด คือ 30.95 ng/100 ml

3. การเปลี่ยนแปลงของน้ำนมถั่วเหลืองหลังการหมักคือมีปริมาณวิตามินบี12 เพิ่มมากขึ้น และปริมาณเอนไซม์ Lipoxygenase ลดลงไม่ว่าทำการหมักผสมในอาหารเหลวแบบ sequential หรือแบบ non-sequential เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำนมถั่วเหลืองเริ่มต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การผลิตนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก โดยทำการหมักน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 ด้วยเชื้อแบคทีเรียแลคติกผสมของ *Streptococcus thermophilus* และ *Lactobacillus bulgaricus* ในปริมาณร้อยละ 5.0 บ่มที่ 43 องศาเซลเซียส สรุปได้ว่า

4.1 ปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่เหมาะสมในการผลิตคือ น้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นร้อยละ 2.0 ทำให้นมเปรี้ยวมีปริมาณกรดสูงสุดเท่ากับร้อยละ 1.324

4.2 ปริมาณไนโตรเจนที่เหมาะสมในการผลิตคือ หางนมผงในปริมาณร้อยละ 7.0 ทำให้นมเปรี้ยวถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี12 มีปริมาณกรดสูงที่สุด

4.3 สารให้ความคงตัวที่เหมาะสมในการผลิตคือ อเจาติน ในปริมาณร้อยละ 0.5 ให้นมเปรี้ยวที่มีลักษณะของตะกอนโปรตีนที่ดี มีการแยกตัวของตะกอนน้อย และมีปริมาณเวย์น้อยที่สุด

5. ผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมักที่ปรุงแต่งกลิ่นรสสตรอเบอรี่ผู้บริโภคให้การยอมรับมากที่สุด รองลงมาคือกลิ่นรสมะนาวและส้มตามลำดับ

6. ลักษณะคุณภาพทางเคมีของผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมักเมื่อเปรียบเทียบกับนมเปรี้ยวทางการค้า พบว่าผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมักมีปริมาณวิตามินบี12 มากกว่านมเปรี้ยวพร้อมดื่มทางการค้า ส่วนปริมาณโปรตีนนั้นมีค่าไม่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. การผลิตนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 ผงจากน้ำนมถั่วเหลืองสรุปได้ว่า

7.1 ความเข้มข้นหรือปริมาณของแข็งที่เพิ่มขึ้นในผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี12 จากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก มีผลทำให้ความหนืดมีค่าเพิ่มขึ้นด้วย

7.2 ความเข้มข้นที่เหมาะสมในการป้อนตัวอย่างเข้าเครื่อง Spray dryer ที่ 20 องศาบริกซ์ เป็นความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดในการป้อนเข้าเครื่อง Spray dryer โดยการป้อนตัวอย่างสะดวก ไม่มีการอุดตันหรือติดขัด

7.3 อุณหภูมิลมเข้าที่เหมาะสม คือที่ 110 องศาเซลเซียส โดยมีการกำหนดสภาวะที่คงที่ของเครื่อง คือ มีอัตราการป้อนตัวอย่างร้อยละ 5.0 Atomizer air pressure 5 Kg/cm^3

7.4 ความเข้มข้นของโซเดียมไบซัลไฟท์ร้อยละ 0.05 ที่เหมาะสมทำให้นมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 ผงที่ได้จากน้ำนมถั่วเหลืองหมัก มีค่า Colloidal stability ที่เหมาะสมที่สุด

7.5 ความเข้มข้นของไตรโซเดียมฟอสเฟตร้อยละ 0.2 ให้ค่า Colloidal stability ที่ต่ำที่สุด แสดงว่านมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 ผงที่ได้นั้นมีความสามารถในการละลายที่ดี

7.6 การเก็บรักษานมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12 ผง ในภาชนะบรรจุคือ ถุง Al-foil/PE ที่อุณหภูมิห้อง ให้ลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ดี ไม่มีการจับตัวเป็นก้อน เก็บรักษาได้นานตลอดระยะเวลาที่ศึกษา 4 เดือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ

1. ในการผลิตนมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12ผงนั้น เมื่อนำผลิตภัณฑ์มาคืนรูปได้นมเปรี้ยวเสริมวิตามินบี12คืนรูป ที่มีกลิ่นรสของกรดแลคติกน้อยลงไป อาจเนื่องมาจากผลกระทบจากกระบวนการผลิต ดังนั้นควรมีการทดลองศึกษาถึงการเติมหรือเพิ่มปริมาณกรดแลคติกก่อนที่จะนำไปทำแห้ง

2. ในการผลิตนมเปรี้ยวผงนั้น พบว่าการใช้อุณหภูมิลมเข้าที่ต่ำทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีสีสวย ไม่มีกลิ่นไหม้ แต่ถึงแม้ว่าจะใช้อุณหภูมิลมเข้าที่ต่ำแล้วแต่ทำให้ผลิตภัณฑ์ยังคงมีสีคล้ำอยู่เล็กน้อย นั้นอาจเป็นเพราะในผลิตภัณฑ์นั้นมีน้ำตาลอยู่ ซึ่งทำให้เกิดการไหม้ได้ง่าย จึงควรมีการศึกษาการผลิตนมเปรี้ยวผงที่มีปริมาณน้ำตาลน้อยๆ และมีการเติมน้ำตาลภายหลังการคืนรูปทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะปรากฏที่ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กาญจนา นิลนนท์ และ วราวุฒิ ครูส่ง. นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากถั่วเหลือง การประชุมสัมมนาแลคติกแอสิดแบคทีเรียในอุตสาหกรรมไทย ครั้งที่ 2, 27-29 ตุลาคม 2537, คณะอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2537.

ทศพร ยศสมบัติ, "การกำจัดกลิ่นถั่วเหลืองเพื่อทำผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มหมัก." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2527.

นภา โล่ห์ทอง. กล้าเชื้ออาหารหมักและเทคโนโลยีการผลิต. กรุงเทพฯ : ฟันนี่พับบลิชชิ่ง, 2535.

มัณฑนา ร่วมรักษ์ วิภา คำดี และทัศนีย์ ลิ้มสุวรรณ. "ผลของวิธีการผลิตต่อคุณภาพของน้ำนมถั่วเหลือง." วารสารอาหาร ปีที่1, ฉบับที่ 2 (2521) : 59.

ปรียา วิบูลย์เศรษฐ์. จุลชีววิทยาของการผลิตภัณฑ์เกษตร. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2525.

พรพรรณ อภิรักษ์ติวงศ์, "การศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการผลิตวิตามินบี 12 ของ *Propionibacterium freudenreichii* sub *shermanii*." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาจุลชีววิทยา บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2519.

พิมพรรณ รัตนพฤกษานนท์, "การศึกษาการผลิตนมถั่วเหลืองผงโดยวิธีอบแห้งแบบพ่นกระจาย."วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเคมีเทคนิค บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2526

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วราวุฒิ ครูส่ง และ รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม. กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์, 2532.

วริศชนม์ นิลนนท์, "นมเปรี้ยวพร้อมดื่มเสริมวิตามินบี12." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, 2539.

วิเชียร วรพุทธพร, "ศึกษาการทำวุ้นเส้นและซ่าหริ่มจากแป้งถั่วมะแฮะพันธุ์ต่างๆ." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2525.

สาธารณสุข. กระทรวง . ประกาศกระทรวงสาธารณสุขเรื่อง น้ำนมถั่วเหลืองในภาชนะปิดสนิท ฉบับที่ 70, 2525.

สุจินดา สุวรรณกิจ. "การผลิตเทมเป้ถั่วลิสงระดับอุตสาหกรรมในครัวเรือน." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2534.

สุชาติ ภูษณะดิลก และ ลูกจันทน์ ภัครัชพันธุ์. การกำจัดกลิ่นถั่วในน้ำนมถั่วเหลือง. รายงานการประชุมวิชาการทางการเกษตร พ.ศ. 2525 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2525.

สุวิทย์ ตรีกุล. กรดโฟลิคและวิตามินบี 12. กรุงเทพฯ : อมรการพิมพ์, 2525.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Angeles, A. G. and E. H. Marth. "Growth and activity of lactic acid bacteria in soymilk. I Growth and acid production." J. Milk Food Technol. 34 (1971) : 30.

AOAC. Official method of analysis. 12th ed. Association of Analytical Chemists. Washington, DC, 1975.

AOAC. Official method of analysis. 14th ed. Association of Analytical Chemists. Virginia, 1984.

Arai, S., O. Koyanagi and M. Fujimaki. "Studies on flavor components in soybean." Part 4. Volatile neutral compound. Agri. Biol. Chem. 31 (1967) : 368.

Ashraf, H.,R. Lee and H. E. Snyder. "Influence of ethanolic soaking of soybeans of flavour and lipoxygenase activity of soymilk." J. Food Science. 46 (1981): 1201.

Badenhop A. F. and L. R. Hackler. "Effects of soaking soybeans on sodium hydroxide solution as pretreatment for soy milk production." Cereal Science Today. 15 (1970) : 84.

Borhan, M., and Snyder, H.E. "Lipoxygenase destruction in whole soybeans by combinations of heating and soaking in ethanol." J. Food Sci. 44 (1979) : 586.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Caric, M. Concentration and dried dairy products. VCH Publishers., Inc., USA, 1994.

Chang, C.Y. and M.B. Stone. "Effect of total soymilk solid on acid production by selected Lactobacilli." J. Food Sci. 55 (1990) : 1643.

Early, R. Milk powder. In R.Early(ed.). The technology of dairy products. VCH Publishers, Inc., New York, 1992.

Eldridge a. G.; K. Warner and W. J. Wolf. "Alcohol treatment of soybeans and soybean protein products." Cereal Chemistry. 54 (1977) : 1229.

Escueta, E. E. and B. Julian. "Preextraction boiling of soybeans as pretreatment in soymilk preparation." Phil Agri. 61 (1977) : 104.

Fukushima, D., and Van Buren J.P. "Effect of physical and chemical processing factors on redispersibility of dried soy milk proteins." Cereal Chem. 47 (1970) : 571.

Fukushima, D., and Van Buren J.P. "Mechanism of protein insolubilization during the drying of soy milk." Role of Disulfide and Hydrophobic binds. Cereal Chem. 47 (1970) : 687.

Hang, H., H.L. Wang, C.W. Hesseltine and K.Warner. "Preparation of soybean cheese using lactic starter organism." I. General characteristic of the finished cheese. Food Technol. 21 (1967) : 95.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Heldman, D.R. Food process engineering. Connecticut : AVI Publishing Co., Inc., 1975.

Hitzman, A. W.; a. I. Nelson and L. S. Wei. "Effect of added oil on soy beverage quality." J. Food Science. 47 (1982) : 2064.

Holman, R. T.; P. O. Egwin and W. W. Christic. "Substrate specificity of soybean lipoxidase." J. Biol. Chem. 244 (1969) : 1149.

Hsich, A. L. and A. S. Huang. "Isolation and identification of objectionable volatile flavour compound in defatted soybean flour." J. Food Sci. 47 (1981) : 16.

Kanda.H.,H.L. Wang, C.W. Hesseltine and K. Warner. "Yoghurt production by lactobacillus fermentation of soybean milk." Process Biochemistry. 11 (1976) : 23.

Kim,C.S. and S.H. Shin. "Studies on preparation of a cheese-like product from soybean milk." J. Food Sci. Technol. 3 (1971) : 57.

Knipschildt,M.E. and G.G.Andersen. Drying of milk and milk products, In R.K.Robinson(ed.). Modern Dairy Techmoligy Vol. 1. 2 ed., Chapman & Hall, Great Britain. (1994) : 159-254.

Kon, samuel and r. J. Horvat. "pH adjustment control of oxidation off flavors during grinding of raw legume seeds." J. Food Sci. 35 (1970) : 343.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Krusong, W. and K. Ninlanon. Comparison effect of sucrose and lactose on acid formantion 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.

Krusong, W., B. Yongsmith and P.C. Sanchez. "Effect of pretreatment on soybeans in production of high vitamin B_{12}-tempeh by *Propionibacterium shermanii.* " Phill Agri.J. 74 (1991a) : 89-94.

Krusong, W., B. Yongsmith and P.C. Sanchez. "Influence of *Lactobacillus casei* in production of high vitaminB12-tempeh." Kasetsart J. 25 (1991b) : 458.

Krusong, W., B. Yongsmith and P.C. Sanchez. Vitamin B_{12} 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).

Lawhon, J. T.; J. Mahak and E. W. Lusas. "Co-processing : soy proteins and milk proteins with commercial ultrafiltration membranes." J. Food Sci. 47 (1982) : 800.

Lo, W.Y., K.J. Steinkraus, D.B. Hand, L.R. Hackler and W.F. Wilkens. "Soaking soybean before extraction as it effects chemical composition and yield of soy milk." Food Technol. 22 (1968) : 1180-1190.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Matsuoka, H.K. Sasago and M.Sekiguchi. "Manufacturing of a cheese-like product from soybean milk." J.Food Sci. Tokyo. 15 (1967) : 103.

Metwalli, N.H. and S.I. Shalabi. "The use of soybean milk in soft cheese making." J.Food Technol. 17 (1982) : 297.

Mital, B.K., R.S. Shilenberger and K.H. Steinkraus. "Alpha-galactosidase activity of Lactobacilli." Appl. Microbiol. 26 (1973) : 787.

Mital, B.K., K.H. Steinkraus and H.B. Naylor. "Growth of lactic acid bacteria in soy milks." J. Food Sci. 39 (1974) : 1018.

Mital, B.K. and K.H. Steinkraus. "Flavor acceptability of unfermented and lactic fermented soy milks." J. Milk Food Technol. 39 (1976) : 342.

Mital, B.K.,R. Singh and S. Singh. "Effect of carbohydrates and phosphate on acid production by lactic acid bacteria in soy milk." J.Food Sci. Technol. India. 14 (1977) : 182.

Mustaka, C. C. and W. J. Albrecht. "Lipoxidase deactivation to improve stability, odor and flavor of full fat soy flours." J. Am. Oil Chemist. 46 (1969) : 624.

Narkprasit, C. "Spray drying process of coconut milk." M.S. Thesis. Bangkok : Asian Institute of Technology, 1981.

Nelson. A. I.; M. P. Steinberg and L. S. Wei. "Illinois process for preparation of soymilk." J. Food Sci. 41 (1976) : 57.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nelson, A.I., Wei, L.S., and Steinberg, M.P. "Food products from whole soybeans." Soybean Digest. 31 (1971) : 32.

Noyes, R. Vitamin B12 Manufacture. New Jersey : Noyes Development Crop, 1969.

Obaidy, H. M. and A. M. Siddhigui. "Properties of broad bean lipoxygenase." J. of Food Sci. 46 (1981) : 622.

Obera, T. Basic investications on development of food from enzymatically treated soybean protein concentrated to increase use of United States soybeans in Japan. U.S. Dept. Agri., Final Tech. Report PL 480 Project UR.-AN-(40)26. 1978.

Prescott, S.C. and C.G.Dunn. Industrial microbiology. Mc Graw-Hill Book Co., Inc., New York, Toronto and London. 1959.

Peng, A. C. Ohio curd. A new food from soybeans and whey. Ohio report, Jan-Feb., 1982.

Pinthong, R., R. Macrae and J. Rothwell. "The development of soya-based yoghurt. I. Acid production by lactic acid bacteria." J. Food Technol. 15 (1980) : 647-652.

Rackis, J. J. and D. J. Sessa. Lipid-derived flavors of legume protein products. J. Am. Oil Chemist. 54 (1977) : 468.

Rainbow, R. and A.H. Rose. Biochemistry of industrial microorganism. London and New York : Academic Press, 1963.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Schroder, D.J. and H.Jackson. "Preparation and evaluation of soybean curd with reduced beany flavor." J. Food Sci. 37 (1971) : 450

Sebrell, W.H. and R.S. Harris. The vitamins chemistry, physiology, pathology, methods. London and New York : Academic Press, 1968.

Smith, A.K., and S.J. Circle. Soybeans : chemistry and technology. Volume I. Proteins. Revised 2d ed. Connecticut : AVI Publishing Company, Inc., 1978.

Surrey, K. Spectrophotometric method for determination of lipoxidase activity. Plant Physiology. 39 (1960) : 65.

Tannenbaum, S.R., V.R. Young and M.C. Archer. Food chemistry. New York : Marcel Dekker, 1985.

Tamsma, A., Kontson, A., and M.J. Pallansch. " Influence of drying techniques on some properties of non-fat dried milk." J.Dairy Sci. 50 (1967) : 1055.

Toraya, T., B. Yongsmith, S. Honda, A. Tanaka and S. Fukui. "Production of Vitamin B_{12} by a Methanol-Utilizing Bacterium" J. Ferment Tech. 54 (1976) : 102-108.

Varnam, A.H. and J.P. Sutherland. Milk and milk products. Champman & hall. London. 1994

Vijayalaksami, K. and M. L. Vaidelhi. Nutritional quality of tofu from soy milk and blends of soymilk, sunflower seed milk and skimmilk. Nutrition Reports International. 25(3) (1982) : 519.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Wang, H.L., L. Kraidej, and C.W. Hesseltine. Lactic fermentation of soybean milk. J. Milk Food Technol. 37 (1974) : 71-73.

Wang, H. L. and H. Kanda. Yoghurt production by lactobacillus fermentation of soybean milk. Process Biochemistry. 11 (1976) : 23.

Wilkens, W.F.,Mattick, L.R., and Hand, D.B. "Effect of processing method on oxidative off-flavors of soybean milk." Food Technol. 21 (1967) : 1630.

Yamanaka, Y. and N. Furukawa. "Studies on utilization of soybean protein for food manufacturing." In. Influence of soymilk added to skim milk on the acidity and the hardness of curd produced by lactic bacteria for dairy use. J. Food Sci. Technol. Tokyo. 17 (1970) : 456.

Yamanaka, Y., O. Okamura and Y. Hasegawa. Method of preparing a sour milk beverage. U.S. Patent 3,535,177. October, 20. 1970.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์ทางเคมี

1. การวิเคราะห์หาปริมาณของแข็ง (AOAC 1984)

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างประมาณ 2.5-3 กรัม ใส่ลงในภาชนะอลูมิเนียมที่ผ่านการอบจนน้ำหนักคงที่แล้ว

2. นำไปอบต่อในตู้อบที่อุณหภูมิ 98-100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

3. ทำให้เย็นใน dessicator

4. ชั่งน้ำหนัก moisture can หลังอบแล้ว

$$\text{ปริมาณของแข็ง(ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างและภาชนะบรรจุหลังอบ - น้ำหนักภาชนะบรรจุ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

2. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC 1984)

ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 2-5 กรัม โดยทราบน้ำหนักตัวอย่างที่แน่นอน ใส่ลงในถ้วยกระเบื้องทนไฟที่ทราบน้ำหนักแน่นอน นำไปเผาจนกระทั่งเถ้าเป็นสีขาว (ประมาณ 3-4 ชั่วโมงเป็นอย่างต่ำ) นำออกมาทิ้งให้เย็นใน dessicator ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของสารที่เหลือเป็นน้ำหนักของแร่ธาตุหรือเถ้า นำมาคำนวณเป็นร้อยละของเถ้าต่อไป

$$\text{ปริมาณเถ้า(ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักของเถ้า} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.การวิเคราะห์หาปริมาณกรด (AOAC 1984)

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

$$\text{ปริมาณกรด(ร้อยละ)} = \frac{\text{มิลลิลิตรของ NaOH x N ของNaOH x MWของกรด x 100}}{1000 \times 5}$$

4. วิเคราะห์โปรตีนแบบ Buchi-Kjeldahl-systems (AOAC 1975)

สารเคมี

1. กรดซัลฟุริกเข้มข้น
2. กรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 2
3. กรดไฮโดรคลอริก 0.01 นอร์มัล
4. โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 32
5. Catalyst :

   ผสมซีลีเนียมไดออกไซด์ (SeO_2) 2.5 กรัม โปรตัสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) 100 กรัม และคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4 5H_2O$) 20 กรัมเข้าด้วยกัน
6. อินดิเคเตอร์ผสม

   ก. เตรียม Bromo cresol green ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ใน แอลกอฮอล์ ความเข้มข้นร้อยละ 95 และ Methyl red ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ใน แอลกอฮอล์ ความเข้มข้นร้อยละ 95

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีวิเคราะห์

1. ปีเปตตัวอย่าง 2 มิลลิลิตร ลงใน digestion vessels

2. เติม catalyst 5 กรัม กรดซัลฟุริกเข้มข้น 15 มิลลิลิตร และ glass beads

3. นำ digestion vessels ตั้งในชุดย่อยจนได้สารละลายสีฟ้า

4. เทสารละลายทั้งหมดลงในบีกเกอร์แล้วนำไปใส่ในเครื่องกลั่นโปรตีน (Buchi) เติมน้ำให้ได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร แล้วเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 32 ปริมาณ 50 มิลลิลิตร ทำการกลั่นโดยตั้งเวลาไว้ประมาณ 4-5 นาที เก็บก๊าซแอมโมเนียที่ได้ในสารละลายกรดบอริก ความเข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาณ 100 มิลลิลิตร ที่มีอินดิเคเตอร์ผสมอยู่ 2-3 หยด ในฟลาสก์ลูกชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

5. นำส่วนที่กลั่นได้ไปไตเตรทกับกรดไฮโดรคลอริก 0.01 นอร์มัลจนกระทั่งสีน้ำเงินเปลี่ยนเป็นสีใสหรือไม่มีสี

$$\text{ปริมาณโปรตีน(ร้อยละ)} = \frac{\text{N.HCl} \times \text{ml.HCl} \times 14 \times 6.25 \times 100}{\text{ml ของ ตัวอย่าง} \times 1000}$$

5. วิธีวิเคราะห์หาแอลฟ่า-อะมิโนไนโตรเจน (AOAC 1975)

5.1 การวิเคราะห์หาฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจน

สารเคมี

1.สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์

2.สารละลายฟอร์มัลดีไฮด์ ที่มี pH 9 (ปรับด้วย NaOH ความเข้มข้น 0.1 M)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีวิเคราะห์

1.นำตัวอย่างมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วนตัวอย่างต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 10

2. ปิเปตตัวอย่างมา 10 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้เป็น 7 ด้วย NaOH ความเข้มข้น 0.1 M

3. เติมสารละลายฟอร์มัลดีไฮด์ 10 มิลลิลิตร

4. ไตเตรทด้วยสารละลาย NaOH ความเข้มข้น 0.1 M จนได้ pH 9

การคำนวณ

$$X = 14YM$$

X คือ ปริมาณของฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจนในตัวอย่าง 1 ลิตร หน่วยเป็นกรัม

Y คือ ปริมาตรของNaOH ที่ใช้ในการไตเตรต หน่วยเป็นมิลลิกรัม

M คือ ความเข้มข้นของ NaOH หน่วยเป็นโมลาร์

5.2 การวิเคราะห์หาแอมโมเนียคัลไนโตรเจน

สารเคมี

1.แมกนีเซียมออกไซด์

2.กรดบอริกความเข้มข้น 0.5 M (ร้อยละ 4 โดยน้ำหนัก)

3.สารละลายกรดซัลฟุริกเข้มข้น 0.05 M

4.เมทธิลเรด-โบรโมครีซอลกรีนอินดิเคเตอร์(เมทธิลเรดและโบรโมครีซอลกรีนในอัตราส่วน 1 ต่อ 5) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 โดยน้ำหนัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีวิเคราะห์

1.นำตัวอย่างมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วนตัวอย่างต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 10

2.นำตัวอย่างมา 50 มิลลิลิตร ใส่ในขวด เติมแมกนีเซียมออกไซด์ 3 กรัม และน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

3.กลั่นแอมโมเนียที่เกิดขึ้นลงในขวดแก้วที่มีบอริก 50 มิลลิลิตร ผสมกับอินดิเคเตอร์ 7-8 หยด จนปริมาตรของสารละลายในขวดเหลือเพียง 1 ใน 4 ของปริมาตรเดิม

4.ไตเตรทแอมโมเนียที่กลั่นได้ด้วยกรดซัลฟุริก จนสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีเทา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณ

$$X = 5.6YM$$

X คือ ปริมาตรของแอมโมเนียคัลไนโตรเจนในตัวอย่าง 1 ลิตร หน่วยเป็นกรัม

Y คือ ปริมาตรของสารละลายกรดซัลฟูริกที่ใช้ในการไตเตรท หน่วยเป็นมิลลิลิตร

M คือ ความเข้มข้นของกรดซัลฟูริก หน่วยเป็นโมลาร์

5.3 วิธีการคำนวณแอลฟา-อะมิโนไนโตรเจน

แอลฟา-อะมิโนไนโตรเจน = ฟอร์มัลดีไฮด์ไนโตรเจน - แอมโมเนียคัลไนโตรเจน

6.วิธีวิเคราะห์หาค่า Bulk density (Tamsma et al. 1967)

โดยชั่งผงตัวอย่างหนัก 10.00 กรัม และเทลงในกระบอกตวงแบบแก้วขนาด 100 มิลลิลิตร จด ปริมาตรของผงตัวอย่าง 10.00 กรัมนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. วิธีวิเคราะห์หาค่าความคงตัวของคอลลอยด์ (Colloidal stability)
(ดัดแปลงจาก Nelson 1971)

โดยชั่งตัวอย่างผง 10.00 กรัม ใส่ลงในน้ำที่อุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส คนเป็นเวลานาน 90 วินาที จึงเทนมถั่วเหลืองลงในกระบอกตวงแก้วขนาด 100 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้โดยไม่ให้มีการสั่นสะเทือนเป็นเวลา 1 ชั่วโมง สังเกตดูว่ามีการแยกชั้นหรือไม่ วัดการแยกชั้นจากระดับผิวหน้าของของเหลวลงไปจนถึงเส้นแบ่งเขตการแยกชั้น ความลึกเป็นจำนวนนิ้ว จะชี้ให้เห็นถึงความคงตัวของคอลลอยด์ว่ามากน้อยเพียงใด

8. วิธีการหาค่าความสามารถในการละลาย (ดัดแปลงจาก พิมพรรณ 2526)

โดยแสดงออกในรูปของปริมาตรที่มีหน่วยเป็นมิลลิลิตรของการนอนก้น ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้คือ

1. ชั่งตัวอย่าง 14 กรัม และเติมตัวอย่างนี้ลงในน้ำกลั่นที่มีอุณหภูมิ 24 องศาเซลเซียส ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ซึ่งใส่อยู่ในเครื่องผสม
2. ผสมกันเป็นเวลานาน 90 วินาที
3. ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที แล้วคนด้วยแท่งแก้วและเทใส่ลงในหลอดสำหรับเหวี่ยงขนาด 50 มิลลิลิตร (ตั้งแต่ 0-10 มิลลิลิตร มีเส้นแบ่งขีดละเอียดเป็น 0.1 มิลลิลิตร) เหวี่ยงเป็นเวลา 5 นาที
4. ดูดของเหลวด้านบนอย่างระมัดระวัง จนเหลือของเหลวเหนือตะกอนประมาณ 5 มิลลิลิตร
5. เติมน้ำกลั่น 24 องศาเซลเซียส ลงไปในหลอด ใช้เส้นลวดกวนตะกอนให้กระจายเข้ากับน้ำ
6. เหวี่ยงอีกครั้งนาน 5 นาที และอ่านปริมาตรของตะกอนเป็นมิลลิลิตร

$$\text{Solubility index} = \text{ปริมาตรของตะกอนที่เหวี่ยง (มิลลิลิตร)}$$

9. วิธีการวิเคราะห์ค่าความหนืด

โดยใช้เครื่อง Brookfield viscometer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10. การหาปฏิกิริยาของเอนไซม์ Lipoxygenase (Obaidy and Siddigi 1981)

1. สารเคมี

1.1 เตรียมสารละลายsubstrate โดยละลาย Tween 20 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ด้วย Borate buffer (pK 9.0) 10 มิลลิลิตร เติมกรดลิโนลีอิก 0.5 มิลลิลิตรลงไปโดยเติมทีละหยด ผสมส่วนผสมให้เข้ากันเป็นอิมัลชั่น เติม NaOH 1 N ปริมาตร 1.3 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันอีกครั้ง จนกระทั่งได้สารละลายที่ใส จากนั้นเติม Borate buffer ลงไป 90 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรทั้งหมดให้เป็น 200 มิลลิตรด้วยน้ำกลั่น สารละลายทั้งหมดนี้มีกรดลิโนลีอิก 7.5×10^{-3} M และลิโนลีเอท และ Tween 25 ร้อยละ 0.25

1.2 นำน้ำนมถั่วเหลืองที่ผ่านการหมัก ด้วยกระบวนการหมักวิธีต่างๆ มาเจือจางด้วยน้ำกลั่น 100 เท่า จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 2,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที รินเอาของเหลวส่วนที่อยู่ด้านบนออก ใช้เป็น crude enzyme extract

2. วิธีการ

2.1 นำสารละลาย substrate มาเจือจาง 5 เท่า ด้วยน้ำกลั่น ปรับ pH ให้เป็น 7.0 ด้วยกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น ให้ออกซิเจนกับสารละลายsubstrate เป็นเวลา 2 นาที ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที ก่อนนำไปใช้ จะทำให้ substrate มีความคงตัวดี

2.2 ดูดสารละลาย inoleate substrate จากข้อ 2.1 มา 3 มิลลิลิตร ใส่ลงใน silica cell ของเครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง(Spectrophotometer) ที่เวลาเริ่มต้น (0 นาที) เติมเอนไซม์ lipoxygenase ที่เจือจางแล้วจากข้อ 1.2 ลงไป 0.1 มิลลิลิตร ผสมกันอย่างรวดเร็ว วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 234 นาโนเมตร และอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นทุกๆ 30 วินาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณ

อัตราปฏิกิริยาของเอนไซม์lipoxygenase = ΔOD/วินาที

การเตรียมบอเรตบัฟเฟอร์(pH 9.0)

สารละลาย A : ละลาย $Na_2B_4O_7 . 10H_2O$ ความเข้มข้น 0.025 โมล

สารละลาย B : สารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1M

ผสมสารละลาย A กับสารละลาย B พร้อมวัด pH ให้ได้ 9 ตามที่ต้องการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

วิธีวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

1. วิธีวิเคราะห์วิตามินบี 12 (AOAC 1975)

นำตัวอย่างที่ดีที่สุดมาวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินบี 12 โดยใช้ microbiological assay ด้วยเชื้อ *Lactobacillus leichmanii* ATCC 7830 มีรายละเอียดดังนี้

1.1 การเตรียมตัวอย่าง (sample preparation)

นำตัวอย่างมา 5 มิลลิลิตร มาเติมสารละลาย KCN - acetate buffer 45 มิลลิลิตร (KCN ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ละลายใน 0.1 M acetate buffer pH 5.5) นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที หลังจากทำให้เย็น นำส่วนใสไปวิเคราะห์วิตามินบี 12 โดยเจือจางให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสม

1.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานวิตามินบี 12

1.2.1 การเตรียมสารละลายสต๊อก (stock solution)

นำผลึกวิตามินบี 12 มา 1 มิลลิกรัม มาละลายในสารละลาย KCN - acetate buffer นำส่วนที่เตรียมได้ 1 มิลลิลิตร ไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ได้สารละลายสต๊อกซึ่งมีความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

1.2.2 การเตรียมสารละลายที่ใช้ (working solution)

นำสารละลายวิตามินบี 12 ที่ได้จากข้อ 2.1 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาตรเป็น 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร ได้สารละลาย A ซึ่งมีความเข้มข้นของวิตามินบี 12 เท่ากับ 5×10^{-2} มิลลิกรัม/มิลลิลิตร สำหรับสารละลาย B เตรียมได้จากการนำสารละลาย A ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร สารละลาย B ที่ได้ความเข้มข้น 5×10^{-5} มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

1.3 การเตรียมเชื้อ *Lactobacillus leichmanii* ATCC 7830

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

1.4 การเตรียมสารละลายเชื้อ *L. leichmanii* ATCC 7830

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำเชื้อ *L. leichmanii* ATCC 7830 ที่ได้จากข้อ 3. มาถ่ายลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว B12 assay medium USP นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง เข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15-20 นาที จากนั้นแยกสารละลายส่วนใสออกล้างส่วนที่เป็นเซลล์ของเชื้อ *L. leichmanii* ATCC 7830 ด้วยน้ำเกลือ (normal saline) ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 6 ครั้ง นำมาเจือจางในอัตราส่วน 1:1000 ใช้เป็นสารละลายเชื้อ *L. leichmanii* ATCC 7830

1.5 การวิเคราะห์วิตามินบี 12

1.5.1 การทำกราฟมาตรฐาน

นำสารละลายมาตฐาน(สารละลาย B) ปริมาตร 0 0.1 0.2 0.3 0.4 0.8 และ 1.0 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่นจนสารละลายในหลอดมีปริมาตรเท่ากับ 1.5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย B หลอดละ 1.5 มิลลิลิตร (เตรียมตัวอย่าง 3 ซ้ำ ทุกๆ ความเข้มข้น) ปิดด้วยอลูมิเนียมฟลอยด์ นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ทำให้เย็นทันทีในน้ำเย็น แล้วถ่ายเชื้อ *L. leichmanii* ATCC 7830 ที่เตรียมจากข้อ 4. หลอดละ 1 หยด ยกเว้นหลอดที่เป็น blank บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาวัดการเจริญของเชื้อโดยพิจารณาจากค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร

1.5.2 การวิเคราะห์วิตามินบี 12 ในตัวอย่าง

นำตัวอย่างที่เตรียมได้จากข้อ 1. ปริมาตร 0.2 0.5 และ 1.0 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำกลั่นจนสารละลายในหลอดมีปริมาตรเท่ากับ 1.5 มิลลิลิตร เติม B12 assay medium หลอดละ 1.5 มิลลิลิตร (เตรียมตัวอย่าง 3 ซ้ำ ทุกๆ ความเข้มข้น) ปิดด้วยอลูมิเนียมฟอยด์ นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 5 นาที ทำให้เย็นทันทีในน้ำเย็นแล้วถ่ายเชื้อ ATCC 7830 ที่เตรียมจากข้อ 4 หลอดละ 1 หยด บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำมาวัดการเจริญของเชื้อ โดยพิจารณาจากค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร

1.5.3 การคำนวณปริมาตรวิตามินบี 12

คำนวณปริมาตรวิตามินบี 12 ในตัวอย่างโดยใช้สูตร

Amount of vitamin B12 (x 10^{-5} ug/g)

$$= \frac{\text{average amount of vitamin B12}}{\text{sample weight (g)}} \times \text{dilution factor}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.

แบบประเมินผลทางประสาทสัมผัส

ผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยวพร้อมดื่มจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมวิตามินบี 12

ชื่อ.....

วันที่.....

กรุณาชิมตัวอย่างของผลิตภัณฑ์ แล้วให้คะแนนตามการยอมรับของท่านต่อคุณลักษณะด้านกลิ่น สี รสชาติ เนื้อสัมผัส และการยอมรับรวม ของตัวอย่างโดยเกณฑ์การให้คะแนนมีดังนี้

7 ชอบมากที่สุด

6 ชอบปานกลาง

5 ชอบเล็กน้อย

4 เฉยๆ

3 ไม่ชอบเล็กน้อย

2 ไม่ชอบปานกลาง

1 ไม่ชอบมากที่สุด

<u>คำแนะนำ</u> ลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ คือ มีกลิ่นถั่วหรือกลิ่นที่เกิดจากการหมักของถั่วน้อยที่สุด มีเนื้อสัมผัสที่เนียนเป็นเนื้อเดียวกัน สีและรสชาติเป็นที่ยอมรับได้

ตัวอย่าง	กลิ่น	สี	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	การยอมรับรวม

ข้อเสนอแนะ.....

.....

.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นางสาวบุณฑริกา สุมะนา เกิดวันที่ 1 พฤศจิกายน 2513 ที่จังหวัดตราด สำเร็จการศึกษาเทคโนโลยีการเกษตรบัณฑิต (ทช.บ) สาขาวิชาเทคโนโลยีและอุตสาหกรรมอาหาร จากมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ปีการศึกษา 2535 และศึกษาต่อในระดับวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ณ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในปี พ.ศ. 2537 และสำเร็จการศึกษาในปี พ.ศ. 2541

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้