การผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมในโรงงานนำร่อง

นางสาวกรศุลี รัตนปริยานุช

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2544
ISBN 974-17-0177-2
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

PRODUCTION OF CALCIUM-ENRICHED SOYBEAN MILK IN PILOT PLANT

Miss Kornsulee Ratanapariyanuch

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of Master of Science in Food Technology

Department of Food Technology

Faculty of Science

Chulalongkorn University

Academic Year 2001

ISBN 974-17-0177-2

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมในโรงงานนำร่อง
โดย	นางสาวกรศุลี รัตนปริยานุช
ภาควิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษา	รองศาสตราจารย์ ดร. สุวรรณา สุภิมารส
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	อาจารย์ มณฑาทิพย์ ยุ่นฉลาด

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

…….. รองคณบดีฝ่ายบริหาร
(รองศาสตราจารย์ ดร. พิพัฒน์ การเที่ยง) รักษาราชการแทนคณบดีคณะวิทยาศาสตร์

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

…… ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. พันธิพา จันทวัฒน์)

…….. อาจารย์ที่ปรึกษา
(รองศาสตราจารย์ ดร. สุวรรณา สุภิมารส)

…… อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม
(อาจารย์ มณฑาทิพย์ ยุ่นฉลาด)

…… กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. พัชรี ปานกุล)

…… กรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. นินนาท ชินประหัษฐ์)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

กรศุลี รัตนปริยานุช : การผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมในโรงงานนำร่อง (PRODUCTION OF CALCIUM-ENRICHED SOYBEANMILK IN PILOT PLANT) อ. ที่ปรึกษา : รศ. ดร. สุวรรณา สุภิมารส, อ. ที่ปรึกษาร่วม : อาจารย์มณฑาทิพย์ ยุ่นฉลาด, 118 หน้า. ISBN 974-17-0177-2.

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการเติมเกลือแคลเซียมลงในน้ำนมถั่วเหลือง ซึ่งไม่ทำให้เกิดเจลของโปรตีนเมื่อผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อในภาชนะบรรจุปิดสนิท จากการศึกษาผลของเกลือแคลเซียม 3 ชนิด แปรปริมาณแคลเซียมเป็น 3 ระดับ ปรับ pH เป็น 3 ระดับด้วย NaOH และ citric acid ต่อการตกตะกอนของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลายโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (STPP) อิ่มตัวให้มีความเข้มข้นสุดท้ายเป็น 1% (W/V) เมื่อผ่านการให้ความร้อนแบบพาสเจอร์ไรซ์ พบว่าอิทธิพลร่วมของปริมาณแคลเซียมและ pH มีผลต่อการตกตะกอนของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลือง ($p \leq 0.05$) โดยน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) ปริมาณแคลเซียม 120 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml และน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต (CGL) ปริมาณแคลเซียม 120 และ 140 mg ปรับ pH เป็น 8 จะมีการตกตะกอนของโปรตีนน้อยที่สุด และน้ำนมถั่วเหลืองเสริม CGL ปริมาณแคลเซียม 120 mg pH 7 จะมีการตกตะกอนของโปรตีนเพิ่มขึ้น แต่ตัวอย่างทั้งหมดไม่ผ่านการยอมรับทางประสาทสัมผัส เนื่องจากมีรสเค็ม เฝื่อน และมีสีเหลืองอมเขียว อาจเนื่องมาจากการใช้ปริมาณ STPP มากเกินไป จึงได้ทดลองปรับปริมาณ STPP ผลการทดลองพบว่าน้ำนมถั่วเหลืองที่เติม STPP 0.1% (W/V) ได้คะแนนความชอบรวมมากที่สุด ($p \leq 0.05$) จึงได้แปรปริมาณแคลเซียมที่เติมในน้ำนมถั่วเหลืองก่อนปรับ pH และให้ความร้อน เพื่อไม่ให้เกิด salting out ของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลือง เมื่อศึกษาสมบัติด้านต่าง ๆ ของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ผลิตในสภาวะที่เหมาะสมจากข้างต้นในระดับห้องปฏิบัติการและในโรงงานนำร่อง พบว่าให้ผลที่มีแนวโน้มเดียวกัน และน้ำนมถั่วเหลืองเสริม CGL ปริมาณแคลเซียม 30 mg pH 7 ได้คะแนนความชอบรวมมากที่สุด ($p \leq 0.05$) เช่นเดียวกับน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ใช้ Na_2CO_3 ปรับ pH แทน NaOH เมื่อศึกษาหาเวลาในการฆ่าเชื้อของน้ำนมถั่วเหลืองเสริม CGL ปริมาณแคลเซียม 30 mg ปรับ pH เป็น 7 ด้วย Na_2CO_3 บรรจุกระป๋องเคลือบแลกเกอร์ขนาด 202x503 พบว่าใช้เวลาฆ่าเชื้อประมาณ 16 นาที จึงได้ผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมจำนวน 130 ลิตร ในโรงงานนำร่องเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลง พบว่า น้ำนมที่ผลิตได้เกิดการตกตะกอนของโปรตีนทำให้มีความหนืดมากกว่าตัวอย่างควบคุม นอกจากนี้ยังมีสีคล้ำ มีกลิ่นและรสชาติเปลี่ยนแปลงจนไม่เป็นที่ยอมรับ

ภาควิชา..... เทคโนโลยีทางอาหาร..... ลายมือชื่อนิสิต.....

สาขาวิชา..... เทคโนโลยีทางอาหาร ..... ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....

ปีการศึกษา..2544…….. ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....

4172207723 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY
KEYWORD: SOYBEAN MILK / PROTEIN / AGGREGATION / CALCIUM / pH
KORNSULEE RATANAPARIYANUCH : PRODUCTION OF CALCIUM-ENRICHED SOYBEAN MILK IN PILOT PLANT.
THESIS ADVISOR: ASSO. PROF. SUWANNA SUBHIMAROS, Dr. Ing.
THESIS CO-ADVISOR: MONTATIP YUNCHALAD, 118 pp. ISBN 974-17-0177-2

The objective of this research was to determine the appropriate conditions for adding calcium salt in soybean milk with no gel formation after sterilization in hermitically sealed container. According to the study of the effect of 3 kinds of calcium salt, 3 levels of calcium and 3 levels of pH adjusted by NaOH and Citric acid on the aggregation of protein in soybean milk containing saturated solution of Sodium tripolyphosphate (STPP) to final concentration of 1% (W/V) after pasteurization, the result showed that the interaction of level of calcium and pH had an effect on the aggregation of protein in soybean milk ($p \leq 0.05$). Soybean milk with calcium chloride ($CaCl_2$), having 120 mg calcium/100 ml soybean milk and calcium-enriched soybean milk with calcium gluconolactate (CGL), having 120 and 140 mg calcium adjusted pH to 8 had the fewest protein aggregation and calcium-enriched soybean milk with CGL, having 120 mg calcium adjusted pH to 7 had more protein aggregation. All of them were rejected due to salty, astringent taste and greenish-yellow probably because of excessive STPP. Then the amount of STPP were adjusted and the result showed that soybean milk which STPP 0.1% (W/V) gave the best sensory quality. Calcium salts added in soybean milk before adjusting pH and heating were studied in order to determine the optimum level of calcium which could prevent the salting out of protein. The properties of calcium-enriched soybean milk produced as mentioned in the lab scale and in the pilot plant were studied. The results were the same and calcium-enriched soybean milk with CGL, having 30 mg calcium at pH 7 gave the best sensory quality. Changing of pH adjusting from NaOH to Na_2CO_3 seemed to have no effects on soybean milk properties. Thermal processing time for calcium-enriched soybean milk with CGL, having 30 mg calcium/100 ml at pH 7, in 202x503 lacquer coated can was found to be 16 minute. 130 L of calcium-enriched soybean milk was produced in pilot plant for the study of milk qualities. The protein aggregation was still found which caused the increasing of viscosity. The color, flavor and taste of milk changed accordingly and the milk was unacceptable.

Department……..FoodTechnology..…… Student's signature.....
Field of study.....Food Technology..... Advisor's signature.....
Academic Year... 2001..... Co-advisor's signature.....

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. สุวรรณา สุภิมารส อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ และ อาจารย์มณฑาทิพย์ ยุ่นฉลาด อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม เป็นอย่างสูงที่ได้กรุณาให้คำแนะนำ ข้อคิดเห็นต่าง ๆ ทางด้านวิชาการ และให้ความช่วยเหลือสนับสนุนในการทำงานวิจัยจนสำเร็จลุล่วงด้วยดี ตลอดจนช่วยตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่าง ๆ ของวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. พันธิพา จันทวัฒน์ ในฐานะประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ รองศาสตราจารย์ ดร. พัชรี ปานกุล และ รองศาสตราจารย์ ดร. นินนาท ชินประหัษฐ์ ที่ได้สละเวลาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ตลอดจนแก้ไขงานวิทยานิพนธ์จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณบัณฑิตวิทยาลัย ที่ให้การสนับสนุนเงินทุนบางส่วนในการทำวิจัย

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เจ้าหน้าที่ฝ่ายผลิต สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และ คุณปิยวรรณ ปัญญาดี เจ้าหน้าที่ศูนย์เครื่องมือกลาง จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ได้ให้ความช่วยเหลือแก่ผู้ทำวิจัย

ขอขอบคุณพี่ ๆ เพื่อน ๆ และน้อง ๆ ในภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้กำลังใจ และความช่วยเหลือในด้านต่าง ๆ เป็นอย่างดี

ท้ายสุดนี้ขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่สนับสนุนทางด้านการศึกษาและให้ความช่วยเหลือในทุก ๆ ด้าน ตลอดจนให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยเสมอมา

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย..... ง

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ..... จ

กิตติกรรมประกาศ..... ฉ

สารบัญ..... ช

สารบัญตาราง..... ญ

สารบัญภาพ..... ฐ

บทที่

1 บทนำ..... 1

2 วารสารปริทัศน์..... 2

2.1 ถั่วเหลือง..... 2

2.1.1 องค์ประกอบทางเคมีของถั่วเหลือง..... 3

2.1.1.1 ชนิดของโปรตีนในถั่วเหลือง..... 3

2.1.1.2 การละลายของโปรตีนในถั่วเหลือง..... 4

2.2 ความต้องการแคลเซียมของคน..... 5

2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิด aggregate ของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม. 8

3 อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงานวิจัย..... 16

การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ..... 22

การเสริมแคลเซียมในน้ำนมถั่วเหลือง..... 23

3.1 การผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมในระดับห้องปฏิบัติการ..... 24

3.1.1 ศึกษาผลของชนิดเกลือแคลเซียม ปริมาณแคลเซียม และ 24
pH ต่อสมบัติของน้ำนมถั่วเหลือง

3.1.2 ทดลองหาปริมาณ STPP ที่เหมาะสม..... 26

3.1.3 ศึกษาหาปริมาณแคลเซียมที่เหมาะสมสำหรับเติมใน..... 26
น้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม

3.1.4 ศึกษาสมบัติด้านต่าง ๆ ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม..... 27

3.2 การผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแบบพาสเจอร์ไรซ์ในโรงงานนำร่อง.. 28

หน้า

3.2.1 การผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแบบพาสเจอร์ไรซ์บรรจุ..... 28
ขวดแก้วในโรงงานนำร่อง
3.2.2 ศึกษาสมบัติด้านต่าง ๆ ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม..... 30
แบบพาสเจอร์ไรซ์ในโรงงานนำร่อง
3.3 การผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแบบสเตอริไลซ์ในโรงงานนำร่อง..... 31
3.3.1 ศึกษาหาเวลาในการฆ่าเชื้อน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ผลิต.... 31
ในโรงงานนำร่อง
3.3.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของน้ำนมถั่วเหลืองเสริม..... 33
แคลเซียมที่ผลิตในโรงงานนำร่อง
4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง..... 34
ผลการศึกษาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ..... 34
ผลการศึกษาการเสริมแคลเซียมในน้ำนมถั่วเหลือง..... 35
4.1 ผลการศึกษาการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมในระดับห้องปฏิบัติการ. 35
4.1.1 ผลการศึกษาผลของชนิดเกลือแคลเซียม ปริมาณแคลเซียม และ 35
pH ต่อสมบัติของน้ำนมถั่วเหลือง
4.1.2 ผลการทดลองหาปริมาณ STPP ที่เหมาะสม..... 47
4.1.3 ผลการศึกษาหาปริมาณแคลเซียมที่เหมาะสมสำหรับเติมใน..... 49
น้ำนมถั่วเหลือง
4.1.4 ผลการศึกษาสมบัติด้านต่าง ๆ ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม.. 50
4.2 ผลการศึกษาการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแบบพาสเจอร์ไรซ์..... 54
ในโรงงานนำร่อง
4.2.1 ผลการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแบบพาสเจอร์ไรซ์บรรจุ... 54
ขวดแก้วในโรงงานนำร่อง
4.2.2 ผลการศึกษาศึกษาสมบัติด้านต่าง ๆ ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริม..... 54
แคลเซียมแบบพาสเจอร์ไรซ์ในโรงงานนำร่อง
4.3 ผลการศึกษาการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแบบสเตอริไลซ์..... 62
ในโรงงานนำร่อง
4.3.1 ผลการศึกษาหาเวลาในการฆ่าเชื้อน้ำนมถั่วเหลืองเสริม..... 62
แคลเซียมที่ผลิตในโรงงานนำร่อง

หน้า

4.3.2 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของน้ำนมถั่วเหลืองเสริม..... 64
แคลเซียมที่ผลิตในโรงงานนำร่อง
5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ..... 70
รายการอ้างอิง..... 74
ภาคผนวก..... 78
ภาคผนวก ก..... 79
ภาคผนวก ข..... 87
ภาคผนวก ค..... 88
ภาคผนวก ง..... 89
ภาคผนวก จ..... 93
ภาคผนวก ฉ..... 102
ภาคผนวก ช..... 108
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์..... 119

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

4.1 องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วเหลืองผ่าซีกและน้ำนมถั่วเหลือง..... 34

4.2 การตกตะกอนของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมแลคเตต..... 36
ในตัวอย่างที่แปรปริมาณแคลเซียม และระดับ pH

4.3 การตกตะกอนของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมคลอไรด์..... 38
ในตัวอย่างที่แปรปริมาณแคลเซียม และระดับ pH

4.4 การตกตะกอนของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต..... 40
ในตัวอย่างที่แปรปริมาณแคลเซียม และระดับ pH

4.5 ปริมาณแคลเซียม (ที่ได้จากการวิเคราะห์) ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่..... 45
แปรชนิดเกลือแคลเซียม ปริมาณแคลเซียม และระดับ pH

4.6 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัว..... 46
ให้มีปริมาณ STPP 1% (W/V)

4.7 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัว..... 48
ให้มีปริมาณ STPP 0.1 0.2 0.3 และ 0.5% (W/V) ตามลำดับ

4.8 การตกตะกอนของโปรตีน ความหนืด สี ของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม..... 51
ต่าง ๆ ที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการ

4.9 ปริมาณแคลเซียม (ที่ได้จากการวิเคราะห์) ของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม... 53
ต่าง ๆ ที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการ

4.10 การตกตะกอนของโปรตีน ความหนืด สี ของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม..... 55
แบบพาสเจอร์ไรซ์ที่ผลิตในโรงงานนำร่อง

4.11 ผลการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม. 57
แบบพาสเจอร์ไรซ์ที่ผลิตในโรงงานนำร่อง

4.12 การตกตะกอนของโปรตีน ความหนืด สี ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือ..... 59
แคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml
ที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการเมื่อใช้สารปรับ pH ต่างชนิดกัน

4.13 ปริมาณแคลเซียม (ที่ได้จากการวิเคราะห์) ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียม..... 60
กลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0
ที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการเมื่อใช้สารปรับ pH ต่างชนิดกัน

หน้า

4.14 ผลการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียม... 61
กลูโคแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0
ที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการเมื่อใช้สารปรับ pH ต่างชนิดกัน
4.15 heat penetration data ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C..... 62
4.16 การตกตะกอนของโปรตีน ความหนืด สี ปริมาณแคลเซียม ปริมาณแคลเซียมอิสระ 65
และจุลินทรีย์ของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองชนิดต่าง ๆ ที่ผ่านการสเตอริไลซ์
4.17 ผลการยอมรับทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองสเตอริไลซ์ต่าง ๆ 68
จ.1 ค่าต่าง ๆ ที่ใช้ในการคำนวณหาเวลาในการฆ่าเชื้อ..... 97
จ.2 ค่า Fi ของอุณหภูมิเครื่องฆ่าเชื้อระดับต่าง ๆ..... 101
ฉ.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยการตกตะกอนของโปรตีนใน..... 102
น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมแลคเตตในตัวอย่างที่แปรปริมาณแคลเซียม
และระดับ pH
ฉ.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยการตกตะกอนของโปรตีนใน..... 102
น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมคลอไรด์ในตัวอย่างที่แปรปริมาณแคลเซียม
และระดับ pH
ฉ.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยการตกตะกอนของโปรตีนใน..... 103
น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตในตัวอย่างที่แปรปริมาณแคลเซียม
และระดับ pH
ฉ.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสของน้ำนมถั่วเหลือง. 103
ที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 1% (W/V)
ฉ.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสของน้ำนมถั่วเหลือง. 104
ที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1 0.2 0.3 และ 0.5% (W/V)
ตามลำดับ
ฉ.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยการตกตะกอนของโปรตีนของตัวอย่าง..... 104
น้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมต่าง ๆ ที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการ
ฉ.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยความหนืดของตัวอย่าง..... 105
น้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมต่าง ๆ ที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการ

หน้า

ฉ.8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยสีของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม. 105
ต่าง ๆ ที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการ

ฉ.9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยการตกตะกอนของโปรตีนของตัวอย่าง.....105
น้ำนมถั่วเหลืองเสริมแบบพาสเจอร์ไรซ์ที่ผลิตในโรงงานนำร่อง

ฉ.10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยความหนืดของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลือง..... 106
เสริมแคลเซียมแบบพาสเจอร์ไรซ์ที่ผลิตในโรงงานนำร่อง

ฉ.11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยสีของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม... 106
แบบพาสเจอร์ไรซ์ที่ผลิตในโรงงานนำร่อง

ฉ.12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสของตัวอย่าง..... 106
น้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแบบพาสเจอร์ไรซ์ที่ผลิตในโรงงานนำร่อง

ฉ.13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยการตกตะกอนของโปรตีน ความหนืด..... 107
และ สี ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม
30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการเมื่อใช้สารปรับpH
ต่างชนิดกัน

ฉ.14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสของน้ำนมถั่วเหลือง.107
เสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml
ที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการเมื่อใช้สารปรับpH ต่างชนิดกัน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญภาพ

ภาพประกอบ หน้า

2.1 ภาพขยายของเมล็ดถั่วเหลืองแสดงให้เห็นถึงองค์ประกอบภายนอก..... 2

2.2 การละลายของโปรตีนถั่วเหลืองบดที่สกัดไขมันออกที่ pH ระดับต่าง ๆ กัน..... 4

2.3 การคลายเกลียวของโมเลกุลโปรตีนเนื่องจากความร้อน..... 9

2.4 การจับกับ calcium ของโปรตีนที่ pH ต่าง ๆ..... 11

2.5 กลไกการเกิดเจลของโปรตีนถั่วเหลืองที่มี GDL หรือ $CaSO_4$..... 12

3.1 ผังภาพแสดงขั้นตอนการทำน้ำนมถั่วเหลือง..... 22

3.2 ผังภาพแสดงขั้นตอนการทำน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม..... 24

3.3 ผังภาพแสดงขั้นตอนการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแบบพาสเจอร์ไรซ์..... 29
ที่ผลิตในโรงงานนำร่อง

3.4 ผังภาพแสดงขั้นตอนการหาเวลาในการฆ่าเชื้อน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม..... 32
บรรจุกระป๋อง

4.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรส่วนใสของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือ..... 37
แคลเซียมแลคเตต ที่มีปริมาณแคลเซียมต่างกันในระดับ pH ที่ต่างกัน

4.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรส่วนใสของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียม. 39
คลอไรด์ที่มีปริมาณแคลเซียมต่างกันในระดับ pH ที่ต่างกัน

4.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรส่วนใสของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือ..... 41
แคลเซียมกลูโคโนแลคเตตที่มีปริมาณแคลเซียมต่างกันในระดับ pH ที่ต่างกัน

4.4 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรส่วนใสของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม..... 42
แต่ละชนิดที่มีปริมาณแคลเซียมต่างกันในระดับ pH ที่ต่างกัน

4.5 โครงสร้างแคลเซียมกลูโคเนตและแคลเซียมแลคเตต..... 44

4.6 ภาพการตกตะกอนของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต..... 49

4.7 น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg/..... 66
น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml เมื่อตั้งทิ้งไว้ค้างคืนในตู้เย็น

4.8 การแตกตัวของ Cystine ในสภาวะที่เป็นด่างเมื่อมีการให้ความร้อน..... 69

ก.1 กราฟมาตรฐานสารละลายแคลเซียม..... 85

จ.1 กราฟ heat penetration ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม..... 98

จ.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง log(RT-PT) และ log(RT-PT) จากสมการ..... 99
regression กับเวลา

บทที่ หน้า

จ.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า F_h/U กับ log g..... 100
ช.1 เครื่องโม่ถั่วเหลือง (Vita mix)..... 108
ช.2 pneumatic press..... 109
ช.3 เครื่อง Brookfield Viscometer (Model DV-II+ version 3.2)..... 110
ช.4 เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูงชนิดควบคุมอุณหภูมิ (ANNITA®I ALC , PM 180R)..... 110
ช.5 เครื่อง Rietz distintegrator..... 111
ช.6 เครื่อง decantor..... 112
ช.7 หม้อต้มผนัง 2 ชั้น..... 113
ช.8 เครื่อง homogenizer..... 114
ช.9 เครื่อง exhaustor..... 115
ช.10 เครื่องปิดกระป๋อง..... 116
ช.11 retort..... 117
ช.12 ผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมบรรจุกระป๋อง..... 118

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 1

บทนำ

ถั่วเหลืองเป็นพืชเศรษฐกิจของไทย ซึ่งรัฐบาลได้ส่งเสริมให้เกษตรกรปลูกเพิ่มขึ้นทุกปี เนื่องจากประชากรในประเทศเพิ่มขึ้น จึงสามารถใช้เป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญได้ เพราะมีโปรตีนสูงถึง 38.37% ทั้งยังมีราคาถูกและใช้เวลาในการเพาะปลูกรวดเร็วกว่ามากเมื่อเทียบกับเนื้อสัตว์ (สมชาย ประภาวัต และคณะ, 2525; จันทร์ธิดา ปิยสุนทราวงษ์, 2538) การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองจึงเป็นแนวทางที่น่าสนใจ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีโปรตีนสูง และมีราคาถูก เหมาะสมกับสถานะเศรษฐกิจของประชากรในประเทศซึ่งเป็นประเทศเกษตรกรรม

น้ำนมถั่วเหลืองเป็นเครื่องดื่มที่มีโปรตีนคุณภาพดีและราคาถูก (เพียงจันทร์ ชัยวนนท์, 2542) นอกจากนี้แล้วยังมีข้อได้เปรียบเมื่อเทียบกับนมวัวคือ ราคาถูกกว่า ไม่มีแลคโตสและย่อยง่าย จึงไม่มีปัญหาในเรื่อง lactose intolerance ซึ่งจะเกิดในคนที่ระบบการย่อยสูญเสียความสามารถในการผลิตแลคเตสที่จะย่อยแลคโตสในนม ทำให้ไม่เกิดการแพ้ในเด็กบางคนที่มีอาการแพ้นมวัว น้ำนมถั่วเหลืองนี้ไม่มีคอเลสเตอรอลและมีไขมันเพียง 1 ใน 3 ของไขมันในนมวัว ส่วนใหญ่อยู่ในรูปที่ไม่อิ่มตัวและมีประโยชน์ต่อสุขภาพ (Shurtleff และ Aoyagi, 1979) แต่ในน้ำนมถั่วเหลืองที่สกัดด้วยน้ำในอัตราส่วนถั่ว : น้ำเป็น 1 : 8 จะมีปริมาณแคลเซียมเพียง 1 ใน 6 ของนมวัว (เพียงจันทร์ ชัยวนนท์, 2542) ในขณะที่นมวัวมีปริมาณแคลเซียมเท่ากับ 118 mg ต่อ 100 ml (ประเสริฐ สายสิทธิ์ และคณะ, 2527) ซึ่งจะเห็นได้ว่าน้ำนมถั่วหลืองมีปริมาณแคลเซียมน้อยมากเมื่อเทียบกับความต้องการแคลเซียมในคนที่อายุมากกว่า 18 ปีซึ่งต้องการแคลเซียมประมาณ 800 mg ต่อวัน นั่นคือต้องดื่มนมวัวประมาณ 700 ml หรือต้องดื่มน้ำนมถั่วเหลืองที่สกัดด้วยน้ำในอัตราส่วน 1 : 8 ประมาณ 4 ลิตร จึงจะได้รับแคลเซียมจำนวนดังกล่าว หรือดื่มน้ำนมถั่วเหลืองที่สกัดด้วยน้ำในอัตราส่วนสูงขึ้นในปริมาณน้อยลงหรือดื่มน้ำนมถั่วเหลืองที่มีการเสริมแคลเซียมให้มีปริมาณเท่ากับนมวัว อย่างไรก็ตามการเสริมแคลเซียมในน้ำนมถั่วเหลืองจะก่อให้เกิดเจลของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองจากกลไกหลายอย่างร่วมกัน ได้แก่ ความร้อน ความเป็นกรด–ด่าง ชนิดและความเข้มข้นของแคลเซียมที่ใช้

ดังนั้นการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการเติมเกลือแคลเซียมลงในน้ำนมถั่วเหลืองซึ่งไม่ทำให้เกิดเจลของโปรตีนเมื่อผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อในภาชนะบรรจุที่ปิดสนิท จึงน่าจะเป็นอีกแนวทางหนึ่งในการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้กับน้ำนมถั่วเหลืองสำหรับผู้ที่ไม่สามารถบริโภคนมวัวและผู้สูงอายุที่ไม่สามารถบริโภคอาหารที่แข็งและมีแคลเซียมสูงเช่นปลาตัวเล็กได้

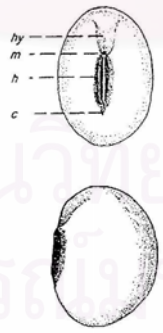
บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 ถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองเป็นพืชไร่ที่สำคัญของโลก จัดเป็นแหล่งของโปรตีนที่มีคุณภาพดีและน้ำมันบริโภคที่มีราคาถูก โดยผลผลิตทั่วโลกมีประมาณ 107 เมตริกตันในปี 1992 (Kwok และ Niranjan , 1995) ส่วนในประเทศไทยปีพ.ศ. 2540/2541 มีประมาณ 366,349 ตัน ในขณะที่ความต้องการถั่วเหลืองมีประมาณ 1.5-2.0 ล้านตัน โดยใช้ผลิตเป็นน้ำนมถั่วเหลือง 20,275 ตัน ซึ่งมีการผลิตเพิ่มมากขึ้นเป็นลำดับ (กรมเศรษฐกิจการพาณิชย์, 2542) ทั้งนี้เป็นเพราะประชาชนคำนึงถึงสุขภาพมากขึ้นและมีความรู้ความเข้าใจในคุณค่าทางโภชนาการของน้ำนมถั่วเหลืองมากขึ้น รวมทั้งสามารถหาซื้อได้ง่ายตามท้องตลาดทั่วไป จึงสามารถใช้เป็นอาหารเสริมดื่มแทนนมวัวได้ (พิชัย สราญรมย์ , 2528)

เมล็ดถั่วเหลืองมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Glycine Max* (L) Merrill ลักษณะโครงสร้างของเมล็ดโดยทั่วไปแล้วจะเป็นรูปเมล็ดกลมรี มีน้ำหนักเมล็ดในช่วง 90-200 มิลลิกรัม เส้นผ่านศูนย์กลางของเมล็ดด้านยาวอยู่ในช่วง 0.6-0.9 เซ็นติเมตร ในเมล็ดมีส่วนประกอบแยกเป็น 3 ส่วนคือ ส่วนเปลือก 7% ใบเลี้ยง 90% และส่วนของยอดอ่อน 3% ในถั่ว 1 ฝักจะมีเมล็ดถั่วประมาณ 3 เมล็ด (ประเสริฐ สายสิทธิ์ และคณะ, 2527) มีโครงสร้างเมล็ดดังภาพที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 ภาพขยายของเมล็ดถั่วเหลืองแสดงให้เห็นถึงองค์ประกอบภายนอก h คือ hilum (จมูกถั่วเหลือง) , c คือ chalaza (ช่องเล็ก ๆ ที่ส่วนปลายด้านหนึ่งของ hilum) , m คือ micropyle (ปลายอีกด้านหนึ่งของ hilum เป็นช่องเล็ก ๆ ที่เปลือกสร้างขึ้นระหว่างเมล็ดเจริญเติบโต) และ hy คือ hypocotyl (ส่วนลำต้นอ่อน)

ที่มา : Markley (1950)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2.1.1 องค์ประกอบทางเคมีของถั่วเหลือง

ถั่วเหลืองเป็นแหล่งของโปรตีนและไขมันจากพืชที่มากที่สุดแหล่งหนึ่ง (ประเสริฐ สายสิทธิ์ และคณะ, 2527) มีองค์ประกอบทางเคมีและปริมาณสารอาหารซึ่ง Markley และ Goss ได้รายงานไว้เมื่อปี ค.ศ. 1944 เป็นความชื้น เถ้า ไขมัน ใยอาหาร โปรตีน เพนโตแซน น้ำตาล และสารประกอบคล้ายแป้งที่ใช้ diastase ในการวิเคราะห์ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เฉลี่ย 8.0 4.6 18.0 3.5 40.0 4.4 7.0 และ 5.6% ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นได้ว่าถั่วเหลืองประกอบไปด้วยสารอาหารต่าง ๆ มากมายอันได้แก่ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ไขมัน และเถ้า และในที่นี้จะขอกล่าวเฉพาะสมบัติบางประการของโปรตีนที่เป็นสารอาหารหลักในถั่วเหลือง และไวต่อการเปลี่ยนแปลงด้วยสภาวการ (treatment) ต่าง ๆ ทั้งทางกายภาพเช่น แรงอัด ความร้อน และทางเคมี เช่น สภาวะความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณอนุมูลโลหะหรือสารเคมีอื่น ๆ เป็นต้น ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ เช่น ทำให้การละลายลดลง และมีความหนืดเพิ่มขึ้น (ประเสริฐ สายสิทธิ์ และคณะ, 2527)

2.1.1.1 ชนิดของโปรตีนในถั่วเหลือง

โปรตีนถั่วเหลืองจะถูกสะสมอยู่ในส่วนที่เรียกว่า protein body หรือ storage protein ในถั่วเหลือง มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 200,000-600,000 (ประเสริฐ สายสิทธิ์ และคณะ, 2527) ซึ่งสามารถแบ่งได้หลายวิธีเช่น

แบ่งตามการละลายได้แก่

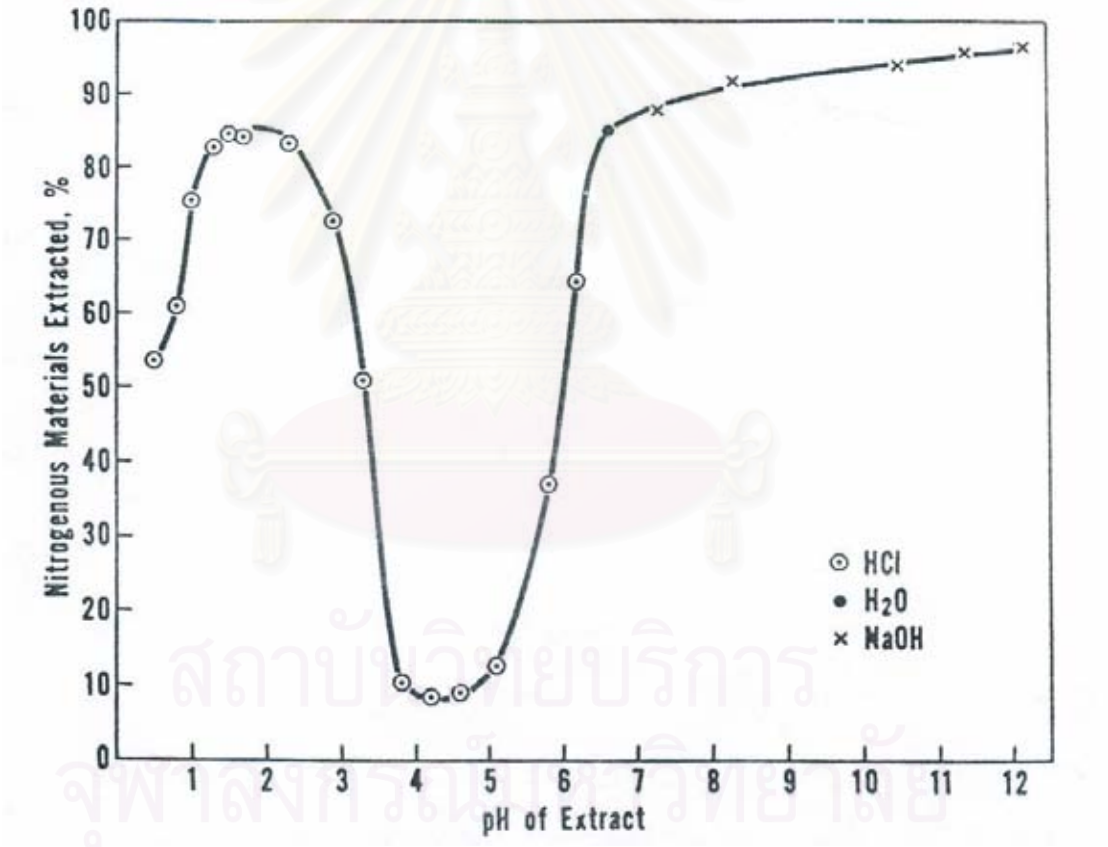
- albumin เป็นโปรตีนที่สามารถละลายน้ำได้
- globulin เป็นโปรตีนที่มีมากที่สุดในถั่วเหลือง ละลายได้ในสารละลายเกลือ แบ่งออกเป็น legumin และ vicilins ชื่อทั่วไปคือ glycinin (11S) และ conglycinin (7S) ตามลำดับ glycinin จะมีขนาดโมเลกุลใหญ่กว่า ทนความร้อนได้สูงกว่า แต่ละลายในสารละลายเกลือได้น้อยกว่า conglycinin (Liu, 1997)

แบ่งตามสัมประสิทธิ์การตกตะกอน

การแบ่งโปรตีนด้วยวิธีนี้จะใช้ ultracentrifuge ในการแยกโปรตีนถั่วเหลืองออกเป็น 4 ส่วน คือ 2S 7S 11S และ 15S ที่ ionic strength 0.5 (Liu, 1997) คิดเป็นเปอร์เซ็นต์เท่ากับ 22 37 31 และ 11% ตามลำดับ (Salunkhe และ Kadam, 1989) โปรตีน 2S ที่สำคัญคือสารยับยั้งเอนไซม์ทริปซิน โปรตีน 7S ประกอบด้วยโปรตีนหลายชนิดที่สำคัญคือโปรตีนโกลบูลิน ส่วนโปรตีน 11S เป็นโปรตีนโกลบูลินเพียงอย่างเดียว และโปรตีน 15S จะเป็นโพลีเมอร์ที่มีอยู่จำนวนน้อย (Kinsella, 1979)

2.1.1.2 <u>การละลายของโปรตีนในถั่วเหลือง</u>

โปรตีนถั่วเหลืองส่วนใหญ่เป็น globulin ซึ่งไม่ละลายน้ำในสภาวะที่ pH อยู่ในช่วง isoelectric point แต่จะสามารถละลายได้ในกรณีที่มีการเติมเกลือเช่น sodium chloride หรือ calcium chloride หาก pH อยู่ในช่วงที่สูงหรือต่ำกว่าช่วง isoelectric point โปรตีนถั่วเหลืองจะละลายได้ในสภาวะที่ไม่มีเกลือดังแสดงในภาพที่ 2.2 ซึ่งเป็นการนำโปรตีนถั่วเหลืองที่สกัดไขมันออกมาละลายในน้ำเติมกรดหรือด่างเพื่อปรับ pH หลังจากนั้นนำไป centrifuge และนำส่วนที่สกัดได้ไปวิเคราะห์โดยใช้วิธี Kjeldahl ที่ pH 6.5 พบว่าองค์ประกอบของไนโตรเจน (ส่วนใหญ่เป็นโปรตีน) 85% จะละลายได้และเมื่อเติมด่างลงไปพบว่าค่าการละลายจะสูงขึ้น 5-10% แต่เมื่อเติมกรดค่าการละลายจะลดลงทันทีและมีค่าการละลายต่ำสุดที่ pH 4.2-4.6 ซึ่งเป็นช่วง isoelectric point (Wolf และ Cowan, 1975)



<u>ภาพที่ 2.2</u> การละลายของโปรตีนถั่วเหลืองบดที่สกัดไขมันออกที่ pH ระดับต่าง ๆ กัน
ที่มา : Wolf และ Cowan (1975)

2.2 ความต้องการของแคลเซียมของคน

จากรายงานการบริโภคอาหารของประชาชนชาวไทยพบว่าตัวเลขการบริโภคแคลเซียมมีเพียง 301 มิลลิกรัม/คน/วัน ซึ่งค่อนข้างต่ำเมื่อเทียบกับความต้องการแคลเซียมที่กำหนดไว้สำหรับผู้ใหญ่ (800 มิลลิกรัมต่อวัน)(คณะกรรมการจัดทำข้อกำหนดสารอาหารประจำวันที่ร่างกายควรได้รับของประชาชนชาวไทย, 2532)

ความสำคัญของแคลเซียมในร่างกายมีดังนี้ (ประภาศรี ภูวเสถียร และ จุรีพร จิตจำรูญโชคไชย, 2532)

1) เป็นส่วนประกอบหลักที่สำคัญของกระดูกและฟัน : กระดูกทำหน้าที่เป็นโครงสร้างที่แข็งแรงของร่างกาย และทำหน้าที่คอยปรับระดับของแคลเซียมในเลือดให้สมดุลตลอดเวลา ในผู้ใหญ่จะมีแคลเซียมอิออนประมาณ 700 มิลลิกรัม เข้าและออกจากกระดูกทุกวัน ช่วงที่เด็กกำลังเจริญเติบโตร่างกายจะมีการสร้างกระดูกโดยดึงแคลเซียมเข้าไปที่กระดูก (bone formation) มากกว่าที่จะสลายออกมา (bone resorption) แต่เมื่ออายุมากขึ้น การสลายแคลเซียมออกมาจากกระดูกจะมีมากกว่าการดึงแคลเซียมเข้าไป จึงเป็นสาเหตุทำให้กระดูกมีรูพรุน เปราะ และ แตกหักง่าย ถ้าไม่มีการรักษาสมดุลของแคลเซียมในเลือดไว้ ฟันจะมีลักษณะคล้ายกระดูกมาก ประกอบไปด้วยโปรตีนและแร่ธาตุต่าง ๆ โดยเฉพาะแคลเซียมและฟอสฟอรัสในรูปของ hydroxyapatite การเจริญเติบโตของฟันเริ่มมีในทารกตั้งแต่อายุครรภ์ได้ 4 เดือน แต่อัตราการดูดซึมกลับของแคลเซียมในฟันต่ำมากไม่เหมือนในกระดูก เพราะฉะนั้นถ้าแคลเซียมในรูปฟันสูญเสียไปจึงไม่สามารถทดแทนกลับได้

2) เป็นส่วนประกอบของน้ำในเซลล์และน้ำระหว่างเซลล์ : แคลเซียมที่อยู่ในส่วนนี้จะมีเพียงร้อยละ 1 ของปริมาณแคลเซียมทั้งหมด แต่มีหน้าที่สำคัญคือ

ก. ช่วยในการแข็งตัวของเลือด (clotting of blood) นอกจากแคลเซียมแล้วยังมีโปรทรอมบิน (prothrombin) ซึ่งตับสกัดออกมา และวิตามินเค ซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นในการแข็งตัวของเลือด โดยขั้นตอนของการแข็งตัวของเลือดมี 2 ขั้นตอนคือ แคลเซียมจะกระตุ้นให้ prothrombin เปลี่ยนเป็น thrombin ซึ่ง thrombin ที่เกิดขึ้นจะช่วยในการเปลี่ยน fibrinogen ให้เป็น fibrin ทำให้เกิดการแข็งตัวของเลือด

ข. ช่วยรักษาและควบคุมให้ผนังเซลล์ทำหน้าที่ได้ดี โดยแคลเซียมจับอยู่กับเลซิธินซึ่งเป็นฟอสโฟไลปิดชนิดหนึ่งภายในผนังเซลล์จะคอยควบคุมการผ่านเข้าออกของสารต่าง ๆ

ค. เป็นส่วนที่จำเป็นในการสร้างสารอะซิติลโคลีน ซึ่งเป็นสารที่ทำหน้าที่ส่งผ่านกระแสประสาท (nerve impulse) เช่น การตอบรับต่อสิ่งเร้า

ง. ควบคุมการยืดหดของกล้ามเนื้อ รวมทั้งการเต้นของหัวใจ (ประภาศรี ภูวเสถียร และจุรีพร จิตจำรูญโชคไชย, 2532) ถ้าปริมาณของแคลเซียมในเลือดต่ำกว่าปกติ (ระดับแคลเซียมในซีรัมมี 9.0-10.5 mg/100 ml) จะทำให้เส้นใยประสาท (nerve fibers) ตลอดจนศูนย์กลางประสาท (nerve centers) เกิดการสั่นไหวได้ง่าย ทำให้มีอาการเป็นตะคริว นิ้วมือจีบเกร็ง ชัก หลอดลมหดเกร็ง ชาที่กล้ามเนื้อ ปวดตามข้อ ฯลฯ (เพ็ญจันทร์ สุวรรณแสง, 2540)

จ. ช่วยกระตุ้นให้เอนไซม์หลายชนิดทำงานได้ปกติ เช่น pancreatic lipase , adenosine triphosphatase

ฉ. ช่วยลดระดับของ strontium 90 (ประภาศรี ภูวเสถียร, 2532) เป็นธาตุกัมมันตรังสีอาจมีสะสมอยู่ในร่างกาย โดยผ่านทางอาหาร ดิน พืชผัก และโดยเฉพาะนม (Grant, 1969) ถ้ามี strontium 90 มาก (ระดับสูงสุดที่ยอมรับคือ 10 micromicrocuries/กรัมของกระดูก (Grant, 1969)) อาจเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดโรคมะเร็งในกระดูกเนื่องจากเมื่อร่างกายได้รับเข้าไปแล้วจะไปสะสมอยู่ที่กระดูกเช่นดียวกับแคลเซียม นอกจากนี้ยังสะสมที่ไขกระดูก (bone marrow) ซึ่งเป็นที่สร้างเม็ดเลือด และทำให้เกิดมะเร็งในเม็ดเลือดขาว (leukemia) ได้ อย่างไรก็ตาม การดูดซึมของ strontium 90 ไม่ดีเท่าแคลเซียม และยังถูกขับถ่ายได้ดีกว่าแคลเซียมอีกด้วย

ช. การดูดซึมวิตามินบี 12 (cobolamin) เนื่องจากวิตามินบี 12 เป็นโมเลกุลขนาดใหญ่ จึงต้องมีกลไกเพื่อการดูดซึมคือ วิตามินบี 12 จะแยกจาก polypeptide โดยกรดในน้ำย่อย และเอนไซม์ และไปยึดติดกับ intrinsic factor (น้ำย่อยอาหาร) ที่ถูกขับออกมาจากเซลล์ของกระเพาะอาหาร ต่อมา vitamin B12-intrinsic factor จะเกาะกับแคลเซียมที่บริเวณปลายลำไส้เล็ก วิตามินจะถูกปล่อยจากสารประกอบและเคลื่อนย้ายผ่านเยื่อบุ แล้วไปเกาะกับโปรตีนเรียกสารประกอบนี้ว่า transcobolamin เพื่อเดินทางไปในกระแสเลือด (ปาหนัน บุญ-หลง, 2532)

สิ่งที่มีอิทธิพลต่อการดูดซึมแคลเซียม (ประภาศรี ภูวเสถียร, 2532)

1) ความต้องการของร่างกาย ในคนที่มีร่างกายแข็งแรงและได้รับแคลเซียมในปริมาณที่ต้องการนั้นจะสามารถดูดซึมแคลเซียมได้ร้อยละ 30-40 ถ้าเมื่อใดที่ร่างกายได้รับปริมาณแคลเซียมต่ำ ร่างกายจะสามารถปรับตัวทำให้ดูดซึมแคลเซียมได้มากขึ้น

2) ภาวะร่างกายที่แตกต่างกัน ในเด็ก หญิงตั้งครรภ์ และหญิงให้นมบุตร มีความต้องการแคลเซียมปริมาณสูงมาก เนื่องจากมีการเจริญเติบโตของกระดูกทั้งในด้านความยาวและความแข็งแรงร่างกายจึงปรับตัวให้มีการดูดซึมแคลเซียมจากอาหารได้มากกว่าปกติ

3) เพศ เพศชายจะดูดซึมแคลเซียมได้ดีกว่าเพศหญิง ในผู้สูงอายุโดยเฉพาะเพศหญิงจะดูดซึมแคลเซียมได้น้อยกว่าคนที่มีอายุน้อยในเพศเดียวกัน

4) ความเป็นกรดในกระเพาะอาหาร จะช่วยในการดูดซึมแคลเซียม

5) กรดอะมิโน กรดอะมิโนบางตัว เช่น เซอรีน อาร์จีนีน และไลซีน จะจับกับแคลเซียม ป้องกันไม่ให้แคลเซียมเกิดการตกตะกอน และเพิ่มการดูดซึมของแคลเซียมได้ถึงร้อยละ 50

6) อัตราส่วนของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัสในอาหาร ถ้าอัตราส่วนของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัสในอาหารเป็น 1 ต่อ 1 แคลเซียมจะถูกดูดซึมได้มากที่สุด ในเนื้อสัตว์มีฟอสฟอรัสสูง ถ้าได้รับโปรตีนจากเนื้อสัตว์มากเกินไป จะมีผลทำให้อัตราส่วนของแคลเซียมและฟอสฟอรัสเกิดความไม่สมดุลขึ้น ความสามารถในการดูดซึมลดลง ทำให้ความต้องการแคลเซียมสูงขึ้น

7) น้ำตาล น้ำตาลแลคโตสในน้ำนมช่วยในการดูดซึมแคลเซียมได้ดี

8) วิตามินดี ช่วยในการสร้าง calcium binding protein ทำให้แคลเซียมถูกนำไปใช้ได้มาก

9) อาหารที่มีกรดไขมันอิ่มตัวสูง จะจับกับแคลเซียมทำให้การดูดซึมแคลเซียมลดลง

10) กาแฟ ถ้าดื่มกาแฟวันละ 6 แก้ว คาเฟอีนในกาแฟจะเพิ่มการสูญเสียแคลเซียมทางปัสสาวะ

11) แอลกอฮอล์ ส่งเสริมให้เกิด bone loss เช่นเดียวกับสารนิโคตินในบุหรี่

12) การออกกำลังกาย คนที่นั่งมาก ๆ จะมีความหนาแน่นของกระดูกน้อยกว่าคนที่ออกกำลังกายอย่างสม่ำเสมอ

13) อาหาร ในอาหารที่มีไดเอทารีไฟเบอร์ กรดไฟติก และกรดออกซาลิก สูงจะขัดขวางการดูดซึมของแคลเซียม

จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นได้ว่า สิ่งที่มีอิทธิพลต่อการดูดซึมของแคลเซียมต่อร่างกายมีหลายอย่างด้วยกัน เช่น ความต้องการของร่างกาย ภาวะของร่างกายที่แตกต่างกัน เพศ วิตามินดี การออกกำลังกาย และอัตราส่วนของแคลเซียมต่อฟอสฟอรัสในอาหารเป็นต้น ถ้าร่างกายได้รับแคลเซียมไม่เพียงพอจะเกิดอาการผิดปกติ ถ้ามีการขาดแคลเซียมตั้งแต่ในวัยเด็กแล้วจะมีผลต่อการเจริญเติบโตของเด็ก คือ เด็กจะตัวเตี้ย ไม่สูงใหญ่เท่าที่ควรจะเป็น และเมื่อขาดแคลเซียมนานเข้าเรื่อย ๆ กระดูกจะบางลง มีรูพรุนมาก ทำให้กระดูกเปราะและหักง่ายเรียกว่าโรคกระดูกพุน นอกจากนี้ หน้าที่ต่าง ๆ ของร่างกายจะสูญเสียไป เช่น การแข็งตัวของเลือดจะช้ากว่าปกติ การส่งกระแสประสาทผิดปกติ ภาวะที่มีเนื้อกระดูกน้อยลงเป็นเหตุทำให้โครงสร้างของกระดูกผิดปกติ โดยเฉพาะกระดูกสันหลัง กระดูกแขน กระดูกขา และกระดูกสะโพก การทำงานของเอนไซม์ที่มีแคลเซียมเป็นองค์ประกอบจะผิดปกติไป และถ้าขาดรุนแรงก็จะส่งผลต่อการทำงานของกล้ามเนื้อหัวใจด้วย (ประภาศรี ภูวเสถียร, 2532) โดยร่างกายจะได้รับแคลเซียมจากอาหารหลายชนิด เช่นในนมวัว นมผง และหางนมผง มีปริมาณแคลเซียม 118 909 และ 110 มิลลิกรัมต่ออาหาร 100 กรัม ตามลำดับ (คณะคหกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช, 2531) แต่ในน้ำนมถั่วเหลืองที่สกัดด้วยน้ำในอัตราส่วนถั่ว : น้ำ เท่ากับ 1:8 จะมีปริมาณแคลเซียมเพียงประมาณ 20

มิลลิกรัมต่อน้ำนมถั่วเหลือง 100 ml (เพียงจันทร์ ชัยวนนท์, 2542) ซึ่งจะเห็นได้ว่าน้ำนมถั่วเหลืองมีปริมาณแคลเซียมต่ำ จึงน่าจะมีการเสริมแคลเซียมในน้ำนมถั่วเหลือง แต่ก็เป็นสิ่งที่ทำได้ยาก เนื่องจากจะเกิดการ aggregate ของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม (Hermansson, 1986) ด้วยปัจจัยหลายประการ

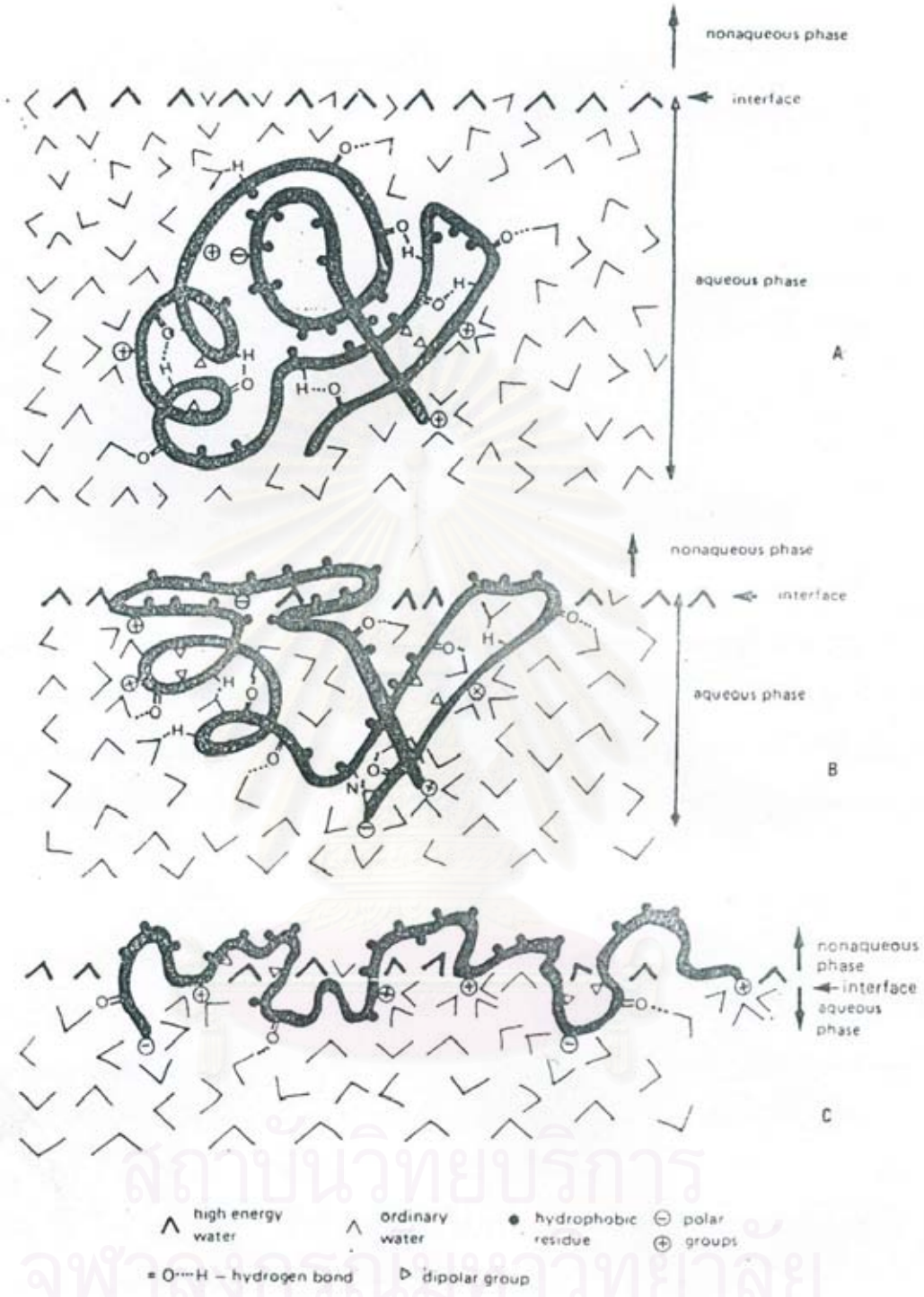
2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเกิดการ aggregate ของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม

การเกิดการ aggregate ของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมมีปัจจัยและกลไกที่สำคัญหลายอย่างร่วมกันได้แก่ ความร้อน (Fennema, 1976; Mulvihill และ Kinsella, 1987) ความเป็นกรด-ด่าง (Fennema, 1976; Mulvihill และ Kinsella, 1987; Morr และ Ha, 1993) และความเข้มข้นของสารละลายแคลเซียมที่เติมในน้ำนมถั่วเหลือง (Appu และ Narasinga, 1975 , 1976; Fennema, 1976; Mulvihill และ Kinsella, 1987; Hongsprabhus และ Barbut, 1997) ดังรายละเอียดต่อไปนี้

1) ความร้อน

ความร้อนจะไปเหนี่ยวนำให้โปรตีนเกิดเจล ซึ่งมีความสำคัญต่อโครงสร้างและคุณสมบัติของอาหารหลายชนิด การให้ความร้อนจะไปเร่งปฏิกิริยาหลายอย่างเช่น denaturation , association , dissociation และ aggregation โดยการเกิดเจลเป็นกระบวนการซับซ้อนที่เกี่ยวข้องกับปฏิกิริยาต่าง ๆ หลายปฏิกิริยา (Hermansson, 1986)

การเกิดเจลของโปรตีนเนื่องจากความร้อนมีกระบวนการที่เกี่ยวข้องอยู่ 2 กระบวนการคือ เริ่มแรกจะเกิดการเสียสภาพคือการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของโปรตีนในธรรมชาติ (native protein) เนื่องจากความร้อนจะทำให้โปรตีนเกิดการคลายตัว (unfolding หรือ undergo) (ภาพที่ 2.3) (Mulvihill และ Kinsella, 1987) ซึ่งจะเพิ่มการแสดงกลุ่มที่ทำปฏิกิริยา (expose reaction group) โดยเฉพาะกลุ่ม hydrophobic (Fennema, 1976) ต่อจากนั้นจะเกิดขั้นที่ 2 คือเกิดการรวมกลุ่มก้อน (aggregation) ซึ่งจะเกิดได้ช้ากว่าขั้นที่ 1 โดยปล่อยให้โมเลกุลของโปรตีนที่เสียสภาพธรรมชาติเกิดการพลิกตัวของมันเอง (Mulvihill และ Kinsella, 1987) และเกิดปฏิกิริยาระหว่างสายโมเลกุลโปรตีน (protein-protein interaction) เนื่องจากพันธะ hydrophobic ซึ่งเป็นสาเหตุหลักของเกิดการเกาะรวมกันเป็นกลุ่มภายหลัง (Fennema, 1976)



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ 2.3 การคลายเกลียวของโมเลกุลโปรตีนเนื่องจากความร้อน
รูปแบบโครงสร้างโมเลกุลโปรตีนที่ผิวรอยต่อ : (A) คือโมเลกุลโปรตีนโกลบูลิน
ธรรมชาติที่แช่ในสารละลาย ; (B) โมเลกุลโปรตีนเคลื่อนที่มาที่ผิวรอยต่อ
; (C) การ ดูดซึม การคลายเกลียว และโมเลกุลโปรตีนที่จับกับน้ำ

ที่มา : Fennema (1976)

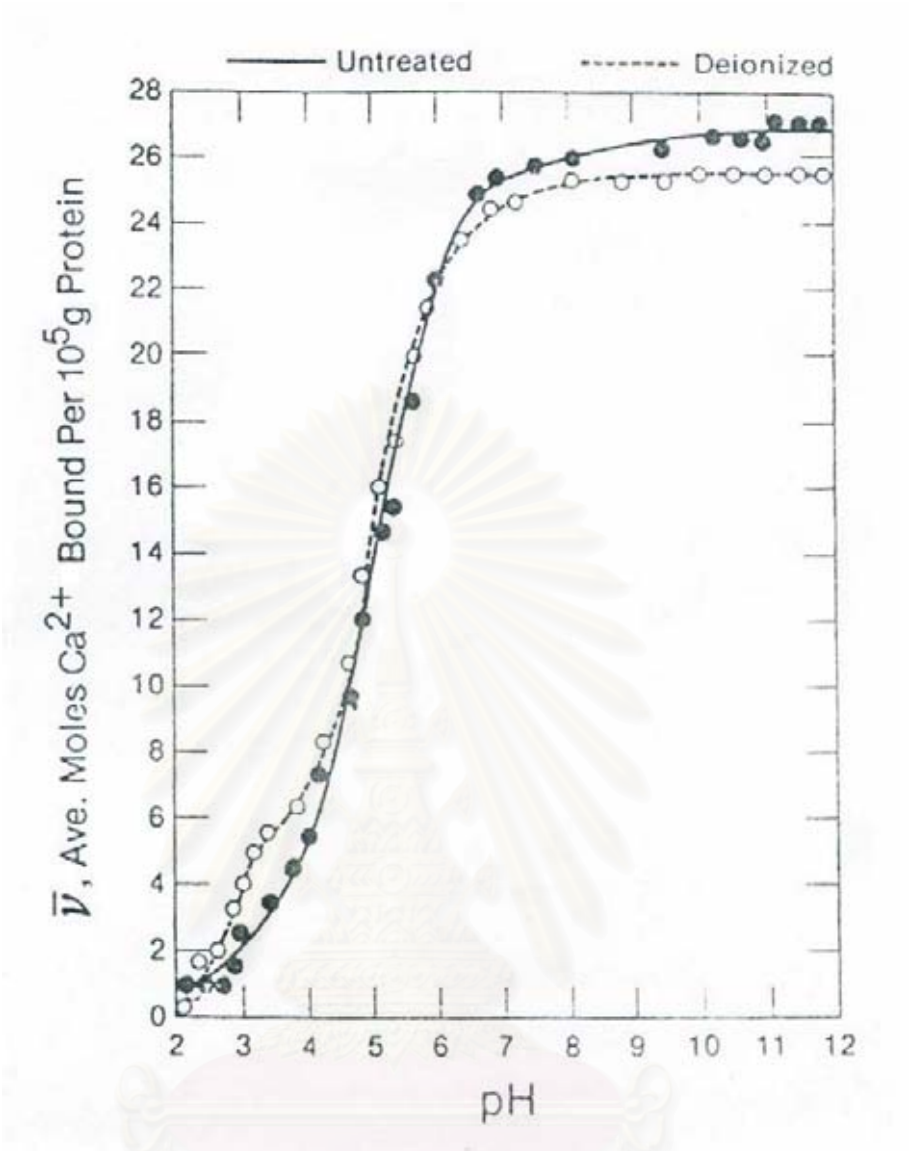
2) ความเป็นกรด-ด่าง

โปรตีนในถั่วเหลืองเป็น amphoteric colloid ซึ่งจะมีความคงตัว และมีคุณสมบัติรวมตัวกันเป็นก้อนเนื่องจากความร้อนและจับกับแคลเซียมอิออนในระบบสารละลาย ซึ่งส่วนมากเป็นผลจาก pH ของปฏิกิริยาในระบบ (Liu,1997) ในช่วงที่ pH สูงกว่า pH ในการเกิดเจล (pH ในการเกิดเจลจะอยู่ในช่วงที่สูงหรือต่ำกว่า pH ที่เป็นจุด isoelectric เล็กน้อย) จะทำให้โปรตีนมีแรงผลักระหว่างสายโมเลกุลของโปรตีนมากกว่า ทำให้การคลายตัวเกิดได้ง่ายขึ้น เมื่ออุณหภูมิของสารละลายโปรตีนเพิ่มขึ้น จะทำให้โปรตีนมีพันธะ hydrophobic และ disulfide เป็นจำนวนมาก ซึ่งแรงอันเกิดเนื่องจากพันธะ hydrophobic และ disulfide นี้จะมีค่ามากกว่าแรงผลักทาง electrostatic ซึ่งเป็นผลเนื่องจากประจุที่มีอยู่มากของโปรตีนในช่วงที่ไม่ใช่จุด isoelectric (Mulvihill และKinsella, 1987) พันธะ disulfide ที่เพิ่มมากขึ้นเนื่องจากโปรตีนมีการแยกตัวออกจากกันที่อุณหภูมิสูง และแสดงหมู่ sulfhydryl เพิ่มขึ้น (Fennema, 1976) ในสภาวะที่เป็นกรด การเกิดปฏิกิริยาของหมู่ sulfyhdryl จะมีค่าลดลงทันที ซึ่งเป็นการขัดขวางการเกิดพันธะ disulfide อย่างเห็นได้ชัด (Morr และ Ha, 1993)

เนื่องจากไฮโดรเจนอิออนจะแข่งขันกับแคลเซียมอิออนในการจับที่ binding site บนโมเลกุลโปรตีน (จับที่ carboxyl group ของ glutamyl และ aspartic residue และ imidazole group ของ histidine residue ของโปรตีน) โดย pH จะมีผลต่อจำนวนแคลเซียมอิออนที่จับกับโปรตีนทั้งหมดดังแสดงในภาพที่ 2.4 ซึ่งที่ pH ต่ำกว่า 3 การจับแคลเซียมอิออนจะไม่มีนัยสำคัญ ที่ pH ระหว่าง 3-7 พบว่าการเปลี่ยนแปลง pH เพียงเล็กน้อยมีผลให้การจับแคลเซียมอิออนมีมากขึ้น ส่วนที่ pH มากกว่า 7 จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงมากนักในการจับกับแคลเซียม (Liu, 1997)

3) เกลือแคลเซียม

แคลเซียมที่ทำให้เกิดเจลนั้น สามารถแบ่งกลไกได้เป็น 2 ขั้นตอนคือ เมื่อสารละลายโปรตีนได้รับความร้อนจะเกิดการคลายเกลียวและเกิดปฏิกิริยา polymerization ขึ้น แคลเซียมอิออนที่เติมลงไปในสารละลายโปรตีนที่ผ่านการให้ความร้อน (pre-heat protein) จะทำให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพมากขึ้น โดยไปทำให้เกิด unfolding มากขึ้นกว่าโครงสร้างเดิม (native structure) จึงทำให้ระดับของการเกิดปฏิกิริยาระหว่างสายโมเลกุลของโปรตีนแตกต่างกัน แคลเซียมจะเกี่ยวข้องกับการเกิดโครงสร้างของเจล (Barbut และ Foegeding, 1993) โดย pH ที่เป็นด่าง โมเลกุลของโปรตีนจะมีประจุลบมากกว่า pH ที่เป็นกรด ดังนั้นแคลเซียมอิออน และ divalent cation อื่น ๆ จะเกิดปฏิกิริยาระหว่างประจุลบของโปรตีนมากขึ้น (Fennema, 1976) เพื่อ neutralize ประจุสุทธิของโปรตีนในขั้นที่ 2 ดังแสดงในภาพที่ 2.5 (Liu, 1997) ดังนั้นที่ pH มากกว่า pI จึงเกิดเป็น calcium bridges (Fennema, 1976) ซึ่งเป็นผลให้ hydrophobic interaction

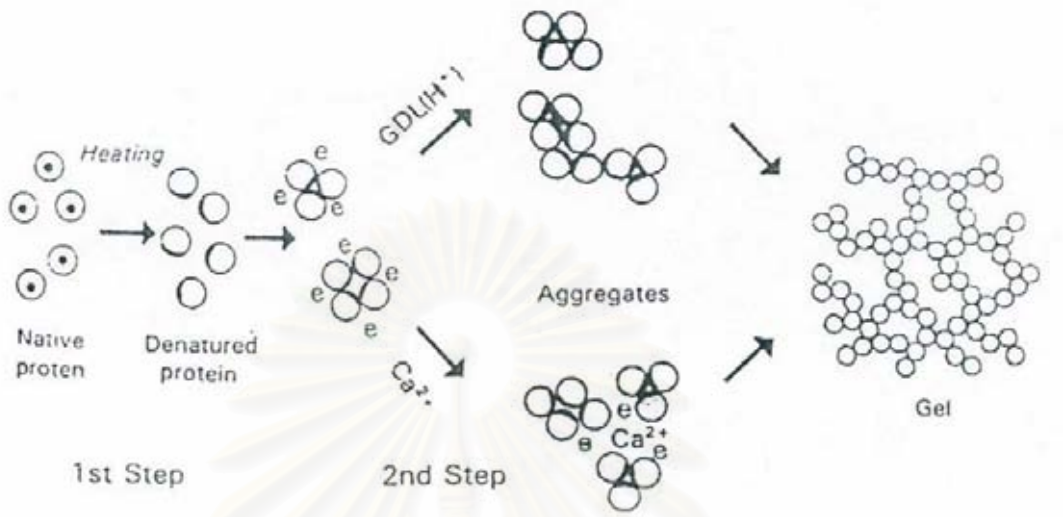


ภาพที่ 2.4 การจับกับ calcium ของโปรตีน ที่ pH ต่าง ๆ โดย ● คือ untreated soy protein (Ca^{2+} 27 โมลต่อโปรตีน 10^5 กรัม) ; O คือ deionized protein (25.8โมล ต่อโปรตีน 10^5 กรัม ที่ ionic strength 0.02)

ที่มา : Liu (1997)

ของโปรตีนที่ถูก neutralized เด่นขึ้นและจะนำไปสู่การ aggregate (Liu, 1997) โดยระดับความเข้มข้นของอิเล็กโตรไลต์ต่ำ ๆ calcium bridge จะไปลดค่าแรงผลักทาง electrostatic (แรงผลักระหว่างประจุ) ได้เล็กน้อยจึงทำให้เกิด cross-link ในระดับที่ต่ำ ส่วนในกรณีที่ความเข้มข้นของอิเล็กโตรไลต์สูง จะทำให้แรงผลักทาง electrostatic (แรงผลักระหว่างประจุ) ลดลงมากเพียงพอที่จะทำให้เกิดปฏิกิริยาระหว่างสายโปรตีนที่เสียสภาพ จึงทำให้เกิด cross-link ในระดับที่สูงขึ้น ทำ

ให้โปรตีนจับกันแน่นและเกิดการยุบตัวของเมทริกซ์ในตะกอน (Mulvihill และ Kinsella, 1987) กลไกการเกิดเจลแสดงในภาพที่ 2.5 (Liu, 1997)



ภาพที่ 2.5 กลไกการเกิดเจลของโปรตีนถั่วเหลืองที่มี GDL หรือ $CaSO_4$ โดย **O** คือ โมเลกุลโปรตีน ; ● คือ ส่วนที่เป็น hydrophobic

ที่มา : Liu (1997)

4) ค่า ionic strength

ionic strength คือความเข้มข้นของอิออน เนื่องจากโปรตีนถั่วเหลืองตามธรรมชาติเป็นโปรตีนที่มี non polar patch เป็นจำนวนมาก ดังนั้นที่ ionic strength ต่ำ (< 0.5) โปรตีนจะมีการละลายลดลง และเมื่อ ionic strength > 0.5 เกลือจะไปเหนี่ยวนำการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างน้ำในบริเวณข้างเคียงของโปรตีน และถ้า ionic strength สูง (ความเข้มข้นของเกลือ > 1 M) จะมีผลให้เกิดการตกตะกอนเนื่องจากอิออนของเกลือจะจับกับน้ำได้แข็งแรงกว่า ดังนั้น protein – protein interaction จะมีแรงมากกว่า protein – water interaction ซึ่งจะนำไปสู่การตกตะกอนของโปรตีนที่เรียกว่า salting out (Fennema, 1996)

ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการเสริมแคลเซียมลงในน้ำนมถั่วเหลืองแล้วให้ความร้อนเพื่อฆ่าเชื้อนั้นอาจทำให้เกิดการ aggregate ของโปรตีนอย่างหลีกเลี่ยงไม่ได้ เนื่องจากการให้ความร้อนทำให้โปรตีนเกิด unfolding และมาจับตัวกันเอง น้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ผลิตได้จะมี pH มากกว่า isoelectric piont ทำให้โปรตีนจะมีประจุเป็นลบ จึงสามารถจับกับแคลเซียมได้มากขึ้น นอกจากนี้การเสริมแคลเซียมในปริมาณที่มากเกินไปทำให้โปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองตกตะกอนได้แม้ยังไม่ได้ผ่านการให้ความร้อนก็ตาม (salting out) ซึ่งสิ่งเหล่านี้ไม่ต้องการให้เกิดขึ้นในน้ำนมถั่วเหลือง

เสริมแคลเซียม จึงมีผู้สนใจศึกษาการป้องกันการ aggregate ของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมดังนี้

- Weingartner และคณะ (1983) ศึกษาผลของการเสริมแคลเซียมต่อความคงตัวและคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์หรือกระบวนการให้ความร้อน โดยใช้สารผสมระหว่างแคลเซียมซิเตรต และ ไตรแคลเซียมฟอสเฟต ให้มีปริมาณแคลเซียม 100.2 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml วัดความคงตัวด้วยวิธีปิเปตน้ำนมถั่วเหลืองจากส่วนบนและส่วนล่างของภาชนะบรรจุแล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน ทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส วัด pH และความหนืด พบว่า น้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ได้รับการยอมรับทางประสาทสัมผัส และการเติมแคลเซียมไม่มีผลกระทบต่อความคงตัวของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม โดยการเติมแคลเซียมซิเตรตจะทำให้ pH และความหนืดของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมลดลง ส่วนน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมบรรจุกระป๋องที่ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121°C ด้วยรีทอร์ต (แบบอยู่กับที่ใช้เวลา 42 นาที แบบเคลื่อนที่ใช้เวลา 13 นาที) พบว่าจะมีความคงตัวเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 1°C หรืออุณหภูมิห้องเป็นเวลา 6 เดือน

- Zemel และ Shelf ได้จดสิทธิบัตรในปี ค.ศ. 1985 เรื่องการเสริมแคลเซียมในน้ำนมถั่วเหลืองเมื่อผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ โดยใช้ alkali metal polyphosphate (STPP) (1%W/V) ในการจับแคลเซียมอิออนเพื่อป้องกันการตกตะกอนของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม และเมื่อนำน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมไปวิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมพบว่า สามารถเสริมแคลเซียมคลอไรด์ และแคลเซียมคาร์บอเนตได้ในช่วง 200-750 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml โดยไม่เกิดการตกตะกอนของโปรตีน นอกจากนี้แล้ว alkali metal polyphosphate จะไปเพิ่มความคงตัวด้านจุลินทรีย์และยังเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซึมแคลเซียมในร่างกาย เนื่องจากร่างกายดูดซึมแคลเซียมในรูปของสารประกอบแคลเซียมฟอสเฟตได้ดี

- Nanba และ Nagasawa (1987) ได้ศึกษาผลของการเติมแคลเซียมต่อ colloidal stability ของน้ำนมถั่วเหลือง เมื่อเติมแคลเซียมให้มีปริมาณเท่ากับนมวัว 100.2 mg/นมวัว 100 ml ในการทดลองขั้นแรกได้นำสารละลายโปรตีนที่สกัดจากถั่วเหลือง 7S และ 11S โกลบูลิน 0.1% (ละลายใน buffer H_3BO_3 และ $Na_2B_4O_7$) ที่ผ่านการให้ความร้อน (100°C 30 นาที) มาเติมเกลือแคลเซียมคลอไรด์ แคลเซียมซัลเฟต แคลเซียมซิเตรต และแคลเซียมฟอสเฟต ปริมาณแคลเซียม 0-32 mg/สารละลายโปรตีน 100 ml แล้วหาโปรตีนที่ละลายได้ด้วยการ centrifuge สารละลายโปรตีนที่สกัดจากถั่วเหลือง 7S และ 11S โกลบูลิน 0.1% นำส่วนใสไปวิเคราะห์โปรตีน พบว่า เมื่อปริมาณแคลเซียมเพิ่มขึ้นโปรตีนที่ละลายได้จะน้อยลง และสารละลายโปรตีนที่สกัดจากถั่วเหลือง 7S และ 11S โกลบูลิน 0.1% ที่เติมแคลเซียมคลอไรด์จะมีโปรตีนที่ละลายได้น้อยที่สุดเมื่อเทียบกับ

เกลือแคลเซียมชนิดอื่น การทดลองขั้นต่อมาได้ปรับ pH สารละลาย โกลบูลิน 7S และ 11S 0.1% ที่ผ่านการให้ความร้อน (100°C 30 นาที) เป็น 6.2 6.6 7.0 7.4 และ 7.8 แล้วเติมเกลือแคลเซียมคลอไรด์ ปริมาณแคลเซียม 0-32 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml พบว่า เมื่อ pH ของสารละลายเพิ่มขึ้นจะมีโปรตีนที่ละลายได้เพิ่มขึ้น หลังจากนั้นได้ทำการทดลองวัด colloidal stability ของน้ำนมถั่วเหลือง โดยนำน้ำนมถั่วเหลืองมาเติมเกลือแคลเซียมคลอไรด์ แคลเซียมซัลเฟต แคลเซียมซิเตรต และแคลเซียมฟอสเฟต ปริมาณแคลเซียม 0-76 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C 10 นาที วัดความหนืด pH และโปรตีนที่ละลายได้ พบว่าน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมคลอไรด์ จะมีความหนืดเพิ่มขึ้น pH และโปรตีนที่ละลายได้ลดลงมากที่สุด และเมื่อนำน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมเกลือแคลเซียมคลอไรด์ ปริมาณแคลเซียม 0-76 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml เติมโซเดียมซิเตรต 10 และ 20 mM แล้วให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C 30 นาที พบว่า pH ลดลงและความหนืดเพิ่มขึ้นน้อยกว่าน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมคลอไรด์ที่ไม่ได้เติมโซเดียมซิเตรต หลังจากนั้นได้นำน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมแคลเซียมคลอไรด์ ปริมาณแคลเซียม 76 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ที่มีโพแทสเซียมซิเตรต 20 mM (6.13 กรัม) ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 20 mM (0.23 กรัม) โซเดียมไพโรฟอสเฟต 15 mM (0.4 กรัม) และโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต 10 mM (0.37 กรัม) เมื่อนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 80°C 30 นาที จะไม่มีการตกตะกอนและการรวมกันของโปรตีนเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 7 วัน

- Rasyid และ Hansen (1991) ได้ศึกษาความคงตัวของน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมแคลเซียมกลูโคเนต โดยใช้โซเดียมเฮกซะเมตตาฟอสเฟต (SHMP) เป็น chelating agent (แปรปริมาณเป็น 1 1.1 และ 1.2%) และแคลเซียม-ดี-แซคคาริค-แอซิด เป็นสารให้ความคงตัว (แปรปริมาณเป็น 0.000 0.005 0.010 และ 0.015%) วัดการตกตะกอนของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมด้วยวิธี centrifuge แล้วเทียบอัตราส่วนความสูงของตะกอนกับความสูงของตัวอย่าง วัด calcium ion activity ด้วย calomel reference electrode วิเคราะห์ปริมาณแคลเซียมด้วยเครื่อง Atomic absorption spectrophometer พบว่า SHMP และแคลเซียม-ดี-แซคคาริค-แอซิด จะให้ผลเสริมฤทธิ์กัน ทำให้สามารถเสริมแคลเซียมในน้ำนมถั่วเหลืองให้เพิ่มขึ้นเท่ากับหรือมากกว่านมวัว ลดการตกตะกอนของโปรตีนและ calcium ion activity ของน้ำนมถั่วเหลือง เมื่อนำน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคเนต (เติม SHMP 1.2% และแคลเซียม-ดี-แซคคาริค-แอซิด 0.01% ปริมาณแคลเซียม 140 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml) มาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65-110°C แล้วเก็บที่ 5°C พบว่าน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมสามารถทนความร้อนได้เป็นที่น่าพอใจ

- Yazici และคณะ (1997) ได้ศึกษาหาสูตรและกระบวนการผลิตต่อการทนความร้อนของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม การผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม (200 mg/

น้ำนมถั่วเหลือง 100 g) โดยนำน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมพาสเจอร์ไรซ์ที่เตรียมได้มาปรับ pH ให้เป็น 8.0 ด้วย NaOH 1M นำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 45°C เติม SHMP หรือโพแทสเซียมซิเตรตเพื่อเป็น chelating agent ที่ระดับต่างกัน (0-1.25% (W/W)) เติมเกลือแคลเซียมแลคโตกลูโคเนต 1.55 %(W/W) นำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 45°C จนกระทั่งกระจายตัวสมบูรณ์ ทำให้เย็นที่อุณหภูมิ 25°C นำน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ได้ไปวัดความหนืด วิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม และการทนความร้อนที่อุณหภูมิ 94°C เป็นเวลาต่างกันแล้วนำไป centrifuge เพื่อดูการแยกชั้นของน้ำนมถั่วเหลือง พบว่า เมื่อเติม chelating agent มากขึ้น ความหนืดของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมจะลดลง และน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่เติมโพแทสเซียมซิเตรต 1.25% จะทนความร้อนได้ดีที่สุด (94°C เป็นเวลา 10 นาที)

- เพียงจันทร์ ชัยวนนท์ (2542) ศึกษาการเสริมแคลเซียมในน้ำนมถั่วเหลือง โดยนำน้ำนมถั่วเหลืองที่สกัดด้วยน้ำในอัตราส่วน 1 : 8 ผ่านการพาสเจอร์ไรซ์มาอุ่นให้มีอุณหภูมิ 50°C แล้วเติมโพแทสเซียมซิเตรตเป็น chelating agent โดยแปรปริมาณเป็น 300 600 และ 900 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml เติมเกลือแคลเซียมคาร์บอเนต ไตรแคลเซียมฟอสเฟต แคลเซียมแลคโตกลูโคเนต ให้น้ำนมถั่วเหลืองมีปริมาณแคลเซียม 120 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml แล้วนำไปให้ความร้อนที่ 70°C เติมคาราจีแนนเพื่อเป็นสารให้ความคงตัวโดยแปรปริมาณเป็น 30 35 และ 40 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml วัดการละลายและการกระจายตัวของเกลือแคลเซียมด้วยวิธี centrifuge พบว่า การเติม chelating agent ปริมาณ 300 mg และ คาราจีแนน ปริมาณ 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ทำให้การละลายและการกระจายตัวของเกลือแคลเซียมคาร์บอเนตและไตรแคลเซียมฟอสเฟตเพิ่มขึ้น และเมื่อนำน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแต่ละชนิดมาทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสพบว่ามีคะแนนความชอบรวมในระดับปานกลาง ส่วนน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแลคโตกลูโคเนต เมื่อเติม chelating agent 600 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml จะสามารถป้องกันการตกตะกอนของโปรตีนได้แต่จะทำให้รสชาติของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ในงานวิจัยนี้มีแนวทางที่จะศึกษาการเสริมแคลเซียมในน้ำนมถั่วเหลืองเพื่อให้มีปริมาณแคลเซียมใกล้เคียงกับนมวัว โดยใช้ STPP เป็น chelating agent เพื่อป้องกันการตกตะกอนของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงานวิจัย

วัตถุดิบ

- ถั่วเหลือง (*Glycine max* (L) Merrill) ผ่าซีก ได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- น้ำตาลทรายขาว (ตรามิตรผล)

สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ

- กรดซัลฟุริก (Sulfuric acid , AR grade)
- กรดบอริก (Boric acid , AR grade)
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide , AR grade)
- กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid , AR grade)
- Modified methyl red indicator
- สารเร่งปฏิกิริยา (Kjeltabs Cu 3.5)
- ปิโตรเลียมอีเธอร์ (Petroleum ether , AR grade)
- กรดไนตริกเข้มข้น (Conc Nitric acid , AR grade)
- แลนทานัม ออกไซด์ (Lanthanum oxide , AR grade)

สารเคมีที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์

- อาหารเลี้ยงเชื้อ Plate Count Agar (Merck)

สารเคมีที่ใช้ในการทำน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม

- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide , AR grade)
- โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate , AR grade)
- กรดซิตริก (Citric acid , AR grade)
- โซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (Sodium tripolyphosphate , Food grade)
- แคลเซียมแลคเตต (Calcium lactate , Food grade)
- แคลเซียมคลอไรด์ (Calcium chloride , Food grade)
- แคลเซียมกลูโคโนแลคเตต (Calcium gluconolactate , Food grade)

อุปกรณ์

อุปกรณ์ในการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ

- ชุดย่อยและกลั่นโปรตีน (Kjeldaltherm and Vapodest Gerhadt , KT 85)
- เตาเผาช่วงอุณหภูมิ 500-700°C (Furnace Carbolite , MEL 11-2)
- เตาอบวิเคราะห์ความชื้น ช่วงอุณหภูมิ 0-250°C (WTB Binder , E53)
- เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius , A200S)
- เครื่องปั่นความเร็วรอบสูง (Commercial blender , Waring)
- ชุดอุปกรณ์วิเคราะห์ไขมัน (Soxtherm Automatic , S-226)
- เครื่อง Atomic absorption spectrophotometer (Varian , SpectrAA-300)

อุปกรณ์ในการทำน้ำนมถั่วเหลือง

- ในระดับห้องปฏิบัติการ
    - เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Sartorius , BA4100S)
    - ผ้าขาวบางชนิดตาละเอียด
    - เครื่องโม่ถั่วเหลือง (Vita mix) (ภาพที่ ช.1 ภาคผนวก ช)
    - เครื่อง pneumatic press (ภาพที่ ช.2 ภาคผนวก ช)
    - เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (hand refractometer 0-32°brix Atago , No1)
    - นาฬิกาจับเวลา (Casio , HS-5M)
    - เตาไฟฟ้าแบบ hot plate
- ในระดับโรงงานนำร่อง
    - เครื่อง Rietz disintegrator (ภาพที่ ช.5 ภาคผนวก ช)
    - เครื่องแยกกาก (decantor) (Alfa Laval , NX 207 S31) (ภาพที่ ช.6 ภาคผนวก ช)
    - หม้อต้มผนัง 2 ชั้น (double jacket) (ภาพที่ ช.7 ภาคผนวก ช)
    - เครื่อง homogenizer (Gaulin , 865 M3 3TR X) (ภาพที่ ช.8 ภาคผนวก ช)
    - เครื่อง exhaustor (Century , CSH-66-FH6-35FA) (ภาพที่ ช.9 ภาคผนวก ช)
    - เครื่องปิดกระป๋อง (seamer) (Hinz , Lanico-Machi) (ภาพที่ ช.10 ภาคผนวก ช)
    - retort (ภาพที่ ช.11 ภาคผนวก ช)
    - นาฬิกาจับเวลา (Casio , HS-5M)

- เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (hand refractometer 0-32°brix Atago , No1)
- เครื่องบันทึกอุณหภูมิ (recorder) (Ellab , cmc 821)
- กระป๋องเคลือบแลกเกอร์ขนาด 202*503 จากบริษัทคาร์โนด์เมตัลบ๊อกซ์ (ประเทศไทย) จำกัด มหาชน
- ขวดแก้วปากแคบขนาดบรรจุ 250 ml พร้อมฝาจีบ
- เครื่องปิดฝาจีบ
- เทอร์โมคับเปิล type T (สายทำจากทองแดงและ constantan)

<u>อุปกรณ์ในการวัดทางกายภาพของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม</u>

- หลอด centrifuge พลาสติกก้นกลมขนาด 10 ml
- หลอด centrifuge แก้วแบบมี scale ขนาด 10 ml
- ปิเปตขนาด 10 ml
- เครื่องวัดสี (Minolta Chroma meter , CR-300series)
- เครื่องวัดความหนืด (viscometer) (Brookfield , Model DV-II + version 3.2) (ภาพที่ ช.3 ภาคผนวก ช)
- เครื่องควบคุมอุณหภูมิ (water bath) (Neslab , RTE-101)
- เครื่องหมุนเหวี่ยง (centrifuge) (Heraeus Christ Medifuge)
- เครื่องวัดพีเอช (pH meter) (Horiba , F-21)

<u>อุปกรณ์ในการวิเคราะห์ทางเคมีของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม</u>

- เครื่องวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม Atomic Absorption Spectrophotometer (Varian , SpectrAA-300)
- เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูงชนิดควบคุมอุณหภูมิ (high speed refrigerated centrifuge) (ANNITA®I ALC , PM 180R) (ภาพที่ ช.4 ภาคผนวก ช)
- หลอด centrifuge พลาสติกขนาด 100 ml
- เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius , A200S)
- เครื่องแก้วต่าง ๆ

<u>อุปกรณ์ในการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลินทรีย์ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม</u>

- หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave) (Tomy , SS-3201)
- ตู้บ่มเพาะเชื้อ (Incubator) ช่วงอุณหภูมิ 25-30°C
- ปิเปต

- จานเพาะเชื้อ

<u>อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม</u>

- แก้วใสสำหรับใส่ตัวอย่างขนาดประมาณ 50 ml
- แก้วน้ำพลาสติก
- แบบทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิธีวิเคราะห์ แบ่งออกเป็น 4 วิธี คือ

1. วิธีวิเคราะห์ทางเคมี (รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.)

- วิเคราะห์ความชื้น โดยคำนวณน้ำหนักที่หายไปหลังผ่านการอบแห้ง (AOAC : 925.09 B , 1995) (รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.1)
- วิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน โดยวิธี Kjeldahl (AOAC : 991.23 , 1995) (รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.1)
- วิเคราะห์หาปริมาณไขมัน โดยใช้ปิโตรเลียมอีเธอร์สกัด (AOAC : 920.39 , 1995 สำหรับเมล็ดถั่วเหลือง และ 905.02 , 2000 สำหรับน้ำนมถั่วเหลือง) (รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.1)
- วิเคราะห์ปริมาณเถ้า โดยคำนวณจากน้ำหนักที่ได้หลังจากการเผา (AOAC : 923.03 , 1995) (รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.1)
- วิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียม โดยใช้เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (AOAC : 991.25 , 1995) (รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.2)
- วิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมอิสระ (free calcium) โดยใช้เครื่อง Atomic Absorption Spectrophotometer (ดัดแปลงจากวิธีของ Torikata, Ishihara และ Yano, 1987) (รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ก.3)

2. วิธีวัดทางกายภาพ (รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ข.)

- วัดความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยใช้ pH meter
- วัดความหนืด โดยใช้ Brookfield viscometer หัวเข็มเบอร์ cP 41 ความเร็วรอบ 100 rpm ที่ อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 30 วินาที (ใช้ตัวอย่าง 2 ml)
- ดูการตกตะกอนของโปรตีน โดยวัดปริมาตรส่วนใสจากการ centrifuge ความเร็วรอบ 3,000 rpm 20 นาที (ดัดแปลงจากวิธีของ Mcdermott, Haper และ Whitley, 1981; Rasyid และ Hansen, 1991) (รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ข.1)
- ดูการตกตะกอนของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมบรรจุกระป๋อง โดยวัดความคงตัวของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมด้วยการ centrifuge ความเร็วรอบ 3,000 rpm 20 นาที (ดัดแปลงจากวิธีของ Weingartner และคณะ, 1983) (รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ข.2)
- วัดสี โดยใช้เครื่อง Minolta Chroma meter
- สังเกตการเกิด salting out (ตะกอนของโปรตีน) ด้วยสายตา

3. วิธีวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์ (รายละเอียดดังแสดงในภาคผนวก ค.)

- หาจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total Plate Count) โดยการ pour plate

4. <u>วิธีประเมินผลการยอมรับทางประสาทสัมผัส</u>

ใช้ผู้ทดสอบกึ่งฝึกฝนจำนวน 9 คน ซึ่งเป็นนิสิตปริญญาโทภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย โดยฝึกฝนให้ผู้ทดสอบคุ้นเคยกับผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมด้วยวิธี triangle test ตามแบบทดสอบในภาคผนวก ง.1 และให้ทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ผลิตได้ โดยใช้แบบทดสอบ scaling test ตามแบบทดสอบในภาคผนวก ง.2 ง.3 ง.4

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขั้นตอนและวิธีดำเนินงานวิจัย

ศึกษาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ

นำเมล็ดถั่วเหลืองที่ผ่านการบดด้วยเครื่องบดความเร็วรอบสูงและน้ำนมถั่วเหลืองที่เตรียมได้ในระดับห้องปฏิบัติการตามวิธีการของสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีได้แก่ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า และปริมาณแคลเซียม วิเคราะห์ 3 ซ้ำแล้วหาค่าเฉลี่ย

วิธีการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองในระดับห้องปฏิบัติการมีรายละเอียดดังนี้คือ แช่ถั่วในน้ำอุณหภูมิ 65^{O}C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ขยี้เอาเปลือกถั่วออก ล้างให้สะอาด ลวกในน้ำเดือดเป็นเวลา 1 นาที เพื่อยับยั้งเอนไซม์ lipoxygenase บดถั่วเหลืองโดยใช้น้ำอัตราส่วนถั่วเหลืองแห้ง : น้ำ (อุณหภูมิน้ำประมาณ 80 ^{O}C) เท่ากับ 1 : 6 นำ slurry ที่ได้มาให้ความร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 82^{O}C เป็นเวลา 10 นาที (Liu, 1997) เพื่อทำลายเอนไซม์ lipoxygenase และทำให้สกัดโปรตีนออกมาได้มากขึ้น (Shurtleff และ Aoyagi, 1979) พร้อมกวนเบา ๆ กรองกากถั่วเหลืองออกโดยใช้ผ้าขาวบางชนิดตาละเอียด 4 ชั้นและบีบอัดด้วยเครื่อง pneumatic press ความดัน 120 psi 5 ครั้ง ครั้งละ 30 วินาที จะได้น้ำนมถั่วเหลืองที่มีความเข้มข้นประมาณ 6^{O}brix เติมน้ำจนเป็น 4^{O}brix แล้วเติมน้ำตาลทรายจนได้ 15^{O}brix ให้ความร้อนน้ำนมถั่วเหลืองจนได้อุณหภูมิ 90^{O}C พร้อมกวนเบา ๆ แล้วทำให้เย็นโดย วิธีการทำน้ำนมถั่วเหลืองแสดงในภาพที่ 3.1

แช่ถั่วเหลือง ครั้งละ 250 กรัม (65^{O}C 1 ชั่วโมง)

↓

ขยี้เอาเปลือกออก

↓

ลวกถั่วเหลืองในน้ำเดือด 1 นาที

↓

บดถั่วเหลือง (ถั่ว : น้ำ = 1 : 6 อุณหภูมิน้ำ 80^{O}C)

ด้วยเครื่องโม่ถั่วเหลือง (Vita mix)

↓

ให้ความร้อน slurry (82^{O}C 10 นาที)

↓

ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการทำน้ำนมถั่วเหลือง

การเสริมแคลเซียมในน้ำนมถั่วเหลือง

ในงานวิจัยส่วนต่อไปนี้ได้แบ่งงานวิจัยเป็น 3 ส่วนได้แก่

3.1 การผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมในระดับห้องปฏิบัติการ

- 3.1.1 ศึกษาผลของชนิดเกลือแคลเซียม ปริมาณแคลเซียม และ pH ต่อสมบัติของน้ำนมถั่วเหลือง
- 3.1.2 ทดลองหาปริมาณ STPP ที่เหมาะสม
- 3.1.3 ศึกษาหาปริมาณแคลเซียมที่เหมาะสมสำหรับเติมในน้ำนมถั่วเหลืองเสริม
- 3.1.4 ศึกษาสมบัติด้านต่าง ๆ ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม

3.2 การผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแบบพาสเจอร์ไรซ์ในโรงงานนำร่อง

- 3.2.1 การผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแบบพาสเจอร์ไรซ์บรรจุขวดแก้วในโรงงานนำร่อง
- 3.2.2 ศึกษาสมบัติด้านต่าง ๆ ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแบบพาสเจอร์ไรซ์ในโรงงานนำร่อง

3.3 การผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแบบสเตอริไลซ์ในโรงงานนำร่อง

- 3.3.1 ศึกษาหาเวลาในการฆ่าเชื้อน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ผลิตในโรงงานนำร่อง

3.3.2 ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมผลิตในโรงงานนำร่อง

โดยมีรายละเอียดในการวิจัยดังนี้

3.1 การผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมในระดับห้องปฏิบัติการ

3.1.1 ศึกษาผลของชนิดเกลือแคลเซียม ปริมาณแคลเซียม และpH ต่อสมบัติของน้ำนมถั่วเหลือง

นำน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมน้ำตาลทรายจนได้ brix เป็น 15^{O} มาเติมสารละลายโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (STPP) อิ่มตัว (ความเข้มข้น 20 % (W/W) ให้มีปริมาณ STPP ในน้ำนมถั่วเหลืองเป็น 1% (W/V) เพื่อเป็น chelating agent (สารที่จับโลหะ เช่น แคลเซียม) (Zemel และ Shelef, 1985) แบ่งตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองที่ได้ตัวอย่างละ 50 ml ใส่บีกเกอร์ที่มีเกลือแคลเซียมที่ละลายในน้ำ 2 ml ปรับ pH ตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมด้วย NaOH 1M และ citric acid 1M ให้ความร้อนจนน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมมีอุณหภูมิ $90^{O}C$ แล้วทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้องโดยใช้น้ำหล่อเย็น วิธีการทำน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแสดงในภาพที่ 3.2

น้ำนมถั่วเหลืองที่เติมน้ำตาลทรายจนได้ 15^{O} brix

↓

เติมสารละลายโซเดียมไตรโพลีฟอสเฟต (STPP)
ให้มีความเข้มข้นของ STPP สุดท้ายในน้ำนมเป็น 1% (W/V)*

↓

เติมน้ำนมถั่วเหลือง 50 ml ลงในบีกเกอร์ที่มีเกลือแคลเซียมที่ละลายน้ำ 2 ml

↓

ปรับ pH ด้วย NaOH 1M และ citric acid 1M

↓

ให้ความร้อนจนน้ำนมถั่วเหลืองมีอุณหภูมิ $90^{O}C$

↓

ทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้องโดยใช้น้ำหล่อเย็น

ภาพที่ 3.2 ขั้นตอนการทำน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม (* อ้างอิงจาก Zemel และ Shelf (1985))

ตัวแปรที่ศึกษาคือ เกลือแคลเซียมแลคเตต แคลเซียมคลอไรด์ แคลเซียมกลูโคโนแลคเตต โดยเกลือแคลเซียมแต่ละชนิดจะแปรปริมาณแคลเซียมเป็น 120 140 และ 160 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml แปรระดับ pH ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมเป็น 6.0 7.0 และ 8.0

การติดตามผล

1. ดูการตกตะกอนของโปรตีน
2. นำตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมเกลือแคลเซียมแต่ละชนิดในสภาวะที่ให้ปริมาตรส่วนใสมากที่สุด (โปรตีนตกตะกอนน้อยที่สุด) มาวิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียม วิเคราะห์ 3 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย

การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้ (Cochran และ Cox , 1985)

การตกตะกอนของโปรตีนของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมใช้ Symmetric Factorial Experiment ขนาด 3*3 ทดลอง 3 ซ้ำ สำหรับเปรียบเทียบปริมาตรส่วนใสของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่สภาวะต่าง ๆ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมของน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมเกลือแคลเซียมแต่ละชนิด (สภาวะที่มีการตกตะกอนของโปรตีนน้อยที่สุด) จึงได้นำตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมดังกล่าวยกเว้นน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมแลคเตต (ได้แก่ น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมคลอไรด์ ปริมาณแคลเซียม 120 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 8.0 และน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 120 และ 140 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 8.0) และน้ำนมถั่วเหลืองที่มีปริมาตรส่วนใสรองลงมา (น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 120 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0) ให้ผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสทำการทดสอบ พบว่าไม่เป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบ เนื่องจากผู้ทดสอบให้ความเห็นว่า ตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมดังกล่าวมีรสเค็ม เฝื่อน และมีสีเหลืองอมเขียว ซึ่งสามารถสังเกตเห็นได้ตั้งแต่ต้น ซึ่งอาจเกิดเนื่องจากการใช้ STPP มากเกินไป (1% (W/V)) (Zemel, 1985) จึงได้ทดลองผลิตน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 1% (W/V) เพื่อทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส

การติดตามผล

ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านต่าง ๆ คือ สี กลิ่นถั่ว รสหวาน รสชาติแปลกปลอม และการยอมรับรวม โดยใช้วิธีการทดสอบแบบ scaling ระดับคะแนน 1-10 (แบบทดสอบแสดงในภาคผนวก ง.2) ใช้ผู้ทดสอบกึ่งฝึกฝน 9 คน

การวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสใช้ Randomized Complete Block Design ทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

จากผลการทดลองพบว่า ผู้ทดสอบไม่ให้การยอมรับทางประสาทสัมผัสจึงต้องทดลองหาปริมาณ STPP ที่เหมาะสม

3.1.2 ทดลองหาปริมาณ STPP ที่เหมาะสม

จากการทดลองข้อ 3.1.1 ปรากฏว่าน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 1% (W/V) ไม่เป็นที่ยอมรับทางประสาทสัมผัสเนื่องจากเติม STPP ในปริมาณที่มากเกินไป จึงได้ทดลองหาปริมาณ STPP ที่เหมาะสมโดยแปรปริมาณ STPP เป็น 0.1 0.2 0.3 และ 0.5% (W/V) ตามลำดับ เพื่อหาปริมาณ STPP ที่เหมาะสมสำหรับเติมในน้ำนมถั่วเหลืองที่ผู้ทดสอบให้การยอมรับทางประสาทสัมผัสมากที่สุด

การติดตามผล

ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านต่าง ๆ คือ สี กลิ่นถั่ว รสหวาน รสชาติแปลกปลอม และการยอมรับรวม โดยใช้วิธีการทดสอบแบบ scaling ระดับคะแนน 1-10 (แบบทดสอบแสดงในภาคผนวก ง.2) ใช้ผู้ทดสอบกึ่งฝึกฝน 9 คน

การวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้

การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสใช้ Randomized Complete Block Design ทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

เลือกปริมาณ STPP ที่ผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสให้การยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านต่าง ๆ มากที่สุด มาทดสอบหาปริมาณแคลเซียมสำหรับเติมในน้ำนมถั่วเหลืองในขั้นต่อไป

3.1.3 ศึกษาหาปริมาณของแคลเซียมที่เหมาะสมสำหรับเติมในน้ำนมถั่วหลือง

ทดลองหาปริมาณแคลเซียมที่เหมาะสมโดยนำน้ำนมถั่วเหลืองที่เติม STPP ในปริมาณที่เหมาะสมจากข้อ 3.1.2 มาเติมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตที่เลือกได้จากข้อ 3.1.1 เนื่องจากสามารถเสริมแคลเซียมได้ในปริมาณมากที่สุด (140 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml) โดย

แปรปริมาณแคลเซียมเป็น 35 39.5 43.8 52.5 และ 70 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ตามลำดับ เพื่อให้สอดคล้องกับปริมาณ STPP ที่ต้องลดลง

การติดตามผล

สังเกตการเกิด salting out ของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมโดยการดูด้วยตาเปล่า ทดลอง 3 ซ้ำสำหรับเปรียบเทียบการเกิด salting out ของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ปริมาณแคลเซียมต่างกัน

เลือกปริมาณแคลเซียมที่ไม่ทำให้โปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมเกิด salting out มาศึกษาสมบัติของน้ำนมถั่วเหลืองเหลืองเสริมแคลเซียมในขั้นถัดไป

3.1.4 ศึกษาสมบัติด้านต่าง ๆ ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม

ศึกษาสมบัติด้านต่าง ๆ ของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลือง และน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการ (ใช้ตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลือง 50 ml) ตามขั้นตอนในข้อ 3.1.1 โดยใช้ปริมาณ STPP ที่เหมาะสมจากข้อ 3.1.2 ชนิดเกลือแคลเซียมและระดับ pH ที่เหมาะสมจากข้อ 3.1.1 และปริมาณแคลเซียมที่เหมาะสมจากข้อ 3.1.3 โดยตัวอย่างที่นำมาศึกษาคือ

- น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 35 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 8.0
- น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 8.0
- น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0
- น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมคลอไรด์ ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 8.0

การติดตามผล

1. ดูการตกตะกอนของโปรตีน
2. วัดความหนืด
3. วัดสี
4. วิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียม วิเคราะห์ 3 ซ้ำแล้วหาค่าเฉลี่ย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้

การตกตะกอนของโปรตีน ความหนืด และสี ของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการใช้ Completely Randomized Design ทดลอง 4 ซ้ำ สำหรับเปรียบเทียบสมบัติด้านต่าง ๆ ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่สภาวะต่าง ๆ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

หลังจากนั้นได้ขยายผลการทดลองไปเป็นการผลิตในโรงงานนำร่องโดยเตรียมตัวอย่างครั้งละ 10 ลิตร เพื่อศึกษาความเป็นไปได้จากการผลิตและผลจากการผลิต

3.2 การผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแบบพาสเจอร์ไรซ์ในโรงงานนำร่อง

3.2.1 การผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแบบพาสเจอร์ไรซ์บรรจุขวดแก้วในโรงงานนำร่อง

ทดลองผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแบบพาสเจอร์ไรซ์ในโรงงานนำร่องโดยใช้สภาวะการผลิตเดียวกับข้อ 3.1.4 รายละเอียดของวิธีการผลิตมีดังนี้

หลังจากบดถั่ว (8 กิโลกรัม) กับน้ำแล้วจะได้ slurry ให้ความร้อน slurry จนได้อุณหภูมิประมาณ 82^{O}C เป็นเวลา 10 นาที ด้วยหม้อต้มผนัง 2 ชั้น กวนเบา ๆ ด้วยไม้พาย กรองกากถั่วเหลืองออกด้วยเครื่อง decantor จะได้น้ำนมถั่วเหลืองที่มีความเข้มข้นประมาณ 6^{o}brix เติมน้ำจนได้ความเข้มข้นเป็น 4^{o}brix แล้วเติมน้ำตาลทรายจนเป็น 15^{o}brix เติมสารละลาย STPP อิ่มตัว เติมสารละลายเกลือแคลเซียม ปรับ pH ด้วย NaOH 1M และ citric acid 1M ให้ความร้อนจนน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมมีอุณหภูมิ 90 ^{O}C ด้วยหม้อต้มผนัง 2 ชั้น พร้อมกวนเบา ๆ นำน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ได้ไป homogenize ที่ความดัน 2,500 ปอนด์/ตารางนิ้ว เพื่อให้เม็ดไขมันแตกตัวเป็นอนุภาคเล็ก ๆ นำน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมไปต้มให้เดือดพร้อมกวนเบา ๆ บรรจุลงในขวดแก้วปากแคบขนาด 250 ml ขณะร้อน ปิดฝาจีบ นำไปทำให้เย็นโดยใช้น้ำหล่อเย็น แล้วเก็บไว้ในตู้เย็น (วิธีการทำน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมในโรงงานนำร่องแสดงในผังภาพที่ 3.3)

<u>ภาพที่ 3.3</u> ขั้นตอนการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแบบพาสเจอร์ไรซ์ที่ผลิตในโรงงานนำร่อง

นำตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเหลืองเสริมแคลเซียมต่าง ๆ ที่ผลิตได้ไปศึกษาสมบัติด้านต่าง ๆ ในการทดลองข้อต่อไป

3.2.2 <u>ศึกษาสมบัติด้านต่าง ๆ ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแบบพาสเจอร์ไรซ์ในโรงงานนำร่อง</u>

ศึกษาสมบัติด้านต่าง ๆ ของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ผลิตในโรงงานนำร่องจากข้อ 3.2.1 ในวันถัดมา

<u>การติดตามผล</u>

1. ดูการตกตะกอนของโปรตีน
2. วัดความหนืด
3. วัดสี
4. ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านต่าง ๆ คือการตกตะกอน สี กลิ่นถั่ว รสหวาน รสชาติแปลกปลอม และการยอมรับรวม โดยใช้วิธีทดสอบแบบ scaling ระดับคะแนน 1-10 (แบบทดสอบดังแสดงในภาคผนวก ง.3) ใช้ผู้ทดสอบกึ่งฝึกฝน 9 คน

<u>การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้</u>

1. การตกตะกอนของโปรตีน ความหนืด และสี ของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ผลิตในโรงงานนำร่องใช้ Completely Randomized Design ทดลอง 4 ซ้ำ สำหรับเปรียบเทียบสมบัติด้านต่าง ๆ ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่สภาวะต่าง ๆ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test
2. การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสใช้ Randomized Complete Block Design ทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

จากผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่า น้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ผลิตในโรงงานนำร่องที่ปรับ pH เป็น 8.0 อาจมีรสขมจากการใช้ NaOH ปรับ pH ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจึงนำตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ได้รับการยอมรับทางประสาทสัมผัสมากที่สุดคือน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการ ที่มีปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0 ด้วย NaOH และ Na_2CO_3 มาศึกษาสมบัติด้านต่าง ๆ

การติดตามผล

1. ดูการตกตะกอนของโปรตีน
2. วัดความหนืด
3. วัดสี
4. วิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียม วิเคราะห์ 3 ซ้ำแล้วหาค่าเฉลี่ย
5. ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านต่าง ๆ คือ การตกตะกอน สี กลิ่นถั่ว รสหวาน รสชาติแปลกปลอม และการยอมรับรวม โดยใช้วิธีทดสอบแบบ scaling ระดับคะแนน 1-10 ใช้ผู้ทดสอบกึ่งฝึกฝน 9 คน

การวางแผนการทดลองและวิเคราะห์ข้อมูลที่ได้

1. การตกตะกอนของโปรตีน ความหนืด และสี ของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการใช้ Completely Randomized Design ทดลอง 5 ซ้ำ สำหรับเปรียบเทียบสมบัติด้านต่าง ๆ ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่สภาวะต่าง ๆ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test
2. การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสใช้ Randomized Complete Block Design ทดลอง 2 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

จากผลการทดลองพบว่า Na_2CO_3 สามารถใช้ปรับ pH แทน NaOH ได้ โดยไม่มีผลต่อสมบัติด้านต่าง ๆ รวมทั้งการยอมรับทางประสาทสัมผัสของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม จึงได้ขยายการทดลองโดยผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0 ด้วย Na_2CO_3 ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแบบสเตอริไลซ์ในงานวิจัยส่วนต่อไป

3.3 การผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแบบสเตอริไลซ์ในโรงงานนำร่อง

3.3.1 ศึกษาหาเวลาในการฆ่าเชื้อน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ผลิตในโรงงานนำร่อง

ทดลองผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตในโรงงานนำร่องที่มีปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0 ด้วย Na_2CO_3 มาให้ความร้อนจนอุณหภูมิถึง $90^{\circ}C$ ด้วยหม้อต้มผนัง 2 ชั้น กวนเบา ๆ ด้วยไม้พาย นำตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมไป homogenize ที่ความดัน 2,500 ปอนด์/ตารางนิ้ว บรรจุตัวอย่าง

น้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม 250 ml ในกระป๋องเคลือบแลกเกอร์ขนาด 202*503 ที่เจาะรูด้านข้างที่กึ่งกลางกระป๋อง และที่ตำแหน่ง 3/4 นิ้วจากก้นกระป๋อง (สำหรับอาหารกระป๋องที่มีการส่งผ่านความร้อนแบบนำความร้อนและพาความร้อนตามลำดับ) อย่างละ 4 กระป๋อง เพื่อเสียบเทอร์โมคับเปิล วางฝาลงบนกระป๋อง นำกระป๋องที่ได้ผ่าน exhaust box เป็นเวลา 5 นาที แล้วปิดกระป๋อง ควบคุมอุณหภูมิขณะปิดกระป๋องอยู่ที่ 70-80 ^{O}C นำกระป๋องที่บรรจุตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมไปฆ่าเชื้อใน retort ที่อุณหภูมิ 121^{O}C (อุณหภูมิไอน้ำเท่ากับ 121.1^{O}C ความดันไอน้ำเท่ากับ 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว) บันทึกเวลาและอุณหภูมิของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมด้วยเครื่องบันทึกอุณหภูมิจนกระทั่งอุณหภูมิถึง 121 ^{O}C เพื่อนำไปเขียน heat penetration curve แล้วทำให้เย็นโดยแช่ในอ่างน้ำ นำข้อมูลที่ได้มาคำนวณหาเวลาในการฆ่าเชื้อด้วยวิธีคำนวณ โดยใช้ข้อมูลการต้านทานความร้อนของ Clostridium sporogenes ซึ่งมีค่า F_{250} = 7.38 นาที (Kwok และ Niranjan, 1995) ขั้นตอนการหาเวลาในการฆ่าเชื้อแสดงในภาพที่ 3.4

น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตที่ผลิตในโรงงานนำร่องที่มีปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง100 ml ปรับ pH เป็น 7.0 ด้วย Na_2CO_3

↓

ให้ความร้อนจนถึง 90^{O}C

↓

homogenize ที่ความดัน 2,500 ปอนด์/ตารางนิ้ว

↓

บรรจุน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมในกระป๋องเคลือบแลกเกอร์ขนาด 202*503

↓

ผ่าน exhaust box

↓

seal กระป๋อง

↓

ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121^{O}C

↓

บันทึกอุณหภูมิที่เวลาต่าง ๆ ด้วยเครื่องบันทึกอุณหภูมิ

↓

ทำให้เย็นโดยแช่ในอ่างน้ำ

ภาพที่ 3.4 ขั้นตอนการหาเวลาฆ่าเชื้อน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมบรรจุกระป๋อง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นำเวลาในการฆ่าเชื้อที่หาได้มาใช้ฆ่าเชื้อน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมบรรจุกระป๋องเพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพในการทดลองขั้นต่อไป

3.3.2 <u>ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ผลิตในโรงงานนำร่อง</u>

นำน้ำนมถั่วเหลือง น้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V) ที่ผลิตในโรงงานนำร่อง จำนวนตัวอย่างละ 10 ลิตร บรรจุตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองในกระป๋องเคลือบแลกเกอร์ขนาด 202*503 จำนวน 50 กระป๋องและน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ผลิตในโรงงานนำร่อง จำนวน 130 ลิตร (ภาพที่ ช.12 ภาคผนวก ช) โดยใช้สภาวะในการผลิตตามข้อ 3.2.2 บรรจุน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมในกระป๋องเคลือบแลกเกอร์ขนาด 202*503 จำนวน 500 กระป๋อง แล้วนำมาฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 ^{O}C นาน 16 นาที เก็บผลิตภัณฑ์ภายใต้อุณหภูมิ 55 45 และ 10 ^{O}C เพื่อตรวจวิเคราะห์เป็นระยะเวลา 2 เดือน แบ่งสุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์มาวิเคราะห์คุณภาพสัปดาห์ละ 2 ครั้งสำหรับตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ 55 ^{O}C และสัปดาห์ละครั้งสำหรับตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ 45 และ 10 ^{O}C โดยตรวจ

- การตกตะกอนของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมบรรจุกระป๋อง
- ความหนืด
- สี
- pH
- วิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียม
- วิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมอิสระ
- ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ที่ความเข้มข้น 10^{0} 10^{-1} และ 10^{-2}

วิเคราะห์ 2 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย

ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านต่าง ๆ คือ การตกตะกอน สี กลิ่นถั่ว รสหวาน รสชาติแปลกปลอม และการยอมรับรวม โดยใช้วิธีทดสอบแบบ scaling ระดับคะแนน 1-10 (แบบทดสอบแสดงในภาคผนวก ง.4) ใช้ผู้ทดสอบกึ่งฝึกฝน 9 คน ทดสอบ 2 ซ้ำแล้วหาค่าเฉลี่ย

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลการศึกษาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวัตถุดิบ

วัตถุดิบที่ใช้ในงานวิจัยนี้ได้แก่ เมล็ดถั่วเหลืองผ่าซีก น้ำนมถั่วเหลืองที่สกัดด้วยน้ำอัตราส่วน 1 : 6 และน้ำนมถั่วเหลืองที่เตรียมได้ (ผลิตตามขั้นตอนในผังภาพ 3.1) เมื่อนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า และปริมาณแคลเซียม ได้ผลการวิเคราะห์ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดถั่วเหลืองผ่าซีกและน้ำนมถั่วเหลือง

องค์ประกอบ	ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ร้อยละโดยน้ำหนัก		
	เมล็ดถั่วเหลืองผ่าซีกที่คัดเปลือกออกแล้ว	น้ำนมถั่วเหลืองที่สกัดด้วยอัตราส่วน ถั่ว : น้ำ เท่ากับ 1 : 6	น้ำนมถั่วเหลืองที่ผ่านการปรับ brix แล้ว
ความชื้น	9.35 ± 0.12	94.16 ± 0.08	84.95 ± 0.02
โปรตีน	41.09 ± 0.31	3.36 ± 0.02	2.69 ± 0.03
ไขมัน	26.10 ± 0.19	1.47 ± 0.01	1.20 ± 0.02
เถ้า	5.36 ± 0.05	0.19 ± 0.00	0.17 ± 0.00
คาร์โบไฮเดรต*	18.1	0.58	10.99
แคลเซียม	0.21 ± 0.01	0.02 ± 0.00	0.01± 0.00

* คิดจาก 100 – (ความชื้น + โปรตีน + ไขมัน + เถ้า)

จากตารางที่ 4.1 พบว่า เมล็ดถั่วเหลืองผ่าซีกที่คัดเปลือกออกแล้วมีโปรตีน 41.09% ไขมัน 26.1% เถ้า 5.36% คาร์โบไฮเดรต 18.1% และแคลเซียม 0.21% ส่วนน้ำนมถั่วเหลืองที่สกัดด้วยน้ำในอัตราส่วนถั่ว : น้ำ เป็น 1 : 6 มีโปรตีน 3.6% ไขมัน 1.47% เถ้า 0.19% คาร์โบไฮเดรต 0.58% และแคลเซียม 0.02% เมื่อคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ที่สกัดได้พบว่าสามารถสกัดโปรตีนได้ 29.44% ไขมัน

18.93% เถ้า 11.94% คาร์โบไฮเดรต 10.76% และแคลเซียม 0.02% จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นว่าเปอร์เซ็นต์ขององค์ประกอบทางเคมีที่สกัดได้ไม่ได้เป็นสัดส่วนตามปริมาณน้ำที่ใช้สกัด โดยเปอร์เซ็นต์ที่สกัดได้จะขึ้นกับสารที่ใช้ในการสกัด ซึ่งถ้าจะผลิตน้ำนมถั่วเหลืองให้มีโปรตีนมากขึ้นอาจจะต้องเพิ่ม pH ของน้ำที่ใช้ในการสกัด ซึ่งจะทำให้โปรตีนมีการละลายเพิ่มขึ้น (จากภาพที่ 2.2) และจากข้อมูลดังกล่าวแสดงว่ายังเหลือโปรตีนในกากถั่วเหลืองอีกมาก จึงน่าจะมีการนำกากถั่วเหลืองที่ได้ไปผลิตอาหารเพื่อเป็นแหล่งของโปรตีนได้อีกทางหนึ่งด้วย

นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณแคลเซียมในน้ำนมถั่วเหลืองที่สกัดด้วยน้ำในอัตราส่วนถั่ว : น้ำ เท่ากับ 1 : 8 จะมีปริมาณแคลเซียมประมาณ 20 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml (เพียงจันทร์ ชัยวนนท์, 2542) แต่ในขณะที่น้ำนมถั่วเหลืองที่สกัดด้วยน้ำในอัตราส่วนถั่ว : น้ำ เท่ากับ 1 : 6 จะมีปริมาณแคลเซียมประมาณ 24 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ซึ่งถ้าจะดื่มน้ำนมถั่วเหลืองให้มีปริมาณแคลเซียม 800 mg ควรเลือกดื่มน้ำนมถั่วเหลืองที่สกัดด้วยอัตราส่วน ถั่ว : น้ำ สูงขึ้น ทั้งนี้ต้องดูความเป็นไปได้ในการผลิตด้วย

ผลการศึกษาการเสริมแคลเซียมในน้ำนมถั่วเหลือง

4.1 <u>ผลการศึกษาการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมในระดับห้องปฏิบัติการ</u>

4.1.1 <u>ผลการศึกษาผลของชนิดเกลือแคลเซียม ปริมาณแคลเซียม และ pH ต่อสมบัติของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม</u>

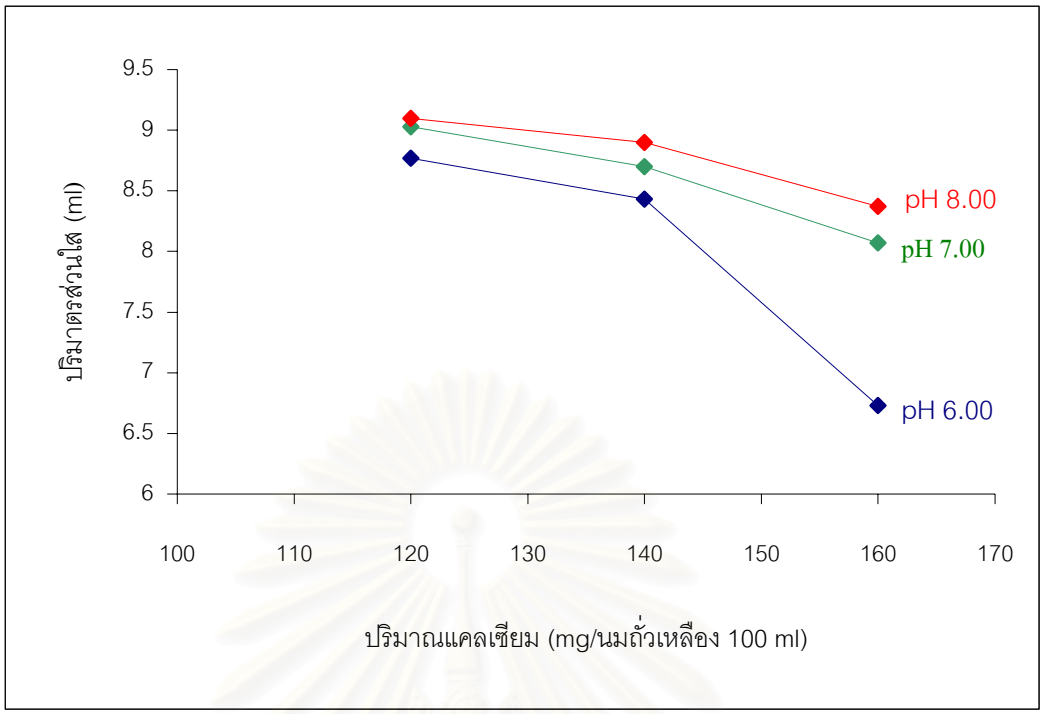
เมื่อนำเกลือแคลเซียมชนิดต่าง ๆ ได้แก่เกลือแคลเซียมแลคเตต แคลเซียมคลอไรด์ แคลเซียมกลูโคโนแลคเตต มาเติมในน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 1% (W/V) โดยแปรปริมาณแคลเซียมให้เป็น 120 140 และ 160 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml และแปรระดับ pH เป็น 6.0 7.0 และ 8.0 ด้วย NaOH 1M และ citric acid 1M นำน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ได้ไปให้ความร้อนจนอุณหภูมิถึง 90°C ทำให้เย็นถึงอุณหภูมิห้องโดยใช้น้ำหล่อเย็น นำตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมปริมาณ 10 ml ไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,000 rpm เป็นเวลา 20 นาที อ่านปริมาตรส่วนใสที่ได้เพื่อดูการตกตะกอนของโปรตีน (ถ้าปริมาตรส่วนใสมากแสดงว่าโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมตกตะกอนน้อย) ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.2 4.3 4.4 และภาพที่ 4.1 4.2 4.3 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.2 การตกตะกอนของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมเกลือแคลเซียมแลคเตตในตัวอย่างที่แปรปริมาณแคลเซียม และระดับ pH

ปริมาณแคลเซียมที่เติม (mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100ml)	pH	ปริมาตรส่วนใส (ml) (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)
120	6.00	$8.77^{c} \pm 0.06$
	7.00	$9.03^{a} \pm 0.06$
	8.00	$9.10^{a} \pm 0.00$
140	6.00	$8.43^{d} \pm 0.06$
	7.00	$8.70^{c} \pm 0.00$
	8.00	$8.90^{b} \pm 0.00$
160	6.00	$6.73^{f} \pm 0.06$
	7.00	$8.07^{e} \pm 0.06$
	8.00	$8.37^{d} \pm 0.08$
0 (ตัวอย่างควบคุม)	6.60	9.30

a,b ... ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งหมายถึง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



ภาพที่ 4.1 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรส่วนใสของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมแลคเตต ที่มีปริมาณแคลเซียมต่างกันในระดับ pH ที่ต่างกัน

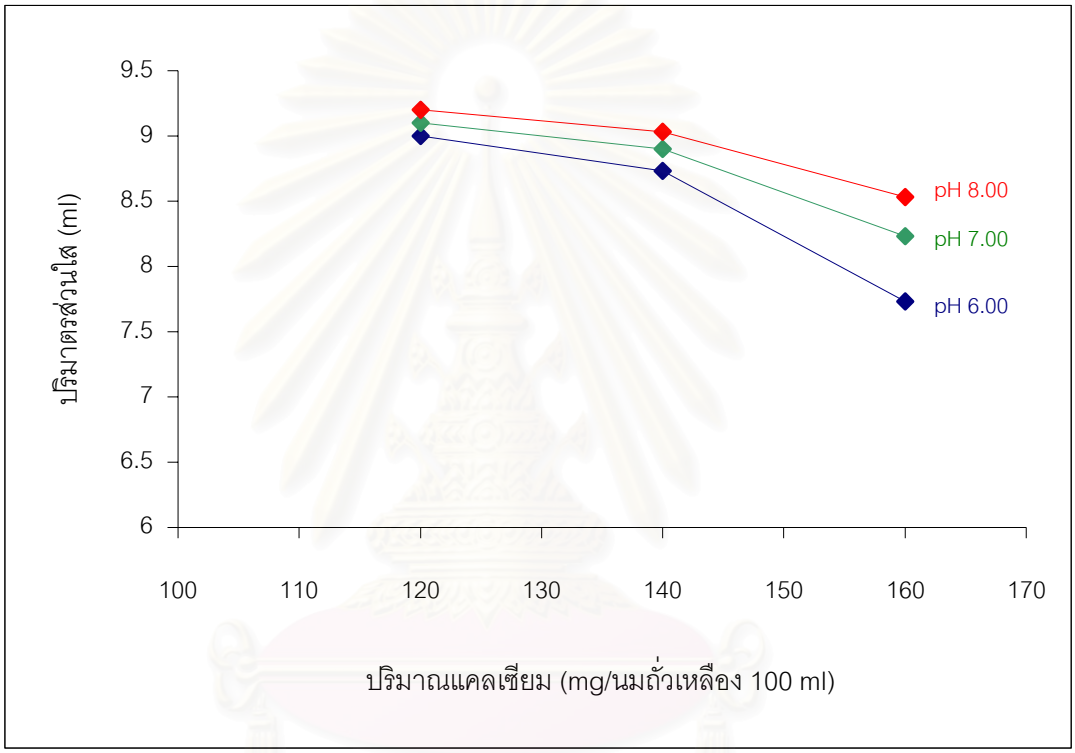
จากตารางที่ 4.2 เมื่อนำไปวิเคราะห์ข้อมูลตามแผนการทดลอง Symmetric factorial experiment ขนาด 3*3 พบว่า อิทธิพลร่วมระหว่างปริมาณแคลเซียมและระดับ pH มีผลต่อการตกตะกอนของโปรตีนของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมแลคเตตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (การวิเคราะห์ความแปรปรวนแสดงในตารางที่ ฉ.1 ภาคผนวก ฉ) โดยปริมาตรส่วนใสจะแสดงถึงการตกตะกอนของโปรตีนในตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองต่าง ๆ จากตารางจะเห็นว่าตัวอย่างควบคุมก็ยังมีการตกตะกอนของโปรตีน เมื่อเปรียบเทียบการตกตะกอนของโปรตีนของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมแลคเตตทุกตัวอย่างกับตัวอย่างควบคุมพบว่ามีความแตกต่างกัน และเมื่อเปรียบเทียบการตกตะกอนของโปรตีนของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมแลคเตตที่ปริมาณแคลเซียมและระดับ pH ต่างกันพบว่า เมื่อปริมาณแคลเซียมลดลง ระดับ pH เพิ่มขึ้น น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมแลคเตตจะมีการตกตะกอนของโปรตีนน้อยลง โดยปริมาณแคลเซียม 120 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 8.0 จะมีการตกตะกอนของโปรตีนน้อยที่สุด จึงเป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมแลคเตต

ตารางที่ 4.3 การตกตะกอนของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมคลอไรด์ในตัวอย่างที่แปรปริมาณแคลเซียม และระดับ pH

ปริมาณแคลเซียมที่เติม (mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100ml)	pH	ปริมาตรส่วนใส (ml) (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)
120	6.00	$9.00^{c} \pm 0.00$
	7.00	$9.10^{b} \pm 0.00$
	8.00	$9.20^{a} \pm 0.00$
140	6.00	$8.73^{e} \pm 0.06$
	7.00	$8.90^{d} \pm 0.00$
	8.00	$9.03^{bc} \pm 0.06$
160	6.00	$7.73^{h} \pm 0.06$
	7.00	$8.23^{g} \pm 0.06$
	8.00	$8.53^{f} \pm 0.06$
0 (ตัวอย่างควบคุม)	6.54	9.30

a,b ... ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งหมายถึง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 4.3 เมื่อนำไปวิเคราะห์ข้อมูลตามแผนการทดลอง Symmetric factorial experiment ขนาด 3*3 พบว่า อิทธิพลร่วมระหว่างปริมาณแคลเซียมและระดับ pH มีผลต่อการตกตะกอนของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมคลอไรด์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (การวิเคราะห์ความแปรปรวนแสดงในตารางที่ ฉ.2 ภาคผนวก ฉ) จากตารางจะเห็นว่า ตัวอย่างควบคุมก็ยังมีการตกตะกอนของโปรตีน เมื่อเปรียบเทียบการตกตะกอนของโปรตีนของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมคลอไรด์ทุกตัวอย่างกับตัวอย่างควบคุมพบว่ามีความแตกต่างกัน และเมื่อเปรียบเทียบการตกตะกอนของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมคลอไรด์ที่ปริมาณแคลเซียมและระดับ pH ต่างกันพบว่า เมื่อปริมาณแคลเซียมลดลง ระดับ pH เพิ่มขึ้น น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมคลอไรด์จะมีการตกตะกอนของโปรตีนน้อยลง โดยปริมาณแคลเซียม 120 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 8.0 จะมีการตกตะกอนของโปรตีนน้อยที่สุด จึงเป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมคลอไรด์



ภาพที่ 4.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรส่วนใสของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมคลอไรด์ที่มีปริมาณแคลเซียมต่างกันในระดับ pH ที่ต่างกัน

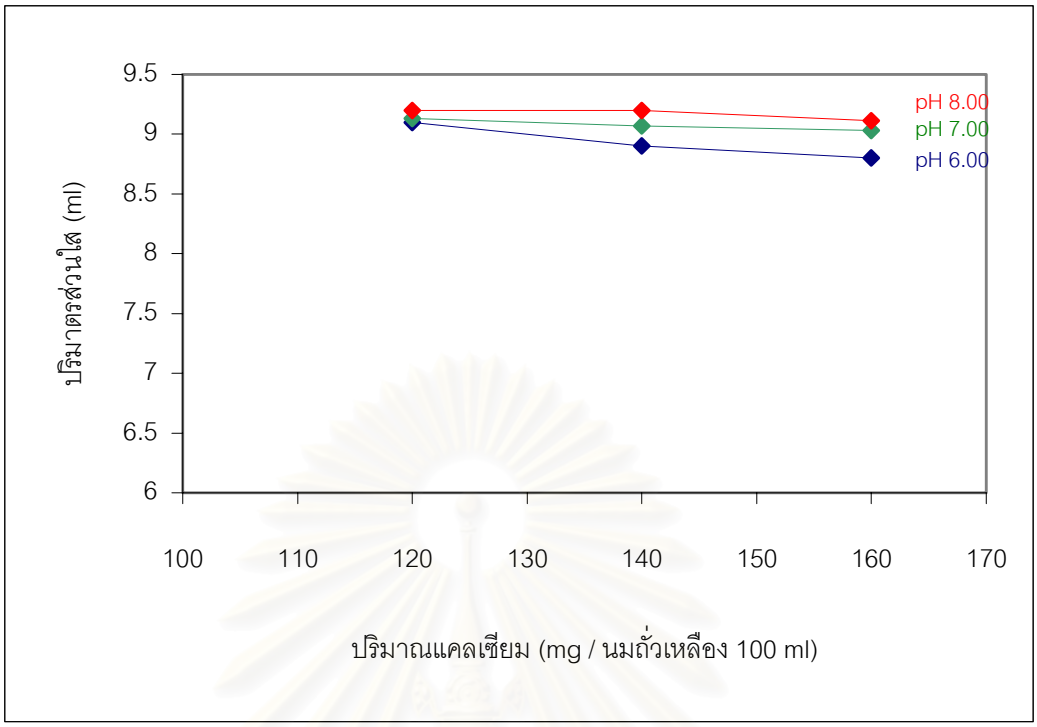
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.4 การตกตะกอนของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตในตัวอย่างที่แปรปริมาณแคลเซียมและระดับ pH

ปริมาณแคลเซียมที่เติม (mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml)	PH	ปริมาตรส่วนใส (ml) (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)
120	6.00	$9.10^{b} \pm 0.00$
	7.00	$9.13^{ab} \pm 0.06$
	8.00	$9.20^{a} \pm 0.00$
140	6.00	$8.90^{d} \pm 0.00$
	7.00	$9.07^{bc} \pm 0.06$
	8.00	$9.20^{a} \pm 0.00$
160	6.00	$8.80^{d} \pm 0.00$
	7.00	$9.03^{c} \pm 0.06$
	8.00	$9.11^{ab} \pm 0.06$
0 (ตัวอย่างควบคุม)	6.53	9.30

a,b ... ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งหมายถึง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 4.4 เมื่อนำไปวิเคราะห์ข้อมูลตามแผนการทดลอง Symmetric factorial experiment ขนาด 3*3 พบว่า อิทธิพลร่วมระหว่างปริมาณแคลเซียมและระดับ pH มีผลต่อการตกตะกอนของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (การวิเคราะห์ความแปรปรวนแสดงในตารางที่ ฉ.3 ภาคผนวก ฉ) จากตารางจะเห็นว่า ตัวอย่างควบคุมก็ยังมีการตกตะกอนของโปรตีน เมื่อเปรียบเทียบการตกตะกอนของโปรตีนของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตทุกตัวอย่างกับตัวอย่างควบคุมพบว่ามีความแตกต่างกัน และเมื่อเปรียบเทียบการตกตะกอนของโปรตีนของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตที่ปริมาณแคลเซียมและระดับ pH ต่างกันพบว่า เมื่อปริมาณแคลเซียมลดลง ระดับ pH เพิ่มขึ้น น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต จะมีการตกตะกอนของโปรตีนน้อยลง โดยปริมาณแคลเซียม 120 และ 140 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 8.0 จะมีการตกตะกอนของโปรตีนน้อยที่สุด แสดงว่าเป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต

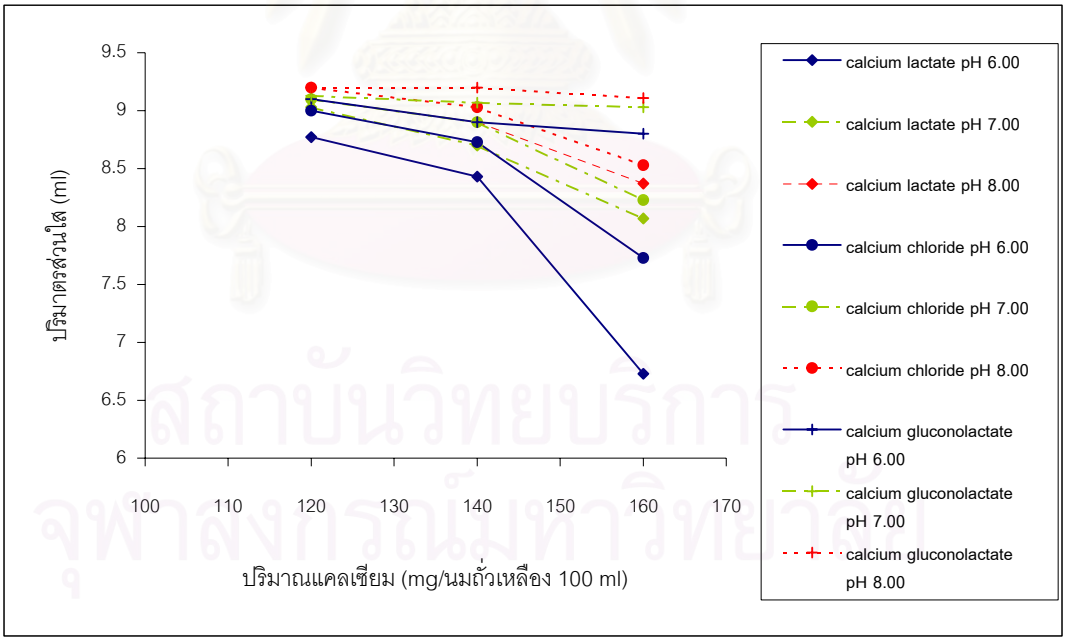


ภาพที่ 4.3 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรส่วนใสของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตที่มีปริมาณแคลเซียมต่างกันในระดับ pH ที่ต่างกัน

จากข้อมูลในตารางที่ 4.2 4.3 และ 4.4 และภาพที่ 4.1 4.2 และ 4.3 จะสังเกตเห็นว่าแม้แต่ตัวอย่างควบคุมก็ยังมีการตกตะกอนของโปรตีน เนื่องจากโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองมีทั้งส่วนที่เป็น soluble fraction และ insoluble fraction (Ono, Katho และ Mothizuki, 1993) นอกจากนี้การให้ความร้อนแก่น้ำนมถั่วเหลืองจะทำให้โปรตีนเกิดการ aggregate (Fennema, 1976; Mulvihill และ Kinsella, 1987) ดังนั้นเมื่อนำไปผ่านการ centrifuge โปรตีนจึงตกตะกอนลงมาบ้างเล็กน้อย และเมื่อพิจารณาการตกตะกอนของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมพบว่าน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมแลคเตต และน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมคลอไรด์ปริมาณแคลเซียม 120 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 8.0 และน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 120 และ 140 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 8.0 จะมีการตกตะกอนของโปรตีนน้อยที่สุด ซึ่งอธิบายได้ว่า เมื่อ pH สูงกว่า isoelectric point (pI = 4.2-4.6) จะทำให้โปรตีนมีแรงผลักกันระหว่างสายโมเลกุลของโปรตีนจากแรง electric มากกว่าแรง hydrophobic และ disulfide bond (Mulvihill และ Kinsella, 1987) ดังนั้นเมื่อใส่ด่างลงไปโปรตีนจะละลายได้ดีขึ้น เนื่องจากมีประจุลบมากขึ้น ทำให้เกิดการผลักกันเอง (Wolf และ Cowan, 1975) จากรูปที่ 2.2 ที่ pH 6.0 7.0 และ 8.0 โปรตีนถั่วเหลืองจะมีการ

ละลายประมาณ 68 85 และ 95% ตามลำดับ นอกจากนี้ระดับ pH จะส่งผลต่อจำนวนของแคลเซียมที่จับกับโปรตีน (Liu, 1997) เนื่องจากที่ pH เป็นด่างโปรตีนจะมีประจุเป็นลบมากกว่า pH ที่เป็นกรด ทำให้แคลเซียมซึ่งมีประจุเป็นบวกสามารถจับกับโปรตีนได้มากขึ้น (Fennema, 1976) จากรูปที่ 2.4 ที่ pH 6.0 7.0 และ 8.0 โปรตีนถั่วเหลืองจะจับกับแคลเซียมได้ประมาณ 23 25 และ 26 โมลต่อโปรตีน 10^5 กรัม จากข้อมูลดังกล่าวจะเห็นได้ว่า pH ส่งผลต่อการ aggregate (การรวมตัวกัน) ของโปรตีนมากกว่าการจับกับแคลเซียม (Nanba และ Nagasawa, 1986) ดังนั้นที่ pH 8.0 โปรตีนจะเกิดการผลักกันเองได้มากกว่าที่ pH 6.0 และ 7.0 ทำให้โปรตีนมีการละลายมากขึ้น จึงตกตะกอนน้อยกว่า และเมื่อพิจารณาที่ระดับ pH เท่ากันพบว่า ปริมาณแคลเซียมที่น้อยลง สายโปรตีนจะจับกับแคลเซียมเป็น calcium bridge (Fennema 1976) ได้น้อยลง จึงสรุปได้ว่า ที่ระดับ pH ยิ่งสูง ปริมาณแคลเซียมยิ่งต่ำ ทำให้โปรตีนตกตะกอนน้อยลง ปริมาตรส่วนใสจึงมากขึ้น

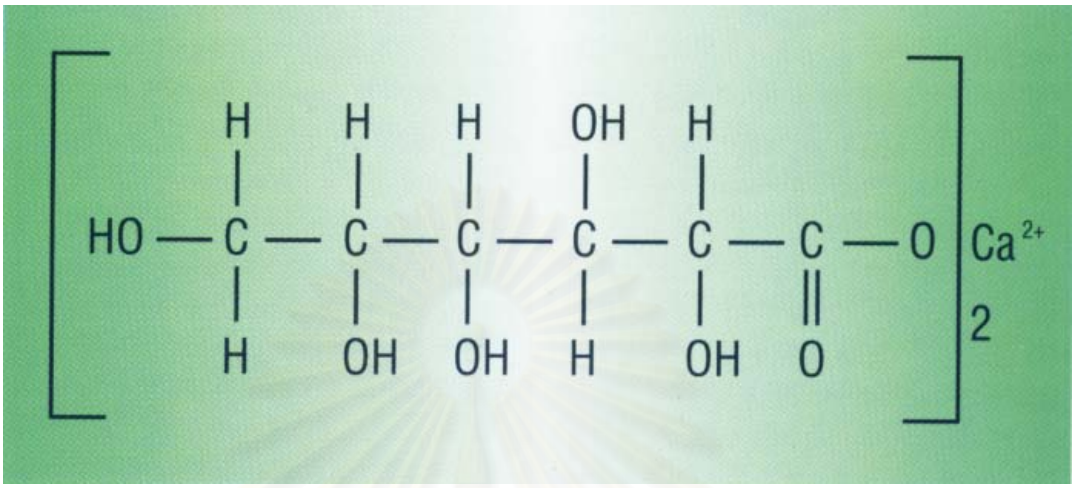
เมื่อพิจารณาภาพรวมของเกลือแคลเซียมแต่ละชนิดที่แปรปริมาณแคลเซียมเป็น 120 140 และ 160 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml แปรระดับ pH เป็น 6.0 7.0 และ 8.0 จะได้ผลดังภาพที่ 4.4



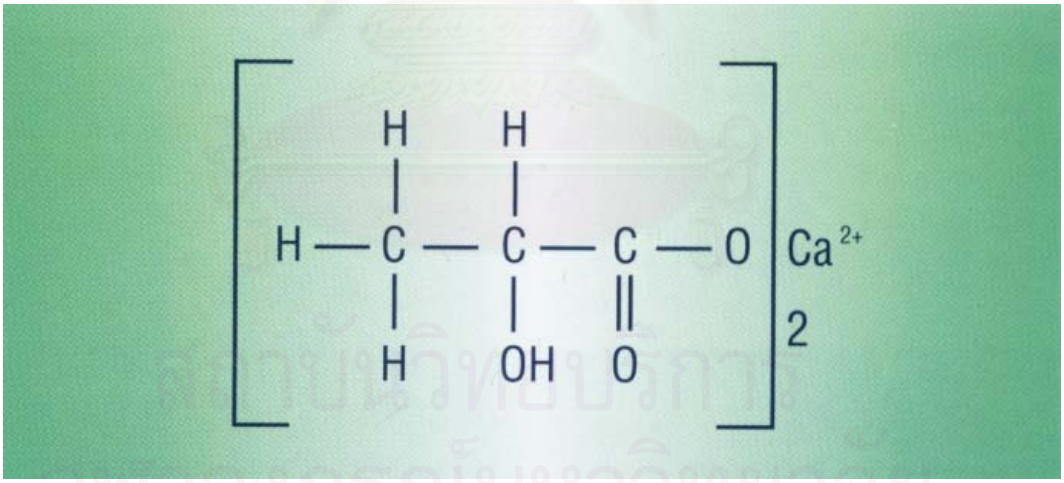
<u>ภาพที่ 4.4</u> กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรส่วนใสของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแต่ละชนิดที่ปริมาณแคลเซียมต่างกันในระดับ pH ที่ต่างกัน

จากภาพที่ 4.4 เมื่อเปรียบเทียบการใช้เกลือแคลเซียมแต่ละชนิดที่ปริมาณแคลเซียมและระดับ pH เดียวกันพบว่า โปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมแลคเตตมีแนวโน้มที่โปรตีนจะตกตะกอนมากที่สุด เกลือแคลเซียมคลอไรด์มีแนวโน้มตกตะกอนรองลงมา และเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตมีแนวโน้มตกตะกอนน้อยที่สุด ที่เป็นเช่นนี้อธิบายได้ว่า เกลือต่างชนิดกันจะเหนี่ยวนำให้เกิดการ aggregate หรือ salting out ได้ต่างกัน ขึ้นอยู่กับ hydration energy (พลังงานที่สารใช้จับกับน้ำ) และ steric hindrance (การบดบังประจุ) ของเกลือ (Damodaran และ Paraf, 1997) โดยโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่จะมีการจัดเรียงช่องว่างเพื่อซ่อนหรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาของอะตอมหรือกลุ่ม reactive site ของโมเลกุล (Solomons, 1996) จากภาพที่ 4.5 จะเห็นว่าถึงแม้ว่าโครงสร้างของเกลือแคลเซียมแลคเตตจะมีสายประจุลบที่ยาวกว่าเกลือแคลเซียมคลอไรด์ ซึ่งน่าจะเกิด steric hindrance ได้ดีกว่า แต่เนื่องจากเกลือแคลซียมแลคเตตมีค่าการละลายที่ต่ำเท่ากับ 9 g/น้ำ 100 ml ที่อุณหภูมิ 25°C เกลือแคลเซียมที่ใส่ลงไป (ปริมาณแคลเซียม 120 mg) จึงไม่สามารถละลายได้หมดในน้ำที่ใช้ละลายเกลือแคลเซียมก่อนเติมในน้ำนมถั่วเหลือง จึงต้องใช้น้ำในน้ำนมถั่วเหลืองมาช่วยละลายต่อ ทำให้น้ำในน้ำนมถั่วเหลืองน้อยลง สายโปรตีนจึงเข้าใกล้กันได้มาก ทำให้เกิดการ aggregate ของโปรตีนได้มากที่สุด ปริมาตรส่วนใสจึงน้อยที่สุด ส่วนเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตนั้นเป็นสารผสมระหว่างเกลือแคลเซียมแลคเตตกับเกลือแคลเซียมกลูโคเนต ซึ่งจากภาพที่ 4.5 จะเห็นได้ว่าเกลือแคลเซียมกลูโคเนตนั้นมีสายของประจุลบที่ยาว จึงอาจเกิด steric hindrance ได้ดีกว่าเกลือแคลเซียมคลอไรด์และเกลือแคลเซียมแลคเตต ทำให้น้ำในน้ำนมถั่วเหลืองเหลือมากกว่า โปรตีนจึงมีพื้นที่ในการเคลื่อนที่ได้มากกว่า ทำให้เกิดการ aggregate ของโปรตีนได้น้อยที่สุด ปริมาตรส่วนใสจึงมากที่สุด

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



แคลเซียมกลูโคเนต



แคลเซียมแลคเตต

ภาพที่ 4.5 โครงสร้างแคลเซียมกลูโคเนตและแคลเซียมแลคเตต

ที่มา : ห้างหุ้นส่วนจำกัด นิวทรีชั่น, เอกสารประชาสัมพันธ์

เลือกตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่มีการตกตะกอนของโปรตีนน้อยที่สุดในเกลือแคลเซียมแต่ละชนิด (จากผลการทดลองตารางที่ 4.2 4.3 และ 4.4) และน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่มีการตกตะกอนของโปรตีนรองลงมา (น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 120 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0) ไปวิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมด้วยเครื่อง Atomic Absorption Spectrophometer ได้ผลดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ปริมาณแคลเซียม (ที่ได้จากการวิเคราะห์) ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่แปรชนิดเกลือแคลเซียม ปริมาณแคลเซียม และระดับ pH

ตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม (คิดต่อตัวอย่าง 100 ml)	pH	ปริมาณแคลเซียม (mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml) (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)
น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 120 mg	8.00	117.20 ± 2.73
น้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมคลอไรด์ ปริมาณแคลเซียม120 mg	8.00	118.14 ± 2.26
น้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 140 mg	8.00	136.59 ± 8.19
น้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 120 mg	8.00	115.87 ± 4.32
น้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 120 mg	7.00	115.99 ± 5.63

จากข้อมูลในตารางดังกล่าวชี้ให้เห็นว่า ปริมาณแคลเซียมทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้คิดเฉลี่ยเป็น 97% ของปริมาณแคลเซียมที่คำนวณจากเกลือแคลเซียมแต่ละชนิดที่เติมในน้ำนมถั่วเหลือง ซึ่งถ้าหักปริมาณแคลเซียมที่มีอยู่เดิมในน้ำนมถั่วเหลืองออกแล้ว (ประมาณ 13 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml) จะพบว่าแคลเซียมที่วิเคราะห์ได้จะคิดเป็นประมาณ 86.7% ของปริมาณที่เติมลงไปเท่านั้น

เมื่อนำตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมจากตารางที่ 4.5 ยกเว้นน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 120 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น

8.0 (เนื่องจากมีการตกตะกอนมากกว่าการใช้เกลือแคลเซียมอีก 2 ชนิด และเกลือแคลเซียมแลคเตตมีการละลายที่ต่ำเพียง 9% (W/V) ที่อุณหภูมิ 25°C เมื่อเทียบกับเกลือแคลเซียมคลอไรด์ที่มีการละลาย 29.2% และเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ที่มีการละลาย 40.0%) มาทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านสี กลิ่น รสหวาน และรสชาติแปลกปลอม ผลปรากฏว่าตัวอย่างทั้งหมดไม่เป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบ เนื่องจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ผลิตได้มีรสชาติเค็มเฝื่อน และมีสีเหลืองอมเขียว ซึ่งสามารถสังเกตเห็นได้ตั้งแต่ต้น คาดว่าอาจจะเกิดเนื่องจากใช้ STPP ในปริมาณที่มากเกินไป คือ1% (W/V) (Zemel, 1985) จึงได้ทดลองผลิตน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP 1% (W/V) ในระดับห้องปฏิบัติการ แล้วนำมาทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส (ใช้แบบสอบถามแบบ scaling) โดยใช้ผู้ทดสอบกึ่งฝึกฝน 9 คน ทำการทดลอง 2 ซ้ำ ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 1% (W/V) (คะแนนเต็ม 10)

ตัวอย่าง	(ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)				
	สี	กลิ่นถั่ว	รสหวาน	รสชาติแปลกปลอม	การยอมรับรวม
ตัวอย่างควบคุม	$8.81^{a} \pm 0.48$	$7.80^{a} \pm 1.35$	$7.86^{a} \pm 0.95$	$9.03^{a} \pm 0.96$	$8.63^{a} \pm 0.46$
น้ำนมถั่วเหลืองที่เติม STPP	$3.98^{b} \pm 1.53$	$5.49^{b} \pm 2.39$	$4.93^{b} \pm 2.33$	$1.16^{b} \pm 0.75$	$1.56^{b} \pm 1.14$

a,b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งหมายถึง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 4.6 พบว่า ปริมาณ STPP ที่เติมในน้ำนมถั่วเหลืองมีผลต่อการยอมรับทางประสาทสัมผัสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (การวิเคราะห์ความแปรปรวนรวนแสดงในตารางที่ ฉ.4 ภาคผนวก ฉ) โดยปริมาณ STPP ที่มากเกินไป (1% (W/V) จะทำให้สีของน้ำนมถั่วเหลืองเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอมเขียว นอกจากนี้ STPP ยังเป็น alkaline salt (Vujicic, Batra และ Deman, 1967) ซึ่งทำให้เกิดรสฝาดและมีกลิ่นรสเหมือนสบู่ (Sofos, 1986; Liu, 1997) และผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสยังให้ข้อเสนอแนะว่าน้ำนมถั่วเหลืองที่ผลิตได้มีรสเค็ม อาจเกิดเนื่องจาก STPP 1% (W/V) มีปริมาณโซเดียมที่มากเกินไป (มีโซเดียม 0.313 g/น้ำนมถั่วเหลือง 100

ml) เมื่อเทียบกับ NaCl ในช่วงที่ให้รสเค็มคือมีปริมาณมากกว่า 0.23% (Piggott, 1984) (มีโซเดียมมากกว่า 0.092 g/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml) สิ่งเหล่านี้ทำให้น้ำนมถั่วเหลืองที่เติม STPP 1% (W/V) ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบ ทั้งการใช้ STPP ในปริมาณที่มากเกินไปอาจทำให้เกิดอาการไม่สบายท้อง (Sofos, 1986) และท้องเสียอย่างอ่อน ๆ (Molins, 1991) ซึ่งเป็นข้อสังเกตว่าในการจดลิขสิทธิ์วิธีของ Zemel ในปี 1985 ที่อ้างว่าการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ใช้ STPP 1% เพื่อเป็น chelating agent นั้นไม่ได้มีการพูดถึงการทดสอบทางประสาทสัมผัสไว้เลย จึงต้องศึกษาหาปริมาณ STPP ที่เหมาะสมในการทดลองขั้นต่อไป

4.1.2 <u>ผลการทดลองหาปริมาณ STPP ที่เหมาะสม</u>

เนื่องจากการทดลองในข้อ 4.1.1 ใช้ปริมาณ STPP มากเกินไป (1% (W/V)) ในการทดลองขั้นนี้จึงได้หาปริมาณ STPP ที่ผู้ทดสอบให้การยอมรับทางประสาทสัมผัสมากที่สุด (ใช้แบบสอบถามแบบ scaling) ใช้ผู้ทดสอบกึ่งฝึกฝน 9 คน โดยแปรปริมาณ STPP เป็น 0.1 0.2 0.3 และ 0.5% (W/V) ตามลำดับ ทำการทดลอง 2 ซ้ำ ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสแสดงในตารางที่ 4.7

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.7 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1 0.2 0.3 และ 0.5% (W/V) ตามลำดับ (คะแนนเต็ม 10)

ตัวอย่าง	(ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)				
	สี	กลิ่นถั่ว	รสหวาน	รสชาติแปลกปลอม	การยอมรับรวม
1	$8.47^{a} \pm 1.89$	$8.12^{a} \pm 1.73$	$7.52^{a} \pm 2.03$	$9.13^{a} \pm 1.06$	$8.77^{a} \pm 0.86$
2	$8.48^{a} \pm 1.03$	$8.28^{a} \pm 1.24$	$7.47^{a} \pm 2.28$	$8.64^{a} \pm 1.35$	$8.13^{a} \pm 0.96$
3	$7.88^{ab} \pm 1.91$	$7.63^{a} \pm 1.87$	$6.68^{ab} \pm 2.36$	$5.99^{b} \pm 2.41$	$6.24^{b} \pm 2.05$
4	$7.27^{b} \pm 1.88$	$7.56^{a} \pm 1.80$	$6.31^{b} \pm 2.63$	$4.84^{b} \pm 2.70$	$5.04^{c} \pm 2.02$
5	$5.04^{c} \pm 2.06$	$5.40^{b} \pm 2.90$	$4.93^{c} \pm 2.87$	$3.42^{c} \pm 2.37$	$3.37^{d} \pm 2.42$

1 = ตัวอย่างควบคุม

2 = น้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัว ให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V)

3 = น้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัว ให้มีปริมาณ STPP 0.2% (W/V)

4 = น้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัว ให้มีปริมาณ STPP 0.3% (W/V)

5 = น้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัว ให้มีปริมาณ STPP 0.5% (W/V)

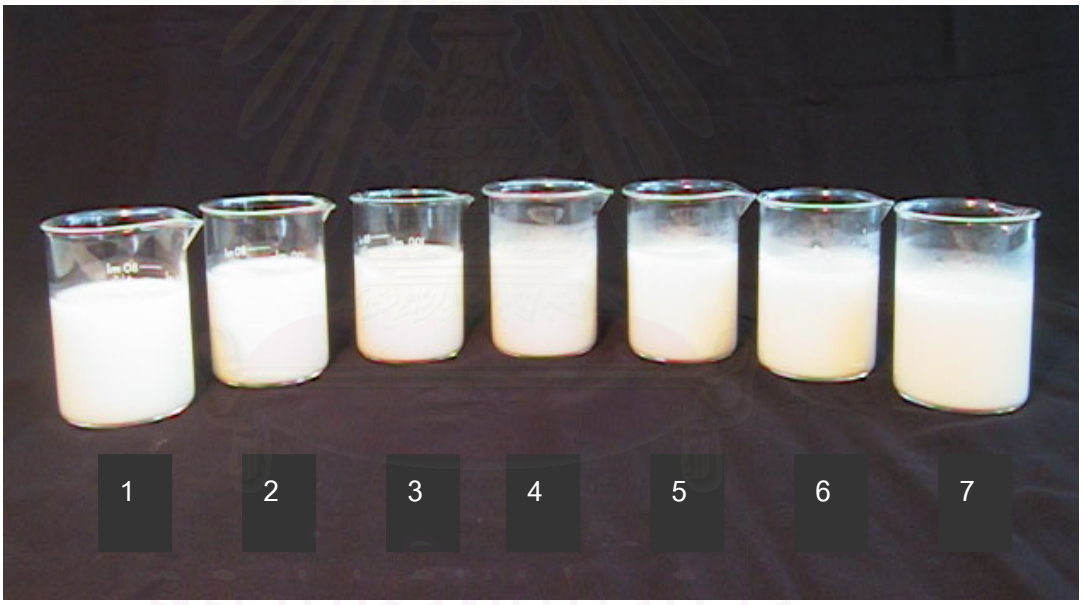
a,b ... ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งหมายถึง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากตารางดังกล่าวพบว่า ปริมาณ STPP ที่เติมในน้ำนมถั่วเหลืองจะมีผลต่อการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้ทดสอบอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (การวิเคราะห์ความแปรปรวนแสดงในตารางที่ ฉ.5 ภาคผนวก ฉ) จากข้อมูลในตารางแสดงให้เห็นว่าปริมาณ STPP มีผลต่อสี กลิ่นถั่ว รสหวาน และรสชาติแปลกปลอมของน้ำนมถั่วเหลือง ดังที่อธิบายในข้อ 4.1.1 โดยน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.5 0.3 และ 0.2% (W/V) จะได้รับการยอมรับทางประสาทสัมผัสจากผู้ทดสอบมากขึ้นตามลำดับ ส่วนน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V) จะได้รับการยอมรับทางประสาทสัมผัสมากที่สุดและไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุม ดังนั้นในการทดลองในขั้นต่อไปจึงเลือกน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V)

4.1.3 ผลการศึกษาหาปริมาณแคลเซียมที่เหมาะสมสำหรับเติมในน้ำนมถั่วเหลือง

เนื่องจากผลของข้อ 4.1.2 ผู้ทดสอบให้การยอมรับน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V) มากที่สุด ดังนั้นเมื่อมีการลดปริมาณ STPP ซึ่งเป็น chelating agent จึงต้องลดปริมาณแคลเซียมที่เติมลงไปตามลำดับ

ในขั้นตอนนี้จึงได้ศึกษาผลของการเติมเกลือแคลเซียมเพื่อไม่ให้โปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเกิด salting out (การตกตะกอนของโปรตีน) เนื่องจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตสามารถเสริมแคลเซียมได้มากที่สุดเมื่อเทียบกับเกลือแคลเซียมชนิดอื่น คือ ปริมาณแคลเซียม 140 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml จึงเลือกเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตมาใช้ในการหาปริมาณแคลเซียมที่เหมาะสม โดยลดปริมาณแคลเซียมลงเป็น 35 39.4 43.8 52.5 และ 70 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ตามลำดับ (ยังไม่ได้ปรับ pH และให้ความร้อน) ให้ผลการทดลองดังภาพที่ 4.6



ภาพที่ 4.6 การตกตะกอนของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต

1 = ตัวอย่างควบคุม

2 = น้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ 0.1% (W/V)

3 = น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 35 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml

4 = น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 39.4 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml

5 = น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 43.8 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml

6 = น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 52.5 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml

7 = น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 70 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml

จากภาพจะสังเกตเห็นว่า น้ำนมถั่วเหลืองที่เติมเกลือแคลเซียมกลูโคโลแลคเตตให้มีปริมาณแคลเซียม 39.4 43.8 52.5 และ 70 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml เกิด salting out (สังเกตตะกอนของโปรตีนโดยดูคราบที่เกาะข้างบีกเกอร์หมายเลข 4 5 6 และ 7) ส่วนที่ปริมาณแคลเซียม 35 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml โปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองไม่เกิด salting out ดังนั้นจึงเลือกปริมาณแคลเซียม 30 และ 35 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml มาทำการทดลองในขั้นต่อไป

4.1.4 ผลการศึกษาสมบัติด้านต่าง ๆ ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม

จากการทดของข้างต้นจะได้ชนิดเกลือแคลเซียม และระดับ pH ที่เหมาะสมในการผลิตจากข้อ 4.1.1 ปริมาณ STPP ที่ผู้ทดสอบให้การยอมรับทางประสาทสัมผัสมากที่สุด จากข้อ 4.1.2 และปริมาณแคลเซียมที่เหมาะสมเพื่อไม่ให้โปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเกิด salting out จากข้อ 4.1.3 จึงได้ทำการตรวจสอบสมบัติด้านต่าง ๆ ของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม โดยตัวอย่างที่นำมาศึกษาคือ

- น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 35 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 8.0
- น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 8.0
- น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0
- น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมคลอไรด์ ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 8.0

เมื่อทดลองผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมดังกล่าวในระดับห้องปฏิบัติการ แล้วนำมาตรวจสอบสมบัติทางกายภาพได้แก่ การตกตะกอนของโปรตีน ความหนืด สี และสมบัติทางเคมี ได้แก่ ปริมาณแคลเซียม โดยผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.8 และ 4.9

ตารางที่ 4.8 การตกตะกอนของโปรตีน ความหนืด สี ของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมต่าง ๆ ที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการ

ตัวอย่าง	(ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)				
	ปริมาตรส่วนใส (ml)	ความหนืด (cPs)	สี		
			L	a	b
1	$9.30^{a} \pm 0.00$	$2.61^{e} \pm 0.04$	$68.76^{a} \pm 0.25$	$-2.41^{a} \pm 0.04$	$+4.87^{ab} \pm 0.14$
2	$9.30^{a} \pm 0.00$	$2.80^{d} \pm 0.07$	$68.72^{a} \pm 0.06$	$-2.64^{b} \pm 0.05$	$+4.90^{a} \pm 0.16$
3	$9.20^{b} \pm 0.00$	$3.03^{b} \pm 0.01$	$68.50^{b} \pm 0.02$	$-2.59^{b} \pm 0.05$	$+4.66^{ab} \pm 0.22$
4	$9.20^{b} \pm 0.00$	$2.89^{c} \pm 0.03$	$68.47^{b} \pm 0.08$	$-2.69^{b} \pm 0.11$	$+4.61^{ab} \pm 0.26$
5	$9.16^{c} \pm 0.03$	$3.13^{a} \pm 0.07$	$68.50^{b} \pm 0.12$	$-2.66^{b} \pm 0.07$	$+4.27^{c} \pm 0.03$
6	$9.20^{b} \pm 0.00$	$2.89^{c} \pm 0.07$	$68.52^{b} \pm 0.01$	$-2.60^{b} \pm 0.03$	$+4.78^{ab} \pm 0.11$

1 = ตัวอย่างควบคุม

2 = น้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V)

3 = น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 35 mg / น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 8.0

4 = น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg / น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 8.0

5 = น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg / น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0

6 = น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมคลอไรด์ ปริมาณแคลเซียม 30 mg / น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 8.0

a.b ... ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งหมายถึง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

หมายเหตุ การตกตะกอนของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมทุกตัวอย่างไม่แตกต่างกัน เนื่องจากเครื่องมือที่ใช้วัดมีความละเอียดแค่ทศนิยมตำแหน่งที่ 1 เท่านั้น

จากข้อมูลในตารางข้างต้นแสดงให้เห็นว่า สภาวะที่ใช้ในการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมมีผลต่อการตกตะกอนของโปรตีน ความหนืด และสีของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) (การวิเคราะห์ความแปรปรวนแสดงในตารางที่ ฉ.6 ฉ.7 และ ฉ.8 ภาคผนวก ฉ)

เมื่อพิจารณาการตกตะกอนของโปรตีนของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมชนิดต่าง ๆ พบว่า ตัวอย่างควบคุมและน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ

STPP 0.1% (W/V) จะมีการตกตะกอนของโปรตีนน้อยที่สุด (ปริมาตรส่วนใส 9.3 ml จากตัวอย่าง 10 ml) แต่อย่างไรก็ตามยังมีการตกตะกอนของโปรตีนบ้างเล็กน้อยดังที่ได้อธิบายในข้อ 4.1.1 ส่วนน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมทุกตัวอย่างจะมีการตกตะกอนของโปรตีนมากกว่าตัวอย่างควบคุม และน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP ให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V) ทั้งนี้เนื่องจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมทุกตัวอย่างเกิด calcium bridge ระหว่างสายโปรตีนจากการเติมแคลเซียมแล้วให้ความร้อน ทำให้เกิด network (โครงร่างตาข่าย) ขึ้น (Fennema, 1976) โมเลกุลของโปรตีนจึงใหญ่ขึ้น ดังนั้นเมื่อนำตัวอย่างไป centrifuge เพื่อวัดปริมาตรส่วนใสโปรตีนจึงตกตะกอน นอกจากนี้ในการเติมแคลเซียมลงในน้ำนมถั่วเหลืองอาจใช้วิธีค่อย ๆ เติมแคลเซียม เช่นการ spray สารละลายแคลเซียม เพื่อให้มีการกระจายของแคลเซียมดีขึ้น อาจทำให้มีการตกตะกอนของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมน้อยลง

เมื่อวัดความหนืดของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมชนิดต่าง ๆ พบว่า ตัวอย่างควบคุมจะมีความหนืดน้อยที่สุดเท่ากับ 2.61 centipoise น้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V) มีความหนืดมากกว่าตัวอย่างควบคุม น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต และน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมคลอไรด์ ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 8.0 จะมีความหนืดเท่ากันแต่มากกว่าตัวอย่างควบคุมและน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V) น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 35 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 8.0 จะมีความหนืดมากขึ้น ส่วนน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0 จะมีความหนืดมากที่สุดเท่ากับ 3.13 centipoise ที่เป็นเช่นนี้สามารถอธิบายได้ว่า น้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V) จะมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (total soluble solid) เพิ่มขึ้น นอกจากนี้ STPP ยังมีคุณสมบัติเป็น water holding capacity เนื่องจาก STPP จะไปจับกับน้ำในระบบ (Sofos, 1986) ทำให้มีความหนืดมากกว่าตัวอย่างควบคุม ส่วนน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมทุกตัวอย่างจะเกิด calcium bridge ทำให้เกิด network (Fennema, 1976) ขึ้นเนื่องมาจากการเติมแคลเซียมในน้ำนมถั่วเหลืองแล้วให้ความร้อน ดังนั้นความหนืดจึงมากกว่าตัวอย่างควบคุม และตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0 โปรตีนจะเข้าใกล้ isoelectric point มากกว่าที่ pH 8.0 สายโปรตีนจึงเข้าใกล้กันมากกว่าทำให้โปรตีนเกิดการ aggregate ได้มากกว่า จึงมีความหนืดมากที่สุด ส่วนน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 35 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ถึงแม้ว่าจะมี pH 8.0 แต่

ปริมาณแคลเซียมที่มากขึ้นจึงเกิด network ของโปรตีนมากกว่าความหนืดจึงมากกว่าตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ปรับ pH เป็น 8.0

เมื่อนำตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมทั้งหมดมาวัดค่าสีพบว่า น้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมทุกตัวอย่างจะมีความส่วางน้อยกว่าตัวอย่างควบคุมและน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V) ซึ่งเมื่อดูด้วยสายตาจะไม่สามารถแยกความแตกต่างระหว่างตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองต่าง ๆ ได้ ทั้งนี้อาจเกิดเนื่องจากการเสริมแคลเซียมในน้ำนมถั่วเหลืองทำให้เกิดการ aggregate ของโปรตีน แสงจึงผ่านน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมได้ไม่ดีเท่าที่ควร

การวิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียม (ในรูปของปริมาณแคลเซียมทั้งหมด) ในตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมข้างต้นให้ผลการวิเคราะห์ดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 ปริมาณแคลเซียม (ที่ได้จากการวิเคราะห์) ของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมต่าง ๆ ที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการ

ตัวอย่าง (คิดต่อตัวอย่าง 100 ml)	pH	ปริมาณแคลเซียม (mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml) (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)
ตัวอย่างควบคุม	6.61	13.07 ± 0.08
น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม35 mg	8.00	30.99 ± 0.06
น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg	8.00	27.35 ± 1.13
น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม30 mg	7.00	26.12 ± 1.41
น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมคลอไรด์ ปริมาณแคลเซียม 30 mg	8.00	27.80 ± 2.38

จากข้อมูลในตารางจะเห็นว่าปริมาณแคลเซียมที่เสริมได้ในน้ำนมถั่วเหลืองคิดเฉลี่ยเป็น 47.85% (หักปริมาณแคลเซียมที่มีอยู่เดิมในน้ำนมถั่วเหลืองออกแล้ว) เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณแคลเซียมตารางที่ 4.5 (แคลเซียมที่เสริมได้ 86.7) พบว่าจะมีปริมาณแคลเซียมที่เสริมได้น้อยกว่า ทั้งนี้เป็นเพราะว่าตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมจากตารางที่ 4.5 มีปริมาณแคลเซียมมาก

กว่าตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมจากตารางข้างต้นถึง 4 เท่า ทำให้การชั่งเกลือแคลเซียมเพื่อเติมในน้ำนมถั่วเหลืองมีความแม่นยำมากกว่า จึงสรุปได้ว่าการเสริมแคลเซียมในปริมาณที่มากขึ้นน่าจะทำให้ปริมาณแคลเซียมที่เสริมได้ใกล้เคียงกับที่คำนวณเพื่อเติมในน้ำนมถั่วเหลืองมากขึ้น

จากนั้นจึงได้ขยายการผลิตจากระดับห้องปฏิบัติการไปเป็นการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมพาสเจอร์ไรซ์ในโรงงานนำร่อง เพื่อดูผลผลิตและความเป็นไปได้ในการผลิต

4.2 ผลการศึกษาการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแบบพาสเจอร์ไรซ์ในโรงงานนำร่อง

4.2.1 ผลการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแบบพาสเจอร์ไรซ์บรรจุขวดแก้วในโรงงานนำร่อง

เนื่องจากการผลิตในโรงงานนำร่องจะมีความแตกต่างจากในระดับห้องปฏิบัติการคือ ปริมาณที่ผลิตต่อตัวอย่างมากขึ้น (10ลิตร) เครื่องมือที่ใช้ผลิตในโรงงานนำร่องจะใกล้เคียงกับในระดับอุตสาหกรรม โดยเฉพาะน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ผลิตในโรงงานนำร่องในงานวิจัยนี้จะผ่านเครื่อง homogenizer และภาชนะบรรจุที่ใช้ในการผลิตคือขวดแก้วปากแคบ ทำการบรรจุขณะร้อน ปิดปากขวดด้วยฝาจีบ จึงทดลองผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมในโรงงานนำร่อง โดยสภาวะในการผลิตเช่นเดียวกับในระดับห้องปฏิบัติการ (สภาวะเดียวกับที่ใช้ผลิตตัวอย่างในตารางที่ 4.8) แล้วนำตัวอย่างนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ได้มาศึกษาสมบัติด้านต่าง ๆ ในขั้นต่อไป

4.2.2 ผลการศึกษาสมบัติด้านต่าง ๆ ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแบบพาสเจอร์ไรซ์ในโรงงานนำร่อง

เมื่อได้ตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมต่าง ๆ จากข้อ 4.2.1 แล้วจึงนำมาตรวจสอบสมบัติทางกายภาพได้แก่ การตกตะกอนของโปรตีน ความหนืด สี และทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.10 และ 4.11

ตารางที่ 4.10 การตกตะกอนของโปรตีน ความหนืด สี ของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแบบพาสเจอร์ไรซ์ที่ผลิตในโรงงานนำร่อง

ตัวอย่าง	(ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)				
	ปริมาตรส่วนใส (ml)	ความหนืด (cPs)	สี		
			L	a	b
1	$9.80^{a} \pm 0.00$	$2.30^{e} \pm 0.03$	$70.52^{a} \pm 0.11$	$-2.58^{a} \pm 0.05$	$+6.95^{e} \pm 0.01$
2	$9.80^{a} \pm 0.00$	$2.44^{d} \pm 0.03$	$70.85^{a} \pm 0.18$	$-2.71^{b} \pm 0.01$	$+7.50^{a} \pm 0.02$
3	$9.70^{b} \pm 0.00$	$2.54^{b} \pm 0.02$	$68.87^{b} \pm 0.12$	$-2.71^{b} \pm 0.02$	$+7.27^{b} \pm 0.02$
4	$9.70^{b} \pm 0.00$	$2.49^{c} \pm 0.01$	$69.13^{b} \pm 0.08$	$-2.70^{b} \pm 0.02$	$+7.04^{d} \pm 0.01$
5	$9.65^{b} \pm 0.06$	$2.59^{a} \pm 0.03$	$69.36^{b} \pm 0.69$	$-2.68^{b} \pm 0.08$	$+6.73^{f} \pm 0.01$
6	$9.70^{b} \pm 0.00$	$2.48^{c} \pm 0.03$	$69.23^{b} \pm 0.49$	$-2.71^{b} \pm 0.01$	$+7.13^{c} \pm 0.01$

1 = ตัวอย่างควบคุม

2 = น้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V)

3 = น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 35 mg / น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 8.0

4 = น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg / น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 8.0

5 = น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg / น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0

6 = น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมคลอไรด์ ปริมาณแคลเซียม 30 mg / น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 8.0

a.b ... ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งหมายถึง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 4.10 พบว่า สภาวะที่ใช้ในการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมมีผลต่อการตกตะกอน ความหนืด และสี ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (การวิเคราะห์ความแปรปรวนแสดงในตารางที่ ฉ.9 ฉ.10 และ ฉ.11 ภาคผนวก ฉ)

พิจารณาการตกตะกอนของโปรตีนของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองต่าง ๆ พบว่า ตัวอย่างควบคุมและน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V) จะมีการตกตะกอนของโปรตีนน้อยที่สุด (ปริมาตรส่วนใส 9.8 ml จากตัวอย่าง 10 ml) ส่วนน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมทุกตัวอย่างจะมีการตกตะกอนของโปรตีนมากกว่าตัวอย่างควบคุม

และน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V) ซึ่งผลการทดลองอธิบายได้เช่นเดียวกับน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการ

เมื่อวัดความหนืดของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมต่าง ๆ พบว่า ตัวอย่างควบคุมมีความหนืดน้อยที่สุด น้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V) จะมีความหนืดมากกว่าตัวอย่างควบคุม น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตและน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมคลอไรด์ ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 8.0 มีความหนืดเท่ากันแต่จะมากกว่าตัวอย่างควบคุมและน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V) น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 35 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 8.0 จะมีความหนืดมากขึ้น ส่วนน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0 จะมีความหนืดมากที่สุดเท่ากับ 2.59 centipoise ซึ่งผลการทดลองอธิบายได้เช่นเดียวกับน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการ

เมื่อนำตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมไปวัดสีพบว่า น้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมทุกตัวอย่างมีความสว่างน้อยกว่าตัวอย่างควบคุมและน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V) ซึ่งผลการทดลองอธิบายได้เช่นเดียวกับน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการ

จากการเปรียบเทียบผลการทดลองด้านการตกตะกอนของโปรตีน ความหนืด และสี ของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการกับในโรงงานนำร่องจะสังเกตเห็นว่า น้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมทุกตัวอย่างที่ผลิตในโรงงานนำร่องจะมีการตกตะกอนของโปรตีน และความหนืดน้อยกว่า แต่มีความสว่างมากกว่าน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการ (ตารางที่ 4.8 เปรียบเทียบกับตารางที่ 4.10) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะว่ากระบวนการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมในโรงงานนำร่องจะต้องผ่าน homogenizer ซึ่งอาจทำให้โปรตีนที่ aggregate ในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแตกออกเป็นโมเลกุลที่เล็กลง ทำให้มีการตกตะกอนของโปรตีน และความหนืดน้อยลง และอาจทำให้แสงผ่านดีขึ้น ค่าความสว่างจึงมากขึ้น

หลังจากนั้นได้นำตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ผลิตในโรงงานนำร่องแบบพาสเจอร์ไรซ์ ไปทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสในวันถัดมา โดยใช้ผู้ทดสอบกึ่งฝึกฝน 9 คน ทดลอง 2 ซ้ำ ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.11

ตารางที่ 4.11 ผลการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแบบพาสเจอร์ไรซ์ ที่ผลิตในโรงงานนำร่อง (คะแนนเต็ม 10)

ตัวอย่าง	(ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)					
	การตกตะกอน^{ns}	สี^{ns}	กลิ่นถั่ว^{ns}	รสหวาน^{ns}	รสชาติแปลกปลอม	การยอมรับรวม
1	9.78 ± 0.45	9.39 ± 0.57	7.78 ± 1.75	6.51 ± 2.58	9.11^{a} ± 1.51	7.81^{a} ± 1.43
2	9.78 ± 0.45	9.26 ± 0.55	8.14 ± 1.69	6.47 ± 2.36	7.11^{bc} ± 2.47	6.78^{ab} ± 2.00
3	9.78 ± 0.45	9.24 ± 0.57	7.36 ± 2.06	6.13 ± 2.75	6.04^{c} ± 2.79	5.93^{b} ± 1.93
4	9.78 ± 0.45	9.28 ± 0.58	7.72 ± 2.22	6.34 ± 1.92	6.11^{c} ± 2.75	5.68^{b} ± 1.99
5	9.78 ± 0.45	9.33 ± 0.53	7.68 ± 2.10	6.48 ± 2.30	7.53^{b} ± 2.05	7.32^{a} ± 1.98
6	9.78 ± 0.45	9.22 ± 0.57	7.21 ± 2.23	5.34 ± 2.20	2.85^{d} ± 2.17	3.36^{c} ± 2.07

1 = ตัวอย่างควบคุม

2 = น้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V)

3 = น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 35 mg / น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 8.0

4 = น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg / น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 8.0

5 = น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg / น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0

6 = น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมคลอไรด์ ปริมาณแคลเซียม 30 mg / น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 8.0

a.b ... ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งหมายถึง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากตารางข้างต้น พบว่า สภาวะต่าง ๆ ที่ใช้ในการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมไม่มีผลต่อการยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านการตกตะกอน สี กลิ่นถั่ว และรสหวาน ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม ($p > 0.05$) แต่มีผลต่อรสชาติแปลกปลอม (เช่น รสเฝื่อนและขม) และการยอมรับรวมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (การวิเคราะห์ความแปรปรวนแสดงในตารางที่ ฉ.12 ภาคผนวก ฉ) โดยตัวอย่างควบคุมจะมีรสชาติแปลกปลอมน้อยที่สุด ส่วนน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V) และน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0 จะมีรสชาติแปลกปลอมบ้างเล็กน้อย แต่ยังเป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบ

จึงได้รับคะแนนการยอมรับรวมใกล้เคียงกับตัวอย่างควบคุม ส่วนน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 35 และ 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 8.0 มีรสชาติแปลกปลอมมากขึ้น เนื่องจาก pH ที่สูงอาจทำให้เกิดรสเฝื่อน นอกจากนี้การใช้ NaOH เพื่อปรับ pH ให้เป็น 8.0 ยังอาจทำให้เกิดรสขม (Patnaik, 1992) จึงส่งผลให้คะแนนการยอมรับรวมต่ำลง ส่วนน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมคลอไรด์ ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 8.0 จะมีรสชาติแปลกปลอมมากที่สุด เนื่องจาก pH ที่สูงอาจทำให้เกิดรสเฝื่อน และ NaOH ที่ใช้ปรับ pH อาจทำให้เกิดรสขมแล้ว ยังอาจมีรสขมเพิ่มขึ้นจากเกลือแคลเซียมคลอไรด์ จึงทำให้ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบ

เนื่องจากการใช้ NaOH ปรับ pH น้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมอาจทำให้เกิดรสขม ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อมาจึงพิจารณาใช้ Na_2CO_3 ปรับ pH แทน NaOH ทั้งนี้ในการศึกษาของ Yazici และคณะในปี 1997 ซึ่งใช้ NaOH ปรับ pH ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม น่าจะมีความเหมาะสมสำหรับศึกษาความเป็นไปได้ของการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมในระดับห้องปฏิบัติการ โดยไม่ได้แสดงผลการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส และการใช้ NaOH ซึ่งเป็นด่างแก่ ทำให้ใช้ในปริมาณไม่มาก ซึ่งจะทำให้ปริมาตรของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก

จากคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านรสชาติแปลกปลอมและการยอมรับรวมของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ปรับ pH เป็น 8.0 ด้วย NaOH จากตารางที่ 4.11 พบว่ามีคะแนนค่อนข้างต่ำ จึงคิดว่าน่าจะเกิดจาก pH ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมสูงเกินไป และการใช้ NaOH ปรับ pH อาจทำให้เกิดรสชาติแปลกปลอม จึงได้เปลี่ยนสารที่ใช้ปรับ pH จาก NaOH เป็น Na_2CO_3 โดยนำตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ได้รับการยอมรับทางประสาทสัมผัสมากที่สุดจากตารางที่ 4.11 คือ น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0 ด้วย NaOH และ Na_2CO_3 มาตรวจสอบสมบัติทางกายภาพ ได้แก่ การตกตะกอนของโปรตีน ความหนืด สี ตรวจสอบสมบัติทางเคมี ได้แก่ ปริมาณแคลเซียม และทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสได้ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.12 4.13 และ 4.14

ตารางที่ 4.12 การตกตะกอนของโปรตีน ความหนืด สี ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการเมื่อใช้สารปรับ pH ต่างชนิดกัน

ตัวอย่าง	(ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)				
	ปริมาตรส่วนใส (ml)	ความหนืด (cPs)	สี		
			L	a	b
1	$9.30^{a} \pm 0.00$	$2.52^{a} \pm 0.03$	$68.51^{a} \pm 0.08$	$-1.36^{a} \pm 0.01$	$+2.81^{a} \pm 0.01$
2	$9.18^{b} \pm 0.04$	$3.05^{b} \pm 0.10$	$68.31^{b} \pm 0.09$	$-1.37^{a} \pm 0.06$	$+2.64^{c} \pm 0.04$
3	$9.16^{b} \pm 0.05$	$3.02^{b} \pm 0.13$	$68.31^{b} \pm 0.06$	$-1.47^{b} \pm 0.07$	$+2.75^{b} \pm 0.04$

1 = ตัวอย่างควบคุม

2 = น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0 ด้วย NaOH

3 = น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0 ด้วย Na_2CO_3

a.b ... ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งหมายถึง แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 4.12 พบว่า สมบัติด้านการตกตะกอนของโปรตีน ความหนืด และสีของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0 ด้วย NaOH และ Na_2CO_3 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (การวิเคราะห์ความแปรปรวนแสดงในตารางที่ ฉ.13 ภาคผนวก ฉ)

และเมื่อนำตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมดังกล่าวไปวิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมพบว่า ได้ผลดังตารางที่ 4.13

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.13 ปริมาณแคลเซียม (ที่ได้จากการวิเคราะห์) ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0 ที่ผลิตในโรงงานนำร่องเมื่อใช้สารปรับ pH ต่างชนิดกัน

ตัวอย่าง	ปริมาณแคลเซียม (mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml) (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)
ตัวอย่างควบคุม	13.05 ± 0.04
น้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml[1/]	26.12 ± 1.41
น้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml[2/]	27.47 ± 2.55

1/ = ปรับ pH ด้วย NaOH

2/ = ปรับ pH ด้วย Na_2CO_3

จากข้อมูลในตารางจะเห็นว่าปริมาณแคลเซียมที่เสริมได้ในน้ำนมถั่วเหลืองคิดเฉลี่ยเป็น 45.05% (หักปริมาณแคลเซียมที่มีอยู่เดิมในน้ำนมถั่วเหลืองออกแล้ว) ซึ่งอธิบายได้เช่นเดียวกับข้อ 4.1.4

จากนั้นได้นำตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมดังกล่าวไปทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส ได้ผลดังตารางที่ 4.14

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.14 ผลการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0 ที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการ เมื่อใช้สารปรับ pH ต่างชนิดกัน

ตัวอย่าง	(ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)					
	การตกตะกอน^{ns}	สี^{ns}	กลิ่นถั่ว^{ns}	รสหวาน^{ns}	รสชาติแปลกปลอม^{ns}	การยอมรับรวม^{ns}
1	9.85 ± 0.40	9.12 ± 1.17	8.81 ± 0.93	7.93 ± 2.10	8.42 ± 1.19	7.96 ± 0.10
2	9.85 ± 0.40	9.07 ± 1.12	8.96 ± 0.96	7.76 ± 2.05	8.37 ± 1.46	7.84 ± 1.37
3	9.84 ± 0.41	9.32 ± 1.04	8.78 ± 1.09	7.78 ± 1.93	8.17 ± 1.80	7.76 ± 1.55

1 = ตัวอย่างควบคุม

2 = ปรับ pH ด้วย NaOH

3 = ปรับ pH ด้วย Na_2CO_3

ns หมายถึงไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$)

จากตารางที่ 4.14 พบว่า การยอมรับทางประสาทสัมผัสด้านการตกตะกอน สี กลิ่นถั่ว รสหวาน และรสชาติแปลกปลอม ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0 ด้วย NaOH และ Na_2CO_3 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำสัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (การวิเคราะห์ความแปรปรวนแสดงในตารางที่ ฉ.14 ภาคผนวก ฉ)

จากผลการทดลองดังกล่าวแสดงว่า การปรับ pH น้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมด้วย Na_2CO_3 ไม่ได้ทำให้สมบัติทางกายภาพและการยอมรับทางประสาทสัมผัสของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตเปลี่ยนไป ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปจึงใช้ Na_2CO_3 ปรับ pH แทน NaOH

จากนั้นได้ขยายการทดลองโดยผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0 ด้วย Na_2CO_3 ที่ผ่านการแบบสเตอริไลซ์ในการทดลองขั้นต่อไป

4.3 ผลการศึกษาการการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแบบสเตอริไลซ์ในโรงงานนำร่อง

4.3.1 ผลการศึกษาหาเวลาในการฆ่าเชื้อน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ผลิตในโรงงานนำร่อง

นำน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตที่ผลิตในโรงงานนำร่อง ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0 ด้วย Na_2CO_3 ตามขั้นตอนในผังภาพที่ 3.5 มาศึกษาหาเวลาในการฆ่าเชื้อ โดยบรรจุน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต 250 ml ในกระป๋องเคลือบแลกเกอร์ขนาด 202*503 ซึ่งเจาะรูด้านข้างที่ตำแหน่งกึ่งกลางกระป๋อง และ 3/4 นิ้วจากก้นกระป๋อง เพื่อเสียบเทอร์โมคัปเปิล ไล่อากาศใน exhaustor เป็นเวลา 5 นาทีควบคุมอุณหภูมิตอนปิดกระป๋องประมาณ 70-80°C นำไปทดลองฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C ให้ผลดังตารางที่ 4.15 แล้วนำไปเขียน heat penetration curve คำนวณเวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อโดยวิธีคำนวณ กำหนด F_{250} = 7.38 นาที (วิธีการคำนวณแสดงในภาคผนวก จ.)

ตารางที่ 4.15 heat penetration data ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C

เวลา (นาที)	อุณหภูมิ ณ จุด cold point	
	เจาะกระป๋องที่ตำแหน่งกึ่งกลางกระป๋อง (°C)	เจาะกระป๋องที่ตำแหน่ง 3/4 นิ้วจากก้นกระป๋อง (°C)
0	74.8	76.4
1	90.5	89.7
2	97	96.2
3	99.9	99.3
4	101.4	100.8
5	102.3	101.8
6	104.3	103
7	107.8	106.4
8	111.4	108.7
9	113.1	110.1
10	115.0	111

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.15 (ต่อ)

เวลา (นาที)	อุณหภูมิ ณ จุด cold point	
	เจาะกระป๋องที่ตำแหน่งกึ่งกลางกระป๋อง (°C)	เจาะกระป๋องที่ตำแหน่ง 3/4 นิ้วจากก้นกระป๋อง (°C)
11	115.5	111.8
12	116.2	112.7
13	116.8	113.5
14	117.3	114.3
15	117.9	115
16	118.3	115.5
17	118.6	116.1
18	119	116.7
19	119.2	117
20	119.4	117.7
21	119.7	118
22	119.8	118.4
23	119.9	118.8
24	120.1	118.9
25	120.3	119.3
26	120.3	119.5
27	120.4	119.7
28	120.5	119.8

จากข้อมูลในตารางจะเห็นว่าอุณหภูมิของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตที่ตำแหน่งกึ่งกลางกระป๋องจะเพิ่มขึ้นเร็วกว่าที่ตำแหน่ง 3/4 นิ้วจากก้นกระป๋อง แสดงว่าน้ำนมถั่วหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตเป็นอาหารที่มีการส่งผ่านความร้อนแบบการพาความร้อนเนื่องจากน้ำนมถั่วหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตมีความหนืดต่ำ (สังเกตค่าความหนืดจากตาราง 4.12) โดยหลักการของการส่งผ่านความร้อนแบบการพาความร้อนคือความร้อนจะถูกถ่ายโอนไปที่โมเลกุลของอาหารที่เคลื่อนที่ไปด้วย เมื่อนำข้อมูลจากตารางที่ 4.15 มาคำนวณหาเวลาในการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 ^{O}C F_{250} เท่ากับ 7.38 นาที ด้วยใช้

สูตรคำนวณ พบว่าต้องใช้เวลาฆ่าเชื้อประมาณ 16 นาที จึงใช้สภาวะนี้เพื่อผลิตตัวอย่างสำหรับใช้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ต่อไป

4.3.2 ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ผลิตในโรงงานนำร่อง

นำตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลือง น้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V) และน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ที่ผลิตในโรงงานนำร่อง ปรับ pH เป็น 7.0 ด้วย Na_2CO_3 รวม 3 ตัวอย่าง ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C ประมาณ 16 นาที เก็บตัวอย่างน้ำนมถั่วหลืองเสริมแคลเซียมภายใต้อุณหภูมิ 55 45 และ 10 ^{O}C เพื่อตรวจวิเคราะห์เป็นระยะเวลา 2 เดือน แบ่งสุ่มตัวอย่างผลิตภัณฑ์มาวิเคราะห์คุณภาพสัปดาห์ละ 2 ครั้ง สำหรับตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ 55 ^{O}C และสัปดาห์ละครั้งสำหรับตัวอย่างที่เก็บที่อุณหภูมิ 45 และ 10 ^{O}C โดยตรวจสอบสมบัติทางกายภาพคือ การตกตะกอนของโปรตีนในตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมบรรจุกระป๋อง ความหนืด สี และ pH ตรวจสอบทางเคมีคือ วิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมและปริมาณแคลเซียมอิสระ ตรวจสอบทางจุลินทรีย์คือวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด และทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.16 และ 4.17

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.16 การตกตะกอนของโปรตีน ความหนืด สี ปริมาณแคลเซียม ปริมาณแคลเซียมอิสระ และจุลินทรีย์ ของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองชนิดต่าง ๆ ที่ผ่านการสเตอริไลซ์

สมบัติที่วัด		ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน		
		ตัวอย่างที่1	ตัวอย่างที่ 2	ตัวอย่างที่ 3
การตกตะกอน	ปริมาตรส่วนใสจากส่วนบนกระป๋อง (ml)	9.60 ± 0.00	9.57 ± 0.06	9.53 ± 0.06
	ปริมาตรส่วนใสจากส่วนล่างกระป๋อง (ml)	9.53 ± 0.06	9.57 ± 0.06	7.27 ± 0.06
ความหนืด cPs		2.02 ± 0.03	2.20 ± 0.04	2.53 ± 0.03
สี	L	67.41 ± 0.12	66.04 ± 0.03	65.54 ± 0.03
	a	-2.59 ± 0.01	-3.12 ± 0.08	-2.86 ± 0.01
	b	5.64 ± 0.02	5.54 ± 0.02	4.74 ± 0.02
PH	ก่อนให้ความร้อน	6.52	6.80	6.98
	หลังให้ความร้อน	6.47 ± 0.02	6.77 ± 0.01	6.86 ± 0.01
ปริมาณแคลเซียม (mg/100ml)		13.04 ± 0.42	12.92 ± 0.41	28.9 ± 0.37
ปริมาณแคลเซียมอิสระ (mg/100ml)		7.14 ± 0.20	7.02 ± 0.08	10.53 ± 0.31
Total Plate Count (CFU)		0	0	0

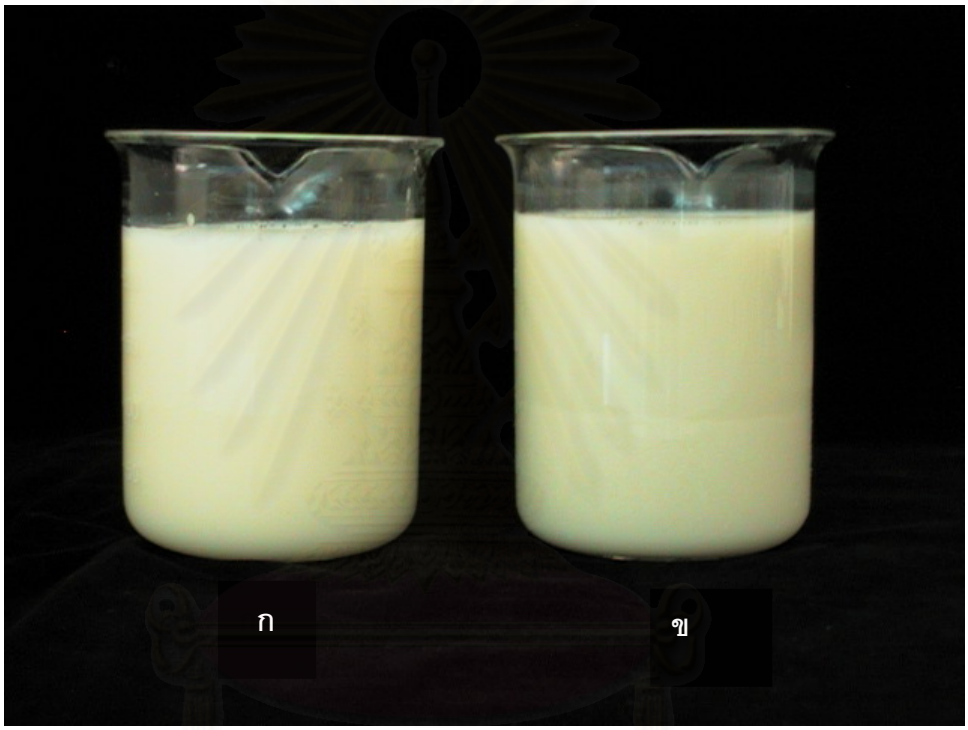
ตัวอย่างที่ 1 = ตัวอย่างควบคุม

ตัวอย่างที่ 2 = น้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V)

ตัวอย่างที่ 3 = น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0 ด้วย Na_2CO_3

จากตารางที่ 4.16 เมื่อพิจารณาการตกตะกอนของโปรตีนของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองต่าง ๆ พบว่า ตัวอย่างควบคุมและน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V) มีปริมาตรส่วนใสจากส่วนบนของกระป๋องเท่ากับ 9.60 และ 9.57 ตามลำดับ ปริมาตรส่วนใสจากส่วนล่างของกระป๋องเท่ากับ 9.53 และ 9.57 ตามลำดับซึ่งจะเห็นว่ามีปริมาตรส่วนใสจากส่วนบนและส่วนล่างของกระป๋องใกล้เคียงกัน แสดงว่าไม่มีการตกตะกอนของโปรตีนที่ก้นกระป๋อง แต่น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตมีปริมาตรส่วนใสจากส่วนบนของกระป๋องเท่ากับ 9.53 ml ซึ่งมากกว่าปริมาตรส่วนใสจากส่วนล่างของกระป๋องเท่ากับ 7.27 ml แสดงว่ามีการตกตะกอนของโปรตีน ทั้งนี้เนื่องจากในขั้นตอนการให้ความร้อนน้ำนมถั่วเหลืองเสริม

เกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตด้วยหม้อต้มผนัง 2 ชั้น อุณหภูมิประมาณ 90°C ก่อนเข้า homogenizer นั้น ใช้เวลาให้ความร้อนนานประมาณ 6 นาที เพราะน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตมีปริมาณมาก และหม้อต้มผนัง 2 ชั้นมีพื้นที่ถ่ายเทความร้อนจากไอน้ำเพียงแค่ครึ่งเดียว (ภาพที่ ช.7 ภาคผนวก ช) จากเหตุผลดังกล่าวทำให้ต้องใช้เวลาในการให้ความร้อนนาน โปรตีนจึงเสียสภาพมากขึ้นแต่ยังไม่ตกตะกอน (ภาพที่ 4.7 ภาพ ก) และเมื่อนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C ประมาณ 16 นาที โปรตีนจะเสียสภาพมากขึ้นอีก จึงทำให้โปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตตกตะกอน (ภาพที่ 4.7 ภาพ ข)



ภาพที่ 4.7 น้ำนมถั่วหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วหลือง 100 ml เมื่อตั้งทิ้งไว้ค้างคืนในตู้เย็น
ภาพ ก. คือน้ำนมถั่วหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตพาสเจอร์ไรซ์
ภาพ ข. คือน้ำนมถั่วหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตทีผ่านการสเตอริไลซ์

เมื่อทดลองวัดความหนืดของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองทั้ง 3 พบว่าตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต มีความหนืดมากที่สุดคือ 2.53 centipoise ตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V) มีความหนืดรองลงมาคือ 2.20 centripoise ส่วนตัวอย่างควบคุมมีความหนืดต่ำที่สุด คือ 2.02 centipoise ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่า น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต เกิดการ aggregate

ของโปรตีน ทำให้ความหนืดเพิ่มขึ้นมากที่สุด ส่วนน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V) จะมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้มากขึ้น และ STPP ยังมีคุณสมบัติเป็น water holding capacity ซึ่งจะไปจับกับน้ำทำให้มีความหนืดมากขึ้น เมื่อนำตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองมาวัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสี พบว่า น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต มีความสว่างน้อยที่สุด เท่ากับ 65.54 น้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V) มีความสว่างมากขึ้น เท่ากับ 66.04 และตัวอย่างควบคุมมีความสว่างมากที่สุดเท่ากับ 67.41 ทั้งนี้เกิดเนื่องจากกรดอะมิโนในตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต และน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V) ทำปฏิกิริยากับน้ำตาลที่อุณหภูมิสูง ทำให้เกิดปฏิกิริยา nonenzymatic browning (Fennema, 1996) มากขึ้น ทำให้สีของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต และน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V) คล้ำกว่าตัวอย่างควบคุม แต่น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตเกิดการ aggregate ของโปรตีนมากกว่าน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V) ทำให้แสงผ่านได้น้อยกว่า ค่าความสว่างของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตจึงน้อยที่สุด เมื่อวัด pH ของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองหลังให้ความร้อนพบว่าน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต มี pH ลดลงจาก 6.98 เป็น 6.86 ส่วนน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V) และตัวอย่างควบคุมมี pH ลดลงเล็กน้อย จาก 6.80 เป็น 6.77 และจาก 6.52 เป็น 6.47 ตามลำดับ ทั้งนี้สันนิษฐานว่า แคลเซียมที่เติมลงไปในน้ำนมถั่วเหลืองนั้นจะไปจับกับโปรตีนที่ carboxyl group และ imidazole group ของ histidine residues ของโปรตีน โดยครึ่งหนึ่งของ imidazole group นี้จะอยู่ในรูป non-ionic form เมื่อไปจับกับแคลเซียมจะปล่อยไฮโดรเจนอิออนออกมา ส่วนของ phytate (สารประกอบประเภทฟอสฟอรัสที่มีในพืชผักและถั่ว) ในน้ำนมถั่วเหลืองจะจับกับโปรตีนที่ละลายได้และโปรตีนที่ตกตะกอน เมื่อเติมแคลเซียมลงไป phytate จะจับกับแคลเซียมและไฮโดรเจนอิออนจะถูกปล่อยออกมา ทำให้ pH ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมลดลงได้ (Ono, Katho และ Mothizuki, 1993) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Weingartner และคณะ (1983) เมื่อวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียมและปริมาณแคลเซียมอิสระพบว่า น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต น้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V) และตัวอย่างควบคุมมีปริมาณแคลเซียมเท่ากับ 28.9 12.92 และ 13.04 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ตามลำดับ มีปริมาณแคลเซียมอิสระ เท่ากับ 10.53 7.02 และ 7.14 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ตามลำดับ จากข้อมูลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าปริมาณแคลเซียมที่เสริมได้ในน้ำนมถั่วเหลืองคิดเป็น 51.7% (หักปริมาณแคลเซียมที่มีอยู่เดิมในน้ำนมถั่วเหลืองออกแล้ว) ซึ่ง

เมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลในตารางที่ 4.9 และ 4.13 จะเห็นว่ามีปริมาณแคลเซียมที่เสริมได้มากกว่า อาจเกิดจากการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมในปริมาณที่มากขึ้น ทำให้การชั่งเกลือแคลเซียมเพื่อเติมในน้ำนมถั่วเหลืองมีความแม่นยำมากขึ้น ปริมาณแคลเซียมที่เสริมได้จึงสูงขึ้น แต่แคลเซียมที่เติมในน้ำนมถั่วเหลืองจะไปจับกับโปรตีนที่ carboxyl group และ imidazole group ของ histidine residues และยังรวมกับฟอสฟอรัสเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (Sio, Koyama และ Watanabe; 1967) จึงตกตะกอนเมื่อผ่านการ centrifuge ที่ความเร็วรอบสูง (10,000*g) ปริมาณแคลเซียมอิสระที่วิเคราะห์ได้จึงไม่เท่ากับปริมาณแคลเซียมทั้งหมดในน้ำนมถั่วเหลือง และเมื่อนำตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองไปวิเคราะห์จุลินทรีย์ทั้งหมดพบว่า ไม่มีเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อนแสดงว่าการฆ่าเชื้อที่ 121°C ประมาณ 16 นาที เพียงพอในการทำลายจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในน้ำนมถั่วเหลืองได้หมด จากนั้นได้นำตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองสเตอริไลซ์ดังกล่าวไปทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส ผลการทดสอบแสดงในตารางที่ 4.17

ตารางที่ 4.17 ผลการยอมรับทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองสเตอริไลซ์ต่าง ๆ (คะแนนเต็ม 10)

ตัวอย่าง	(ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)					
	การตกตะกอน	สี	กลิ่นถั่ว	รสหวาน	รสชาติแปลกปลอม	การยอมรับรวม
1	9.67 ± 0.56	9.18 ± 0.95	9.32 ± 0.74	8.75 ± 1.10	9.35 ± 0.89	8.99 ± 1.21
2	9.59 ± 0.65	7.26 ± 1.08	6.10 ± 1.61	8.53 ± 1.03	4.40 ± 1.63	4.52 ± 1.30
3	9.47 ± 0.81	7.20 ± 1.02	5.85 ± 1.68	8.42 ± 1.03	4.20 ± 1.47	4.23 ± 1.39

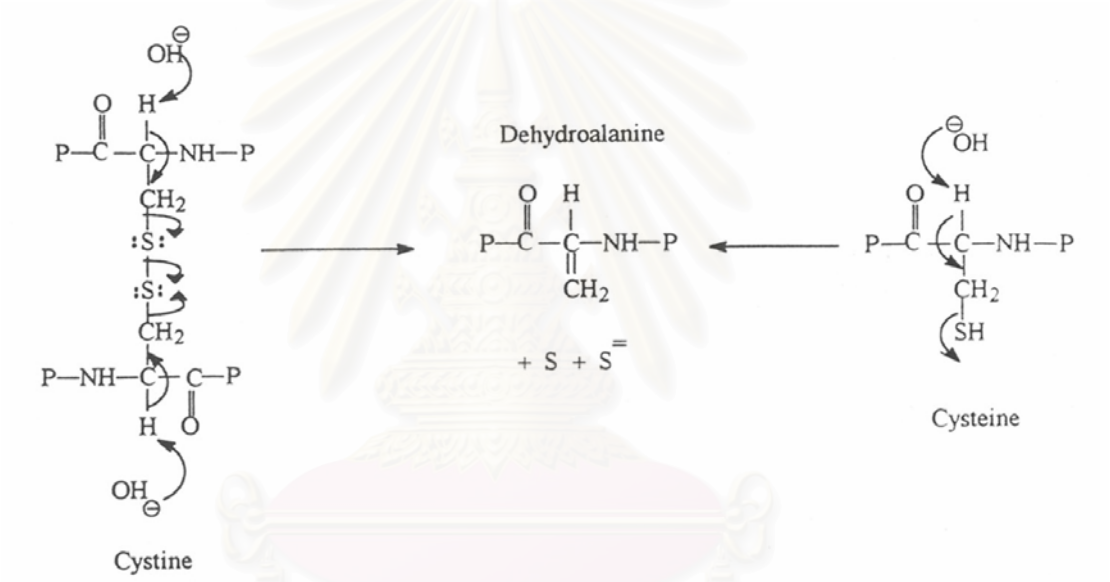
1 = ตัวอย่างควบคุม

2 = น้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V)

3 = น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0 ด้วย Na_2CO_3

จากตารางที่ 4.17 พบว่า การตกตะกอนและรสหวานของน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V) และน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตไม่แตกต่างจากตัวอย่างควบคุม แต่สี กลิ่น รสชาติแปลกปลอม และการยอมรับรวม มีความแตกต่างจากตัวอย่างควบคุม โดยสีของน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V) และน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตจะคล้ำกว่าตัวอย่างควบคุมซึ่งสามารถสังเกตเห็นได้ง่ายด้วยตาเปล่าดังที่ได้อธิบายไว้ในตอน

ต้น นอกจากนี้ยังมีกลิ่นเหมือนคล้ายไข่ขาวต้ม และมีรสชาติแปลกปลอมคือหวานเอียน ๆ ซึ่งอาจเกิดเนื่องจาก alkali salt (STPP) ที่เติมในน้ำนมถั่วเหลืองและการปรับ pH ในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตจะไปทำลายสารอาหารที่สำคัญในระหว่างกระบวนการผลิตรวมถึงกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบ (Liu, 1997) โดย alkali salt และการปรับ pH จะทำให้ pH ของน้ำนมถั่วเหลืองสูงขึ้นเป็นผลให้ cystine ในน้ำนมถั่วหลืองไม่ทนความร้อน โดยพันธะ disulfide เป็นจุดที่อ่อนแอมากที่สุดในโมเลกุล (Badenhop และ Hackler, 1970) อาจถูกทำลายดังภาพที่ 4.8 (Fennema, 1996) จึงเกิดกลิ่นไข่ต้มและมีรสชาติแปลกปลอมเกิดขึ้น สิ่งเหล่านี้แสดงให้เห็นว่าน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตที่ผ่านการฆ่าเชื้อในระดับสเตอริไลซ์ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัส



ภาพที่ 4.8 การแตกตัวของ Cystine ในสภาวะที่เป็นด่างเมื่อมีการให้ความร้อน
ที่มา : Fennema (1996)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

ในงานวิจัยนี้ได้แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ส่วนคือ

- การผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมในระดับห้องปฏิบัติการ

งานวิจัยส่วนนี้ได้ทดลองผลิตน้ำนมถั่วเหลืองที่สกัดด้วยน้ำในอัตราส่วน 1 : 6 เสริมแคลเซียม (เติมสารละลาย STPP 1%(W/V) เพื่อเป็น chelating agent) โดยแปรชนิดเกลือแคลเซียม 3 ชนิด ปริมาณแคลเซียม 3 ระดับ และ ระดับ pH 3 ระดับ จากการทดลองพบว่า ชนิดเกลือแคลเซียม ปริมาณแคลเซียม และ ระดับ pH มีผลต่อการตกตะกอนของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมแลคเตต และแคลเซียมคลอไรด์ ปริมาณแคลเซียม 120 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 8.0 และน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 120 และ 140 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 8.0 จะมีการตกตะกอนของโปรตีนน้อยที่สุดในเกลือแคลเซียมแต่ละชนิด และน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 120 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0 จะมีการตกตะกอนของโปรตีนรองลงมา แต่เมื่อนำน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมทุกตัวอย่างดังกล่าวยกเว้นน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมแลคเตต มาทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสพบว่า ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบ เนื่องจากน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมทั้งหมดมีรสเค็ม เฝื่อน และมีสีเหลืองอมเขียว คาดว่าอาจเกิดจากปริมาณ STPP มากเกินไป จึงได้ทดลองแปรปริมาณ STPP ลงพบว่า น้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V) ได้รับการยอมรับทางประสาทสัมผัสจากผู้ทดสอบมากที่สุด และปริมาณแคลเซียมจากเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตที่สามารถเติมลงไปได้ในปริมาณที่เหมาะสมคือ 30 และ 35 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml

เมื่อทดลองผลิตตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้ชนิดเกลือแคลเซียม ปริมาณแคลเซียม ปริมาณ STPP และระดับ pH ที่เหมาะสมจากการทดลองข้างต้น แล้วนำไปศึกษาสมบัติของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมพบว่า น้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมทุกตัวอย่างมีการตกตะกอนของโปรตีน และความหนืดมากกว่า แต่มีความสว่างต่ำกว่าตัวอย่างควบคุมและน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1% (W/V) อาจเกิดเนื่องจากการเสริมแคลเซียมในน้ำนมถั่วเหลืองทำให้โปรตีนเกิดการ aggregate จากนั้นจึงได้ทดลองผลิตตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมเหล่านี้ในโรงงานนำร่อง เพื่อศึกษาถึงผลผลิตและความเป็นไปได้ในการผลิต

- การผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแบบพาสเจอร์ไรซ์ในโรงงานนำร่อง

ทดลองผลิตตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมต่าง ๆ ในโรงงานนำร่อง แล้วนำมาศึกษาสมบัติของน้ำนมถั่วเหลืองที่ผลิตพบว่าให้ผลที่มีแนวโน้มเช่นเดียวกับในระดับห้องปฏิบัติการ โดยเมื่อนำผลการทดลองมาเทียบกับผลการทดลองในระดับห้องปฏิบัติการจะสังเกตเห็นว่าน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมทุกตัวอย่างที่ผลิตในโรงงานนำร่องมีการตกตะกอนของโปรตีน และความหนืดน้อยกว่า แต่มีความสว่างมากกว่าตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ผลิตได้ในระดับห้องปฏิบัติการ ทั้งนี้เพราะว่า น้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ผลิตในโรงงานนำร่องต้องผ่าน homogenizer ซึ่งอาจทำให้โปรตีนที่เกิด aggregate แตกเป็นอนุภาคที่เล็กลง และเมื่อนำตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมดังกล่าวไปทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสพบว่าน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0 ด้วย NaOH ได้รับการยอมรับทางประสาทสัมผัสมากที่สุด แต่ตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองที่ปรับ pH เป็น 8.0 ด้วย NaOH ไม่ค่อยได้รับการยอมรับทางประสาทสัมผัสเท่าที่ควร อาจเกิดเนื่องจาก pH ที่สูงทำให้เกิดรสเฝื่อน และการใช้ NaOH ปรับ pH อาจทำให้เกิดรสขม จึงได้ทดลองนำน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg/ น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0 มาเปลี่ยนสารปรับ pH จาก NaOH เป็น Na_2CO_3 ผลการทดลองพบว่า Na_2CO_3 สามารถใช้ปรับ pH แทน NaOH ได้โดยไม่มีผลต่อสมบัติด้านต่าง ๆ ของตัวอย่างน้ำนมถั่วหลืองเสริมแคลเซียม และยังเป็นที่ยอมรับทางประสาทสัมผัสเช่นเดียวกับน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ปรับ pH ด้วย NaOH จึงใช้สภาวะนี้ในการทดลองส่วนต่อไป

- การผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแบบสเตอริไลซ์ในโรงงานนำร่อง

ทำการศึกษาหาเวลาฆ่าเชื้อของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0 ด้วย Na_2CO_3 บรรจุน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม 250 ml ในกระป๋องเคลือบแลกเกอร์ขนาด 202*503 ฆ่าเชื้อใน verticle retort ใช้อุณหภูมิ 121°C ค่า F_{250} เท่ากับ 7.38 นาที จากการทดลองพบว่าน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมดังกล่าวมีการส่งผ่านความร้อนแบบพาความร้อนและใช้เวลาฆ่าเชื้อประมาณ 16 นาที จึงใช้สภาวะดังกล่าวในการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมจำนวน 130 ลิตร เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมบรรจุกระป๋อง ผลการทดองพบว่า เกิดการตกตะกอนของโปรตีน อาจเกิดเนื่องจากการผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมจำนวนมากทำให้เกิดความล่าช้าในการผลิต และหม้อต้มผนัง 2 ชั้นที่ใช้ในการให้ความร้อนในงานวิจัยนี้มีพื้นที่การถ่ายเทความร้อนเพียงครึ่งเดียว ทำให้ต้องใช้เวลาในการให้ความร้อนค่อนข้างนาน (ประมาณ 6 นาที) นอกจากนี้ น้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ผลิตได้ยังมีสีคล้ำกว่าตัวอย่างควบคุมเนื่องจากกรดอะมิโนในน้ำนมถั่วเหลืองไปทำปฏิกิริยากับน้ำตาลที่

อุณหภูมิสูง ทำให้เกิดปฏิกิริยา nonenzymatic browning และเมื่อนำไปทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสพบว่า ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบ เนื่องจากน้ำนมถั่วเหลืองดังกล่าวมีกลิ่นคล้ายไข่ต้มและมีรสชาติแปลกปลอมมาก อาจเกิดเนื่องจากการเติม alkali salt และการปรับ pH ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม เมื่อผ่านการให้ความร้อนสูงทำให้พันธะ disulfide ของ cystein ถูกลำลาย จึงสรุปได้ว่าอุณหภูมิและเวลาในการฆ่าเชื้อระดับสเตอริไลซ์ซึ่งมากกว่าการพาสเจอร์ไรซ์เป็นปัจจัยที่ทำให้ผู้ทดสอบทางประสาทสัมผัสไม่ยอมรับน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ผ่านการสเตอริไลซ์

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข้อเสนอแนะ

ในงานวิจัยนี้พบว่าสามารถเสริมแคลเซียมได้ 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ซึ่งเมื่อเทียบกับปริมาณแคลเซียมที่มีอยู่เดิมในน้ำนมถั่วเหลือง (ประมาณ 13 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml) จะสังเกตเห็นว่า สามารถเสริมแคลเซียมได้ประมาณ 57% แต่เมื่อเทียบกับนมวัวซึ่งมีแคลเซียมประมาณ 118 mg/นม 100 ml จะสามารถเสริมได้เพียงประมาณ 14% ซึ่งจะเห็นว่าน้อยมาก ดังนั้นถ้าจะมีการศึกษาต่อไป อาจต้องใช้วิธีการอื่น ๆ ร่วมด้วย เช่นอาจใช้ hydrocolloid บางชนิด เช่น carrageenan ช่วยในการแขวนลอยอนุภาค และการเติมแคลเซียมในน้ำนมถั่วเหลือง อาจใช้วิธีการ spray สารละลายแคลเซียม เพื่อให้แคลเซียมสามารถกระจายตัวได้ทั่วถึง ซึ่งอาจทำให้สามารถเสริมแคลเซียมได้มากขึ้น และจากการทดลองผลิตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตพาสเจอร์ไรซ์ในโรงงานนำร่อง ที่มีปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วหลือง 100 ml ปรับ pH เป็น 7.0 ด้วย Na_2CO_3 พบว่าได้รับการยอมรับทางประสาทสัมผัสจากผู้ทดสอบเป็นที่น่าพอใจ แต่เมื่อผ่านการฆ่าเชื้อระดับสเตอริไลซ์พบว่า น้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมเกิดการตกตะกอนของโปรตีน และมีรสชาติไม่เป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบ ซึ่งเกิดเนื่องจากอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนมากเกินไป และการให้ความร้อนน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมปริมาณมาก ๆ ด้วยหม้อต้มผนัง 2 ชั้นอาจทำให้การถ่ายเทความร้อนไม่ทั่วถึง จึงน่าจะใช้ plate heat exchanger ในการให้ความร้อนแทน เพื่อให้มีการถ่ายเทความร้อนอย่างรวดเร็วและสม่ำเสมอ ระยะเวลาในการให้ความร้อนน้อยลง อาจทำให้โปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมไม่ตกตะกอน นอกจากนี้ถ้าสามารถใช้ระบบ UHT ในการฆ่าเชื้อ ซึ่งแม้จะใช้อุณหภูมิสูงกว่าแต่ใช้เวลาในการให้ความร้อนน้อยกว่าการใช้ retort มาก ก็อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงน้อยกว่าการใช้ retort ในการฆ่าเชื้อ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รายการอ้างอิง

ภาษาไทย

คณะกรรมการจัดทำข้อกำหนดสารอาหารประจำวันที่ร่างกายควรได้รับของประชาชนชาวไทย กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. 2532. ข้อกำหนดสารอาหารที่ควรได้รับประจำวันและแนวทางการบริโภคอาหารสำหรับคนไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก.

จันทร์ธิดา ปิยสุนทราวงษ์. 2538. ถั่วเหลือง. ข่าวเศรษฐกิจการเกษตร. 41(463): 30-31.

ทนง ภัครัชพันธุ์. 2524. การใช้ความร้อนในกระบวนการแปรรูป. กรุงเทพมหานคร: ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ประภาศรี ภูวเสถียร. 2532. อาหารกับกระดูกและฟัน. นิตยาสารหมอชาวบ้าน (ตุลาคม): 32-35.

ประภาศรี ภูวเสถียร และ จุรีพร จิตจำรูญโชคไชย. 2532. แคลเซียม. วารสารคลินิก (ธันวาคม): 891-896.

ประเสริฐ สายสิทธิ์ และคณะ. 2527. ถั่วเหลืองและการใช้ประโยชน์ในประเทศไทย. พิมพ์ครั้งที่ 1. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์บริษัทสยามออฟเซ็ท.

ปาหนัน บุญ-หลง. 2532. โภชนาการ. พิมพ์ครั้งที่ 5. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พิชัย สราญรมย์. 2528. ความรู้พื้นฐานเกี่ยวกับถั่วเหลืองสำหรับการศึกษาระดับปริญญา. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เพ็ญจันทร์ สุวรรณแสง. 2540. การวิเคราะห์ผลการตรวจทางห้องปฏิบัติการสำหรับพยาบาล. พิมพ์ครั้งที่ 9. กรุงเทพมหานคร: โรงพิมพ์ มิตรเจริญการพิมพ์.

เพียงจันทร์ ชัยวนนท์. 2542. นมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมและความสามารถในการนำแคลเซียมไปใช้. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. สาขาวิชาอาหารและโภชนาการเพื่อการพัฒนา สถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล.

มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช, คณะคหกรรมศาสตร์. 2531. โภชนาการกับชีวิตมนุษย์. กรุงเทพมหานคร: คณะคหกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช.

มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, สำนักงาน. 2523. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม วิธีวิเคราะห์อาหารทางจุลชีววิทยา. พิมพ์ครั้งที่ 4. กรุงเทพมหานคร: กระทรวงอุตสาหกรรม.

เศรษฐกิจการพานิชย์, กรม. 2542. ถั่วเหลืองและผลิตภัณฑ์ (มีนาคม). กรุงเทพมหานคร: กองวิจัยสินค้า กระทรวงพานิชย์.

สมชาย ประภาวัต, วารุณี วารัญญานนท์, สุภารัตน์ เรืองมณีไพฑูรย์, มาลี ประภาวัต และอุดม กาญจนปกรณ์ชัย. 2525. การศึกษาถึงชนิดและปริมาณที่เหมาะสมของตัวตกตะกอนต่าง ๆ ในการทำเต้าหู้หลอด. งานวิจัยสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 25-40.

ห้างหุ้นส่วนจำกัด นิวทรีชั่น. เอกสารประชาสัมพันธ์.

ภาษาอังกฤษ

American Can Company. 1953. Sterilization of canned foods : Theoretical considerations in the sterilization of canned foods. Illinois: American Can Company, Research and technical department.

AOAC. 1995. Official Method of Analysis. 16th ed. Washington D.C. :Association of Official Analytical Chemists.

AOAC. 2000. Official Method of Analysis. 17th ed. Washington D.C. :Association of Official Analytical Chemists.

Appu, R. A. G., and Narasinga, R. M. S. 1975. Binding of Ca(II) by the 11S fraction of soybean protein. Cereal Chemistry. 52(1): 21-33.

Appu, R. A. G., and Narasinga, R. M. S. 1976. Binding of Ca(II) , Mg(II) , Zn(II) by 7S fraction of soy protein. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 24(3): 490-494.

Badenhop, A. F., and Hackler, L. R. 1970. Effect of soaking soybeans in sodium hydroxide solution as pretreatment for soy milk production. Cereal Science Today. 15(3): 84-88.

Barbut, S., and Foegeding, E. A. 1993. Ca^{2+}-induce gelation of whey protein isolate. Journal of Food Science. 58(4): 867-871.

Cochran, W. C., and Cox, D. M. 1985. Experimental designe. New York: John Wiley & Sons.

Damodaran, S., and Paraf, A. 1997. Food proteins and their application. New York: Marcel Dekker. pp. 25-57.

Fennema, O. R. 1976. Principles of food science part I : Food chemistry. 1nd ed. New York: Marcel Dekker. pp. 205-278.

Fennema, O. R. 1996. Principles of food science part I : Food chemistrry. 3rd ed. New York: Marcel Dekker. pp. 321-430.

Grant, J. 1969. Hackh's chemical dictionary. New York: McGraw-Hill. 640 p.

Hermansson , A. M. 1986. Soy protein gelation. Journal of American Oil Chemists Society. 63(5): 658-666.

Hongsprabhus, P., and Barbut, S. 1997. Effect of gelation temperature on Ca^{++} - induced gelation of whey protein isolate. Lebensen-Wissu-Technology. 30: 45 – 49.

Kinsella, J. E. 1979. Functional properties of soy proteins. Journal of American Oil Chemists Society. 56: 242-258.

Kwok, K., and Niranjan, K. 1995. Review : Effect of thermal processing on soymilk. International Journal of Food Science and Technology. 30: 263-295.

Liu, K. 1997. Soybean chemistry, technology and utilization. New York: Chapman & Hall.

Markley, K. S., and Goss, W. H. 1944. Soybean chemistry and technology. New York: Chemical Publishing Company.

Markley, K. S. 1950. Soybeans and soybean product. Vol 1. New York: Interscience.

Mcdermott, R. L., Harper, W. J., and Whitley, R. 1981. A centrifugal method for characterization of salad dressing emulsion. Food Technology. 35(5): 81-87.

Molins, R. A. 1991. Phosphate in food. Florida: CRC Press.

Morr, C. V., and Ha, E. Y. W. 1993. Whey protein concentrate and isolate : Protein and functional properties. Critical Review in Food Science and Nutrition. 33(6): 431-476.

Mulvihill, D. M., and Kinsella, J. E. 1987. Gelation characteristic of whey protein and β-lactoglobulin. Food Technology. 41(9): 102-111.

Nanba, K., and Nagasawa, T. 1986. Effect of the addition of Ca^{2+} on the colloidal stability of soymilk. Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology. 33(11): 745-751.

Ono, T., Katho, S., and Mothizuki, K. 1993. Influence of calcium and pH on solubility in soybean milk. Bioscience,- Biotechnology-and- Biochemistry. 57(1): 24-28.

Patnaik, P. 1992. A comprehensive guide to the hazardous properties of chemical substances. New York: Van Nostrand Reinhold. pp. 116-119.

Piggot, J. R. 1984. Sensory analysis of food. New York: Elsevier Science Publishing.

Rasyid, F., and Hansen, P. M. T. 1991. Stabilization of soy milk fortified with calcium gluconate. Journal of Food Hydrocolloids. 4(5): 415-422.

Salunkhe, D. K., and Kadam, S. S. 1989. CRC handbook of world food legumes : Nutritional chemistry , processing technology , and utilization. Florida: CRC.Press.

Shurtleff, W., and Aoyagi, A. 1979. Tofu and soymilk production. Lafayette: New-age study center.

Sio, K., Koyama, E., and Watanabe, T. 1967. Protein-calcium-phytic acid relationship in soybean Part I. Effect of calcium and phosphorus on solubility characteristics of soybean meal protein. Agricultural Biological Chemistry. 31(10): 1195-1200.

Solomons, T. W. G. 1996. Organic chemistry. New York: John Wiley & Sons. pp. 248-249.

Sofos, J. N. 1986. Use of phosphates in low-sodium meat products. Food Technology. 40(9): 52-68.

Torikata, Y., Ishisara, J., and Yano, T. 1987. Protein coagulation through reversible and irreversible bindings of calcium. Agricultural Biological Chemistry. 51(3): 707-714.

Vujicic, I., Batra, S. C., and Deman J. M. 1967. Interaction of alkaline earth metal ion with polyphosphates and citric acid in the presence and absence of casein. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 15(3): 403-407.

Weingartner K. E., Nelson A. I., John, W., and Erdman, J. R. 1983. Effect of calcium addition on stability and sensory properties of soy beverage. Journal of Food Science. 40(2): 256-263.

Wilkens, W. F., and Hackler, L. R. 1969. Effect of processing conditions on the composition of soymilk. Cereal Chemistry. 46: 391.

Wolf, W. J., and Cowan, J. C. 1975. Soybean as a Food Source. London: CRC.Press.

Yazici, F., Alvarez, F., Mangino, M. E., and Hansen, P. M. T. 1997. Formulation and processing of a heat stable calcium-fortified soy milk. Journal of Food Science. 62(3): 535-538.

Zemel, M. B., and Shelef, L. A. 1985. Calcium fortified soy milk. European Patent Application. Patent number EPA20195167.

ภาคผนวก

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์ทางเคมี

ก.1 วิธีวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

ดัดแปลงจากวิธีของ AOAC ข้อ 925.09 B , 1995

วิธีทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างให้ทราบน้ำหนักแน่นอนด้วยเครื่องชั่งละเอียดประมาณ 2-5 กรัม ใส่ในภาชนะอลูมิเนียมที่แห้งสนิท (โดยนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 $\pm$ 3 $^{\circ}$C นาน 1 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่ แล้วทิ้งให้เย็นใน desiccator จากนั้นชั่งน้ำหนักภาชนะอลูมิเนียมเปล่าเก็บไว้) สำหรับตัวอย่างที่เป็นของเหลวต้องนำไประเหยน้ำออกให้หมดใน water bath ที่ควบคุมอุณหภูมิ 100°C

2. นำตัวอย่าง (เปิดฝาไว้) ไปอบในตู้อบโดยควบคุมอุณหภูมิ 105 $\pm$ 3 $^{\circ}$C 5 ชั่วโมง

3. นำออกจากตู้อบ ปิดฝาภาชนะอลูมิเนียม แล้วใส่ใน desiccator 30 นาที จนเย็น

4. ชั่งภาชนะอลูมิเนียมพร้อมตัวอย่าง

5. นำไปอบต่ออีก 30 นาที จนน้ำหนักคงที่

6. ชั่งน้ำหนักภาชนะอลูมิเนียมพร้อมตัวอย่างแล้วหักลบด้วยน้ำหนักภาชนะอลูมิเนียมเปล่า จะได้ตัวอย่างหลังอบ

7. คำนวณความชื้นโดยใช้สูตร

$$\text{ปริมาณความชื้น (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)}} \times 100$$

2. <u>การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน</u>

ดัดแปลงจากวิธี AOAC ข้อ 991.23 , 1995

<u>สารเคมี</u>

1. สารละลายกรดซัลฟุริกเข้มข้น
2. สารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1N ที่ standardize ด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์
3. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 50
4. สารละลายกรดบอริกความเข้มข้น 4%
5. สารเร่งปฏิกิริยา (Kjeltabs Cu 3.5)
6. โมดิฟายด์เมทธิลเรดอินดิเคเตอร์ (เตรียมโดยละลายเมทธิลเรด 0.125 กรัม และ เมธิลีนบลู 0.0825 กรัมในเอทธานอลเข้มข้นร้อยละ 90 จำนวน 100 มิลลิลิตร)

<u>วิธีทดลอง</u>

1. ชั่งน้ำหนักที่ทราบแน่นอนประมาณ 0.3 กรัม สำหรับตัวอย่างที่เป็นของแข็ง และ 2 กรัมสำหรับตัวอย่างที่เป็นของเหลว ใส่ใน Kjeldahl tube ใส่ antibumping ลงไป 2-3 เม็ด
2. เติมสารเร่งปฏิกิริยา (Kjeltabs Cu 3.5) 1 เม็ด และกรดซัลฟุริกเข้มข้น 25 ml
3. นำไปย่อยด้วยเครื่อง Kjeldaltherm ซึ่งควบคุมอุณหภูมิในการย่อยเป็น 2 ช่วงคือ

ช่วงที่ 1 ใช้อุณหภูมิ 250°F เป็นเวลาประมาณ 15-20 นาที

ช่วงที่ 2 ใช้อุณหภูมิ 400°F เป็นเวลาประมาณ 30-45 นาที หรือจนตัวอย่างใส เป็นสีฟ้าอ่อนหรือไม่มีสี แล้วย่อยต่อไปอีกนาน 30 นาที

4. ทิ้งให้เย็น แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่น 25 ml แล้วนำ Kjeldahl tube ต่อเข้ากับเครื่อง Vapodest เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 50 จนสารละลายตัวอย่างกลายเป็นสีดำ
5. รองรับสารที่กลั่นด้วยสารละลายกรดบอริกความเข้มข้น 4% ปริมาตร 50 ml ที่เติมโมดิฟายด์เมทธิลเรดอินดิเคเตอร์ 3-4 หยด
6. กลั่นตัวอย่างจนในขวดรองรับมีปริมาตร 250 ml
7. นำสารละลายในขวดรองรับมาไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดร-คลอริกความเข้มข้น 0.1N จนสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีม่วง
8. คำนวณหาปริมาณไนโตรเจนและปริมาณโปรตีนโดยใช้สูตร

ปริมาณไนโตรเจน (%) = ปริมาณกรดไฮโรคลอริกที่ไตเตรท (ml)) X ความเข้มข้นกรดไฮโดรคลอริก (N) X 14
น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม) X 10

ปริมาณโปรตีน (%) = ปริมาณไนโตรเจน (%) X 6.25 (ประเสริฐ สายสิทธิ์ และคณะ , 2527)

3. การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน

3.1 การวิเคราะห์ปริมาณไขมันในเมล็ดถั่วเหลือง

ตามวิธี AOAC ข้อ 920.39 , 1995

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างที่ผ่านการอบ 5 กรัม ห่อด้วยกระดาษกรอง Whatman No. 1 ใส่ใน thimble

2. ใส่ thimble ลงในชุดสกัดไขมัน โดยเติมสารทำละลาย petroleum ether 80 ml ใน Soxhlet flask (ที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้ว)

3. ให้ความร้อนจนสารทำละลายควบแน่นหยดใส่ตัวอย่าง 3-4 หยดต่อนาที เป็นเวลา 6-8 ชั่วโมง (ระวังไม่ให้สารทำละลายระเหยหมด)

4. ระเหยปิโตรเลียมอีเธอร์ออกจาก Soxhlet flask จนหมดกลิ่น อบที่อุณหภูมิ 100°C นาน 30 นาที หรือจนน้ำหนักคงที่

5. ทิ้ง Soxhlet flask ให้เย็นใน desiccator

6. ชั่งน้ำหนัก Soxhlet flask แล้วคำนวณหาปริมาณไขมันโดยใช้สูตร

ปริมาณไขมัน (%) = น้ำหนักไขมันที่สกัดได้ (กรัม) × 100
น้ำหนักตัวอย่างแห้ง (กรัม)

3.2 การวิเคราะห์ปริมาณไขมันในน้ำนมถั่วเหลือง

วิธีการทดลอง

การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างที่มีอุณหภูมิประมาณ 20°C มาผสมให้เข้ากันโดยถ่ายใส่ภาชนะสะอาดไปมา

การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่ผ่านการเตรียมแล้วทันทีประมาณ 10 กรัมใส่ Rohring tube

2. ปิเปต NH_4OH 1.25 ml ใส่ Rohring tube ปิดจุกยางแล้วเขย่าให้เข้ากัน

3. ปิเปต ethyl alcohol 10 ml ใส่ Rohring tube ปิดจุกยางเขย่าให้เข้ากัน

4. เติม diethyl ether 25 ml ใส่ Rohring tube ปิดจุกยาง เขย่าแรง ๆ ประมาณ 1 นาที

5. ค่อย ๆ เปิดจุกยาง แล้วเติม petroleum ether 25 ml ใส่ Rohring tube ปิดจุกยางแล้วเขย่าแรง ๆ 1 นาที

6. ตั้ง Rohring tube ทิ้งไว้ประมาณ 2 ชั่วโมง เพื่อรอให้ตกตะกอนจนสารละลาย ether ส่วนบนใส

7. ไขสารละลายใสส่วนบนใส่ใน flask

8. ล้างจุกยางที่ใช้ปิด Rohring tube ด้วยสารละลายผสม diethyl ether กับ petroleum ether อัตราส่วน 1:1 (ล้างใส่ Rohring tube รอให้ตกตะกอนแล้วไขสารละลายใสส่วนบนใส่ flask)

9. นำ flask ที่ใส่สารละลายใสไประเหยสารละลายผสม diethyl ether กับ petroleum ether ใน water bath

10. สกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง (ซ้ำตั้งแต่ข้อ 4-9 โดยใช้ flask อันเดิม) ครั้งที่ 2 ใช้ diethyl ether กับ petroleum ether อย่างละ 20 ml ครั้งที่ 3 ใช้อย่างละ 15 ml

11. นำ flask ที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ $102 \pm 2^{\circ}C$ ประมาณ 2 ชั่วโมง แล้วนำไปทำให้เย็น ชั่งน้ำหนัก

12. ล้าง flask ด้วย petroleum ether 15-25 ml 3 ครั้ง นำ flask ที่ล้างแล้วไปอบประมาณ 1 ชั่วโมง ทำให้เย็น ชั่งน้ำหนัก

13. คำนวณหาปริมาณไขมันโดยใช้สูตร

$$\text{ปริมาณไขมัน} = \frac{\text{น้ำหนัก flask ที่ได้จากข้อ 11 (กรัม) - น้ำหนัก flask ที่ได้จากข้อ 12 (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}} \times 100$$

4. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า

ตามวิธีของ AOAC ข้อ 920.39 , 1995

วิธีการทดลอง

1. ชั่งตัวอย่างให้ทราบน้ำหนักแน่นอน 2 กรัม ใส่ใน crucible ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน
2. นำตัวอย่างไปเผาจนหมดควัน
3. นำไปเผาต่อใน muffle furnace ที่ 550°C 2 ชั่วโมง หรือจนได้เถ้าสีขาว
4. ทิ้งให้เย็นใน desiccator
5. ชั่งน้ำหนักคำนวณหาปริมาณเถ้าโดยใช้สูตร

$$\text{ปริมาณเถ้า (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักหลังเผา (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)}} \times 100$$

5. การคำนวณปริมาณคาร์โบไฮเดรต

ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (%) = 100 – (ความชื้น + โปรตีน + ไขมัน + เถ้า)

ก.2 การวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียม

ตามวิธี AOAC ข้อ 991.25 , 1995

สารเคมี

1. Lanthanum Oxide
2. concentrated nitric acid
3. concentrated calcium stock solution

วิธีการทดลอง

การเตรียม stock calcium solution

1. นำ concentrated calcium stock solution ความเข้มข้นแคลเซียม 500 mgCa/L มาเจือจางให้เหลือความเข้มข้น 20 mg/L

การเตรียม Lanthanum stock solution

1. ชั่ง Lanthanum oxide 11.73 กรัม ละลายด้วย concentrated nitric acid 25 ml

2. ปรับปริมาตรสารละลายเป็น 1000 ml

<u>การเตรียมตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลือง</u>

1. ชั่งน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมมาประมาณ 4 กรัม ใส่ใน crucible ที่แห้ง

2. นำ crucible ไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

3. นำ crucible ที่อบแล้วไปเผาด้วย hot plate จนไม่มีควัน

4. นำ crucible ที่เผาแล้วไปเข้า muffle furnance ที่อุณหภูมิ 525 °C 16 ชั่วโมง

5. ละลายเถ้าด้วย concentrated nitric acid 1 ml แล้วปรับปริมาตรเป็น 250 ml ใน volumetric flask

6. ปิเปตสารละลายข้อ 5. 10 ml และ Lanthanum slock solutiom 10 ml ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 ml แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 ml

<u>การทำ standard curve</u>

1. ปิเปต calcium stock solution มา 5 , 10 , 15 , 20 , 25 ml ใส่ใน volumetric flask ขนาด 100 ml (เตรียม blank โดยไม่ใส่ calcium stock solution)

2. ปิเปต Lanthanum stock solution 10 ml ใส่ไปใน volumetric flask ของข้อ 1.

3. ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 0-5 ppm ตามลำดับ

4. นำสารละลายแคลเซียมที่เตรียมไว้ความเข้มข้น 0-5 ppm จากข้อ 3. ไปเข้าเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotrometer แล้วอ่านค่า absorbance ที่ได้ (ภาพที่ ก.1)

5. นำค่าความเข้มข้นของแคลเซียมและค่า absorbance ที่อ่านได้ไปเข้าสมการ linear regression เพื่อใช้ในการอ่านค่าปริมาณแคลเซียมของตัวอย่าง

<u>วิธีวิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียม</u>

1. นำสารละลายตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองที่เตรียมไว้ไปเข้าเครื่อง Atomic Absorption Spectrophotrometer แล้วอ่านค่า absorbance ที่ได้

2. นำค่า absorbance ที่อ่านได้มาแทนในสมการ linear regression จะได้ค่าความเข้มข้นออกมาในหน่วย ppm

<u>การคำนวณ</u>

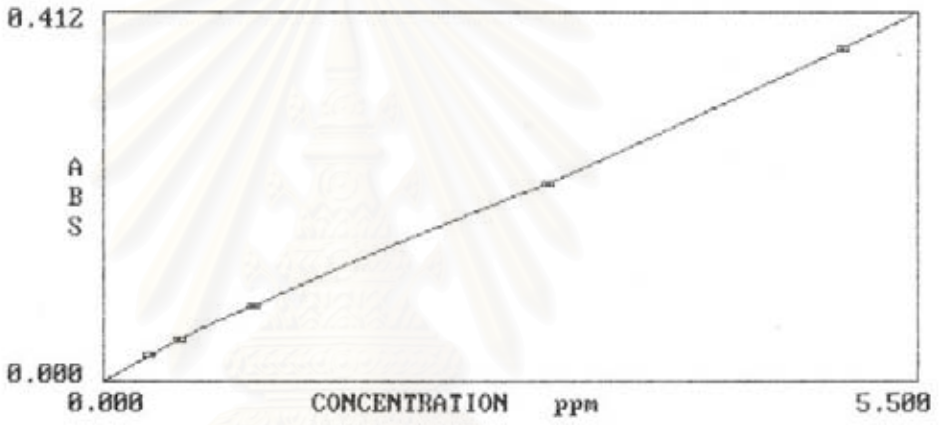
calcium (mg/100 g) = (Z*2500) / (W*V)

โดยที่ Z = ppm Ca ที่ได้จากการแทนค่าในสมการจากข้อ 2.

W = น้ำหนักของน้ำนมถั่วเหลืองที่ชั่งเริ่มต้น (กรัม)

V = ปริมาณของสารละลายที่ปิเปตมาจากขวดวัดปริมาตรขนาด 250 ml ใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 ml (ในงานวิจัยนี้ใช้ปริมาณ 10ml)

SAMPLE	CONC ppm	%RSD	MEAN ABS	READINGS		
BLANK	0.000		0.038	0.038	0.038	0.038
STANDARD 1	0.300	0.8	0.028	0.027	0.028	0.028
STANDARD 2	0.500	0.1	0.046	0.046	0.046	0.046
STANDARD 3	1.000	0.9	0.083	0.084	0.083	0.082
STANDARD 4	3.000	0.5	0.222	0.222	0.221	0.223
STANDARD 5	5.000	0.3	0.374	0.373	0.374	0.375



ภาพที่ ก.1 กราฟมาตรฐานสารละลายแคลเซียม

ก.3 การวิเคราะห์ปริมาณแคลเซียมอิสระของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมบรรจุกระป๋อง

ดัดแปลงจากวิธีของ Torikata, Ishihara และ Yano, 1987

วิธีการทดลอง

1. นำน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมบรรจุกระป๋องมาเขย่าให้เข้ากัน
2. ชั่งน้ำนมถั่วเหลืองประมาณ 60 กรัม ใส่หลอด centrifuge พลาสติกขนาด 100 ml ที่ทราบน้ำหนัก
3. นำหลอด centrifuge ไป centrifuge ความเร็วรอบ 10,000*g 10 นาที ที่อุณหภูมิประมาณ 15°C
4. ชั่งน้ำหนักปริมาตรส่วนใสที่ได้หลังจาก centrifuge
5. นำส่วนใสที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณแคลเซียมตามวิธีในภาคผนวก ก.2

6. คำนวณหาปริมาณแคลเซียมอิสระโดยใช้สูตร

$$X = \frac{100xB}{A}$$

$$Y = \frac{CxX}{100}$$

A = น้ำหนักน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมจากข้อ 2. (กรัม)

B = น้ำหนักปริมาตรส่วนใสจากข้อ 4. (กรัม)

C = ปริมาณแคลเซียมที่วิเคราะห์ได้จากข้อ 5. ของปริมาตรส่วนใสที่ได้จากการ centrifuge (mg/ปริมาตรส่วนใส 100 ml)

X = ปริมาตรส่วนใสของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม 100 ml (กรัม)

Y = ปริมาณแคลเซียมอิสระ (mg) /น้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม 100 ml

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ข

วิธีวัดทางกายภาพ

ข.1 การวัดปริมาตรส่วนใสของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม

ดัดแปลงจากวิธีของ Mcdermott, Harper, และ Whitley, 1981; Rasyid และ Hansen, 1991

วิธีการทดลอง

1. ปิเปตน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม 10 ml ใส่หลอด centrifuge แล้วนำไปให้ความร้อนในบีกเกอร์ใส่น้ำที่ตั้งบนเตาไฟฟ้าจนได้อุณหภูมิ 90°C
2. นำหลอด centrifuge มาทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้องโดยใช้น้ำหล่อเย็น
3. นำหลอด centrifuge ไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,000 rpm 20 นาที
4. อ่านปริมาตรส่วนใสที่ได้

ข.2 การตรวจวัดความคงตัวของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมบรรจุกระป๋อง (เพื่อดูการตกตะกอนของโปรตีน)

ดัดแปลงจากวิธีของ Weingartner และคณะ (1983)

วิธีการทดลอง

1. นำน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมบรรจุกระป๋องมาเขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้ค้างคืน
2. ปิเปตตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมจากส่วนบน (สูงจากก้นกระป๋อง 9.5 cm) และส่วนล่าง (สูงจากก้นกระป๋อง 2.0 cm) ของกระป๋อง (กระป๋องสูง 12.6 cm) ส่วนละ 10 ml ใส่หลอด centrifuge
3. นำหลอด centrifuge ไป centrifuge ที่ความเร็วรอบ 3,000 rpm 20 นาที
4. อ่านปริมาตรส่วนใสที่ได้

ภาคผนวก ค

วิธีวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์

ค.1 <u>การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์</u>

<u>การวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด</u>

ดัดแปลงมาจากวิธีของ มอก. 335 เล่ม 1-2523 พิมพ์เพิ่มเติมครั้งที่ 5 พ.ศ. 2533

<u>อาหารเลี้ยงเชื้อ</u>

1. Plate count agar (เตรียมที่ความเข้มข้น 23.5 g/น้ำ 1 l) สำหรับวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด

<u>วิธีการทดลอง</u>

1. ปิเปตตัวอย่าง 1 ml ลงในหลอดทดลองมีฝาปิดที่มีน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว 9 ml (สารละลายนี้ถือเป็น dilution ที่ 10^{-1})
2. ผสมให้เข้ากันด้วย shaker
3. เจือจางถึง dilution 10^{-2}
4. ปิเปตสารละลายเข้มข้น 10^{0} 10^{-1} และ 10^{-2} จำนวน 1 ml ลงใน sterile plate dilution ละ 2 plate
5. pour plate ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่หลอมเหลวอุณหภูมิประมาณ 45°C
6. incubate ที่อุณหภูมิ 35-37°C นาน 48 ชั่วโมง
7. นับ plate ที่มีโคโลนีขึ้นระหว่าง 30-300 โคโลนี หาค่าเฉลี่ยแล้วคำนวณเป็นโคโลนี/ml

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ง.

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส

ง.1 แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสที่ใช้ฝึกฝนผู้ชิม

ชื่อ_____ วันที่_____

ผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลือง

ตัวอย่างที่ท่านได้รับนี้เป็นน้ำนมถั่วเหลืองรสหวานที่ผ่านการ pasteurize โดยจะมีตัวอย่างสองในสามตัวอย่างนี้เหมือนกัน อีกตัวอย่างหนึ่งแตกต่างกันออกไป

โปรดชิมตัวอย่างตามลำดับที่จัดให้ แล้วเลือกว่าตัวอย่างไหนแตกต่างจากอีกสองตัวอย่าง

รหัส	ทำเครื่องหมายตัวอย่างที่แตกต่างกัน
_____	_____
_____	_____
_____	_____

ท่านรู้สึกถึงความแตกต่างระหว่างตัวอย่างคู่ที่เหมือนกับตัวอย่างเดี่ยวที่แตกต่างกัน

เล็กน้อย	_____
ปานกลาง	_____
มาก	_____
มากพิเศษ	_____

ท่านยอมรับตัวอย่างเพียงใด

ยอมรับตัวอย่างเดี่ยวมากกว่า	_____
ยอมรับตัวอย่างคู่มากกว่า	_____

ข้อคิดเห็นและ/ข้อเสนอแนะ

_____

_____

ขอบคุณค่ะ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ง.2 <u>แบบทดสอบทางประสาทผัสที่ใช้ในการทดลองเพื่อหาปริมาณ S T P P ที่เหมาะสม</u>

ชื่อ _____ วันที่ _____

แบบสอบถามนี้เป็นการทดสอบการยอมรับต่อลักษณะต่าง ๆ ของน้ำนมถั่วเหลืองรสหวานที่ผ่านการ pasteurize กรุณาทำเครื่องหมาย | พร้อมทั้งเขียนหมายเลขตัวอย่างบนเส้นตรงที่กำหนดให้ตามลักษณะนั้น ๆ (ถ้ามีลักษณะผิดปกติกรุณาระบุลักษณะที่ผิดปกตินั้นลงในข้อเสนอแนะด้วย)

1 สี

ผิดปกติ ปกติ

2 กลิ่นถั่ว

รุนแรง กำลังดี

3 รสหวาน

จืดหรือหวานไป พอดี

4 รสชาติแปลกปลอม

มี ไม่มี

5 การยอมรับรวม

ข้อเสนอแนะ

_____

_____

_____

ขอบคุณค่ะ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

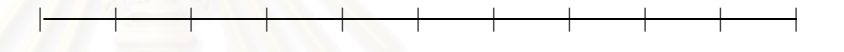
ง.3 <u>แบบทดสอบทางประสาทผัสที่ใช้หา 1. สภาวะของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ผลิตในโรงงานนำร่องที่ผู้ทดสอบให้การยอมรับมากที่สุด</u>

<u>2. ใช้ทดสอบความแตกต่างของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมที่ใช้สารปรับ pH ต่างชนิดกัน</u>

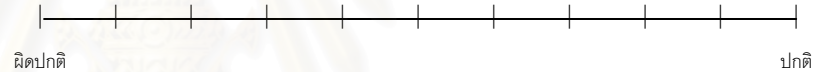
ชื่อ _____ วันที่ _____

แบบสอบถามนี้เป็นการทดสอบการยอมรับต่อลักษณะต่าง ๆ ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมรสหวานที่ผ่านการ pasteurize กรุณาทำเครื่องหมาย | พร้อมทั้งเขียนหมายเลขตัวอย่างบนเส้นตรงที่กำหนดให้ตามลักษณะนั้น ๆ (ถ้ามีลักษณะผิดปกติกรุณาระบุลักษณะที่ผิดปกตินั้นลงในข้อเสนอแนะด้วย)

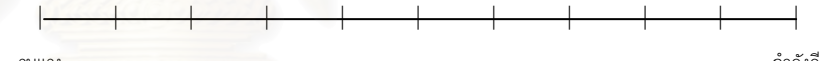
1 การตกตะกอน



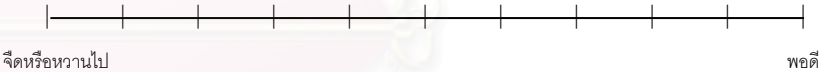
2 สี



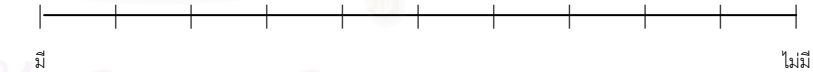
3 กลิ่นถั่ว



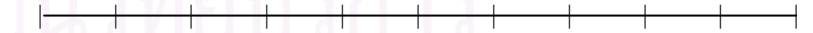
4 รสหวาน



5 รสชาติแปลกปลอม



6 การยอมรับรวม



ข้อเสนอแนะ

_____

_____

_____

ขอบคุณค่ะ

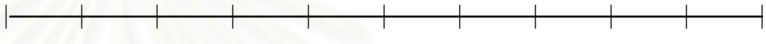
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ง.4 <u>แบบทดสอบทางประสาทผัสที่ใช้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณภาพของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมบรรจุกระป๋องที่ผลิตในโรงงานนำร่อง</u>

ชื่อ _____ วันที่ _____

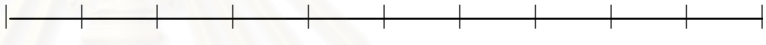
แบบสอบถามนี้เป็นการทดสอบการยอมรับต่อลักษณะต่าง ๆ ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมรสหวานที่ผ่านการ sterilize กรุณาทำเครื่องหมาย | พร้อมทั้งเขียนหมายเลขตัวอย่างบนเส้นตรงที่กำหนดให้ตามลักษณะนั้น ๆ (ถ้ามีลักษณะผิดปกติกรุณาระบุลักษณะที่ผิดปกตินั้นลงในข้อเสนอแนะด้วย)

1 การตกตะกอน



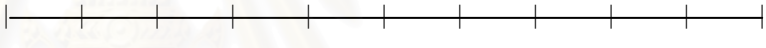
ตกตะกอน ไม่ตกตะกอน

2 สี



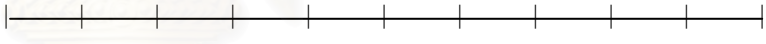
ผิดปกติ ปกติ

3 กลิ่นถั่ว



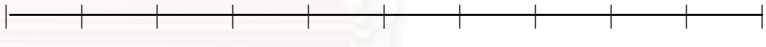
รุนแรง กำลังดี

4 รสหวาน



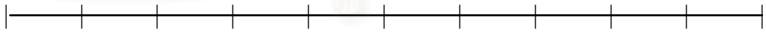
จืดหรือหวานไป พอดี

5 รสชาติแปลกปลอม



มี ไม่มี

6 การยอมรับรวม



ข้อเสนอแนะ

_____

_____

_____

ขอบคุณค่ะ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก จ.

การคำนวณเวลาในการฆ่าเชื้อด้วยความร้อน

1. ความหมายของสัญลักษณ์ (ทนง ภัครัชพันธุ์ , 2524)

1) ค่า D (Death rate constant หรือ Decimal reduction time) ความสามารถในการทนทานต่อความร้อนของจุลินทรีย์ ถูกกำหนดให้แสดงในรูปของ D value ซึ่งหมายถึง ระยะเวลาที่ใช้ในการทำลายสปอร์ของจุลินทรีย์ลง 90% ของที่มีอยู่ที่อุณหภูมิหนึ่ง ๆ จุลินทรีย์แต่ละชนิดจะมีค่า D แตกต่างกัน

2) ค่า Z (Z value) จำนวนองศาฟาเรนไฮต์ หรือองศาเซลเซียสที่ต้องการเพื่อเปลี่ยน TDT curve ไป 1 log cycle หรือจำนวนอุณหภูมิที่เปลี่ยนค่า Dไป 10 เท่า

3) ค่า F_{250} (sterilizing value) หมายถึง จำนวนเวลาเป็นนาทีที่อุณหภูมิ 250°F สำหรับใช้เพื่อทำลายจุลินทรีย์จำนวนหนึ่ง

4) ค่า F_h หมายถึง เวลาที่ใช้ในการทำให้กราฟผ่าน 1 log cycle

5) ค่า come-up time (CUT) หมายถึงระยะเวลาตั้งแต่เริ่มเปิดไอน้ำจนอุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อถึงอุณหภูมิที่ต้องการ

6) ค่า corrected zero หมายถึง เวลาเริ่มต้นของการฆ่าเชื้อที่แก้ไขแล้วซึ่งเท่ากับ ผลคูณของ come-up time กับ 0.58

7) ค่า IT (theorefical initial temperature) หมายถึง อุณหภูมิเริ่มต้นที่จุด cold point ของกระป๋องที่เป็นค่าจริง

8) ค่า ji หรือ T_{pih} (pseudo-initial temperature) หมายถึง อุณหภูมิเริ่มต้นที่จุดเริ่มต้นโดยสมมุติของการฆ่าเชื้อ ซึ่งการได้โดยการลากจุด Corrected zero บนแกน X ตั้งฉากขึ้นไปตัดกับกราฟ จากจุดตัดเส้นขนานกับแกน X ไปตัดแกน Y จะได้อุณหภูมิที่จุดตัด นำไปลบอุณหภูมิที่อ่านได้จากอุณหภูมิหม้อฆ่าเชื้อจะได้ค่า ji

9) PT หมายถึงอุณหภูมิของอาหารกระป๋องที่เวลาต่าง ๆ

10) RT หมายถึง อุณหภูมิ retort ที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ

11) ค่า log g และF_h/u สามารถอ่านค่าได้จากกราฟความสัมพันธ์ของ log g กับ F_h/u จากภาพที่ จ.3

12) ค่า F_i หมายถึง จำนวนนาทีที่ต้องการใช้ทำลายจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิที่ฆ่าเชื้อเมื่อ F มีค่าเท่ากับ 1 ที่ 250°F (ตารางที่ จ.3)

$$Fi = \log^{-1} (250\text{-}RT/Z)$$

13) ค่า B_B หมายถึงเวลาที่ใช้ในการฆ่าเชื้อ (นาที)

2. การหาระยะเวลาในการฆ่าเชื้อ

1) นำกระป๋องเคลือบแลกเกอร์ขนาด 202*503 มาเจาะรูด้านข้างที่ตำแหน่ง 3/4 นิ้วจากก้นกระป๋องซึ่งเป็นจุด cold point (จุดที่ร้อนช้าที่สุด) สำหรับอาหารที่มีการนำความร้อนแบบพาความร้อน และที่ตำแหน่ง 1/2 ของความสูงกระป๋อง ซึ่งเป็นจุด cold point สำหรับอาหารที่มีการนำความร้อนแบบนำความร้อน เพื่อเสียบเทอร์โมคัปเปิล แล้วบรรจุน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมประมาณ 250 ml (ในงานวิจัยนี้จะคำนวณหาเวลาในการฆ่าเชื้อจากกระป๋องที่เจาะรูที่ตำแหน่ง 3/4 นิ้วจากก้นกระป๋อง เนื่องจากอุณหภูมิที่จุด cold point จะร้อนช้ากว่ากระป๋องที่เจาะรูที่ตำแน่งกึ่งกลางกระป๋องดังข้อมูลที่แสดงในตารางที่ 4.21)

2) วางฝาไว้บนกระป๋องแล้วนำไปไล่อากาศใน steam exhaustor เป็นเวลา 5 นาที ควบคุมอุณหภูมิตอนปิดกระป๋องประมาณ 70-80°C แล้วผนึกฝากระป๋องทันที

3) นำกระป๋องที่ปิดผนึกฝากระป๋องแล้วเข้าหม้อฆ่าเชื้อปิดฝา แล้วเปิดไอน้ำ จับเวลาจนกระทั่งอุณหภูมิภายในหม้อฆ่าเชื้อ (RT) เป็น 121°C ซึ่งเวลาดังกล่าวเรียกว่า come-up time (CUT) บันทึกอุณหภูมิเริ่มต้นของอาหารกระป๋องเป็น (IT) ที่จุด cold point ตั้งแต่เริ่มเปิดไอน้ำเข้าเครื่องฆ่าเชื้อซึ่งเป็น zero time และบันทึกอุณหภูมิทุก ๆ 1 นาที

4) บันทึกอุณหภูมิ (PT) จนกระทั่งอุณหภูมิของจุดที่ร้อนช้าที่สุดเท่ากับเครื่องฆ่าเชื้อ (RT) หรือมีค่าคงที่ แล้วจึงปล่อยไอน้ำออกจากเครื่องฆ่าเชื้อ แล้วปล่อยน้ำเข้าเครื่องฆ่าเชื้อบันทึกอุณหภูมิต่อไปจนกระทั่งอุณหภูมิลดลงเหลือประมาณ 40°C จึงหยุดการบันทึก ข้อมูลที่บันทึกได้เรียกว่า heat penetration data ดังแสดงในตารางที่ 4.15

5) ข้อมูล heat penetration data มาเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างเวลา (นาที) กับอุณหภูมิของจุดที่ร้อนช้าที่สุด (°C) จะได้กราฟดังภาพที่ จ.1

6) นำข้อมูลมาคำนวณหาค่า RT-PT และ ค่า log(RT-PT)

7) เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ค่า log(RT-PT) กับ เวลา แล้วกลับแกน log(RT-PT) จะได้กราฟดังภาพที่ จ.2

8) เลือกส่วนที่เป็นเส้นตรงของกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง ค่า log(RT-PT) กับเวลา แล้วหาสมการ regression

9) หาค่า log(RT-PT) ที่เวลาต่าง ๆ จากสมการ regression แล้วนำไปเขียนกราฟในกราฟข้อ 7 ได้กราฟดังภาพที่ จ.2

10) หาค่า log(RT-PT) ที่ 0.58*CUT ซึ่งจะเป็นค่า $\log(RT-T_{pih}) = \log j_i$

11) เมื่อได้ค่า T_{pih} แล้วจะหาค่า j_h และ f_h ได้โดย

$$j_h = \frac{RT-T_{pih}}{RT-T_{ih}}$$

$$f_h = \frac{-1}{slope}$$

ในการหาค่า B_B (processing time) ทราบค่า RT IT j f_h และค่า F_0

สูตรคำนวณ F_0

$$\log g = \log ji - \frac{B_B}{f_h} \quad \text{.....1}$$

$$F_0 = \frac{f_h}{f_h/u)Fi} \quad \text{.....2}$$

สูตรหาค่า B_B

$$f_h/u = \frac{f_h}{F_0*Fi} \quad \text{.....3}$$

$$B_B = f_h(\log ji - \log g)$$

โดยมีขั้นตอนดังนี้

1. j_h และ f_h หาจาก heat penetration curve
2. ทราบค่า B_B หรือ F_0 ค่าใดค่าหนึ่ง
3. $I = RT-T_{ih}$
4. คำนวณค่า log g หรือ $f_{h/u}$ ค่าใดค่าหนึ่งจากสูตรและอ่านค่าอีกค่าหนึ่งจากภาพที่ จ.3
5. หาค่า Fi จากตารางที่ จ.2 ขึ้นกับค่า RT ที่ใช้หรือคำนวณได้จากสูตร

$$Fi = \log^{-1} \frac{(250-RT)}{18}$$

การคำนวณหาค่า B_B (processing time) ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม (จากภาพ จ.1 และ จ.2)

โดย F_{250} = 7.38 นาที

RT = 121.1°C

T_{ih} = 76.4

CUT = 9 นาที

1. จาก heat penetration (ตารางที่ จ.1 และ ภาพที่ จ.1) เมื่อนำมาเขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง log (RT-PT) กับเวลา แล้วกลับแกน log (RT-PT) จะได้ภาพ จ.2

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. เลือกส่วนที่เป็นเส้นตรง แล้วสร้างสมการเส้นตรง โดยได้สมการเป็น

$y = -0.049538x + 1.52758$

หาค่า log (RT-PT) ที่เวลาต่าง ๆ ได้ข้อมูลดังตาราง จ.2 แล้วนำมาเขียนกราฟ จะได้ภาพ จ.2

3. corrected zeroที่ come up time 9 นาที เท่ากับ 9*0.58 = 5.22 นาที

4. หาค่า log(RT-PT) ที่ 0.58 CUT ซึ่งจะเป็นค่า log($RT-T_{pih}$) จากสมการได้เท่ากับ

$$\log ji = \log(RT-PT) = -0.049538(5.22) + 1.52758$$
$$= 1.26899164$$

ดังนั้น $ji = (RT-PT) = 10^{1.26899164} = 18.57768693$

5. $j_h = \frac{RT-T_{pih}}{RT-T_{ih}}$

$= \frac{121.1-102.5223131}{121.1-76.4}$

$= 0.41560821$

6. $f_h = \frac{-1}{slope}$

$= \frac{-1}{0.049538}$

$= 20.18652348$

7. $f_h/u = \frac{f_h}{F_0*Fi}$

$= \frac{20.18652348}{7.38*1}$

$= 2.735$

8. หาค่า log g จากภาพ จ.3 ได้เท่ากับ 0.47

9. $B_B = f_h(\log ji - \log g)$

$= 20.18652348 - (1.26899164 - 0.47)$

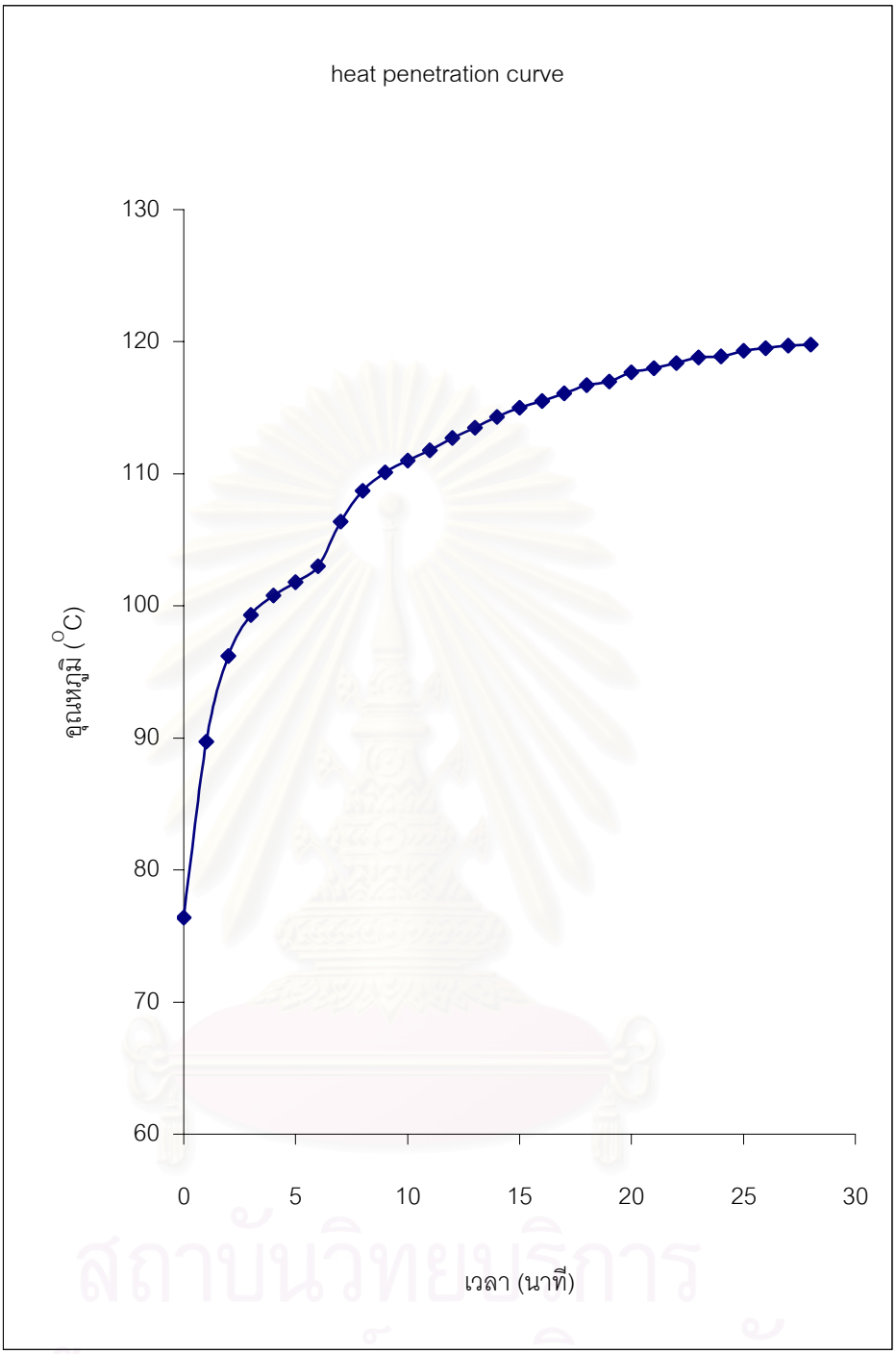
$= 16.1288$ นาที

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ จ.1 ค่าต่าง ๆ ที่ใช้ในการคำนวณหาเวลาในการฆ่าเชื้อ

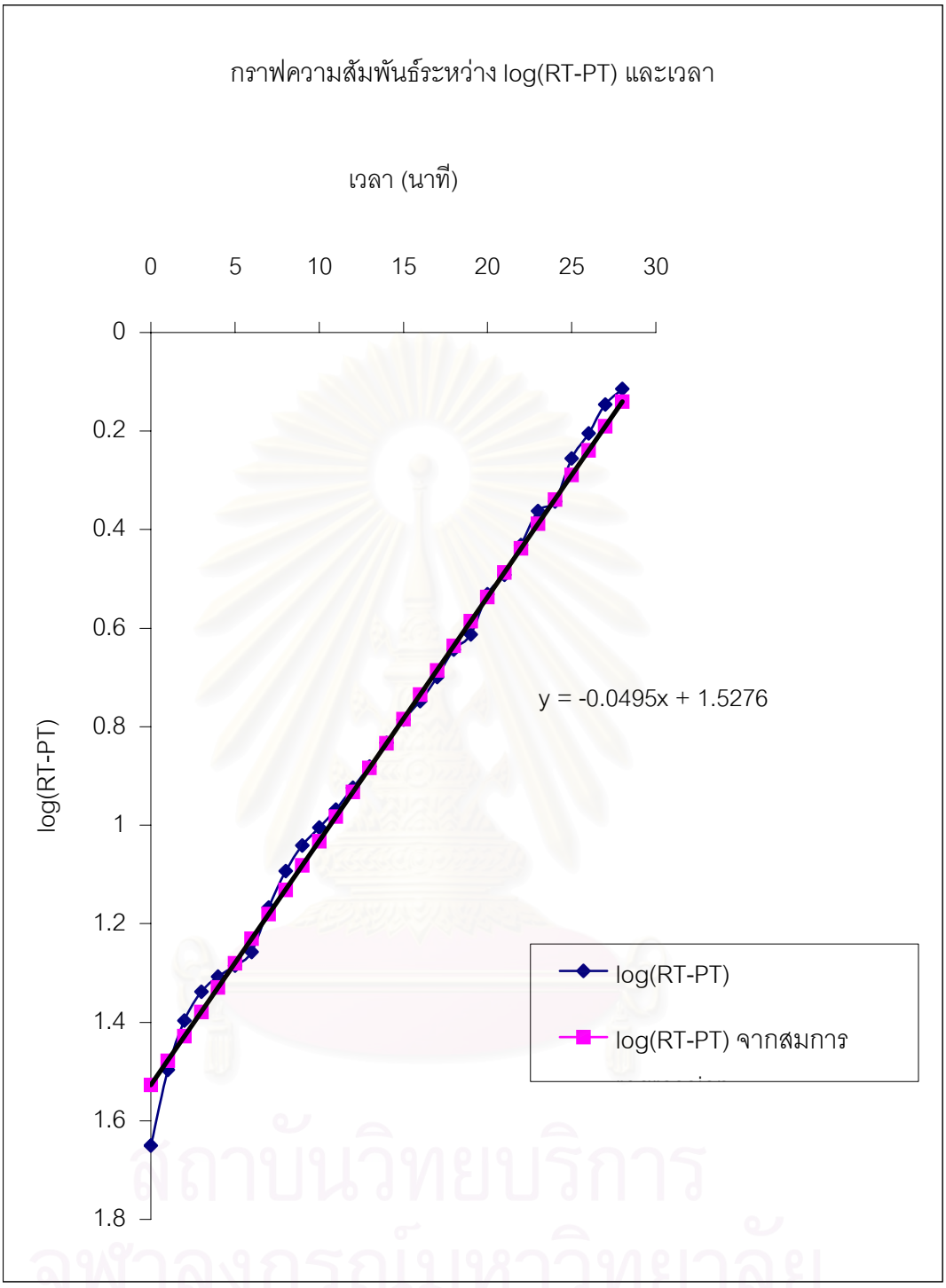
เวลา	PT	RT-PT	log(RT-PT)	log(RT-PT) จากสมการ regression
0	76.4	44.7	1.650308	1.52758
1	89.7	31.4	1.49693	1.47804
2	96.2	24.9	1.396199	1.4285
3	99.3	21.8	1.338456	1.37896
4	100.8	20.3	1.307496	1.32942
5	101.8	19.3	1.285557	1.27988
6	103	18.1	1.257679	1.23034
7	106.4	14.7	1.167317	1.1808
8	108.7	12.4	1.093422	1.13126
9	110.1	11	1.041393	1.08172
10	111	10.1	1.004321	1.03218
11	111.8	9.3	0.968483	0.98264
12	112.7	8.4	0.924279	0.9331
13	113.5	7.6	0.880814	0.88356
14	114.3	6.8	0.832509	0.83402
15	115	6.1	0.78533	0.78448
16	115.5	5.6	0.748188	0.73494
17	116.1	5	0.69897	0.6854
18	116.7	4.4	0.643453	0.63586
19	117	4.1	0.612784	0.58632
20	117.7	3.4	0.531479	0.53678
21	118	3.1	0.491362	0.48724
22	118.4	2.7	0.431364	0.4377
23	118.8	2.3	0.361728	0.38816
24	118.9	2.2	0.342423	0.33862
25	119.3	1.8	0.255273	0.28908
26	119.5	1.6	0.20412	0.23854
27	119.7	1.4	0.146128	0.19
28	119.8	1.3	0.113943	0.14046

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



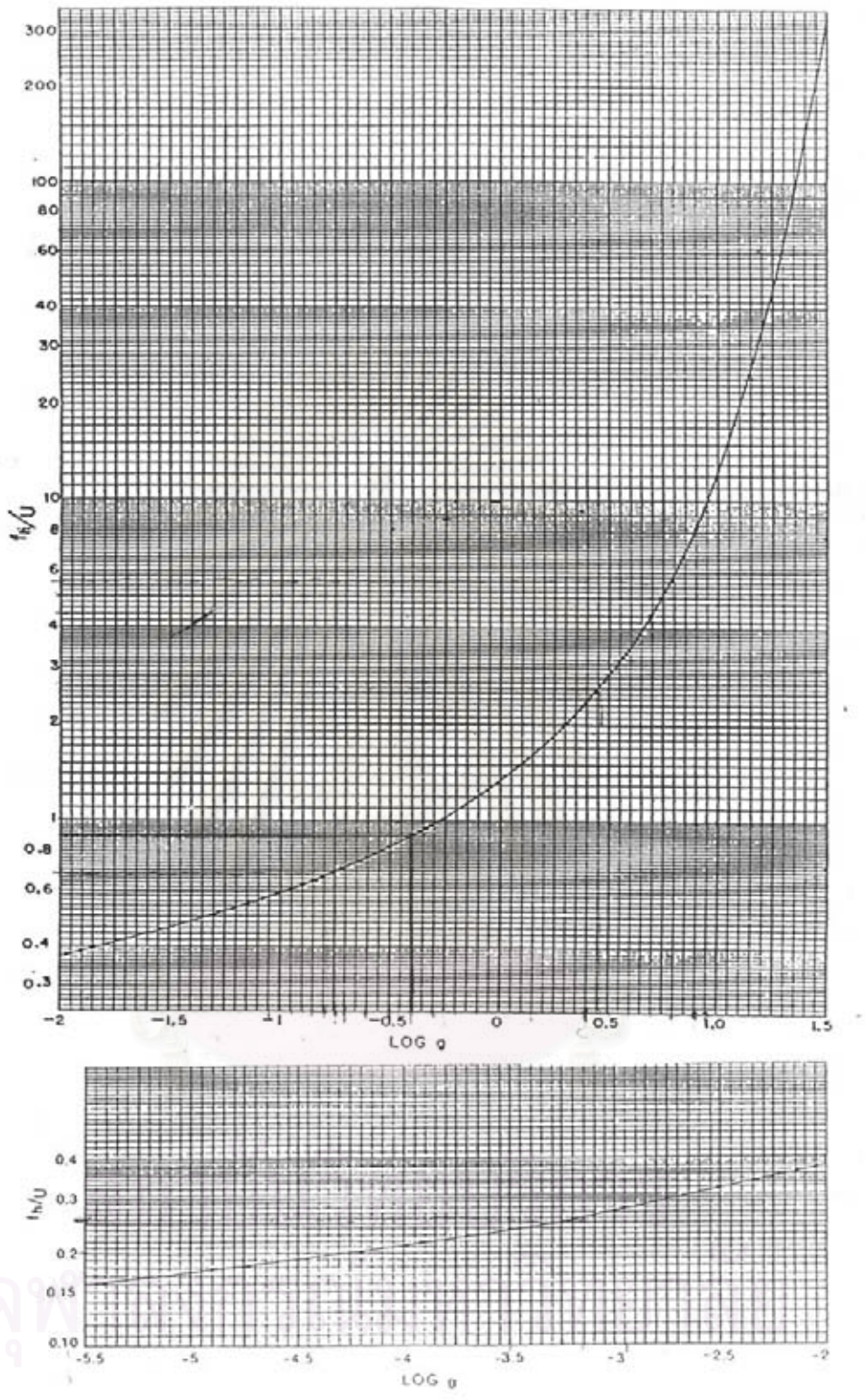
ภาพที่ จ.1 กราฟ heat penetration ของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียม

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ จ.2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง log(RT-PT) และ log(RT-PT) จากสมการ regression กับเวลา



<u>ภาพที่ จ.3</u> กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่า F_h/U กับ log g

ที่มา : American Can Co. , 1953

ตารางที่ จ.2 ค่า Fi ของอุณหภูมิเครื่องฆ่าเชื้อระดับต่าง ๆ

RT	Fi	RT	Fi	RT	Fi
214	100.00	233	8.799	252	0.7743
215	87.99	234	7.743	253	0.6813
216	77.43	235	6.813	254	0.5995
217	68.13	236	5.995	255	0.5275
218	59.92	237	5.275	256	0.4642
219	52.75	238	4.642	257	0.4085
220	46.42	239	4.085	258	0.3594
221	40.85	240	3.594	259	0.3163
222	35.94	240	3.163	260	0.2783
223	31.63	242	2.738	261	0.2449
224	27.83	243	2.447	262	0.2154
225	24.48	244	2.154	263	0.1896
226	21.54	245	1.896	264	0.1668
227	18.96	246	1.668	265	0.1468
228	16.68	247	1.468	266	0.1292
229	14.68	248	1.292	267	0.1136
230	12.92	249	1.136	268	0.1000
231	11.36	250	1.000	269	0.880
232	10.00	251	0.8799	270	0.0774

ที่มา : American Can Co. , 1953

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ฉ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางที่ ฉ.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยการตกตะกอนของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมแลคเตตในตัวอย่างที่แปรปริมาณแคลเซียมและระดับ pH

SOV	df	MS
ปริมาณแคลเซียม (A)	2	3.818*
ระดับ pH (B)	2	1.621*
AB	4	0.452*
Error	18	0.002

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ฉ.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยการตกตะกอนของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมคลอไรด์ในตัวอย่างที่แปรปริมาณแคลเซียมและระดับ pH

SOV	df	MS
ปริมาณแคลเซียม (A)	2	2.156*
ระดับ pH (B)	2	0.427*
AB	4	0.080*
Error	18	0.002

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ฉ.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยการตกตะกอนของโปรตีนในน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตตในตัวอย่างที่แปรปริมาณแคลเซียมและระดับ pH

SOV	df	MS
ปริมาณแคลเซียม (A)	2	0.055*
ระดับ pH (B)	2	0.136*
AB	4	0.014*
Error	18	0.001

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ ฉ.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสของน้ำนมถั่วเหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้ปริมาณ STPP 1% (W/V)

SOV	df	MS				
		สี	กลิ่นถั่ว	รสหวาน	รสชาติแปลกปลอม	การยอมรับรวม
STPP 1%	1	209.767*	48.071*	77.440*	558.534*	450.854*
Panelist	8	2.227	4.187	7.670*	0.424	1.090
Error	26	0.989	3.633	1.790	0.847	0.660

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

สำนักวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ฉ.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสของน้ำนมถั่ว-เหลืองที่เติมสารละลาย STPP อิ่มตัวให้มีปริมาณ STPP 0.1 0.2 0.3 และ 0.5 % (W/V) ตามลำดับ

SOV	df	MS				
		สี	กลิ่นถั่ว	รสหวาน	รสชาติแปลกปลอม	การยอมรับรวม
STPP 0.1 0.2 0.3 และ 0.5%	3	36.430*	24.120*	20.230*	107.819*	88.218*
Panelist	8	10.310*	14.758*	44.771*	15.238*	9.558*
Error	77	2.483	2.814	1.969	3.198	2.492

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตาราง ฉ.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยการตกตะกอนของโปรตีนของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมต่าง ๆ ที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการ

SOV	df	MS
		ปริมาตรส่วนใส
Treatment	5	0.014*
Error	15	0.000

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตาราง ฉ.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยความหนืดของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมต่าง ๆ ที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการ

SOV	df	MS
		ความหนืด
Treatment	5	0.131*
Error	18	0.003

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตาราง ฉ.8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยสีของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมต่าง ๆ ที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการ

SOV	df	MS		
		L	a	b
Treatment	5	0.065*	0.041*	0.210*
Error	18	0.014	0.040*	0.029

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตาราง ฉ.9 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยการตกตะกอนของโปรตีนของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแบบพาสเจอร์ไรซ์ที่ผลิตในโรงงานนำร่อง

SOV	df	MS
		ปริมาตรส่วนใส
Treatment	4	0.012*
Error	15	0.001

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตาราง ฉ.10 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยความหนืดของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแบบพาสเจอร์ไรซ์ที่ผลิตในโรงงานนำร่อง

SOV	df	MS
		ความหนืด
Treatment	5	0.040*
Error	18	0.001

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตาราง ฉ.11 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยสีของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแบบพาสเจอร์ไรซ์ที่ผลิตในโรงงานนำร่อง

SOV	df	MS		
		L	a	b
Treatment	5	2.666*	0.010*	0.284*
Error	18	0.129	0.002	0.00

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตาราง ฉ.12 การวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสของตัวอย่างน้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมแบบพาสเจอร์ไรซ์ที่ผลิตในโรงงานนำร่อง

SOV	df	MS					
		การตกตะกอน	สี	กลิ่นถั่ว	รสหวาน	รสชาติแปลกปลอม	การยอมรับรวม
Treatment	5	0.000	0.070	1.948	3.462	78.766*	45.370*
Panelist	8	2.235*	3.667*	40.289*	35.856*	39.206*	13.785*
Error	94	0.028	0.033	1.006	3.027	2.562	2.827

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตาราง ฉ.13 การวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยการตกตะกอนของโปรตีน ความหนืด และสี ของ น้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการเมื่อใช้สารปรับpH ต่างชนิดกัน

SOV	df	MS				
		ปริมาตรส่วนใส	ความหนืด	L	a	b
Treatment	2	0.029*	0.455*	0.064*	0.019*	0.033*
Error	12	0.002	0.010	0.006	0.003	0.001

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตาราง ฉ.14 การวิเคราะห์ความแปรปรวนคะแนนการทดสอบทางประสาทสัมผัสของน้ำนมถั่วเหลืองเสริมเกลือแคลเซียมกลูโคโนแลคเตต ปริมาณแคลเซียม 30 mg/น้ำนมถั่วเหลือง 100 ml ที่ผลิตในระดับห้องปฏิบัติการเมื่อใช้สารปรับpH ต่างชนิดกัน

SOV	df	MS					
		การตกตะกอน	สี	กลิ่นถั่ว	รสหวาน	รสชาติแปลกปลอม	การยอมรับรวม
Treatment	2	0.000	0.300	0.158	0.154	0.305	0.204
Panelist	8	0.565*	5.858*	5.004*	18.657*	11.004*	6.987*
Error	43	0.090	0.377	0.259	1.402	0.636	0.782

* แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ภาคผนวก ช

ภาพที่ ช.1 เครื่องโม่ถั่วเหลือง (Vita mix)

ภาพที่ ช.2 pneumatic press

ภาพที่ ช.3 เครื่อง Brookfield Viscometer (Model DV-II+ version 3.2)

ภาพที่ ช.4 เครื่องหมุนเหวี่ยงความเร็วสูงชนิดควบคุมอุณหภูมิ (ANNITA®I ALC , PM 180R)

อุปกรณ์สำหรับผลิตน้ำนมถั่วเหลืองในโรงงานนำร่องที่สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ภาพที่ ช.5 เครื่อง Rietz distintegrator

ภาพที่ ช.6 เครื่อง decantor

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ ช.7 หม้อต้มผนัง 2 ชั้น

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ ช.8 เครื่อง homogenizer

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ ช.9 เครื่อง exhaustor

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ ซ.10 เครื่องปิดกระป๋อง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ ช.11 retort

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาพที่ ช. 12 ผลิตภัณฑ์น้ำนมถั่วเหลืองเสริมแคลเซียมบรรจุกระป๋อง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวกรศุลี รัตนปริยานุช เกิดวันที่ 15 มกราคม 2519 ที่กรุงเทพมหานครฯ สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี วิทยาศาสตรบัณฑิต จาก ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร คณะเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร เมื่อปีการศึกษา 2540 และเข้าศึกษาต่อระดับปริญญามหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีเดียวกัน

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย